



Συμβουλευτική στο ελεύθερο εμβρυικό DNA: Σύνδρομο Down

Γεροβασίλη Αγγελική AKC, BSc, MSc, PhD

Γενετίστρια
Διδάκτωρ Πανεπιστημίου King's College του Λονδίνου

Επιστημονική Υπεύθυνος Safembryo
Επιστημονικός Συνεργάτης ΤΕΙ Θεσσαλίας και
Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας



safembryo
Prenatal Genetics & Research

Τι είναι το Σύνδρομο Down;

- Το σύνδρομο Down, (ή τρισωμία 21), είναι μια χρωμοσωμική ανωμαλία που προκαλείται από την παρουσία ενός τρίτου αντίγραφου του χρωμοσώματος 21.
- Η πιο συχνή χρωμοσωμική ανωμαλία στον άνθρωπο.
- 1/800 γεννήσεις στον γενικό πληθυσμό.
- Χαρακτηρίζεται από νοητική υστέρηση, καθυστερημένη σωματική ανάπτυξη, συγγενείς καρδιοπάθειες και ένα σύνολο συγκεκριμένων χαρακτηριστικών του προσώπου.



Η ηλικία της μητέρας και το σύνδρομο Down

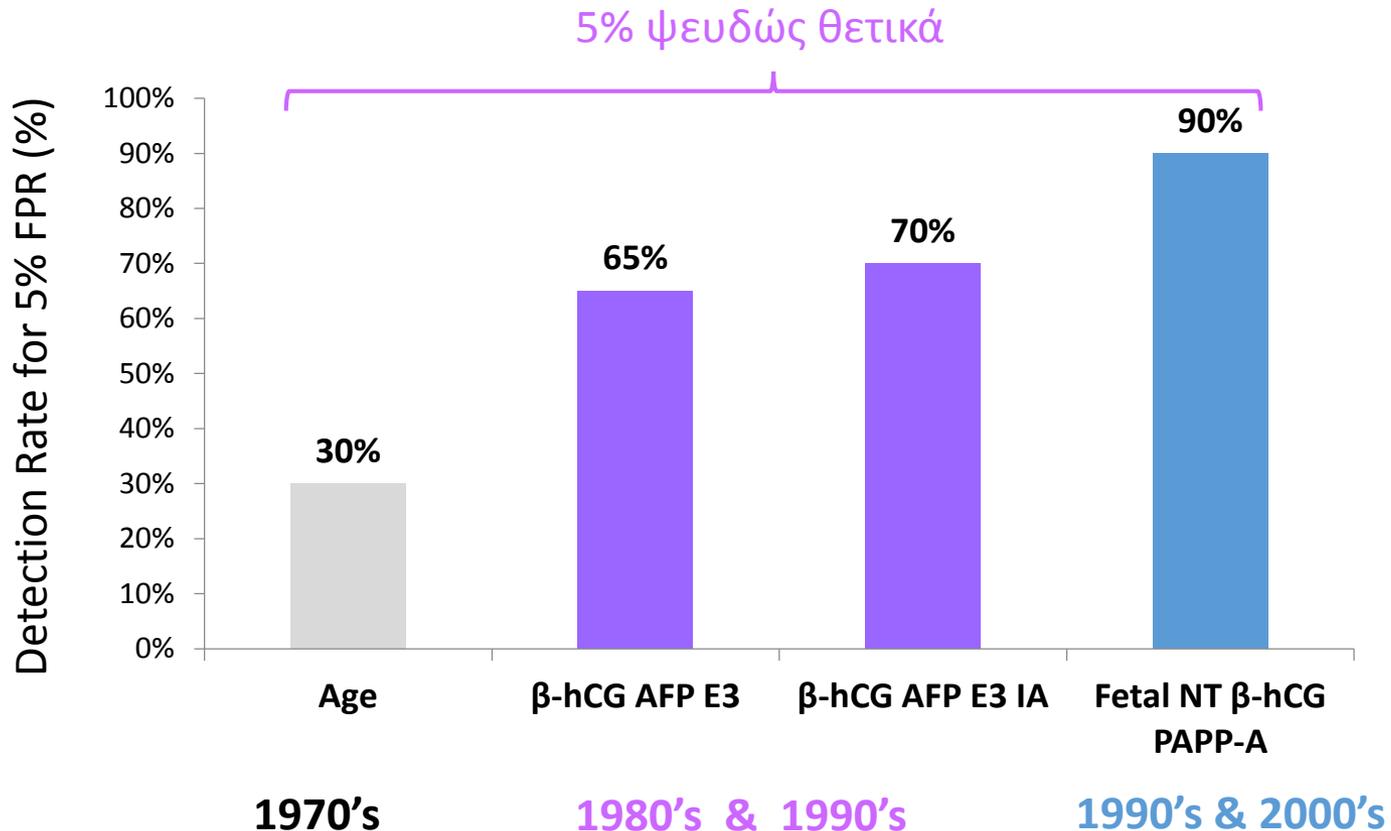
- Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ως επί το πλείστο **ΔΕΝ** είναι κληρονομικές.
- Όσο μεγαλύτερη είναι μια γυναίκα, τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος να κυοφορεί ένα έμβρυο με σύνδρομο Down.
- Το 70% των βρεφών με σύνδρομο Down γεννιούνται από γυναίκες κάτω των 35 ετών, με μέση ηλικία τα 28 έτη.
- Η καλύτερη περίοδος για την ανίχνευσή τους είναι κατά τη διάρκεια της κύησης

Η ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΣΥΝΔΡΟΜΟΥ DOWN ΚΑΙ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΧΡΩΜΑΤΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ ΤΗΣ ΜΗΤΕΡΑΣ

ΗΛΙΚΙΑ ΜΗΤΕΡΑΣ	ΣΥΝΔΡΟΜΟ DOWN	ΧΡΩΜΟΣΩΜΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ
20	1/1220	
21	1/1150	
22	1/1060	
23	1/1000	
24	1/950	
25	1/890	
26	1/840	
27	1/800	
28	1/760	
29	1/720	
30	1/680	1/540
31	1/650	1/370
32	1/560	1/280
33	1/450	1/220
34	1/350	1/170
35	1/270	1/140
36	1/210	1/100
37	1/165	1/80
38	1/130	1/60
39	1/100	1/50
40	1/70	1/40
41	1/50	1/30
42	1/40	1/25
43	1/30	1/20
44	1/25	1/15
45	1/20	1/12
46	1/15	1/9
47	1/12	1/7
48	1/9	1/6
49	1/7	1/4

Chromosomal Abnormality Rates at Amniocentesis and in Live-Born Infant.
Ernest B. Hook, MD; Philip K. Cross; Dina M. Schreinemachers, MS, JAMA,
1983,249:15

Ανίχνευση του Συνδρόμου Down



Ο προγεννητικός έλεγχος επικεντρώνονταν παραδοσιακά στην Τρισωμία 21

Υπερηχογράφημα 1ου τριμήνου Ανίχνευση Συνδρόμου Down



100.000 εγκυμοσύνες

Τρισωμία 21: 200

99.800 ΚΦ

ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ

%

Ανίχνευση

Ψευδώς θετικά

Ηλικία μητέρας

30%

60

10%

9980

ΑΔ + ΡΑΡΡ-Α 12 εβδ

90%

180

5%

4990

ΑΔ +EXTRA+ ΡΑΡΡ-Α

97%

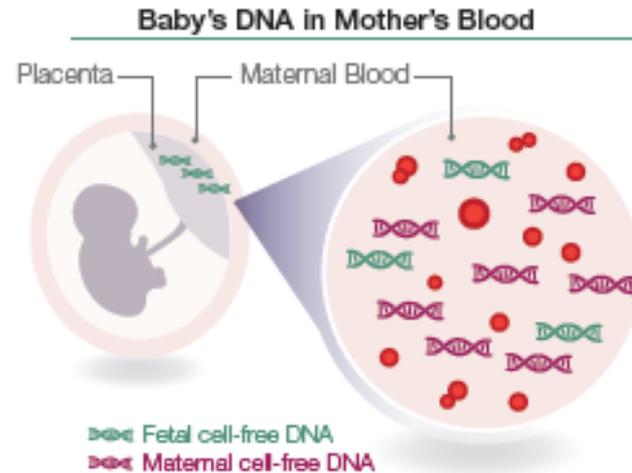
194

3%

2994

3188 επεμβάσεις (CVS / αμνιο) για την ανεύρεση 194 Down

Ελεύθερο Εμβρυϊκό DNA



Το 1997 στο Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης, ο **Dennis Lo** και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν την παρουσία ελεύθερου εμβρυϊκού DNA στο αίμα της εγκύου

(Lo et al., 1997)

- Το cfDNA αποτελείται από μικρά θραύσματα ολόκληρου του γενετικού υλικού που δεν περιέχονται εντός των κυττάρων, αλλά κυκλοφορούν ελεύθερα στο αίμα της μητέρας.
- Σε κυήσεις με σύνδρομο Down, το ελεύθερο DNA του χρωμοσώματος 21 είναι περισσότερο σε σύγκριση με φυσιολογικές κυήσεις.

Μη Επεμβατικό Προγεννητικό Τεστ (NIPT ή cfDNA)

Το 2011 εγκαινιάστηκε το πρώτο μη επεμβατικό προγεννητικό τεστ cfDNA



- Απλή αιμοληψία από το χέρι
- Οπουδήποτε ανά τον κόσμο
- Από την 9^η εβδομάδα της κύησης (εφόσον υπάρχει επαρκές εμβρυικό DNA)
- Χρόνος αποτελέσματος: 7-10 ημέρες.

Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis

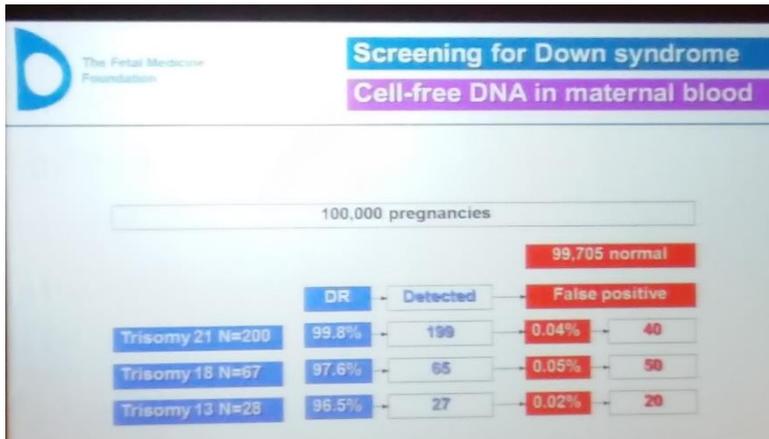
M. M. GIL^{1,2,3} , V. ACCURTI¹, B. SANTACRUZ², M. N. PLANA⁴  and K. H. NICOLAIDES¹

Ultrasound Obstet Gynecol 2017; 50: 302–314

Published online 27 July 2017 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uog.17484

Aneuploidy	Unaffected Cases	Aneuploidy Cases	Detection Rates	95% CI	FPR
Trisomy 21	223932	1963	99,7%	99.1-99.9%	0.04%
Trisomy 18	222013	563	97,9%	94.9-99.1%	0.04%
Trisomy 13	212883	119	99.0%	65.8-100%	0.04%
45,XO (Turner's)	7676	36	95.8%	70.3-99.5%	0.14%
Other Sex Chrom. Abn (47XXX, 47XXY, 47XYY)	5400	17	100%	83.6-100%	0.004%
Trisomy 21 in twins	1111	24	100%	95.2-100%	0.0%

Αμνιοπαρακέντηση μετά το NIPT



100.000 εγκυμοσύνες

FMF Λονδίνο Δεκ 2016

Ανωμαλία	%	Ανίχνευση	Ψευδώς θετικά
ΑΔ +EXTRA+ PAPP-A	97%	194	3% 2994
Τρισωμία 21 N=200	99,8%	199	0,04% 40

99.800 ΚΦ

239 επεμβάσεις (CVS/αμνιο) για την ανεύρεση 199 T21

Προτεινόμενο μοντέλο contingent προγεννητικού ελέγχου

Ποσοστό
Συνδρόμων
Down που
ανιχνεύονται

Προτεινόμενες ενέργειες

CVS/ αμνιοπαρακέντηση
(0.5% πιθανότητα αποβολής)
3.9% εγκυμοσυνών

cfDNA ΤΕΣΤ
ακίνδυνο
30% εγκυμοσυνών

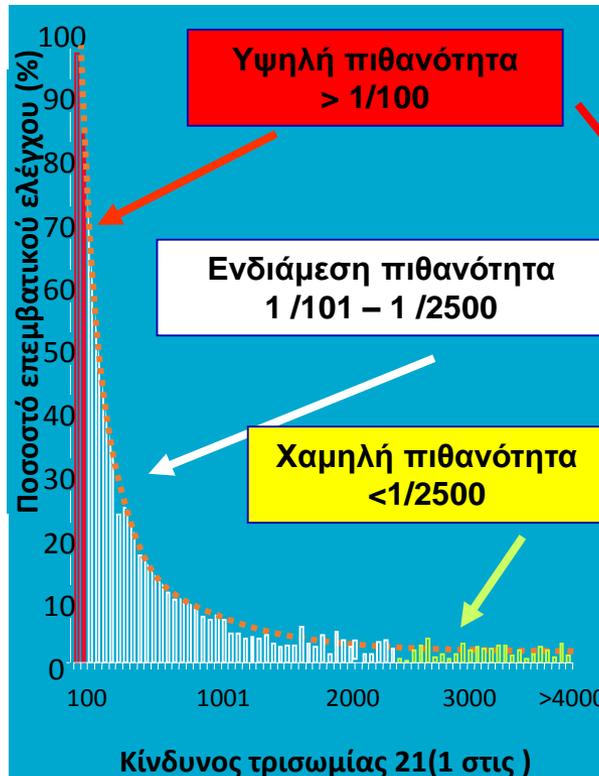
**Δεν απαιτείται περαιτέρω
δράση**

73%

98%

25%

Δεν
ανιχνεύονται
2%



Nicolaides KH. et al. (2013) Ultrasound Obstet Gynecol; 42:41-50

Gil et al. (2014) Ultrasound Obstet Gynecol; 45:67-73

Kagan KO, et al. (2015) Ultrasound Obstet Gynecol; 45:42-47

Εξέταση Προγεννητικού Ελέγχου
που προσφέρεται σε όλους

Εξέταση αυχενικής
διαφάνειας και
Papp-A/βhCG τεστ στο
πρώτο τρίμηνο

Έρευνες που προτείνουν την υιοθέτηση του contingent screening

A/A	Επιστημονικά Άρθρα	Ενδιάμεσος Κίνδυνος
1	Syngelaki A, et al., Fetal Diagn Ther. 2014	1/11-1/2500
2	Nicolaidis KH, et al., Fetal Diagn Ther. 2014	1/11-1/3000
3	Kagan KO, et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2014	1/11-1/3000
4	Gil MM, et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2014	1/101 -1/2500 (91.7% το προτίμησαν)
5	Nicolaidis KH, et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2013	1/100-1/3000
6	Morris S, et al., PLoS One. 2014	1/150 -1/2000
7	Hill M, et al., BMC Pregnancy Childbirth. 2014	1/150-1/1000
8	Evans MI, et al., Ultrasound Obstet Gynecol. 2014	< 1/1000
9	Cuckle H, et al., Prenat Diagn. 2013	το 10-20% του πληθυσμού

Contingent screening 1^{ου} τριμήνου με υπερηχογραφικούς δείκτες, βιοχημεία (PAPP-A, βHCG) και cell-free DNA

- Η διαγνωστική ικανότητα του contingent screening θα μπορούσε να βελτιωθεί
 - αν ο επεμβατικός έλεγχος απευθύνονταν σε κυήσεις πολύ υψηλού κινδύνου ($>1/100$) και
 - το NIPT σε ενδιάμεσου ($1/100 \sim 1/3000$)
- Αποτέλεσμα :
 - Αύξηση του Detection Rate : 96.9% ανίχνευση του Συνδρόμου Down
 - Μείωση των επεμβατικών διαδικασιών : 0.39%
- Συνεπώς και λιγότερες αποβολές λόγω επεμβατικών τεστ.

(Nicolaidis et al., 2013 Fetal Diagn Ther)

Παγκόσμιες συστάσεις

- Αμερικάνικο Κολλέγιο Μαιευτήρων & Γυναικολόγων (ACOG)
- Κοινότητα Εμβρυομητρικής Ιατρικής
- Σύλλογος Γυναικολόγων Μαιευτήρων Καναδά
- Αμερικάνικη κοινότητα Συμβούλων Γενετικής
- Αμερικάνικο Κολλέγιο Ιατρικής Γενετικής και Γενωμικής
- Παγκόσμια κοινότητα Προγεννητικής Διάγνωσης (ISPD)



The American College of
Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS



COMMITTEE OPINION

Number 640 • September 2015
(Reaffirmed 2017)

(This Committee Opinion Replaces Committee Opinion Number 545)

Committee on Genetics Society for Maternal-Fetal Medicine

This document reflects emerging clinical and scientific advances as of the date issued and is subject to change. The information should not be construed as dictating an exclusive course of treatment or procedure to be followed.

Cell-free DNA Screening for Fetal Aneuploidy

ABSTRACT: Noninvasive prenatal screening that uses cell-free DNA from the plasma of pregnant women offers tremendous potential as a screening method for fetal aneuploidy. A number of laboratories have validated different techniques for the use of cell-free DNA as a screening test for fetal aneuploidy. All tests have a high sensitivity and specificity for trisomy 18 and trisomy 21, regardless of which molecular technique is used. Women whose results are not reported, indeterminate, or uninterpretable (a “no call” test result) from cell-free DNA screening should receive further genetic counseling and be offered comprehensive ultrasound evaluation and diagnostic testing because of an increased risk of aneuploidy. Patients should be counseled that cell-free DNA screening does not replace the precision obtained with diagnostic tests, such as chorionic villus sampling or amniocentesis and, therefore, is limited in its ability to identify all chromosome abnormalities. Cell-free DNA screening does not assess risk of fetal anomalies such as neural tube defects or ventral wall defects. Patients who are undergoing cell-free DNA screening should be offered maternal serum alpha-fetoprotein screening or ultrasound evaluation for risk assessment. The cell-free DNA screening test should not be considered in isolation from other clinical findings and test results. Management decisions, including termination of the pregnancy, should not be based on the results of the cell-free DNA screening alone. Patients should be counseled that a negative cell-free DNA test result does not ensure an unaffected pregnancy. Given the performance of conventional screening methods, the limitations of cell-free DNA screening performance, and the limited data on cost-effectiveness in the low-risk obstetric population, conventional screening methods remain the most appropriate choice for first-line screening for most women in the general obstetric population.

Συμβουλευτικά βήματα πριν το cfDNA τεστ

Recommended pre-test counseling points for noninvasive prenatal testing using cell-free DNA: a 2015 perspective

Amy Sachs^{1,2*}, Leah Blanchard^{1,2}, Amanda Buchanan¹, Errol Norwitz^{1,2,3} and Diana W. Bianchi^{1,2,3}

Prenatal Diagnosis 2015, 35, 968–971

**PRENATAL
DIAGNOSIS**

- Ο έλεγχος είναι προαιρετικός
- Το cfDNA τεστ είναι ανιχνευτικό
- Καθορίστε τι ανιχνεύει (T21, 18,13, φυλετικές χρ. Ανωμαλίες, μικροελλείψεις κλπ)
- Πώς λειτουργεί;
- Πότε πραγματοποιείται και σε πόσες μέρες είναι διαθέσιμα τα αποτελέσματα
- Πώς θα εμφανίζονται τα αποτελέσματα της εξέτασης
- FPR και επιβεβαίωση θετικών αποτελεσμάτων
- Θετική και αρνητική προγνωστική αξία
- Περιορισμοί

Αυξημένη αυχενική διαφάνεια & cfDNA

Σε περίπτωση αυξημένης αυχενικής διαφάνειας (NT \geq 3.5mm),
επειδή υπάρχει συσχέτιση με μεγάλο εύρος εμβρυικών ανωμαλιών,
συστήνεται CVS ή αμνιοπαρακέντηση.

- «Trisomy 21 accounts for only half of the clinically significant aneuploidies associated with increased fetal NT and therefore invasive testing should be considered in the presence of high NT even if screening suggests that the risk for trisomy 21 is low.»

Chitty LS, Kagan KO, Molina FS, Waters JJ, Nicolaides KH. Fetal nuchal translucency scan and early prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities by rapid aneuploidy screening: observational study. BMJ 2006; 332: 452–455.

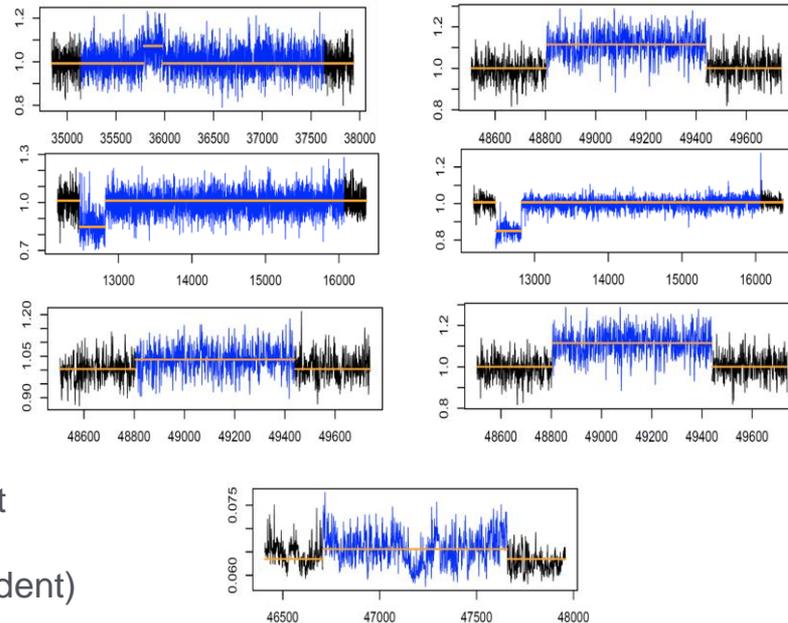
- «Fetal NT thickness of 4 mm or more is seen in about 0.5% of the general population. This is associated with a high risk of a whole range of fetal malformations and genetic syndromes, so the management of such pregnancies includes a series of investigations in addition to fetal karyotyping.»

Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Lancet 1998;351:343-6.

Ποιοτικά κριτήρια για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

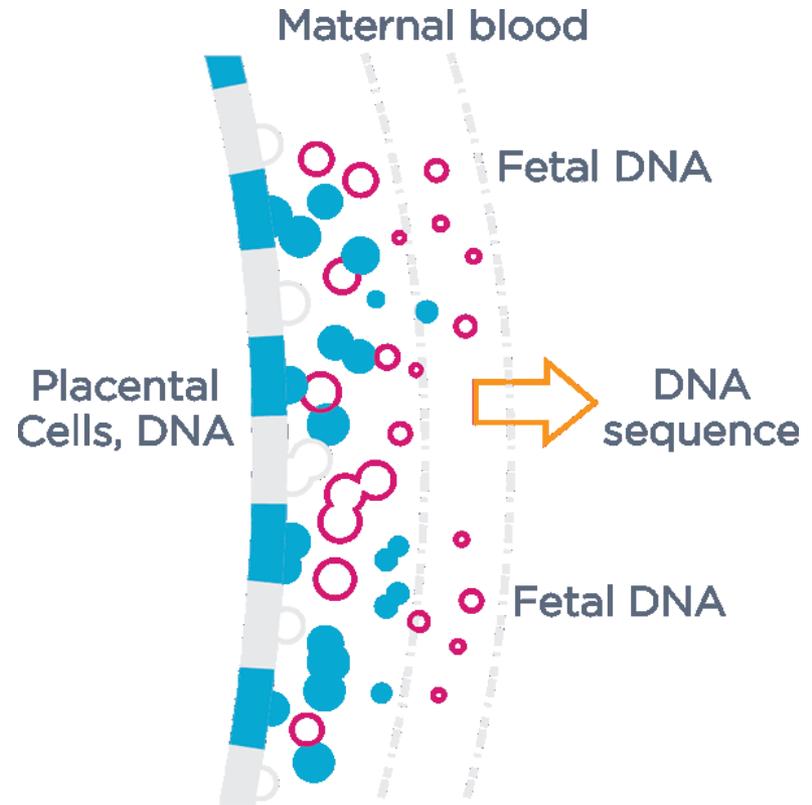
- Η ανίχνευση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών εξαρτάται από:

- Το μέγεθος της αλλαγής (biology dependent)
- Number of read counts (can be influenced)
- Fetal fraction (sample dependent)
- Sequencing noise in that area and GC bias (method and biology dependent)



Cell-free fetal DNA (cfDNA) and mosaicism

- Cell-free fetal DNA in maternal blood
 - Believed to be from placental and fetally-derived cells
- Grati, et al. reviewed 52,673 CVS cytogenetic results
 - TOTAL mosaicism rate of 1.8%
 - CPM rate of 87.2%;
 - 12.8% true fetal mosaicism



Grati FR. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J. Clin. Med.* 2014, 3, 809-837

cfDNA και αποτυχία έκδοσης αποτελέσματος

© American College of Medical Genetics and Genomics

SYSTEMATIC REVIEW

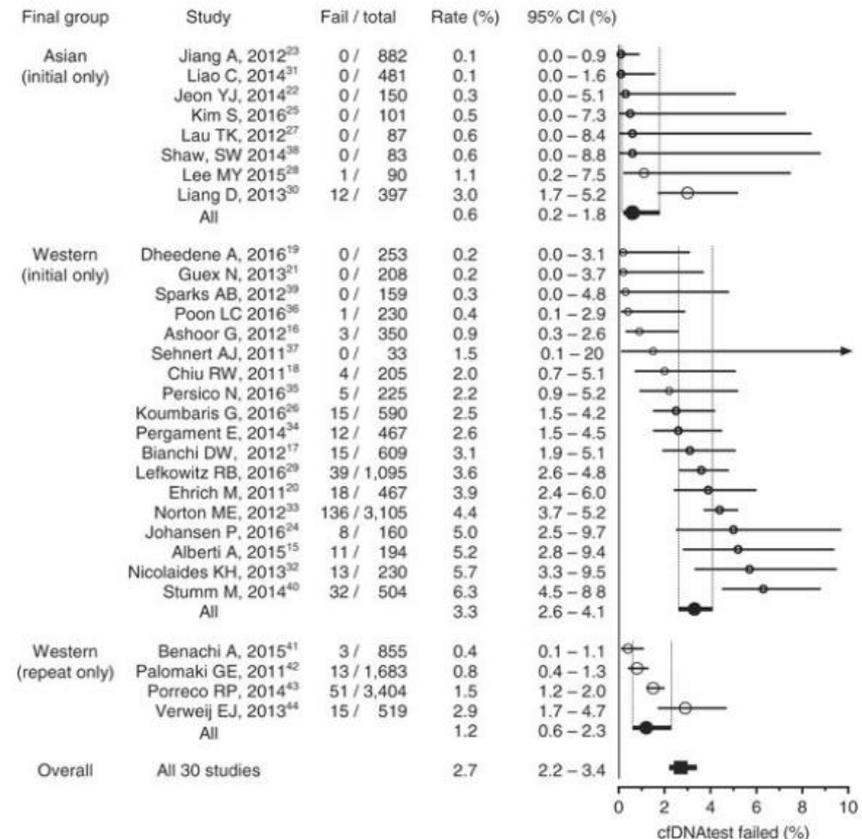
Genetics
inMedicine

Prenatal cell-free DNA screening test failures: a systematic review of failure rates, risks of Down syndrome, and impact of repeat testing

Glenn E. Palomaki, PhD^{1,2} and Edward M. Kloza, MS, CGC¹

Submitted 2 November 2017; accepted 19 January 2018; advance online publication 26 April 2018. doi:10.1038/gim.2018.22

- 3.3% ολικό ποσοστό αποτυχίας
- 0.6% στις Ασιατικές έρευνες (χαμηλό BMI, δεν υπολογίζουν το FF)
- 1.2% ποσοστό αποτυχίας στις έρευνες που επαναλαμβάνουν την αιμοληψία.
- Η αποτυχία έκδοσης αποτελέσματος δεν σχετίζεται με το αν το έμβρυο έχει Συν. Down ή είναι ευπλοειδικό (odds ratio = 0.98)
- Η μέθοδος ανάλυσης επηρεάζει την αποτυχία έκδοσης αποτελέσματος:
 - 1,6% massively parallel shotgun sequencing
 - 3,6% chromosome-specific sequencing
 - 6,4% single-nucleotide polymorphism (SNP)



Προτεινόμενη στρατηγική αντιμετώπισης αποτυχίας έκδοσης αποτελέσματος

© American College of Medical Genetics and Genomics

SYSTEMATIC REVIEW | Genetics
inMedicine

Prenatal cell-free DNA screening test failures: a systematic review of failure rates, risks of Down syndrome, and impact of repeat testing

Glenn E. Palomaki, PhD^{1,2} and Edward M. Kloza, MS, CGC¹

- Προσφέρετε επανάληψη της αιμοληψίας από το ίδιο εργαστήριο
- Εκτιμήστε το FF, το BMI, την εβδομάδα κύησης και την φαρμακευτική αγωγή της γυναίκας
- Υπερηχογράφημα νωρίς στο δεύτερο τρίμηνο στοχευμένο για ευρύματα που σχετίζονται με χρ. ανωμαλίες
- Επεμβατική μέθοδος αν βρεθούν υπερηχογραφικά ευρύματα ή αν υπάρχει επιθυμία γονέων.

Τελικά όμως.....

Τι είναι αυτό

ΠΟΥ ΕΠΙΛΕΓΟΥΝ

ΟΙ ΓΥΝΑΙΚΕΣ???

UK NHS pilot study on cell-free DNA testing in screening for fetal trisomies: factors affecting uptake

M. M. GIL, G. GIUNTA, E. A. MACALLI, L. C. POON and K. H. NICOLAIDES

Μετά από τεστ Α επιπέδου

- Ενδιάμεσος κίνδυνος :1/101-1/2500 (term risk 146– 3600)
(30% του πληθυσμού)
 - 91.7% προτίμησαν το cfDNA test
- Υψηλός κίνδυνος: >1/100 (term risk >1/145)
(3.9% του πληθυσμού)
 - 57.3% προτίμησαν το cfDNA test
 - 40% προτίμησαν τη βιοψία τροφοβλάστης

Uptake, outcomes, and costs of implementing non-invasive prenatal testing for Down's syndrome into NHS maternity care: prospective cohort study in eight diverse maternity units

Lyn S Chitty,^{1,2} David Wright,³ Melissa Hill,¹ Talitha I Verhoef,⁴ Rebecca Daley,² Celine Lewis,^{1,2} Sarah Mason,⁵ Fiona McKay,⁵ Lucy Jenkins,⁵ Abigail Howarth,² Louise Cameron,⁶ Alec McEwan,⁷ Jane Fisher,⁸ Mark Kroese,⁶ Stephen Morris⁴

thebmj | BMJ 2016;354:i3426 | doi:10.1136/bmj.i3426 Accepted: 14 June 2016

Μετά από τεστ Α επιπέδου:

- Ενδιάμεσος κίνδυνος : 1/151-1000
(8.6% του πληθυσμού)
 - 80,3% προτίμησαν το cfDNA τεστ
- Υψηλός κίνδυνος: >1/150
(3,1% του πληθυσμού)
 - 74% προτίμησαν το cfDNA
 - 17,8% προτίμησαν το CVS



Women's preference for non-invasive prenatal DNA testing versus chromosomal microarray after screening for Down syndrome: a prospective study

Accepted 7 November 2017. Published Online 15 January 2018.

YKY Cheng,^a WC Leung,^b TY Leung,^a KW Choy,^a RWK Chiu,^c T-K Lo,^d KY Kwok,^a DS Sahota^a

Μετά από τεστ Α επιπέδου:

- Ενδιάμεσος κίνδυνος : 1/251-1200 (term risk)
(8.2% του πληθυσμού)
 - 84,2% προτίμησαν το cfDNA τεστ
- Υψηλός κίνδυνος: >1/250 (term risk)
(4,4% του πληθυσμού)
 - 62,2% προτίμησαν το cfDNA
 - 36,9% προτίμησαν το μοριακό καρυότυπο

Συμπερασματικά



safembryo

Prenatal Genetics & Research



Το cfDNA τεστ είναι το καλύτερο **ΑΝΙΧΝΕΥΤΙΚΟ** τεστ για το σύνδρομο Down.



Το cfDNA τεστ δεν αντικαθιστά την αμνιοπαρακέντηση. Δρα συνεργιστικά με τις υπόλοιπες εξετάσεις προγεννητικού ελέγχου.



Απλή και ακίνδυνη διαδικασία αιμοληψίας. Γρήγορη και έγκυρη απάντηση.



Απαραίτητη η γενετική συμβουλευτική από εξειδικευμένους επιστήμονες υγείας πριν και μετά το τεστ για την σωστή ενημέρωση των ενδιαφερομένων.

Ευχαριστώ για την προσοχή σας!

