



**Universidad**  
Zaragoza



Trabajo Fin de Grado

Medicina

Departamento de Ginecología y Obstetricia

**Análisis del ADN fetal libre en sangre materna  
periférica: Presente y futuro**

Cell-free fetal DNA analysis in maternal peripheral blood: Present and  
future

Autora: Elena Borque Navarro

Director: Diego Lerma Puertas

Zaragoza 2017

## ÍNDICE

<b>1. Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Abstract.....</b>	<b>2</b>
<b>3. Introducción.....</b>	<b>3</b>
3.1. Epidemiología de las alteraciones cromosómicas.....	3
3.2. Historia de las aplicaciones del ADN fetal en sangre materna.....	4
3.3. Protocolo de Aragón para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas.....	5
3.4. Indicaciones del ADN fetal en sangre materna periférica en Aragón.....	7
3.5. Técnicas o procedimientos para obtener ADN fetal en sangre materna.....	8
3.5.1. Métodos para separar el ADN materno del ADN fetal.....	8
3.5.2. Métodos para cuantificar y estudiar el ADN fetal.....	9
<b>4. Objetivos.....</b>	<b>11</b>
<b>5. Material y métodos.....</b>	<b>11</b>
<b>6. Palabras clave.....</b>	<b>11</b>
<b>7. Resultados.....</b>	<b>12</b>
7.1. Ventajas del uso del ADN fetal en sangre materna periférica en los programas de cribado de aneuploidias.....	12
7.2. Limitaciones y cuestiones pendientes sobre el uso protocolizado del ADN fetal en sangre materna periférica.....	13
7.2.1. Falsos positivos y negativos.....	13
7.2.2. Embarazo gemelar.....	14
7.2.3. Fracción fetal.....	15

7.2.4. Aplicación del ADN fetal como prueba primaria o contingente...	16
7.2.5. Papel en la detección de trisomías 13 y 18.....	18
7.2.6. Papel en la detección de microdeleciones.....	19
7.2.7. Papel en la detección de anomalías en los cromosomas sexuales.	19
7.2.8. Papel en la detección de enfermedades monogénicas.....	20
7.3. Cuestiones éticas.....	21
7.4. Perspectivas de futuro.....	23
7.4.1. Terapia génica.....	23
7.4.2. Detección de anomalías placentarias.....	24
7.4.3. Nuevos métodos de obtención de ADN fetal.....	24
<b>8. Discusión.....</b>	<b>26</b>
<b>9. Conclusiones.....</b>	<b>28</b>
<b>10. Bibliografía.....</b>	<b>29</b>

## 1. RESUMEN

A día de hoy, las técnicas de detección prenatal de anomalías cromosómicas están en constante desarrollo para conseguir una mayor precocidad, fiabilidad y seguridad en el diagnóstico para la gestante. Una de las últimas aportaciones es el estudio de ADN celular fetal libre en sangre materna periférica. Es una prueba con una muy alta sensibilidad y especificidad para la detección de las principales aneuploidías, que ha logrado disminuir el número de pruebas invasivas y con ello, el riesgo de aborto a causa de las mismas. Sin embargo, es cierto que también tiene falsos positivos y negativos, con lo cual los profesionales de la salud deben ser conscientes de sus limitaciones. Uno de los aspectos importantes de esta prueba es que **se trata de una prueba de cribado y no de diagnóstico, ya que** en el caso de existir un riesgo elevado de anomalía cromosómica, éste se debe confirmar con una prueba invasiva y posterior estudio genético del feto.

Parece haber cierto consenso en la actualidad de que el ADN fetal en sangre materna se debe entender como una prueba complementaria al cribado combinado del primer trimestre sin sustituir a este, ya que, sin el primer cribado, se podría perder información relevante para la detección de alteraciones cromosómicas y para la predicción y prevención de otras complicaciones obstétricas. Es fundamental debatir los conflictos éticos que supone esta prueba como el hecho mismo de tener un hijo afecto de una cromosomopatía. En cuanto a las perspectivas de futuro, se están investigando más aplicaciones de la prueba para la práctica clínica, así como mejora de las mismas, pues la medicina es una ciencia que está en continuo cambio gracias a la investigación y el desarrollo.

## **2. ABSTRACT**

To date, techniques for prenatal screening for chromosomal abnormalities are constantly developing to achieve greater precocity, reliability and safety in the diagnosis for pregnant women. One of the last contributions (with constant appearance of new applications) is the study of free fetal cellular DNA in maternal peripheral blood. It is a test with a very high sensitivity and specificity, which has managed to reduce the number of invasive tests and with it, the risk of abortion because of them. However, it is true that it also has false positives and negatives, which is why health professionals should be aware of its limitations. One of the important aspects of this test is that it is a screening test and not a diagnostic test because in the case of a high risk of chromosomal abnormality, it must be confirmed by an invasive test and subsequent genetic study of the fetus.

There seems to be some consensus at present that fetal DNA in maternal blood should be understood as a complementary test to combined first-trimester screening without replacing it, since without the first screening, information relevant to the detection of chromosomal abnormalities and for the prediction and prevention of other obstetric complications. It is essential to discuss the ethical conflicts that this test involves, such as the fact of having a child affected by a chromosome disorder. As for future prospects, more applications of the test for clinical practice are being investigated, as well as improved, since medicine is a science that is constantly changing thanks to research and development.

### **3. INTRODUCCIÓN**

Se entiende como diagnóstico prenatal el conjunto de acciones diagnósticas encaminadas a detectar durante el embarazo un defecto congénito, definido por la OMS como: "Toda anomalía del desarrollo morfológico, estructural, funcional o molecular presente al nacer, a pesar de que puede manifestarse más tarde, externa o interna, familiar o esporádica, hereditaria o no, única o múltiple".

#### **3.1. Epidemiología de las alteraciones cromosómicas:**

Las aneuploidías fetales tienen una incidencia en la población general de 9 por cada 1.000 nacidos vivos. La más común es la trisomía 21, con una incidencia de 1 por cada 600-800 nacidos vivos. Dicho riesgo aumenta en 1 de cada 35 nacimientos en madres con más de 45 años. Si además existe historia familiar de trisomía 21, anomalías en los exámenes ecográficos fetales u otros resultados que puedan orientar a su diagnóstico, el riesgo de padecerla puede aumentar sensiblemente. La segunda aneuploidía más común es el Síndrome de Edwards (trisomía del cromosoma 18) con una incidencia de 1 por cada 5.500 nacidos vivos, y el síndrome de Patau (trisomía del cromosoma 13), 1 de cada 12.000 nacidos vivos. Dentro de las aneuploidías sexuales, las frecuencias de aparición del Síndrome de Turner, Klinefelter, 47XYY y 47XXX son 1/5000 para el primero y de 1/1000 para los otros tres.<sup>1</sup>

La importancia de tener un hijo con un defecto congénito no solo radica en el ámbito familiar y médico, sino también en el familiar, legal, económico y social, ya que ese individuo va a demandar más atención de lo normal y va a necesitar unos cuidados especiales básicos de la vida diaria y de aprendizaje lo que genera un gasto económico importante, tanto a la familia como al sistema sanitario para poder cubrir todas sus necesidades.

La mayoría de programas y protocolos de diagnóstico prenatal existentes hasta la fecha (y por ende de medios económicos, técnicos y humanos) están dirigidos al diagnóstico de síndrome de Down y de malformaciones estructurales fetales.

### **3.2. Historia de las aplicaciones del ADN fetal en sangre materna:**

Hasta hace pocos años, la determinación del Rh fetal constituía la única aplicación clínica de esta técnica de diagnóstico prenatal no invasiva. El servicio nacional de sangre británico (British National Blood Service) realiza esta determinación desde 2001. La enfermedad hemolítica perinatal es una enfermedad que puede causar anemia fetal severa y condicionar de forma importante la autonomía reproductiva de la mujer. Los causantes son los anticuerpos anti-D de madres Rh negativas (RhD-) que atraviesan la placenta y se unen a los eritrocitos de fetos Rh positivos (RhD+) destruyéndolos y provocando anemia fetal severa.

Desde la introducción de la profilaxis preventiva, el riesgo de isoinmunización anti-RhD se ha reducido de forma importante. Sin embargo, se ha estimado que el 40% de las mujeres caucásicas RhD negativo con pareja RhD positivas heterocigotas recibe una administración antenatal innecesaria de inmunoglobulina anti-D, ya que son portadoras de fetos RhD negativos.<sup>2</sup> Gracias al diagnóstico del Rh fetal por medio de esta técnica, se puede ahorrar la administración intramuscular de gammaglobulina, ya que solo se administrará en el caso de que el feto sea positivo (siendo la madre negativa). Según Manzanares Galán S, Entrala Bernal C, Sánchez Gila M, Fernández-Rosado F, Cobo Aguilar D, Molina Molina L, *et al.*, considerando un 40% de gestantes con Rh negativo, esta nueva estrategia de control prenatal ahorraría aproximadamente 4800 €/1000 partos atendidos en un hospital en profilaxis innecesarias.<sup>3</sup>

Otro de los usos conocidos de la prueba es su capacidad para la determinación del sexo fetal. Según un estudio llevado a cabo en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Granada), la determinación de la presencia o ausencia de loci (lugares de los genes o secuencias de ADN en los cromosomas) específicos del cromosoma Y como el gen SRY “sex-determining region” o la región que codifica la proteína testicular específica ligada al Y “DYS14”, permiten la determinación del sexo del feto a partir de la séptima semana postmenstrual con una sensibilidad aproximada del 100% a partir de la décima semana<sup>2</sup>. La determinación del sexo es particularmente útil como primer paso en el diagnóstico prenatal de enfermedades recesivas ligadas al cromosoma X,<sup>2</sup> como por ejemplo las distrofias musculares de Duchenne y Becker o la hemofilia.

Hoy en día, se están describiendo constantemente nuevas aplicaciones clínicas de esta prueba no invasiva con un gran potencial para la mejora en la atención a las gestantes. En esta revisión se analizan dichas aplicaciones.

### **3.3. Protocolo de Aragón para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas:**

En el momento actual, según el protocolo de la Comunidad Autónoma de Aragón, el procedimiento recomendado en primer lugar para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas es el cribado combinado del primer trimestre (CCPT),<sup>4</sup> el cual consiste en la estimación individualizada del riesgo de tener un feto afecto de una aneuploidía mediante un programa informático que tiene en cuenta los siguientes factores:

- a) Edad materna. En caso de fecundación in vitro (FIV) con óvulo de donante, se debe considerar la edad de ésta.
- b) Analítica de sangre materna entre la semana 9 y 13 de gestación (preferiblemente en la 10) para determinar la concentración de la fracción libre de la  $\beta$  gonadotropina coriónica humana ( $\beta$ -HCG) y de proteína plasmática A asociada al embarazo (PAPPA).
- c) Ecografía entre la semana 11 a la 13+6 de gestación (preferiblemente desde la 12 a 12+6) para medir la longitud cráneo-caudal (CRL) y la translucencia nucal (TN) del feto.

A estos tres factores se les añade unos coeficientes de corrección (peso materno, raza, hábito tabáquico, presencia de diabetes, tipo de concepción, espontánea o fertilización “in vitro”, FIV).

Cuando el primer control de embarazo se realiza a partir de la semana 14, se lleva a cabo el cribado bioquímico del segundo trimestre, entre la semana 15 y la 18+6. Se realiza el llamado test cuádruple, que consiste en la determinación conjunta de alfafetoproteína,  $\beta$ -HCG, estriol e inhibina A.

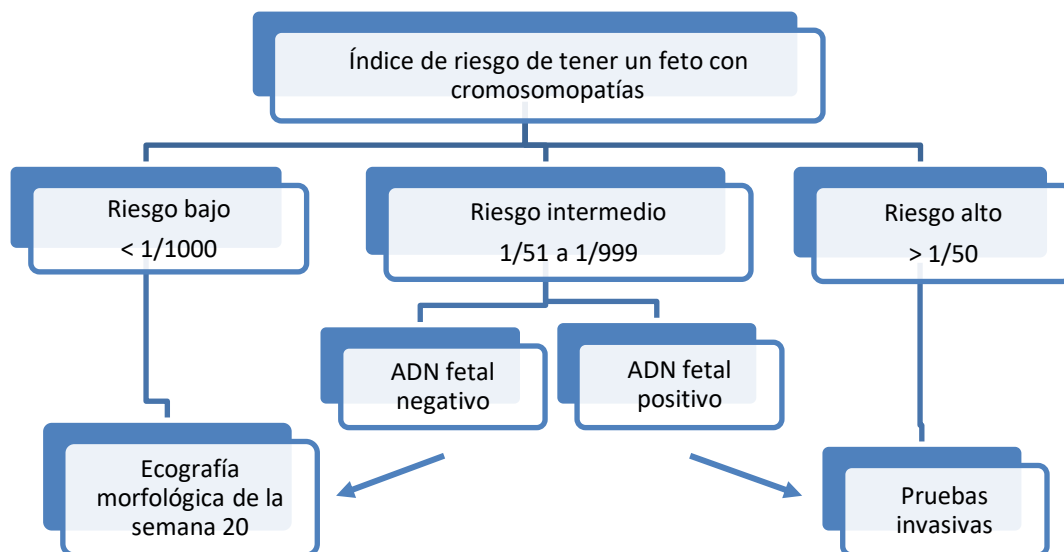
Por último, cuando la gestante acude a partir de la semana 19 se lleva a cabo el sonograma genético, donde en la realización de la ecografía morfológica de la semana 20 se calcula el riesgo en función de la edad materna modificado por la presencia o ausencia de marcadores ecográficos y defectos congénitos.



Con las tres alternativas descritas, se calcula un índice de riesgo individual, clasificando a las gestantes en tres grupos en función del riesgo de tener un feto afecto de cromosomopatía:

- Bajo riesgo ( $< 1/1000$ )
- Riesgo intermedio ( $1/51$  a  $1/999$ )
- Alto riesgo ( $> 1/50$ ).

En las gestantes de bajo riesgo no es necesario hacer más pruebas con lo que se le cita para la siguiente ecografía en la semana 20. En las de alto riesgo, se ofrece directamente una prueba invasiva (amniocentesis o biopsia corial), dado que existe la posibilidad de que haya otras alteraciones cromosómicas no diagnosticables por determinación de ADN fetal en sangre materna. Por último, en las de riesgo intermedio se considera que existe un riesgo moderado de aneuploidía y la gran mayoría de fetos de este grupo serán normales, por lo que se considera a este grupo como la indicación principal para solicitar ADN fetal en sangre materna. Es importante señalar que es una prueba de cribado, no diagnóstica, así que en los casos con resultado patológico habrá que confirmarlo con una prueba invasiva, preferentemente amniocentesis ya que el ADN fetal y las vellosidades placentarias tienen el mismo material genético.



Protocolo de actuación en el cribado de cromosomopatías llevado a cabo en Aragón.

Además del protocolo descrito que es aplicado en Aragón, existen otros protocolos en diferentes comunidades autónomas y países. Todos se basan en una aplicación secundaria del ADN fetal en sangre materna tras la realización del cribado combinado, lo que varía son los puntos de corte de cada lugar. Por ejemplo, en el protocolo de Reino Unido, el punto de corte se encuentra en 1/10-1/1000, en el de Dinamarca en 1/300-1/1000, en el de País Vasco en 1/270, en el de Países Bajos en 1/200 y en el de Suecia, se encuentra, al igual que en el de Aragón, en 1/50-1/1000.

Riesgo	VP	FP	FN	VN	Sensibilidad	Especificidad	TFP	TFN
1:270	219	2451	25	53.880	89,75%	95,65%	4,35%	10,25%
1:500	225	3992	19	52.339	92,21%	92,91%	7,09%	7,79%
1:1000	230	7192	14	49.139	94,26%	87,23%	12,77%	5,74%

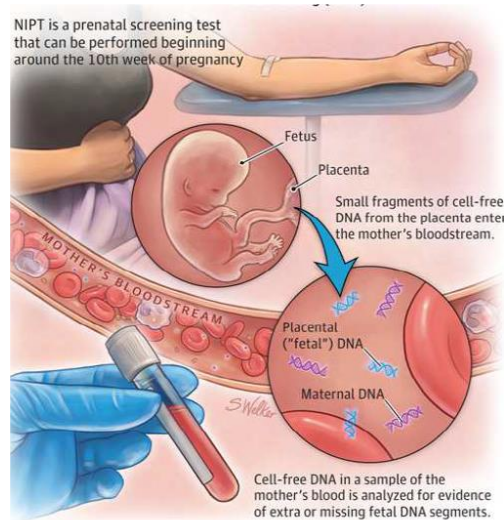
Sensibilidad y especificidad en función del punto de corte de riesgo en el actual programa de cribado<sup>5</sup>.

### 3.4. Indicaciones del ADN fetal en sangre materna periférica en Aragón:

Actualmente en Aragón, las indicaciones para la aplicación del ADN fetal en sangre materna periférica son las siguientes:<sup>4</sup>

- 1.- Cribado Combinado de Primer Trimestre con riesgo comprendido entre 1/51 y 1/1.000 con ecografía normal.
- 2.- Cribado bioquímico de 2º trimestre con riesgos comprendidos entre 1/51 y 1/1000.
- 3.- Cribado bioquímico de 2º trimestre triple (AFP, Estriol,  $\beta$ -HCG) con edad en el parto  $\geq$  38 años.
- 4.- Cribado bioquímico de 2º trimestre cuádruple (AFP, Estriol,  $\beta$ -HCG, Inhibina A) con edad en el parto  $\geq$  40 años.
- 5.- Sonograma genético con riesgo entre 1/300 y 1/1000 cuando la edad gestacional es < 20 semanas.
- 6.- Edad  $\geq$  35 años sin ningún tipo de cribado y edad gestacional < 20 semanas.

### 3.5. Técnicas o procedimientos para obtener ADN fetal en sangre materna:



Extracción de la muestra de sangre materna periférica para el estudio del ADN fetal libre. <sup>6</sup>

A la hora de analizar el ADN fetal, en primer lugar, habrá que separarlo del ADN materno y en segundo lugar, realizar un análisis cualitativo y cuantitativo del ADN fetal.

#### 3.5.1. Métodos para separar el ADN materno del ADN fetal:<sup>2</sup>

- *Detección de secuencias específicas de ADN en el cromosoma Y:* es el método más fiable, pero limita el diagnóstico a fetos de sexo varón.
- *Detección de secuencias específicas de ADN en cromosomas autosómicos:* solo pueden ser útiles para demostrar la herencia paterna de determinadas características del genoma que no estarían presentes en la circulación materna si la madre no las tiene.
- *Aumento de las concentraciones relativas del ADN fetal:* una limitación técnica para aislar ADN fetal en sangre materna es que su proporción es de tan solo del 10-15% en el momento de la realización de la prueba de cribado. Este porcentaje ha de ser aumentado, ya sea a expensas de aumentar el ADN fetal, o disminuir parte del ADN materno.
- *Modificaciones epigenéticas:* son diferencias somáticas del ADN que no alteran la secuencia genética (secuencia de nucleótidos) pero que afectan a la expresión génica.

Esto permitiría evidenciar diferencias entre los alelos maternos propios y los fetales heredados por vía materna.

### 3.5.2. Métodos para cuantificar y estudiar el ADN fetal:<sup>7</sup>

Una vez aislado el ADN del feto, las técnicas de análisis para cuantificarlo y detectar alteraciones cromosómicas fetales se detallan a continuación. Actualmente hay tres métodos disponibles. Estos métodos son secuencias paralelas masivas (s-MPS y t-MPS) y un método de polimorfismo de nucleótido único (SNP).

1.- El primer método; *massively parallel sequencing* (s-MPS) consiste en la secuenciación masiva en paralelo empleando el genoma completo para comparar cuantitativamente la cantidad de, por ejemplo, moléculas de ADN del cromosoma 21 en una muestra materna con la cantidad de esas mismas moléculas en una muestra euploide de referencia<sup>5</sup>. Esto proporciona información del genoma completo del feto y por lo tanto de todos los cromosomas y de anomalías subcromosómicas. En la aneuploidía, la distribución de los cromosomas estará sesgada por el exceso o déficit de un cromosoma.

2.- En el segundo método; *targeted MPS* (t-MPS), al igual que en el primero, se secuencian los cromosomas y se comparan con los fragmentos secuenciados esperados para un feto sin aneuploidía. Aquí hay enriquecimiento de los cromosomas de interés y se analiza de forma selectiva fragmentos seleccionados de cromosomas 13, 18 y 21. Se obtiene el riesgo, ajustado por edad materna y edad gestacional. Es más rápido y más efectivo, pero da menos información.

3.- El tercer enfoque; se basa en el análisis del polimorfismo de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphism*-SNP). Estos consisten en la variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina, timina, citosina o guanina) de una secuencia del genoma. No utiliza el recuento, sino que amplifica alrededor de 20.000 SNP en los leucocitos maternos y en el plasma (materno y fetoplacentario), que luego se secuencian. En la aneuploidía el patrón de productos será diferente entre las dos fuentes.

Últimamente, los proveedores comerciales están considerando la introducción de métodos que no requieren la secuenciación de un gran número de fragmentos, lo cual es un paso costoso y que demora el procedimiento.

La tabla expuesta a continuación resume las diferencias técnicas entre s-MPS, t-MPS y SNPs.

<b>Método</b>	<b>Cromosomas secuenciados</b>	<b>Medición</b>	<b>Detección</b>
<b>s-MPS</b>	Todos	Recuento de fragmentos	Proporción comparada con la esperada para euploidía
<b>t-MPS</b>	Pocos	Recuento de fragmentos	Proporción comparada con la esperada para euploidía
<b>SNP</b>	Todos	SNP array	Patrón comparado con el esperado para aneuploidía y euploidía

Métodos de prueba de ADN libre para aneuploidías en cromosomas específicos.<sup>7</sup>

#### **4. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo de revisión bibliográfica es el de estudiar en profundidad el análisis de ADN fetal en sangre materna periférica, así como analizar todas sus ventajas e inconvenientes y estudiar su aplicación clínica de forma primaria y secundaria. Esta prueba de cribado ha supuesto un gran avance en los programas de detección de cromosopatías en los últimos años, sin embargo, es importante conocer sus limitaciones y solicitarlo solo cuando esté indicado, ya que su aplicación inadecuada puede llevar a conclusiones erróneas con importantes consecuencias clínicas.

#### **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

Para desarrollar este trabajo, se han realizado búsquedas en bases de datos como Pubmed y Fisterra.

Se han obtenido diferentes artículos de las revistas científicas de Prenatal Diagnosis y Ultrasound in obstetrics and gynecology.

Se han encontrado distintos artículos en la página web de la The Fetal Medicine Foundation.

Se han utilizado protocolos de la SEGO (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia), de ISUOG (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology) y de ISPD (Internacional Society for Prenatal Diagnosis).

También se ha utilizado información y otros artículos de buscadores científicos como google académico, guías clínicas y páginas web.

#### **6. PALABRAS CLAVE**

Cell-free fetal DNA, non invasive prenatal test, chromosopathies, prenatal diagnosis.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1. Ventajas del uso del ADN fetal en sangre materna periférica en los programas de cribado de aneuploidías:**

Además de las dos aplicaciones descritas (determinación de RH y sexo fetal), nuevas investigaciones han permitido aplicar esta prueba para detectar síndromes causados por alteraciones cromosómicas.

La ventaja principal es que se trata de una prueba no invasiva que, además, reduce significativamente el número de falsos positivos obtenidos en el cribado combinado del primer trimestre.<sup>7</sup>

Su mayor aplicación clínica es en la detección de trisomía del par 21, donde tiene una sensibilidad del 99,5% y una especificidad del 99,8%. Esto quiere decir que, al 99,5% de los fetos con trisomía 21 los clasifica correctamente como afectados y al 99,8% de los fetos sin trisomía 21 los clasifica como no afectados. Su valor predictivo positivo (probabilidad de que cuando la prueba es positiva se corresponda a un verdadero positivo) es del 96,6% y su valor predictivo negativo (probabilidad de que cuando la prueba es negativa se corresponda a un verdadero negativo) es del 100%.<sup>7</sup> El hecho de que se trate de una prueba con una especificidad prácticamente del 100%, tranquiliza con toda seguridad ante un resultado negativo de alteraciones cromosómicas. En el caso de que haya riesgo en el feto, se asesora o ayuda a tomar una decisión a los progenitores respecto a continuar o no con el embarazo o a prepararse para el nacimiento de un bebé con necesidades especiales.<sup>8</sup> También es válido para la detección del síndrome de Patau y Edwards, sin embargo, es un poco menos precisa que para el síndrome de Down.<sup>7</sup>

Esta prueba ha logrado disminuir el gran volumen de pruebas invasivas que anteriormente se estaban utilizando para diagnosticar anomalías cromosómicas y lo ha reducido hasta aplicarlas solo en los casos en los que existe alta sospecha y que haya que confirmarlo por medio de cariotipo. De este modo, se somete a menos agresión tanto a la gestante como al feto, evitando los riesgos de aborto propios de la amniocentesis o la biopsia corial.

En resumen, como ideas principales de este apartado, hay que destacar que es una técnica que **ha demostrado mayor precisión y menor riesgo**.

## **7.2. Limitaciones y cuestiones pendientes sobre el uso protocolizado del ADN fetal en sangre materna periférica:**

Es importante ser conscientes de las limitaciones del ADN fetal en sangre materna. A pesar de ser una prueba muy sensible y específica, tiene algunos inconvenientes que deben ser conocidos por los profesionales de la salud.

Las normas mínimas de calidad de laboratorio, pruebas de aptitud y los requisitos de inspección aún no se han desarrollado para esta prueba.<sup>9</sup> Esta es una gran limitación que debe ser resuelta por las sociedades científicas a nivel nacional e internacional y por las autoridades sanitarias mediante la publicación de protocolos y normas de calidad y la realización de controles externos independientes en los laboratorios donde se realice la prueba.

### 7.2.1. Falsos positivos y negativos:

El ADN, procedente de la apoptosis de células fetales, puede detectarse en plasma materno a partir de la quinta semana de gestación. Su vida media es muy corta (16 minutos) debido al aclaramiento materno, por lo que ofrece información a tiempo real y desaparece de la circulación materna algunas horas después del parto.<sup>9</sup>

Existe una tendencia general a sobreestimar la utilidad de estos test y a no interpretar correctamente sus resultados. Una de las limitaciones de esta prueba es el llamado mosaicismo confinado a la placenta, que es la presencia de dos o más líneas celulares cariotípicamente diferentes que están confinadas a la placenta y no están presentes en el feto. Esto ocurre cuando la línea celular con el cariotipo alterado solo aparece en placenta y membranas que rodean al feto; no obstante, en el líquido amniótico cultivado estas células están presentes y pueden confundir el diagnóstico, dando un falso positivo.<sup>10</sup>



Además del mosaicismo placentario, otros factores que pueden llevar a error y dar lugar a falsos positivos y negativos son los tumores maternos<sup>11</sup> como el carcinoma de ovario, linfoma folicular y linfoma de Hodgkin (a pesar de que son infrecuentes), reagrupamientos genéticos maternos o el gemelo evanescente (pérdida de un gemelo en vía de degradación) dando lugar a error. Según Dondorp W, Wert GD, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, *et al.* esta prueba genera falsos positivos en la mitad de la población.<sup>8</sup>

### 7.2.2. Embarazo gemelar:

En cuanto al CCPT, en las gestaciones *gemelares monocoriales* habrá un único riesgo calculado a partir de la medida de las dos translucencias nucales. En las *gemelares bicoriales*, el riesgo es independiente para cada feto según la diferencia en la medida de la TN. En gestaciones múltiples de más alto orden se hará la estimación solo con la translucencia nual más la edad, ya que los marcadores bioquímicos no están validados.<sup>4</sup>

En gestaciones gemelares con un solo gemelo evolutivo, tanto el cribado combinado de primer trimestre, como el cribado bioquímico del segundo trimestre y el ADN fetal muestran una baja sensibilidad y especificidad. En este caso podría valorarse el riesgo derivado de la edad y/o sonograma genético. En cualquier caso, se puede realizar ADN fetal previa información a la paciente de las limitaciones de la prueba.<sup>4</sup>

No hay estudios suficientes para ofrecer el test de ADN fetal en la gestación gemelar. Respecto al gemelar monocorial, probablemente la precisión diagnóstica sea similar a gestaciones únicas. En cuanto al embarazo gemelar bicorial, los estudios disponibles sugieren menor tasa de detección.<sup>12</sup>

Existen datos suficientes para sugerir que con la prueba de ADN para trisomías en embarazos gemelares, en primer lugar, la tasa de falsos positivos es muy baja, como en no gemelares. En segundo lugar, la tasa de detección es alta, aunque el número total de casos afectados es demasiado pequeño para conclusiones exactas. En tercer lugar, el método de estimar la fracción fetal de cada gemelo y asegurar que el menor de los dos es al menos 4%, con el objetivo de minimizar el riesgo de falsos negativos, se asocia

con una tasa de fracaso más alta que los métodos que ignoran la evaluación de la contribución de cada feto a la concentración de ADN materna. En los embarazos gemelares, la tasa de fracaso en la obtención de los resultados de la prueba de ADN aumenta con el peso materno, como en los embarazos simples, y es mayor en la FIV que en las concepciones naturales.<sup>13</sup>

La tabla expuesta a continuación muestra que en el embarazo gemelar la fracción fetal está por debajo del límite, existe mayor tasa de fracaso y la experiencia es más limitada.<sup>6</sup>

	Embarazo con feto único	Embarazo gemelar
<b>Fracción fetal media</b>	11.7%	8.7%
<b>Tasa de fracaso</b>	1.7%	5.6%
<b>Resultado final disponible</b>	99.3%	96.9%

Análisis del ADN fetal en sangre materna en el embarazo con feto único y embarazo gemelar.<sup>6</sup>

Por lo tanto, aun siendo el ADN fetal en sangre materna una prueba muy útil en gestaciones gemelares, deberemos de extremar las precauciones sobre todo en caso de anomalías ecográficas, bioquímicas o de cualquier otra índole antes de tomar decisiones clínicas en este tipo de gestaciones.

### 7.2.3. Fracción fetal:

Las células fetales libres representan tan sólo un 10-15% de todo el plasma materno y su vida media es corta, siendo indetectables dos horas después del parto. Para la correcta interpretación de resultados es necesario que haya suficiente material de ADN fetal en plasma materno.<sup>10</sup> En caso contrario, puede causar confusión si la muestra estudiada no es realmente representativa.

Un estudio de Ashoor G. publicado en el año 2013, afirma que en la actualidad el cribado de aneuploidías mediante pruebas ADN fetal requiere que la fracción fetal mínima sea del 4%. Defiende que el mayor factor de riesgo para fracción fetal baja es la obesidad. Una posible explicación de esta asociación es que en las mujeres obesas se

produce una aceleración de la ruptura de los adipocitos, lo que libera una mayor cantidad de ADN materno a la circulación, dando lugar a una menor proporción de ADN fetal libre en sangre materna. Si bien es cierto que se necesitan más investigaciones para definir la variación biológica en la fracción fetal e identificar los factores que podrían aumentarla en las mujeres obesas.<sup>14</sup>

Un estudio ha puesto de relieve que, en los casos de resultados discordantes entre la prueba de ADN fetal y el cariotipo fetal, la fracción fetal es menor que en los concordantes. Además, este estudio defiende que para la interpretación de los resultados del ADN fetal, particularmente en los casos con una fracción fetal baja, el riesgo a priori debe ser considerado. La capacidad de detectar el aumento en la cantidad de un cromosoma en el plasma materno en una trisomía en comparación con un embarazo normal, está relacionada con la proporción ADN fetal libre en el plasma materno.<sup>15</sup> En contraposición a esto, un estudio afirmó que es poco probable que la fracción fetal baja sea un contribuyente significativo. En dicho estudio, la fracción fetal baja pudo no haber sido un factor importante en la práctica rutinaria, ya que todos los casos de falsos positivos y negativos detectados en sus datos tenían fracciones fetales por encima de lo requerido.<sup>16</sup>

Algunas de las posibles consecuencias de obtener bajas fracciones de material genético fetal son tener mayor riesgo de trisomía 13, 18 y monosomía X.

#### 7.2.4. Aplicación del ADN fetal como prueba primaria o contingente:

La aplicación del ADN fetal en el grupo de gestantes de bajo riesgo no se ha valorado detalladamente ya que su valor predictivo positivo podría ser menor que en el grupo de alto riesgo de fetos afectados.<sup>17</sup> A pesar de esto, un estudio mostró que en el rendimiento del ADN fetal para la detección de trisomía 21 no se mostraban diferencias estadísticas entre los grupos de bajo riesgo y de alto riesgo. Dichos hallazgos sugieren que sería apropiado ofrecer ADN fetal como prueba rutinaria de detección de trisomías fetales 21, 18 y 13 en la población general.<sup>16</sup>

En gestantes de alto riesgo, el hecho de sustituir la prueba invasiva por el ADN fetal no sería adecuado, ya que en este tipo de población, las trisomías 13, 18 y 21 suponen tan sólo un 70% de los hallazgos patológicos. Se considera, por tanto, que en este grupo se

debe aplicar directamente las pruebas invasivas para obtener el cariotipo fetal y poder detectar mayor número de cromosomopatías y a su vez ampliar la información genética facilitada por estas pruebas mediante la realización de CGH-arrays.<sup>17</sup>

Existe controversia respecto al uso del ADN fetal en sangre materna como prueba de primer nivel, en lugar del cribado combinado del primer trimestre en gestantes sanas, dado que este es el grupo en el que existen dudas en cuanto a su aplicación. Por un lado, si se hiciera de este modo, se eliminarían falsas alarmas que se dan a los progenitores en un principio y se eliminaría la falsa seguridad. Además, dado que esta prueba puede realizarse desde la semana 9, sería beneficioso a la hora de completar las pruebas lo antes posible para aquellos que reciben un resultado positivo. En contraposición a esto, debido al menor riesgo a priori en la población general, el valor predictivo positivo de esta prueba sería significativamente menor en este escenario que en lugar de usar el ADN fetal como segunda prueba, lo que podría conducir a un incremento en los procedimientos invasivos (esto es especialmente válido para enfermedades distintas a la trisomía 21, de menor prevalencia). Como otro inconveniente, se ha señalado que con la disminución del uso del cribado combinado del primer trimestre, se perdería información acerca de alteraciones clínicamente relevantes diferentes a las aneuploidías que son proporcionadas por este cribado,<sup>8</sup> como alteraciones anatómicas en el feto.

Es importante recalcar que en presencia de alteraciones estructurales ecográficas, la indicación de cariotipo y/o CGH-array no debe de modificarse por tener una prueba de ADN fetal en sangre materna normal.<sup>7</sup>

Según un estudio realizado en Países Bajos en el que se analizó la opinión de los profesionales respecto al ADN fetal en sangre materna, se concluyó que existe una actitud positiva hacia la oferta de ADN fetal como prueba de primer nivel para la detección de cromosomopatías en todas las mujeres embarazadas. El valor adicional de la medición de la translucencia nucal (TN) si el ADN fetal reemplaza completamente al CCPT necesitaría ser investigado más a fondo, ya que muchos profesionales prefirieron preservar la medida de TN en tal caso. Si el ADN fetal se ofreciera como prueba de cribado de primer nivel, esto conduciría a un cambio significativo en la organización del asesoramiento en los Países Bajos, ya que sería realizado principalmente por matronas de atención primaria, y éstas, hasta la fecha, tienen una experiencia clínica limitada con

el ADN fetal. La mayoría de los encuestados en dicho estudio creían que el ADN fetal es una prueba más fácil de explicar, simplificando así el asesoramiento.

Son necesarios programas educativos, así como directrices adecuadas para los profesionales para mantener un alto nivel de atención y para garantizar que las parejas son capaces de tomar una decisión bien informada. Si bien, ya se ha demostrado que tanto los propios profesionales de la salud como las embarazadas consideran que la exactitud de la prueba es la característica más importante de una prueba prenatal.<sup>18</sup>

#### 7.2.5. Papel en la detección de trisomías 13 y 18:

La indicación principal de esta prueba es la detección de la trisomía 21, sin embargo, también es una prueba válida para las trisomías 13 y 18 (síndromes de Patau y Edwards).<sup>2</sup> En embarazos con trisomía 13 y 18 los niveles de PAPP-A se reducen en mayor medida que en la trisomía 21, y el grosor de la translucencia nucal es a menudo muy grande. Sin embargo, a diferencia de trisomía 21, las concentraciones séricas de  $\beta$ -HCG disminuyen en trisomía 13 y 18. Por lo tanto, con un ligero ajuste del cálculo del riesgo de síndrome de Down en el CCPT, sería posible proporcionar riesgos separados específicamente para la trisomía 13 y 18. Esto conduciría a la detección de muchos casos de trisomía 13 y 18 con sólo 0,2% de falsos positivos adicionales.<sup>19</sup> La técnica de ADN fetal en sangre materna para estos síndromes tiene una tasa de detección del 97% para la trisomía 18 y del 92% para la trisomía 13.<sup>20</sup>

	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Prevalencia</b>	<b>TFP*</b>	<b>VPP*</b>
<b>Trisomía 13</b>	92%	99.8%	1.4:10000	0.13%	38%
<b>Trisomía 18</b>	97%	99.95%	2.3:10000	0.13%	93%

Diferencias del ADN fetal en sangre materna periférica para las trisomías 13 y 18.<sup>6</sup>

\*TFP: Tasa de falsos positivos

\*VPP: Valor predictivo positivo

### 7.2.6. Papel en la detección de microdeleciones:

Ampliar el análisis del ADN fetal para la detección de microdeleciones (síndromes como DiGeorge, Prader Willi, Angelman, Cri du chat, Wolf Hirschhorn y otros, cuyo fenotipo puede incluir retraso del desarrollo, discapacidad intelectual, características dismórficas y otras malformaciones, no ha demostrado tanta eficacia como en la trisomía 21).

Su aplicación extensiva podría revertir el descenso de pruebas invasivas conseguido hasta el momento. Por esta razón no se recomienda su uso para el cribado de este tipo de alteraciones congénitas.<sup>8</sup> La prueba debe limitarse a trastornos significativos clínicamente o condiciones severas definidas,<sup>11</sup> sólo en parejas con antecedentes de otros hijos con esas enfermedades u otros factores de riesgo, ya que no deben usarse en la población general.

Esta recomendación se basa en las siguientes consideraciones:<sup>2,6</sup>

- La baja prevalencia de estos síndromes
- El bajo índice de verdaderos positivos y alto índice de falsos positivos en la prueba
- La poca experiencia en este tema y la dificultad de asesoramiento

Por todo ello, es fundamental que los padres tengan la información oportuna antes de la realización de la prueba.<sup>11</sup> Sin embargo, esto requiere más evidencia científica (estudios de validación), así como una evaluación exhaustiva del balance de beneficios y daños para aquellos a los que se ofrece el examen, teniendo en cuenta el objetivo del cribado. En particular, se requiere una evaluación de la tasa de falsos positivos. Además, los límites de detección son desconocidos y pequeños reordenamientos pueden no ser detectados. Por último, el enfoque dirigido puede no ser apropiado ya que la mayoría de los reordenamientos patógenos surgen de nuevo y no son recurrentes.<sup>8</sup>

### 7.2.7. Papel en la detección de anomalías en los cromosomas sexuales:

El uso del análisis del ADN fetal para cribado de aneuploidias de cromosomas sexuales como son el síndrome de Turner (45 X), Klinefelter (XXY) y triple X (XXX) ha demostrado menor precisión, menor valor predictivo positivo (50%), más falsos positivos y mayor tasa de fracaso que para la trisomía 21 (síndrome de Down).<sup>6</sup> Por

todo ello, el rendimiento del screening es dudoso actualmente. Si esta prueba se usara para este fin, habría un aumento de pruebas invasivas por falsos positivos (0,3%).<sup>2</sup> A pesar de esto, dado que las sensibilidades de la prueba se acercan o superan el 90%, se está usando hoy en día.

Por un lado, la detección prenatal permitirá un tratamiento temprano de los problemas de salud y de comportamiento, además de mejorar la calidad de vida del niño. Por otro lado, existen preocupaciones sobre el daño psicosocial (efecto sobre la autoestima, la interacción entre padres e hijos y la estigmatización) como consecuencia de nacer con un diagnóstico que no se habría realizado si no se hubiera hecho la prueba.<sup>8</sup> Es importante conocer que muchas anomalías de los cromosomas sexuales se diagnostican en la edad adulta por infertilidad y son casos leves sin discapacidad intelectual. Es evidente que se necesitan más investigaciones para aclarar este equilibrio.

Cuando se ofrece a las mujeres la proyección del ADN para la detección de este tipo de anomalías cromosómicas, éstas deben ser informadas de que la prueba podría implicar el descubrimiento de anomalías del cromosoma de sexo incluyendo aquellas que pueden ser de menor relevancia clínica. El hecho de obtener un resultado positivo puede implicar más exámenes invasivos y estudios adicionales a la madre. Por todo ello, las mujeres deben tener la alternativa de aceptar o rechazar esta opción por separado.<sup>11</sup>

#### 7.2.8. Papel en la detección de enfermedades monogénicas:

En cuanto al diagnóstico de enfermedades monogénicas por esta técnica en principio solo sería posible la detección de mutaciones heredadas del padre, que no estarían presentes en el genoma materno.

*-Condiciones autosómicas dominantes:* el diagnóstico depende de la identificación del alelo paterno. Cuando el padre se ve afectado por la enfermedad, una prueba positiva en la sangre materna significa la presencia del alelo paterno alterado y un feto afectado (suponiendo que la madre estando sana no presente el gen defectuoso). Cuando la madre se ve afectada por una enfermedad autosómica dominante, el diagnóstico fetal no invasivo no es posible en este momento porque los ácidos nucleicos fetales de origen materno no pueden distinguirse del ADN materno.<sup>2</sup> Enfermedades de transmisión

autosómica dominante como la corea de Huntington, la distrofia miotónica, y la acondroplasia han sido diagnosticadas utilizando esta técnica.

*-Condiciones autosómicas recesivas:* en el caso donde sólo uno de los progenitores es portador de la mutación, no es necesario realizar pruebas al feto dado que no padecerá la enfermedad. En parejas en que ambos son portadores (heterocigotos) del gen mutado sí existe riesgo (25%) de tener un hijo con la enfermedad, y en estos casos el alelo paterno mutado puede ser investigado en el plasma de la gestante. La ausencia de la mutación paterna en ADN fetal descarta que el feto esté afectado por la enfermedad en estudio. Si la mutación paterna está presente, no puede diferenciarse si se trata de un feto afectado o portador. Más recientemente se han desarrollado técnicas de secuenciación para detectar un feto homocigoto en una madre heterocigota para un determinado gen, sobre la base de que la proporción entre gen anormal/normal se eleva. Las enfermedades diagnosticadas mediante este enfoque hasta ahora han sido fibrosis quística, hemoglobinopatías e hiperplasia adrenal congénita.<sup>2</sup>

### **7.3. Cuestiones éticas:**

Un aspecto muy importante del uso clínico del ADN fetal en sangre materna lo constituye el análisis de los aspectos éticos que influyen en este tema.

La familia que tiene un hijo con discapacidad afronta una crisis a partir del momento de la sospecha y posterior confirmación del diagnóstico. Esto produce un gran impacto psicológico a nivel familiar por lo que el asesoramiento previo a la realización del cribado debería ser parte fundamental del mismo. Este asesoramiento consiste en las siguientes medidas:<sup>8</sup>

- Es fundamental dar toda la información a los padres antes de realizar la prueba.
- Es necesario que éstos conozcan el ámbito y naturaleza de las enfermedades cribadas, la tasa de detección y de fracaso de la prueba y la explicación de falsos positivos.
- Deben ser conocedores también de la posibilidad de detectar neoplasias maternas o anomalías cromosómicas adicionales (inserciones o deleciones a gran escala) y su gama de implicaciones y la posibilidad de hallazgos sin significado conocido.
- Los progenitores también deben ser conscientes de la información tras la realización del test; información sobre la enfermedad, pruebas invasivas para confirmar el



diagnóstico, posibilidad de ecografías complementarias, y la posibilidad de ampliar estudio en el recién nacido.

Los posibles beneficios que ofrece esta prueba para las mujeres embarazadas o parejas son dos: certeza si se demuestra que existe un riesgo bajo, o ser ayudado a tomar una decisión reproductiva informada, más específicamente con respecto a continuar (y prepararse para el nacimiento de un niño con necesidades especiales) o terminar el embarazo, si el feto se diagnostica con una anomalía fetal.

Los posibles daños del examen prenatal incluyen una falsa tranquilidad, estrés en la toma de decisiones, ansiedad ante la obtención de resultados falsos positivos y el riesgo de perder el feto como una complicación de las pruebas invasivas de seguimiento.<sup>8</sup>

Debería establecerse una política clara para abordar este tema, considerando los deseos de las mujeres embarazadas con respecto a recibir o no recibir información específica.<sup>8</sup> Debe prestarse especial atención a las necesidades de información de las mujeres de otros orígenes lingüísticos y culturales o que tengan menos conocimientos sobre la salud.

El análisis del ADN fetal es capaz de determinar el sexo del feto y si esta prueba se instaurara como prueba de primer nivel, esta información estaría disponible desde semanas más tempranas. Esto es algo que crea un conflicto ético, pues se teme que en muchos lugares por razones culturales y sociales, se recurra a este test para interrumpir el embarazo en el caso de que el sexo del feto no sea el deseado por los progenitores. La práctica cultural y socialmente determinada de la selección de varones ha llevado a una marcada perturbación de la proporción de sexos en algunos países asiáticos, con graves efectos sociales. Aunque la investigación ha demostrado que en los países occidentales generalmente no existe una fuerte preferencia por los hijos, hay informes que sugieren que el aborto selectivo por sexo se está practicando en ciertas minorías culturales.<sup>8</sup>

Además, si esta técnica sigue evolucionando, incluso podría ser posible ofrecer prenatalmente toda la secuencia del genoma, lo que obviamente plantea un complejo conjunto de cuestiones sociales y éticas,<sup>19</sup> como por ejemplo la opción de que los padres interrumpan de manera voluntaria el embarazo en caso de fetos con enfermedades no graves, o portadores de genes mutados, o fetos con riesgo de desarrollar enfermedades graves o moderadas de adulto.

La exploración prenatal plantea cuestiones fundamentales sobre la relación entre la autonomía reproductiva y la responsabilidad parental que requieren un análisis ético en profundidad. Es importante recalcar que el cribado prenatal de las anomalías fetales está dirigido a permitir que las mujeres embarazadas y sus parejas tengan elección reproductiva autónoma.<sup>8</sup> Ante un diagnóstico de alteración cromosómica en un embarazo, los progenitores tienen la posibilidad de interrumpir dicho embarazo. Esta es una decisión muy difícil que se debe valorar minuciosamente y de forma responsable, siendo conscientes de las consecuencias que conlleva tanto seguir adelante como terminar la gestación.

#### **7.4. Perspectivas de futuro:**

El análisis del ADN fetal libre de células en la circulación materna para el cribado de la aneuploidía fetal es probablemente el primero de los pasos principales hacia la aplicación y secuenciación del genoma fetal completo.<sup>21</sup>

Existe la necesidad de aumentar los recursos de asesoramiento genético, de superar los obstáculos a la accesibilidad, de definir los modelos de implementación, de usar nuevas tecnologías y de crear nuevas aplicaciones en otros campos (disfunciones placentarias, nueva modalidad de detección de parto prematuro, cribado y diagnóstico de cáncer ginecológico etc.).<sup>6</sup>

A la luz de las tecnologías de secuenciación cada vez mejores y más económicas, existe la necesidad de un debate profesional y social proactivo acerca de cuál debería ser el alcance futuro de la detección prenatal de anomalías fetales. Tal y como se ha argumentado en apartados anteriores, existen importantes razones éticas para no ampliar el alcance de la exploración prenatal más allá de los trastornos congénitos graves.<sup>8</sup>

##### 7.4.1. Terapia génica:

Una de las perspectivas de futuro sería la terapia génica de la trisomía 21 mediante la inactivación de la copia extra del cromosoma 21.<sup>2</sup> Existen genes represores como el gen XIST que se encuentra en el cromosoma X que impide la síntesis de proteínas en estos

cromosomas. Investigadores norteamericanos han publicado en Nature que el gen XIST puede inactivar no sólo al cromosoma X sino también al cromosoma 21. Para demostrarlo emplearon células trisómicas en cultivo, que contaban con tres cromosomas 21, logrando inactivar uno de ellos tras integrarle una copia del gen XIST mediante técnicas convencionales de ingeniería genética. En estas células transgénicas y trisómicas se redujeron los niveles de las proteínas producidas por los genes del cromosoma 21, acercándose a lo que se observa en las células normales. Esta investigación sienta las bases del desarrollo de futuras terapias para el síndrome de Down. Sin embargo, hay estudios que defienden que por el momento esto es inaplicable a la práctica clínica y que debe estudiarse y desarrollarse con profundidad.<sup>22</sup>

#### 7.4.2. Detección de anomalías placentarias:

Otra posible aplicación (todavía en fase de investigación) es la detección de anomalías placentarias. Diversas alteraciones relacionadas con la placenta han mostrado aumentar la concentración de ADN en sangre materna. Es el caso de eclampsia y preeclampsia, habiendo demostrado elevaciones de entre dos o tres y hasta catorce veces, respectivamente. Esto ha sugerido que el ADN podría ser útil como método de cribado para predecir preeclampsias en embarazadas asintomáticas y de bajo riesgo.<sup>1</sup> Esta identificación temprana de la enfermedad podría facilitar una mejor vigilancia prenatal, una intervención oportuna y mejores resultados perinatales.<sup>19</sup>

#### 7.4.3. Nuevos métodos de obtención de ADN fetal:

Un enfoque que se debe desarrollar en el futuro es el de la posibilidad de obtener ADN fetal en frotis vaginal en gestantes. Esto se lleva a cabo por el análisis de las células trofoblásticas fetales que residen en el tracto reproductivo femenino y son extraídas del cuello uterino con un frotis vaginal. Posteriormente, en el laboratorio, se aplica un láser sobre la muestra de células recogidas en el frotis. Un estudio realizado por Jain CV, Kadam L, Dijk MV, Kohan-Ghadr HR, Kilburn BA, Hartman C, *et al.* informa que las secuencias del genoma fetal pueden ser analizadas con precisión y en detalle con un procedimiento seguro y estandarizado, después de la concepción (cinco semanas después de la menstruación anterior). Esto se analiza mediante secuenciación dirigida

sin amplificación de todo el genoma, que es el método de elección para diagnosticar mutaciones genéticas cuando el ADN es limitado, y se desea una alta profundidad de lectura. Este enfoque llena un vacío técnico en las pruebas prenatales actuales no invasivas al ofrecer la precisión de la tecnología invasiva actual sin verse obstaculizada por las limitaciones causadas por una gran fracción de ADN materno, el catabolismo rápido del ADN fetal, la edad gestacional temprana o la obesidad materna. El aislamiento de las células trofoblásticas fetales es prometedor no sólo para las pruebas genéticas prenatales, sino también para la investigación de la biología de los trofoblastos y la fisiopatología en los embarazos en curso.<sup>23</sup>

## 8. DISCUSIÓN

Hasta hace pocos años, la detección de anomalías cromosómicas fetales se ha llevado a cabo a través de la determinación del cariotipo fetal, obtenido mediante procedimientos invasivos como la amniocentesis y la biopsia corial.

Para considerar su aplicabilidad como test de screening deben reunirse determinadas características establecidas por la OMS entre las que cabe destacar las siguientes:<sup>24</sup>

- La enfermedad a detectar debe ser causa de morbilidad y/o mortalidad significativa.
- Existencia y acceso a ulteriores facilidades diagnósticas o terapéuticas.
- La enfermedad debe ser relativamente prevalente en la población.
- El test en sí debe ser válido (medir lo que se pretende), aceptable para la población, de fácil acceso, aplicación simple y coste proporcional al beneficio obtenido.
- Fiabilidad aceptable medida en términos de sensibilidad y especificidad elevadas.

Es cierto que la información que ofrece el ADN fetal en sangre materna es más precisa respecto al CCPT y ha **logrado disminuir el número de abortos derivados de un exceso de utilización de técnicas invasivas**, sin embargo, no se debe interpretar como una prueba diagnóstica, puesto que para saber con certeza el diagnóstico, es necesario confirmarlo con una prueba invasiva, como la amniocentesis para estudiar el cariotipo. Por todo ello, el estudio de ADN fetal en sangre periférica materna se debe entender como un **método de cribado** para las mujeres con riesgo de tener un bebé con alteraciones cromosómicas.

Uno de los puntos más importantes a tener en cuenta sobre este tema es el aspecto ético, respecto a las preferencias de los progenitores sobre continuar o interrumpir el embarazo ante un diagnóstico de defecto congénito en un feto. Son temas muy delicados que los profesionales deben saber abordarlo de acuerdo a los principios del respeto a la autonomía reproductiva de la paciente y de la ética médica.

A la hora de realizar el ADN fetal en sangre materna, es fundamental la tarea del profesional sanitario, el cual debe poner a disposición de los progenitores toda la información pre-test y post-test, pues son los padres los que deciden seguir adelante o no con todas las pruebas. Por todo ello, es importante que sean conocedores de esta técnica.

Es una prueba **muy específica y sensible para la detección de aneuploidías autosómicas, sobre todo, para la trisomía 21**, más que para la 13 y 18. Por otro lado, hay que destacar a su vez que existen falsos positivos y falsos negativos. En cuanto al cribado de alteraciones cromosómicas sexuales y microdelecciones, a día de hoy no se ha aprobado su aplicación. En estos casos se podría emplear en situaciones concretas previa información extensiva a la gestante.

Otro punto importante, es aclarar que esta prueba no debería sustituir en ningún momento a la información que proporcionan las ecografías de las semanas 12 y 20, puesto que éstas dan información acerca de alteraciones estructurales y morfológicas del feto, algo que no se estudia en el ADN fetal.<sup>20</sup> Toda esta amplia información se perdería si se sustituyera el ADN fetal por la ecografía. Por este motivo, se debe entender el **ADN fetal como complemento del CCPT** y no como una prueba de primer nivel.

No existe un consenso universal entre los profesionales sobre la utilización del ADN fetal al aplicarlo en población de bajo riesgo y riesgo intermedio. Hay autores que defienden que no existen diferencias en el rendimiento de la prueba entre ambas poblaciones, por lo que lo recomiendan en todos los grupos. Sin embargo, otros defienden que es más preciso al aplicarlo en el grupo de riesgo moderado para disminuir así los falsos positivos y el volumen de pruebas invasivas para su confirmación. En Aragón, en la práctica clínica actual, se está utilizando en la población de riesgo intermedio (1/51-1/1000).

Por último, uno de los aspectos importantes del tema es la evaluación económica. Se necesitan verdaderos análisis de costo-utilidad para determinar la eficacia clínica real de este enfoque en la población prenatal general.<sup>25</sup> Serán necesarios también análisis de coste-efectividad y del gasto que supone el uso del ADN fetal y su rentabilidad. Se han publicado diversos estudios donde se demuestra que, desde el punto de vista económico, teniendo en cuenta el aumento en la tasa de detección que supone esta técnica con respecto al cribado combinado convencional, y la disminución de procedimientos invasivos necesarios y pérdidas gestacionales asociadas, la implementación de este test en la población general en forma de cribado contingente, podría ser coste-efectivo.<sup>3</sup> Además el coste económico sería mayor en el caso de ofrecer el análisis de ADN fetal como prueba de primer nivel en lugar de como prueba contingente.<sup>26</sup>

## **9. CONCLUSIONES**

1- El ADN fetal libre en sangre periférica materna es una prueba para el cribado de anomalías cromosómicas y no debe considerarse como una prueba diagnóstica.

2- Por el momento, su indicación principal es la detección de trisomía 21 (dado su alta sensibilidad y especificidad), y, en menor medida las trisomías 13 y 18 (por su menor precisión a pesar de ser totalmente válida). Sin embargo, no se aplicará para anomalías de los cromosomas sexuales y tampoco se hará, por el momento, para las microdeleciones.

3- El objetivo principal de su aplicación es disminuir el número de pruebas invasivas y los abortos, derivados de las mismas.

4- Es una prueba novedosa que ha mejorado mucho el planteamiento de la detección prenatal de anomalías cromosómicas, pero actualmente existen limitaciones que se espera que con el paso del tiempo y gracias a la investigación sean menores.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Baños Álvarez E, Llanos Méndez A. Prenatal screening for aneuploidy using free fetal DNA in maternal blood. Systematic Review of the Literature. 2011.
2. Carputo R. Diagnóstico prenatal no invasivo: ADN fetal libre en sangre materna. Servicio de Obstetricia y Ginecología Hospital Universitario Virgen de las Nieves Granada. [monografía en Internet] 2014 [acceso 16 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.hvn.es/serviciosasistenciales/ginecologiyobstetricia/ficheros/actividaddoce nteeinvestigadora/clasesresidentes/2014/clase2014adnfetalensangrematerna.pdf>
3. Manzanares Galán S, Entrala Bernal C, Sánchez Gila M, Fernández-Rosado F, Cobo Aguilar D, Molina Molina L, *et al.* Diagnóstico no invasivo del Rh fetal en sangre materna en el primer trimestre de la gestación. Gest y Eval Cost Sanit 2014;15(2):125-36.
4. González de Agüero Laborda R, Lerma Puertas D. Nueva estrategia para la Detección de Aneuploidías fetales. Protocolo regional de Diagnóstico prenatal de Defectos congénitos 2016. Comunidad Autónoma de Aragón. Salud.
5. Bayón Yusta JC, Orruño Aguado E, Portillo Villares MI, Asua Batarrita J. Cribado prenatal para la detección del síndrome de Down mediante el análisis de ADN fetal en sangre materna. País Vasco. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias; 2016. Disponible en: [http://www.ogasun.ejgv.euskadi.eus/r51catpub/es/k75awebpublicacioneswar/k75aobten erpublicaciondigitalervlet?r01hnoportal=true&n\\_libr=051918&n\\_edic=0001&c\\_idiom =es&formato=.pdf](http://www.ogasun.ejgv.euskadi.eus/r51catpub/es/k75awebpublicacioneswar/k75aobten erpublicaciondigitalervlet?r01hnoportal=true&n_libr=051918&n_edic=0001&c_idiom =es&formato=.pdf)
6. Comas Gabriel C. Test fetal no invasivo (cf-DNA). Certezas y controversias. 7º Congreso de la Asociación de Ginecología y Obstetricia de Aragón. Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction of Hospital Universitario Quirón Dexeus. 2016.



7. Cuckle H. Strategies for Implementing Cell-Free DNA Testing. *Clinics in Laboratory Medicine* 2016;36:213–26. doi:10.1016/j.cll.2016.01.010.
8. Dondorp W, Wert GD, Bombard Y, Bianchi DW, Bergmann C, Borry P, *et al.* Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *European Journal of Human Genetics* 2015;23:1438–50. doi:10.1038/ejhg.2015.57.
9. Manzanares Galán S. Diagnóstico a través del ADN fetal en sangre materna. [monografía en Internet] 2013 [acceso 16 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.hvn.es/serviciosasistenciales/ginecologiyobstetricia/ficheros/curso2013mmf12estudiodeadnensangrematerna.pdf>.
10. Luis Alberto Méndez Rosado. Mosaicismo cromosómico en el diagnóstico prenatal citogenético por cultivo de amniocitos. Instituto superior de ciencias médicas de La Habana Centro Nacional de Genética Médica. 2009. Disponible en: [http://tesis.repo.sld.cu/205/1/Mendez\\_Rosado.pdf](http://tesis.repo.sld.cu/205/1/Mendez_Rosado.pdf)
11. Benn P, Borrell A, Chiu RWK, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, *et al.* Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenatal Diagnosis* 2015;35:725–34. doi:10.1002/pd.4608.
12. Protocolo: Asistencia al embarazo y parto de gestaciones múltiples. Unidad Clínica de Gestación Múltiple, Área de Medicina Fetal, Servicio de Medicina Maternofetal. Hospital Clínic Hospital Sant Joan de Déu. Disponible en: [https://medicinafetalbarcelona.org/clinica/images/protocolos/patologia\\_fetal/gestacion\\_multiple.pdf](https://medicinafetalbarcelona.org/clinica/images/protocolos/patologia_fetal/gestacion_multiple.pdf)
13. Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH, Ordonez E, Cirigliano V, Dierickx H, *et al.* Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2015; 45: 61–66.
14. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstetrics Gynecology* 2013; 41: 26–32. doi:10.1002/uog.12331

15. Quezada MS, Gil MM, Francisco C, Oròsz G, Nicolaides KH. Screening for trisomies 21, 18 and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10-11 weeks' gestation and the combined test at 11-13 weeks. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2014;45:36–41. doi:10.1002/uog.14664.
16. Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Gou Y, *et al.* Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146958 pregnancies. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2015;45:530–8. doi:10.1002/uog.14792.
17. Salomon L, Alfirevic Z, Audibert F, Kagan KO, Paladini D, Yeo G, *et al.* ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2014;44:122–3. doi:10.1002/uog.13393.
18. Tamminga S, Schendel RVV, Rommers W, Bilardo CM, Pajkrt E, Dondorp WJ, *et al.* Changing to NIPT as a first-tier screening test and future perspectives: opinions of health professionals. *Prenatal Diagnosis* 2015;35:1316–23. doi:10.1002/pd.4697.
19. Koster W, De A, Visser G, Schiele P. Innovations in Down Syndrome Screening. *Prenatal Diagnosis and Screening for Down Syndrome* 2011. doi:10.5772/18422. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/prenatal-diagnosis-and-screening-for-down-syndrome/innovations-in-down-syndrome-screening>
20. Corrigendum to “Best practice in maternal-fetal medicine”. *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 2014;128:80–82. doi:10.1016/j.ijgo.2015.01.001.
21. Gregg AR, Gross S, Best R, Monaghan K, Bajaj K, Skotko B, *et al.* ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genetics in Medicine* 2013;15:395–8. doi:10.1038/gim.2013.29.
22. Micol JL. Cómo silenciar un cromosoma de más. Disponible en: <http://www.scoop.it/t/genetica-cotidiana/p/4018097130/2014/03/21/como-silenciar-un-cromosoma-de-mas>
23. Jain CV, Kadam L, Dijk MV, Kohan-Ghadr HR, Kilburn BA, Hartman C, *et al.* Fetal genome profiling at 5 weeks of gestation after noninvasive isolation of trophoblast cells from the endocervical canal. *Science Translational Medicine* 2016;8. doi:10.1126/scitranslmed.aah4661.

24. Documentos de consenso S.E.G.O. Screening de cromosopatías fetales. Disponible en: <http://www.sego.es/Content/pdf/screeningcromosopatias.pdf>
25. Norton ME, Rose NC, Benn P. Noninvasive Prenatal Testing for Fetal Aneuploidy: clinical assessment and a plea for restraint. *Obstetrics & Gynecology* 2013;121:847–50. doi:10.1097/aog.0b013e31828642c6
26. Nicolaides KH, Wright D, Poon LC, Syngelake A, Gil MM. First-trimester contingent screening for trisomy 21 by biomarkers and maternal blood cell-free DNA testing. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2013;42:41–50. doi:10.1002/uog.12511.
27. Lo T-K, Chan KY-K, Kan AS-Y, So PL, Kong CW, Mak SL, *et al.* Informed choice and decision making in women offered cell-free DNA prenatal genetic screening. *Prenatal Diagnosis* 2017. doi:10.1002/pd.4994.
28. Fisterra.com, Pruebas de cribado fetal-diagnóstico prenatal [sede Web]. *Fisterra.com*; [actualizada el 9 de septiembre de 2013; acceso 16 de febrero de 2017]. Disponible en: <http://www.fisterra.com/guias-clinicas/embarazo/#4223>.
29. Seppo A, Frisova V, Ichetovkin I, Kim Y, Evans MI, Antsaklis A, *et al.* Detection of circulating fetal cells utilizing automated microscopy: potential for noninvasive prenatal diagnosis of chromosomal aneuploidies. *Prenatal Diagnosis* 2008;28:815–21. doi:10.1002/pd.1987.
30. Gil MM, Giunta G, Macalli EA, Poon LC, Nicolaides KH. UK NHS pilot study on cell-free DNA testing in screening for fetal trisomies: factors affecting uptake. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2014;45:67–73. doi:10.1002/uog.14683.
31. Gil M, Accurti V, Santacruz B, Plana M, Nicolaides K. Analysis of Cell-Free DNA in Maternal Blood in Screening for Aneuploidies: Meta-Analysis. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2014;35:156–73. doi:10.1159/000358326.
32. Syngelaki A, Pergament E, Homfray T, Akolekar R, Nicolaides KH. Replacing the Combined Test by Cell-Free DNA Testing in Screening for Trisomies 21, 18 and 13: Impact on the Diagnosis of Other Chromosomal Abnormalities. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2014;35:174–84. doi:10.1159/000358388.

33. Gratacós E, Nicolaides K. Clinical Perspective of Cell-Free DNA Testing for Fetal Aneuploidies. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2014;35:151–5. doi:10.1159/000362940..
34. Yu SC, Chan KC, Zheng YW, Jiang P, Liao GJ, Sun H, *et al.* Size-based molecular diagnostics using plasma DNA for noninvasive prenatal testing. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2014;111:8583–8. doi:10.1073/pnas.1406103111.
35. Nicolaides KH, Syngelaki A, Gil M, Quezada MS, Zinevich Y. Prenatal Detection of Fetal Triploidy from Cell-Free DNA Testing in Maternal Blood. *Fetal Diagnosis and Therapy* 2014;35:212–7. doi:10.1159/000355655.
36. Sonek JD, Cuckle HS. What will be the role of first-trimester ultrasound if cell-free DNA screening for aneuploidy becomes routine? *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* 2014;44:621–30. doi:10.1002/uog.14692.
37. Kazemi M, Salehi M, Kheirollahi M. Down Syndrome: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Cell Med* 2016;5(3):125-133. Review. PubMed PMID: 27942498.