

Rekomendacje Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka w zakresie przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym płodowym DNA

Cell-free fetal DNA testing in prenatal genetic screening. Polish Gynaecological Society and Polish Human Genetics Society guidelines

Zespół ekspertów:

Prof. dr hab. n. med. Piotr Sieroszewski
 Prof. dr hab. n. med. Mirosław Wielgoś
 Prof. dr hab. n. med. Maria Szaśniadek
 Prof. dr hab. n. med. Stanisław Radowiecki
 Prof. dr hab. n. med. Maciej Borowiec
 Prof. dr hab. n. med. Dariusz Borowski
 Prof. dr hab. n. med. Lucjusz Jakubowski
 Prof. dr hab. n. med. Piotr Kaczmarek
 Prof. dr hab. n. med. Anna Latos-Bieleńska

Prof. dr hab. n. med. Piotr Laudański
 Dr n. med. Beata Nowakowska
 Prof. dr hab. n. med. Przemysław Oszukowski
 Prof. dr hab. n. med. Marek Pietryga
 Dr n. med. Krzysztof Piotrowski
 Prof. dr hab. n. med. Krzysztof Preis
 Prof. dr hab. n. med. Mariola Ropacka-Lesiak
 Dr hab. n. med. Piotr Węgrzyn
 Dr n. med. Hanna Moczulska

Przedrukowano za zgodą z: Rekomendacje Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego oraz Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka w zakresie przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym płodowym DNA. Ginekol. Pol. 2015; 86: 966–969 (DOI: 10.17772/gp/60853).

Wprowadzenie

Wolny pozakomórkowy DNA to DNA, który został uwolniony z obumarłych komórek. Wolny DNA krąży w krwioobiegu do kilku godzin, zanim dojdzie do jego degradacji. U kobiety ciężarnej pula wolnego DNA w krwioobiegu składa się z wolnego DNA ciężarnej i wolnego DNA płodu. Frakcja płodowa stanowi zazwyczaj około 10%, z czego większość stanowi DNA pochodzący z komórek trofoblastu. Badania stosowane dla oceny ilościowej i jakościowej wolnego płodowego DNA w krwioobiegu kobiety ciężarnej określa się skrótem NIPT (*non-invasive prenatal testing*). Rekomendacje mają na celu uporządkowanie i usystematyzowanie wiedzy na temat oceny wolnego płodowego DNA w krwioobiegu matki oraz wypracowanie schematu wykonywania badań prenatalnych z użyciem tej techniki.

Badanie wolnego płodowego DNA umożliwia ocenę ryzyka wystąpienia u płodu najczęstszych aneuploidii (trisomii chromosomu 21, 18, 13) i innych wybranych aberracji chromosomowych. Przedstawione rekomendacje zostały opracowane zgodnie ze standardami międzynarodowych towarzystw, takich jak: *Royal College of Obstetricians & Gynaecologists*, *International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, *The American College of Obstetricians and Gynecologists*, *American College of Medical Genetics and Genomics*, *Society for Maternal-Fetal Medicine*, *International Society for Prenatal Diagnosis*.

Badanie genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie zastępuje badań przesiewowych I trymestru, które powinny być wykonywane zgodnie z zalecaniami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego.

Przesiewowe badania genetyczne płodu przeprowadzone na wolnym płodowym DNA powinny być zlecane przez lekarza posiadającego wiedzę na temat genetycznych podstaw chorób/zespołów mogących wystąpić u płodu oraz zasad działania omawianego testu i jego interpretacji (specjalistę z zakresu położnictwa i ginekologii, perinatologii lub genetyki klinicznej).

Komentarz

Przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie powinno się wykonywać bez konsultacji pacjentki z lekarzem. Lekarz powinien zebrać wywiad medyczny i rodzinny, pacjentka powinna zostać poinformowana o możliwościach wykonania testów przesiewowych i diagnostycznych oraz o zasadach ich interpretacji. Powinna mieć możliwość zadawania lekarzowi pytań w celu zrozumienia zasad przeprowadzania badań prenatalnych i na tej podstawie powinna podjąć świadomą decyzję, jaki rodzaj badania jest dla niej najbardziej odpowiedni. Lekarze zlecający przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA powinni posiadać umiejętność interpretacji rodowodu w stopniu wystarczającym, aby zidentyfikować pacjentki obciążone ryzykiem wystąpienia u płodu zespołów uwarunkowanych genetycznie oraz wiedzę na temat diagnozowanych zespołów genetycznych w badaniu wolnego płodowego DNA. Pacjentka powinna zostać poinformowana, że badanie genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA jest testem przesiewowym i że służy do oceny ryzyka urodzenia dziecka z konkretnym zespołem genetycznym. Należy omówić z pacjentką ryzyko otrzymania wyniku fałszywie dodatniego, ryzyko otrzymania wyniku fałszywie ujemnego, a także ryzyko nieotrzymania wyniku ze względu na zbyt małą frakcję płodowego DNA.

Ważne jest przekazanie informacji, że w przypadku otrzymania wyniku wskazującego na podwyższone ryzyko wystąpienia aberracji chromosomowej u płodu konieczne jest wykonanie badania diagnostycznego polegającego na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną.

Przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA można przeprowadzać od 10. tygodnia ciąży, optymalnie przed 15. tygodniem ciąży.

Komentarz

Ze względu na konieczność potwierdzenia wyników nieprawidłowych na drodze diagnostyki inwazyjnej, przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA powinno się przeprowadzać przed 15. tygodniem ciąży. Jednakże wykonanie tego badania jest również możliwe w późniejszych etapach ciąży.

Aktualnie przesiewowe badanie genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie jest powszechnie zalecane w ciążach niskiego ryzyka, gdy ryzyko określone w teście zintegrowanym (USG + test podwójny) wynosi $< 1:1000$.

Komentarz

W populacji ogólnej stwierdza się niższą pozytywną wartość predykcyjną, co może skutkować zwiększeniem liczby wykonywanych procedur inwazyjnych.

Przeprowadzenie przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA należy zaproponować kobiecie ciężarnej, jeśli ryzyko wyliczone na podstawie wyniku badania przesiewowego I trymestru ciąży wynosi pomiędzy 1:100 a 1:1000.

Jeśli ryzyko wyliczone na podstawie wyniku badania przesiewowego I trymestru ciąży wynosi $> 1:1000$, powinno się zaproponować kobiecie ciężarnej wykonanie badania diagnostycznego polegającego na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną.

W przypadku jeśli pacjentka z grupy podwyższonego ryzyka zgłosi się po raz pierwszy powyżej 14. tygodnia ciąży, należy jej zaproponować szczegółowe badania USG płodu, przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA oraz poinformować ją o możliwości przeprowadzenia diagnostycznego badania genetycznego płodu z koniecznością zastosowania inwazyjnej metody pobrania komórek płodu.

W przypadku stwierdzenia w badaniu USG wad rozwojowych u płodu, przy prawidłowym wyniku przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA, konieczne jest skierowanie pacjentki do lekarza genetyka w celu ustalenia kierunku ewentualnej diagnostyki genetycznej u płodu oraz udzielenia pacjentce szczegółowej porady genetycznej, która pozwoli jej na podjęcie świadomej decyzji o wykonaniu badań genetycznych płodu.

Komentarz

Badanie genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA kalkuluje ryzyko wystąpienia najczęstszych zespołów genetycznych u płodu i jest testem przesiewowym. W przypadku stwierdzenia wad wrodzonych w badaniu USG wskazane jest rozważenie wykonania celowanej diagnostyki genetycznej, polegającej na analizie materiału genetycznego z komórek płodu pobranych metodą inwazyjną z użyciem technik diagnostycznych, takich jak: badanie kariotypu płodu, badanie FISH, badanie aCGH (mikromacierz), badania molekularne w zależności od rodzaju wad stwierdzonych w badaniu USG i zebranego wywiadu rodzinnego.

Aktualnie przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie są zalecane w ciąży wielopłodowej wyższego rzędu niż bliźniacza.

Komentarz

Przesiewowe badania genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie są zalecane w ciąży wielopłodowej, wyższego rzędu niż bliźniacza, ze względu na brak jednoznacznych dowodów ich skuteczności.

Przed przystąpieniem do przesiewowego badania genetycznego wykonywanego na wolnym, płodowym DNA konieczne jest wykonanie badania USG ukierunkowanego na ocenę liczby płodów oraz wieku ciążowego.

Komentarz

Za pomocą badania USG można precyzyjnie ocenić wiek ciąży i zaplanować odpowiedni moment wykonania przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA. Stwierdzenie ciąży bliźniaczej z obumarciem jednego z bliźniąt wyklucza możliwość wykonania przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA.

Przesiewowe badanie genetyczne wykonane na wolnym, płodowym DNA nie zastępuje badań ultrasonograficznych, które powinny być wykonywane zgodnie z zaleceniami Sekcji USG PTG.

Komentarz

U pacjentek z prawidłowym wynikiem przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA jest wskazane wykonanie badania USG zgodnie z zaleceniami Sekcji USG PTG. Należy jednak zrezygnować z kalkulacji ryzyka na podstawie tak zwanych miękkich markerów aberracji chromosomowych II trymestru ciąży (ze względu na ich dużo niższą czułość i specyficzność). W przypadku stwierdzenia wad rozwojowych u płodu należy rozważyć diagnostykę inwazyjną.

W przypadku nieuzyskania wyniku przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA (co dotyczy 3–5% zleconych testów) należy rozważyć dwie możliwości — powtórzenie badania lub zlecenie diagnostyki inwazyjnej.

Komentarz

W takiej sytuacji decyzję należy podjąć na podstawie zaawansowania ciąży, wyniku badania USG i preferencji ciężarnej. Zazwyczaj nieuzyskanie wyniku badania jest spowodowane niską frakcją płodowego DNA. Minimalny

poziom frakcji płodowego DNA wymagany do przeprowadzenia przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA wynosi 4%. Należy pamiętać, że nieuzyskanie odpowiedniej frakcji wolnego płodowego DNA może być spowodowane otyłością ciężarnej, ale także występowaniem trisomii chromosomu 13, 18 i triploidii u płodu. W przypadku ponownego zlecenia przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA ryzyko nieuzyskania wyniku wynosi około 30%.

Nie należy jednocześnie zlecać przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA i diagnostyki inwazyjnej.

W przypadku otrzymania wyników wskazujących na podwyższone ryzyko wystąpienia aberracji chromosomowej preferowany sposób pobrania materiału do badania kariotypu płodu to amniopunkcja.

Komentarz

Wolny płodowy DNA w większości pochodzi z komórek trofoblastu. Istnieje możliwość wystąpienia aberracji chromosomowej tylko w komórkach trofoblastu, która nie występuje w komórkach płodu. Zjawisko to określa się jako mozaicyzm ograniczony do łożyska i dotyczy około 1% wyników badań wykonanych na podstawie biopsji trofoblastu.

Z tego względu kariotyp oceniony z komórek trofoblastu może być niezgodny z rzeczywistym kariotypem płodu. Amniocyty jako komórki pochodzenia płodowego są lepszym źródłem pozyskiwania materiału do testów diagnostycznych potwierdzających nieprawidłowy wynik przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA.

Na późniejszych etapach ciąży odpowiedni materiał do badań genetycznych można również uzyskać za pomocą kordocentezy.

W przypadku otrzymania nieprawidłowego wyniku przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA jest wskazana konsultacja pacjentki ze specjalistą genetykiem klinicznym lub perinatologiem.

Komentarz

W przypadku otrzymania nieprawidłowego wyniku przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA pacjentka powinna otrzymać informację o zespole genetycznym, którego ryzyko wystąpienia u płodu jest podwyższone. Powinno się omówić z pacjentką ryzyko i potencjalne przyczyny wystąpienia wyniku fałszywie dodatniego. Pacjentka powinna zostać poinformowana o wskazaniach do wykonania diagnostyki inwazyjnej i ryzyku związanym

z tym zabiegiem. Wynik przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA wskazujący na wysokie ryzyko wystąpienia aberracji chromosomowej nie może w żadnym wypadku stanowić wskazania do terminacji ciąży.

Wyniki przesiewowego badania genetycznego wykonanego na wolnym, płodowym DNA powinny być wydane w języku polskim. Wynik badania powinien być zweryfikowany i opatrzony pieczętką specjalisty laboratoryjnej genetyki medycznej.

Piśmiennictwo

1. Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genet Med.* 2013; 15(5): 395–398, doi: [10.1038/gim.2013.29](https://doi.org/10.1038/gim.2013.29), indexed in Pubmed: [23558255](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23558255/).
2. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2012; 120(6): 1532–1534, doi: [10.1097/01.AOG.0000423819.85283.f4](https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000423819.85283.f4), indexed in Pubmed: [23168792](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23168792/).
3. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. European Society of Human Genetics, American Society of Human Genetics. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015; 23(11): 1438–1450, doi: [10.1038/ejhg.2015.57](https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.57), indexed in Pubmed: [25782669](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25782669/).
4. Benn P, Borell A, Chiu R, 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(7): 622–629, doi: [10.1002/pd.4139](https://doi.org/10.1002/pd.4139), indexed in Pubmed: [23616385](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23616385/).
5. Benn P, Borrell A, Chiu RWK, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn.* 2015; 35(8): 725–734, doi: [10.1002/pd.4608](https://doi.org/10.1002/pd.4608), indexed in Pubmed: [25970088](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25970088/).
6. Salomon LJ, Alfirevic Z, Audibert F, et al. ISUOG Clinical Standards Committee. ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2014; 218(6): 242–243, doi: [10.1055/s-0034-1395670](https://doi.org/10.1055/s-0034-1395670), indexed in Pubmed: [25518828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25518828/).
7. Scientific Impact Paper No. 15: Non-invasive Prenatal Testing for Chromosomal Abnormality using Maternal Plasma DNA. *The Obstetrician & Gynaecologist.* 2014; 16(2): 148–148, doi: [10.1111/tog.12099](https://doi.org/10.1111/tog.12099).
8. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee. Electronic address: esteele@smfm.org, Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee. Electronic address: pubs@smfm.org. #36: Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 212(6): 711–716, doi: [10.1016/j.ajog.2015.03.043](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.03.043), indexed in Pubmed: [25813012](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25813012/).
9. Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015; 45(3): 249–266, doi: [10.1002/uog.14791](https://doi.org/10.1002/uog.14791), indexed in Pubmed: [25639627](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25639627/).