



## PROGRESOS de OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

www.elsevier.es/pog



### DOCUMENTO DE CONSENSO

## Recomendaciones para la aplicación clínica de la detección de aneuploidías en ADN fetal libre en sangre materna



### *Recommendations for the clinical application of aneuploidy detection in cell-free fetal DNA in maternal blood*

Antoni Borrell<sup>a,\*</sup>, Lluís Armengol<sup>b</sup>, Elena Casals<sup>c</sup>, Vincenzo Cirigliano<sup>d</sup>, Miguel del Campo<sup>e</sup>, Rosana de la Chica<sup>f</sup>, Francesc Figueres<sup>g</sup> y Alberto Plaja<sup>h</sup>

<sup>a</sup> *Presidente de la Sección Ecografía y Medicina Fetal, Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología*

<sup>b</sup> *Asesor del Comité-Conjunto Q-Genomics, Barcelona, España*

<sup>c</sup> *Coordinadora del Grupo de Bioquímica del Programa de Diagnóstico Prenatal de Cataluña*

<sup>d</sup> *Asesor del Comité-Conjunto Labco Diagnostics, Barcelona, España*

<sup>e</sup> *Grupo de Genética Clínica y Dismorfología, Sociedad Catalana de Pediatría*

<sup>f</sup> *Coordinadora de la Comisión de Genética y Reproducción Humana, Colegio de Biólogos de Cataluña, Vocal de la Junta de la Asociación Española de Diagnóstico Prenatal (AEDP)*

<sup>g</sup> *Secretario de la Sección de Medicina Materno-fetal, Sociedad Catalana de Obstetricia y Ginecología*

<sup>h</sup> *Miembro de la Comisión de Genética y Reproducción Humana, Colegio de Biólogos de Cataluña*

### Introducción

#### ADN fetal extracelular

Existen fragmentos de ADN fetal extracelular (DNAfe) en la sangre materna de procedencia placentaria que se pueden analizar para determinar el número de copias de unos cromosomas determinados (21,18 13, X e Y) en el feto<sup>1,2</sup>. Se considera un método de cribado avanzado de aneuploidía, que requiere confirmación mediante una prueba invasiva en caso de resultado positivo.

#### Métodos de análisis

Los 3 principales métodos de análisis del DNAfe para la detección de aneuploidías son:

1. Shotgun Massive Parallel Sequencing, que secuenciaría fragmentos de todos los cromosomas y luego determina el número de copias de unos cromosomas determinados<sup>3,4</sup>.
2. Targeted Massive Parallel Sequencing, que solo estudia los cromosomas de interés<sup>5</sup>.
3. Análisis de las distribuciones de polimorfismos de nucleótido único (SNP) de los cromosomas estudiados en la madre y el feto<sup>6</sup>.

No hay motivos científicos claros para optar por un método u otro, aparte de que la ovodonación y las gestaciones múltiples imposibilitan estudiar la distribución de SNP materna o multifetales, respectivamente. La técnica basada en SNP se puede realizar a partir de las 9 semanas de gestación y el resto a partir de las 10 semanas. Los diferentes métodos disponibles ofrecen sensibilidades similares para las aneuploidías y la mayoría ofrece el estudio opcional de algunos síndromes microdelecionales. Aunque hay síndromes microdelecionales muy prevalentes (1/2.000 microdelección

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [aborrell@clinic.cat](mailto:aborrell@clinic.cat) (A. Borrell).

22q11/DiGeorge), su inclusión en el cribado prenatal es actualmente controvertida.

### Efectividad del ADN fetal extracelular

Un reciente metaanálisis recoge que la tasa de detección del DNAfe en la detección de la trisomía 21 es actualmente de un 99,0%, con una tasa de falsos positivos del 0,08%<sup>7</sup>. Para las trisomías 18 y 13, las tasas de detección son del 96,8 y el 92,1%, con unos falsos positivos del 0,15 y el 0,20%, respectivamente. Para la monosomía X, la tasa de detección es del 88,6% y para las otras aneuploidías sexuales es de un 93,8%, con unos falsos positivos del 0,24%. Así, si se determinan las aneuploidías de estos 5 cromosomas, la tasa total de falsos positivos es de un 0,67%<sup>7</sup>. Una parte de estos falsos positivos podría explicarse por causas biológicas, como son el mosaicismo placentario o materno, un gemelo evanescente o neoplasia materna. También hay que tener en cuenta que hay una tasa de no resultado final relativamente elevada, que varía entre el 1 y el 7%, según el método, después de repetir el test por un primer no resultado. Este grupo de gestaciones tienen un alto riesgo de aneuploidía (4%)<sup>8</sup> y, por lo tanto, esta situación se puede considerar como una indicación de procedimiento invasivo. La mayoría de los informes incluyen la fracción fetal (FF) de DNAfe, como porcentaje del DNAfe sobre el total del DNA libre en circulación materna. La FF está situada alrededor del 10%, aumenta con la edad gestacional y disminuye con el peso materno. Se considera que una FF del 4% es el mínimo requerimiento para dar un resultado fiable. En caso de  $FF < 4\%$ , se repite la extracción de sangre materna.

### Recomendaciones

#### Indicación en gestaciones de alto riesgo

La mayoría de los estudios publicados se han realizado en población de alto riesgo de trisomía 21, 18 y 13 y es en esta población donde está bien establecida la indicación del DNAfe en sustitución del procedimiento invasivo de entrada<sup>3,6,7</sup>. En nuestro medio, el alto riesgo se define como un riesgo  $\geq 1/250$  al cribado combinado de primer trimestre, o en su defecto en el segundo trimestre, o bien en caso de aneuploidía previa. En cambio, si existe un muy alto riesgo de anomalía cromosómica, como en caso de anomalía fetal ecográfica, translucencia nucal aumentada o restricción de crecimiento de segundo trimestre, se recomienda realizar directamente una prueba invasiva con microarray. En caso de anomalía cromosómica genética en progenitores, debería individualizarse el asesoramiento según la anomalía. La ventaja principal del DNAfe es que permite evitar una gran cantidad de procedimientos invasivos y su yatrogenia, que un reciente metaanálisis cuantifica en un riesgo de pérdida fetal del 0,11% postamniocentesis y del 0,22% posbiopsia corial<sup>9</sup>. En su aplicación en la sanidad privada, el coste del DNAfe externalizado es similar o inferior al de la prueba invasiva actual con realización de cariotipo y QF-PCR (acrónimo del inglés: *quantitative fluorescence polymerase chain reaction*). Los principales inconvenientes del estudio del DNAfe es que no detecta el 100% de las trisomías estudiadas y que, de manera similar a la QF-PCR, en la población general dejaría de detectar un 23% de las anomalías

citogenéticas clínicamente significantes detectables en un cariotipo, que representan una incidencia del 0,14%<sup>10</sup>. Estos porcentajes de no detección disminuyen en población de alto riesgo y aumentan en población de bajo riesgo. Hasta que el estudio del DNAfe no esté cubierto por el sistema público de salud, se contempla mantener la oferta de la prueba invasiva como primera elección, por razones de equidad. Existe un problema logístico adicional, ya que todas las muestras extraídas en nuestro país van a procesarse a laboratorios extranjeros.

### Otras gestaciones

Las evidencias científicas más recientes apuntan a que el estudio del DNAfe también es efectivo en gestaciones de bajo riesgo, pero la información existente en la actualidad todavía resulta insuficiente<sup>4,5</sup>. Los datos publicados indican que como método de cribado, el estudio del DNAfe tendría una tasa de detección superior y una tasa de falsos positivos inferior al cribado combinado de primer trimestre que se está ofreciendo en Cataluña en la actualidad, el cual detecta el 90% de las 3 trisomías, con un 4% de falsos positivos. De todos modos, su precio actual (600-800 euros) lo hacen inviable como método de cribado en toda la población gestante. En gestaciones múltiples su efectividad disminuye, ya que la tasa de detección de la trisomía 21 es de un 94%<sup>7</sup>.

### Formación y asesoramiento genético

Previamente a su introducción en la práctica clínica, hubiera sido necesario realizar una formación de los profesionales de la salud, independiente de las compañías comerciales. En realidad, el DNAfe se ha publicitado desde estas compañías directamente al consumidor, dificultando que obstetras, comadronas y gestantes tengan una información contrastada sobre ventajas y limitaciones de estos estudios. Como cualquier test genético, requiere un asesoramiento genético pretest por parte de profesionales cualificados, para asegurarse de que la gestante/pareja hayan recibido y entendido la información adecuadamente (no es una prueba diagnóstica, solo da información sobre las trisomías más frecuentes y no reemplaza las pruebas invasivas)<sup>11-14</sup>. Al igual que en la realización de un cariotipo en una prueba invasiva, se informará sobre los posibles hallazgos de aneuploidías sexuales, anomalías cromosómicas que no incluyen la discapacidad intelectual en sus consecuencias fenotípicas y que no son aceptadas como motivo de interrupción legal del embarazo en muchos centros.

En el asesoramiento genético posttest, en caso de resultado positivo se debe ofrecer una prueba invasiva para confirmación de los resultados. En caso de resultado negativo, hay que destacar que no se descarta totalmente la existencia de las trisomías estudiadas, ni de otras alteraciones genéticas no estudiadas. Si en este caso la pareja optara por una prueba invasiva, se debería plantear la realización de un microarray en vez de un cariotipo, ya que hay más riesgo de microdeleciones que de trisomías.

### Perspectivas futuras

En la actualidad, algún servicio nacional de salud europeo comienza a ofrecer el análisis de aneuploidías fetales a partir

del DNAfe en población de alto riesgo, y estas muestras ya se empiezan a procesar en laboratorios europeos académicos, independientes de las 5 grandes compañías comerciales que han desarrollado el DNAfe<sup>15</sup>. Siguiendo este modelo, sería necesario disponer de un laboratorio local que realizara estos test de manera independiente. A medio camino entre las opciones de ofrecer el DNAfe solo en población de alto riesgo y la oferta universal a toda la población gestante, en la sanidad pública de Europa se está abriendo camino la estrategia de definir un grupo de riesgo intermedio después del cribado combinado de primer trimestre (p. ej., en los riesgos comprendidos entre 1/50 y 1/3.000) que se pueda beneficiar de este test. En gestaciones de más alto riesgo, se ofrecería biopsia corial y en los de más bajo riesgo no habría ninguna prueba más. Esta estrategia, dirigida a reducir costes, también se debería explorar en nuestro país en el marco de un plan piloto.

## Bibliografía

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, 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. doi: 10.1016/j.ajog.2012.08.033. Epub 2012 Sep 19.
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.e1–527.e17. doi: 10.1016/j.ajog.2014.08.006.
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, Gil MM, Francisco C, Orósz 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*. 2015;45:36–41.
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*. 2015;45:16–26.
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. doi: 10.1002/uog.13270. Epub 2014 Feb 25.
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. doi: 10.1002/uog.13394.
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;182C:53–61. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.08.028. [Epub ahead of print].