

## **Nou mètode de cribratge prenatal no invasiu. Estudi d'aneuploidies fetals en sang materna.**

### **Introducció**

Actualment, el protocol de diagnòstic prenatal no invasiu de la sanitat pública a Catalunya, inclou seguiment ecogràfic, i cribratge bioquímic, que s'ofereixen a totes les gestants.

El seguiment ecogràfic consisteix en tres controls, un a les 11-13,6 setmanes, en el que es mesuren el plec nual i el CRL (Longitud cefalo caudal), i es valora la morfologia de primer trimestre, un a les 19-21 setmanes, essencial per la detecció de malformacions fetals, i un últim a les 33-35 setmanes, en que es valoren el creixement fetal i l'anatomia de tercer trimestre.

El cribratge bioquímic es fa, preferentment, en el primer trimestre de la gestació, i consisteix en mesurar en sang materna els nivells (expressats com MoM: múltiples de la mitjana) de les proteïnes PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein A) i  $\beta$ HCG (human Chorionicgonadotrophin) a les setmanes 8-13,6, i la translucència nual a les setmanes 10-12. D'aquestes dades s'obté un càlcul del risc de trisomia dels cromosomes 21 i 18 (trisomies associades respectivament a les síndromes de Down i Edwards). En el càlcul d'aquest risc intervenen també factors com ètnia, pes, talla, tabaquisme, i d'altres). Aquest cribratge té una sensibilitat del 80-90% en la detecció de trisomia 21 i 18, amb una taxa de falsos positius <5%.

Per al cribratge de segon trimestre es mesuren els nivells de  $\beta$ HCG, cfetoproteïna, estriol i inhibina, i a partir d'aquests valors, combinats amb l'edat materna, s'obté el risc de trisomia 21, amb una sensibilitat del 70%, i una taxa de falsos positius del 8-10%.

Òbviament, el test recomanat és el de primer trimestre, per la seva superior sensibilitat, i per la inferior taxa de falsos positius, de manera que la seva aplicació rutinària ha implicat una disminució sensible de la pràctica de tècniques invasives de diagnòstic prenatal.

Les indicacions per a la utilització de tècniques invasives per al diagnòstic prenatal s'estableixen contraposant el risc de troballa d'anomalia vs el risc de pèrdua de la gestació associat al mètode d'obtenció de la mostra. Actualment, les indicacions contemplades per la sanitat pública al nostre país són: un resultat de cribratge bioquímic amb un risc  $\geq 1/250$ , antecedent de cromosomopatia o malaltia monogènica, anomalia ecogràfica.

# Catlab Informa

Existeixen, però, diferents escenaris, en els que el risc d'avortament associat a la invasivitat de les proves diagnòstiques no és assumible, i és en aquests casos en els que ens podem beneficiar d'un nou mètode de cribratge, basat en l'estudi de DNA fetal, circulant en sang materna.

## Antecedents

Ja al 1940 es va detectar DNA lliure circulant en sang de pacients amb càncer. Aquesta troballa va servir d'inspiració, anys després, al grup de YM Lo (1), basant-se en el fet de que la placenta es desenvolupa de forma invasiva, similar a la del teixit tumoral. Segons aquesta hipòtesi, era lògic pensar que circulés DNA fetal en sang d'una gestant. Es va obtenir evidència d'aquest fet aïllant seqüències del cromosoma Y en sang materna, que únicament podien tenir origen en un fetus de sexe masculí. En primera instància, la dificultat en utilitzar aquest DNA en el diagnòstic estava en la seva detecció i aïllament, ja que, tot i que la seva concentració augmenta al llarg de la gestació, sempre és extraordinàriament baixa, i coexisteix amb el DNA de la gestant. S'han utilitzat diferents aproximacions tècniques per a superar aquest obstacle, i un cop obtingut el DNA, s'ha utilitzat, al llarg dels últims 15 anys en el diagnòstic prenatal de diferents entitats. Tot i que en aquest període, mai no s'ha utilitzat de forma generalitzada, diferents grups han acumulat experiència en l'ús del DNA fetal en sang materna, principalment en la determinació del sexe fetal, en famílies portadores de malalties lligades al cromosoma X (2), i també en la determinació del factor RhD fetal. Molt menys estesa ha estat la utilització d'aquesta tecnologia en el diagnòstic de malalties monogèniques. En qualsevol cas, cap d'aquestes aplicacions ha suposat una revolució en la rutina del diagnòstic prenatal.

## La detecció d'aneuploidies fetals en sang materna

Les trisomies representen les anomalies genètiques predominants, amb una incidència estimada de 1/300 nascuts vius. Les més comuns entre els nascuts vius, per ser les úniques viables, són les dels cromosomes 13, 18, 21, i les monosomies dels cromosomes sexuals, de manera que el diagnòstic prenatal és, en aproximadament la meitat dels casos, un procediment lligat a la detecció de trisomia 21.

Com hem vist anteriorment, disposàvem fins ara de tècniques de **cribratge**, que permeten **estimar el risc** del fetus de presentar una determinada anomalia cromosòmica, i tècniques de **diagnòstic invasiu**, que permeten **caracteritzar anomalies genètiques**. Disposem ara d'una nova i avançada tècnica de **cribratge d'aneuploidies** (trisomies, monosomies), basada en l'estudi del DNA fetal en sang materna. Aquesta nova tècnica de cribratge és d'una elevada complexitat, donat que, a diferència d'altres mètodes de diagnòstic que hem comentat, basades també en l'estudi del DNA fetal en sang materna, no

# Catlab Informa

tractem ara de detectar presència/absència d'una determinada seqüència o anomalia, si no que tractem de mesurar la DOSI de determinats cromosomes.

Recordem que el DNA fetal suposa una proporció petitíssima del que circula en la sang de la gestant. Una trisomia representa una variació insignificant en la dosi total, pel que ha estat únicament gràcies a l'aportació de la gran sensibilitat de les tècniques de seqüenciació massiva, que aquesta detecció ha estat possible. D'altra banda, la interpretació dels resultats obtinguts per aquesta tecnologia, requereix de potents eines bioinformàtiques.

De manera molt simplificada, cal obtenir una mostra de sang perifèrica de la gestant, en una determinada finestra de l'edat gestacional, dins la que sembla òptima la setmana 12. Si la punció és molt precoç, la quantitat de DNA circulant pot ser inferior a la recomanada, i si és tardana, en cas de resultat positiu, s'interferiria amb el període òptim per a la comprovació mitjançant prova invasiva. A partir de la mostra obtinguda, es realitza la seqüenciació aleatòria de milions de molècules de DNA. Es determina l'origen cromosòmic i es quantifiquen les seqüències obtingudes. Per cada cromosoma s'estableix un valor de "representació cromosòmica normalitzada" que es compara amb un control. De la comparació s'estableix un risc estadístic d'aneuploidia. Virtualment és possible realitzar aquest estudi per a qualsevol dels 24 cromosomes (3,4), però els tests comercials disponibles es focalitzen únicament en la detecció de les aneuploidies viables (5,6).

Els test disponibles en el nostre país des de principi de 2013, ofereixen una elevada sensibilitat, especificitat, i valor predictiu positiu i negatiu, (veure taula) en la detecció de totes les trisomies viables, que són, com sabem, l'objecte principal d'interès en el diagnòstic prenatal, tenen capacitat també per detectar aneuploidies dels cromosomes sexuals que, tot i que més benignes en la seva expressió fenotípica, són també freqüents. Com a últim avenç, alguns test són aplicables, amb limitacions, en gestacions múltiples, i en les aconseguides a través de la donació d'oòcits. En qualsevol cas, tot i la seva sensibilitat i especificitat, i evident utilitat, no són considerats diagnòstics (7). Un resultat amb risc elevat d'aneuploidia ha de comprovar-se mitjançant una altra tècnica, a partir de una nova mostra, obtinguda de forma invasiva. Aquest fet, sumat a la complexitat de la tècnica, fa absolutament imprescindible que la seva aplicació s'acompanyi de l'assessorament d'un professional.

# Catlab Informa

	Sensibilitat	Especificitat	Valor Predictiu positiu	Valor Predictiu negatiu
Trisomia <sup>(1)</sup> 13	100%	98,9%	89,3%	100%
Trisomia <sup>(1,3)</sup> 18	91,9%	98,0%	87,2%	98,8%
Trisomia <sup>(2,3)</sup> 21	100%	97,9%	96,6%	100%

## Bibliografia

- 1.Lo YM i col. Presence of fetal DNA in maternal plasma and sèrum. Lancet1997, 350:485-7
- 2.Bustamante-Aragonés A i col. Foetal sex determination in maternal blood from the seventh week of gestation an ditsrole in diagnos in ghaemophilia in the fetuses of female carriers. Haemophilia. 2008, 14:593-8
- 3.Liang D i col. Non-invasive prenatal testing of fetal whole chromosomea neuploidy by massively parallel sequencing. Prenatal Diagnosis 2013, 32:1-7.
- 4.Lo YMD. Non-invasive prenatal diagnosis by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA. Open Biol 2: 120086.
- 5.Chen E.C. Et al, PLOS ONE, 2011, e21791;
- 6.Chiu R.W, et al, BMJ 2011:342:c342:s7401; (3) Dan S. et al, PrenatDiagn, 2012, 32,1-8
- 7.Benn Picol Prenatal detection of down Syndrome using massively parallel sequencing (MPS): a ràpid response statement from a committee on behalf on theboard of the International society for prenatal diagnosis, 24 October 2011. Pretatal Diagnosis 2012, 32:1-2

**Dra. Emma Triviño**  
**Responsable Citogenètica**

CATLAB

Tel. +34.93.748.56.00 - ext. 5018 / Fax. +34.93.748.56.10

[etrivino@catlab.cat](mailto:etrivino@catlab.cat)

[www.catlab.cat](http://www.catlab.cat)