

Continguts: www.acclc.cat/ivv_docs.php?any=2015*In vitro veritas*Pàgina web de la revista: www.acclc.cat/ivv.php

Recomanació

Recomanacions per a l'aplicació clínica de l'estudi del DNA fetal en la sang materna per a la detecció d'aneuploidies

Secció d'Ecografia i Medicina Fetal de la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia, Secció de Medicina Materno-Fetal de la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia, Comissió de Genètica i Reproducció Humana del Col·legi de Biòlegs de Catalunya, Grup de Genètica Clínica i Dismorfologia de la Societat Catalana de Pediatria, Grup de Bioquímica del Programa de Diagnòstic Prenatal de Catalunya

Alberto Plaja Rustein ^a, Antoni Borrell Vilaseca ^b, Elena Casals Font ^c, Francesc Figueres Retuerta ^d, Miquel del Campo Casanelles ^e, Rosana de la Chica Díaz ^f, Lluís Armengol Dulcet ^g, Vincenzo Cirigliano ^h

^a Membre de la Comissió de Genètica i Reproducció Humana del Col·legi de Biòlegs de Catalunya

^b President de la Secció d'Ecografia i Medicina Fetal de la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia

^c Coordinadora del Grup de Bioquímica del Programa de Diagnòstic Prenatal de Catalunya

^d Secretari de la Secció de Medicina Materno-fetal de la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia

^e Membre del Grup de Genètica Clínica i Dismorfologia de la Societat Catalana de Pediatria

^f Coordinadora de la Comissió de Genètica i Reproducció Humana del Col·legi de Biòlegs de Catalunya

^g Assessor (Q-Genomics)

^h Assessor (Labco Diagnostics)

2015 © Publicat per l'Associació catalana de ciències de Laboratori Clínic

1. Introducció

1.1. DNA fetal extracel·lular

Existeixen fragments de DNA fetal extracel·lular en la sang materna de procedència placentària (d'ara endavant, DNAfe) que es poden estudiar per a conèixer el nombre de còpies d'uns cromosomes determinats (21, 18, 13, X i Y) en el fetus (1, 2). Tot i que l'estudi del DNAfe és útil en el cribratge avançat d'aneuploidies, en el cas que s'obtingui un resultat positiu, es necessita d'una confirmació dels resultats obtinguts mitjançant la realització d'altres estudis que requereixen procediments invasius.

1.2. Procediments analítics

Els tres principals procediments analítics per a l'estudi d'aneuploidies en el DNAfe es basen en la seqüenciació paral·lela massiva a l'atzar (*Shotgun Massive Parallel Sequencing*), que seqüencia fragments de tots els cromosomes i després determina el nombre de còpies d'uns cromosomes determinats (3, 4), la seqüenciació paral·lela massiva dirigida (*Targeted Massive Parallel Sequencing*), que només estudia els

cromosomes d'interès (5) i, finalment, un procediment que permet estudiar les distribucions de polimorfismes d'un únic nucleòtid (d'ara endavant SNP) dels cromosomes estudiats en la mare i el fetus (6). No hi ha motius científics clars per optar per un procediment o un altre, a part que l'ovodonació i les gestacions múltiples impossibiliten estudiar la distribució d'SNP materna o multifetals, respectivament. El procediment basat en els SNP es pot realitzar a partir de les 9 setmanes de gestació i la resta a partir de les 10 setmanes. Els diferents procediments disponibles ofereixen sensibilitats diagnòstiques similars per a les aneuploidies, i la majoria ofereixen l'estudi opcional d'algunes síndromes microdelecionals. Tot i que hi ha síndromes microdelecionals molt prevalents (1/2000 microdelecció 22q11/diGeorge), la seva inclusió en el cribratge prenatal és actualment controvertida.

1.3. Eficàcia diagnòstica de l'estudi del DNAfe

Una recent metanàlisi recull que la taxa de detecció de la trisomia 21 mitjançant la realització de l'estudi del DNAfe és actualment d'un 99,0 %, amb un percentatge de falsos positius del 0,08 % (7). Per a les trisomies 18 i 13, les taxes de detecció

són del 96,8 % i 92,1 % amb un percentatge de falsos positius del 0,15 % i 0,20 %, respectivament. Per a la monosomia X, la taxa de detecció és del 88,6 % i per a les altres aneuploidies sexuals és d'un 93,8 %, amb un percentatge de falsos positius del 0,24 %. Així, si s'estudien les aneuploidies d'aquests 5 cromosomes, el percentatge total de falsos positius és d'un 0,67 % (7). Una part d'aquests falsos positius podrien explicar-se per causes biològiques com són el mosaïcisme placentari o matern, un bessó evanescent o una neoplàsia materna.

També cal tenir en compte que hi ha una taxa de no-resultat final relativament elevada, que varia entre l'1 % i el 7 % segons el procediment utilitzat, després de repetir-se l'estudi per un primer no-resultat. Aquest grup de gestacions tenen un alt risc d'aneuploidia (4 %) (8) i, per tant, aquesta situació es pot considerar com una indicació de procediment invasiu. La majoria dels informes inclouen la fracció fetal (d'ara endavant FF) de DNAfe, com a percentatge del DNAfe sobre el total del DNA lliure en circulació materna. La FF està situada al voltant del 10 %, augmenta amb l'edat gestacional i disminueix amb la massa materna. Es considera que una FF del 4 % és el mínim requeriment per donar un resultat fiable. En el cas d'obtenir un valor de FF < 4 %, s'ha de repetir l'extracció de sang materna.

2. Recomanacions

2.1. Indicacions en gestants d'alt risc

La majoria dels estudis publicats s'han realitzat en població d'alt risc de patir la trisomia 21, 18 i 13 i és en aquesta població on està ben establerta la indicació de l'estudi del DNAfe en substitució dels estudis que requereixen la realització d'un procediment invasiu d'entrada (3, 6, 7). En el nostre medi, l'alt risc es defineix com un risc $\geq 1/250$ al cribratge combinat de primer trimestre, o en el seu defecte en el segon trimestre, o bé en cas d'aneuploidia prèvia. En canvi, en cas de molt alt risc d'anomalia cromosòmica, com ara en cas d'anomalia fetal ecogràfica, de translucència nucal augmentada o de restricció de creixement de segon trimestre, es recomana realitzar directament estudis basats en l'ús de micromatrius (*microarray* en anglès) els quals necessiten d'un procediment invasiu. En cas d'anomalia cromosòmica genètica en progenitors caldria individualitzar l'assessorament segons l'anomalia.

L'avantatge principal de l'estudi del DNAfe és que es poden evitar una gran quantitat de procediments invasius i la seva iatrogènia, que una recent metanàlisi quantifica en un risc de pèrdua fetal del 0,11 % post-amniocentesi i del 0,22 % post-biòpsia corial (9). En la seva aplicació en la sanitat privada, el cost de l'estudi del DNAfe externalitzat és similar o inferior al d'altres estudis actuals que requereixen de procediments invasius basats en el cariotipatge i en QF-PCR (acrònim de l'anglès *quantitative fluorescence polymerase chain reaction*). Els principals inconvenients de l'estudi del DNAfe és que no detecta el 100 % de les trisomies estudiades i que, de manera similar a la QF-PCR, en la població general deixaria de detectar un 23 % de les anomalies citogenètiques clínicament significants detectables en un cariotip, que representen una incidència del 0,14 % (10). Aquests percentatges de no detecció disminueixen en la població d'alt risc i augmenten en la població de baix risc. Per la seva aplicació en la sanitat pública, existeixen problemes logístics addicionals deguts a que totes les mostres que s'obtenen al nostre país es processen en laboratoris estrangers.

2.2. Altres gestacions

Les evidències científiques més recents apunten que l'estudi del DNAfe també és útil en gestacions de baix risc, però la informació existent en l'actualitat encara resulta insuficient (4,

5). Les dades publicades indiquen que si l'estudi del DNAfe s'utilitzés com a cribratge, tindria una taxa de detecció superior i un percentatge de falsos positius inferior als estudis que s'estan oferint a Catalunya en l'actualitat per al cribratge combinat de primer trimestre, els quals detecten el 90 % de les 3 trisomies, amb un 4 % de falsos positius. De tota manera, el seu preu actual (600-800 euros) el fan inviable com a cribratge en tota la població gestant.

En gestacions múltiples la seva eficiència diagnòstica disminueix, ja que la taxa de detecció de la trisomia 21 és d'un 94 % (7).

2.3. Formació i assessorament genètic

Prèviament a la seva introducció a la pràctica clínica, hagués calgut realitzar una formació dels professionals de la salut, independent de les companyies comercials. En realitat, l'estudi del DNAfe s'ha publicat des d'aquestes companyies directament al consumidor, dificultant que obstetres, llevadores i gestants tinguin una informació contrastada sobre els avantatges i les limitacions d'aquests estudis.

Com a qualsevol estudi genètic, cal realitzar un assessorament genètic previ per part de professionals qualificats, per assegurar-se que la gestant/parella han rebut i entès la informació adequada (no és una estudi que serveix per al diagnòstic, només dona informació sobre les trisomies més freqüents i no reemplaça els estudis que precisen procediments invasius) (11-14). Igual que passa amb els estudis de cariotipatge, els quals necessiten de la realització d'un procediment invasiu, cal informar sobre les possibles troballes d'aneuploidies sexuals, anomalies cromosòmiques que no inclouen la discapacitat intel·lectual en les seves conseqüències fenotípiques i que no són acceptades com a motiu d'interrupció legal de l'embaràs en molts centres.

En l'assessorament genètic posterior, en el cas d'obtenir un resultat positiu, s'ha d'oferir la realització d'estudis que precisen d'un procediment invasiu per a la confirmació dels resultats. En el cas d'obtenir un resultat negatiu, cal remarcar que no es descarta totalment l'existència de les trisomies estudiades, ni d'altres alteracions genètiques no estudiades. Si en aquest cas la parella optés per la realització d'estudis que requereixen d'un procediment invasiu, s'hauria de plantejar dur a terme estudis basats en la utilització de micromatrius en comptes d'estudis de cariotipatge, ja que hi ha més risc de microdeleccions que no pas de trisomies.

3. Perspectives futures

En l'actualitat, algun servei nacional de salut europeu comença a oferir l'estudi d'aneuploidies fetals a partir de l'estudi del DNAfe en població d'alt risc, i aquestes mostres ja es comencen a processar en laboratoris europeus acadèmics, els quals no depenen de les 5 grans companyies comercials que han desenvolupat els diferents procediments que permeten l'estudi del DNAfe (15). Seguint aquest model, caldria disposar d'un laboratori propi a Catalunya que realitzés aquests estudis i procediments d'una manera independent.

A mig camí entre les opcions d'oferir l'estudi del DNAfe només en la població d'alt risc, o d'oferir universal a tota la població gestant, en la sanitat pública d'Europa s'està obrint camí l'estratègia de definir un grup de risc intermedi després del cribratge combinat de primer trimestre (per exemple en els riscos compresos entre 1/50 i 1/3000) que permeti afavorir la realització d'aquest estudi. En gestacions de més alt risc s'oferiria la realització de la biòpsia corial i en els de més baix risc, no caldria cap estudi addicional. Aquesta estratègia, adreçada a reduir costos, també s'hauria d'explorar al nostre país en el marc d'un pla pilot.

Bibliografia

- (1) Lo YM, Chiu RW. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidies by maternal plasma nucleic acid analysis. *Clin Chem* 2008;54:461-6.
- (2) Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:16266-71.
- (3) Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, van den Boom D, *et al.* DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 2011;13:913-20.
- (4) Bianchi DW, Rava RP, Sehnert AJ. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014;371:578.
- (5) Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Birdir C, Touzet G. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:374.e1-6.
- (6) Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, Hall MP, Stosic M, Demko Z, *et al.* Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J Obstet Gynecol* 2014;211:527.e1-17.
- (7) Gil MM, Akolekar R, Quezada MS, Bregant B, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: meta-analysis. *Fetal Diagn Ther* 2014;35:156-73.
- (8) Quezada MS, Del Mar Gil M, Francisco C, Oròsz G, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 cell-free DNA analysis of maternal blood at 10-11 weeks' gestation and the combined test at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014. DOI: 10.1002/uog.14664.
- (9) Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014. DOI: 10.1002/uog.14636.
- (10) Petersen OB, Vogel I, Ekelund C, Hyett J, Tabor A, Danish Fetal Medicine Study Group, Danish Clinical Genetics Study Group. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43:265-71.
- (11) Benn P, Borell A, Chiu R, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, *et al.* Position statement from the Aneuploidy Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn* 2013;33:622-9.
- (12) American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol* 2012;120:1532-4.
- (13) Gregg AR, Gross SJ, Best RG, Monaghan KG, Bajaj K, Skotko BG, *et al.* ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genet Med* 2013;15:395-8.
- (14) Oepkes D, Yaron Y, Kozłowski P, Rego de Sousa MJ, Bartha JL, van den Akker ES, *et al.* Counseling for non-invasive prenatal testing (NIPT): what pregnant women may want to know. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:1-5.
- (15) Beulen L, Grutters JP, Faas BH, Feenstra I, van Vugt JM, Bekker MN. The consequences of implementing non-invasive prenatal testing in Dutch national health care: a cost-effectiveness analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;182:53-61.