



РЕПРОДУКЦИЯ

НИПС

В ВОПРОСАХ И ОТВЕТАХ
РЕПРОДУКТИВНАЯ ГЕНЕТИКА:
АНЕУСКРИН ИЛМ



Онлайн-школы для акушеров-гинекологов по НИПС
(начало проекта: октябрь 2024)
УЧАСТИЕ БЕСПЛАТНО!

ЧТО ТАКОЕ НИПС?

НИПС (неинвазивный пренатальный скрининг или неинвазивный пренатальный тест) – скрининговый метод пренатального тестирования.

Позволяет оценить риск наиболее распространенных хромосомных аномалий плода путем анализа внеклеточной плодовой (фетоплацентарной) ДНК по крови матери.

КАКИЕ ДОКУМЕНТЫ РЕГЛАМЕНТИРУЮТ ПРИМЕНЕНИЕ НИПС?

- Клинические рекомендации МЗ РФ «Нормальная беременность», 2023
- Методические рекомендации «Проведение неинвазивного пренатального ДНК-скрининга анеуплоидий плода по крови матери (НИПС) методом высокопроизводительного секвенирования». Акушерство и гинекология. 2024; 3 (Приложение): 4-24
- Приказ Департамента здравоохранения города Москвы от 13.03.2020 № 199 «Об организации проведения неинвазивного пренатального теста в городе Москве»

КАКИЕ ВИДЫ НИПС БЫВАЮТ?

- 1 НИПС на частые анеуплоидии** – позволяет выявить трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам (синдром Дауна, Эдвардса и Патау).



Профессиональные медицинские сообщества рекомендуют проведение НИПС на трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам ВСЕМ беременным женщинам

- 2 НИПС с дополнительным выявлением риска анеуплоидии половых хромосом.**

НИПС возможно проводить для скрининга анеуплоидий по половым хромосомам, однако при таких синдромах зарегистрирована значительная доля ложноположительных результатов и широкая вариабельность клинических проявлений (моносомия X, XXX, XXУ, XYУ и аналогичные).

- 3 Полногеномный вариант НИПС** помимо выявления рисков частых трисомий и анеуплоидий половых хромосом позволяет выявлять риски редких трисомий и некоторых микроделеций/микродупликаций (размером более 7-10 млн п.н.).



Следует учитывать, что в рутинной клинической практике такое определение не рекомендовано. Метод не позволяет выявить риски полиплоидии, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями. Несмотря на то, что потенциально данный скрининговый метод обладает возможностью выявлять риски хромосомных микроделеций и микродупликаций, назначение подобных исследований в настоящий момент не представляется целесообразным в связи с недостаточной валидированностью

В случае выявления риска анеуплоидии по хромосомам, для которых описаны синдромы, связанные с однородительскими дисомиями, могут быть рекомендованы дополнительные исследования для исключения соответствующего синдрома [PMID: 32296163¹; PMID: 37076973²].

¹ Del Gaudio D. et al. Diagnostic testing for uniparental disomy: a points to consider statement from the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) //Genetics in Medicine. – 2020. – Т. 22. – №. 7. – С. 1133-1141.

² Hui L. et al. Position statement from the International Society for Prenatal Diagnosis on the use of non-invasive prenatal testing for the detection of fetal chromosomal conditions in singleton pregnancies //Prenatal Diagnosis. – 2023. – Т. 43. – №. 7. – С. 814-828.

ЧЕМ ОТЛИЧАЕТСЯ НИПС ОТ КОМБИНИРОВАННОГО (ПРЕНАТАЛЬНОГО) СКРИНИНГА?

НИПС	Комбинированный скрининг
Это прямой метод, где исследуется ДНК плода (плаценты). Выполняется по венозной крови матери	Это косвенный метод оценки риска хромосомных аномалий, при котором исследуются маркеры материнской сыворотки. Включает биохимический анализ маркеров материнской сыворотки (b-ХГЧ и РАРР-А) и ультразвуковое исследование (УЗИ)
Позволяет выявить риски хромосомных аномалий плода	Выявляет риски хромосомных аномалий плода, пороки развития плода, позволяет провести оценку рисков возможных осложнений беременности – преждевременных родов, задержки развития плода и преэклампсии
99%* – коэффициент обнаружения рисков частых трисомий (синдрома Дауна) 0,05%* – коэффициент ложноположительных результатов	90-95% – коэффициент обнаружения рисков частых трисомий** (синдрома Дауна) <5 – коэффициент ложноположительных результатов**
Является скрининговым методом и может быть рекомендован всем женщинам – с 10 до 17 недели беременности	В настоящее время считается обязательным и проводится всем женщинам
Проводится однократно	Проводится дважды или трижды, первый скрининг – на сроке 12 недель с комплексным расчетом риска хромосомных аномалий, последующие скрининги включают только ультразвуковое исследование и выполняются во втором и третьем триместре
Позволяет получить сведения о возможных хромосомных аномалиях плода или плаценты	Определяет группу риска по возможным осложнениям и наличию врожденных пороков развития у плода

НИПС и комбинированный пренатальный скрининг – безопасные методы!

* – для НИПС, выполненного с применением набора реагентов АнеуСкрин ИЛМ

** – ранний пренатальный скрининг



В случае получения неинформативного результата НИПС, например, в связи с низкой долей плодовой ДНК, возможно повторное взятие крови; при этом вероятность получения корректного результата исследования увеличивается

КОМУ НАЗНАЧАЕТСЯ НИПС?

ВСЕМ беременным с одноплодной и двуплодной беременностью с 10 до 17 недель. В случае многоплодной беременности (более двух плодов) возможны ограничения в получении валидного результата, требуется консультация врача-генетика.

КАКИЕ ОГРАНИЧЕНИЯ НИПС СУЩЕСТВУЮТ?

- 1** Метод не предназначен для выявления риска сбалансированных структурных аномалий хромосом, полиплоидии, моногенных и других генетических заболеваний плода, не связанных с анеуплоидиями.
- 2** Не рекомендуется использовать в рутинном скрининге для выявления рисков хромосомных микроделеций/микродупликаций (например, синдрома делеции 22q11.2 – синдрома Ди Джорджи) в связи с недостаточной валидированностью.
- 3** Исследование не предназначено для скрининга носительства аутосомно-рецессивных мутаций у беременной женщины.
- 4** Применение метода ограничено на сроке беременности менее 10 недель, т.к. в указанный период уровень ДНК плода в крови матери в большинстве случаев ниже порога аналитической чувствительности метода, которая обычно составляет 4% для одноплодной беременности, 7-8% – для двуплодной беременности. Доля ДНК плода зависит как от срока беременности, так и от массы тела беременной женщины и других факторов.
- 5** В ряде случаев на проведение исследования может влиять наличие в материнском кровотоке ДНК замершего плода (синдром «исчезающего близнеца»).
- 6** Результаты исследования могут зависеть от наличия у беременной женщины опухолевого заболевания, в т.ч. доброкачественного.
- 7** Проведение исследования ограничено при индексе массы тела беременной женщины более 30 кг/м².

- 8 Проведение исследования могут затруднять особенности кариотипа матери (например, наличие кариотипа 47, XXX), мозаицизм в соматических клетках у плода, в плаценте или у матери (например, мозаичный вариант кариотипа 45, X).
- 9 Проведение исследования ограничено после переливания аллогенной крови, терапии аллогенными клетками, трансплантации органов или костного мозга.



В этом случае результат НИПС может быть не только неинформативным, но и ошибочным.

- 10 На возможность проведения исследования могут влиять тяжелые аутоиммунные процессы в организме матери [PMID: 25427797³, PMID: 24862357⁴],
- 11 На долю плодовой ДНК в плазме крови беременной женщины могут влиять: ОРВИ и другие воспалительные процессы [PMID: 36359370⁵], дефицит витамина B12 [PMID: 27328203⁶], НВВ-гемоглинопатии [PMID: 31736384⁷], ранее установленная гипертензия [PMID: 25963912⁸], приём некоторых препаратов [PMID: 30740743⁹; PMID: 36572105¹⁰] и другие состояния.

³ Chan R. W. Y. et al. Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2014. – Т. 111. – №. 49. – С. E5302-E5311.

⁴ Hui L. et al. Repeated failed non-invasive prenatal testing owing to low cell-free fetal DNA fraction and increased variance in a woman with severe autoimmune disease //Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2014. – Т. 44. – №. 2.

⁵ Müzes G. et al. Cell-free dna in the pathogenesis and therapy of non-infectious inflammations and tumors // Biomedicines. – 2022. – Т. 10. – №. 11. – С. 2853.

⁶ Schuring-Blom H. et al. Maternal vitamin B12 deficiency and abnormal cell-free DNA results in pregnancy // Prenatal Diagnosis. – 2016. – Т. 36. – №. 8. – С. 790-793.

⁷ Putra M. et al. The association of HBB-related significant hemoglobinopathies and low fetal fraction on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy //The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. – 2021. – Т. 34. – №. 22. – С. 3657-3661.

⁸ Zhou Y. et al. Effects of maternal and fetal characteristics on cell-free fetal DNA fraction in maternal plasma // Reproductive Sciences. – 2015. – Т. 22. – №. 11. – С. 1429-1435.

⁹ Kuhlmann-Capek M. et al. Effects of medication intake in early pregnancy on the fetal fraction of cell-free DNA testing //Prenatal Diagnosis. – 2019. – Т. 39. – №. 5. – С. 361-368.

¹⁰ Nitsche J. F. et al. The effects of heparin, aspirin, and maternal clinical factors on the rate of nonreportable cell-free DNA results: a retrospective cohort study //American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM. – 2023. – Т. 5. – №. 3. – С. 100846.

КАК ПРОЧИТАТЬ РЕЗУЛЬТАТ?

Результаты НИПС могут быть:

- 1 положительные** – свидетельствуют о высоком риске наличия у плода и/или выявленной в плаценте хромосомной аномалии (ХА);
- 2 отрицательные** – свидетельствуют о низком риске наличия у плода хромосомных аномалий, но не исключают вероятность наличия хромосомных нарушений полностью. Особенно важно это помнить в случае высокого риска трисомии по результатам биохимического скрининга и УЗИ – в этом случае для уточнения дальнейших действий необходима консультация врача-генетика.
- 3 невалидные** – результаты, при которых расчет риска ХА произвести невозможно ввиду низкой доли внеклеточной ДНК плода в крови матери или по другим причинам;
- 4 ложноположительные** – когда положительные результаты НИПС не находят подтверждения с помощью инвазивной пренатальной диагностики или по исходу беременности.
Причины ложноположительных результатов могут быть плацентарный мозаицизм, мозаицизм в соматических клетках матери, феномен «исчезающего близнеца», опухолевые образования у матери, в т.ч. доброкачественные, особенности кариотипа матери, технические и биоинформатические особенности метода исследования и др.
- 5 ложноотрицательные** – при отрицательных результатах НИПС, хромосомная аномалия по данным инвазивной пренатальной диагностики или по исходу беременности.

Причиной ложноотрицательных результатов могут служить истинный плодовой мозаицизм, технические или биоинформатические особенности метода исследования и др.

Интерпретация отрицательных результатов НИПС осуществляется врачом акушером-гинекологом либо врачом-генетиком.

Интерпретация положительных и невалидных результатов осуществляется врачом-генетиком или консилиумом врачей с решением вопроса о проведении инвазивной пренатальной диагностики (ИПД).



Результаты ДНК-скрининга не должны рассматриваться в отрыве от результатов других клинических тестов. В частности, при попадании беременной в группу высокого риска по результатам раннего пренатального скрининга (РПС) или выявлении пороков развития плода с помощью УЗИ необходимо проведение генетического консультирования для решения вопроса о возможном назначении инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) вне зависимости от предшествующего результата НИПС.

В связи с возможными ошибками в диагностике ХА плода, связанными с плацентарным мозаицизмом, при проведении ИПД по результатам НИПС предпочтительнее проводить амниоцентез, а не аспирацию ворсин хориона/плацентоцентез. В случаях обнаружения маркеров ХА или пороков развития плода при ультразвуковом исследовании и высоком риске трисомий по хромосомам 21 или 18 по НИПС для ранней подтверждающей диагностики в I триместре допускается проведение аспирации ворсин хориона. В случае выявления высокого риска трисомии хромосомы 13, моносомии X, редких и частичных ХА при отсутствии ультразвуковых маркеров хромосомной патологии или пороков развития рекомендовано проведение амниоцентеза.

При выявлении с помощью НИПС высокого риска частых ХА, для проведения подтверждающей инвазивной диагностики допустимо применение экспресс-методов FISH и QF-PCR. В случае отрицательного результата при высоком риске по НИПС возможно продолжение обследования, в т.ч. проведение кариотипирования.

Для проведения подтверждающей инвазивной диагностики по редким и частичным хромосомным аномалиям могут применяться цитогенетический метод (кариотипирование), молекулярно-цитогенетические (FISH, m-FISH, m-Band) и молекулярно-генетические (молекулярное кариотипирование на ДНК-микроматрицах, CGH) методы, каждый из которых имеет свои преимущества и ограничения.

АЛГОРИТМ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПРИ ВЫСОКОМ РИСКЕ ХРОМОСОМНОЙ ПАТОЛОГИИ ПЛОДА

При подтверждении высокого риска ХА и/или пороков развития плода, ассоциированных с хромосомными аномалиями, по данным НИПС и/или по данным скрининга 1-го или 2-го триместра с перерасчетом индивидуального риска рождения ребенка с ХА на основе данных повторно проведенного УЗИ плода, рекомендовано направить беременную пациентку на проведение инвазивной пренатальной диагностики (биопсия хориона, плаценты, амниоцентез, кордоцентез) с исследованием полученного материала цитогенетическими (цитогенетическое исследование (кариотип)) или молекулярно-генетическими методами.

Выбор метода взятия материала плода для инвазивной пренатальной диагностики зависит от срока беременности и предполагаемой аномалии.

- Биопсия хориона проводится при сроке 10-14 недель беременности.
- Амниоцентез проводится при сроке беременности >15 недель.
- В случаях обнаружения маркеров ХА или пороков развития плода при ультразвуковом исследовании и высоком риске трисомий по хромосомам 21 или 18 по НИПС для ранней подтверждающей диагностики в I триместре допускается проведение аспирации ворсин хориона.
- В случае выявления высокого риска трисомии хромосомы 13, моносомии X, редких и частичных ХА при отсутствии ультразвуковых маркеров хромосомной патологии или пороков развития рекомендовано проведение амниоцентеза. Индивидуальный высокий риск ХА у плода по данным скрининга составляет $\geq 1/100$.

Противопоказаниями к инвазивной пренатальной диагностике являются: инфекционные и воспалительные заболевания любой локализации, угрожающий выкидыш или преждевременные роды. В случаях сенсбилизации по системе Rh(D) необходимо взвесить потенциальную пользу/риск от проведения инвазивной диагностики. [Клинические рекомендации МЗ РФ «Нормальная беременность», 2023]

В день обращения пациентки из группы высокого риска в медико-генетическое отделение ей проводится дополнительное УЗИ врачом-экспертом регионального уровня. При подтверждении риска ХА у плода беременной предлагается проведение инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) для постановки пренатального диагноза с оформлением информированного добровольного согласия/отказа от процедуры. Учитывая время, необходимое для проведения комплекса инвазивной диагностики, на постановку окончательного пренатального диагноза с момента обращения беременной в окружной кабинет пренатальной диагностики (ОКПД) уходит не более 1 недели. В случае диагностики врожденных порогов развития и ХА проводится пренатальный консилиум по дальнейшей тактике ведения данной беременности.

АНЕУСКРИН ИЛМ



Набор реагентов АнеуСкрин ИЛМ предназначен для неинвазивного ДНК-скрининга беременных женщин с целью обнаружения хромосомных аномалий плода – анеуплоидий по аутосомам 13, 18, 21, половым хромосомам X и Y, а также частичных дупликаций и делеций с помощью исследования внеклеточной ДНК плода методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) на платформе Illumina с использованием программного обеспечения (ПО) «АнеуСкрин».

После проведения секвенирования ПО «АнеуСкрин» определяет долю ДНК плода и рассчитывает риск наличия анеуплоидий (низкий/высокий). В случае обнаружения высокого риска трисомии по другим хромосомам ПО «АнеуСкрин» указывает это в заключении по результатам исследования. Также возможно получение дополнительной информации о наличии частичных дупликаций и делеций при участии биоинформатика.



ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ



кровь беременной женщины, начиная с 10 акушерской недели беременности.

В случае необходимости проведения инвазивной диагностики на анеуплоидии возможно выполнение исследования QF-PCR Анеу.

ПРИМЕРЫ БЛАНКОВ РЕЗУЛЬТАТОВ АНЕУСКРИН ИЛМ

Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий (по крови матери)

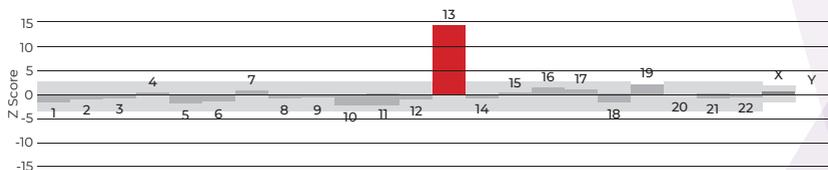
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля плодовой ДНК 6,20. Пол плода женский. Установлен высокий (выше 90%) риск трисомии по хромосоме 13. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.

Название файла	Sample
Доля плодовой ДНК	6,2
Число прочтений	7466945
T Score по 13 хромосоме	15,61
T Score по 18 хромосоме	-2,01
T Score по 21 хромосоме	-0,71
T Score по X хромосоме	1,56
T Score по Y хромосоме	1,23

Примечание: ДНК-скрининг не заменяет диагностические инвазивные тесты. Если данным методом нарушений у плода не выявлено, нельзя полностью исключить анеуплоидии как по исследованным, так и по другим хромосомам. Метод имеет ограничения, в частности, невозможность выявления микроаномалий хромосом, мозаицизма, полиплоидий, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями.

График отклонений (Z Score)



Хромосомная патология	Вызываемое заболевание	Установленный риск	Комментарий
Трисомия 21	Синдром Дауна	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 18	Синдром Эдвардса	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 13	Синдром Патау	>90/100 (>90%)	Риск высокий
Нарушение числа половых хромосом	Синдром Тернера/Трисомия X	<1/100 (<1%)	Риск низкий

Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий (по крови матери)

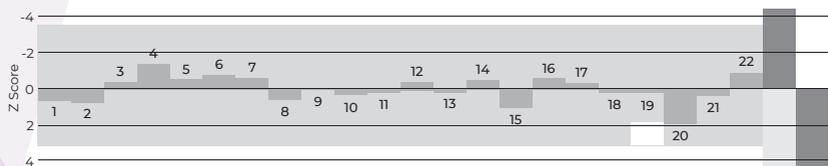
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля плодовой ДНК 8,14. Пол плода мужской. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по исследуемым хромосомам. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.

Название файла	Sample
Доля плодовой ДНК	8,14
Число прочтений	8321835
T Score по 13 хромосоме	-0,36
T Score по 18 хромосоме	0,24
T Score по 21 хромосоме	0,73
T Score по X хромосоме	-19,77
T Score по Y хромосоме	4,66

Примечание: ДНК-скрининг не заменяет диагностические инвазивные тесты. Если данным методом нарушений у плода не выявлено, нельзя полностью исключить анеуплоидии как по исследованным, так и по другим хромосомам. Метод имеет ограничения, в частности, невозможность выявления микроаномалий хромосом, мозаицизма, полиплоидий, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями.

График отклонений (Z Score)



Хромосомная патология	Вызываемое заболевание	Установленный риск	Комментарий
Трисомия 21	Синдром Дауна	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 18	Синдром Эдвардса	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 13	Синдром Патау	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Нарушение числа половых хромосом	XXY (синдром Клайнфельтера)/ XYY (синдром Джейкобс)	<1/100 (<1%)	Риск низкий

ПРИМЕР ВРАЧЕБНОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ*

**Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий
(по крови матери)**

Название направившего учреждения _____
 Номер карты _____ Направивший врач _____
 Ф.И.О. пациента _____
 Дата рождения _____ Возраст _____ полных лет
 Индекс массы тела (ИМТ) _____ кг/м²
 Срок беременности (на момент забора крови) _____
 Количество плодов _____
 Беременность _____ (самостоятельная/ЭКО/донорская яйцеклетка)
 Материал получен «___» _____ 20__г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля плодовой ДНК 8,14. Пол плода мужской. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по исследуемым хромосомам. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.

Хромосомная патология	Вызываемое заболевание	Установленный риск
Трисомия 21	Синдром Дауна	Риск низкий
Трисомия 18	Синдром Эдвардса	Риск низкий
Трисомия 13	Синдром Патау	Риск низкий
Нарушение числа копий половых хромосом	Синдром Клайнфельтера / Синдром Якобса	Риск низкий

Дата «___» _____ 20__г. Врач:

Примечание: ДНК-скрининг не заменяет диагностические инвазивные тесты. Если данным методом нарушений у плода не выявлено, нельзя полностью исключить анеуплоидии как по исследованным, так и по другим хромосомам. Метод имеет ограничения, в частности, невозможность выявления микроаномалий хромосом, мозаицизма, полиплоидий, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями.

* не выдается ПО «АнеуСкрин»



dna-technology.ru



064-1 2024.10.07



ООО «ДНК-Технология»
www.dna-technology.ru
mail@dna-technology.ru
hotline@dna-technology.ru
+7 (495) 640-17-71

8 800 200 75 15 (Звонок по России бесплатный)