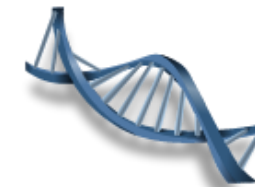


cell-free DNA στο μητρικό αίμα

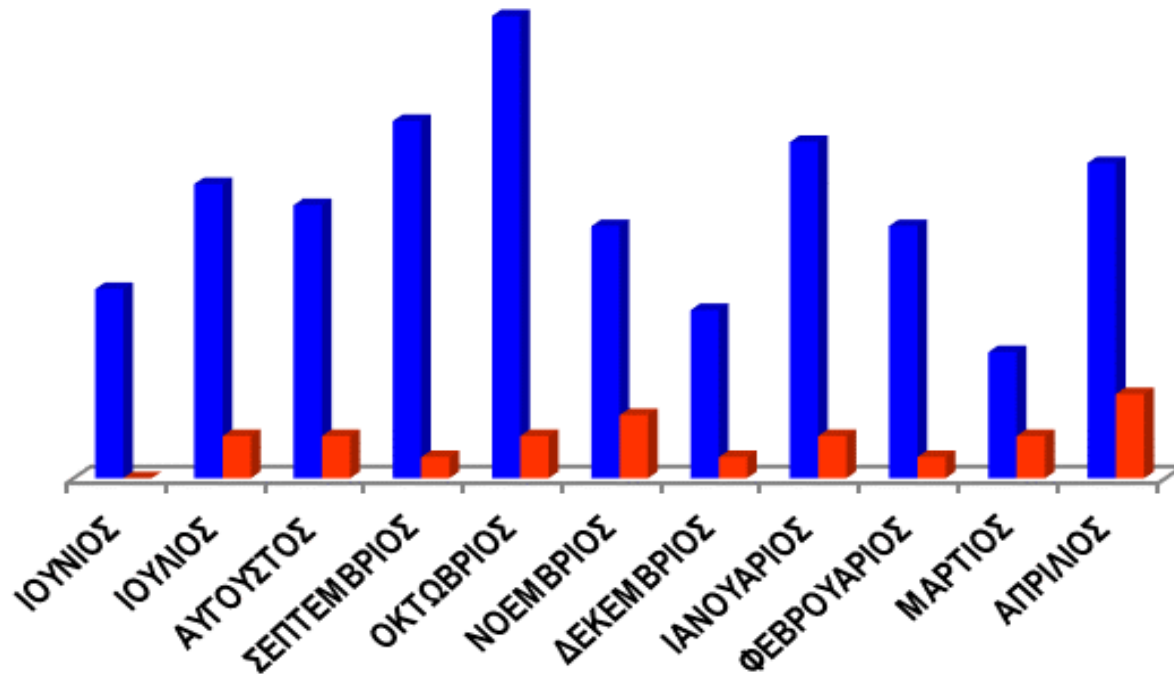
Εφαρμογή στην κλινική πράξη στην Ελλάδα



Παπαϊωάννου Γεώργιος-Κων/νος, PhD
Υπεύθυνος Ιατρικής Εμβρύου
Μαιευτική & Γυναικολογική Κλινική ΓΑΙΑ

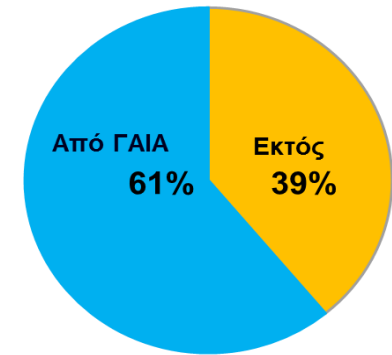


Εφαρμογή του cfDNA στο Γαία Ιούνιος 2013 – Απρίλιος 2014

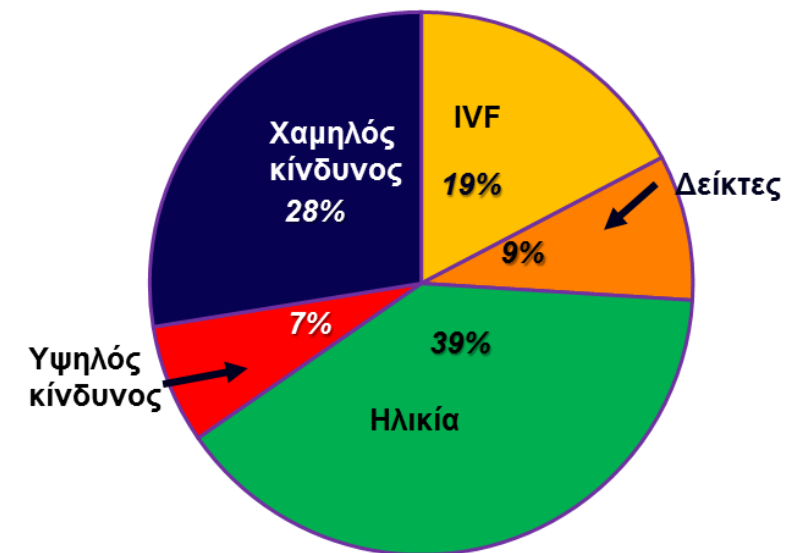


cfDNA και **επεμβατικά** ανά μήνα

Παραπομπές



Λόγοι παραπομπής για cfDNA



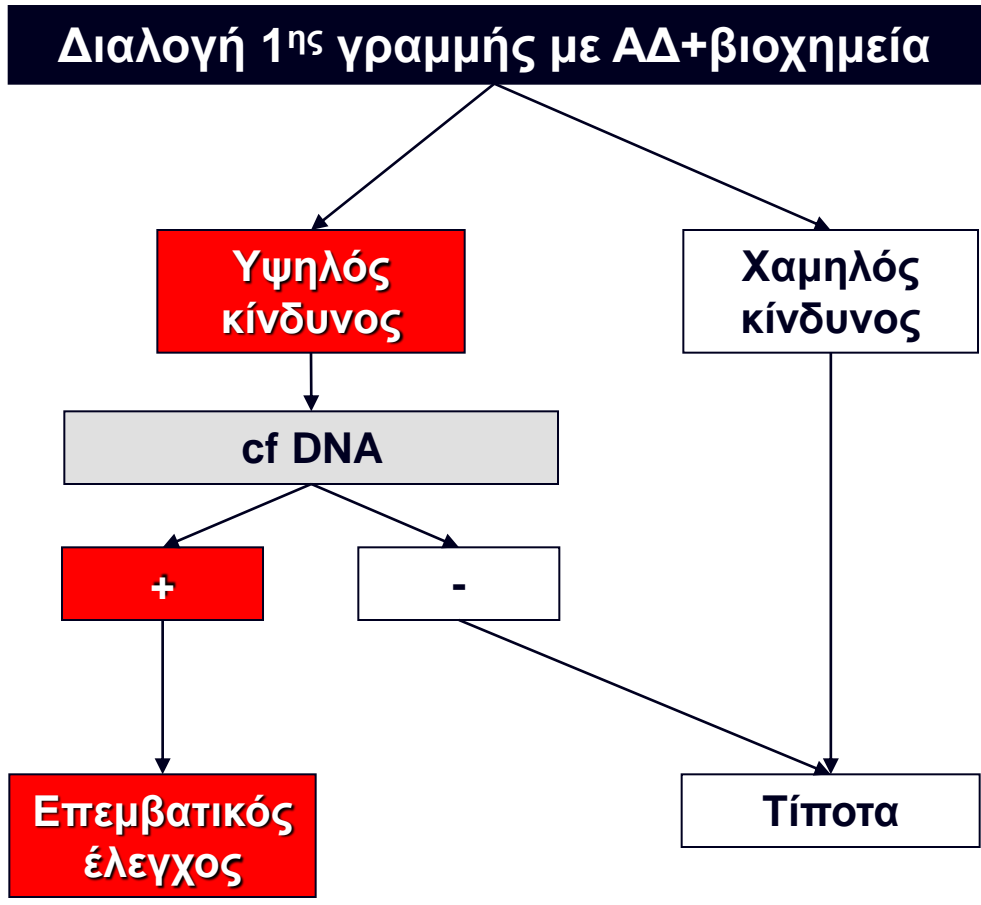
AmCOG, 2012: Indications for Considering the Use of Cell Free Fetal DNA

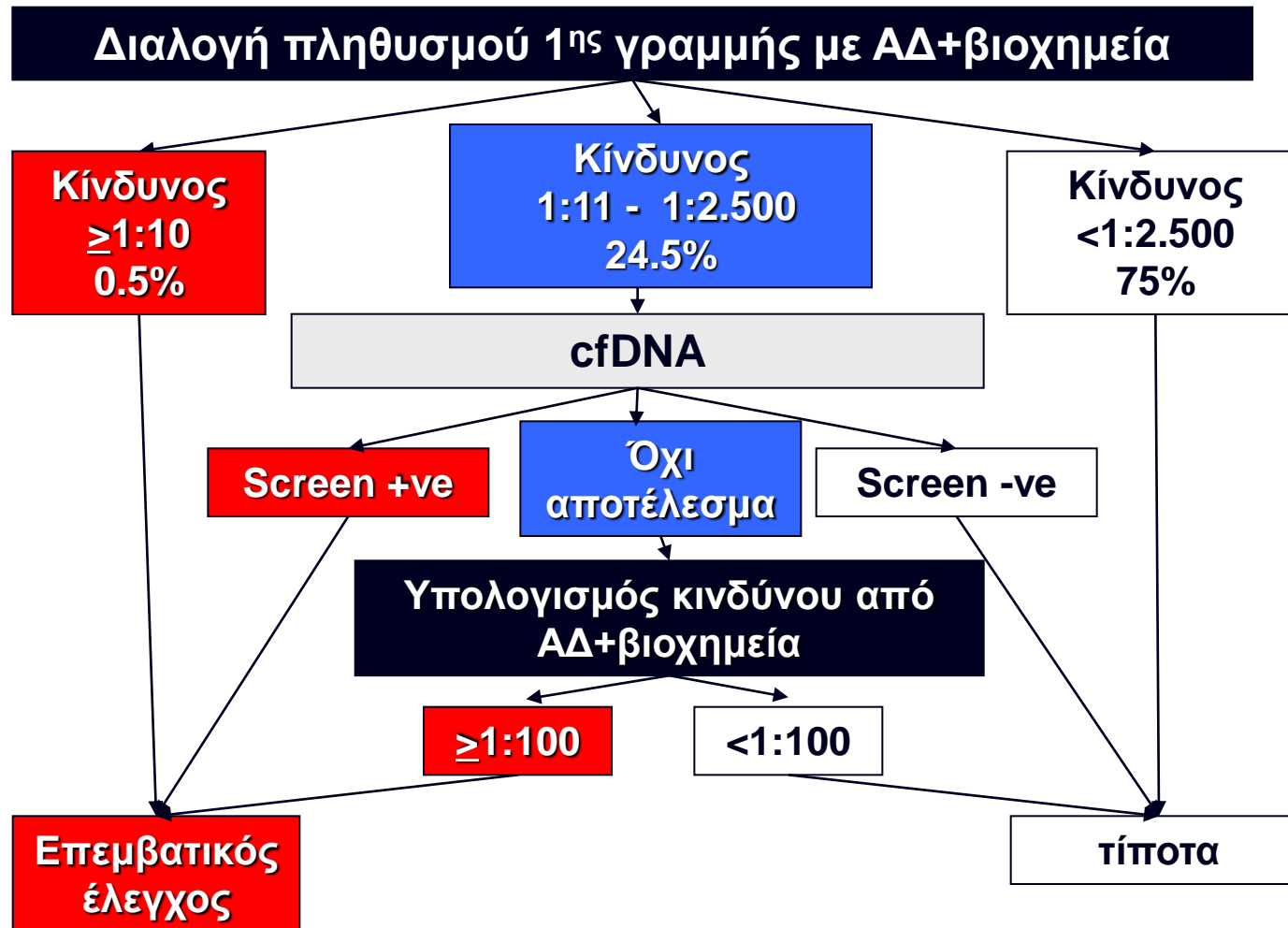
- Ηλικία μητέρας > 35 στον τοκετό***
- Υπερηχογραφικά ευρήματα στο έμβρυο ενδεικτικά ανευπλοειδίας***
- Θετικό αποτέλεσμα από το υπερηχογράφημα της αυχενικής διαφάνειας/PAPPA ή το α-ΤΕΣΤ***
- Ιστορικό προηγούμενης κύησης με τρισωμία***
- Αμοιβαία ισοζυγισμένη μετάθεση στους γονείς με αυξημένο κίνδυνο για εμβρυϊκή τρισωμία 13 και 21***

Σχήμα 2

cf DNA για με τα
αποκρίματα
ΑΔ+βιοχημείας

Ποσοστό ανίχνευσης	T21	86%
Ποσοστό ανίχνευσης	T18/13	89%
Επεμβατικός έλεγχος σε		0.4%





Ποσ. ανίχνευσης T21/18/13: 97%
Επεμβατικός έλεγχος σε: 0.9%

- Ιδιαιτερότητες στην εφαρμογή του cfDNA στην Ελλάδα
- Οι διάφορες μέθοδοι διαλογής πληθυσμού προϋποθέτουν την παρουσία ισχυρού συστήματος δημόσιας υγείας και κράτους πρόνοιας
- Οι διάφορες κατευθυντήριες οδηγίες (αμερικανικό και βρετανικό κολλέγιο) συνεπάγονται την επιλογή της κατάλληλης προγεννητικής εξέτασης από τον ιατρό

- **ΓΥΝΑΙΚΑ**

- Διαφορετική προσωπικότητα
- Διαφορετικές επιθυμίες
- Ατομικό ιστορικό
- Δικαίωμα στη λήψη κάθε απόφασης που αφορά την ίδια και το έμβρυο



Εφαρμογή του cfDNA στην Ελλάδα

Screening με τη
συμμετοχή της
ίδιας της
γυναίκας?!!

Παράγοντες που επηρεάζουν την απόφαση της
γυναίκας για την επιλογή της κατάλληλης εξέτασης

- Αξιοπιστία της εξέτασης
- Κόστος
- Επιθυμία για εκτεταμένη ανάλυση
- Πολύτιμη κύηση
- Χρόνος αναμονής για αποτελέσματα
- **Σωστή συμβουλευτική**



- Δεδομένα για τη συμβουλευτική προγεννητικού ελέγχου

- Αυχενική διαφάνεια + δείκτες + βιοχημεία: ανιχνεύει περίπου 95-97% τρισωμιών 21

- Επεμβατικά: ανιχνεύουν όλες τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλά μόνο μέρος των πιθανών γενετικών συνδρόμων – κίνδυνος αποβολής 1/300

- cfDNA: ανιχνεύει περίπου 99% τρισωμιών 21, λιγότερο τρισωμίες 13,18 και φυλετικές ανευπλοειδίες – δεν ανιχνεύει άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες **(2,5%)**

- Διαταραχές των χρωμοσωμάτων 21, 13, 18, X, Y και τριπλοειδία: 95% των συνολικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών – στο 50% από τις λοιπές διάγνωση υπερηχογραφικά

Υπερηχογράφημα της αυχενικής διαφάνειας
+ δείκτες + βιοχημεία



Συμβουλευτική για 3
περαιτέρω επιλογές



-
- **cfDNA**
 - **επεμβατικός έλεγχος (απλός ή μοριακός καρυότυπος)**
 - **τίποτα**



Εφαρμογή στο γενικό πληθυσμό στο Γαία n = 395

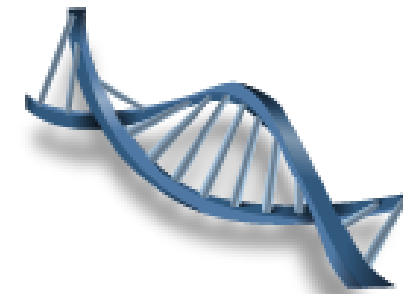
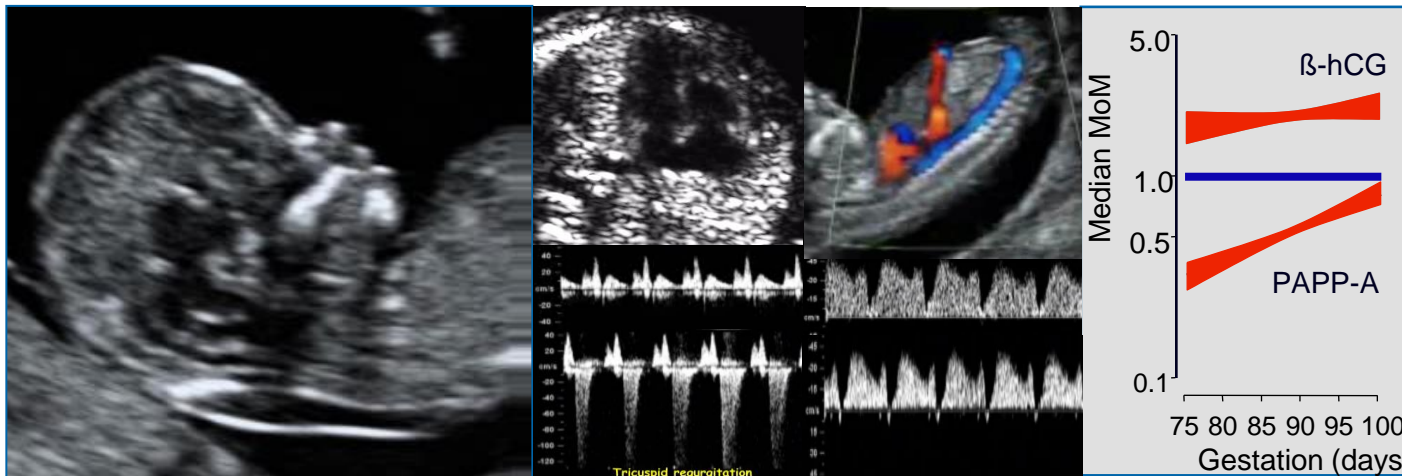
11-13 εβδομάδες κύησης
Ιούνιος 2013 - Απρίλιος 2014

ΑΔ + ανατομία + δείκτες + βιοχημεία
για εμβρυϊκές τρισωμίες, ανωμαλίες
και πρόβλεψη όψιμων επιπλοκών

Ενημέρωση για
τη σύσταση του
FMF για cfDNA
σε μέσο κίνδυνο



- cfDNA
- επεμβατικός έλεγχος
(μοριακός καρυότυπος)
- τίποτα





Εφαρμογή στο γενικό πληθυσμό στο Γαία, n=395

- Λήψη αίματος για cfDNA: n= 154 **39%**
- Επεμβατικός έλεγχος: n=13 **3,3%**

Ποιες γυναίκες επέλεξαν το cfDNA

Χαρακτηριστικά μητέρας που έκανε cfDNA

Ηλικία: 24-48, μ.ο. 36 έτη
BMI: 17,2-38,1 μ.ο. 22,8
Καπνίστριες: 11%

cfDNA στον πληθυσμό μελέτης, n=154

Ηλικία ≥ 35 έτη:	n=97	63%
Κίνδυνος tr 21>1/100:	n=13	8,4%
Κίνδυνος tr 21>1/300:	n=21	13,6%
IVF:	n =33	21,4%
Θετικοί Δείκτες:	n=28	18,2%

Ariosa - Harmony



Μάθαμε:

Αναμονή για αποτέλεσμα: μ.ο. 9,4 ημέρες
95% έως 14 ημέρες

Όχι αποτέλεσμα (n=4): 1^η λήψη: 3,9%
(BMI>25; 37-42 ετών) 2^η λήψη: 2,6%

**Εφαρμογή στο γενικό
πληθυσμό στο Γαία, n=395**

Κίνδυνος για τρισωμία 21

<u>γαία</u>			<u>FMF</u>	
>1:10	n=4	1,01%	>1:10	0,5%
1:10-2.500	n=104	26,3%	1:10-2.500	24,5%
<1:2500	n=287	72,6%	<1:2500	75%

- Ποιες γυναίκες επέλεξαν περαιτέρω έλεγχο ανά κατηγορία κινδύνου

Κυήσεις υψηλού κινδύνου	→	n=4	100%	→	cfDNA: 0 CVS: 100%
Κυήσεις μέσου κινδύνου	→	n=75	72,1%	→	cfDNA (n=70): 67,3% CVS (n=5): 4,8%
Κυήσεις χαμηλού κινδύνου	→	n=90	31,4%	→	cfDNA (n=84): 29,6% CVS (n=6): 2,1%



Εφαρμογή στο γενικό πληθυσμό στο Γαία – αποτελέσματα

Αποτελέσματα

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

- Τρισωμία 21 (US), n:1
- Τρισωμία 18 (US), n:1
- Τριπλοειδία (cfDNA, US), n:1
- XXY (US, cfDNA), n:1
- XXX (US, cfDNA), n:1

- cfDNA ψευδώς θετικό, n=1 (XXY)

Αν είχε γίνει επεμβατικός έλεγχος στις γυναίκες με:

- ηλικία ≥ 35 ετών, n=168
 - Τριπλοειδία, XXY, XXX
 - Τρισωμίες 21, 18
- κίνδυνος για tr 21 $> 1/100$, n=20
 - Τριπλοειδία, tr 18, tr 21
- κίνδυνος για tr 21 $> 1/300$, n=28
 - XXY, XXX



Εφαρμογή στο γενικό πληθυσμό στο Γαία – αποτελέσματα

Συμπεράσματα:

- Η εφαρμογή του cfDNA αυξάνει την **ευαισθησία** του υπερηχογραφήματος 1^{ου} τριμήνου για την ανίχνευση χρωμοσωμικών ανωμαλιών
- Υπάρχουν περιορισμοί στην εξέταση cfDNA και πρέπει να συνοδεύεται από αναλυτικό υπερηχογράφημα και ανάλογη **συμβουλευτική**
- η **απόφαση** για την επιλογή της κατάλληλης προγεννητικής εξέτασης πρέπει να λαμβάνεται από την **ίδια τη γυναίκα** - το cfDNA πρέπει να **προσφέρεται σε όλες** ανεξάρτητα από τον προϋπάρχοντα κίνδυνο

Συζήτηση



SEQUENOM[®]

MaterniT21 PLUS

BGI NIFTY



Panorama[™]

Berry Genomics

Ariosa

Harmony

VERINATA

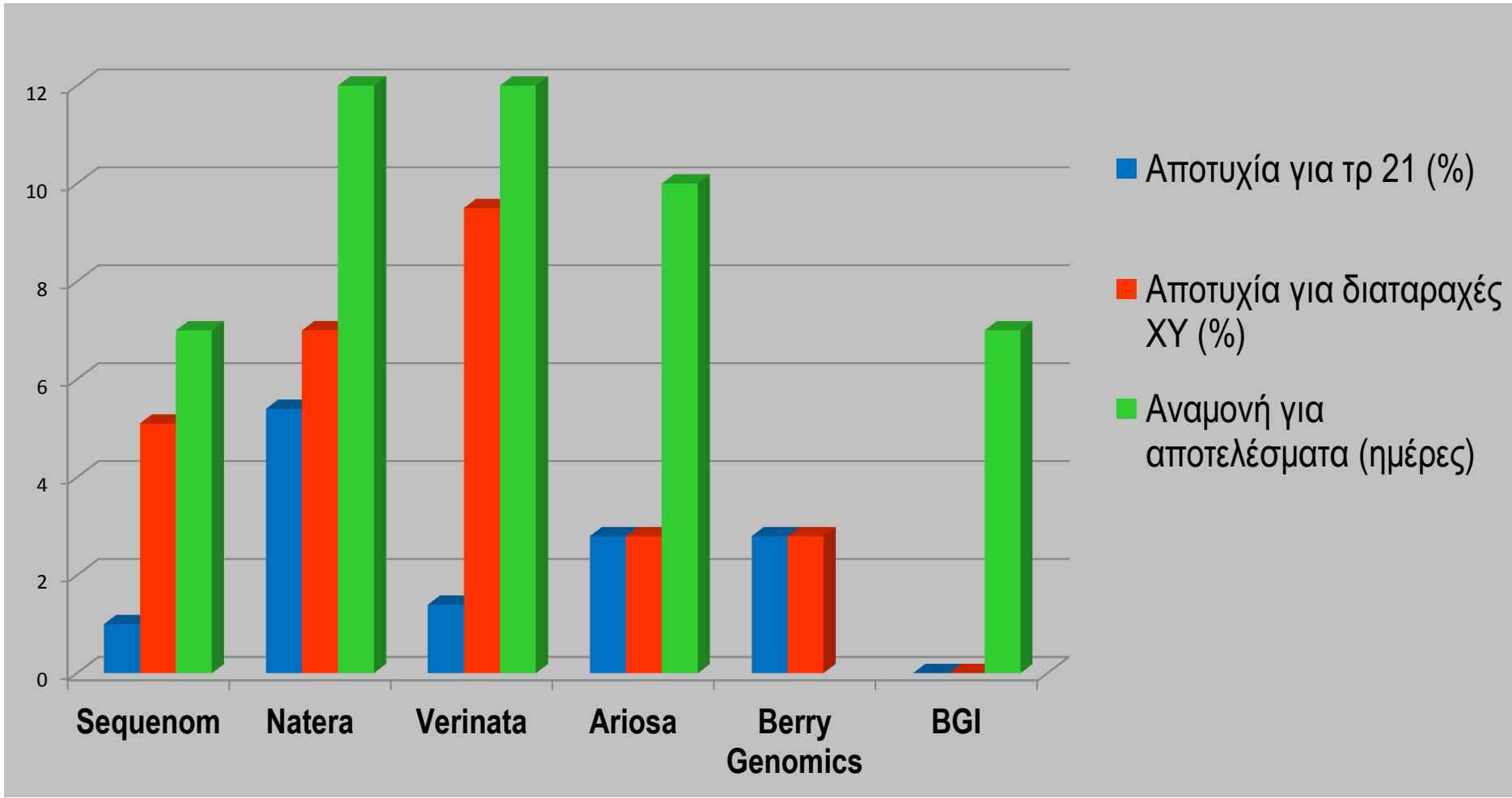
- ευαισθησία στην ανεύρεση τρισωμίας 21 παρόμοια

Σημαντικές παράμετροι για σύγκριση:

- ποσοστό αποτυχίας της εξέτασης (no call rate) για τρισωμία 21
- ευαισθησία εξέτασης για φυλετικές ανευπλοειδίες
- no call rate για φυλετικές ανευπλοειδίες
- ο χρόνος αναμονής αποτελεσμάτων και
- το κόστος



Σύγκριση διάφορων cf DNA tests





- Οι περισσότερες περιπτώσεις, ήπιες, χωρίς νοητική καθυστέρηση

- **47,XXX:** **1:1000 γεννήσεις θήλεων**
Μόνο σε 10% δυνατή η κλινική διάγνωση
IQ 90 (55-110), φυσιολογικό IQ 100 (70-130)
Επιληψία 10-15% (καλός έλεγχος με φάρμακα)
Οι περισσότερες γόνιμες, λίγες πρόωρη εμμηνόπαυση

- **47,XXY:** **1:500 γεννήσεις αρρένων**
Φυσ. φαινότυπος έως εφηβεία, μικροί όρχεις, γυναικομαστία
IQ 10-15% μείωση με κάθε πρόσθετο X
Γόνιμοι σε ελάχιστες περιπτώσεις

- **47,XYX:** **1:1000 γεννήσεις αρρένων**
IQ φυσιολογικό, προβλήματα συμπεριφοράς
Περισσότεροι γόνιμοι



Μετα-ανάλυση: μελέτες κλινικής αξιολόγησης

	DR	FPR	DR/FPR	1/ (100-DR)/ (100-FPR)
	DR	FPR	LR +ve	LR -ve
Τρισωμία 21 n=809	99.0%	0.08%	1238	1000
Τρισωμία 18 n=301	96.8%	0.15%	645	31
Τρισωμία 13 n=85	92.1%	0.20%	461	13

$$1 / (7.9 / 99.8) = 1 / 0.079 = 13$$

Chiu *et al*, 2011; Chen *et al*, 2011; Ehrich *et al*, 2011; Sehnert *et al.*, 2011; Palomaki *et al*, 2011; Ashoor *et al*, 2012; Bianchi *et al*, 2012; Jiang *et al.*, 2012; Lau *et al.*, 2012; Nicolaides *et al.*, 2012; Norton *et al*, 2012; Palomaki *et al.*, 2012; Sparks *et al*, 2012; Zimmerman *et al.*, 2012; Ashoor *et al.*, 2013; Guex *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2013; Nicolaides *et al*, 2013; Song *et al.*, 2013; Stumm *et al.*, 2013; Verweij *et al.*, 2013



- **Επιτυχία του cfDNA στη πρόβλεψη**

Τρισωμία 21

ΑΔ + βιοχημεία: 1:2500

cfDNA: +

1: (2500/1238)

1: 2

cfDNA: -

1: (2500 x 1000)

1: 2500000

Τρισωμία 13

ΑΔ + βιοχημεία: 1:2500

cfDNA: +

1: (2500/461)

1: 5,4

cfDNA: -

1: (2500 x 31)

1: 77500



47,XXX - 47,XYX - 47,XXY

Bianchi <i>et al.</i> , 2012 (Verinata)	όχι αποτέλεσμα 9.5% (T21 1.4%)	DR 8/9	FPR 0%
Mazloom <i>et al.</i> , 2013 (Sequenom)	όχι αποτέλεσμα 5.1% (T21 1.0%)	DR 8/8	FPR 0%
Samango-Sprouse <i>et al.</i> , 2013 (Natera)	όχι αποτέλεσμα 7.0% (T21 5.4%)	DR 3/3	FPR 0%
Jiang <i>et al.</i> , 2012 (BGI)	όχι αποτέλεσμα 0.0% (T21 0.0%)	DR 3/3	FPR 0%
Liang <i>et al.</i> , 2013 (Berry Genomics)	όχι αποτέλεσμα 2.8% (T21 2.8%)	DR 3/3	FPR 0%
Nicolaidis <i>et al.</i> , 2013 (Ariosa)	όχι αποτέλεσμα 2.8% (T21 2.8%)	DR 9/9	FPR .9%

- **50% των φυλετικών ανευπλοειδιών είναι μωσαϊκά**
- **Μεγάλη επίπτωση μωσαϊκισμού στη μητέρα**



Επιτυχία διαλογής
Υψηλή?
Ποσοστό αποτυχίας εξέτασης
Υψηλό



Σχήμα 1 Διαλογή στο γενικό πληθυσμό

Ευαισθησία για T21	98-99%
Ευαισθησία για T18/13	95%
Επεμβατικός έλεγχος σε	1%

- Δε συμπεριλαμβάνει US στη διαλογή 1^{ης} γραμμής

