

Zastosowanie testu oceny wolnego DNA płodu w diagnostyce prenatalnej na podstawie rekomendacji Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego i Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka – uwagi praktyczne

The use of cell free fetal DNA testing in the prenatal diagnosis based on the recommendation of Polish Gynecological Society and the Polish Society of Human Genetics – practical comments

Hanna Moczulska^{1,2}, Maciej Borowiec¹, Piotr Sieroszewski³

¹Zakład Genetyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Poradnia Genetyki Klinicznej, Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

³Klinika Medycyny Płodu i Ginekologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Ocena wolnego płodowego DNA w krwiobiegu matki to nowy rodzaj nieinwazyjnej diagnostyki prenatalnej. Celem pracy jest omówienie zastosowania tej techniki w codziennej praktyce lekarskiej.

Słowa kluczowe: wolne płodowe DNA, diagnostyka prenatalna

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 1: 10–12

Ocena wolnego płodowego kwasu deoksyrybonukleinoowego (DNA, *deoxyribonucleic acid*) w krwiobiegu matki jest badaniem przesiewowym, oceniającym ryzyko wystąpienia u płodu wybranych zespołów genetycznych. Zazwyczaj dotyczy ono trzech najczęstszych trisomii – chromosomów 21, 18 i 13; na rynku dostępne są ponadto testy rozszerzone o ocenę ryzyka wystąpienia u płodu wybranych zespołów mikrodelecyjnych. Ocena wolnego płodowego DNA umożliwia również ocenę chromosomów płci, a także – w wybranych sytuacjach klinicznych – identyfikację chorób jednogenowych.

Przesiewowe badania genetyczne przeprowadzone z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA charakteryzują się bardzo wysoką czułością w wykrywaniu najczęstszych trisomii przy bardzo niskim wskaźniku wyników

falszywie dodatnich, przez co w wielu przypadkach pozwalają uniknąć diagnostyki inwazyjnej.

Badania genetyczne z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA oceniają ryzyko wystąpienia u płodu konkretnego zespołu genetycznego; są to więc testy przesiewowe, które nie stawiają rozpoznania. Wyniki nieprawidłowe powinny być zweryfikowane za pomocą badania diagnostycznego, polegającego na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną. Przed zleceniem badania bardzo ważna jest rozmowa z pacjentką, którą należy poinformować o zasadach przeprowadzania proponowanej diagnostyki i interpretacji wyników [1–4].

Wolne płodowe DNA pochodzi w większości z komórek trofoblastu i krąży w krwiobiegu ciężarnej w formie

zdegradowanej, to znaczy pod postacią krótkich fragmentów, mniejszych niż 300 par zasad. Okres półtrwania to zaledwie kilka godzin. Wolne płodowe DNA stanowi około 10% puli całkowitego wolnego DNA w krwiobiegu ciężarnej (reszta to wolne DNA ciężarnej) [5].

Ocena ryzyka wystąpienia u płodu konkretnego zespołu genetycznego polega na analizie całego – zarówno płodowego, jak i matczynego – wolnego DNA. Istnieją różne metody umożliwiające obliczenie ryzyka wystąpienia u płodu zespołu genetycznego [6].

Wolne płodowe DNA jest możliwe do wykrycia w krwiobiegu matki już w 5. tygodniu ciąży; wraz z trwaniem ciąży i wzrostem trofoblastu jego ilość stopniowo wzrasta i w 10. tygodniu jest już zazwyczaj wystarczająca do przeprowadzenia badań [5].

Do przeprowadzenia przesiewowego badania genetycznego z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA wymagana jest odpowiednia frakcja wolnego płodowego DNA, która powinna stanowić co najmniej 4% całkowitego wolnego DNA w krwiobiegu ciężarnej. Frakcja wolnego płodowego DNA może być zmniejszona u pacjentek z otyłością, co wynika z mniejszej proporcji masy trofoblastu do masy ciała ciężarnej. Mniejszą frakcję wolnego płodowego DNA obserwuje się również w sytuacji, gdy u płodu stwierdzono trisomię chromosomu 18 lub 13 [7, 8]. Zbyt niski procent frakcji wolnego płodowego DNA może również wynikać z nieodpowiedniego przechowywania próbki z krwią po pobraniu; w takiej sytuacji może dojść do rozpadu komórek pochodzenia matczynego i zwiększenia proporcji wolnego DNA matczynego pochodzenia [9]. Niska frakcja wolnego płodowego DNA jest jedną z głównych przyczyn wystąpienia wyników fałszywie ujemnych i najczęstszym powodem nieuzyskania wyniku badania. W przypadku nieuzyskania wyniku oceny wolnego płodowego DNA należy rozważyć dwie możliwości – powtórzenie badania lub zlecenie diagnostyki inwazyjnej [1]. Decyzję należy podjąć, uwzględniając zaawansowanie ciąży, wynik badania ultrasonograficznego (USG), frakcję wolnego płodowego DNA (jeśli informacja jest dostępna w wynikach), a także preferencje ciężarnej.

Wolne płodowe DNA w większości pochodzi z obumarłych komórek trofoblastu, nie reprezentuje więc bezpośrednio komórek pochodzenia płodowego, co może być jedną z przyczyn otrzymania wyniku fałszywie dodatniego. W około 1% wyników badań kariotypu z komórek trofoblastu obserwuje się zjawisko mozaicyzmu ograniczonego do łożyska [10]. W takiej sytuacji zmiana w materiale genetycznym występuje tylko w komórkach trofoblastu, natomiast nie dochodzi do niej w komórkach płodu. Z tego względu w przypadku stwierdzenia wysokiego ryzyka wystąpienia u płodu zespołu genetycznego zaleca się pobranie do dalszych badań komórek płodu poprzez amniopunkcję albo kordocentezę [1, 4, 11].

Spośród przyczyn otrzymania wyników fałszywie dodatnich należy wymienić jeszcze zjawisko zanikającego bliźniaka czy nieprawidłowy kariotyp matki [6]. Zjawisko zanikającego bliźniaka polega na obumarciu jednego z bliźniąt na wczesnym etapie ciąży – najczęściej w wyniku aberracji chromosomowej. W takiej sytuacji z komórek obumarłego bliźniaka uwalnia się duża ilość DNA, która w formie krótkich fragmentów przedostaje się do krwiobiegu ciężarnej, co powoduje otrzymanie wyniku fałszywie dodatniego. Aberracje chromosomowe u ciężarnej nie są częstym zjawiskiem, ale należy pamiętać, że nie zawsze objawiają się klinicznie, szczególnie jeśli występują w formie mozaikowej lub pochodzą z tkanki nowotworowej. Zarówno w wypadku zjawiska zanikającego bliźniaka, jak i przy aberracji chromosomowej u matki badanie kariotypu z komórek pobranych w drodze amniopunkcji albo kordocentezy pozwala na uzyskanie wiarygodnych wyników.

Zgodnie z rekomendacjami zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTG) oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka (PTGC) ciężarnej powinny zostać zaproponowane przesiewowe badania genetyczne z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA, jeśli ryzyko wyliczone na podstawie wyniku badania przesiewowego w I trymestrze ciąży wynosi 1:100–1000 lub gdy pacjentka nie miała wykonanej diagnostyki w I trymestrze ciąży, a należy do grupy podwyższonego ryzyka [1].

W ciążyach niskiego ryzyka – gdy ryzyko określone w teście zintegrowanym (USG + test podwójny) wynosi mniej niż 1:1000 – powszechnie nie zaleca się oceny wolnego płodowego DNA ze względu na niższą pozytywną wartość predykcyjną, co może skutkować zwiększeniem liczby wykonywanych procedur inwazyjnych [1].

Zgodnie z rekomendacjami, jeżeli ryzyko w teście zintegrowanym wynosi więcej niż 1:100 lub jeśli w badaniu USG stwierdzono nieprawidłowości, powinno się zaproponować ciężarnej wykonanie badania diagnostycznego, polegającego na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną [1].

Przesiewowe badania genetyczne przeprowadzone z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA mogą uwzględniać również zespoły mikrodelecyjne [12]. Większość zagranicznych rekomendacji nie zaleca jednak takiej oceny [4, 7]. Zespoły mikrodelecyjne występują rzadko lub bardzo rzadko, przez co wzrasta ryzyko otrzymania wyniku fałszywie dodatniego i, co za tym idzie, odsetek wskazań do diagnostyki inwazyjnej [12]. Testy oceny wolnego płodowego DNA uwzględniające zespoły mikrodelecyjne powinny być zarezerwowane dla wyselekcjonowanej grupy pacjentek z wysokim ryzykiem wystąpienia tych zespołów u płodu (np. obciążony wywiad rodzinny, nieprawidłowy obraz USG płodu charakterystyczny dla danego zespołu mikrodelecyjnego), ale tylko w przypadku, gdy pacjentka nie zgadza się na diagno-

stykę inwazyjną. Testy oceny wolnego płodowego DNA powinny uwzględniać dobrze poznane zespoły mikrodelecyjne z ciężkim przebiegiem klinicznym [4]. Należy również pamiętać o tym, że etiopatogeneza niektórych zespołów mikrodelecyjnych ma różne tło genetyczne i nie wszystkie przypadki mogą zostać wykryte.

Podsumowując – badania genetyczne przeprowadzone z wykorzystaniem wolnego płodowego DNA powinny zostać zaproponowane ciężarnym, u których ryzyko wyliczone na podstawie wyniku badania prze-

siewowego pierwszego trymestru ciąży wynosi między 1:100 a 1:1000, oraz pacjentkom z grupy podwyższonego ryzyka, które nie miały wykonanej diagnostyki w I trymestrze ciąży. Pacjentki należy poinformować, że są to badania przesiewowe, kalkulujące ryzyko wystąpienia u płodu konkretnych zespołów genetycznych. Wyniki nieprawidłowe powinny być zweryfikowane za pomocą badania diagnostycznego, polegającego na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną.

Abstract

Cell-free fetal DNA analysis is a new type of non-invasive prenatal diagnosis. The paper presents the method in an everyday clinical practice.

Key words: cell free fetal DNA, prenatal diagnosis

Gin. Perinat. Prakt. 2016; 1, 1: 10–12

Piśmiennictwo

1. Rekomendacje Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka w zakresie przesiewowego badania genetycznego wykonywanego na wolnym płodowym DNA. *Ginekol. Pol.* 2015; 86: 966–969.
2. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. Non-invasive Prenatal Testing for Chromosomal Abnormality using Maternal Plasma DNA. *Scientific Impact Paper* 2014; 15.
3. Salomon L.J., Alfirevic Z., Audibert F. i wsp. ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *ISUOG Clinical Standards Committee. Z. Geburtshilfe Neonatol.* 2014; 218: 242–243.
4. Benn P., Borrell A., Chiu R.W. i wsp. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat. Diagn.* 2015; 35: 725–734.
5. Norton M.E., Brar H., Weiss J. i wsp. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2012; 207: 137.e1–8
6. Cuckle H., Benn P., Pergament E. Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy as a clinical service. *Clin. Biochem.* 2015; 48: 932–941.
7. Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2015; 212: 711–716.
8. Suzumori N., Ebara T., Yamada T. i wsp. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma is affected by fetal trisomy. *J. Hum. Genet.* 2016, doi: 10.1038/jhg.2016.25; epub ahead of print.
9. Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat. Diagn.* 2016; 4, doi: 10.1002/pd.4804; epub ahead of print.
10. Grati F.R. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J. Clin. Med.* 2014; 24: 809–837.
11. Dondorp W., de Wert G., Bombard Y. i wsp. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur. J. Hum. Genet.* 2015.
12. Vora N.L., O'Brien B.M. Noninvasive prenatal testing for microdeletion syndromes and expanded trisomies: proceed with caution. *Obstet. Gynecol.* 2014; 123: 1097–1099.