Сравнительные характеристики некоторых технологий выявления генетических полиморфизмов склонности к тромбофилии

Ольховский И.А.

Красноярский филиал ФГБУ Гематологический научный центр Минздравсоцразвития РФ

Субботина Т.Н., Петухова Е.В.

Сибирский Федеральный Университет

ПРОТОКОЛ ВЕДЕНИЯ ВСЕРОССИЙСКОГО РЕГИСТРА

«Генетические факторы риска тромбоза у граждан проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе»

PROCEEDINGS OF ALL-RUSSIAN REGISTER «GENETIC FACTORS OF THROMBOSIS RISK AMONG PEOPLE LIVING IN RUSSIAN FEDERATION; CLINICAL PHENOTYPING AND THROMBOPROPHYLAXIS OF THROMBOEMBOLIC COMPLICATIONS IN ONTOGENESIS»

А.П. Момот, Е.В. Ройтман, П.В. Свирин, И.А. Ольховский, Н.Н. Кузнецов, М.Л. Филиппенко, В.А. Елыкомов, П.А.Жарков, Л.П. Цывкина, Г.В. Сердюк, А.В. Федоров, Ю.Ф. Лобанов, У.А. Боярских, В.А. Плюшкин, В.В. Шкрябунова

ПРОГРАММА:
Генетическое лабораторное тестирование на предрасположенность к тромбозам

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАМН
КРАСНОЯРСКИЙ ФИЛИАЛ

О проекте

http://anketa.labkurs.ru/

Мы рады сообщить Вам о возможности проведения в рамках гранта Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности. высокотехнологичных молекулярно-генетических исследований, направленных на выявление генетических аллельных полиморфизмов и мутаций, ассоциированных с высоким риском развития сосудистых тромбозов (инфаркт, инсульт, ТЭЛА, патология беременности и родов). Наличие некоторых из данных мутаций вызывает повышение риска сосудистых тромбозов в 50 и более раз, особенно опасным является сочетание генотипа FV L (Лейдена) с приемом некоторых контрацептивных и иных стероидных препаратов. Исследования будут включать следующие тесты (правый столбец -обязательные, слева - опция в зависимости от решения врача на консультативном приеме:

Генотип Ляйден	Метионин-синтаза MTR D919G (Asp919Gly)
Мутация протромбина	Мутация Интегрина (бета -3)
Мутация метилентетрагидрофолатредуктазы	Мутация-1 интегрина альфа 2
Мутация Коагуляционного фактора VII	Мутация тромбоцитарного гликопротеина 1b, а -субъединицы
Мутация Ингибитора активатора плазминогена	Мутация АДФ-рецептора тромбоцитов P2RY12 (H1/H2),

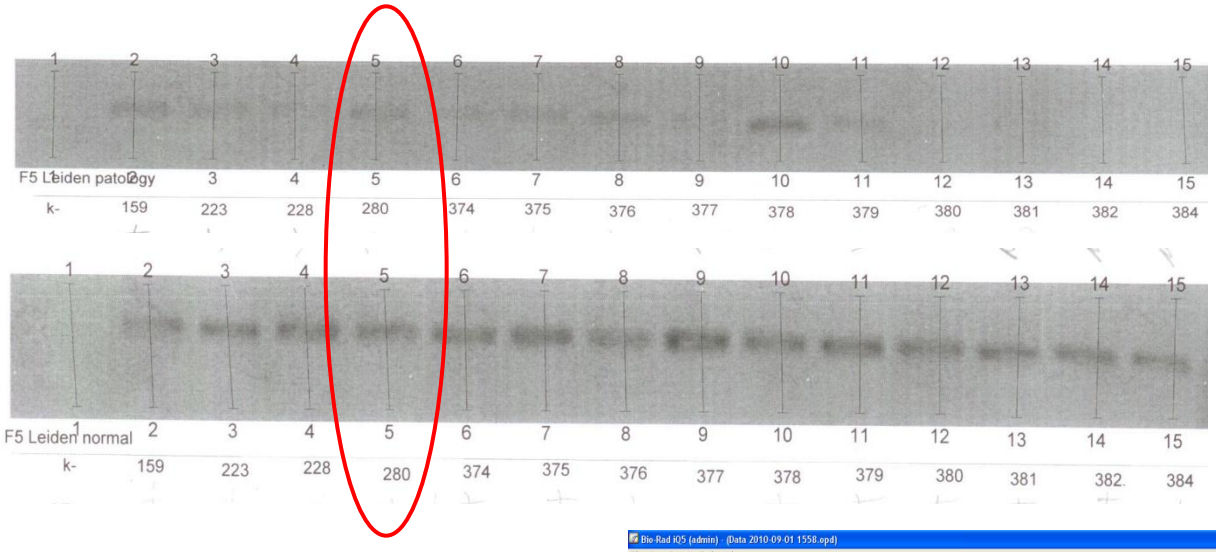
Тестирование будет проводиться методами «классической» ПЦР, а также в подтверждении на технологиях Реал-Тайм ПЦР, Биочип и секвенирование. Полная программа молекулярно-генетического тестирования рассчитана на 3 месяца. Лица с выявленным генетическим риском будет приглашены на консультацию к врачу гематологу красноярского филиала ГНЦ РАМН, они будут иметь возможность бесплатно пройти углубленное обследование системы гемостаза и получить квалифицированные рекомендации.

Вам предлагается принять добровольное участие в научном клиническом генетическом исследовании полиморфизма генов, участвующих в процессе

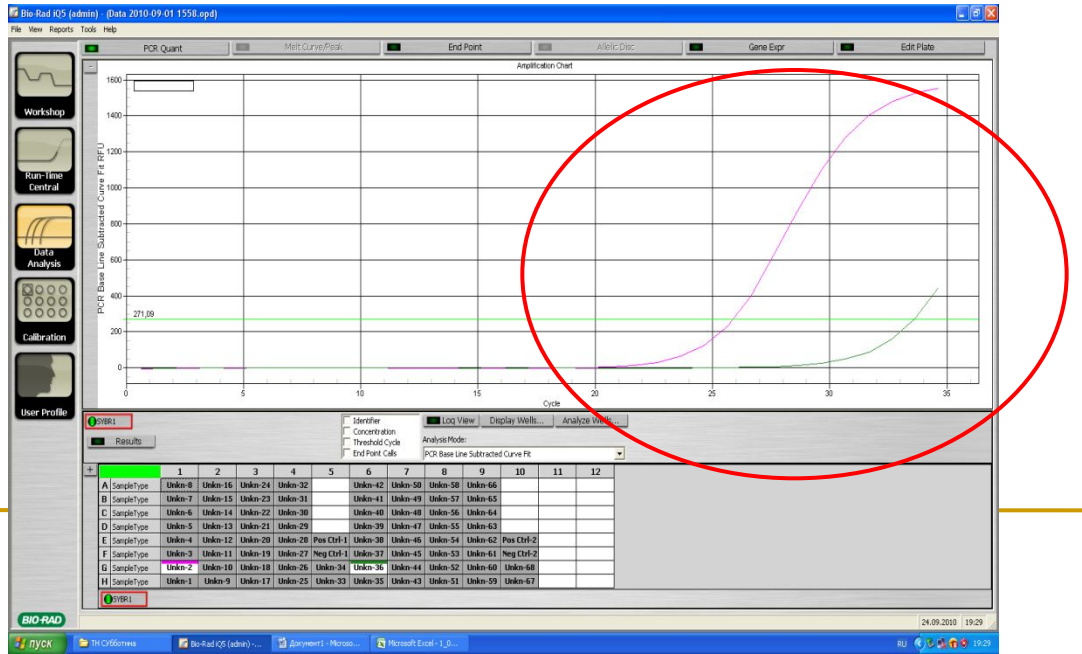
Реальная практика: надежность генетического тестирования в клинической ПЦР лаборатории

- Первично сомнительных результатов: от 2,5% (F2) до 22% (PAI-1)
- Совпадения с результатами арбитражных тестов: от 96% (F7) до 89% (MTHFR)
- Остаются спорными– 0,5% (PAI-1)
- Основные проблемы: подготовка персонала и контаминация проб

Сравнение технологий



Эл. форез



РТ ПЦР

Технологии	Затраты	Выделение ДНК	Амплификация	Детекция
ПЦР –ЭФ (НПФ «Литех»)	Стоимость реагентов (руб)	**26,1**	**28,7**	**10,1**
	Трудозатраты (мин)	**2,8**	**8,1**	**15,2**
ПЦР –РТ (НПФ «Литех»)	Стоимость реагентов	**26,1**	**44,5**	
	Трудозатраты	**2,8**	**4,4**	
ПЦР –РТ (ООО «Синтол»)	Стоимость реагентов	**42,6**	**42,3**	
	Трудозатраты	**7,9**	**4,4**	
«ФИБР-БИОЧИП» (ООО Биочип-МПБ») - **одновременная оценка 5 SNP*	Стоимость реагентов	**86,3**		
	Трудозатраты	**5,2**		
Биолюминесцентный тест ИБ СО РАН * *на стадии разработки*	Стоимость реагентов	**-**	**23,0**	**13,0**
	Трудозатраты	**-**	**1,7**	**0,8**

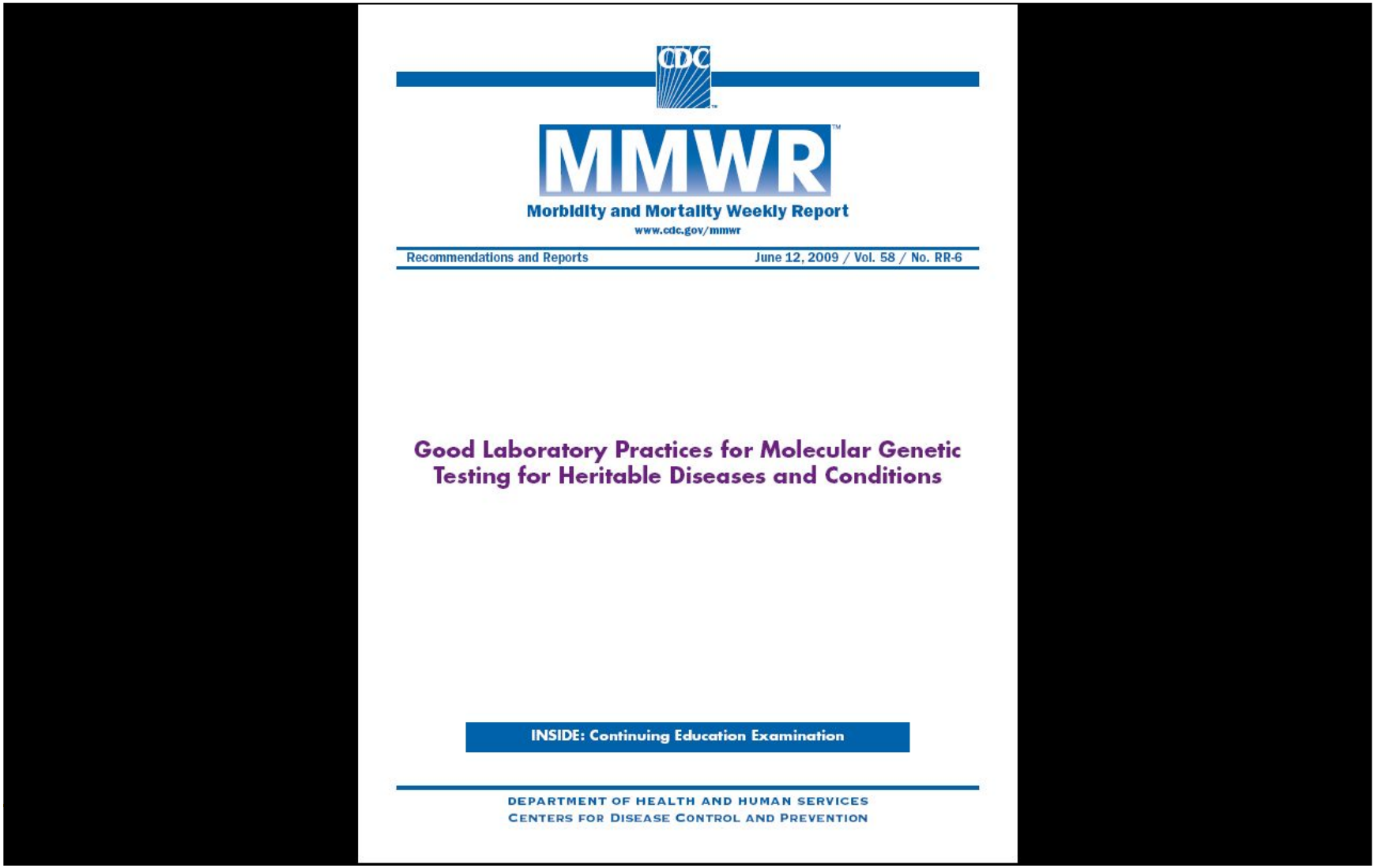
Аналитический метод	Полиморфизм генов	Количество «элементарных» манипуляций на один окончательный результат	
		Расчетное	Реально выполнено
ПЦР (экспресс-выделение, амплификация и ЭФ детекция)	**MTHFR**	**2,6**	**4,1**
	PAI-1	**2,6**	**6,2**
	F5	**2,6**	**4,4**
	F7	**2,6**	**3,9**
	F2	**2,6**	**5,3**
ПЦР-РТ (экспресс-выделение, амплификация детекция РТ)	**MTHFR**	**1,52**	**1,66**
	F5	**1,52**	**1,62**
	F2	**1,52**	**1,62**

По результатам международного внешнего контроля качества ошибки тестирования SNP в формате ПЦР - от 3% до 15%

[*Hertzberg M, e.a 2005, External Quality Assurance of DNA Testing for Thrombophilia Mutations*]

Рекомендуется проведение повторных подтверждающих исследованной (!)

Качество генетического тестирования : требования к лаборатории



CDC

MMWR

Morbidity and Mortality Weekly Report

www.cdc.gov/mmwr

Recommendations and Reports — June 12, 2009 / Vol. 58 / No. RR-6

Good Laboratory Practices for Molecular Genetic Testing for Heritable Diseases and Conditions

INSIDE: Continuing Education Examination

DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION

IVD - In Vitro Diagnostics

1 records returned meeting your search criteria - ***FV Leiden*** to *Oct 03, 2011*

New Search | Export to Excel | help

Document Number	Company	Device Name	Date Approved
K093974	OSMETECH MOLECULAR DIAGNOSTICS	ESENOR FII-FV-MTHFR GENOTYPING TEST, ESENOR FII-FV GENOTYPING TEST, ESENOR FII GENOTYPING	Apr 22, 2010

We welcome your comments and feedback about IVD - In Vitro Diagnostics.

Page Last Updated: 09/10/2011

Прогностическая значимость

Генетические факторы риска при травмо опасных видах спорта

- 4 из 63 (6,3%) квалифицированных спортсменов гетерозиготы Лейдена
  - Может ли полиморфизм служить поводом отказа от спортивной карьеры?

Что сдерживает генетический скрининг на тромбофилии?

- Вероятностный характер прогноза
- Отсутствие эффективных программ мониторинга и доклинической профилактики развития заболеваний
- Стоимость тестирования
- **Отсутствие системы гарантий качества результатов**

Актуальные вопросы

- Контроль качества генетического тестирования:
  - разработка «стандартных панелей»;
  - включение в программу ФСВОК
- Проспективные исследования и клинико-экономический анализ эффективности
- Национальное руководство по проведению тестирования на генетические маркеры тромбофилий