

**Χρόνια πολλά με αγάπη,
υγεία και
γνώση**

<https://www.youtube.com/watch?v=5GM3ea20Vow>

Καταγραφή Προγραμμάτων Αξιολόγησης

ΙΑΤΡΑΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ :: ΜΕΛΟΣ ΔΕΠ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ :: ΤΜΗΜΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ

Σχολή	Τμήμα	Εξάμηνο	Μάθημα	Τρόπος Πραγματοποίησης	Ημερομηνία	Ώρα
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ	ΤΜΗΜΑ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ	1	ΓΕΝΕΤΙΚΗ [M-1040]	ΔΙΑ ΖΩΣΗΣ ΔΙΔΑΣΚΑΛΙΑ	16/01/2023	13:15



ΙΑΤΡΙΚΗ
ΓΕΝΕΤΙΚΗ



ΚΥΗΜΗ
ΥΨΗΛΟΥ
ΚΙΝΔΥΝΟΥ



ZEBEAEKAKHΣ
ΙΑΤΡΙΚΑ ΒΙΟΤΑΞΙΑ ΕΝΔΟΣΤΕ

5. ΕΛΕΥΘΕΡΟ ΕΜΒΡΥΪΚΟ DNA ΣΤΗ ΜΗΤΡΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ

Εμβρυϊκά λεμφοκύτταρα, ερυθροκύτταρα και κύτταρα της τροφοβλάστης υπάρχουν στη μητρική κυκλοφορία και η συλλογή τους, θεωρητικά, θα μπορούσε να εξασφαλίσει την προγεννητική διά-

γνωση χωρίς επεμβατικές τεχνικές (Jibodu 2004, Torricelli & Pescucci 2001)

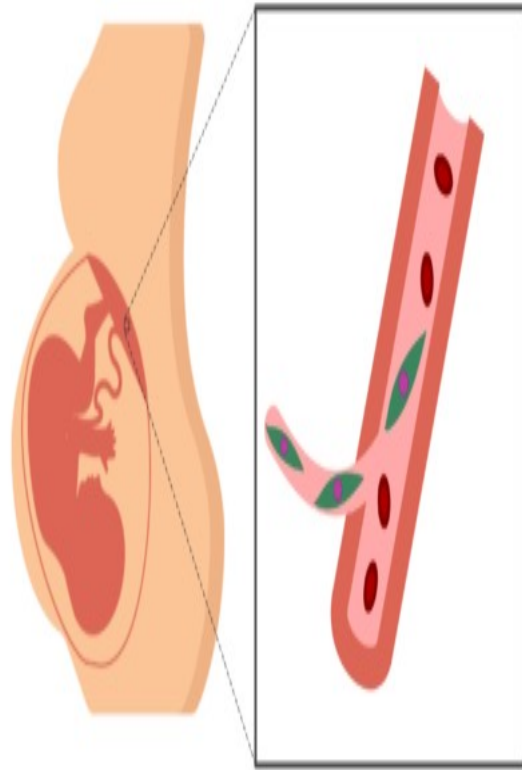


Εικόνα 7.5. Νεογνό με σ. Down.

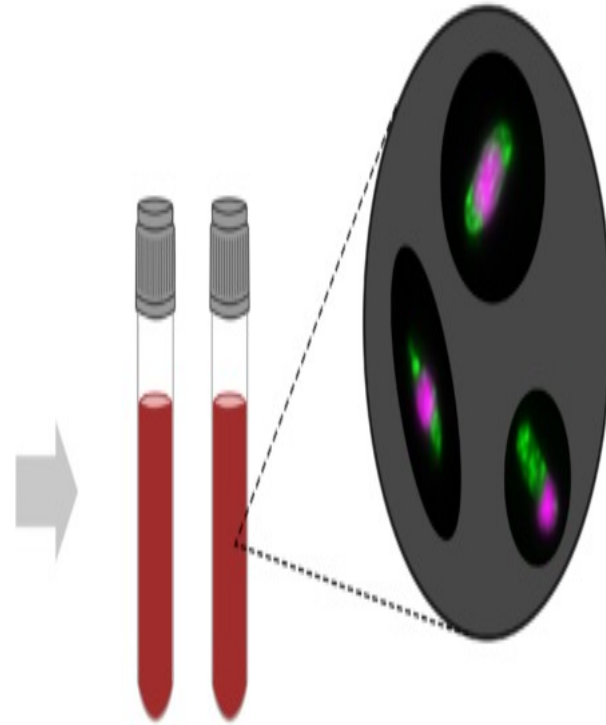
Κυκλοφορία των εμβρυϊκών κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κυήσεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή $<0,1$ mL συνολικού όγκου (Ιατροάκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή εμβρυϊκών και μητρικών κυττάρων, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Prenatal screening for common aneuploidies using cell-free DNA

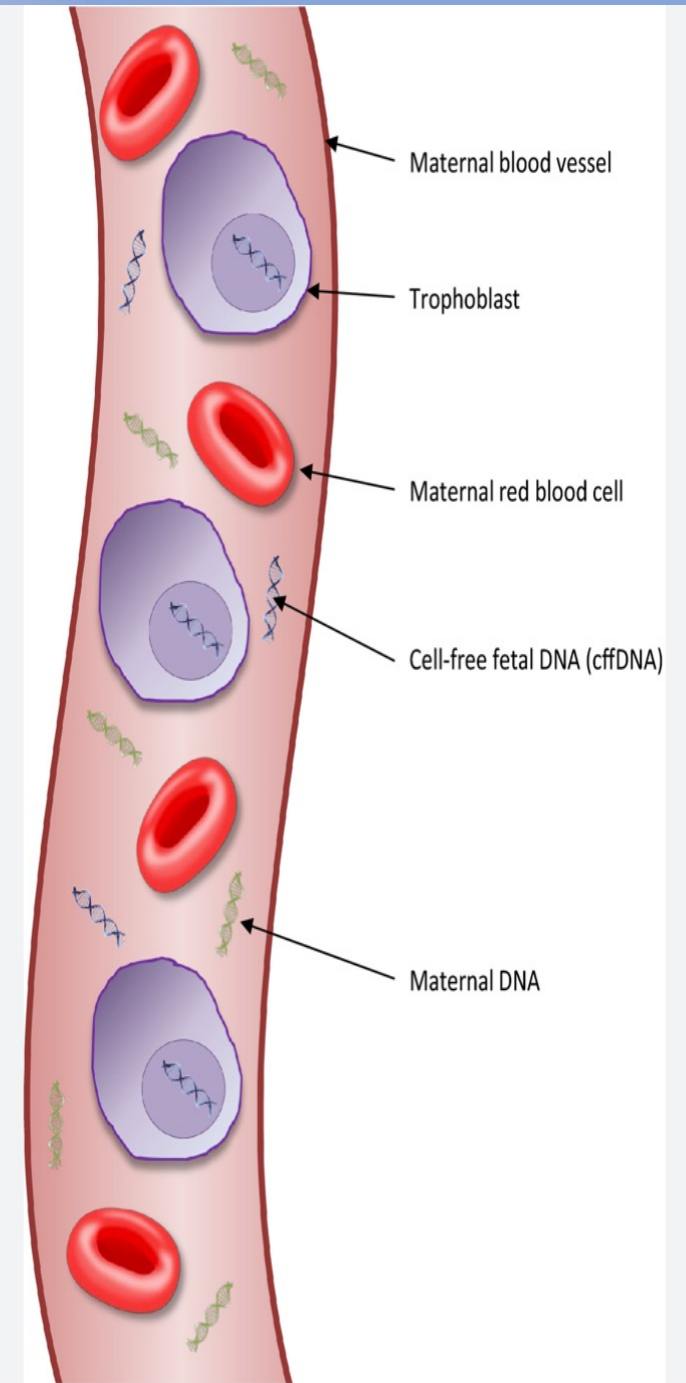
Low fetal fraction may be responsible for up to 50 percent of all failures, depending on methodology.



Fetal cells enter in the maternal blood stream



With non-invasive maternal blood draw, fetal cells can be analyzed for aneuploidies detected



Κυκλοφορία των εμβρυϊκών κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κυήσεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή <0,1 mL συνολικού όγκου (Ιατροάκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή εμβρυϊκών και μητρικών κυττάρων, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Αντίθετα, το ελεύθερο εμβρυϊκό DNA (cell free DNA-cfDNA) μέσα στη μητρική κυκλοφορία αποτελεί μια ιδανική πηγή (εμβρυϊκού) γενετικού υλικού για μη επεμβατική προγεννητική διάγνωση.

Κυκλοφορία των εμβρυϊκών κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κύσεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή <0,1 mL συνολικού όγκου (Ιατράκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή εμβρυϊκών και μητρικών κυττάρων, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Το cfDNA είναι ιδιαίτερα κατακερματισμένο και κάθε τμήμα του αποτελείται από 50-200 ζεύγη βάσεων (το συνολικό μήκος του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι >3.000.000.000 ζεύγη βάσεων). Τα κατακερματισμένα τμήματα DNA που προέρχονται από τη μητέρα είναι ελαφρά μεγαλύτερα από εκείνα που προέρχονται από το έμβρυο και αυτό βοηθάει στον διαχωρισμό τους.

Κυκλοφορία των εμβρυϊκών κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κύησεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή $<0,1$ mL συνολικού όγκου (Ιατροάκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή εμβρυϊκών και **μητρικών κυττάρων**, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Σε ευπλοειδικές μη έγκυες **γυναίκες**, το 1,3% περίπου των θραυσμάτων (ΘΜ) του cfDNA προέρχονται από το χρωμόσωμα (ΧΜ) 21 (αφού αυτό περιέχει το 1,3% περίπου του ανθρώπινου γονιδιώματος). Στην κύηση, σε ευπλοειδία της **μητέρας** και του εμβρύου, το αναμενόμενο ποσοστό των ΘΜ του ΧΜ 21 παραμένει στο 1,3%.

Κυκλοφορία των **εμβρυϊκών** κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κύησεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή $<0,1$ mL συνολικού όγκου (Ιατροάκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή **εμβρυϊκών** και μητρικών κυττάρων, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Αν το **έμβρυο** έχει 3 ΧΜ 21, το ποσοστό των ΘΜ του ΧΜ 21 θα είναι ελαφρά μεγαλύτερο, κάτι που εξαρτάται από το εμβρυϊκό κλάσμα. Έτσι, για παράδειγμα, αν το **έμβρυο** έχει τρισωμία 21 και το κλάσμα του fcfDNA είναι 10%, το αναμενόμενο ποσοστό των ΘΜ του ΧΜ θα είναι 1,365%.

Κυκλοφορία των **εμβρυϊκών** κυττάρων μέσα στη μητρική κυκλοφορία συμβαίνει σε όλες τις κύησεις, αλλά είναι συνήθως ελάχιστη, δηλαδή $<0,1$ mL συνολικού όγκου (Ιατροάκης 2011). Εμπόδιο στην εφαρμογή της μεθόδου υπήρξε η ταυτόχρονη συλλογή **εμβρυϊκών** και μητρικών κυττάρων, που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένη διάγνωση. Επίσης, στη μητρική κυκλοφορία, θα μπορούσε να υπάρχουν εμβρυϊκά κύτταρα από προηγούμενη κύηση.

Φυσικά, αν το κλάσμα του **fcfDNA** είναι μεγαλύτερο, η αύξηση των ΘΜ του XM 21 θα είναι μεγαλύτερη, και η σχετική ανίχνευση θα είναι ευκολότερη. Αντίθετα, αν το κλάσμα του **fcfDNA** είναι μικρότερο, η αύξηση των ΘΜ του XM 21 θα είναι μικρότερη, και η σχετική ανίχνευση θα είναι δυσκολότερη.

Since the fetus and the placenta originate from a single fertilized egg, they are usually genetically identical, but differences between the placenta and fetus are important sources of discordant cfDNA test results (eg, confined placental mosaicism).

Με δεδομένο ότι το έμβρυο και ο πλακούντας προέρχονται από το ίδιο γονιμοποιημένο ωάριο, συνήθως, είναι γενετικά ταυτόσημοι. Στις σπάνιες περιπτώσεις, που το έμβρυο και ο πλακούντας διαφέρουν γενετικά, τα ευρήματα από τον πλακούντα δεν θα ανταποκρίνονται σε εκείνα του εμβρύου.

Η μέθοδος έχει τη δυνατότητα «αλληλούχισης» του DNA και κατ' επέκταση αποκωδικοποίησης του ανθρώπινου γονιδιώματος, δηλ. της αλληλουχίας των γονιδίων (αλληλούχιση επόμενης γενιάς/Next Generation Sequencing – NGS)

> [Transfus Med Hemother](#). 2020 Feb;47(1):45-53. doi: 10.1159/000505464. Epub 2020 Jan 16.

Next Generation Sequencing-Based Fetal ABO Blood Group Prediction by Analysis of Cell-Free DNA from Maternal Plasma

Klaus Rieneck ¹, Christoffer Egeberg Hother ¹, Frederik Banch Clausen ¹,

Observational Study

> [BJOG](#). 2015 Nov;122(12):1682-6. doi: 10.1111/1471-0528.13055.

Epub 2014 Aug 21.

Use of cffDNA to avoid administration of anti-D to pregnant women when the fetus is RhD-negative: implementation in the NHS

P W Soothill ¹, K Finning ², T Latham ², T Wreford-Bush ³, J Ford ¹, G Daniels ²

**Prenatal
screening for
common
aneuploidies
using cell-free
DNA (Palomaki
et al. UpToDate
2022)**

**Η μέθοδος, ακόμα και
σήμερα, θεωρείται ως
μέθοδος screening λόγω
των σπάνιων
περιπτώσεων ψευδώς
θετικών και ψευδώς
αρνητικών
αποτελεσμάτων
(Palomaki et al 2018).**

Έτσι, σε διαπίστωση ανευπλοειδίας από το fcfDNA (cffDNA), πρέπει να ακολουθήσει δειγματοληψία χοριακών λαχνών ή **αμνιοπαράκέντηση** και καρυότυπος. Εννοείται ότι η σύσταση αυτή ισχύει ιδιαίτερα για τις γυναίκες που θα επέλεγαν τερματισμό της κύησης μετά από επιβεβαίωση της ανευπλοειδίας με τη διαγνωστική μέθοδο.

An invasive procedure (amniocentesis or **chorionic villus sampling**) and subsequent karyotyping or microarray analysis are considered the gold standard **diagnostic** tests and should be offered to patients who are **screen positive by cfDNA testing**.

On **transvaginal** ultrasonography, urine is observed at **9 weeks** in the fetal bladder, and on **transabdominal** sonography, urine is seen at **11 weeks** of gestation. **During this period, the major component of the amniotic fluid is fetal urine.** It is hypotonic, and as the fetal kidneys mature, they contain increased concentrations of **urea** and **creatinine**.

Fetal-placental cfDNA can be detected in maternal blood as early as five weeks of gestation and almost always by **9 weeks** of gestation

Η ποσότητα του cffDNA αυξάνεται με την πρόοδο της κύησης (μπορεί να ανιχνευτεί από την **5η εβδομάδα** της κύησης [ΕΚ] και σχεδόν πάντα από την **9η ΕΚ**).

Fetal-placental cfDNA can be detected in maternal blood as early as **five weeks** of gestation and almost always by **9 weeks** of gestation

Έτσι, τα περισσότερα εργαστήρια, κάνουν την εξέταση σε κυήσεις ≥ 10 ΕΚ για να εξασφαλιστεί ότι υπάρχει αρκετό κλάσμα fcfDNA (π.χ. τουλάχιστον 3 έως 4% του συνολικού cfDNA).

Verifi and **Verifi Plus** Prenatal Tests safely and noninvasively screen for the most common chromosomal aneuploidies as early as **10 weeks gestation** using a single maternal blood draw.

Έτσι, τα περισσότερα εργαστήρια, κάνουν την εξέταση σε κυήσεις ≥ 10 ΕΚ για να εξασφαλιστεί ότι υπάρχει αρκετό κλάσμα fcfDNA (cffDNA), π.χ. τουλάχιστον **3 έως 4% του συνολικού cfDNA.**

An adequate amount of fetal-placental cfDNA must be present to obtain a reliable cfDNA screening result. In general, a minimum of **3 to 4 percent of the total circulating cfDNA** should be derived from the fetal-placental unit for successful testing.

Η σχετική συγκέντρωση (ΣΣ) του fcfDNA αυξάνεται σχετικά αργά από τη **10η** έως την 20ή **ΕΚ** (με εβδομαδιαία αύξηση 0,1%) και γρήγορα μετά την 20ή ΕΚ μέχρι το τέλος της κύησης (με εβδομαδιαία αύξηση 1%). Σε κυήσεις 10-20 ΕΚ με ευπλοειδικό έμβρυο, η μέση τιμή του ποσοστού (ΜΤΠ) του cffDNA είναι περίπου 13%, που μπορεί να φτάσει στο 50% στο τέλος της (φυσιολογικής) κύησης.

Verifi and **Verifi Plus** Prenatal Tests safely and noninvasively screen for the most common chromosomal aneuploidies as early as **10 weeks gestation** using a single maternal blood draw.

Η σχετική συγκέντρωση (ΣΣ) του fcfDNA αυξάνεται σχετικά αργά από τη 10η έως την 20ή ΕΚ (με εβδομαδιαία αύξηση 0,1%) και γρήγορα μετά την 20ή ΕΚ μέχρι το τέλος της κύησης (με εβδομαδιαία αύξηση 1%).

The relative concentration of fetal cfDNA increases modestly (**0.1 percent per week**) with gestational age from 10 to approximately 20 weeks and then increases rapidly (**1 percent per week**) until term

Το ποσοστό αυτό είναι μικρότερο σε κυήσεις μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση και μετά από χρησιμοποίηση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους πριν από τις 20 ΕΚ.

increasing data show that the fetal fraction is lower and the test failure rate is approximately two or three times higher for IVF pregnancies compared with naturally conceived pregnancies

Το ποσοστό αυτό είναι μικρότερο σε κυήσεις μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση και μετά από χρησιμοποίηση ηπαρίνης χαμηλού μοριακού βάρους πριν από τις 20 ΕΚ.

Maternal plasma must contain an adequate amount of fetal cfDNA to obtain a reliable test result. Several factors can reduce the fetal fraction, which can lead to an assay failure (a report of "no result"): screening before 10 weeks of gestation, ...as well as maternal use of low molecular weight heparin,...

Φαίνεται ότι σε έμβρυα με σύνδρομο Turner και σε εκείνα με τρισωμία 13, η μέση τιμή του ποσοστού του cffDNA είναι χαμηλότερη από εκείνη των κυήσεων με ευπλοειδικά έμβρυα.

It appears that the fetal fractions in both trisomy 13 and Turner syndrome are also lower than in euploid fetuses.

**Σε τριπλοειδικά
έμβρυα,
παρατηρείται
εξαιρετικά
χαμηλή μέση
τιμή του
ποσοστού του
fcfDNA.**

**Triploid fetuses have
extremely low fetal
fractions**

...**ανευπλοειδίες** (όπου ο αριθμός των χρωμοσωμάτων δεν είναι ακριβές **πολλαπλάσιο του απλοειδούς**), με χαρακτηριστικά παραδείγματα, τις τρισωμίες (π.χ. 21, 18, 13) ή μονοσωμίες (π.χ. XO/σύνδρομο Turner).

5η έκδοση

ISBN: 978-618-84118-3-8

© 2020

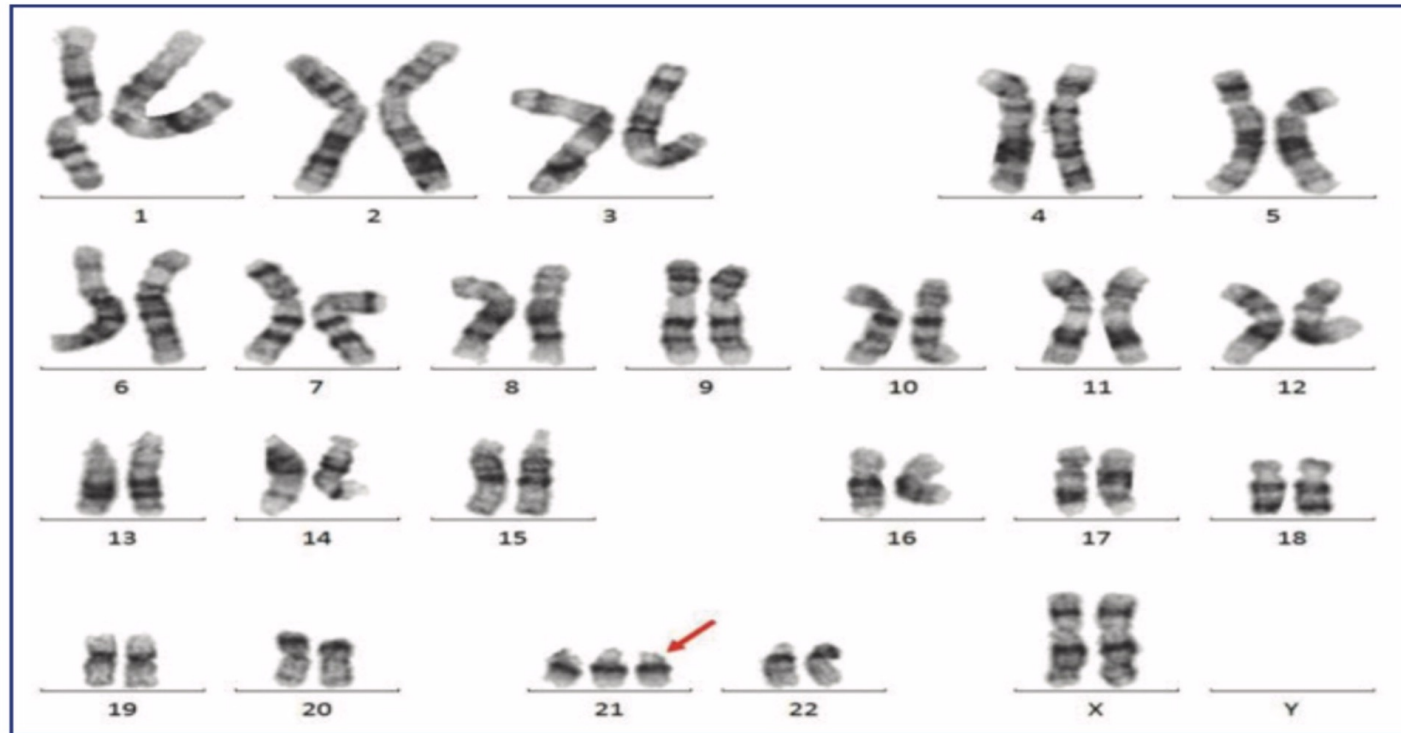
Γ. Μ. Ιατρούκης

Εκδόσεις **Desmos Digital**

Ε. Γιάνναρη 5 118 53

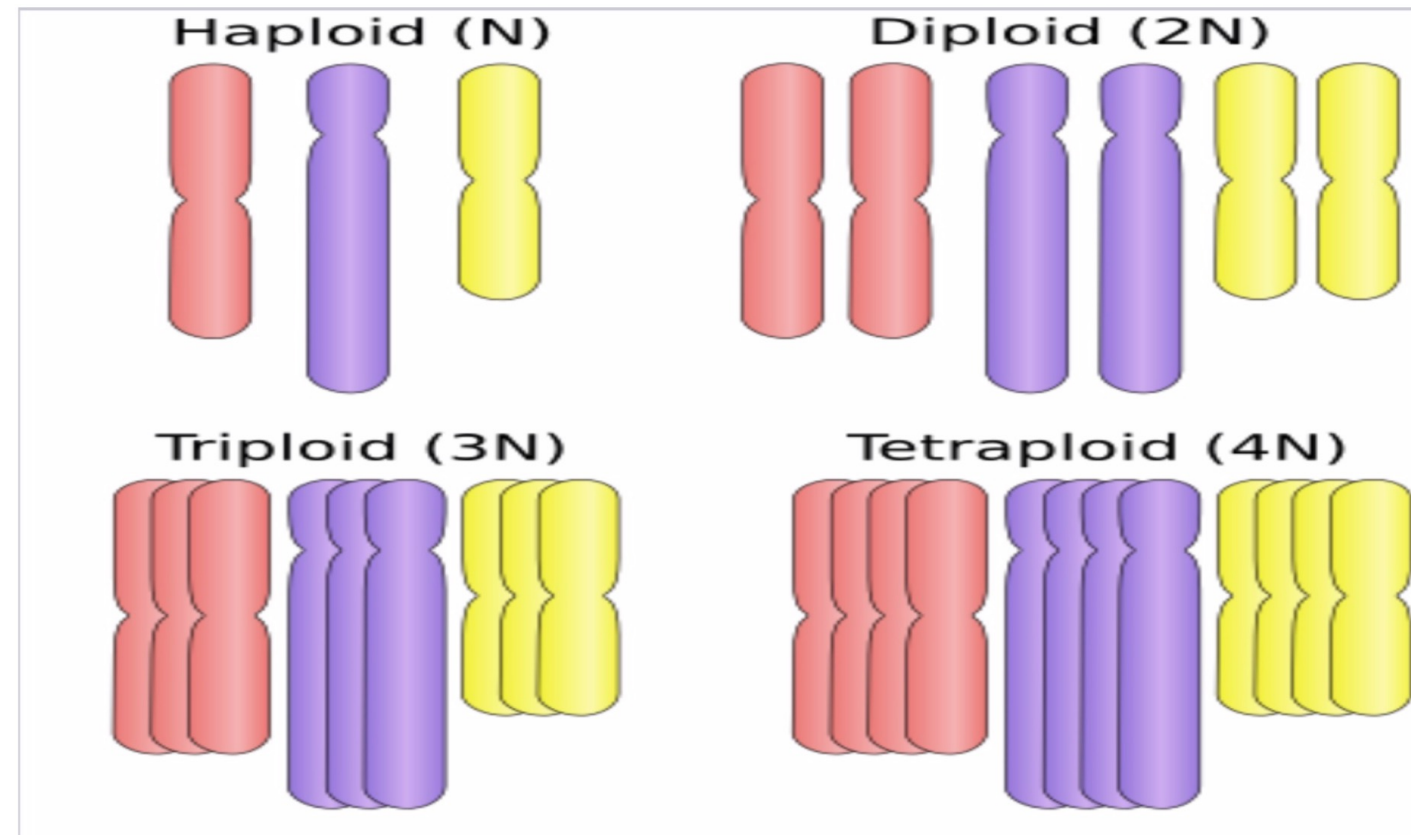
ΑΘΗΝΑ

Aneuploidy — *The state of having an abnormal number of chromosomes* (ακριβές;* [βλέπε επόμενη διαφάνεια]). An euploid human karyotype has 46 chromosomes. Aneuploidy can affect the entire somatic cell population, as in trisomy 21, or it can affect a subset of cells, as in a tumor. UpToDate 2022



*Διαφορετικές έννοιες

Polyploidy is a condition in which the cells of an organism have more than one pair of (homologous) chromosomes.



...**ανευπλοειδίες** (όπου ο αριθμός των χρωμοσωμάτων δεν είναι ακριβές πολλαπλάσιο του απλοειδούς), με χαρακτηριστικά παραδείγματα, τις τρισωμίες (π.χ. 21, 18, 13) ή μονοσωμίες (π.χ. XO/σύνδρομο Turner).

Όσο αυξάνεται το βάρος της μητέρας, τόσο ελαττώνεται το κλάσμα του εμβρυϊκού cfDNA (cffDNA). Αυτή η αντιστρόφως ανάλογη σχέση έχει αποδοθεί στη διάλυση μιας σχετικά σταθερής ποσότητας fcfDNA στον μεγαλύτερο όγκο μητρικού πλάσματος των παχύσαρκων γυναικών και, επίσης, σε αύξηση της συγκέντρωσης του μητρικού cfDNA καθώς το βάρος της μητέρας αυξάνεται (ενδεχομένως, λόγω χρόνιας φλεγμονής

Patients weighing over 81 kg can be informed that their chance of having an initial cfDNA test failure is three or four times higher than lower weight patients. Even if the test is successful, the chance of a false-negative result is also higher. Both of these limitations are due to lower fetal fraction. UpToDate 2022

Όσο αυξάνεται το βάρος της μητέρας, τόσο ελαττώνεται το κλάσμα του εμβρυϊκού cfDNA (cffDNA). Αυτή η αντιστρόφως ανάλογη σχέση έχει αποδοθεί στη διάλυση μιας σχετικά σταθερής ποσότητας fcfDNA στον μεγαλύτερο όγκο μητρικού πλάσματος των παχύσαρκων γυναικών και, επίσης, σε αύξηση της συγκέντρωσης του μητρικού cfDNA καθώς το βάρος της μητέρας αυξάνεται (ενδεχομένως, λόγω χρόνιας φλεγμονής)

The increase in maternally derived cfDNA in patients with obesity may also be due to chronic inflammation. UpToDate 2022

Χαρακτηριστικά, χαμηλή σχετική συγκέντρωση (ΣΣ) βρέθηκε μόνο στο 0,2% των γυναικών βάρους <60 kg ενώ σε γυναίκες βάρους >110 kg, χαμηλή ΣΣ βρέθηκε σε >10% των περιπτώσεων (Canick et al 2013). **Προς το παρόν, δεν έχει επιτευχθεί η ακριβής μαθηματική διόρθωση του αποτελέσματος ανάλογα με το βάρος της μητέρας.**

...the laboratory is not able to mathematically adjust the result to correct for maternal weight. UpToDate 2022

Σε κάθε περίπτωση, πρέπει να γίνει σωστή συλλογή και φύλαξη του δείγματος με κατάλληλη σταθεροποίηση του DNA. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένας ειδικός σωλήνας συλλογής DNA για τη σταθεροποίηση του δείγματος για μέχρι 5 ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου (χωρίς να ψυχθεί ή να καταψυχθεί μέχρι την εξέταση).

A special cfDNA collection tube that stabilizes the sample for up to five days at room temperature can be used. These tubes should not be refrigerated or frozen.
UpToDate
2022



Εναλλακτικά, το δείγμα μπορεί να συλλεγεί σε σωλήνα με μωβ επικάλυμμα (EDTA) και να φυγοκεντρηθεί μέσα στις επόμενες 6 ώρες. Το πλάσμα που προκύπτει με αυτόν τον τρόπο μπορεί να διατηρηθεί σταθερό σε θερμοκρασία -80°C (Palomaki et al 2018).

The sample could be collected in a purple top (EDTA) tube and centrifuged within six hours; the resulting plasma is stable with -80°C freezer storage.



Non-Invasive Prenatal Testing

The term “**Non-Invasive Prenatal Testing**” is nonspecific, as conventional serum screening tests (second-trimester quadruple test or first-trimester combined test) are also **Non-Invasive**



Non-Invasive Prenatal Testing

The term “**Non-Invasive Prenatal Testing**” is nonspecific, as conventional serum screening tests (**second-trimester quadruple test** or **first-trimester combined test**) are also **Non-Invasive**

Quad screen (**second-trimester prenatal screening**) Medically reviewed by Layan Alrahmani, M.D., Ob-gyn, maternal-fetal medicine specialist | June 12, 2020

Alpha-fetoprotein (AFP), Human chorionic gonadotropin (hCG), Unconjugated estriol (uE3), Inhibin A

Low AFP, low estriol, **high hCG**, and high inhibin A are **associated with a higher risk for Down syndrome.**

You may be told that your results are "normal" or "abnormal" for a particular condition, depending on whether the ratio is below or above a certain cut-off. For example, some genetic **screening** tests use a cut-off of **1 in 250**. So, a result of 1 in 1,200 would be considered normal because the risk that there's a problem is lower than **1 in 250**, and 1 in 100 would be considered abnormal because that risk is higher than **1 in 250**.



The term “**Non-Invasive Prenatal Testing**” is nonspecific, as conventional serum screening tests (second-trimester quadruple test or **first-trimester combined test**) are also **Non-Invasive**

Increased levels of hCG & Decreased levels of PAPP-A are associated with an increased risk for Down syndrome.

First-trimester combined test — The combined test includes both **sonographic determination of nuchal translucency** and determination of biochemical markers associated with aneuploidy:

1. **Pregnancy-Associated Plasma Protein-A (PAPP-A) and**
2. **Free-beta hCG.** In most patients, both ultrasound and biochemical marker screening are performed at **11+0 to**



First-trimester combined test — The combined test includes both **sonographic determination of nuchal translucency** (median NT thickness for GA **<1.1 mm**, **1.2 mm**, and **>1.3 mm** for gestational age of

11 weeks, **12 weeks**, and **13 weeks**)

and determination of biochemical markers associated with aneuploidy:

1. **Pregnancy-Associated Plasma Protein-A (PAPP-A) and**
2. **Free-beta hCG**. In most patients, both ultrasound and biochemical marker screening are performed at **11+0 to 13+6 weeks** of gestation.





**First-trimester
combined test**

**Increased levels of
hCG**

**Decreased levels of
PAPP-A**

**are associated with
an increased risk
for Down
syndrome.**

**Second-trimester
prenatal screening**

**Increased levels of
hCG**

**Decreased levels of
AFP**

**are associated with
an increased risk
for Down
syndrome.**

Σημειώνεται ότι ακόμα και ένας μικρός αριθμός εκφυλισθέντων λευκών αιμοσφαιρίων από το αίμα της μητέρας θα προκαλέσει μεγάλη «αραίωση» του δείγματος.

**...a small number of degraded white blood cells from the mother's blood will greatly reduce the fetal fraction.
UpToDate 2022**

Οι σωλίνες πρέπει να έχουν επαρκή ποσότητα για εξέταση διότι, σε αντίθετη περίπτωση, μπορεί να μην είναι δυνατή η απάντηση του εργαστηρίου λόγω ανεπαρκούς ποσότητας cfDNA. Ενδεικτικά, το εργαστήριο μπορεί να μη δεχτεί «μισογεμάτους» σωλίνες.

**An incomplete sample draw (eg, half-filled tubes) may be rejected by the laboratory or may result in a higher likelihood of test failure due to insufficient plasma volume for testing of fetal cfDNA.
UpToDate 2022**





Dr. Fritz Fuchs was an obstetrician and gynecologist who, along with his colleague, Povl Riis, was the first to use amniocentesis for detecting the **sex of a fetus** in Denmark in **1955**.

Since the **1960s**, there have been numerous attempts to use fetal nucleated cells that have entered into maternal blood for prenatal testing. However, the rarity of such cells has impeded this approach from becoming a clinical reality.



Dr. Fritz Fuchs was an obstetrician and gynecologist who, along with his colleague, Povl Riis, was the first to use amniocentesis for detecting the **sex of a fetus** in Denmark in **1955**.

Screen for:

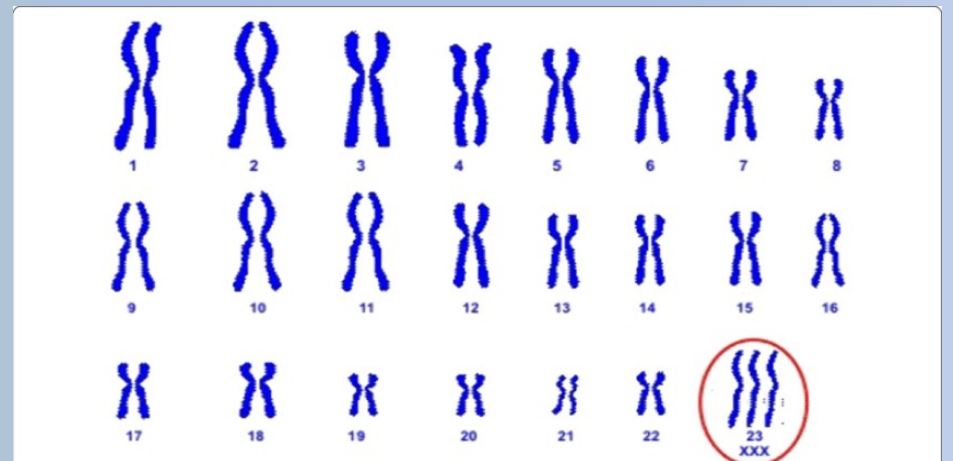
...

Fetal **sex** aneuploidies

Available Optional Add-On Offerings Include:

Sex chromosome aneuploidies

- Monosomy X (Turner syndrome)
- XXX (Triple X)





Dr. Fritz Fuchs was an obstetrician and gynecologist who, along with his colleague, Povl Riis, was the first to use amniocentesis for detecting the **sex of a fetus** in Denmark in **1955**.

Screen for:

Fetal **sex** aneuploidies

Available Optional Add-On

Offerings Include:

Sex chromosome aneuploidies

- Monosomy X (Turner syndrome)
- XXX (Triple X)
- XXY (Klinefelter syndrome)





Dr. Fritz Fuchs was an obstetrician and gynecologist who, along with his colleague, Povl Riis, was the first to use amniocentesis for detecting the **sex of a fetus** in Denmark in **1955**.

Screen for:

Fetal **sex** aneuploidies

Available Optional Add-On

Offerings Include:

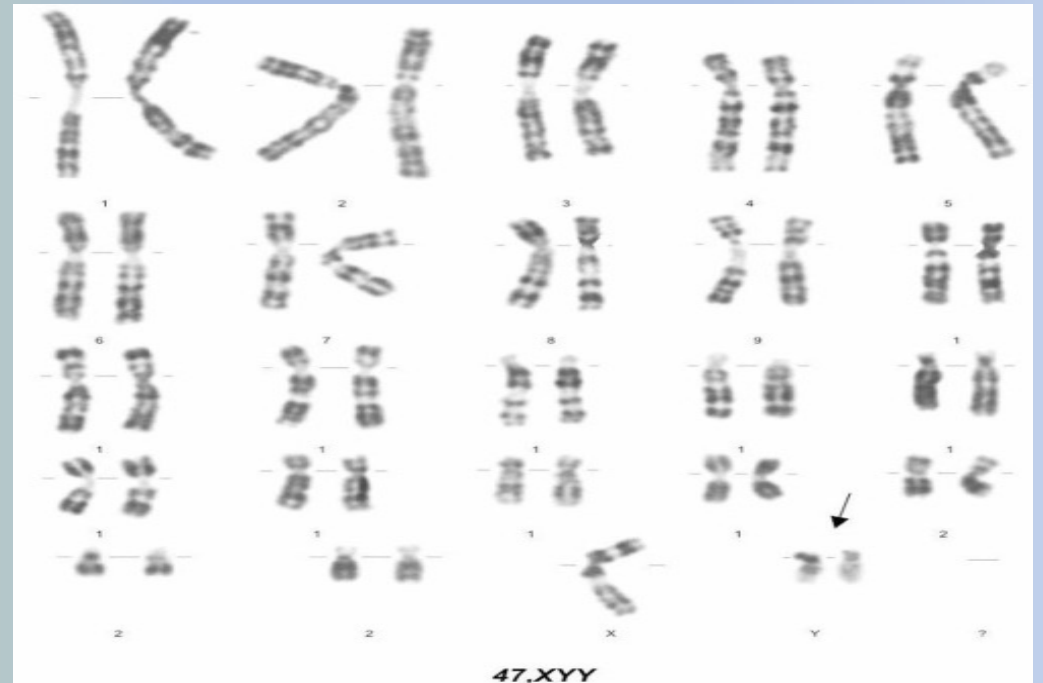
Sex chromosome aneuploidies

-Monosomy X (Turner syndrome)

-XXX (Triple X)

-XXY (Klinefelter syndrome)

-XYY





Dr. Fritz Fuchs was an obstetrician and gynecologist who, along with his colleague, Povl Riis, was the first to use amniocentesis for detecting the **sex of a fetus** in Denmark in **1955**.

cfDNA

For disorders where definitive diagnosis is unlikely to affect continuation of pregnancy or pregnancy management (eg, **sex chromosome aneuploidy**), the parental choice to delay diagnostic testing until after delivery, or even later, is also reasonable.



Antenatal Sex Determination

FOR thousands of years people have had a desire to know the sex of an expected child. Many methods have been tried for antenatal sex determination; but even modern ones, based upon scientific hypotheses, have failed to receive sufficient confirmation for general acceptance.

Although transabdominal puncture of the uterus has been carried out often for therapeutic and experimental reasons without accidents, mere curiosity does not justify the procedure, and its practical value is probably limited in the human. If the results are confirmed in animals, however, it might become of great significance in veterinary practice.

FRITZ FUCHS

POVL RIIS

Because **cell-free tumor DNA has been detected in the plasma** of patients with cancer, and because there are similarities between a tumor and the placenta implanted and growing inside the uterus, our research group found **cell-free fetal DNA in the plasma** and serum of pregnant women

Discovery of Cell-Free Fetal DNA in Maternal Blood and Development of Noninvasive Prenatal Testing

2022 Lasker-DeBakey Clinical Medical Research Award

Y. M. Dennis Lo, DM, DPhil¹

[» Author Affiliations](#) | [Article Information](#)

JAMA. 2022;328(13):1293-1294. doi:10.1001/jama.2022.14982

Η επέμβαση γίνεται **μεταξύ της 15ης** και 17ης εβδομάδας της κύησης, και σε αυτή την ηλικία κύησης, το αμνιακό υγρό παρέχει το κατάλληλο υλικό για κυτταρογενετικές, βιοχημικές και ενζυματικές εξετάσεις του εμβρύου.

Fetal cfDNA comprises approximately 11 to 13 percent of the total cfDNA in the maternal circulation in the late first and **early second trimesters** when prenatal screening is typically performed

the amniotic fluid
contains more
than 200,000
cells/mL at **16**
weeks of
gestation

The relative
concentration of fetal
cfDNA increases
modestly (0.1 percent
per week) with
gestational age from **10**
to approximately 20
weeks and then
increases rapidly (1
percent per week) until
term

Η ΑΚ στην πράξη γίνεται και σε μεγαλύτερες ηλικίες κύησης (έως τις 20 εβδομάδες, ή ακόμα μεταγενέστερα!). Σημειώνεται ότι η ΑΚ είναι εφικτή από τις **11 εβδομάδες της κύησης**, αλλά η επέμβαση συστήνεται στις **15-17** εβδομάδες. Έτσι, αν και είναι **τεχνικά δυνατό η αμνιοπαρακέντηση να γίνει σε μικρότερες ηλικίες κύησης**, αυτό γενικά αποφεύγεται διότι σχετίζεται με **μεγαλύτερη συχνότητα αποτυχίας της κυτταρικής καλλιέργειας** και μεγαλύτερη συχνότητα αποβολών και νεογνικής αναπνευστικής δυσχέρειας (Baker 2006).

The fetal fraction is substantially lower prior to 10 weeks of gestation, so most laboratories require that patients wait until at least 10 weeks of gestation to help ensure an adequate fetal fraction for testing.

Only a small number of the floating cells (average 4 cells/mL of fluid) are capable of attaching to a culture substrate and yielding colonies. Cells derived from amniotic fluid **before 15 weeks** and at 24 to 32 weeks show a **significant decline in cloning efficiency**

Appropriate sample collection and fragmented cfDNA stabilization are important to preserve the fetal fraction since a small number of degraded white blood cells from the mother's blood **will greatly reduce the fetal fraction.**

Σκοπός της ΑΚ είναι η λήψη εμβρυϊκών κυττάρων που **αποφολιδώνονται από τα διάφορα συστήματα του εμβρύου (ουροποιητικό, γαστρεντερικό, αναπνευστικό), το δέρμα του και το άμνιο (εμβρυϊκής προέλευσης).**

Circulating cfDNA is **derived from both the mother and the fetal-placental unit**

Testing

Indications:

- Advanced maternal age (> 35 years)
- Positive serum screen
- Abnormal ultrasound
- History suggestive of increased risk for the specified chromosome aneuploidies
- Low risk/maternal anxiety(?)

Verifi Prenatal Test

2022 Illumina

Testing Indications:

- Advanced maternal age (> 35 years)
- Positive serum screen
- Abnormal ultrasound
- History suggestive of increased risk for the specified chromosome aneuploidies
- Low risk/maternal anxiety

Το αμνιακό υγρό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για βιοχημικό ή ενζυματικό έλεγχο του εμβρύου. Τα εμβρυϊκά κύτταρα του αμνιακού υγρού καλλιεργούνται σε κατάλληλο υλικό και ακολουθεί ο χρωμοσωμικός έλεγχος των εμβρυϊκών κυττάρων και ο έλεγχος του εμβρυϊκού DNA. Οι απαντήσεις του χρωμοσωμικού ελέγχου αναμένονται σε χρονικό διάστημα που συνήθως υπερβαίνει **τις 7 ημέρες**, λόγω της βραδείας ανάπτυξης των κυττάρων στο καλλιεργητικό υλικό.

cfDNA: five to **seven days** from sample collection to receipt of final report.
UpToDate
2022

Η μελέτη των κυττάρων του αμνιακού υγρού για έλεγχο χρωμοσωμικών ανωμαλιών και ο έλεγχος συγγενών διαταραχών του μεταβολισμού καταλήγουν σήμερα σε αξιόπιστη διάγνωση σχεδόν στο 100% των περιπτώσεων. Γενικά, η αποτυχία στην καλλιέργεια των κυττάρων είναι κάτω από 1%. Σε εκτέλεση **FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) ή (QF)PCR (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction)** στο υλικό που λαμβάνεται, οι απαντήσεις είναι πολύ γρηγορότερα διαθέσιμες (**στις επόμενες >24 ώρες [rapid]**). Ένα από τα μεγαλύτερα μειονεκτήματα της ΑΚ του δεύτερου τριμήνου είναι ότι το αποτέλεσμα της οριστικής διάγνωσης είναι συνήθως διαθέσιμο μετά την 17-18η εβδομάδα της κύησης.

Overall turnaround time is slightly longer for cfDNA (**five to seven days** from sample collection to receipt of final report) than for serum biochemical marker screening (**one to three days**).

Cases of trisomy 21, 18, 13, triploidies, double trisomies as well as X and Y aneuploidies were correctly diagnosed.

Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR. Assessment on 18 000 consecutive clinical samples 

V. Cirigliano , G. Voglino, M.P. Cañadas, A. Marongiu, M. Ejarque, E. Ordoñez, A. Plaja, M. Massobrio, T. Todros, C. Fuster ... [Show more](#)

Molecular Human Reproduction, Volume 10, Issue 11, November 2004, Pages 839–846,

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is almost 100% accurate. A **rapid test** can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: extra chromosome 21

Edward's syndrome: extra chromosome 18

Patau's syndrome: extra chromosome 13

Overall turnaround time is slightly longer for cfDNA (**five to seven days** from sample collection to receipt of final report) than for serum biochemical marker screening (**one to three days**).



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: extra chromosome 21

Edward's syndrome: extra chromosome 18

Patau's syndrome: extra chromosome 13

Trisomy 21, 18, and 13: cfDNA is the **most sensitive** screening option for these aneuploidies. UpToDate 2022

Verifi Prenatal Test

Screens for:

Trisomy 21 (Down syndrome)

Trisomy 18 (Edwards syndrome)

Trisomy 13 (Patau syndrome)



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

**Trisomy 21 –
DR 99.5%**

Το verifi® ανιχνεύει τρισωμία (τ.) 21, τ. 18, τ. 13, τ. 9, τ. 16, μονοσωμία X, τ. X, το σύνδρομο Klinefelter (XXY) και τη διαταραχή XYY. Τέλος, ανιχνεύει το φύλο (XX ή XY). Υποστηρίχτηκε ότι η ευαισθησία του τεστ για την ανίχνευση της τ. 21 και της τ. 18 και είναι >99% και <98% αντίστοιχα ενώ η ειδικότητα του τεστ είναι >99%.



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

**Trisomy 21 –
DR 99.5%**

The cfDNA test provides excellent performance (at least 99 percent of trisomy 21 pregnancies are detected)



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

**Trisomy 21 –
DR 99.5%**

**The cfDNA test provides excellent performance (with a screen-positive rate of approximately 1 per 1000, 0.1 percent).
UpToDate 2022**



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

**Trisomy 21 –
DR 99.5%**

**However, the
cfDNA is still
considered a
screening test due to
infrequent
false-positive and
false-negative
results.**



NCBI
The National Center for Biotechnology
Information
An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

Trisomy 21 –

DR **99.5%**

However, the cfDNA is still considered a screening test due to infrequent false-positive results.

The cfDNA test has a screen-positive rate of approximately 1 per 1000, 0.1 percent.



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Down's syndrome: **Trisomy 21**

cfDNA

Trisomy 21 –

DR **99.5%**

However, the cfDNA is still considered a screening test due to infrequent false-negative results.

≥99 percent of trisomy 21 pregnancies are detected



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate**. A rapid test can identify some chromosomal conditions that cause physical and mental abnormalities. These are:

Edward's syndrome: **Trisomy 18**

cfDNA

Trisomy 18 –

DR **<98%**

To verifi® ανιχνεύει τρισωμία (τ.) 21, **τ. 18**, τ. 13, τ. 9, τ. 16, μονοσωμία X, τ. X, το σύνδρομο Klinefelter (XXY) και τη διαταραχή XYY. Τέλος, ανιχνεύει το φύλο (XX ή XY). **Υποστηρίχτηκε ότι η ευαισθησία του τεστ για την ανίχνευση της τ. 21, της τ. 18 είναι >99% και <98% αντίστοιχα ενώ η ειδικότητα του τεστ είναι >99%.**



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate.**

cfDNA

A screen-negative result means the fetus is at a reduced risk of having one of the aneuploidies in the test panel, but it does not eliminate the possibility of a fetus with a chromosomal abnormality not targeted by the screening test but detectable with diagnostic testing. Screen-negative patients are not usually offered invasive diagnostic testing.



NCBI

The National Center for Biotechnology

Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

...or postponed until ≥ 15 weeks when amniocentesis can be performed, as analysis of amniocytes is more definitive since it is representative of the fetal genotype rather than the analysis of placental cells

cfDNA

Screen positive — Even with the high performance of cfDNA screening, invasive diagnostic testing must be offered to patients in order to confirm the fetal karyotype. There is some controversy about whether an early gestation cfDNA positive screen should be confirmed by chorionic villus sampling (CVS)...

- **Amniocentesis and diagnostic testing (karyotyping/microarray).**

cfDNA

no result — There is no standard approach. The patient has the following options in this setting:

- **Repeat the cfDNA test after seven days**
- **Standard serum marker or combined serum marker and ultrasound screening, if not already done.**
- **CVS and diagnostic testing (karyotyping/microarray).**

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate.**



cfDNA

Available Optional Offerings Include:
Sex chromosome aneuploidies
Monosomy X (Turner syndrome)

Ωστόσο

Sex chromosome aneuploidies —
The cfDNA DRs for these disorders are lower and FPR rates are higher than for the common autosomal trisomies. In the largest meta-analysis that evaluated cfDNA test performance for sex chromosome aneuploidies, the DR for monosomy X was >90% .

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate.**



cfDNA

**Available Optional Offerings Include:
Sex chromosome aneuploidies
XXX (Triple X)**

Ωστόσο

**Sex chromosome aneuploidies —
The cfDNA DRs for these disorders
are lower and FPR rates are higher
than for the common autosomal
trisomies. In the largest meta-
analysis that evaluated cfDNA test
performance for sex chromosome
aneuploidies, the DR for XXX was
93% .**

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate.**



cfDNA

Available Optional Offerings Include:
Sex chromosome aneuploidies
XXY (Klinefelter syndrome)

Ωστόσο

Sex chromosome aneuploidies — The cfDNA DRs for these disorders are lower and FPR rates are higher than for the common autosomal trisomies. In the largest meta-analysis that evaluated cfDNA test performance for sex chromosome aneuploidies, the DR for XXY was 93%.

Rapid test: A rapid test looks for abnormalities on specific chromosomes. This test is **almost 100% accurate.**



cfDNA

**Available Optional Offerings Include:
Sex chromosome aneuploidies**

XYY

Ωστόσο

**Sex chromosome aneuploidies —
The cfDNA DRs for these disorders
are lower and FPR rates are higher
than for the common autosomal
trisomies. In the largest meta-
analysis that evaluated cfDNA test
performance for sex chromosome
aneuploidies, the DR for XYY was
93% .**

Chromosomal microarray analysis/ανάλυση μικροσυστοιχιών (used for the detection of clinically-significant **microdeletions** [involving **several contiguous genes**] or **microduplications** (**too small to be detected by light microscopy**), with a high sensitivity for **submicroscopic** aberrations/single gene disorders will not be identified using this technology) can detect chromosomal abnormalities in <2% of patients with a normal karyotype and normal ultrasound examination findings. **Chromosomal microarray analysis (for microdeletions or microduplications** can detect chromosomal abnormalities in approximately 6% of the fetuses with normal karyotype and structural abnormalities on ultrasound. Hence, all women opting for invasive prenatal diagnostic testing should be offered **chromosomal microarray analysis (microdeletions or microduplications)**.



NCBI

The National Center for Biotechnology
Information

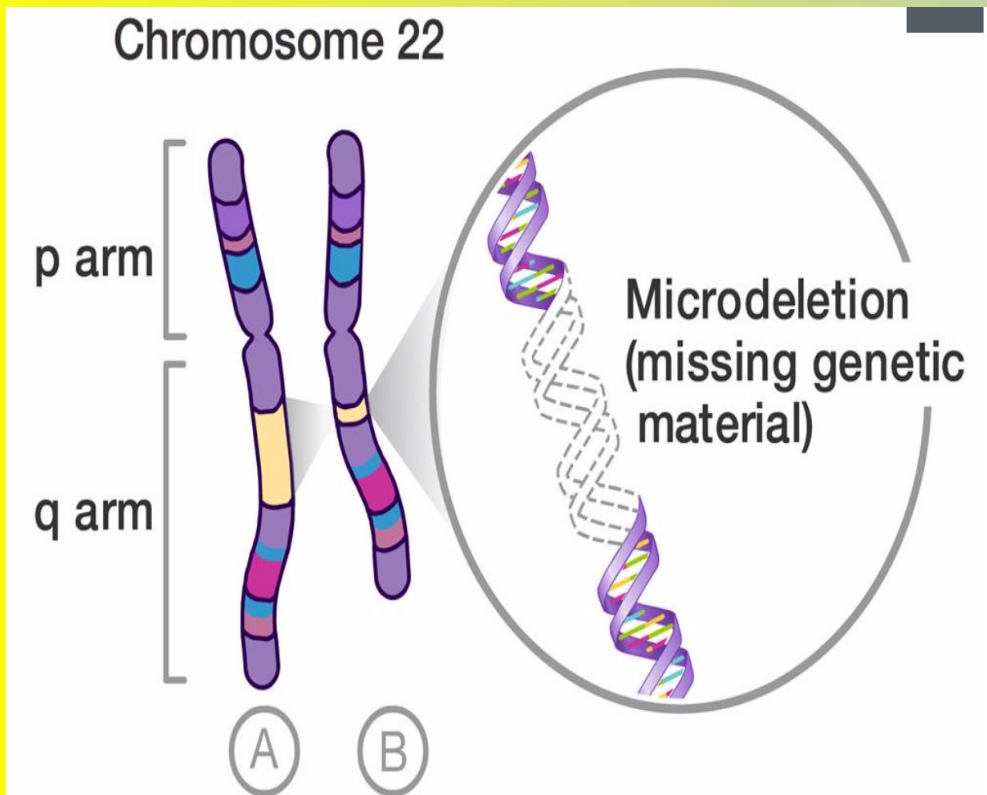
An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Theoretically, cfDNA can be used to screen for genetic disorders other than the common aneuploidies discussed above (eg, other aneuploidies, **microdeletions/microduplications**, single gene disorders). **Currently, none of the professional guidelines recommend routine expanded screening for any of these genetic disorders.** UpToDate 2022

Chromosomal microarray analysis/ανάλυση

μικροσυστοιχιών (used for the detection of clinically-significant microdeletions [involving several contiguous genes])

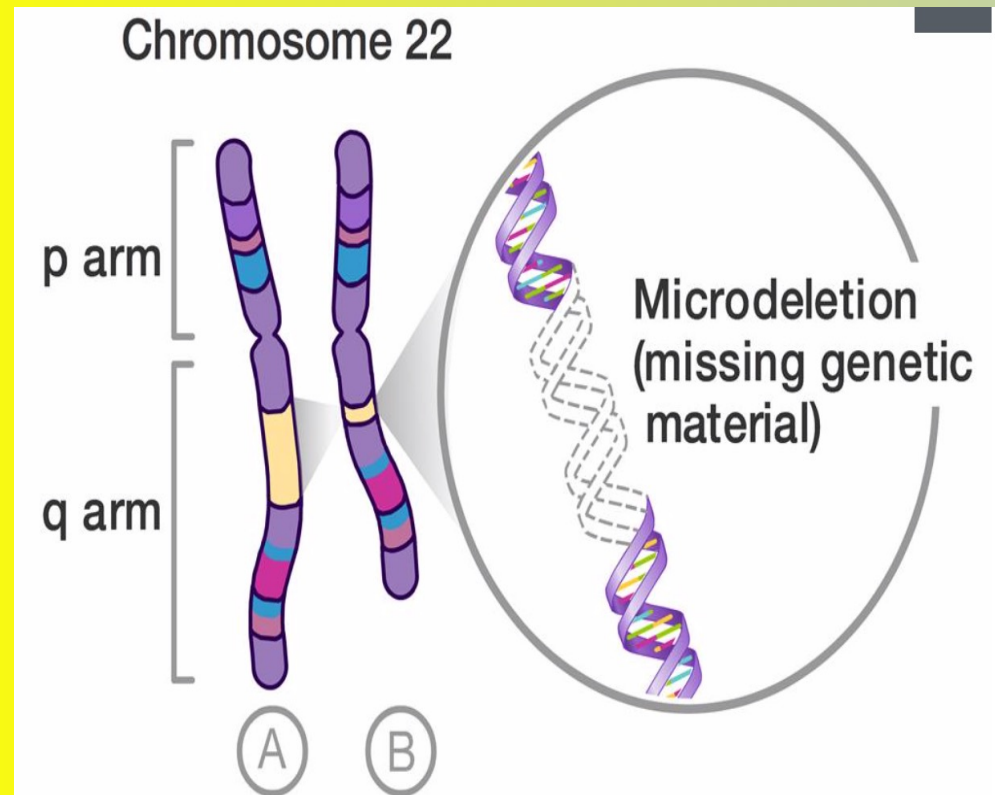


Theoretically, cfDNA can be used to screen for genetic disorders other than the common aneuploidies discussed above (eg, other aneuploidies, microdeletions/microduplications, single gene disorders). **Currently, none of the professional guidelines recommend routine expanded screening for any of these genetic disorders.**

UpToDate 2022

Chromosomal microarray analysis/ανάλυση

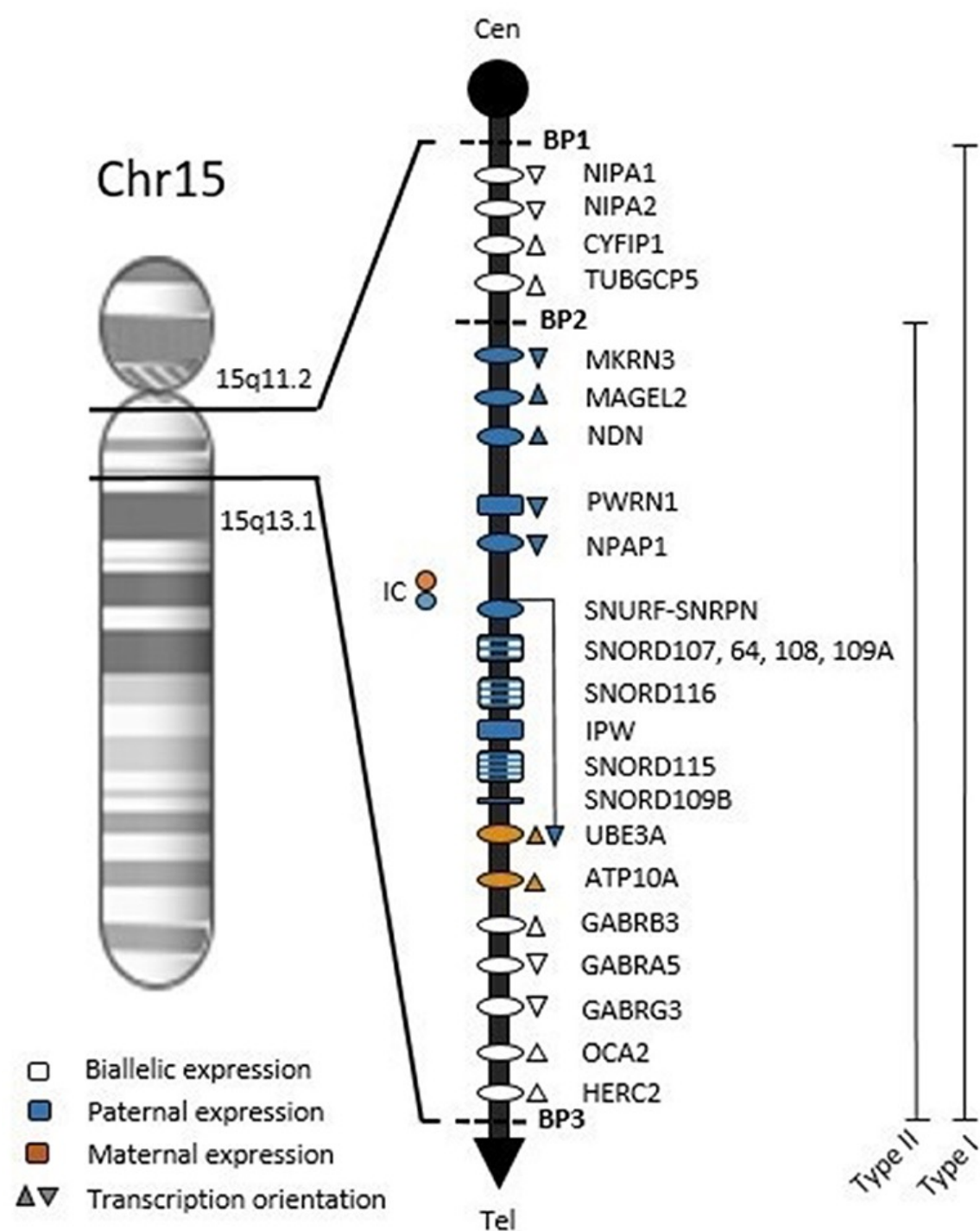
μικροσυστοιχιών (used for the detection of clinically-significant microdeletions [involving several contiguous genes])



Several laboratories offer screening for select **microdeletions**. These include:

- 22q11.2** (DiGeorge syndrome [χρωμόσωμα **22**]),
- 5P** (Cri-du-chat syndrome [a variable portion of the **short arm** of chromosome **5** is missing or deleted]),
- In chromosome 15** (Angelman and Prader-Willi syndromes)

...σύνδρομα που οφείλονται σε μικρά Copy Number Variants (CNVs) όπως DiGeorge, Prader Willi/**Angelman**, κ.λπ.



Ανακαλύφτηκε τη δεκαετία του '60 από τον **Angelman**. Για πολλές δεκαετίες, οι γενετικές αναλύσεις σε άτομα με σύνδρομο Angelman δεν αναδείκνυαν κάποια ανωμαλία στην καταγραφή του γενετικού υλικού. Η χαρτογράφηση του ανθρώπινου γονιδιώματος, ωστόσο, βοήθησε να ανακαλυφθεί μία πολύ μικρής έκτασης «διαγραφή» που σχετίζεται με τη μοριακή δομή του χρωμοσώματος No. 15 (λείπουν πληροφορίες της μοριακής δομής, δηλ. υπάρχει κενό στην καταγραφή του γενετικού υλικού).

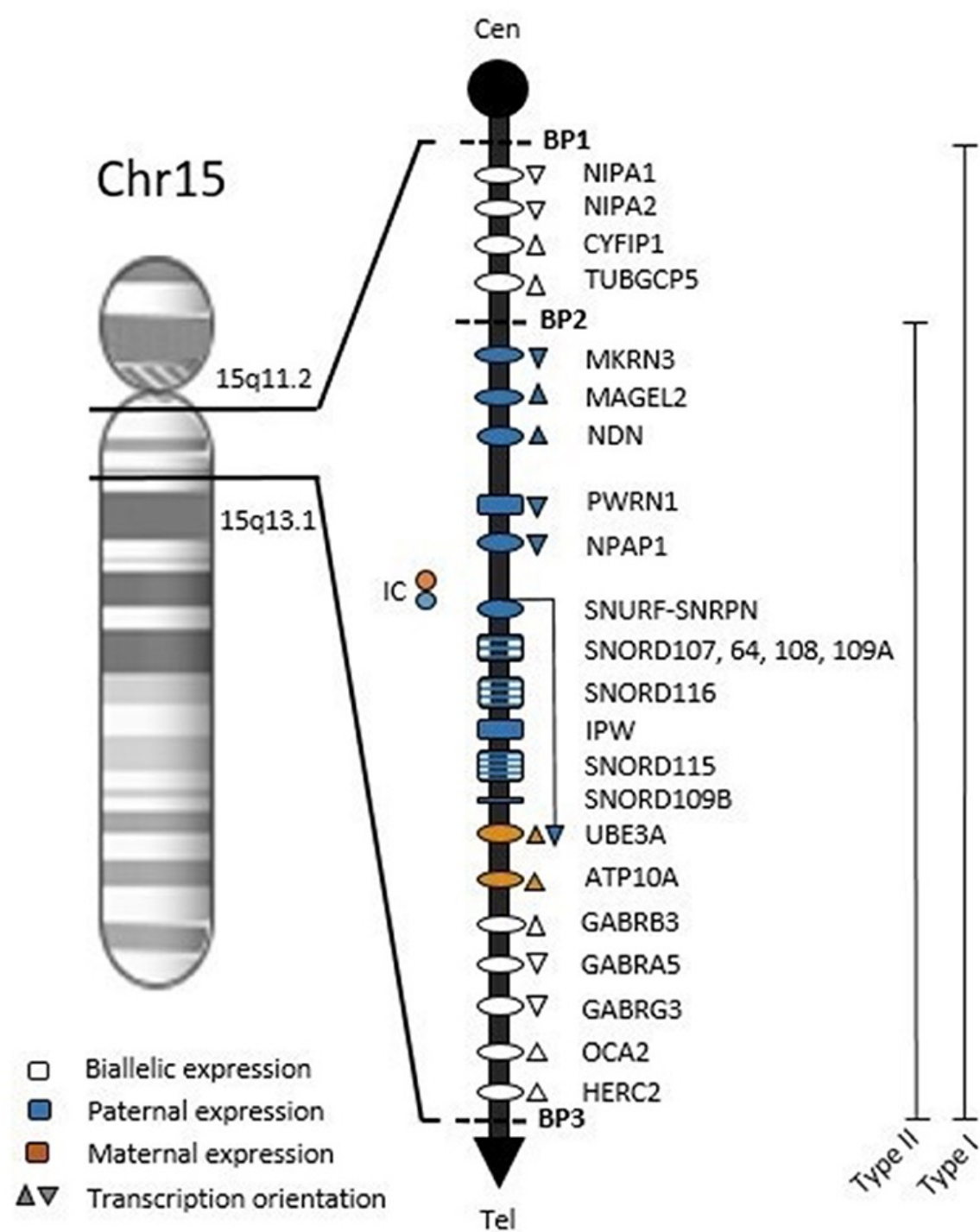
INTERNATIONAL
ANGELMAN
DAY FEB 15



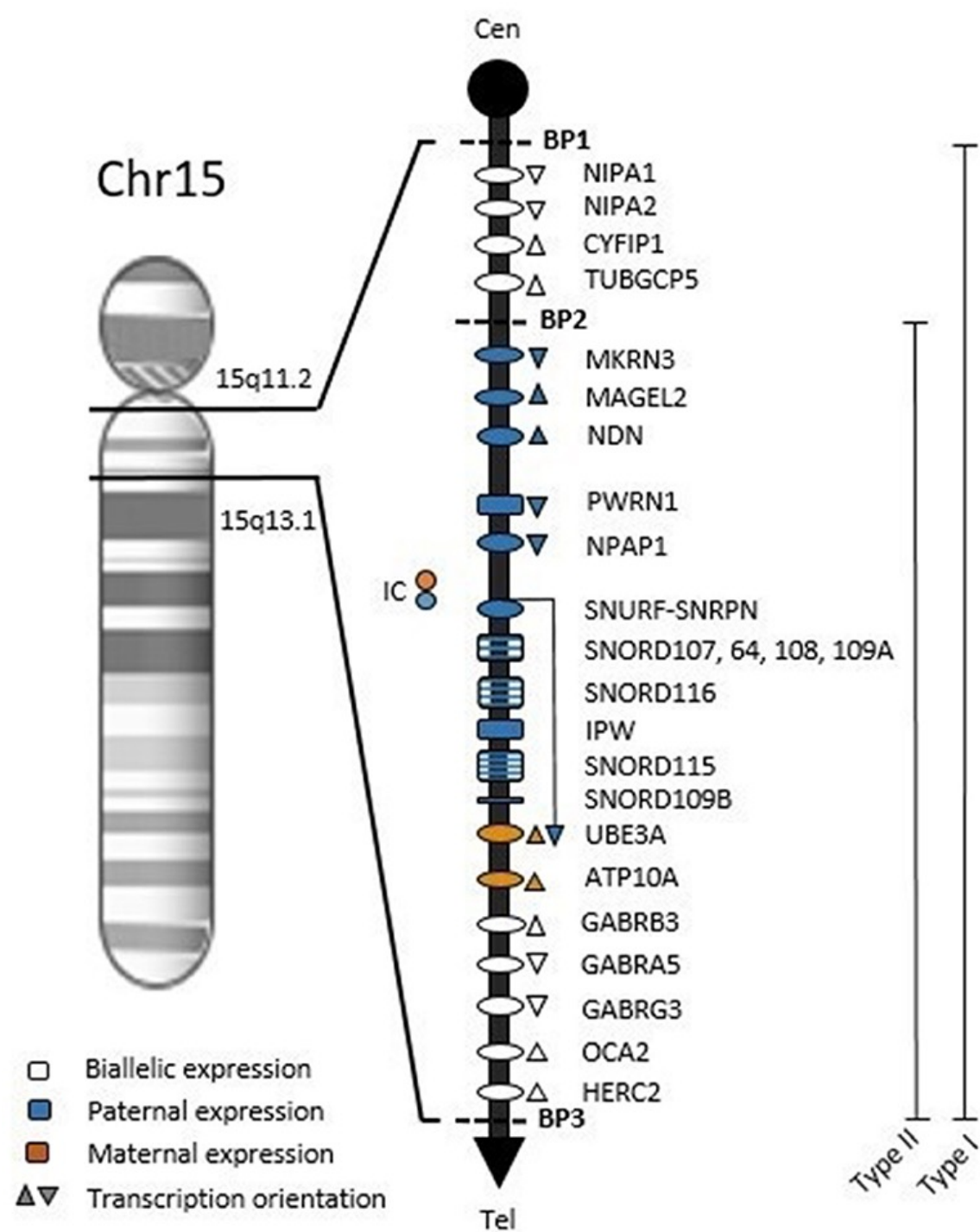
NIPA1 is highly expressed in neuronal tissues

NIPA2 Non-imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome

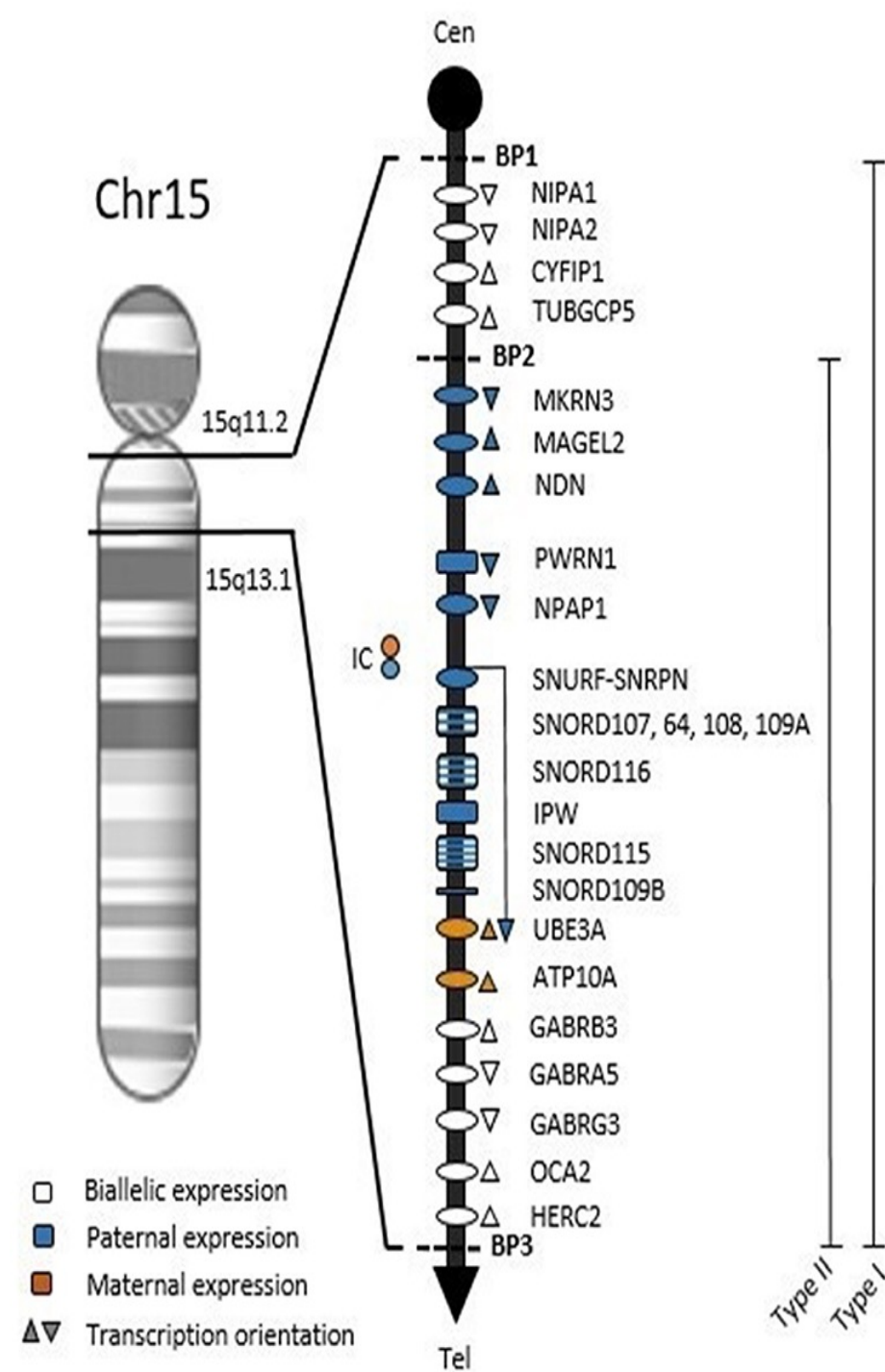
CYFIP1 A large chromosomal deletion including this gene is associated with increased risk of schizophrenia and epilepsy in human patients



TUBGCP5 high expression in cardiac and skeletal myocytes
 MKRN3 located on chromosome 15q11.2, in the critical region for Prader–Willi syndrome

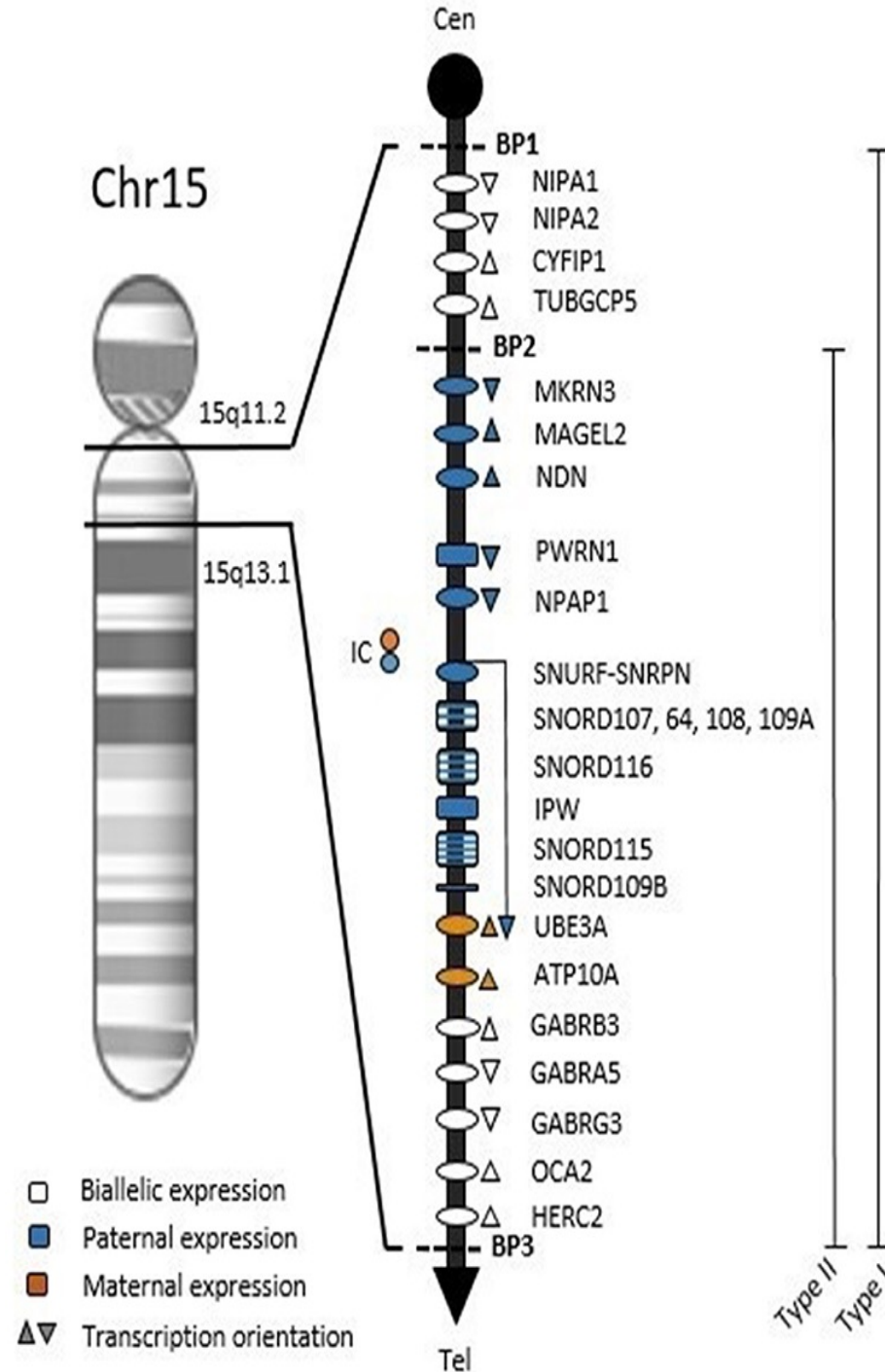


Prader-Willi syndrome (PWS) is the most common syndromic form of obesity and is caused by **absence** of expression of the **paternally active genes in a discrete region** on the long arm of **chromosome 15**, either due to deletions from the paternal chromosome or **maternal disomy**. The vast majority of cases occur sporadically.



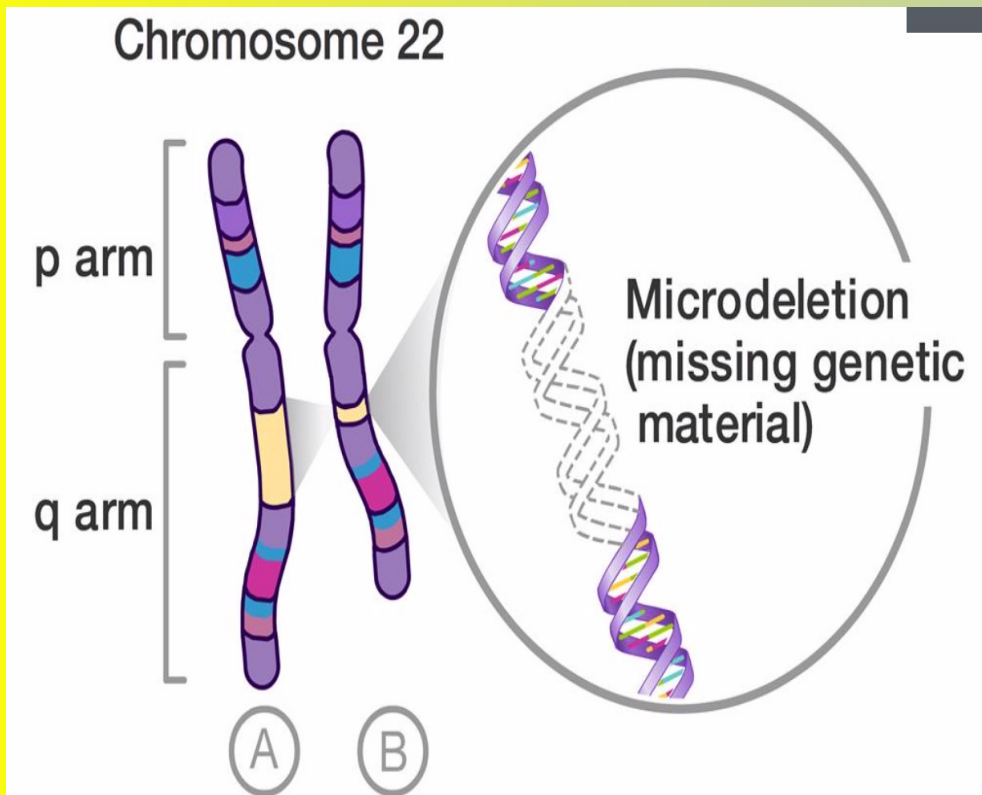
CLINICAL MANIFESTATIONS

Prenatal — Affected pregnancies often exhibit **reduced fetal activity** (**later perception of movement**, historically known as delayed quickening, as well as an overall reduction in the vigor of the movement)

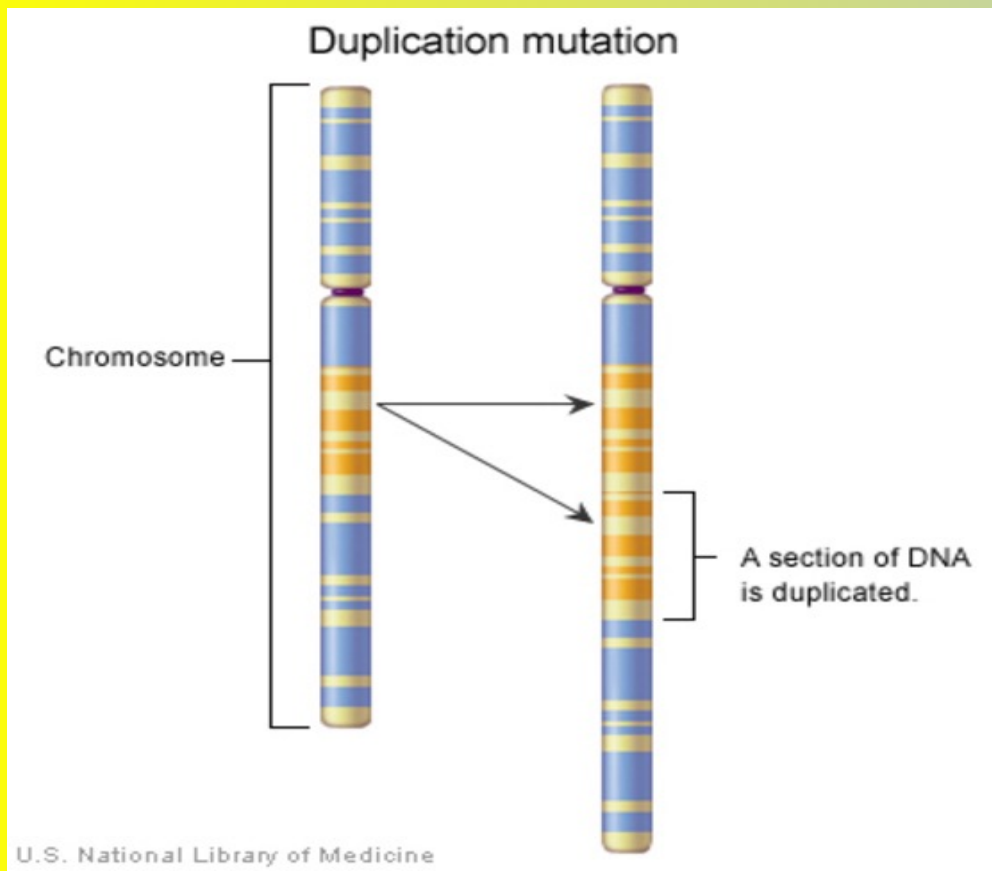


Chromosomal microarray analysis/ανάλυση μικροσυστοιχιών (used for the detection of clinically-significant microdeletions [involving several contiguous genes])

cfDNA testing for **microdeletions** cannot be used alone to make decisions about the pregnancy; **confirmatory diagnostic testing is required**



Chromosomal microarray analysis/ανάλυση μικροσυστοιχιών (used for the detection of clinically-significant **microduplications** (**too small to be detected by light microscopy**)),



Theoretically, cfDNA can be used to screen for genetic disorders other than the common aneuploidies discussed above (eg, other aneuploidies, microdeletions/**microduplications**, single gene disorders). **Currently, none of the professional guidelines recommend routine expanded screening for any of these genetic disorders.** UpToDate 2022

Molecular amniotic fluid **testing** helps diagnose **single-gene** conditions, including X-linked, **recessive**, and **dominant conditions**. Parental mutation should be known before offering prenatal **molecular testing** (looks for changes in genes) for a fetal diagnosis.



NCBI

The National Center for Biotechnology
Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Theoretically, cfDNA can be used to screen for genetic disorders other than the common aneuploidies discussed above (eg, other aneuploidies, microdeletions/microduplications, **single gene disorders**). **Currently, none of the professional guidelines recommend routine expanded screening for any of these genetic disorders.** UpToDate 2022

Molecular amniotic fluid **testing** helps diagnose **single-gene** conditions, including X-linked, **recessive**, and **dominant conditions**. Parental mutation should be known before offering prenatal **molecular testing** (looks for changes in genes) for a fetal diagnosis.



NCBI

The National Center for Biotechnology
Information

An official website of the United States government

Last Update: September 9, 2022.

Although screening for **single gene** disorders using cfDNA is commercially available, routine clinical use remains largely investigational and is not currently supported by leading medical societies.
UpToDate 2022