



**Использование неинвазивного пренатального тестирования
для обнаружения хромосомных патологий плода и детекция
опухолевых клеток в крови беременной женщины**

Тагирова М.К., Лунькова А.А

*Патологоанатомическое отделение
ФГБУ «НМИЦАГ и П им. В.И. Кулакова» Минздрава России, Россия*

Научно-практическая конференция
ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ
27-28 октября 2017 года

Содержание доклада

- 1. Хромосомные патологии у эмбрионов и в ткани различных опухолей*
- 2. Молекулярное типирование ткани*
- 3. От изучения опухолей к открытию фетальной ДНК в крови матери*
- 4. Примеры комплексного анализа хромосомной патологии плода и хромосомных перестроек в клетках опухолей при беременности*
- 5. Взгляд в будущее*

Хромосомные патологии при разных видах рака

Лимфома Ходжкина :

Дупликации: 17q, 2p, 16p11-13; Делеция 6q

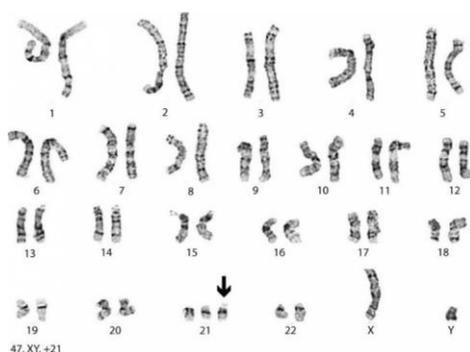
Рак яичников:

- 1) Делеции: (1p21-p31), 1p34.1-p34.3, 3q25-q27, 4q21-q32, 4q32-qter, 5q12-q23, 4q32-qter, 6q16-qter, 8p21-pter, 9p, Xq11.2-q21, Xq21-qter, 18q12-qter и тд.
- 2) Амплификации: 2p15p22, 2q22-q24, 3cen-q23, 3q25-q27, 10p15 и тд.

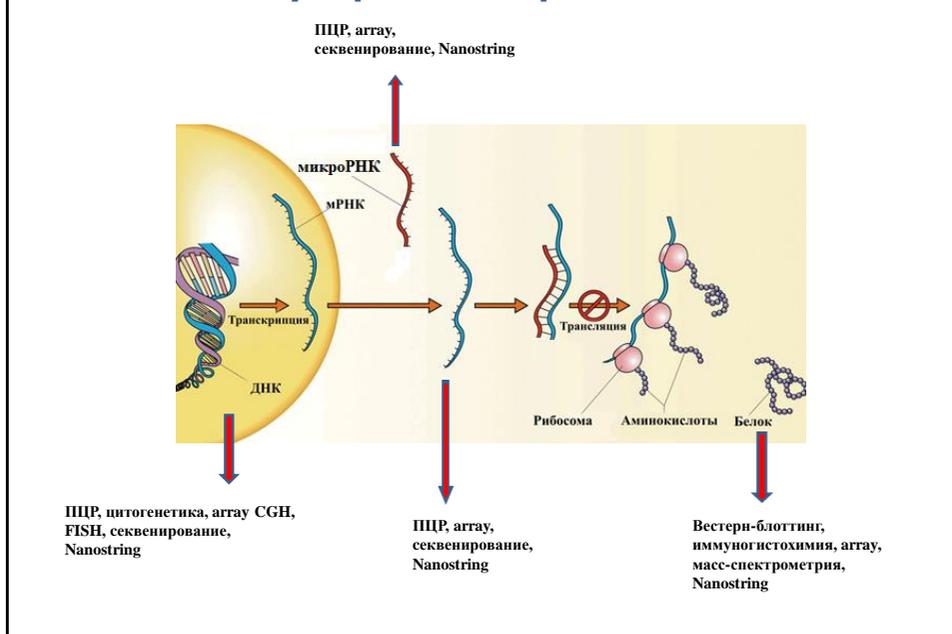
Геномный профиль опухоли –
характеристика генома опухоли
(все структурные, генные перестройки и
взаимодействия между генами)

Хромосомные патологии у эмбрионов

- 1) Синдром Патау (трисомия по хромосоме 13)
- 2) Синдром Эдвардса (трисомия по хромосоме 18)
- 3) Синдром Дауна (трисомия по хромосоме 21)



Молекулярное типирование ткани



От изучения опухолей к открытию фетальной ДНК в крови матери

Исследования по обнаружению ДНК из клеток опухолей в плазме и сыворотке крови онкобольных:

Stroun et al., 1989

Chen et al., 1996
(микросателлиты, плазма, мелкоклеточный рак легкого,)

Nawroz et al., 1996
(микросателлиты, сыворотка, опухоли шеи и мозга)



Dennis Lo et al., 1997

Цель исследования:

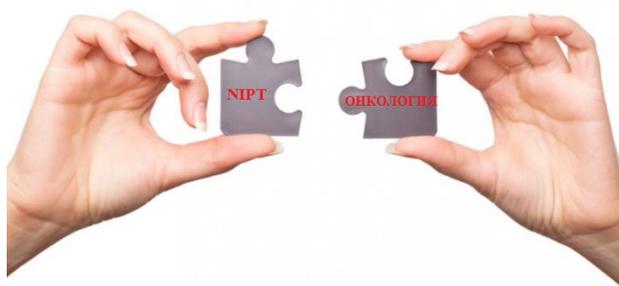
обнаружить фетальную ДНК крови беременной женщины с плодом мужского пола

Метод: ПЦР для оценки наличия хромосомы Y у 43 беременных женщин

Результаты: фетальная ДНК обнаружена 24/30 (80%) в плазме матери 21/30 (70%) в сыворотке матери



**Примеры комплексного анализа
хромосомной патологии плода и хромосомных
перестроек в клетках опухолей при беременности**



Non-invasive detection of genomic imbalances in Hodgkin/Reed-Sternberg cells in early and advanced stage Hodgkin's lymphoma by sequencing of circulating cell-free DNA: a technical proof-of-principle study



Peter Vandenberghe, Ivona Wlodarska, Thomas Tousseyn, Luc Dehaspe, Daan Dierckx, Magali Verheecke, Anne Uyttendaele, Oliver Bechter, Michel Deforge, Vincent Vandecasteele, Nathalie Brisson, Gregor EG Verhoef, Eric Legius, Frederic Amant*, Joris R Vermeesch*

Lancet Haematol. 2015 Feb;2(2):e55-65.

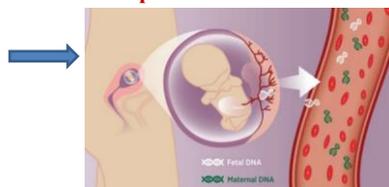
Лимфома Ходжкина — злокачественное заболевание лимфоидной ткани, характерным признаком которого является наличие гигантских клеток Рид — Березовского — Штернберга, обнаруживаемых при микроскопическом исследовании поражённых лимфатических узлов.

Характеристика клеток Рид-Березовского-Штенберга:
0, 1-2% обнаруживаются в биопсии опухоли,
характерны дупликации районов 2p, 9q



27 лет, 12 недель

Неинвазивный пренатальный тест



Вариант 1:

- 1) ДНК плода
- 2) ДНК матери

Вариант 2:

- 1) ДНК плода
- 2) ДНК матери
- 3) ДНК из клеток опухоли

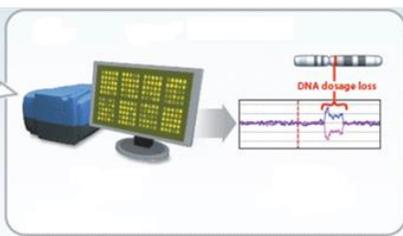
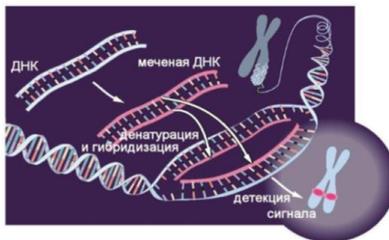
Скрининг на хромосомы 13, 18, 21

Методы использованные в данном исследовании

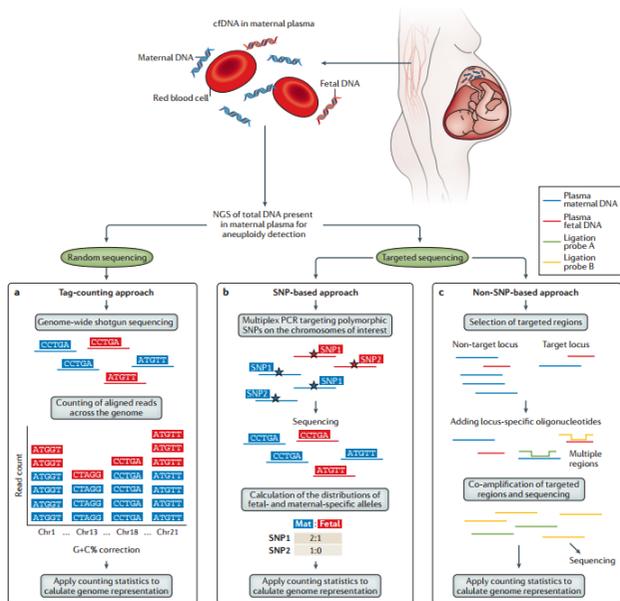
Array CGH



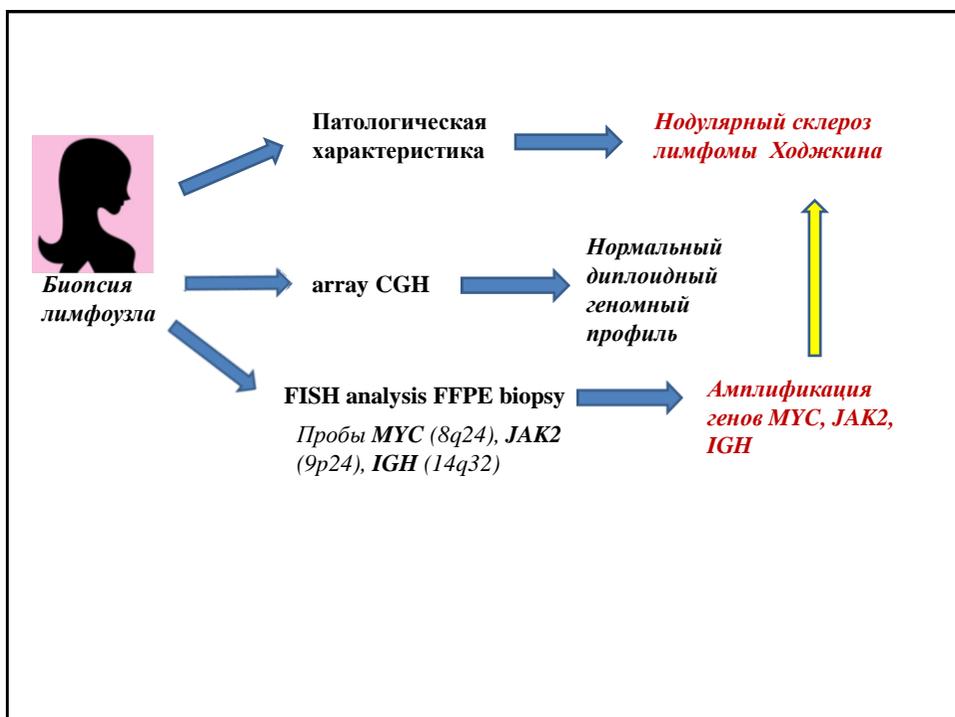
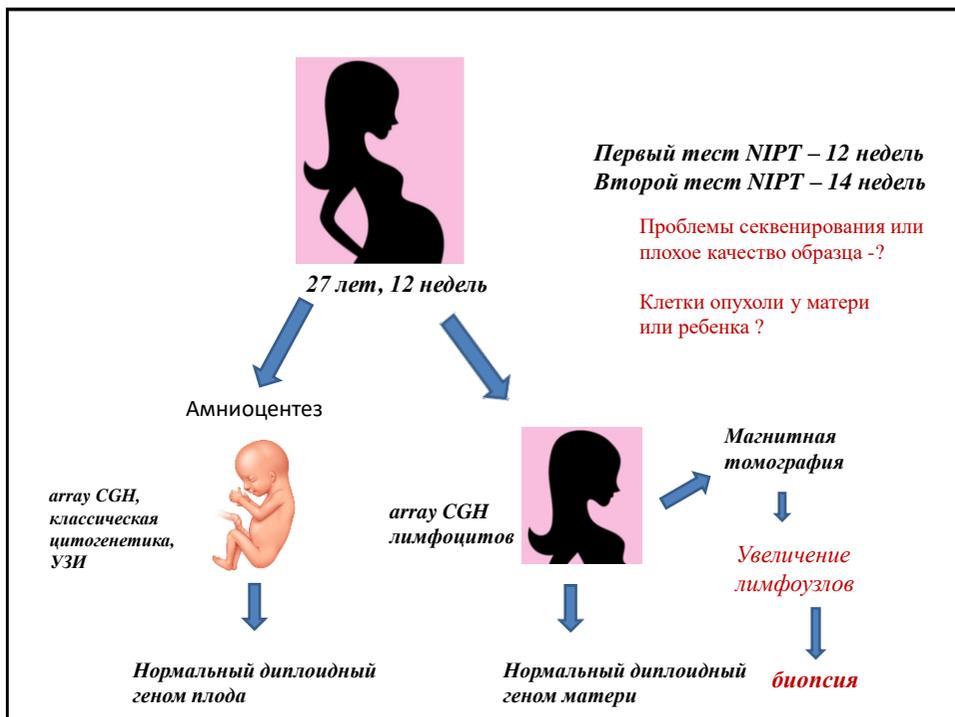
FISH метод



Неинвазивный пренатальный тест (NIPT)



Vermeesch et al., 2016



Цель исследования:

исследование геномного дисбаланса в циркулирующей внеклеточной ДНК при нодулярном склерозе лимфомы Ходжкина

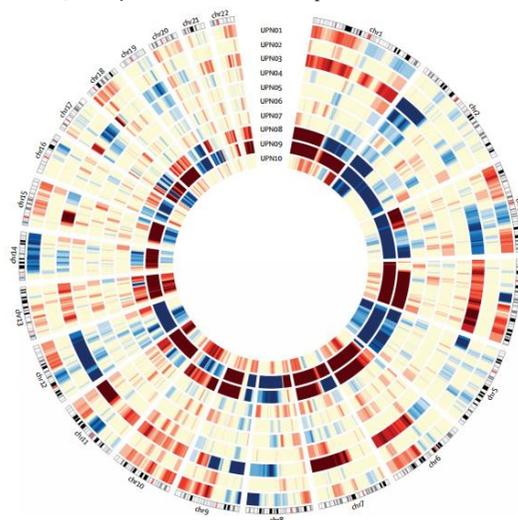
Количество участников: 10

Материал: кровь, парафиновые образцы, замороженная ткань

Методы: иммуногистохимия (Ki67, каспаза 3), array CGH, FISH, секвенирование

Результаты:

- 1) Обнаружены хромосомные перестройки характерные для лимфомы Ходжкина
- 2) Изменения копийности исследуемых отдельных генов, может приводить к изменению экспрессии разных генов
- 3) Все результаты NIPT с детекцией геномного профиля ДНК из клеток Рид — Березовского — Штернберга у исследуемых беременных подтверждались методом FISH
- 4) NIPT можно использовать для неинвазивного мониторинга лечения онкобольных



Research

Research Report

Presymptomatic Identification of Cancers in Pregnant Women During Noninvasive Prenatal Testing

Frédéric Amant, MD, PhD; Magali Verhecke, MD; Iwona Wlodarska, PhD; Luc Dehaspe, PhD; Paul Brady, PhD; Nathalie Brisson, PhD; Kris Van Den Bogaert, PhD; Daan Dierckx, MD, PhD; Vincent Vandecasteele, MD, PhD; Thomas Tousseyn, MD, PhD; Philippe Moerman, MD, PhD; Adriaan Vanderstichele, MD; Ignace Vergote, MD, PhD; Patrick Neven, MD, PhD; Patrick Berteloot, MD; Katrien Putseys, MD; Lode Danneels, MD; Peter Vandenberghe, MD, PhD; Eric Legius, MD, PhD; Joris Robert Vermeesch, PhD

JAMA Oncol. 2015 Sep;1(6):814-9.

4 000 NIPT

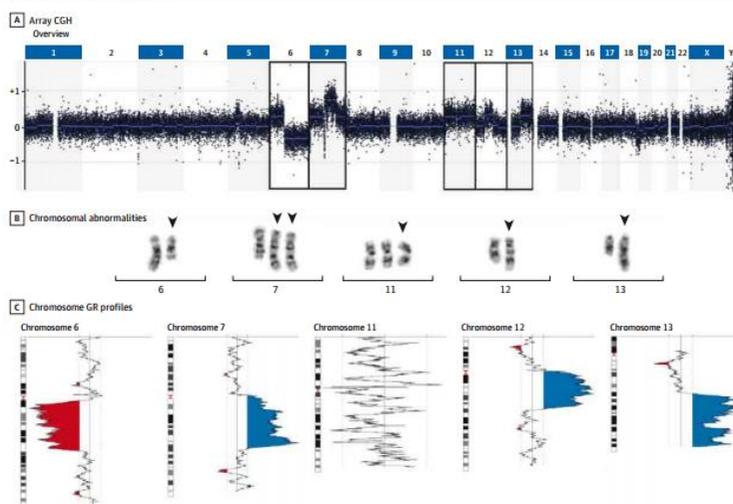


в 3-х случаях
NIPT обнаружил
наличие ДНК опухоли



A, Ovarian carcinoma in patient 1. B, Follicular lymphoma in patient 2. C and D, Hodgkin lymphoma before (C) and after (D) treatment in patient 3. The arrowheads in all panels point to the tumor locations. D, Arrowheads point to areas of treatment response (complete remission).

Figure 3. Array Comparative Genomic Hybridization (CGH) Analysis, Chromosomal Abnormalities, and Genome Representation (GR) Profiles of Follicular Lymphoma (Patient 2)



Cohen et al. BMC Medicine (2016) 14:126
DOI 10.1186/s12916-016-0667-6

BMC Medicine

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Abnormal plasma DNA profiles in early ovarian cancer using a non-invasive prenatal testing platform: implications for cancer screening



Paul A. Cohen^{1,2*}, Nicola Flowers³, Stephen Tong^{4,5}, Natalie Hannan^{4,5}, Mark D. Pertile^{3,8} and Lisa Hui^{2,4,5,6}

Цель исследования: использование NIPT для обнаружения рака яичников (серозная карцинома яичников) на ранней и поздней стадии

Материал: плазма от 32 женщин с раком яичников (16 – ранняя стадия, 16 – поздняя) и 32 контроль

Метод: данные секвенирования были картированы на данные о вариабельности генома данных опухолей (база данных)

Результаты: 13 случаях из 32 было подтверждено наличие рака (6/16 ранняя стадия, 7/16 поздняя стадия); 2 женщины из группы контроля имели дупликации; 12/13 подтвержденных случаев рака яичников имели характерные для данного типа опухоли геномные перестройки.

Заключение: в 40, 6% NIPT показал наличие рака яичников (38% при раннем стадии). Нужно улучшить биоинформатический алгоритм для детекции вариации числа копий в опухолях.

Взгляд в будущее



Характеристика клеток ткани конкретного органа

Патоморфология



**Молекулярная
цитогенетика и генетика**
(хромосомные перестройки,
метильный статус генома,
экспрессия генов)

***Неинвазивный скрининг
патологического состояния***

Спасибо за внимание!

