

CONTROVERSIAS EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

¹ Médico Genetista, Instituto de Medicina Genética

² Profesora Emérita de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

Conflictos de interés: Las autoras declaran que no existen conflictos de interés en el presente artículo.

Artículo recibido el 2 de agosto de 2016 y aceptado para publicación el 9 de agosto de 2016.

Correspondencia:
Dra. Alicia Díaz Kuan

✉ adiaz@genetica.com.pe

DIAGNÓSTICO PRENATAL DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS EXAMEN PRENATAL NO INVASIVO

María Isabel Quiroga de Michelena^{1,2}, Alicia Díaz Kuan¹

RESUMEN

El examen prenatal no invasivo es un método de tamizaje para encontrar a aquellas gestantes que tienen un riesgo de aneuploidía alto, específicamente para las trisomías 21, 18 y 13, y anomalías del cromosoma X. Requiere de una muestra de sangre periférica materna, en la que se analiza el ADN fetal libre circulante. En esta revisión detallamos los beneficios, desventajas e indicaciones del estudio.

Palabras clave: Tamizaje Prenatal No Invasivo; ADN Libre Fetal; Aneuploidía.

PRENATAL DIAGNOSIS OF CHROMOSOME ABNORMALITIES

NONINVASIVE PRENATAL TESTING

ABSTRACT

Non-invasive prenatal test (NIPT) is a screening method that identifies pregnant women with a high aneuploidy risk, specifically for trisomy 21, 18, 13, and chromosome X anomalies. NIPT analyzes free fetal DNA found in maternal blood. In this review, we describe the benefits, disadvantages and study indications.

Keywords: NIPT; Free Fetal DNA; Aneuploidy.



INTRODUCCIÓN

El examen prenatal no invasivo o NIPT, según sus siglas en inglés (*non invasive prenatal testing*), es un tamizaje, es decir indica el riesgo para ciertas anomalías cromosómicas, a diferencia de los exámenes diagnósticos prenatales, como el cariotipo de las vellosidades coriónicas y del líquido amniótico, que determinan un diagnóstico o descartan anomalías de cromosomas visibles al microscopio. El NIPT consiste en tomar una muestra de sangre periférica de la gestante para analizar el ADN fetal libre en la circulación materna. Surge como un método de tamizaje para las trisomías más comunes, que son la trisomía 21 o síndrome Down, la trisomía 18 o síndrome de Edwards, la trisomía 13 o síndrome de Patau, monosomía del cromosoma X o síndrome de Turner e identificación del cromosoma Y. Posteriormente, se añadió el tamizaje de microdeleciones frecuentes. El NIPT reemplaza a los tamizajes bioquímicos del primer y segundo trimestre y evita los riesgos potenciales que, aunque mínimos, existen en los métodos invasivos como la biopsia de vellosidades coriónicas y la amniocentesis. Cabe resaltar, que cuando la sospecha de anomalía cromosómica es muy alta, como cuando se observa una anomalía fetal anatómica en la ecografía, es necesario hacer un examen invasivo. Frente a los tamizajes de primer y segundo trimestres, el NIPT permite una alta tasa de detección, reduce los falsos positivos, reduce la exposición del feto y puede ser ofrecido a todas las mujeres luego de un asesoramiento genético⁽¹⁾.

Según la ACOG y la Sociedad Americana de Medicina Materno-Fetal, el NIPT está indicado para las gestantes mayores de 35 años, fetos con riesgo aumentado de aneuploidía por hallazgos ecográficos, mujeres con una historia de gestación anterior afectada con aneuploidía, un progenitor portador de una translocación robertsoniana con riesgo aumentado para trisomía 21 o 13 y mujeres con tamizaje (*screening*) de primer o segundo trimestre positivos⁽¹⁾. Luego se extendió a mujeres de riesgo bajo y de cualquier edad. El NIPT puede demostrar un riesgo alto o bajo para aneuploidía. De ser alto, debe realizarse un examen diagnóstico invasivo, como la amniocentesis, para confirmar el resultado.

El NIPT comenzó con el análisis del ADN de las células fetales circulantes en la sangre materna⁽²⁾. Este análisis cayó en desuso por el costo y

dificultad para aislar las células fetales. Además, estas células, con excepción de los eritrocitos fetales, pueden persistir en la circulación sanguínea por años, ya sea porque son longevas o porque hubo algún tipo de injerto de las células fetales en la médula ósea materna⁽³⁾. Por ejemplo, si una mujer ha tenido gestaciones previas y quiere hacer un NIPT que usa células fetales en la gestación actual, es posible que el examen se haga no solo en células del feto, sino también en células de embarazos anteriores, lo cual alteraría el resultado. En 1997, Lo y colaboradores descubrieron que existe ADN libre fetal en la circulación materna. Este hallazgo novedoso revolucionó el tamizaje prenatal no invasivo⁽⁴⁾. En el 2011 comenzó su uso clínico en Estados Unidos. Luego del descubrimiento, surgieron diferentes métodos de análisis de NIPT y diferentes programas bioinformáticos que procesan la gran cantidad de información procedente del análisis del ADN. Así, existen numerosos laboratorios que ofrecen NIPT que ofrecen resultados de calidad y se diferencian en el método y *software* bioinformático que patentan.

METODOLOGÍA

El ADN fetal libre proviene principalmente de la placenta y conforma el 3 a 6% del ADN libre total circulante materno hacia la semana 10 de gestación. A medida que la placenta crece, el porcentaje aumenta y se elimina rápidamente en el posparto (no se detecta dos horas después del nacimiento)⁽⁵⁾. Se empieza con el reconocimiento del ADN fetal libre, que se basa en la longitud de los fragmentos de ADN libres; los fetales son más cortos que los maternos. Luego se generan cientos de copias de los fragmentos de ADN usando la secuenciación paralela masiva o *next-generation sequencing*. Los laboratorios que ofrecen NIPT se diferencian en la región a secuenciar; unos secuencian todo el genoma, otros secuencian regiones específicas llamadas SNPs (*single nucleotide polymorphisms*). La información obtenida después de amplificar cientos de fragmentos de ADN, es analizada por *softwares* bioinformáticos que emplean algoritmos complicados. En el caso de la amplificación de todo el genoma, se cuenta la dosis relativa de cada cromosoma. Por ejemplo, el cromosoma 1 (el par) representa el 8,5% de todo el ADN, y el cromosoma 21 representa el 1,3%. Entonces, si el conteo da al cromosoma 21 un porcentaje mayor de lo esperado, esto indica la existencia de una trisomía del 21 y el resulta-



do se emite como riesgo alto para trisomía 21⁽⁶⁾. El uso de SNPs implica la secuenciación de cerca de 20 000 segmentos específicos del genoma que corresponden a variantes polimórficas o SNPs, tanto de la madre como del feto. Los SNPs maternos se secuencian de linfocitos y los fetales de los fragmentos de ADN libre en plasma. Luego, un *software* crea una lista de todas las posibles combinaciones de SNPs que el feto podría heredar en base a los polimorfismos presentes en la madre y a los de la población. Los SNPs fetales obtenidos se comparan con las posibles combinaciones⁽⁷⁾. Si los SNPs fetales no encajan con una de las combinaciones esperadas, se cataloga como riesgo alto para la anomalía analizada.

El resultado se emite como de riesgo alto o bajo. Un riesgo alto requiere de la confirmación por amniocentesis. Un riesgo bajo indica, con una alta precisión, que el bebé no tiene una anomalía cromosómica de las analizadas.

En el caso de embarazos gemelares, es posible usar un NIPT basado en la secuenciación de todo el genoma. Un resultado de riesgo alto indica que uno de los fetos puede estar afectado y requiere de la amniocentesis de ambos sacos gestacionales, o cordocentesis si los fetos compartieran el mismo saco^(8,9).

FRACCIÓN FETAL

La fracción fetal es una medida muy importante para la validez de un NIPT. Un laboratorio garantiza resultados de calidad cuando se expresa la fracción fetal en el reporte final. Una fracción fetal de 3 a 4% es lo mínimo necesario para poder identificar un embarazo trisómico^(10,11). La fracción fetal ideal se alcanza después de la semana 10 de gestación, y va aumentando a medida que la gestación avanza a una tasa de 0,1% por semana. Existen factores que alteran la concentración del ADN fetal libre, como la edad gestacional y el peso materno. A mayor peso materno, menor es el porcentaje encontrado de NIPT. Por ejemplo, en un grupo de gestantes de 120 kg, 10% de ellas tendrá una fracción fetal por debajo del 4% mínimo requerido⁽¹²⁾.

TASA DE DETECCIÓN DE ANEUPLOIDÍA

El metanálisis de Gil y colaboradores, del 2015, reunió 37 estudios que analizaron la eficacia del NIPT como tamizaje para aneuploidías en rela-

ción con el cariotipo fetal. La tasa de detección de aneuploidías fue 99,2% y falso positivo en 0,9%. La tasa de detección es mucho mejor para la trisomía 21, con 96,3%. Disminuye para la trisomía 18 y 13, con una tasa de detección de 91% y 90%, respectivamente. Para la monosomía de X, la detección es de 93%. En gestaciones múltiples, la detección de trisomía 21 es de 93,7%, con un falso positivo de 0,23%⁽¹³⁾. Estos resultados se repiten en el metanálisis de Taylor-Phillips y colaboradores⁽¹⁴⁾. Con respecto a la determinación del sexo, es decir, la identificación del cromosoma Y, cuando hay uno, tiene un falso positivo que llega al 1%⁽¹⁵⁾.

En casos muy raros, los resultados son indeterminados o no se pueden interpretar. Se recomienda una evaluación exhaustiva de la gestante, ya que esto sugiere un riesgo alto de aneuploidía. Por otro lado, la detección por NIPT de múltiples aneuploidías llevó al diagnóstico de neoplasia materna aun asintomática⁽¹⁶⁾.

MANEJO DEL PACIENTE

¿Quién decide el tipo de examen prenatal a realizar? ¿El médico o la paciente? Creemos que el médico debe asesorar a su paciente y explicarle detenidamente las características y alcances de cada uno de estos métodos, así como sugerir lo que parecería mejor para su caso específico. Pero, finalmente, será la paciente quien decida por el examen a realizar, y deberá firmar un consentimiento informado al respecto.

CONCLUSIONES

El NIPT es un examen de tamizaje de aneuploidías que tiene una alta tasa de detección. Un resultado de riesgo alto debe confirmarse con un método diagnóstico como el cariotipo de líquido amniótico.

El NIPT puede ser ofrecido a cualquier gestante, si esta ha sido informada adecuadamente de las ventajas y limitaciones del examen y desea hacerlo.

El NIPT no detecta anomalías fetales anatómicas. De encontrarse este tipo de defectos en la ecografía, se requiere de un examen diagnóstico (invasivo) que puede detectar una gama más amplia de alteraciones cromosómicas que las que se detectan con el NIPT.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACOG Committee Opinion. Women 35 years or older, fetuses with ultrasonographic findings indicative of an increased risk of aneuploidy, women with a history of trisomy-affected offspring, a parent carrying a balanced robertsonian translocation with an increased risk of trisomy 13 or trisomy 21, and women with positive first-trimester or second-trimester screening test results. <http://www.acog.org/Resources-And-Publications/Committee-Opinions/Committee-on-Genetics/Cell-free-DNA-Screening-for-Fetal-Aneuploidy>
2. Bayrak-Toydemir P, Pergament E, Fiddler M. Applying a test system for discriminating fetal from maternal cells. *Prenat Diagn.* 2003;23:619–24.
3. Puszyk W, Crea F, Old RW. Noninvasive prenatal diagnosis of aneuploidy using cell-free nucleic acids in maternal blood: promises and unanswered questions. *Prenat Diagn.* 2008;28:1–6.
4. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CW, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997 August 17;350(9076): 485–7.
5. Bodurtha J, Strauss J III. Genomics and perinatal care. *N Engl J Med.* 2012 Jan 5;366(1):64–73. doi: 10.1056/NEJMr1105043.
6. Chiu R, Chan KC, Gao Y, Lau V, Zheng W, Leung T, Foo C, Xie B, Tsui N, Zee L, Lau T, Cantor C, Lo D. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *PNAS.* 2008; 105(51): 20458–20463.
7. Samango-Sprouse C, Banjevic M, Ryan A, Sigurjonsson S, Zimmermann B, Hill M, Hall MP, Westemeyer M, Saucier J, Demko Z, Rabinowitz M. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy. *Prenat Diagn.* 2013; 33(7): 643–649. doi:10.1002/pd.4159.
8. Huang X, Zheng J, Chen M, et al. Noninvasive prenatal testing of trisomies 21 and 18 by massively parallel sequencing of maternal plasma DNA in twin pregnancies. *Prenat Diagn* 2014;34(4):335–40.
9. Tan Y, Gao Y, Lin G, Fu M, Li X, Yin X, Du J, Li J, Li W, Peng H, Yuan Y, Chen F, Jiang F, Zhang H, Lu G, Gong F, Wang W. Noninvasive prenatal testing (NIPT) in twin pregnancies with treatment of assisted reproductive techniques (ART) in a single center. *Prenat Diagn.* 2016 Jul;36(7):672–9. doi: 10.1002/pd.4837.
10. Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, Mosimann B, Nicolaidis K. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: effect of maternal and fetal factors. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(4):237–43. doi: 10.1159/000337373.
11. Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, Lu V, McCullough R, et al. Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Mar;204(3):205.e1–11. doi: 10.1016/j.ajog.2010.12.060.
12. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenatal Diagnosis* 2013, 33, 662–666.
13. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaidis KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Mar;45(3):249–66. doi: 10.1002/uog.14791.
14. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, Clarke A, Quenby S, Clarke A. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2016 Jan 18;6(1):e010002. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010002.
15. Wang T, He Q, Li H, Ding J, Wen P, Zhang Q, Xiang J, Li Q, Xuan L, Kong L, Mao Y, Zhu Y, Shen J, Liang B, Li H. An Optimized method for accurate fetal sex prediction and sex chromosome aneuploidy detection in non-invasive prenatal testing. *PLoS One.* 2016 Jul 21;11(7):e0159648. doi: 10.1371/journal.pone.0159648.
16. Amant F, Verheecke M, Wlodarska I, Dehaspe L, Brady P, Brison N, Van Den Bogaert K, Dierickx D, Vandecaveye V, Tousseyen T, Moerman P, Vanderstichele A, Vergote I, Neven P, Berteloot P, Putseys K, Danneels L, Vandenberghe P, Legius E, Vermeesch JR. Presymptomatic identification of cancers in pregnant women during noninvasive prenatal testing. *JAMA Oncol.* 2015 Sep;1(6):814–9. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.1883.