

***Μη επεμβατική προγεννητική
διάγνωση (NIPD)
: παρόν και μέλλον***

> JM COSTA
Εργαστήριο Cerba

Αθήνα 11 Φεβρουαρίου, 2012

Η NIPD προτείνεται στην κλινική πράξη ως διαδικασία ρουτίνας

Ναι Όχι

Η NIPD γίνεται με τη χρήση κυκλοφορούντων εμβρυϊκών κυττάρων

Ναι Όχι

Ποιες διαγνώσεις είναι διαθέσιμες το 2012:

- Προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου
- RHD γονοτυπική τυποποίηση
- K1 (Kell) γονοτυπική τυποποίηση
- Αχονδροπλασία
- Σύνδρομο Down's (τρισωμία 21)
- Αιμορροφιλία
- Κυστική Ίνωση
- Μεσογειακή Αναιμία

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι



Επεμβατική προσέγγιση για PND (προγεννητική διάγνωση): Το θέμα της απώλειας του εμβρύου. Γαλλικά δεδομένα

Συνολικές ενδείξεις

- Αριθμός εμβρύων που ελέγχθηκαν	83,578
• Χρωμοσωμιακές ανωμαλίες	74,629
• Γενετικές παθήσεις	2,728
• Μολυσματικές παθήσεις	4,906
- Αριθμός προσβεβλημένων εμβρύων	4,725
> <i>Απώλειες εμβρύων (1%)</i>	835

Ειδικά για χρωμοσωμιακές ανωμαλίες: 74,629

• Ηλικία μητέρας (≥ 38 ετών)	21,927	για 354 τρισωμίες 21 που ανιχνεύθηκαν
• Βιοχημικός έλεγχος (2T)	31,293	για 406 τρισωμίες 21 που ανιχνεύθηκαν
> <i>Απώλειες εμβρύων (1%)</i>	532	<i>για 760 τρισωμίες 21 που ανιχνεύθηκαν</i>



Πώς μπορεί να επιλυθεί το πρόβλημα της προκαλούμενης εμβρυϊκής απώλειας?

1-Μειώνοντας τον κίνδυνο

> Πιο έμπειροι χειριστές, αλλά και πάλι ο κίνδυνος παραμένει γύρω στο 1%

2-Μειώνοντας τον αριθμό των επεμβατικών προσεγγίσεων

> Συνδισσόμενος έλεγχος της μητέρας (2Τ > σε συνδυασμό 1Τ: 11.3% >6.3% γυναίκες σε κίνδυνο)

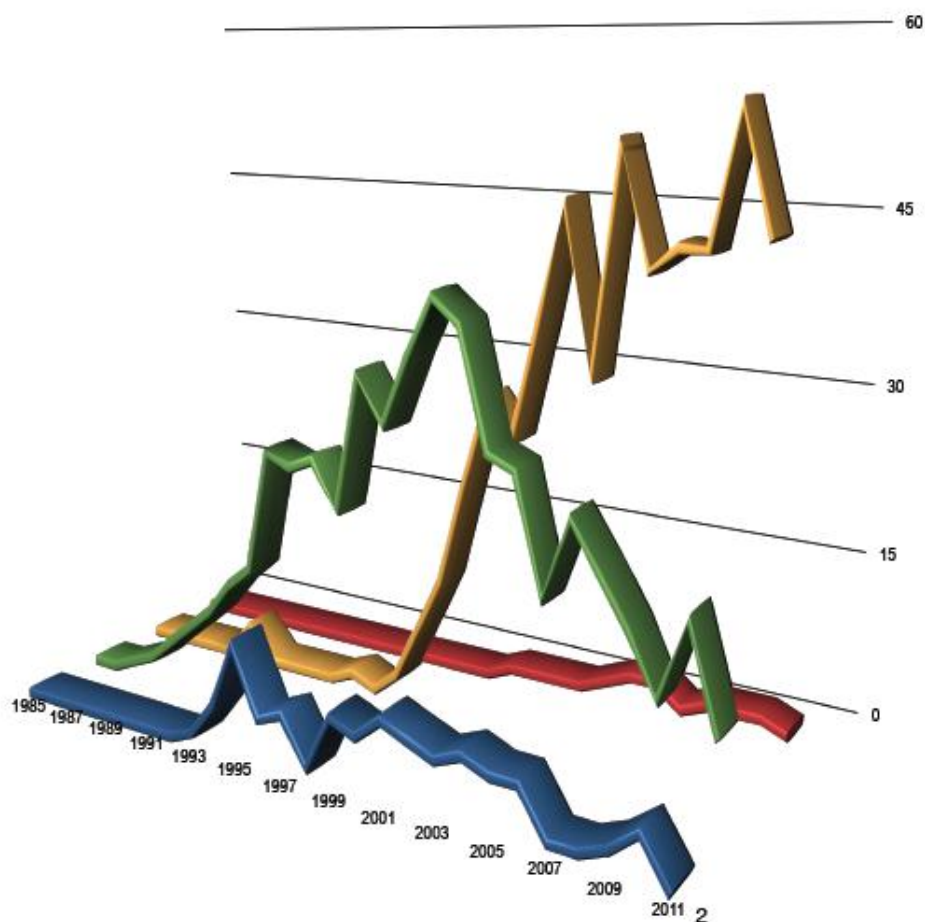
3-Αναπτύσσοντας μη επεμβατικές προσεγγίσεις

> *Γενετικός έλεγχος του εμβρύου μέσω ενός μητρικού δείγματος*



Ποια προσέγγιση για την NIPD ?

« Pubmed » ιστορία



- Ενδοτραχηλικά εμβρυικά κύτταρα
- Εμβρυικά κύτταρα στο μητρικό αίμα
- Εμβρυικό DNA στο μητρικό πλάσμα
- Εμβρυικό RNA στο μητρικό πλάσμα



NIPD με την χρήση μητρικού αίματος

Κυκλοφορούντα εμβρυικά κύτταρα



Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study.

[Bianchi DW](#), [Simpson JL](#), [Jackson LG](#), [Elias S](#), [Holzgreve W](#), [Evans MI](#), [Dukes KA](#), [Sullivan LM](#), [Klinger KW](#), [Bischoff FZ](#), [Hahn S](#), [Johnson KL](#), [Lewis D](#), [Wapner RJ](#), [de la Cruz F](#).

Prenat Diagn 2002;22:609-15.

- Αποτυχία ανάλυσης στο 17 % των δειγμάτων
- Ποσοστό ανίχνευσης για Y⁺ κύτταρα (FISH) : 41.4 % (11% ψευδώς θετικά)
- Ποσοστό ανίχνευσης για T21⁺ κύτταρα(FISH) : 74.4 % (4% ψευδώς θετικά)



NIPD με την χρήση μητρικού αίματος

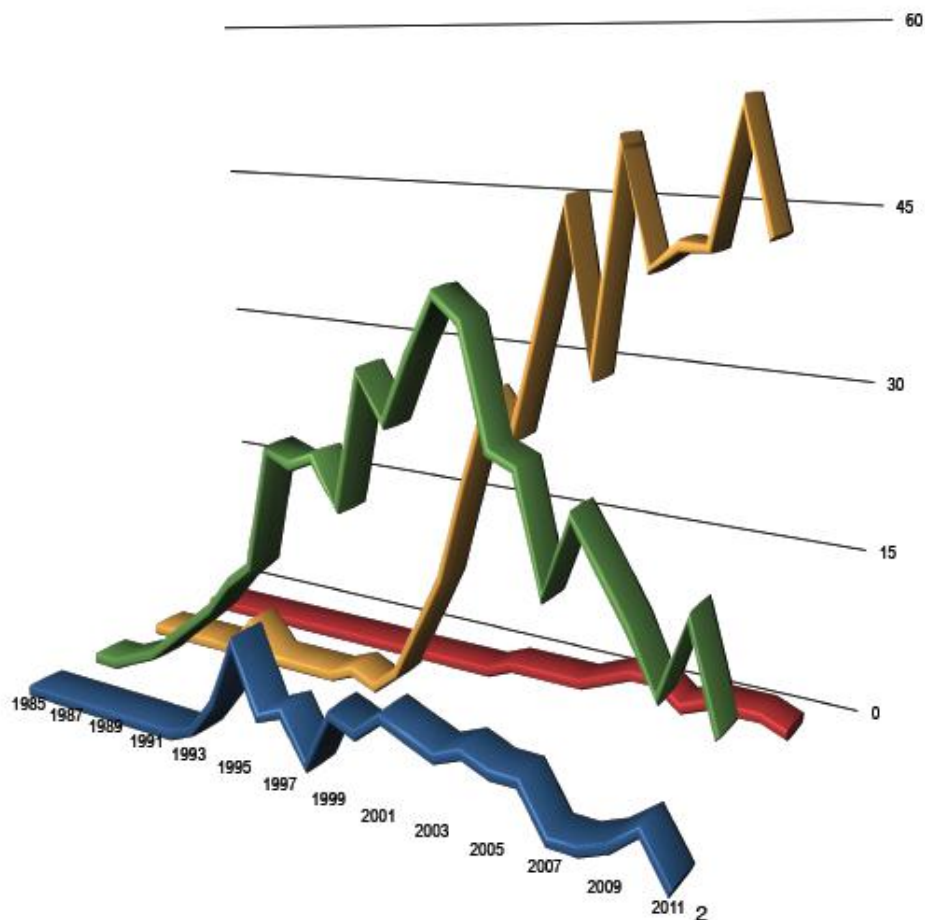
Κυκλοφορούντα εμβρυικά κύτταρα: όρια

- Περίπου 1 εμβρυικό κύτταρο ανά ml μητρικού αίματος
- Δυσκολίες απομόνωσης και/ή εμπλουτισμού (έλλειψη ειδικών δεικτών)
- Δυσκολίες στην ανάλυση μοναδικών κυττάρων
- « μικροχιμαρισμός» (microchimerism, εμμονή)



Ποια προσέγγιση για την ΝΙΡD ?

« Pubmed » ιστορία



- Ενδοτραχηλικά εμβρυικά κύτταρα
- Εμβρυικά κύτταρα στο μητρικό αίμα
- Εμβρυικό DNA στο μητρικό πλάσμα
- Εμβρυικό RNA στο μητρικό πλάσμα

NIPD με την χρήση μητρικού αίματος

Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA



Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum.

[Lo YM](#), [Corbetta N](#), [Chamberlain PF](#), [Rai V](#), [Sargent IL](#), [Redman CW](#), [Wainscoat JS](#).

Lancet 1997;350:485--7.

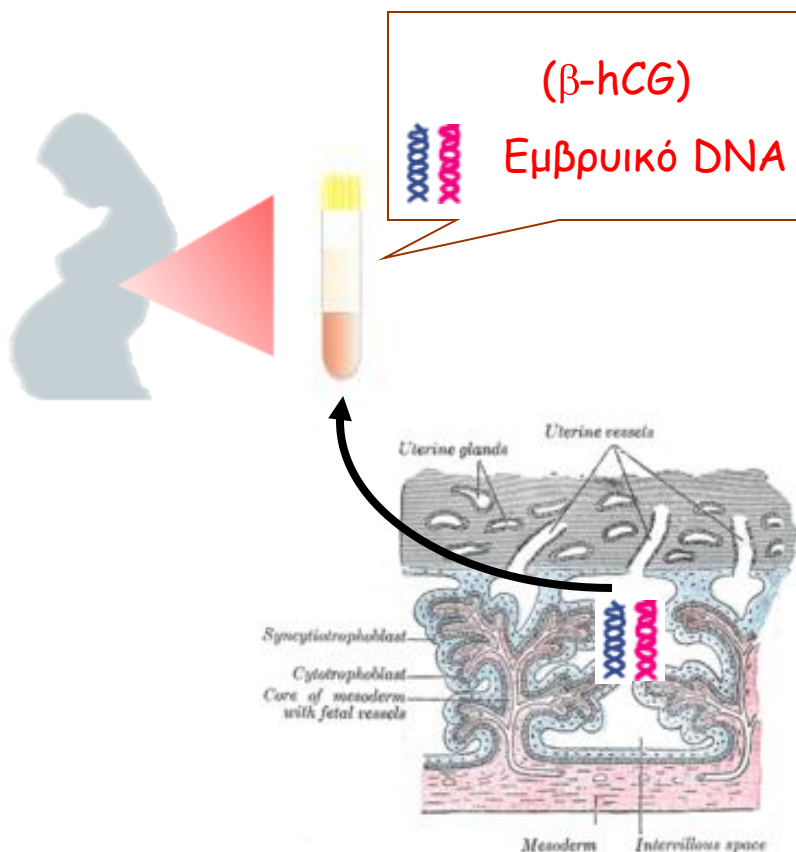
Ανίχνευση αλληλουχιών προερχόμενων από το χρωμόσωμα Y →

Εμβρυικά κύτταρα →



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA: πρόσφατα δεδομένα

Φυσιοπαθολογία



- Η κύρια πηγή:
κυττο/συνκυτιοτροφολαστικά κύτταρα

- Δυνητικά προβλήματα:
ανεμβρυϊκή (μύλη) κύηση
VT Syndrome
(εξαφαν. δίδυμου εμβρύου)

Ψευδώς θετικό

Ψευδώς θετικό

Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA: πρόσφατα δεδομένα

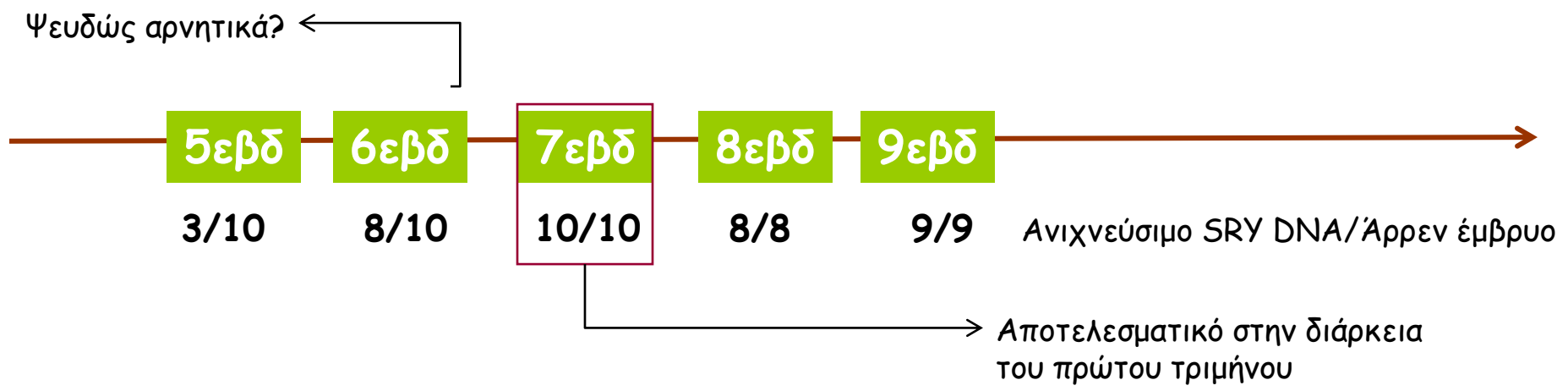
Φυσιοπαθολογία (SRY= Sex-determination region Y = Περιοχή καθορισμού του φύλου στο Y)



[Kinetics of SRY gene appearance in maternal serum: detection by real time PCR in early pregnancy after assisted reproductive technique.](#)

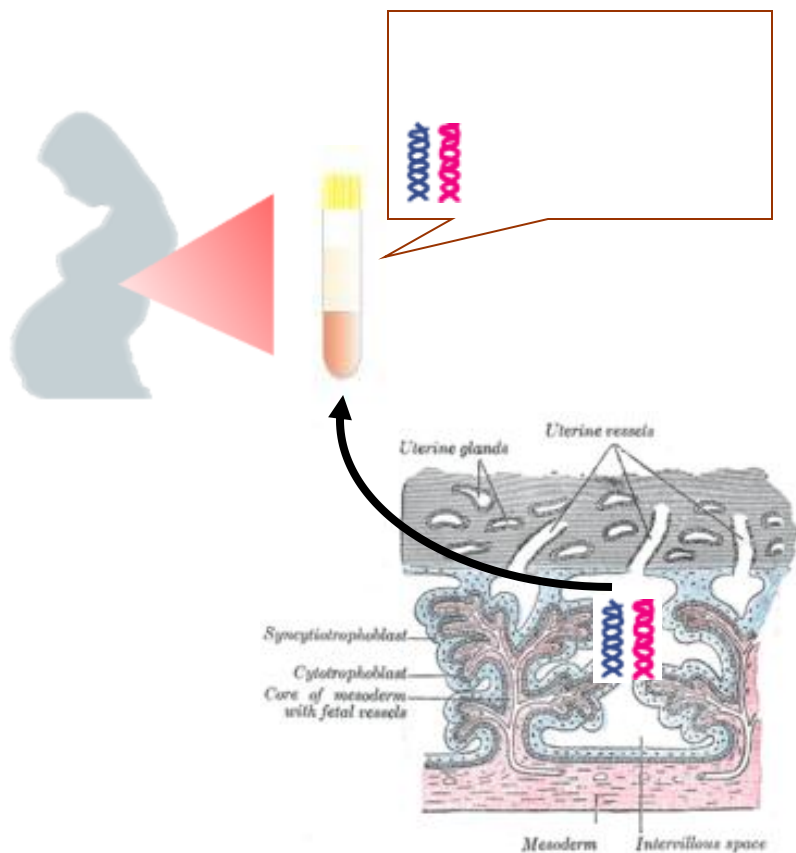
Guibert J, Benachi A, Grebille AG, Ernault P, Zorn JR, Costa JM.
Hum Reprod. 2003 Aug;18(8):1733-6.

- Κινητική εμφάνισης (ανίχνευσης) στο μητρικό αίμα (μετά από IVD)



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA: πρόσφατα δεδομένα

Φυσιοπαθολογία



- Κυρίως προέρχονται από κυττο/συνκυτιοτροφολαστικά κύτταρα
- Εμφάνιση (ανίχνευση) στο μητρικό αίμα \approx 5-6εβδ
- Αύξηση συγκέντρωσης με την ηλικία κύησης
- Γρήγορη κάθαρση (< 24 h) μετά τον τοκετό (χρόνος ημιζωής \approx 16 λεπτά)
- Δεν υφίστανται μετά την εγκυμοσύνη

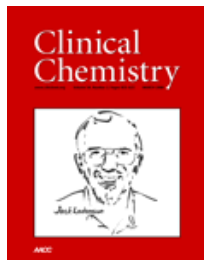
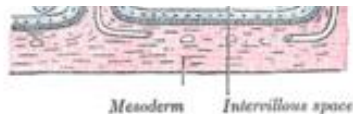
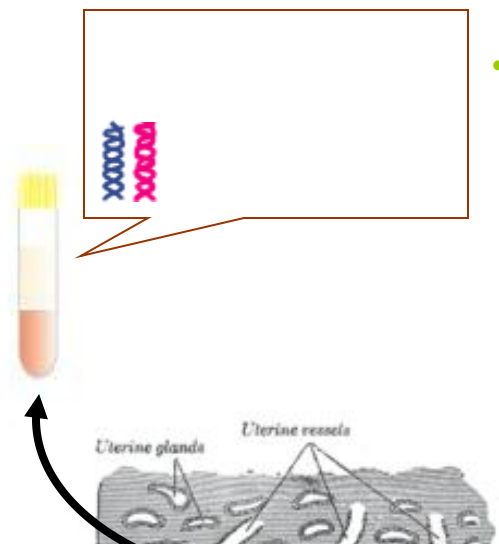
NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Δυσκολίες και περιορισμοί της διαδικασίας

- Μικρή ποσότητα εμβρυικού DNA στο μητρικό πλάσμα (ειδικά στην διάρκεια του πρώτου τριμήνου): ~16Geq/ml



Ευαισθησία : 37-91%



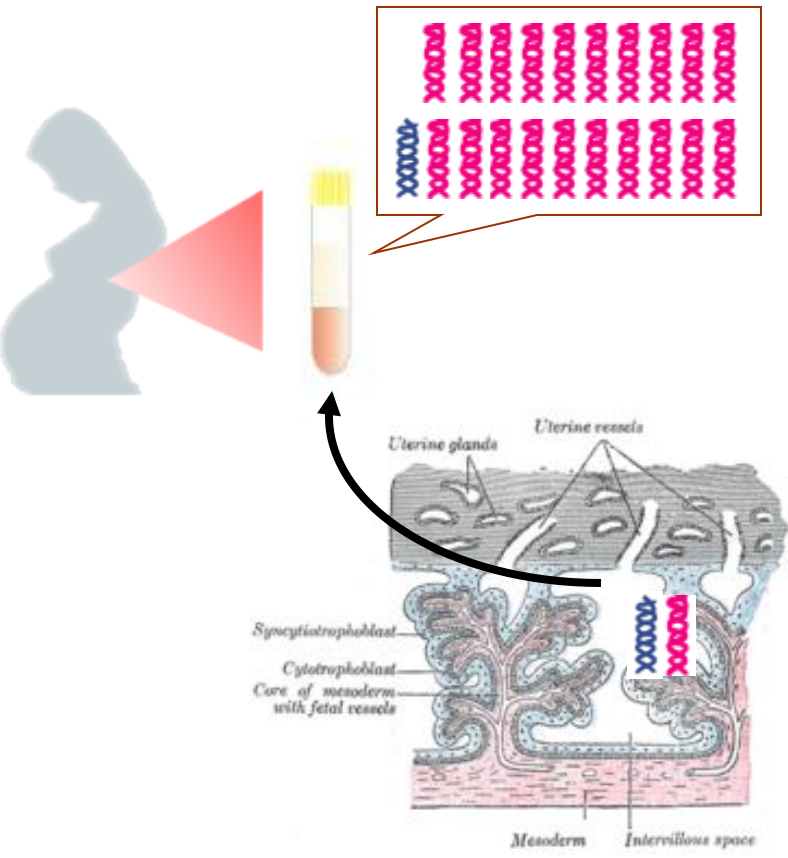
[Interlaboratory comparison of fetal male DNA detection from common maternal plasma samples by real-time PCR.](#)

Johnson KL, Dukes KA, Vidaver J, LeShane ES, Ramirez I, Weber WD, Bischoff FZ, Hahn S, Sharma A, Dang DX, Hire LM, **Bianchi DW**, Simpson JL, **Holzgreve W**, Elias S, Klinger KW.
Clin Chem. 2004 Mar;50(3):516-21. Epub 2004 Jan 12.



NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Δυσκολίες και περιορισμοί της διαδικασίας



- Μικρή ποσότητα εμβρυικού DNA στο μητρικό πλάσμα (ειδικά στην διάρκεια του πρώτου τριμήνου ~16Geq/ml)

- Υπόστρωμα μητρικού DNA (χαμηλό ποσοστό ολικού DNA στο μητρικό πλάσμα: περίπου 3-6%)

Η ανάλυση περιορίζεται στην ανίχνευση αλληλουχιών που δεν υπάρχουν στο μητρικό γονιδίωμα



NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Τρέχουσες εφαρμογές

Y



XXXXXX

X



XXXXXX

1- Προσδιορισμός φύλου του εμβρύου:

Αλληλουχίες προερχόμενες από το χρωμόσωμα Y (πχ. γονίδιο *SRY*)



XXXXXX

NIPD (1): προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου

Κλινική χρησιμότητα και στόχοι

- Προσέγγιση φυλοσύνδετων νοσημάτων (X-linked) σε εγκύους φορείς
 - Με σκοπό να αποφευχθούν επεμβατικές προσεγγίσεις σε περίπτωση θηλυκού εμβρύου
- Προσέγγιση κυήσεων ζευγαριών με κίνδυνο συγγενούς υπερπλασίας των επινεφριδίων (congenital adrenal hyperplasia)
 - Με σκοπό να αποφύγουμε την περιττή θεραπεία με στεροειδή σε περίπτωση θηλυκού εμβρύου
- Προσέγγιση κυήσεων με υπερηχογραφικά ευρήματα



NIPD (1): προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου

Η εμπειρία του εργαστηρίου Cerba : 2001-2011 (n=4693)

Year	Test
2001	216
2002	347
2003	369
2004	413
2005	452
2006	451
2007	463
2008	497
2009	484
2010	496
2011	505

Duchenne dystrophy	266
Congenital adrenal hyperplasia	173
Hemophilia A	168
Becker dystrophy	62
Genital ambiguity on ultrasound	45
Hemophilia B	45
Fragile X syndrome	41
Alport syndrome	25
X-linked Hydrocephaly	25
Adrenoleucodystrophy	24
Hunter disease	22
Myotubular myopathy	21
Menkes disease	20
Retinitis pigmentosum	17
X-linked Mental Retardation	17
Anhydrotic ectodermic dysplasia	15
Bruton disease	14
Incontinentia pigmenti	11
X-linked Mental Retardation (unknown)	11
Other (<10)	203

Συνολική ευαισθησία και ειδικότητα >99%



NIPD (1): προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου

Συστάσεις στη Γαλλία

AVIS DE LA HAUTE AUTORITE DE SANTE

Libellé transmis pour évaluation : Détermination prénatale du sexe foetal à partir du sang maternel

Classement NABM : non classe *Code :* non codé

Date de l'avis : 22 juillet 2009

Le **service attendu** est considéré **suffisant**. Par conséquent, l'**avis de la HAS** sur l'inscription de l'acte à la liste des actes prévue à l'article L. 162-1-7 du Code de la sécurité sociale est **favorable**, avec les précisions suivantes :

1. Indications principales

- Grossesse à risque de maladies récessives liées au chromosome X
- Grossesse à risque d'hyperplasie congénitale des surrénales



DÉTERMINATION PRÉNATALE DU SEXE FŒTAL A PARTIR DU SANG MATERNEL

RAPPORT D'EVALUATION TECHNOLOGIQUE

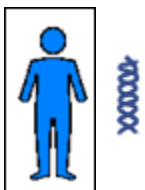
Juillet 2009



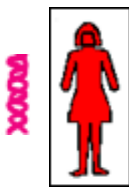
NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Τρέχουσες εφαρμογές

RHD+

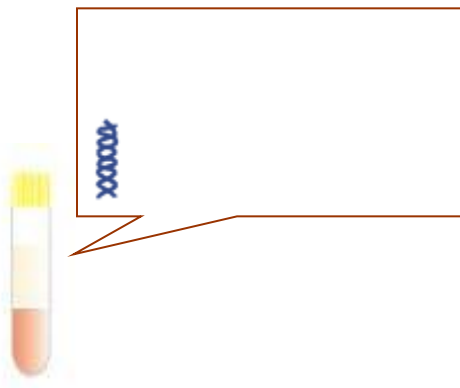


RHD-



2- Γονοτυπική τυποποίηση Rhesus D:

Αλληλουχίες οι οποίες προέρχονται από το γονίδιο *RHD*
(το οποίο γενικά είναι απόν σε RhD-αρνητικούς ασθενείς)



NIPD (2): εμβρυική γονοτυπική τυποποίηση RHD

Συγκριτικά αποτελέσματα στην Ευρώπη

	Sanquin NL	IGBRL GB	Cerba FR	CNRHP FR
	Πλάσμα T3 (εξώνια 5+7)	Πλάσμα T3 (εξώνια 5+7)	Ορός T1 (εξώνιο 10)	Πλάσμα T2 (εξώνια 7+10)
Ασθενείς (n=)	2380	1869	3741	893
Χρόνος κύησης στην λήψη (εβδ)	28	28	> 10	7-32
RHD αρνητικό έμβρυο	915 (38.4%)	670 (35.9%)	1194 (32,9%)	193 (21,6%)
Ψευδώς αρνητικά	7 (0,26%)	3 (0,16%)	1 (0,03%)	4 (0,4%)
Ψευδώς θετικά	5 (0,20%)	14 (0,75%)	>3 (0,10%)	5 (0,54%)
Ασαφή	NA	31 (1,7)%	117 (3,1%)	5.4%

30 ασθενείς με
καταγωγή από την
Αφρική ή την
Καραϊβική



NIPD (2): εμβρυική γονοτυπική τυποποίηση RHD

Κλινική χρησιμότητα και στόχοι

- Αντιμετώπιση της αλλοανοσοποίησης RhD εγκύων
- Ταυτοποίηση γυναικών με κίνδυνο για αλλοανοσοποίηση
 - Με σκοπό να αποφευχθεί άσκοπη χορήγηση προϊόντων αίματος (anti-D ανοσοσφαιρίνες) σε περίπτωση RhD-αρνητικού εμβρύου και την εξοικονόμηση σπάνιου προϊόντος
 - Αυξημένη αποτελεσματικότητα προφύλαξης (Jones et al, BJOG 2004;111:8982-902): 1 περίπτωση αποφυγής αλλοανοσοποίησης για 278 γυναίκες που έλαβαν αγωγή χωρίς γονοτυπική τυποποίηση ή 166 όταν το έμβρυο είναι γνωστό RhD-θετικό

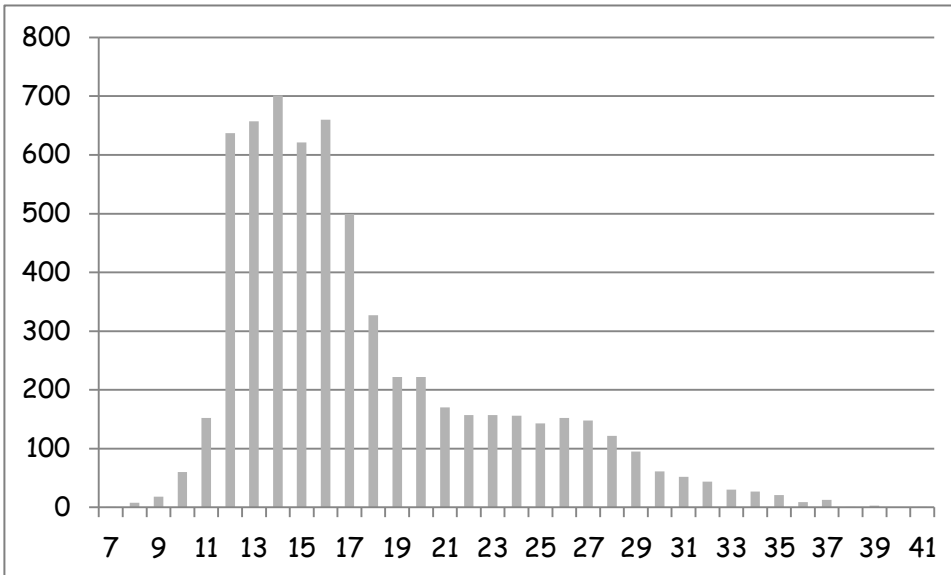


NIPD (2): εμβρυική γονοτυπική τυποποίηση RhD

Η εμπειρία του εργαστηρίου Cerba : 2007-2011 (n=6149)

Συστηματικός έλεγχος	4920
Αλλοανοσοποιημένοι ασθενείς	280
Επεμβατική διαδικασία	837
Τραύμα αιμορραγία.	112

RHD Θετικοί	4053
RHD Αρνητικοί	1910 ή 32%
Ασαφή	186 ή 3%



↓

Μη Καυκάσιοι	42%
Καυκάσιοι Cde ή cdE	38%


Συνολική κλινική ευαισθησία και ειδικότητα >99%



NIPD (2): εμβρυική γονοτυπική τυποποίηση RhD

Συστάσεις στη Γαλλία

Κολλέγιο Μαιευτήρων (Δεκέμβριος 2005) : Συστηματική προφύλαξη (Rhopylac® 300μg) στις 28-32 εβδομάδες « Εάν είναι δυνατόν, συστήνεται μη επεμβατική γονοτυπική ταυτοποίηση RHD , με σκοπό την στοχοποίηση της προφύλαξης σε εκείνες τις γυναίκες που κυοφορούν RhD-θετικά έμβρυα»



Conclusion
 La détermination prénatale du génotype foetal *RHD* à partir du sang maternel présente un intérêt en pratique clinique dans les deux indications suivantes :

- la prise en charge des grossesses de femmes RH:-1 (D négatif) dans le cadre de l'immunoprofylaxie, pour cibler les populations devant bénéficier d'immunoglobulines anti-RH1 ;
- en cas d'immunisation, la sélection des femmes RH:-1 (D négatif) devant bénéficier d'un suivi spécialisé et lourd.

Les données disponibles indiquent que le test peut être raisonnablement proposé à partir de 11 SA.

TEXTE COURT

Détermination prénatale du génotype *RHD* foetal à partir du sang maternel



NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Τρέχουσες εφαρμογές

CGG



CGG



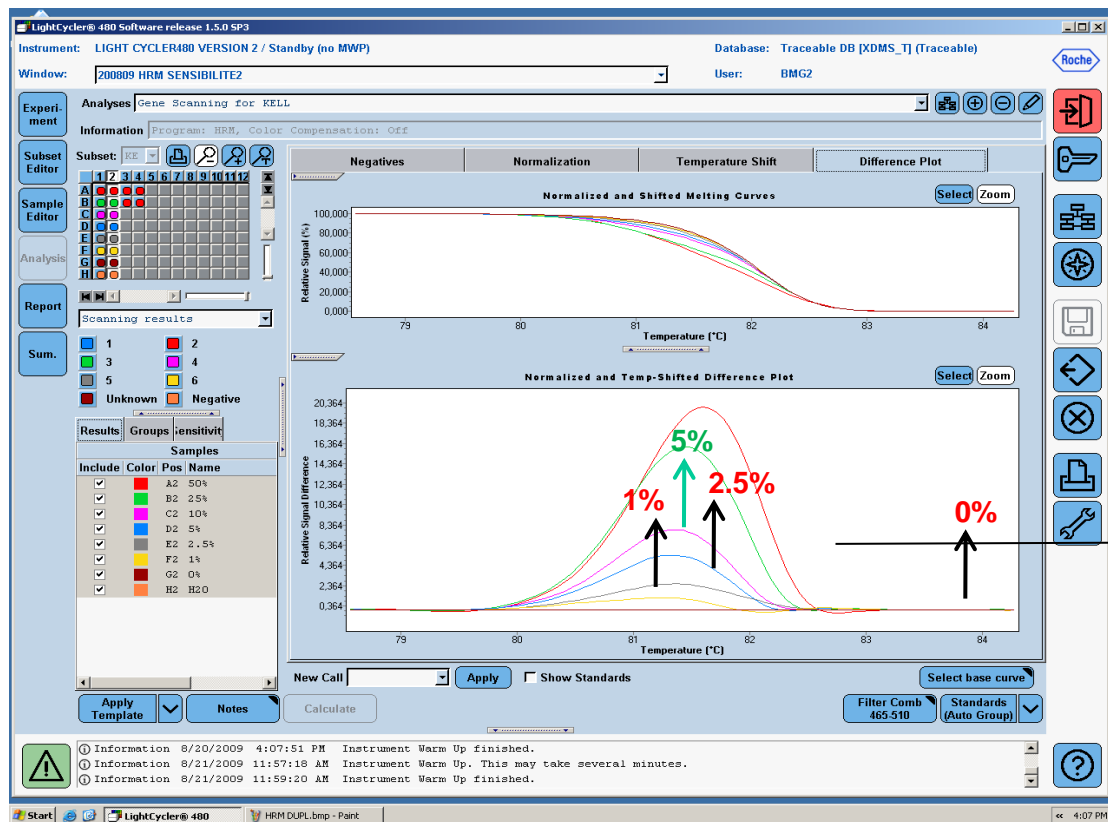
CATCCTCAGCTACAGGGTGGGCTT
 CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
 CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
 CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
 CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
 CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT



Ανίχνευση χαμηλού ποσοστού μεταλλαγμένου αλληλόμορφου

Ευαίσθητες μέθοδοι

Allele-Specific PCR, DHPLC, Minisequencing, HRM.....



Ποσοστό του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου σε υπόστρωμα φυσιολογικής αλληλουχίας



NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Διαταραχές μοναδικών γονιδίων: τρέχουσες εφαρμογές

CGG



CGG



Μετάλλαξη *de novo* : αχονδροπλασία

Ανίχνευση μετάλλαξης G>A και G>C στο γονίδιο *FGFR3*

Κλινική μελέτη επικύρωσης: 109 ασθενείς και δείγματα αναφοράς
(μέση ηλικία κύησης: 33 εβδομάδες)

Ευαισθησία 100% (όλα τα προσβεβλημένα έμβρυα διαγνώστηκαν σωστά n=25)
Ειδικότητα 100% (δεν υπήρξαν ψευδώς θετικά)

CATCCTCAGCTACAGGGTGGGCTT
CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT
CATCCTCAGCTACGGGGTGGGCTT



Νέα προσέγγιση στην διάγνωση ύποπτων περιπτώσεων από υπερηχογράφημα και/ή 3D scan

NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Διαταραχές μοναδικών γονιδίων: τρέχουσες εφαρμογές

ATG (K1)



ACG (K2)



Πατρικά-κληρονομούμενη SNP: KEL (K1) γονότυπος

Ανίχνευση της c.578C>T (p.Thr193Met) στο γονίδιο *KEL*

SNP=single nucleotide polymorphisms= Πολυμορφισμός μοναδικού νουκλεοτιδίου

Αντιμετώπιση εγκύων αλλοανοσοποιημένων K1

TTTAACCGAA **A** TGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA CGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA CGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA CGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA CGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA CGCTGAGACTT



NIPD με την χρήση κυκλοφορούντος, ελεύθερου, εμβρυικού DNA

Διαταραχές μοναδικών γονιδίων : περιορισμοί

ACG



ATG



NIPD Δύσκολα εφικτό προς το παρόν για:

- Αιμορροφιλία
- Κυστική Ίνωση
- Μεσογειακή Αναιμία...

TTTAACCGAA **CG**GTGAGACTT
 TTTAACCGAA TGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA TGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA TGCTGAGACTT
 TTTAACCGAA TGCTGAGACTT



NIPD χρωμοσωματικών ανωμαλιών

Μείζων τεχνική πρόκληση

Ανευπλοειδία (τρισωμία 13, 18 και/ή 21): προσδιορισμός του αριθμού αντιγράφων του εμβρυικού χρωμοσώματος:

- Ειδικό εμβρυικό στόχοι: πλακουντιακό (εμβρυικό) ειδικό RNA ή επιγενετικοί δείκτες (μεθυλιωμένο DNA)



NIPD χρωμοσωματικών ανωμαλιών

Μείζων τεχνική πρόκληση

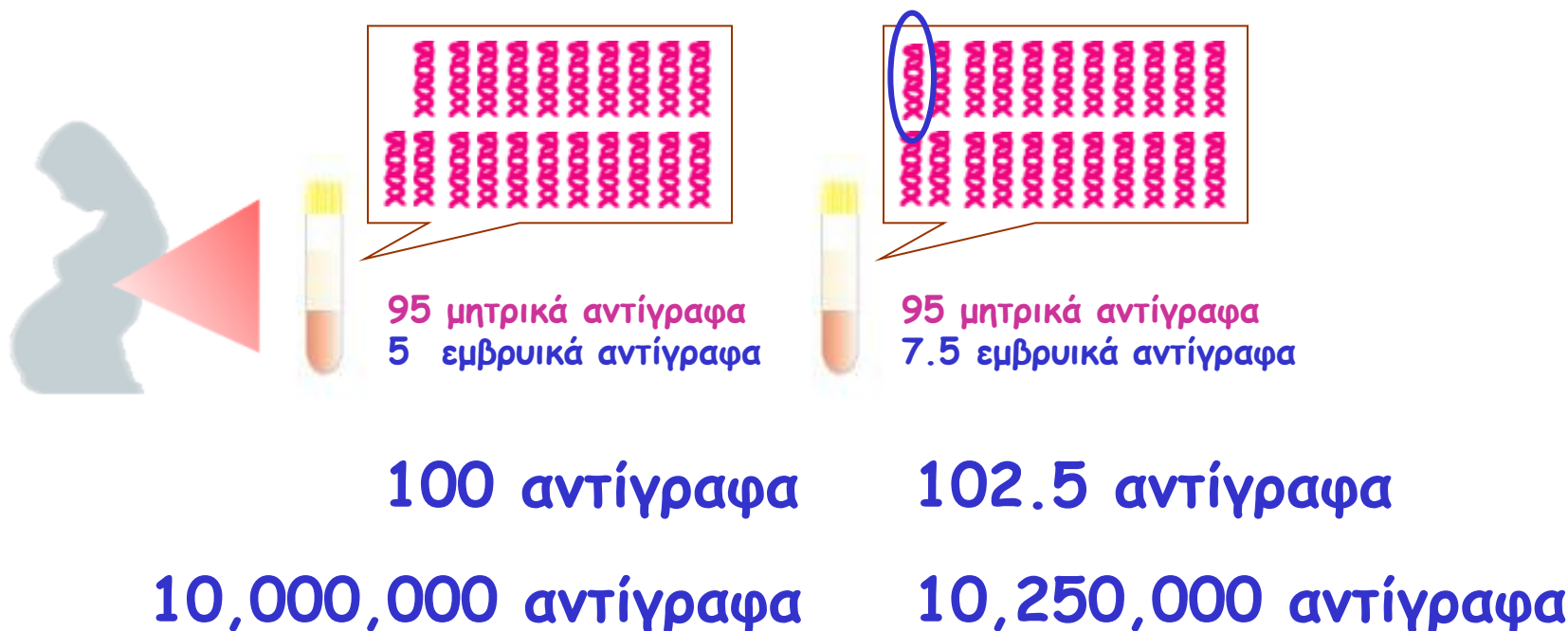
Ανευπλοειδία (τρισωμία 13, 18 και/ή 21): προσδιορισμός του αριθμού αντιγράφων του εμβρυικού χρωμοσώματος:

- Ειδικοί εμβρυικοί στόχοι: πλακουντιακό (εμβρυικό) ειδικό RNA ή επιγενετικοί δείκτες (μεθυλιωμένο DNA)
- Μη ειδικοί στόχοι: απαιτείται εξαιρετικά ακριβής μέτρηση αριθμού αντιγράφων «counting»



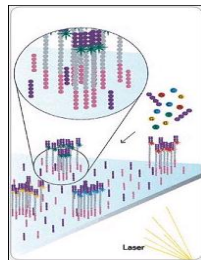
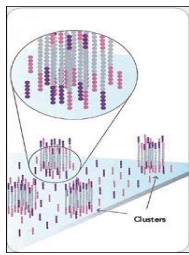
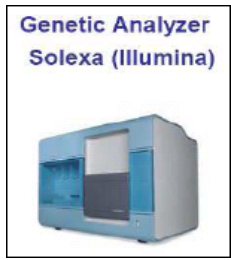
Κυκλοφορούν, ελεύθερο κυττάρων, εμβρυικό DNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

Μη ειδική ποσοτικοποίηση



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

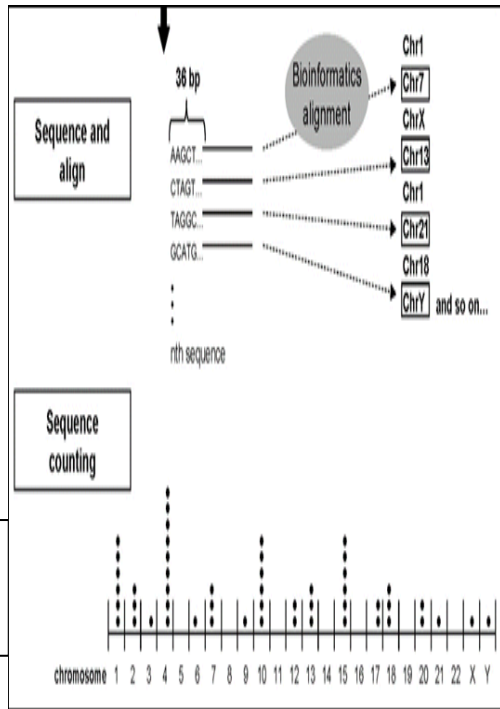
Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing » «μαζικά παράλληλο προσδιορισμό αλληλουχίας»



Ενίσχυση απλού μορίου

Μαζικά παράλληλος προσδιορισμός αλληλουχίας

Αναγνώσεις (5-10 M)



χρωμοσώματα

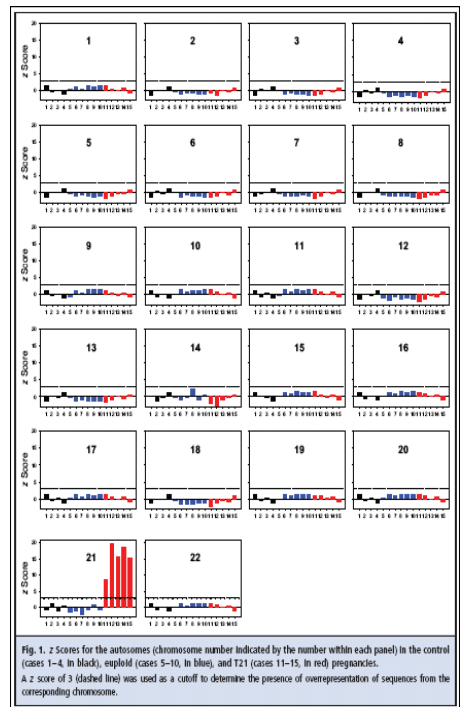
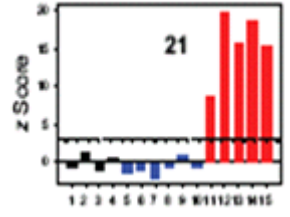


Fig. 1. z Scores for the autosomes (chromosome number indicated by the number within each panel) in the control (cases 1-4, in black), euploid (cases 5-10, in blue), and T21 (cases 11-15, in red) pregnancies. A z score of 3 (dashed line) was used as a cutoff to determine the presence of overrepresentation of sequences from the corresponding chromosome.

Ερμηνία:

$$Zscore = \frac{\%21 \text{ μέσου όρου δείγματος} \%21 \text{ αναφοράς}}{SD \%21 \text{ αναφοράς}}$$

Cut-off Zscore > 3 (%21 > 99.9 centile)



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing »

Genetic Analyzer
Solexa (Illumina)



[Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood.](#)

Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Oct 21;105(42):16266-71. Epub 2008 Oct 6.

18 ασθενείς

(μέση ηλικία: 18 εβδομάδες)

Όλες οι περιπτώσεις (9) ταυτοποιήθηκαν σωστά

SOLID sequencing
(Applied Biosystems)



[Maternal plasma DNA analysis with massively parallel sequencing by ligation for noninvasive prenatal diagnosis of trisomy 21.](#)

Chiu RW, Sun H, Akolekar R, Clouser C, Lee C, McKernan K, Zhou D, Nicolaides KH, Lo YM.

Clin Chem. 2010 Mar;56(3):459-63. Epub 2009 Dec 21.

15 ασθενείς

(μέση ηλικία: 14 εβδομάδες)

Όλες οι περιπτώσεις (5) ταυτοποιήθηκαν σωστά



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing »

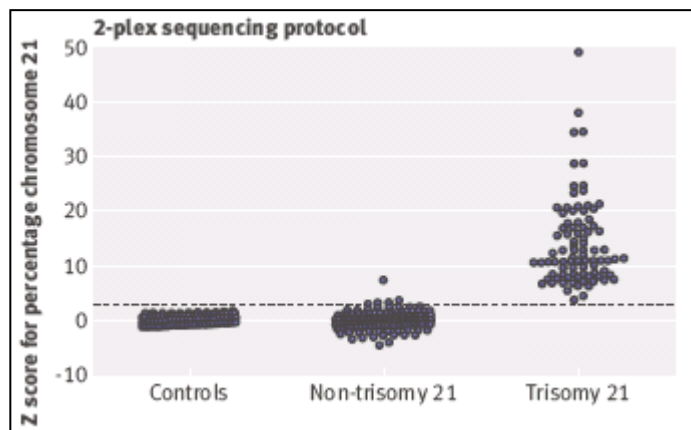
[Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study.](#)

Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KC, Lun FM, Go AT, Lau ET, To WW, Leung WC, Tang RY, Au-Yeung SK, Lam H, Kung YY, Zhang X, van Vugt JM, Minekawa R, Tang MH, Wang J, Oudejans CB, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM.

BMJ. 2011 Jan 11;342:c7401. doi: 10.1136/bmj.c7401.

236 δείγματα (86T21+146 μη T21)

Μέση ΗΚ: 13 εβδομάδες +1 ημέρα



Ευσαιθησία: 100%

Ειδικότητα : 97.9% (2.1% ψευδώς θετικά)



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

- Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing »

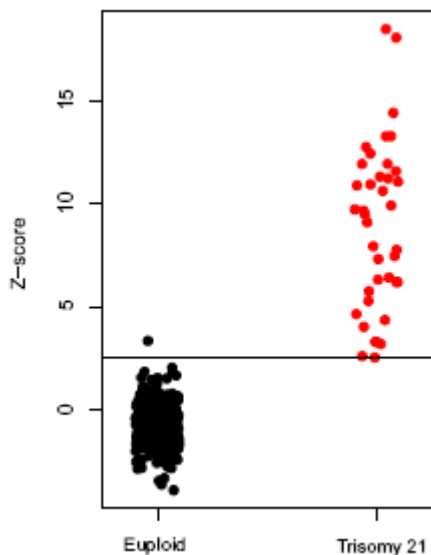
[Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting.](#)

Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, Lu V, McCullough R, McCarthy E, Nygren AO, Dean J, Tang L, Hutchison D, Lu T, Wang H, Angkachatchai V, Oeth P, Cantor CR, Bombard A, van den Boom D.

Am J Obstet Gynecol. 2011 Mar;204(3):205.e1-11. Epub 2011 Feb 18.

449 δείγματα (39T21+410 μη T21) (PPV (θετική προγνωστική αξία) 1/12)

Μέση ΗΚ: 16 εβδομάδες



Ευαισθησία : 100%

Ειδικότητα : 99.7% (0.3% false-positive)



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA ανίχνευση τρισωμιών 13.18.21

Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing »

[Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study.](#)

Chiu RW, Akolekar R, Zheng YW, Leung TY, Sun H, Chan KC, Lun FM, Go AT, Lau ET, To WW, Leung WC, Tang RY, Au-Yeung SK, Lam H, Kung YY, Zhang X, van Vugt JM, Minekawa R, Tang MH, Wang J, Oudejans CB, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM.

BMJ. 2011 Jan 11;342:c7401. doi: 10.1136/bmj.c7401.

[Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting.](#)

Ehrich M, Deciu C, Zwiefelhofer T, Tynan JA, Cagasan L, Tim R, Lu V, McCullough R, McCarthy E, Nygren AO, Dean J, Tang L, Hutchison D, Lu T, Wang H, Angkachatchai V, Oeth P, Cantor CR, Bombard A, van den Boom D.

Am J Obstet Gynecol. 2011 Mar;204(3):205.e1-11. Epub 2011 Feb 18.

[Noninvasive prenatal diagnosis of fetal trisomy 18 and trisomy 13 by maternal plasma DNA sequencing.](#)

Chen EZ, Chiu RW, Sun H, Akolekar R, Chan KC, Leung TY, Jiang P, Zheng YW, Lun FM, Chan LY, Jin Y, Go AT, Lau ET, To WW, Leung WC, Tang RY, Au-Yeung SK, Lam H, Kung YY, Zhang X, van Vugt JM, Minekawa R, Tang MH, Wang J, Oudejans CB, Lau TK, Nicolaides KH, Lo YM.

PLoS One. 2011;6(7):e21791. Epub 2011 Jul 6.



Κυκλοφορούν, ελεύθερο, εμβρυικό DNA/RNA και ανίχνευση τρισωμίας 21

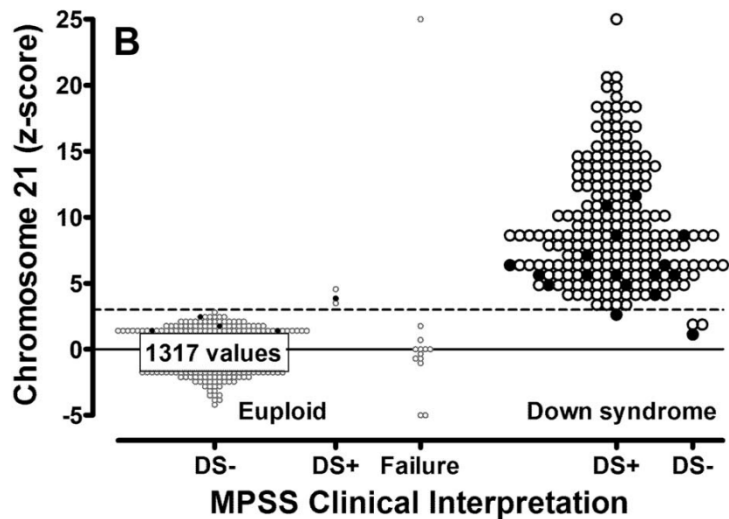
Ποσοτικοποίηση με « massively parallel sequencing »

[DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study.](#)

Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrlich M, van den Boom D, Bombard AT, Deciu C, Grody WW, Nelson SF, Canick JA.

Genet Med. 2011 Nov;13(11):913-920.

1696 ασθενείς (212 T21+1484 μη T21) (VPP 1/7)
Μέση Διάρκεια κύησης: 15 εβδομάδες



Άστοχες δοκιμασίες: 13 (0.8%)
Ευσαιθησία: 99,5% (211/212)
Ειδικότητα: 99,8% (0.2% ψευδώς αρνητικών)



Η NIPD προτείνεται στην κλινική πράξη ως διαδικασία ρουτίνας

Ναι Όχι

Η NIPD γίνεται με τη χρήση κυκλοφορούντων εμβρυϊκών κυττάρων

Ναι Όχι

Ποιες διαγνώσεις είναι διαθέσιμες το 2012:

- Προσδιορισμός του φύλου του εμβρύου
- RHD γονοτυπική τυποποίηση
- K1 (Kell) γονοτυπική τυποποίηση
- Αχονδροπλασία
- Σύνδρομο Down's (τρισωμία 21)
- Αιμορροφιλία
- Κυστική Ίνωση
- Μεσογειακή Αναιμία

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι

Ναι Όχι



Σήμερα θα πάρουμε
λίγο αίμα, για να
προσδιορίσουμε το
φύλο του εμβρύου!

