

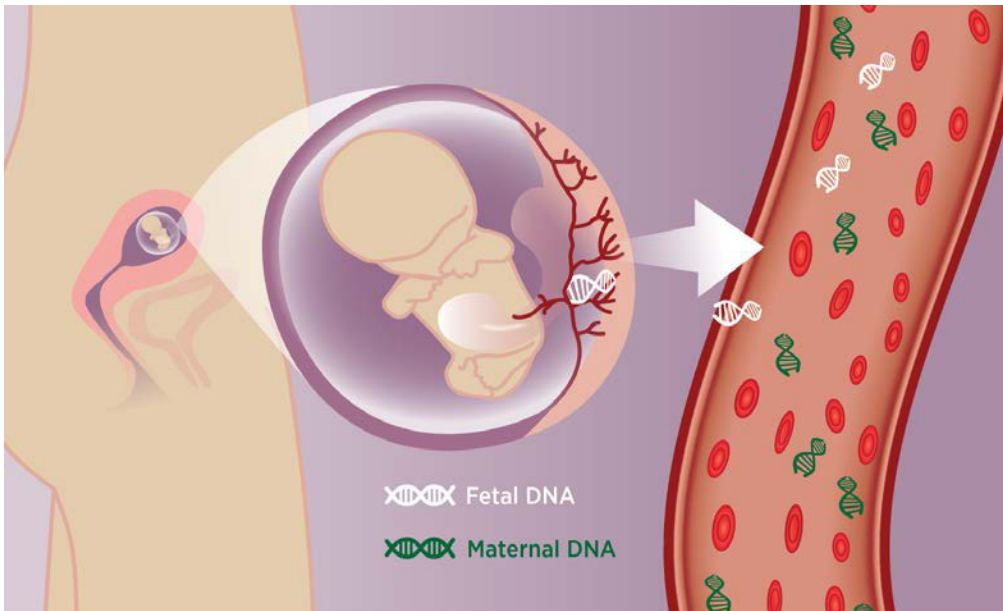


Dr.ssa Chiara Boschetto

NPTT- NON-INVASIVE PRENATAL TESTING

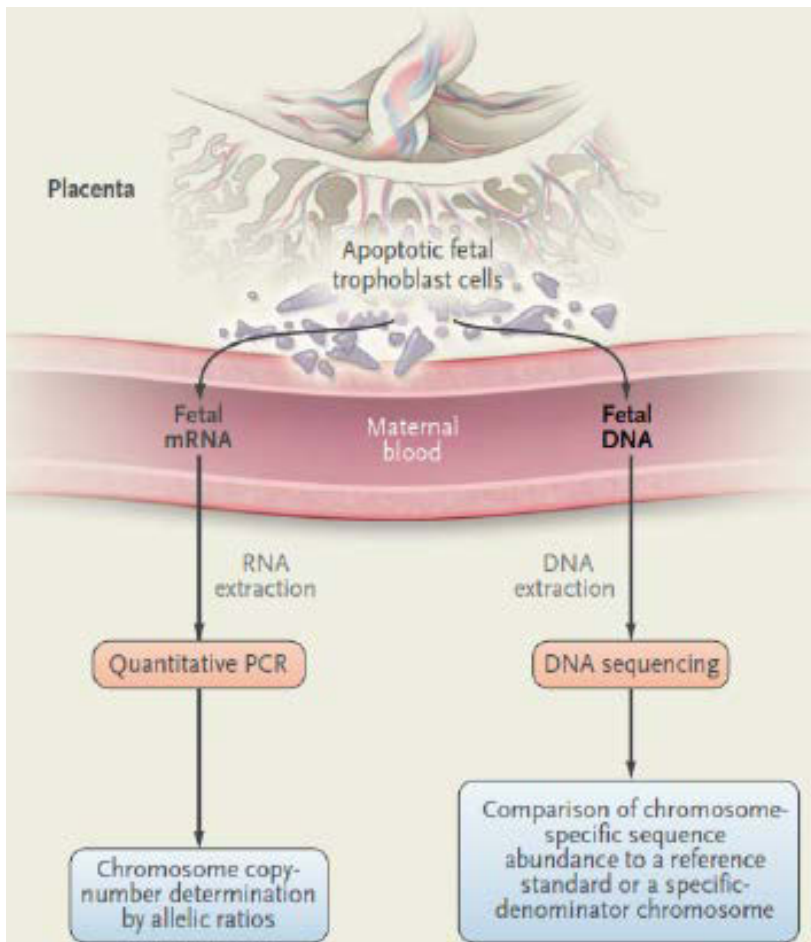
Il TEST PRENATALE NON INVASIVO è un test molecolare nato con l'obiettivo di determinare l'assetto cromosomico del feto da materiale fetale presente nel sangue materno

Piccoli frammenti di DNA fetale sono presenti nel sangue materno già partire dalla 10 settimana di gravidanza, e la quota aumenta nel corso delle settimane fino a rappresentare il 10% circa del DNA libero nel sangue materno.



Il DNA fetale scompare rapidissimamente e completamente dopo l'espletamento del parto.

L'origine di tutto questo materiale non è ancora ben chiara, ma sembra provenire dalla dismissione (apoptosi) degli strati superficiali del sinciziotrofoblasto (porzione periferica del tessuto placentare)



Queste caratteristiche lo rendono un candidato ideale per effettuare valutazioni sul materiale fetale.

Le metodiche di biologia molecolare impiegate per effettuare queste indagini dipendono dall'obiettivo da raggiungere.

I test disponibili sul mercato impiegano **metodiche differenti**

Le metodiche **quantitative**, si basano sul presupposto che in feti con sindrome di Down la quantità totale di frammenti del CRS 21 siano presenti in una quota superiore (1.5 volte) rispetto a feti con corredo normale - per cui nel sangue di una donna con feto portatore di sindrome di Down verrà identificato un aumento del 50% della concentrazione di DNA appartenente al cromosoma 21 fetale.

Le metodiche quantitative per la determinazione del DNA libero fetale sono sistemi estremamente sofisticati ed accurati per il conteggio- come il sequenziamento parallelo massivo- che consente la valutazione contemporanea di milioni di frammenti di DNA .

Altri approcci cercano di misurare la proporzione di cromosoma 21 mediante **marcatori** (come ad esempio la differenza di metilazione nel DNA tra geni materni e fetali) o la quota di **RNA** nel plasma materno espresso solo da geni fetali-placentari

Altre metodiche sono impiegate per la valutazione del **fenotipo RH** del feto in mamme con gruppo sanguigno Rh negativo. E hanno già ottenuto una robusta conferma tanto da essere già impiegate in ambito clinico.

NELLA SEGUENTE TABELLA sono elencati i **TEST MOLECOLARI** disponibili sul mercato con il nome commerciale della casa produttrice. La scelta della metodica dipende ovviamente dalla effettiva disponibilità sul territorio della particolare metodica o da criteri di tipo clinico.

Test	Company	U.S. Launch Date	Conditions Covered by Test	Cost \$	Sensitivity percent	Specificity
Verifi	Verinata	February 2012	Trisomies 21, 18, and 13; optional expansion detects sex-chromosome abnormalities (monosomy X, XXX, XXY, and XYY) and may aid in stratifying the risk of X-linked disorders (e.g., hemophilia, Duchenne's muscular dystrophy, and ambiguous genitalia)	1,200 (cost sharing capped at 200)	Trisomy 21, >99.9; trisomy 18, 97.4; trisomy 13, 87.5	Trisomy 21, 99.8; trisomy 18, 99.6; trisomy 13, >99.9
MaterniT21	Sequenom	October 2011	Trisomies 21, 18, and 13; sex determination	2,762 (cost sharing capped at 235)	Trisomy 21, 99.1; trisomy 18, >99.9; trisomy 13, 91.7	Trisomy 21, 99.9; trisomy 18, 99.6; trisomy 13, 99.7
Harmony	Ariosa	May 2012	Trisomies 21, 18, and 13	795	Trisomy 21, >99.9; trisomy 18, 98.1; trisomy 13, 80.0	Trisomy 21, >99.0; trisomy 18, >99.0; trisomy 13, >99.0
Panorama	Natera	December 2012†	Trisomies 21, 18, and 13; monosomy X; anticipated detection of additional sex-chromosome abnormalities (XXX, XXY, and XYY)	1,495	Trisomy 21, 100; trisomy 18, 100; trisomy 13, 100	Trisomy 21, 100; trisomy 18, 100; trisomy 13, 100

I lavori scientifici pubblicati sinora che impiegano tali metodiche hanno raggiunto risultati eccellenti. I primi lavori sono stati condotti in casistiche di donne ad alto rischio, tuttavia dati in pubblicazione sembrano confermare tali aspettative anche in gruppi a basso rischio.

I test fin qui elencati, sembrano consentire infatti la diagnosi di trisomia 21 in più del 99% dei casi.

La quota di falsi allarmi rilevata è inferiore all'1%.

Per le altre anomalie cromosomiche i risultati non sono così soddisfacenti, in parte dovuti al fatto che le altre anomalie sono decisamente meno frequenti, ma più spesso sospettate sulla base di elementi ecografici.

I dubbi relativi all'impiego su larga scala di tali esami dipende dal fatto che non conosciamo ancora precisamente il VALORE PREDITTIVO POSITIVO e NEGATIVO di questi test (ovvero la probabilità che ad un risultato positivo del test corrisponda effettivamente una diagnosi di anomalia cromosomica sul feto e che viceversa ad un risultato negativo corrisponda effettivamente un feto sano)

Probabilmente saranno necessari studi di popolazione piuttosto ampi e ancora un po' di tempo per poter conoscere a fondo tutti questi dettagli

COSA SUCCEDDE :

In caso di POSITIVITA' del test è SEMPRE necessaria una conferma mediante tecniche diagnostiche convenzionali (prelievo di villi coriali e amniocentesi).

Anche in caso in cui il test molecolare dia un risultato negativo è opportuno procedere con un esame diagnostico se lo SCREENING del I trimestre o l'esame ecografico pone un sospetto di anomalia cromosomica.

VANTAGGI

Non rischiosa per il feto

Eseguibile a partire da 10 settimane (fino a 20 settimane)

Prelievo ematico da sangue periferico materno

Ottima performance

Eseguibile in pz in gravidanze da Procreazione medica assistita

LIMITI

Non completa analisi del DNA fetale

non rileva anomalie ad altri cromosomi

non rileva mosaicismi <10-30%

non dati conclusivi su gravidanze gemellari

non rileva trisomie parziali o difetti strutturali

talvolta necessario ripetere il prelievo (se DNA Fetale <4%)

COSTO a carico del paziente

Questi esami sono relativamente nuovi e le società scientifiche non si sono ancora pronunciate in modo definitivo sulla modalità di impiego e sull'integrazione di tali metodiche con gli esami consolidati tuttavia, ad esempio l'American College of Obstetrician and Gynecology o la società di genetica medica hanno prodotto le seguenti indicazioni:



The American College of
Obstetricians and Gynecologists
WOMEN'S HEALTH CARE PHYSICIANS



Indicazioni all'utilizzo del **DNA** (cell-free DNA):

- a) Età materna al parto ≥ 35 anni;
- b) Markers ecografici di aneuploidia;
- c) Storia di una pregressa gravidanza affetta da trisomia;
- d) Test combinato (o integrato o quadruplo test) positivo;
- e) Traslocazione Robertsoniana bilanciata nei genitori con un rischio aumento di trisomia fetale 13 o 21.
- f) **Difficile accesso in cavità uterina ??**



- Gravidanze ad alto rischio per anomalie cromosomiche.
- Consenso informato, corretta informazione e counselling fornito da un consulente genetista certificato.
- In caso di risultati NIPT/NIPD anormali → consulenza genetica e possibilità di test diagnostici di conferma.

IN OGNI CASO IN ATTESA DI UNA CONFERMA DA AMPI STUDI DI POPOLAZIONE

NIPT - la diagnosi non invasiva su sangue materno appare attualmente il
miglior test prenatale non invasivo per la sindrome di Down

Tuttavia per ora è assolutamente necessario integrarlo nei programmi di
screening consolidati - (screening I trimestre) con un adeguato
counselling alla coppia