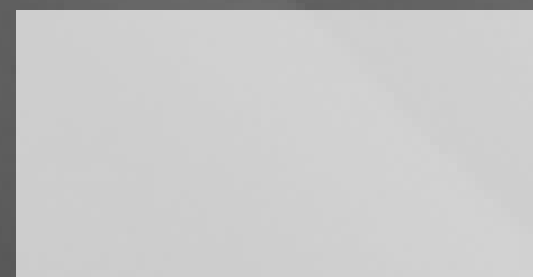




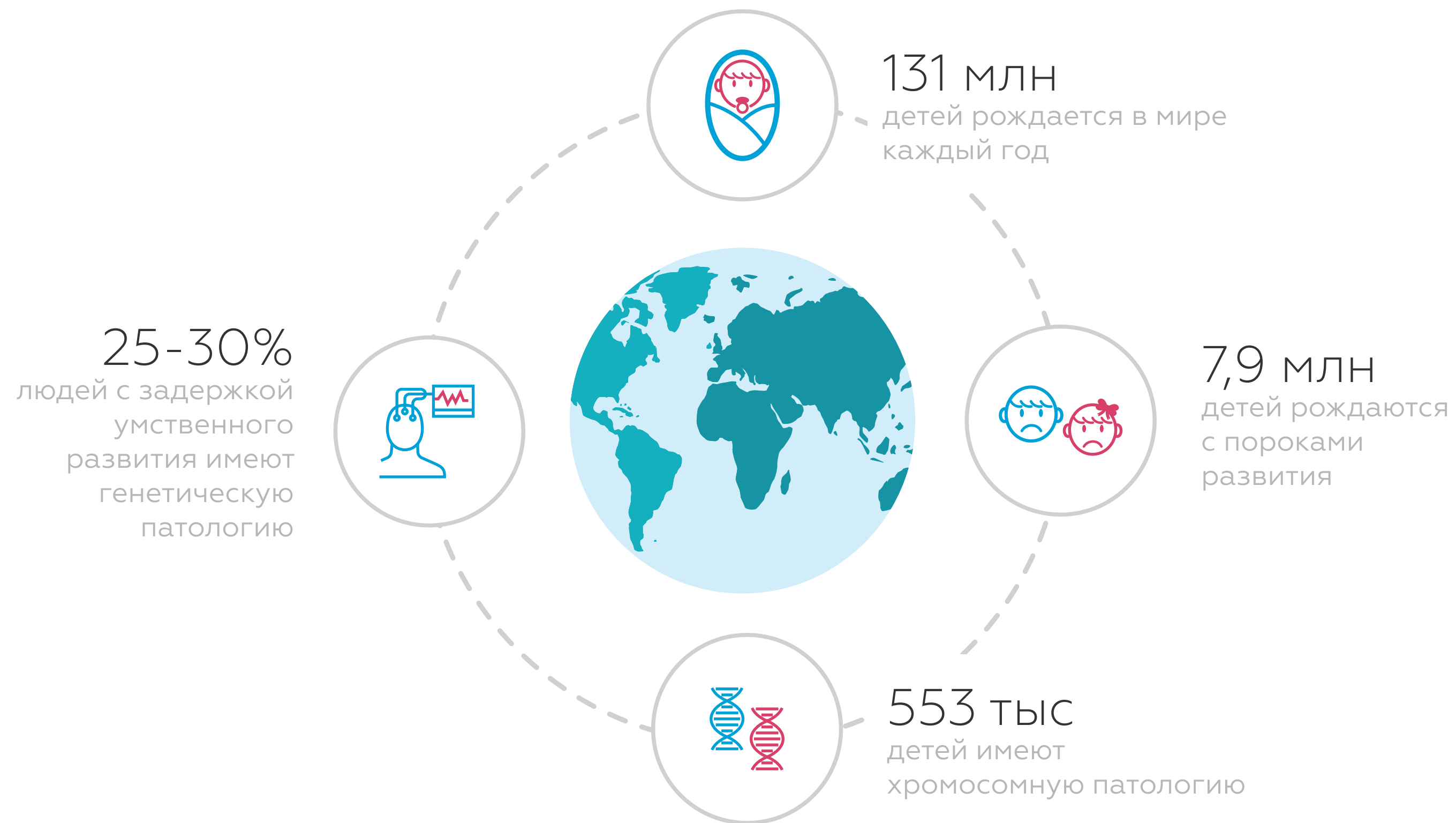
Неинвазивные пренатальные ДНК тесты лаборатории «ГЕНОМЕД»



Медико-генетический центр
Лаборатория молекулярной патологии



Генетическая патология – одна из основных причин перинатальной смертности



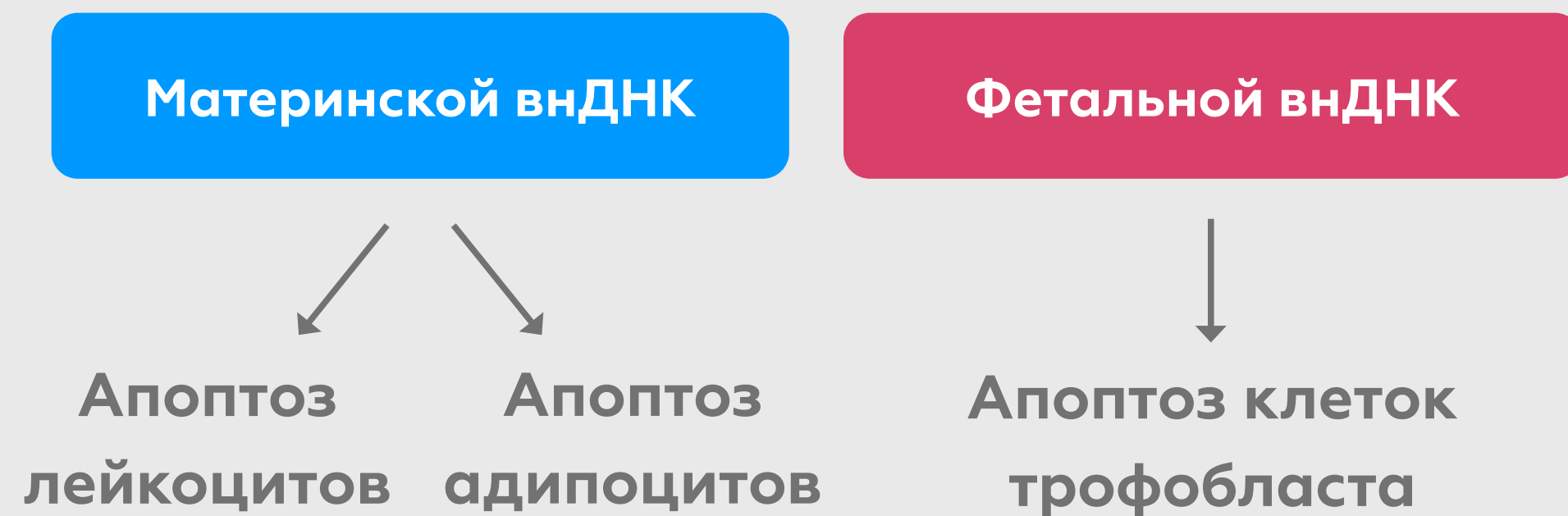
С появлением инновационных методов генетического тестирования неинвазивная пренатальная диагностика становится все более популярной. С помощью нее удастся выявить все большее количество генетических нарушений на ранних сроках беременности.

Благодаря неинвазивному пренатальному тестированию возможно рассчитать риск синдрома Дауна и других хромосомных синдромов, микроделеций, а также моногенных заболеваний у плода, начиная с 9 недель беременности с высокой точностью.

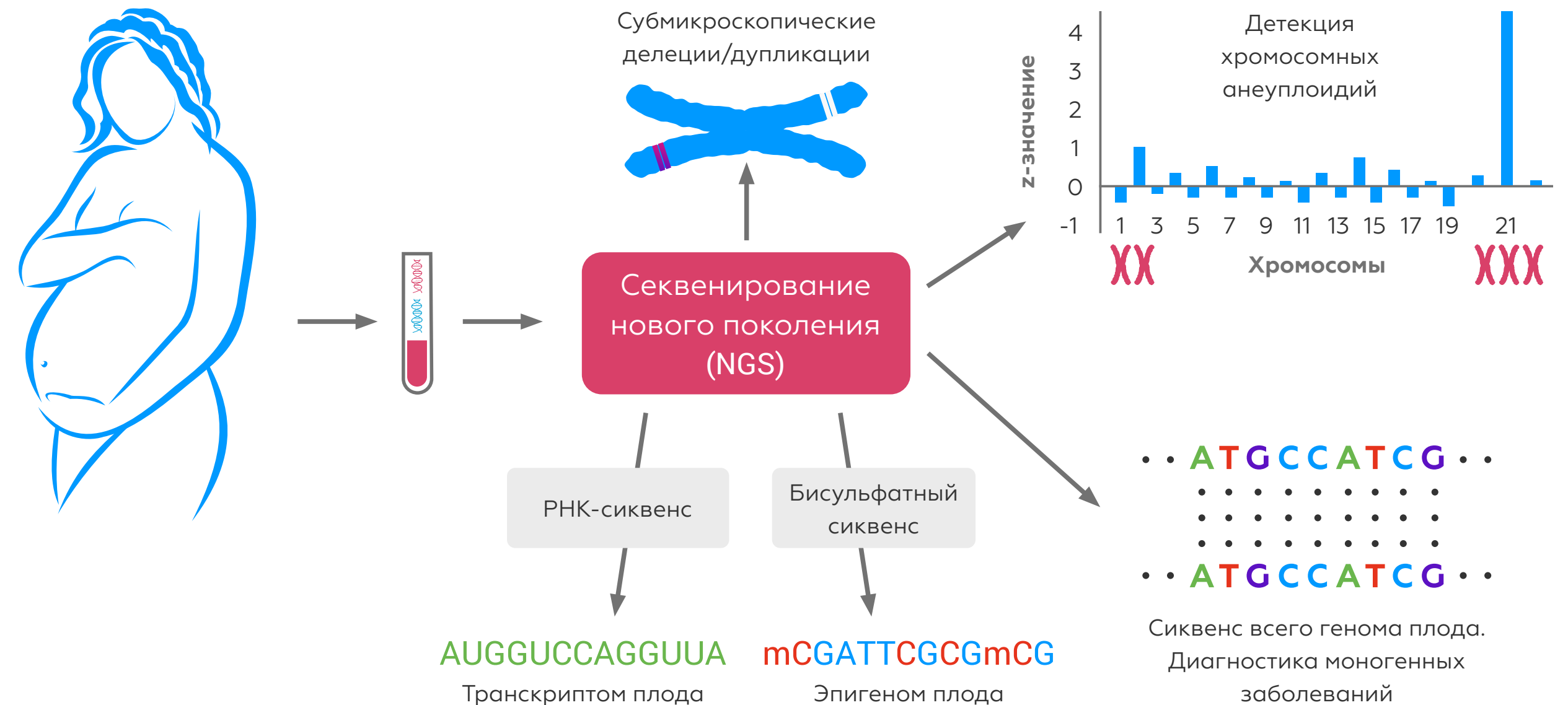
ЛАБОРАТОРИЯ «ГЕНОМЕД» ПРЕДСТАВЛЯЕТ ЛИНЕЙКУ НЕИНВАЗИВНЫХ ПРЕНАТАЛЬНЫХ ДНК ТЕСТОВ

Неинвазивные пренатальные ДНК тесты основаны на анализе фетальной внеклеточной ДНК (внДНК), циркулирующей в крови беременной женщины

внДНК, выделяемая из крови матери, состоит из:



Возможности скрининга генетической патологии методом секвенирования нового поколения (NGS)



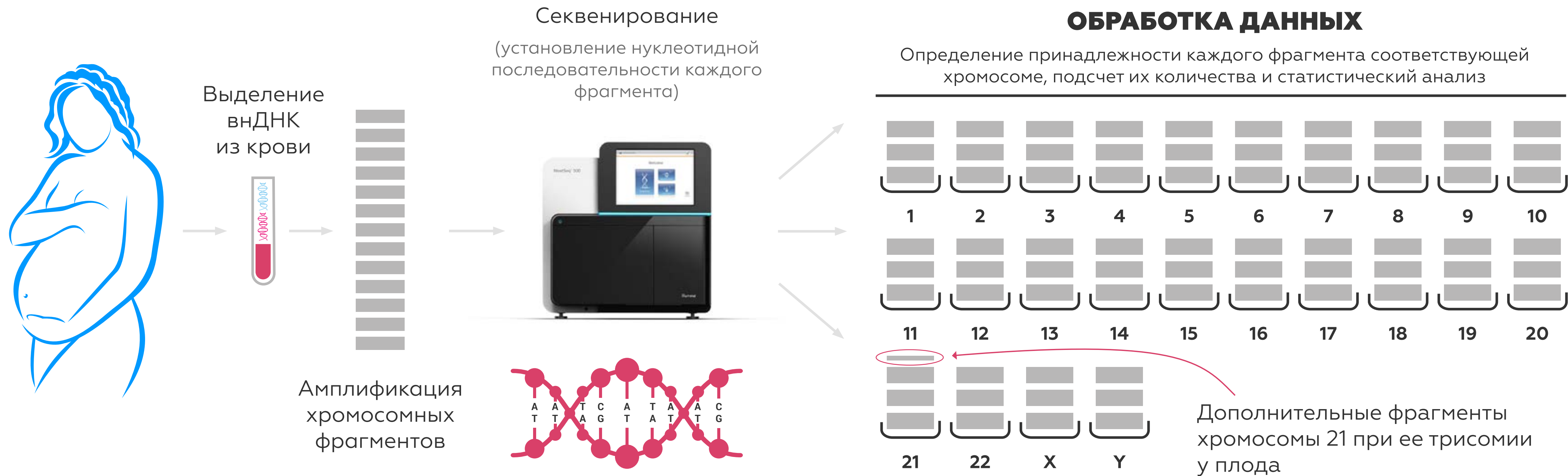
Основа неинвазивного пренатального теста заключается в анализе внДНК, выделенной из крови беременной женщины. В кровотоке беременной женщины имеется как ее собственная внДНК, образовавшаяся в результате апоптоза лейкоцитов и адипоцитов, так и внДНК плода, образовавшаяся при апоптозе клеток трофобласта.

В подавляющем большинстве случаев генетический материал клеток трофобласта и плода идентичен и может использоваться для диагностики.

Технологии НИПТ

1. Подсчет хромосомных фрагментов

Исследуются все хромосомы с низким покрытием.



Тесты, основанные на подсчете фрагментов хромосом:

MATERNIT21
Sequenom

VERIFI
Illumina

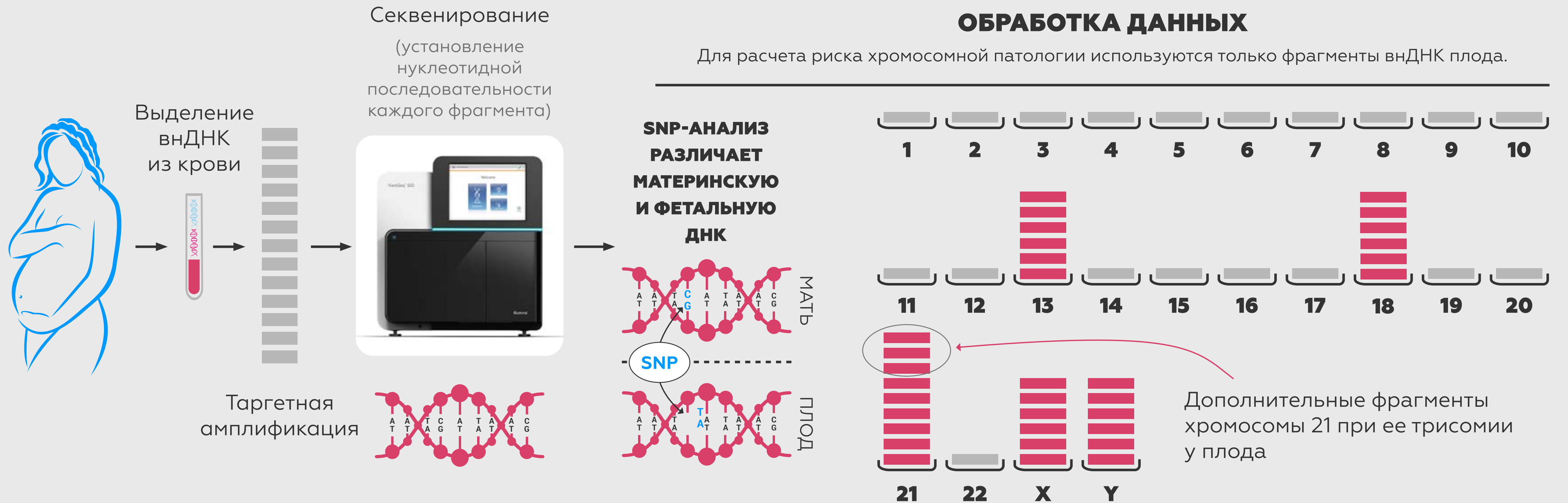
NIFTY
BGI

НИПС
Геномед

Технологии НИПТ

2. Метод однонуклеотидных полиморфизмов (SNP)

Исследуются целевые хромосомы с высоким покрытием и определяются индивидуальные маркеры (SNP) для каждого фрагмента.



Различие в количестве хромосомных фрагментов при трисомии составляет $\approx 50\%$

Тесты, основанные на анализе однонуклеотидных полиморфизмов:

Panorama
Natera

Panorama
Геномед

Что предлагает лаборатория «Геномед»

НИПС Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг	НИПТ Panorama *
Технология массового параллельного секвенирования с подсчетом фрагментов, соответствующих каждой хромосоме	Технология таргетного секвенирования и анализа однонуклеотидных полиморфизмов (SNP)
ПОРОГ ФЕТАЛЬНОЙ ФРАКЦИИ	
3,5 %	2,8 %
СРОК БЕРЕМЕННОСТИ	
с 10 недель	с 9 недель
ХРОМОСОМНЫЕ СИНДРОМЫ	
7 синдромов	8 синдромов
НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ	
19 - аутосомно-рецессивных заболеваний	25 - аутосомно-доминантных заболеваний
МИКРОДЕЛЕЦИОННЫЕ СИНДРОМЫ	
6 синдромов	5 синдромов
СУРРОГАТНОЕ МАТЕРИНСТВО И ДОНОРСКАЯ ЯЙЦЕКЛЕТКА	
Да	Да
МНОГОПЛОДНАЯ БЕРЕМЕННОСТЬ	
Да	Да
ПОЛ ПЛОДА	
Да	Да

* Выполняется в лаборатории Natera США.

* Дополнительная опция Vistara

Что определяют тесты лаборатории «Геномед»

Хромосомные анеуплоидии

(изменение нормального количества в какой-либо паре хромосом)

НИПС

Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг

- + Синдром Дауна
- + Синдром Эдвардса
- + Синдром Патау
- + Синдром Тернера
- + Синдром Клайнфельтера
- + Синдром Якобса
- + Трисомия X-хромосомы

Итого: 7 синдромов

НИПТ Panorama

- + Синдром Дауна
- + Синдром Эдвардса
- + Синдром Патау
- + Синдром Тернера
- + Синдром Клайнфельтера
- + Синдром Якобса
- + Трисомия X-хромосомы
- + Триплоидия

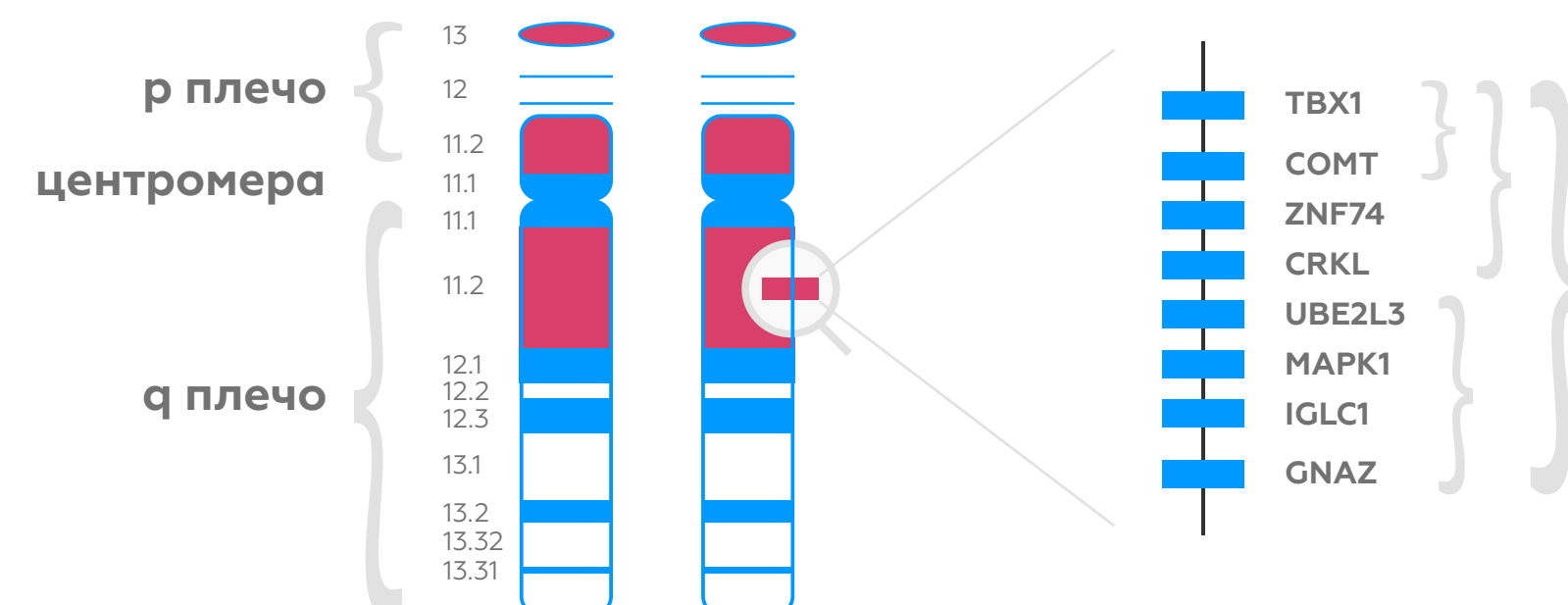
Итого: 8 синдромов

Что определяют тесты лаборатории «Геномед»

Микроделеционные синдромы

НИПС Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг	НИПТ Panorama
Синдром делеции 22q11.2	Синдром делеции 22q11.2
Синдром Прадера — Вилли	Синдром Прадера — Вилли
Синдром кошачьего крика	Синдром кошачьего крика
Синдром Ангельмана	Синдром Ангельмана
Синдром делеции 1p36	Синдром делеции 1p36
Синдром Вольфа — Хиршхорна	

Технология массивного параллельного секвенирования с подсчетом хромосомных фрагментов позволяет определять микроделеционные синдромы. Однако за счет равномерного распределения маркеров в референсной и целевой областях точность определения микроделеционных синдромов при SNP-методе выше



Частота микроделеционных синдромов



- Синдром делеции 22q11.2: **1:2 000**
- Синдром делеции 1p36: **1:5 000**
- Синдром Прадера – Вилли: **1:10 000**
- Синдром Ангельмана: **1:12 000**
- Синдром кошачьего крика: **1:20 000**

- Не зависят от возраста женщины.
- Сопровождаются врожденными пороками развития и грубой задержкой психомоторного развития ребенка после рождения.

Что определяют тесты лаборатории «Геномед»

Многоплодная беременность и суррогатное материнство

НИПС
Неинвазивный пренатальный
ДНК скрининг

Синдром Дауна

Синдром Эдвардса

Синдром Патау

Наличие Y-хромосомы
хотя бы у одного из плодов

**НИПТ
Panorama**

Синдром Дауна

Синдром Эдвардса

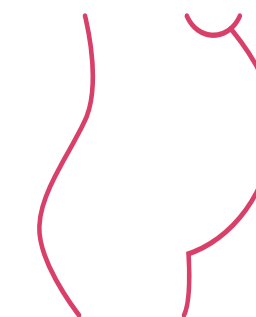
Синдром Патау

Моносомия X (при монозиготной
двойне)

Пол каждого плода

Иновационная SNP-
технология Panorama
позволяет:

Разделить генетический
материал разного
происхождения



матери



плода



плода

Анализировать вДНК
по 3 генотипам



биологической
матери



беременной



плода

Определение биологического родства
плода и биологической матери
при суррогатном материнстве

В чем преимущество теста Panorama при многоплодной беременности

	Другие НИПТ	НИПТ Panorama
Зиготность двойни	Нет	Да
Пол каждого плода из двойни	Нет	Да
Индивидуальная фетальная фракция	Нет	Да
Синдром Дауна, Эдвардса, Патау	Да	Да
Анеуплоидии половых хромосом	Нет	Да (монозиготная двойня)

Информация о беременности монозиготной двойней позволяет:

- 1 Рассчитать риск хромосомной патологии для каждого плода;
- 2 Составить индивидуальную программу обследования у УЗИ специалиста;
- 3 Заблаговременно и регулярно мониторить риски фето-фетального трансфузионного синдрома (ФФТС) и ограничения роста плода/ов;
- 4 Оценить и снизить риски преэклампсии, задержки роста, врожденных пороков, антенатальной гибели плода/ов.

Монозиготную и дизиготную двойню можно отличить при УЗИ до 14 недели беременности

30% монозиготных двоен ошибочно идентифицируются по УЗИ как дизиготные

Признаки ФФТС

- Многоводие (реципиент-близнец) и маловодие (донор-близнец)
- Мочевой пузырь донора-близнеца не виден
- Аномальные доплеровские данные
- Очевидная водянка плода
- Внутриутробная гибель



Верхний слева: близнец-донор; нижний в центре: реципиент-близнец с многоводием на 19-й неделе беременности.

Только тест Рапогата способен отличить монозиготную двойню от дизиготной

Фетальная фракция при беременностях двойней

Фетальная фракция при двуплодной
беременности больше на 35-40%
по сравнению с одноплодной



Содержание индивидуальной вДНК
от каждого плода может отличаться
в 2 раза



ВЫВОД:
необходимо количественное измерение фетальной фракции от каждого плода

для скрининга хромосомной патологии необходимо, чтобы каждый плод
из двойни имел фетальную фракцию $\geq 2,8\%$

зиготность двойни оценивается, если хотя бы один из плодов имеет фетальную фракцию $\geq 2,8\%$

Только тест Рапогата может определить фетальную фракцию для каждого плода из двойни!

Замерший второй плод

1

С помощью анализа SNP тест RapoGata способен выявлять дополнительную генетическую информацию, которая принадлежит «замершему плоду».

- Случаи, в которых была редукция одного эмбриона из двойни, составляют 0,2% от общего количества образцов.
- До 50% фетальной вДНК принадлежит плоду, редукция которого произошла более 6 недель назад.

2

При использовании метода подсчета хромосомных фрагментов в случаях с редукцией одного эмбриона из двойни повышена вероятность ложноположительных результатов и ошибочного определения пола плода.

- 15% дискордантных результатов, полученных при использовании метода подсчета хромосомных фрагментов, приходились на случаи, в которых была редукция одного эмбриона.
- При редукции одного эмбриона из двойни доля ложноположительных результатов на синдром Дауна достигает 33%.

На протяжении 8 недель после редукции вДНК плода все еще присутствует в кровотоке беременной женщины

Только тест RapoGata выявляет «замерший второй плод»

Триплоидия

1

Хотя в большинстве случаев при триплоидии происходит выкидыш, встречаемость данной патологии на 10-й неделе беременности составляет 1/1000.

2

Триплоидия отцовского происхождения или частичная молярная беременность повышает риск возникновения:

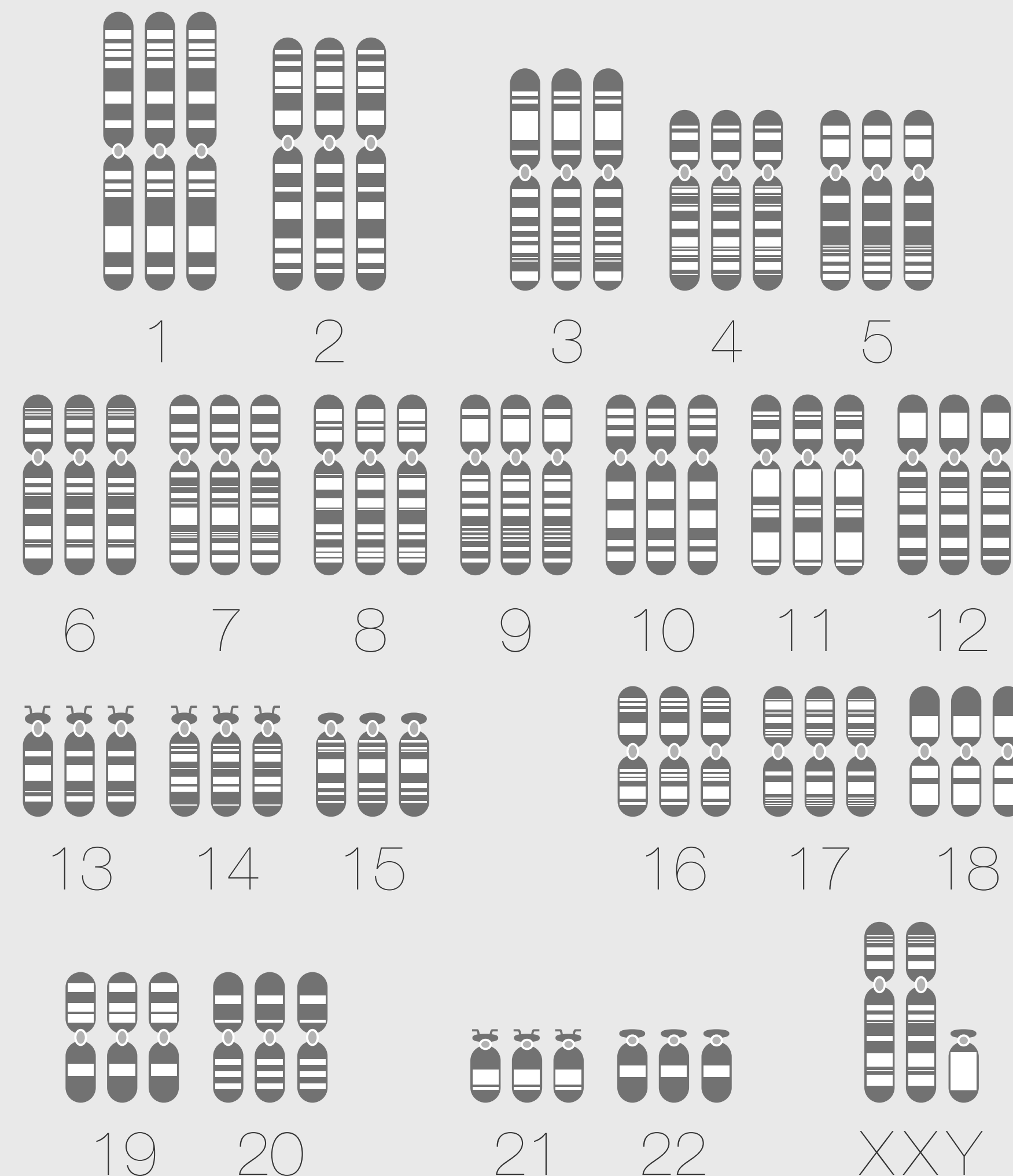
- гестационной трофобластической болезни до 5%;
- преэклампсии до 4%;
- злокачественной опухоли, такой как хорионкарцинома.

3

Триплоидия материнского происхождения может повторяться при последующих беременностях.

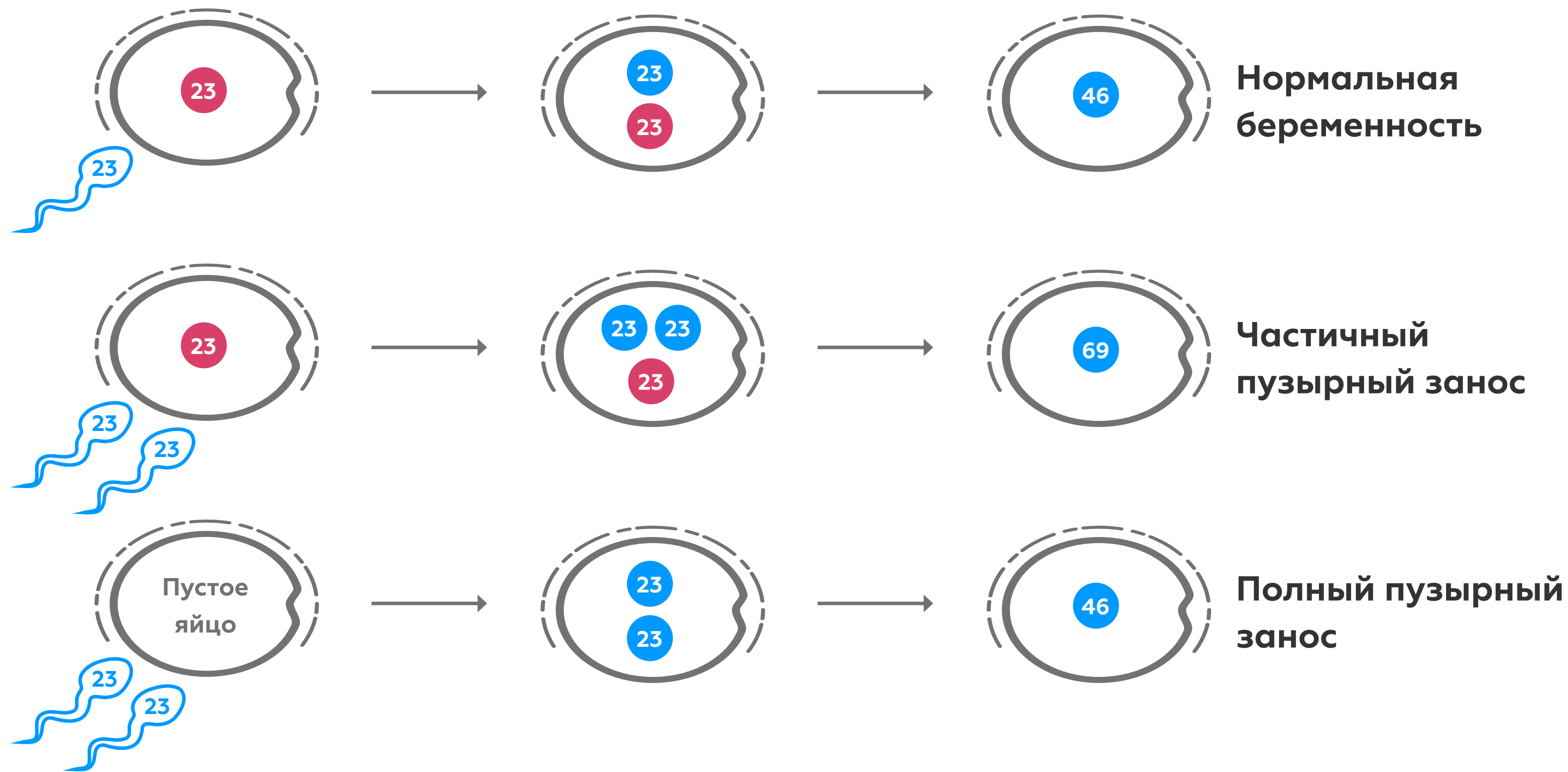
4

Диагностика триплоидии дает возможность определения риска данной патологии при последующих беременностях у супружеской пары.

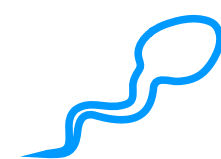


Только тест Рапогата способен определять триплоидию

Молярная беременность (пузырный занос)



**Рапогата –
единственный
тест, который
способен
определить
молярную
беременность!**



сперма (отец)



яйцеклетка (мать)



XX количество хромосом

Материнские факторы

За счет разделения материнской и фетальной вДНК тест Panorama определяет мозаицизм материнских хромосом, что позволяет избежать ложноположительных результатов.

Вклад анеуплоидии по X-хромосоме материнского происхождения в дискордантные результаты НИПТ

Клинические данные	Результаты НИПТ	Положительный результат НИПТ на наличие лишней X-хромосомы	Положительный результат НИПТ на отсутствие одной X-хромосомы	Итого
Наблюдение после НИПТ	Положительные результаты НИПТ при анализе структурных хромосомных аббераций, n	63	124	187
	Нормальный кариотип матери, n	57	114	171
	Измененный кариотип матери, n	6	10	16
	Вклад материнского мозаицизма	9,52%	8,06%	8,56%

При использовании метода подсчета хромосомных фрагментов 8,56% положительных результатов на X-хромосомную анеуплоидию были ложноположительными по причине мозаицизма у матери.

Только тест Panorama способен определять материнские факторы

Что определяют тесты лаборатории «Геномед»

Аутосомно-рецессивные заболевания

НИПС

Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг

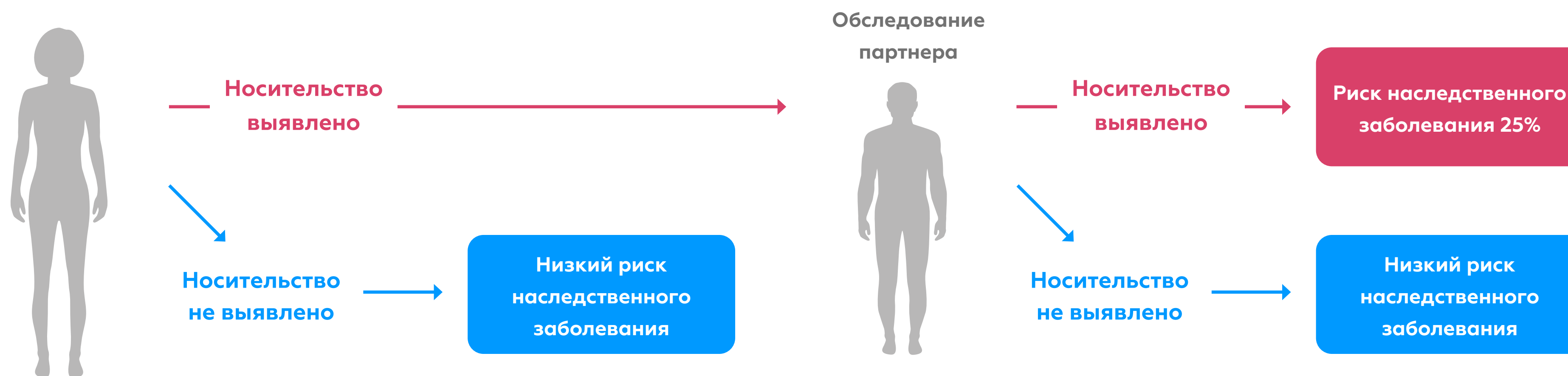
Муковисцидоз;
Фенилкетонурия;
Галактоземия;
Тугоухость (SLC26A4);
Нейрональный цероидный
липофуциноз;

Тугоухость (GJB2);
Болезнь Вильсона ATP7B;
Лейкоэнцефалопатия
с вовлечением ствола
головного мозга и спинного
мозга и повышением
концентрации лактата;

Синдром Смита-Лемли-
Опица;
Болезнь Тея-Сакса;
Мукополисахаридоз тип I;
Синдром множественных
врожденных аномалий
гипотонии и судорог тип I;

Поликистоз почек с
поликистозом печени или
без него тип 4;
Врожденное нарушение
гликозилирования тип Ia;
Диастрофическая
дисплазия;

Иммуностная дисплазия
Шимке;
Синдром Ушера тип 2a;
Гомоцистинурия;
Врожденная
непереносимость фруктозы



* Результаты анализа на носительство мутаций, ассоциированных с аутосомно-рецессивными заболеваниями, выдаются в отдельном заключении.

Что определяют тесты лаборатории «Геномед»

Аутосомно-доминантные заболевания

Скрининг Vistara – это анализ вДНК плода на вновь возникшие мутации, которые отсутствуют у родителей.

СКРИНИНГ ВКЛЮЧАЕТ В СЕБЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ:

синдром Ретта;
синдром Алажилля;
синдром Антли-Бикслера;
синдром Апера;
кардиофациокутанеальный синдром;
синдром CATSHL;
синдром CHARGE;
синдром LEOPARD;
синдром Корнелии де Ланге;
синдром Костелло;
синдром Крузона;
синдром Элерса-Данло
(кардиоваскулярный тип, VIIA, VIIB);
гипохондроплазия;

SYNGAP1-ассоциированный дефицит интеллекта;
эпилептическая энцефалопатия (ранняя инфантильная, тип 2);
синдром Джексона-Вейсса;
ювинальная моноцитарная лейкемия;
синдром Мюнке;
синдром Нунан;
несовершенный остеогенез (тип 1, 2, 3, 4);
синдром Пфейффера;
синдром Сотоса (тип 1);
танатоформная дисплазия;
туберозный склероз.

Общая частота моногенных заболеваний, выявляемых тестом Vistara, составляет

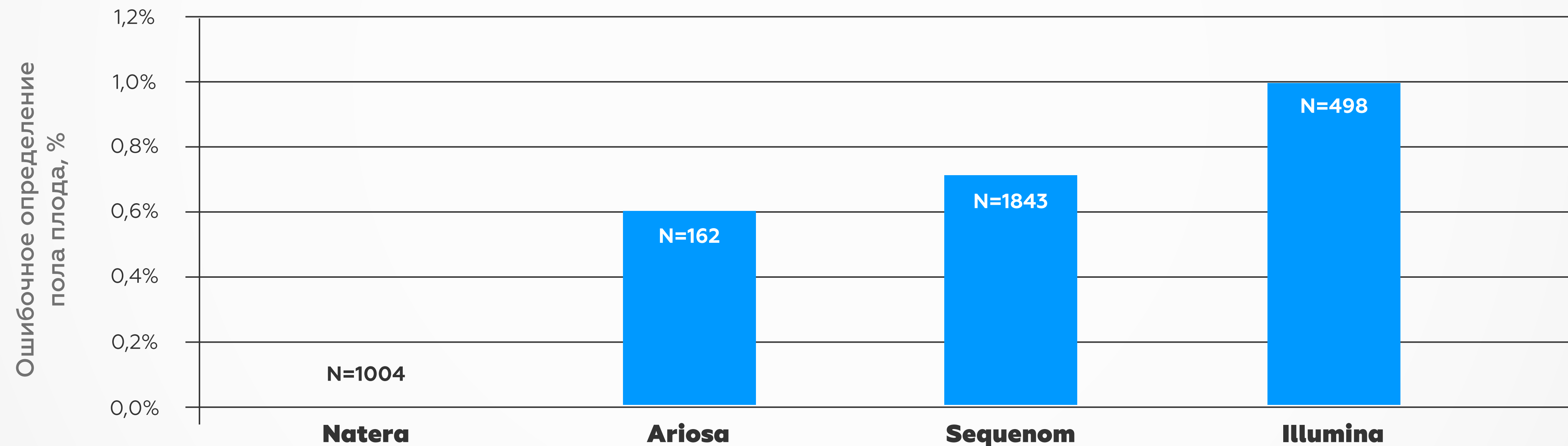
1 на 600 —
это чаще, чем
синдром Дауна

В валидационных исследованиях тест Vistara показал чувствительность и специфичность **>99%** без ложноположительных результатов.

В чем преимущество теста Rapogata

Точное определение пола плода

Количество ложных результатов в определении пола плода методом подсчета хромосомным фрагментам достигает 1,0 %.



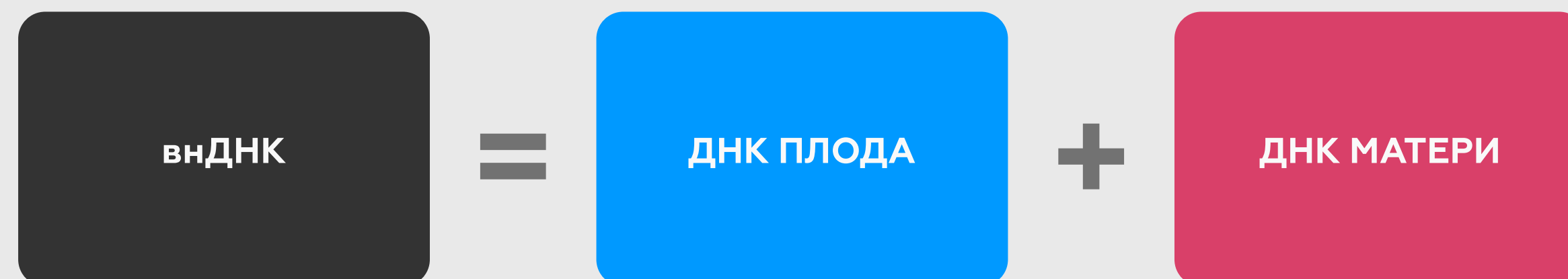
N = количество анализируемых образцов

Фетальная фракция – это очень важно!

Вне зависимости от того, какая технология используется, достоверность исследования зависит от количества фетальной вДНК, циркулирующей в крови матери. Если ее мало, то результат может быть недостоверным. Точно определить уровень фетальной фракции при выполнении исследования – это критически важно.

НИПС Неинвазивный пренатальный ДНК скрининг	НИПТ Panorama
Определение фетальной фракции основано на одновременном использовании нескольких методов	Самая высокая точность определения фетальной фракции, основанная на анализе более 13 000 SNP маркеров

- 1 На 9-10 неделе доля фетальной фракции в среднем составляет 10-12%.
- 2 Уровень фетальная фракция меняется в зависимости от срока беременности, веса матери, вида хромосомной патологии у плода.
- 3 Результат теста Panorama будет получен при уровне фетальной фракции от 2.8%.

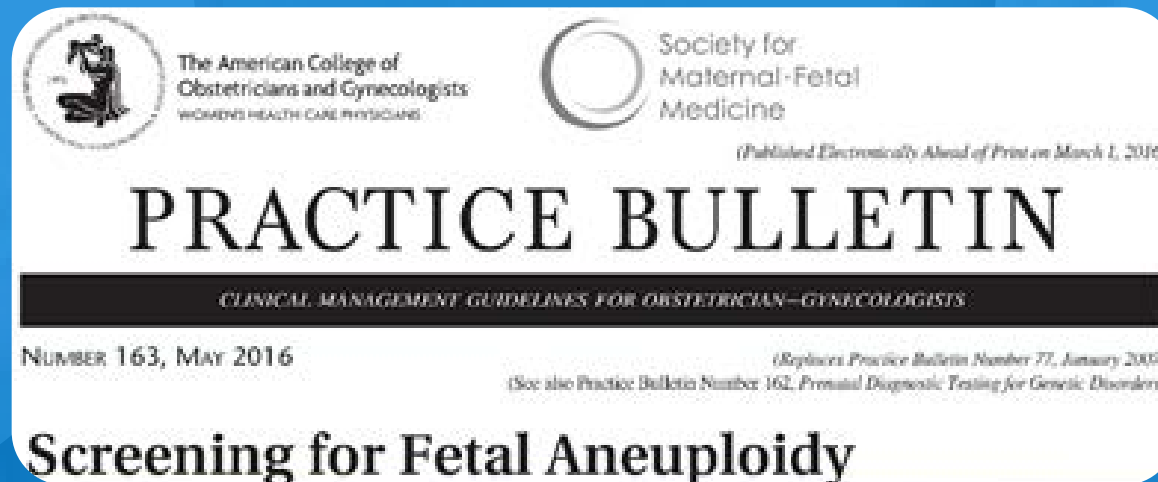


Точность определения фетальной фракции



Кому показаны неинвазивные пренатальные тесты?

«Всем беременным необходимо предложить скрининг на анеуплоидии... несмотря на их возраст»



Какой тест выбрать?

Аутосомно-доминантные заболевания*					Да
Недифференцированная хромосомная патология по низкой фетальной фракции					Да
Синдром делеции 22q11				Да	Да
Синдром Вольфа – Хиршхорна				Да	
Синдром Прадера-Вилли				Да	Да
Синдром кошачьего крика				Да	Да
Синдром Ангельмана				Да	Да
Синдром делеции 1p36				Да	Да
Аутосомно-рецессивные заболевания			19 синдромов	19 синдромов	
Трисомия X хромосомы			Да	Да	Да
Синдром Якобса			Да	Да	Да
Синдром Клайнфельтера		Да	Да	Да	Да
Синдром Тернера		Да	Да	Да	Да
Синдром Патау		Да	Да	Да	Да
Синдром Эдвардса		Да	Да	Да	Да
Синдром Дауна	Да	Да	Да	Да	Да
Пол плода	Да	Да	Да	Да	Да

НИПС T21

НИПС 5

НИПС 12

НИПС
Расширенный

Panorama

* Дополнительная опция к тесту Panorama, но может выполняться и как самостоятельное исследование

Ссылки

Lo, Y. M., et al. (1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis.

1 - American Journal of Human Genetics. 62 (4): 768-775.

https://www.researchgate.net/publication/51321813_Quantitative_Analysis_of_Fetal_DNA_in_Maternal_Plasma_and_Serum_Implications_for_Noninvasive_Prenatal_Diagnosis

2 - Panorama валидационное исследование 2013, Single-Nucleotide Polymorphism-Based Noninvasive Prenatal Screening in a High-Risk and Low-Risk Cohort.

<https://journals.lww.com/greenjournal/pages/articleviewer.aspx?year=2014&issue=08000&article=00003&type=Fulltext>

3 - Dar-Panorama Clinical Outcomes Paper 2014, Clinical Experience and follow-up with large scale single nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal aneuploidy testing.

<http://www.biomedsearch.com/nih/Clinical-experience-follow-up-with/25111587.html>

5 - Panorama Triploidy Validation paper 2013, Prenatal Detection of Fetal Triploidy from Cell-Free DNA Testing in Maternal Blood.

https://www.researchgate.net/publication/258054571_Prenatal_

[Detection_of_Fetal_Triploidy_from_Cell-Free_DNA_Testing_in_Maternal_Blood](#)

6 - Curnow—Only Panorama can detect VT/Triploidy 2015, Detection of triploid, molar, and vanishing-twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal test.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25447960>

7 - Gross, 2016, Clinical experience with single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening for 22q11.2 deletion syndrome.

<https://www.semanticscholar.org/paper/Clinical-experience-with-single%E2%80%90nucleotide-prenatal-Gross-Stosic/0f827cceed1b5a76060ac1017dd422d182432cfc>

6 - McKanna et. al. 2018, Fetal fraction-based risk algorithm for non-invasive prenatal testing: screening for trisomy 13, 18, and triploidy in women with low cell-free fetal DNA.

<https://www.natera.com/press-releases/natera-clinical-study-validates-new-biomarker-aneuploidy-and-adverse-pregnancy>

8 - Vistara.

<https://www.natera.com/vistara>