



Implementación clínica del estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías mediante ADN fetal con base en polimorfismos de nucleótido único: dos años en México

Rafael A. Sánchez-Usabiaga¹

Mónica Aguinaga-Ríos²

Anaíd Batista-Espinoza³

Ricardo Hurtado-Amador³

Sergio Romero-Tovar³

¹ Director general de Médica Fértil.

² Médico especialista en Genética Médica, Departamento de Genética y Genómica Humana, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México DF.

³ Médica Fértil, Querétaro.

RESUMEN

Antecedentes: los datos recientes demuestran que el estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías fetales (cromosomas 13, 18, 21, X, Y, y triploidías) mediante ADN fetal libre en sangre materna es una realidad clínica, con tasas de detección mayores de 99% y de falsos positivos de 0.1%, resultados que superan al tamiz combinado del primer trimestre.

Objetivo: reportar la experiencia acumulada en los primeros dos años de haber integrado el estudio prenatal no invasivo mediante ADN fetal libre en sangre materna en su variante de polimorfismo de nucleótido único (SNPs) como método de tamiz para la detección de aneuploidías comunes, a partir de la semana 9 de la gestación.

Pacientes y métodos: estudio observacional prospectivo realizado de marzo de 2013 a febrero de 2015. Se incluyeron mujeres con embarazo único a quienes se ofreció tamiz combinado del primer trimestre para aneuploidías fetales o la nueva alternativa del estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único.

Resultados: se incluyeron 270 mujeres, con media de edad de 35.3 años y 11.85 semanas de gestación. El resultado se obtuvo en 98.5% en un tiempo promedio de 7.5 días hábiles. En 15 pacientes se repitió la toma de sangre y en 11 el resultado fue definitivo. El estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único resultó positivo en 10 casos, 8 para trisomía 21, uno para trisomía 18 y el restante para trisomía 13.

Conclusiones: se describió la experiencia de los primeros dos años de haber integrado el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único a la práctica obstétrica, que es una alternativa de tamiz con el potencial de ser incorporado a los algoritmos actuales de atención prenatal, a partir de la novena semana de gestación. Se espera que esta información motive a un debate en el tema de tamiz prenatal y se llegue a mejorar la atención obstétrica y el asesoramiento genético en México.

Palabras clave: estudio prenatal no invasivo, NIPT, tamiz prenatal, ADN libre en sangre materna, estudio prenatal no invasivo, trisomía 21, SNPs.

Recibido: marzo 2015

Aceptado: abril 2015

Correspondencia

Dr. Rafael Sánchez Usabiaga

rsanchez@medicafertil.com.mx

Este artículo debe citarse como

Sánchez-Usabiaga RA, Aguinaga-Ríos M, Batista-Espinoza A, Hurtado-Amador R, Romero-Tovar S. Implementación clínica del estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías mediante ADN fetal con base en polimorfismos de nucleótido único: dos años en México. Ginecol Obstet Mex 2015;83:220-231.



Clinical implementation of non-invasive prenatal study for detecting aneuploidies by fetal DNA based on single nucleotide polymorphisms: two years in Mexico

ABSTRACT

Background: Recent data have shown that non invasive prenatal test (NIPT) for the detection of fetal aneuploidies (chromosomes 13, 18, 21, X, Y, and triploidy) by cell free fetal DNA in maternal blood (cfDNA) is a clinical reality, with detection rates > 99% and false positive rates of 0.1%. Results that exceed the first trimester screening.

Objective: To describe our experience of 2 years integrating NIPT by cfADN in its variant of single nucleotide polymorphism (SNPs) as a screening method for the detection of common aneuploidies, since nine weeks of gestation.

Patients and methods: Observational prospective study from March 2013 to February 2015. Women with a singleton pregnancy were offered conventional prenatal screening fetal aneuploidy and or new alternative NIPT-SNPs.

Results: 270 women were included, the mean maternal age was 35.3 years with a mean gestational age of 11.85 weeks. The result was obtained in 98.5%, with an average report time of 7.5 working days. Blood collection was repeated in fifteen patients, obtaining the result in eleven. The NIPT tested positive for ten cases, 8 for trisomy 21, one for trisomy 18 and one trisomy 13.

Conclusions: We describe our first two years of integrating NIPT-SNPs to obstetric private practice, that is an alternative screening with the potential to be incorporated into the existing algorithms in prenatal care, from the ninth week of gestation. We expect this information will motivate a debate on the issue of prenatal screening and get to improve obstetric care and genetic counseling in Mexico.

Key words: NIPT, prenatal screening, cell free fetal DNA, blood screening for aneuploidy, noninvasive prenatal study, trisomy 21.

ANTECEDENTES

A partir de agosto de 2011 el estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías fetales mediante ADN fetal libre (cfADN) en sangre materna se encuentra comercialmente disponible en Hong Kong. Su rápida aceptación

clínica es un hecho sin precedentes¹ debido a los múltiples estudios de validación que reflejan que su sensibilidad es mayor de 99% para trisomías 21 (T-21), 98% para trisomías 18 (T-18) y 89% para trisomías 13 (T-13), con tasas de falsos positivos correspondientes a 0.1, 0.1 y 0.4%, respectivamente. Estos resultados son

superiores a los alcanzados con los métodos de tamiz combinado del primer trimestre, basados en marcadores bioquímicos maternos y ultrasonográficos fetales realizados entre las semanas 11-14 de gestación.²⁻¹⁴

Diferentes sociedades internacionales recomiendan la aplicación clínica del estudio prenatal no invasivo, principalmente en mujeres con embarazo de alto riesgo para aneuploidías fetales.¹⁵⁻¹⁷ Nicolaides y su grupo demostraron que el estudio mediante ADN fetal libre en sangre materna es posible realizarlo en población general obstétrica, en donde la prevalencia de la T-21 es mucho menor.¹⁸

Antes del advenimiento del estudio mediante cfADN, el método de mayor precisión disponible para la detección de trisomía 21,^{18,13} era el tamiz combinado del primer trimestre, con tasas de detección de 85-90% y tasa de falsos positivos de 5%.¹⁹ En consecuencia, el estudio prenatal no invasivo mediante cfADN es superior a los métodos de tamiz prenatal tradicionalmente utilizados para la detección de trisomías comunes, lo que dio lugar a su incorporación a la práctica clínica cotidiana.

Existen dos metodologías para la detección prenatal de alteraciones cromosómicas basadas en el análisis de cfADN: la metodología cuantitativa y el polimorfismo de nucleótido único (SNPs). En la primera metodología, las moléculas de cfADN se analizan mediante secuenciación masiva y el origen cromosómico de cada molécula se identifica y compara con el genoma humano. En embarazos con triple dosis, la cuantificación de moléculas derivada de cromosomas trisómicos, al compararla con un cromosoma de referencia disómico, es mayor que en los embarazos euploidios. En contraste, la metodología basada en el polimorfismo de nucleótido único determina el número de copias de cromosomas mediante la identificación de patrones de alelos específicos;

es la metodología que realmente identifica el ADN fetal y el ADN materno.^{3,20}

El estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único está comercialmente disponible en México desde marzo de 2013. El objetivo de este estudio es reportar la experiencia acumulada en los primeros dos años de haber integrado el estudio prenatal no invasivo mediante ADN fetal libre en sangre materna en su variante de polimorfismo de nucleótido único como método de tamiz para la detección de aneuploidías comunes, a partir de la semana 9 de la gestación.

PACIENTES Y MÉTODOS

Ensayo observacional prospectivo efectuado con los datos de 270 pacientes a quienes se realizó, a partir de la semana 9 de la gestación, el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único; el estudio abarca un periodo de dos años (marzo de 2013-febrero de 2105). Los criterios de inclusión fueron: embarazo único, edad materna de riesgo (más de 35 años), tamiz combinado del primer trimestre (marcadores bioquímicos-ultrasonográficos) positivo (alto riesgo) y angustia de la pareja. Se excluyeron las pacientes con embarazo múltiple logrado por donación de óvulos, madres subrogadas o con antecedentes de trasplante de médula ósea materna porque para estas condiciones obstétricas no se cuenta con la validación del estudio prenatal no invasivo- polimorfismo de nucleótido único. También se excluyeron las pacientes que no dieron su consentimiento para la realización del estudio.

El médico tratante proporcionó información acerca del tamiz combinado del primer trimestre para la detección de aneuploidías, que consiste en marcadores séricos como: proteína plasmática A asociada con el embarazo (PAPP-A), fracción β libre de gonadotropina coriónica humana (β -hGC) y marcadores ultrasonográficos



como la medición de la translucencia nucal, existencia de hueso nasal, evaluación del ducto venoso y regurgitación tricuspídea durante las semanas 11-14 de la gestación.

A partir de marzo de 2013 se agregó el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único a las pacientes con embarazo único. Se les proporcionó información general verbal, escrita y electrónica acerca de las ventajas y limitantes del estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único proporcionado por el laboratorio Natera (San Carlos CA, EUA); se dejó en su manos la toma de la decisión. Las pacientes a quienes se realizó el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único otorgaron su consentimiento informado, con la insistencia de que a pesar de su alta confiabilidad se trata de un estudio de tamiz y no de una prueba diagnóstica. Además, se les hizo saber que ante un resultado de bajo riesgo, las posibilidades de que el feto tenga alguna de las alteraciones estudiadas es baja.

Se informó a los padres que el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único no proporciona información de otras alteraciones cromosómicas. Cuando el ultrasonido 11-14 identifica la translucencia nucal aumentada (más de 3.5 mm) debe considerarse un procedimiento invasivo. Se explicó a las pacientes que este estudio no sustituye al ultrasonido del primer y segundo trimestres del embarazo porque no identifica alteraciones anatómicas como: cardiopatías, alteraciones del sistema nervioso central o espina bífida, por lo que se aconsejó realizar ultrasonido detallado en la semana 20-22 y examinar la anatomía fetal. Por último, se destacó que entre 3-5% de los resultados no podrán ser concluyentes por lo que será necesario recurrir a los estudios alternativos de tamiz.

En todos los resultados con alto riesgo por el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de

nucleótido único se aconsejó realizar un procedimiento invasivo (biopsia de vellosidades coriales-amniocentesis) para la confirmación del diagnóstico. A la mayoría de las pacientes se les dio seguimiento hasta el nacimiento.

Durante la implementación del estudio no hubo problemas técnicos ni de logística importantes. Para el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único se extrajeron 20 mL de sangre materna mediante veno-punción convencional (brazo) en tubos libres de ADN. Las muestras se enviaron, por paquetería internacional, al laboratorio Natera en condiciones de temperatura ambiente. No se reportaron las muestras con menos de 4% de fracción fetal o con una métrica de calidad de ADN inferior al control de calidad. El número reportado de copias de cromosomas fue: 1, 2 o t3 para cromosomas 21, 18, 13 y X; 0 o 1 para el cromosoma Y, con la metodología descrita por Sánchez y colaboradores.²¹

Enseguida de disponer de los resultados el médico tratante explicó a sus pacientes el significado de los hallazgos. Ante los resultados de riesgo mayor para aneuploidías, se recurrió al consejo genético por parte de un especialista en la materia.

La descripción de los datos se presentó en porcentajes, media y rangos de las diferentes variables analizadas.

RESULTADOS

Se incluyeron 270 mujeres con embarazo único, con medias de: edad 35 años (límites 21 y 45), semanas de gestación 11.85 (límites 9 y 26.3), peso materno 60.9 kg (límites 45 y 78) y fracción fetal 9.36% (límites 4.2 y 21.6). Cuadro 1

Las indicaciones para realizar el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único

Cuadro 1. Características generales de las pacientes que se realizaron el estudio prenatal no invasivo-SNP

Número de pacientes	270
Edad	
media (límites)	35.3 (21-45)
SDG	
media (límites)	11.85 (9-26.3)
Peso materno (kg)	
media (límites)	60.9 (45-78)
Fracción fetal(%)	
media (límites)	9.36 (4.2-21.6)

fueron: edad materna avanzada n=114 (42%), angustia materna n=84 (31%) y tamiz combinado del primer trimestre positivo n=72 (27%). Se recolectaron 205 muestras bucales paternas (76%). Cuadro 2

Se dio seguimiento desde el nacimiento en 208 casos (78%). En los casos restantes el embarazo no había finalizado. En 266 pacientes (98.5%) se obtuvo el resultado del estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único en 7.5 días hábiles (7 a 10 días). En 15 casos (5%) fue necesaria una nueva muestra de sangre, en 11 de ellos se obtuvo un resultado definitivo. En 4 (1%) casos no se obtuvo resultado.

La fracción fetal de ADN fue determinante para la obtención de resultados con una media de 9.36% en los resultados satisfactorios, *versus* menos de 4.0% en los resultados fallidos. En los resultados de alto riesgo para el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único,

Cuadro 2. Indicaciones y número de pacientes que se realizaron estudio prenatal no invasivo -SNP

Indicación	n	%	Edad promedio (años)
Edad materna avanzada	114	42	38.3
Angustia materna	84	31	31.6
Tamiz combinado positivo	72	27	34.3
TOTAL	270	100	

8 casos (3%) se reportaron para T-21, en un paciente para T-18 y otro caso para T-13.

De los casos de alto riesgo para T-21, la indicación para realizar el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único, en 6 fue por tamiz combinado del primer trimestre alterado en 6 casos, los restantes fueron: 1 por angustia materna y otro por edad materna avanzada. El caso positivo para T-18 se realizó por tamiz combinado del primer trimestre positivo, y el de T-13 por edad materna avanzada. Cuadro 3

Las pacientes a quienes se realizó el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único por indicación de tamiz combinado del primer trimestre positivo, coincidieron para alto riesgo de aneuploidías, en 5 de ellas para T-21 y en 1 para T-18. En 65 pacientes el resultado fue de bajo riesgo y un resultado no concluyente.

Enseguida se describen las condiciones de los pacientes de "alto riesgo" y "no resultado". Cuadros 4 y 5

De los 4 casos (1.5%) en los que no se obtuvo el resultado, en una paciente no fue concluyente por hallazgos atípicos (mosaicismo fetal para monosomía del cromosoma X, con un pequeño número de fragmentos del cromosoma Y) el análisis de estos resultados está fuera del alcance de la prueba de estudio prenatal no invasivo actual. En el ultrasonido se reportó higroma quístico y leve edema periférico generalizado. No pudo establecerse comunicación con las pacientes para conocer la evolución del embarazo.

En otra paciente el resultado no fue concluyente debido a que en su primera toma no se obtuvo resultado para cromosoma 13 y en la segunda toma el resultado fue discordante porque fue alto riesgo para cromosoma 18 y ausencia de resultado para monosomía X. El cariotipo de líquido amniótico (amniocentesis) reportó trisomía 18.

**Cuadro 3.** Resultados del estudio prenatal no invasivo -SNP

Indicación	n	Bajo riesgo	Riesgo incrementado				No concluyente
			C21	C18	C13	Sexocromosomas	
Edad materna avanzada	114	110	1	-	1	-	2
Angustia materna	84	82	1	-	-	-	1
Tamiz combinado positivo	72	64	6	1	-	-	1
Total	270	256	8	1	1	-	4

Cuadro 4. Descripción para los pacientes de “alto riesgo”

Caso	Edad	SDG	FF (%)	Indicación	Estudio prenatal no invasivo resultados	Evolución
1	38	20.4	19.5	TCP	Alto riesgo T21	Óbito semana 22
2	39	13.6	10	TCP	Alto riesgo T21	T21
3	28	19.3	11.5	TCP	Alto riesgo T21	Desconocida
4	35	20.2	14	TCP	Alto riesgo T21	T21
5	21	15.3	8.4	Angustia materna	Alto riesgo T21	T21
6	37	11.6	5.5	TCP	Alto riesgo T21	Embarazo en curso
7	45	11	6.8	Edad materna	Alto riesgo T21	T21
8	33	10	6.3	TCP	Alto riesgo T21	Desconocida
9	38	15.3	7.4	TCP	Alto riesgo T18	T18
10	40	10	4.0	Edad materna	Alto riesgo T13	T13

TCP= tamiz combinado positivo

Cuadro 5. Descripción para los pacientes de “no resultado”

Caso	Edad	SDG	FF	Indicación	Reporte estudio prenatal no invasivo	Resultado
1	26	12	7.10	TCP	No hay resultado del cromosoma X, debido a hallazgos atípicos	Se desconoce
2	39	13.5	4.00	Edad materna	No concluyente, alto riesgo T18	T18
3	31	10	--	Angustia materna	Fracción fetal <4%	Sobrepeso materno, Nacimiento sano
4	38	10	--	Edad materna	Fracción fetal <4%	Sobrepeso durante el embarazo en curso

TCP= tamiz combinado positivo

En las otras 2 pacientes (0.75%) la falta de resultados se debió a la baja fracción de ADN fetal (menos de 4%), que puede asociarse con el sobrepeso. En estos casos la toma de muestra se realizó por triplicado.

El resto de las pacientes (n=256) resultó con un riesgo menor a 1:10,000 para trisomía 21,18,13 y alteración de los cromosomas sexuales.

A la fecha se dispone del reporte de 208 nacimientos con estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único normal, en los que los recién nacidos no tuvieron algún tipo de malformación que sugiriera alguna de las alteraciones cromosómicas analizadas por el estudio, lo que coincidió en 100% de los casos con el sexo reportado por este estudio.

DISCUSIÓN

Hace poco, el estudio prenatal no invasivo mediante cfADN en sangre materna demostró su alta precisión para la detección de aneuploidías fetales comunes. Desde la disponibilidad comercial del estudio prenatal no invasivo para búsqueda de aneuploidías para su aplicación clínica en los países desarrollados se han publicado diferentes estudios de investigación y de experiencia clínica.^{3,20,22}

Se dispone de estudios clínicos que demuestran la efectividad del estudio prenatal no invasivo para la detección de trisomías autosómicas y aneuploidías de cromosomas sexuales en mujeres de alto riesgo.^{3,7,20,23-26}

En los estudios realizados en población obstétrica de bajo riesgo la evidencia sugiere que el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único es tan efectivo como los resultados publicados en población de alto riesgo.^{2-5,18,27-30}

Puesto que el estudio prenatal no invasivo se ha trasladado a estudios clínicos, los resultados se reportan como estudios de tamiz en unidades clínicas.²⁹⁻³²

Estos resultados han demostrado que en su aplicación clínica, el estudio prenatal no invasivo ha alcanzado e incluso superado las características previamente establecidas en los estudios de validación.

Nuestro estudio resume los dos primeros años de la integración en México del estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único en la atención obstétrica privada. Con base en los resultados se muestra que esta nueva tecnología es un método de tamiz eficaz para evaluar el riesgo de aneuploidías fetales comunes. Los resultados de los estudios publicados coinciden

que, además, aporta mayor evidencia que el estudio prenatal no invasivo-SNP y es factible incorporarlo a la atención prenatal.^{3,18,33,34}

Para realizar el estudio prenatal no invasivo en la práctica clínica se dispone de dos diferentes metodologías: la cuantitativa, mediante la amplificación del genoma con o sin secuencia dirigida y la basada en el polimorfismo de nucleótido único. A pesar de no haber evidencia concluyente de cuál es la mejor tecnología hay dos opciones: nosotros ofrecemos la basada en el polimorfismo de nucleótido único como primera opción. De acuerdo con estudios clínicos publicados recientemente, esta tecnología ofrece algunas ventajas, incluida la mayor cobertura clínica (gemelo evanescente y triploidías) con mayor efectividad en la detección de aneuploidías y menor porcentaje de falsos positivos.³⁵

La metodología cuantitativa se reserva para embarazos múltiples, logrados mediante donación de óvulos, consanguinidad y trasplante de médula ósea materna.

Las pacientes estudiadas fueron una combinación de 3 poblaciones diferentes. La primera tenía riesgo elevado para el tamiz combinado del primer trimestre. La mayor limitante del tamiz convencional del primer trimestre es lo relativamente elevado de los resultados falsos positivos; por lo tanto, el estudio prenatal no invasivo ayuda a identificar los falsos positivos y a disminuir los procedimientos invasivos. La mayor repercusión en el cuidado prenatal es la disminución en los procedimientos diagnósticos invasivos innecesarios. Las experiencias clínicas previas han demostrado que con la introducción del estudio prenatal no invasivo a la práctica clínica pueden evitarse 70-98% de los procedimientos invasivos, la pérdida de embarazos con fetos euploides y la angustia que implican estas intervenciones.^{31,36,37}



En la práctica clínica cotidiana de México las pacientes con tamiz del FTS con riesgo elevado, antes de contar con el estudio prenatal no invasivo mediante ADN fetal libre en sangre materna, eran aptas para procedimientos invasivos (amniocentesis-biopsia de vellosidades coriales). Al incorporar esta nueva alternativa no invasiva estas pacientes tienen otra opción antes de ser sometidas a un procedimiento invasivo. Ante un resultado de bajo riesgo en el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único, ninguna paciente en nuestro estudio decidió realizarse el procedimiento invasivo.

En nuestra experiencia, el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único redujo sustancialmente el número de estudios invasivos porque de las 72 pacientes que dieron positivo para el tamiz combinado del primer trimestre solo en 7 el resultado coincidió con el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único. Por lo tanto, 90.3% hubieran sido objeto de procedimientos invasivos si no se contara con esta nueva tecnología. Nuestros resultados coinciden con los de otros artículos publicados.^{2,14}

De las seis pacientes con estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único de alto riesgo sometidas a procedimiento invasivo, el diagnóstico de aneuploidía se confirmó en todos los casos. En 4 de ellas para T-21, 1 para T-18 y otro para T-13.

En 2 casos con riesgo elevado para T-21 en el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único, asociado con alteraciones fetales estructurales identificadas por ultrasonido, no pudo seguirse la evolución del embarazo por pérdida de la comunicación con la pareja.

El grupo 2 fue el de edad materna avanzada. Para este grupo, la tasa de detección y de falsos positivos del estudio prenatal no invasivo, como

método de tamiz, fue显著mente mejor que la de los métodos alternativos de tamiz actuales, por eso fue que las pacientes seleccionaron esta nueva tecnología como primera elección.

El grupo 3 lo integraron mujeres a quienes se realizó el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único por angustia materna. En nuestra experiencia correspondió a 42%. Sin esta nueva alternativa muchas de ellas hubiesen recurrido a métodos invasivos, que desde el punto de vista riesgo-beneficio, no se justifica. Las muy bajas tasas de falsos positivos del estudio prenatal no invasivo ayudan a disminuir su angustia, sin aumentar el riesgo de los procedimientos invasivos.

Las experiencias previas han demostrado la repercusión de la fracción fetal en la efectividad del estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías.³⁸ La fracción fetal baja se correlaciona con aumento de los porcentajes de error, sobre todo en la metodología de conteo.²⁰

Una de las principales preocupaciones de implementar el estudio prenatal no invasivo es la falta de resultados como consecuencia de ADN insuficiente u otras razones técnicas. El porcentaje de fallas es mayor con la metodología cuantitativa.²⁸

En relación con la falta de resultados nuestra experiencia fue similar a la publicada previamente, con 5.5% en el total de la población. Sin embargo, en 11 de 15 casos se obtuvo un resultado en la segunda muestra, porcentaje ligeramente mayor al 56% obtenido previamente por Wang³⁹ y 68% descrito por Gil y col.²⁸

La fracción fetal de ADN en sangre materna fue la mayor limitante para realizar la secuenciación y la principal variable que requiere nueva toma de muestra. Esa fracción se asoció positivamente con la edad gestacional y se correlacionó de

manera negativa con el peso materno, lo que coincide con estudios previos.³⁸⁻⁴¹

En estos hallazgos se tienen dos implicaciones clínicas: la primera es determinar con precisión la edad gestacional para disminuir el número de pacientes que requieran nueva toma, sobre todo en las etapas tempranas de la gestación. La segunda es incluir la muestra paterna porque disminuirá considerablemente la nueva toma de sangre, sobre todo en las mujeres con peso superior a 90 kg.

En casos con fracción fetal extremadamente baja no suele resolverse con una nueva toma, con posibilidad de riesgo elevado para aneuploidías.² Esto es particularmente importante en las triploidías de origen materno, que se asocian con placas pequeñas y fracciones fetales bajas²⁻⁵ y a las trisomías 13 y 18.

Nuestra serie contribuyó con dos casos: uno en el que fue discordante entre el resultado de la primera prueba y la segunda toma. En el primer resultado no amplificó para cromosoma 13 y la segunda toma resultó con alto riesgo para trisomía 18 y falta de resultado para monosomía X. La T 18 se confirmó en el cariotipo. En el segundo la falta de resultado concluyente se debió a hallazgos atípicos: mosaicismo fetal para monosomía del cromosoma X, con un pequeño número de fragmentos del cromosoma Y. Este tipo de discrepancias y, desde luego, limitantes del estudio prenatal no invasivo, sin duda requieren mayor evaluación y siguen siendo un desafío en este campo.

Este porcentaje de resultados discordantes, o no concluyentes, del estudio prenatal no invasivo es relativamente alto, cuando se compara con el tamiz convencional, donde raramente no se obtiene un resultado. Sin embargo, de acuerdo con nuestra experiencia casi dos tercios de las pruebas fallidas se resuelven en la segunda muestra.

Las fortalezas de nuestro estudio incluyen: recolección de muestras en una población obstétrica general en un entorno clínico real, en un periodo de gestación apropiado, con seguimiento clínico en 77% de los casos.

La principal limitante de este estudio fue el relativamente pequeño tamaño de la muestra para poder informar de manera fiable las tasas de detección; sin embargo 4 de los SD se detectaron correctamente lo mismo que la T 18 y T 13, que ampliaron las series publicadas de detección de aneuploidías mediante estudio prenatal no invasivo. En nuestra experiencia no se realizó estudio de cariotipo al nacimiento y la euploidía se asumió con base en las características fenotípicas de los recién nacidos. Esta es una consecuencia inevitable por la naturaleza del estudio, basado en una población objeto de estudios de tamiz para aneuploidías, más que en una población de alto riesgo susceptible de pruebas invasivas. Aunque la confirmación de la exactitud de los resultados fue por análisis de fenotipo no es la forma para la detección de las alteraciones en cromosomas sexuales, puede ser aceptada básicamente para aneuploidías autosómicas, que se manifiestan fenotípicamente al nacer.

El costo de la secuenciación de alto rendimiento se redujo de manera importante en los últimos años, lo que aumentó su utilidad para prácticas clínicas; sin embargo, el costo sigue siendo el principal motivo por el que no se realiza el estudio prenatal no invasivo.^{42,43} Por lo que se refiere al costo-beneficio en nuestro estudio estuvo fuera del alcance, pero los resultados sugieren que el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único merece consideraciones serias para su incorporación a la atención prenatal actual.⁴⁴

Sin duda, la mayor repercusión que ha tenido la implementación del estudio prenatal no invasivo en la práctica clínica ha sido la disminución de



los procedimientos prenatales invasivos, con resultados libres de riesgo como consecuencia de porcentajes muy bajos de falsos positivos y tasas elevadas de valores predictivos positivos de estos estudios comparados con el FTS.¹⁴ La introducción comercial del estudio prenatal no invasivo plantea varias inquietudes. Una cuestión importante es la integración óptima del estudio prenatal no invasivo a los algoritmos de tamiz actuales. A pesar de las diferentes propuestas no se tiene claro cuál será la que tenga un costo-beneficio favorable. En ausencia de políticas de salud pública que definan la aplicación práctica, la disponibilidad de guías profesionales, como las del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG)⁴⁵ aunadas a las de la Sociedad de Medicina Materno-Fetal podrán facilitar enormemente este proceso, clarificando la información validada y clínicamente aceptada como patrones de referencia de atención prenatal.

Nuestro grupo considera que el estudio prenatal no invasivo no debe ser una simple toma de muestra, sino tendrá que integrarse a la valoración sistémica de riesgo de aneuploidías. El estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único a partir de la semana 9 de gestación aporta la oportunidad de identificar embarazos con alto riesgo de las aneuploidías más comunes, permitiendo a la paciente tomar una asesoría genética en cuanto a las alternativas diagnósticas para confirmar o rechazar el diagnóstico. Es indiscutible que el ultrasonido sigue siendo de vital importancia para valorar la vitalidad fetal, embarazo múltiple y evaluar las alteraciones estructurales fetales.

Este ensayo demostró que el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único es un nuevo método de tamiz prenatal para la detección de aneuploidías cromosómicas comunes, que puede utilizarse en la población obstétrica mexicana de alto riesgo. El estudio prenatal

no invasivo-polimorfismo de nucleótido único marca una nueva era en la atención prenatal.

CONCLUSIONES

En nuestros primeros dos años de haber integrado el estudio prenatal no invasivo-polimorfismo de nucleótido único a la práctica obstétrica, puntualizamos que esta nueva tecnología tiene el potencial de ser un método de tamiz prenatal altamente eficaz para la detección de aneuploidías, a partir de la novena semana de gestación. Contribuye a disminuir el número de procedimientos invasivos innecesarios. Esperamos que esta información motive un debate en el tema de tamiz prenatal y se llegue a mejorar la atención prenatal y el asesoramiento genético en México.

REFERENCIAS

- Chitty LS, Bianchi DW. Noninvasive prenatal testing: the paradigm is shifting rapidly. *Prenat Diagn* 2013;33:511-3.
- Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, et al. Single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal testing in a high-risk and low-risk cohort. *ObstetGynecol* 2014;124: 210-8.
- Nicolaides KH, Syngelaki AQil M, Atanasova V, Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenat Diagn* 2013;33:575-9.
- Samango-Sprouse C, Banjevic M, Ryan A, et al. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy. *PrenatDiagn* 2013;33:643-9.
- Nicolaides KH, Syngelaki A, Gil MD, Quezada MS, Zinevich Y. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood. *Fetal DiagnTher* 2014;35: 212-7.
- Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genomewide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *ObstetGynecol* 2012;119:890-901.
- Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrlich M, van den Boom D, Bombard AT, Grody WW, Nelson SF, Canick JA. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* 2012;14: 296-305.

8. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genet Med* 2011;13:913-20.
9. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Birdir C, Nicolaides KH. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J ObstetGynecol* 2012;206: 322.e1-5.
10. Ashoor G, Syngelaki A, Wang E, et al. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41:21-5.
11. Norton ME, Brar H, Weiss J, et al. Noninvasive chromosomal evaluation (NICE) study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *Am J ObstetGynecol* 2012;207: 137.e1-8.
12. Sparks AB, Struble CA, Wang ET, Song K, Oliphant A. Noninvasive prenatal detection and selective analysis of cell-free DNA obtained from maternal blood: evaluation for trisomy 21 and trisomy 18. *Am J ObstetGynecol* 2012; 206: 319. e1-9.
13. Sparks AB, Wang ET, Struble CA, et al. Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy. *Prenat Diagn* 2012;32:3-9.
14. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014;370: 799-808.
15. 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. *PrenatDiagn* 2013;33:622-9.
16. Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genet Med* 2013; 15: 395-8.
17. American College of Obstetricians and Gynecologists. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. Committee opinion no. 545. *ObstetGynecol* 2012; 120: 1532-4.
18. Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Birdir C, Touzet G. Noninvasive Prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J ObstetGynecol* 2012;207: 374.e1-6.
19. Nicolaides KH. Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *PrenatDiagn* 2011; 31: 7–15.
20. Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, Ryan A, Sigurjonsson S, Chopra N, Dodd M, Levy B, Rabinowitz M. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *PrenatDiagn* 2012; 32: 1233-41.
21. Sánchez-Usabiaga RA, Batista-Espinoza A, Romero-Tovar. Estudio prenatal no invasivo para la detección de aneuploidías mediante ADN fetal libre en sangre materna: descripción de tres metodologías. *Reproducción (Méjico)* 2013; 6: 83-89.
22. Verweij EJ, Jacobsson B, van Scheltema PA, de Boer MA, Hoffer MJ, Hollemon D, Westgren M, Song K, Oepkes D. European non-invasive trisomy evaluation (EU-NITE) study: a multicenter prospective cohort study for non-invasive fetal trisomy 21 testing. *PrenatDiagn* 2013;33:996-1001.
23. 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
24. 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. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validation study. *BMJ* 2011; 342: c7401.
25. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP, on behalf of the MaternalBlood IS Source to Accurately diagnose fetal aneuploidy (MELISSA). Study Group. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *ObstetGynecol* 2012; 119: 890-901.
26. Stumm M, Entezami M, Haug K, Blank C, Wüstemann M, Schulze B, Raabe-Meyer G, Hempel M, Schelling M, Ostermayer E, Langer-Freitag S, Burkhardt T, Zimmermann R, Schleicher T, Weil B, Schöck U, Smerdka P, Grömminger S, Kumar Y, Hofmann W. Diagnostic accuracy of random massively parallel sequencing for non-invasive prenatal detection of common autosomal aneuploidies: a collaborative study in Europe. *PrenatDiagn* 2014;34: 185-91.
27. Lau TK, Chan MK, Lo PS, et al. Clinical utility of noninvasive fetal trisomy (NIFTY) test-early experience. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25: 1856-9.
28. Gil MM, Quezada MS, Bregant B, Ferraro M, Nicolaides KH. Implementation of maternal blood cell free DNA testing in early screening for aneuploidies. *Ultrasound ObstetGynecol* 2013;42:34-40.
29. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn* 2013;33:580-3.
30. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, Madankumar R, Saffer C, Das AF, Craig JA, Chudova DI, Devers PL, Jones KW, Oliver K, Rava RP, Sehnert AJ; CARE Study Group. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med* 2014; 370: 799-808.
31. Futch T, Spinosa J, Bhatt S, de Feo E, Rava RP, Sehnert AJ. Initial clinical laboratory experience in noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy from maternal plasma DNA samples. *PrenatDiagn* 2013; 33: 569–574.
32. Song K, Musci TJ, Caughey AB. Clinical utility and cost of non-invasive prenatal testing with cfDNA analysis in high-risk women based on a US population. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013; 26: 1180-1185.
33. Eric Wang, Annette Batey, Craig Struble, Thomas Musci, Ken Song and Arnold Oliphant Article first published online: 9 MAY 2013 | DOI: 10.1002/pd.4119 Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma (pages 662–666).



34. Bernhard Zimmermann, Matthew Hill, George Gemelos, Zachary Demko, Milena Banjevic, Johan Baner, Allison Ryan, StyrmirSigurjonsson, Nikhil Chopra, Michael Dodd, Brynn Levy and Matthew Rabinowitz. Non invasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenatal Diagnosis* 2012; 32, 1–9
35. Dar P, Curnow KJ, Gross SJ, et al. Clinical experience and follow-up with large scale single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal aneuploidy testing. *Am J ObstetGynecol* 2014;211:527.e1-17.
36. Garfield SS, Armstrong SO. Clinical and cost consequences of incorporating a novel non-invasive prenatal test into the diagnostic pathway for fetal trisomies. *J Managed Care Medicine* 2012;15:34-41.
37. Manegold-Brauer G, Kang Bellin A, Hahn S, De Geyter C, Buechel J, Hoesli I, Lapaire O. A new era in prenatal care: non-invasive prenatal testing in Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2014; 144: w13915.
38. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *PrenatDiagn* 2013;33:667-74.
39. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cellfree DNA in maternal plasma. *PrenatDiagn* 2013; 33: 662-6.
40. Poon LC, Musci T, Song K, Syngelaki A, Nicolaides KH. Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy outcomes. *Fetal DiagnTher* 2013; 33: 215-23.
41. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LC, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound ObstetGynecol* 2013; 41: 26-32.
42. Brownstein Z, Friedman LM, Shahin H, Oron-Karni V, Kol N, Rayyan AA, Parzefall T, Lev D, Shalev S, Frydman M, et al: Targeted genomic capture and massively parallel sequencing to identify genes for hereditary hearing loss in middle eastern families. *Genome Biol* 2011, 12(9):R89.
43. Bell CJ, Dinwiddie DL, Miller NA, Hateley SL, Ganusova EE, Mudge J, Langley RJ, Zhang L, Lee CC, Schilkey FD, et al: Carrier testing for severe childhood recessive diseases by next-generation sequencing. *Sci Transl Med* 2011, 3(65):65ra64.
44. Nicolaides KH, Wright D, Poon LC, Syngelaki A, Gil MM. First-trimester contingent screening for trisomy 21 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:41-50.
45. Non-invasive prenatal testing for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 545. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2012; 120: 1532–1534.