



CAM
CENTRO ANALISI MONZA



A quali pazienti offrire la NIPT?



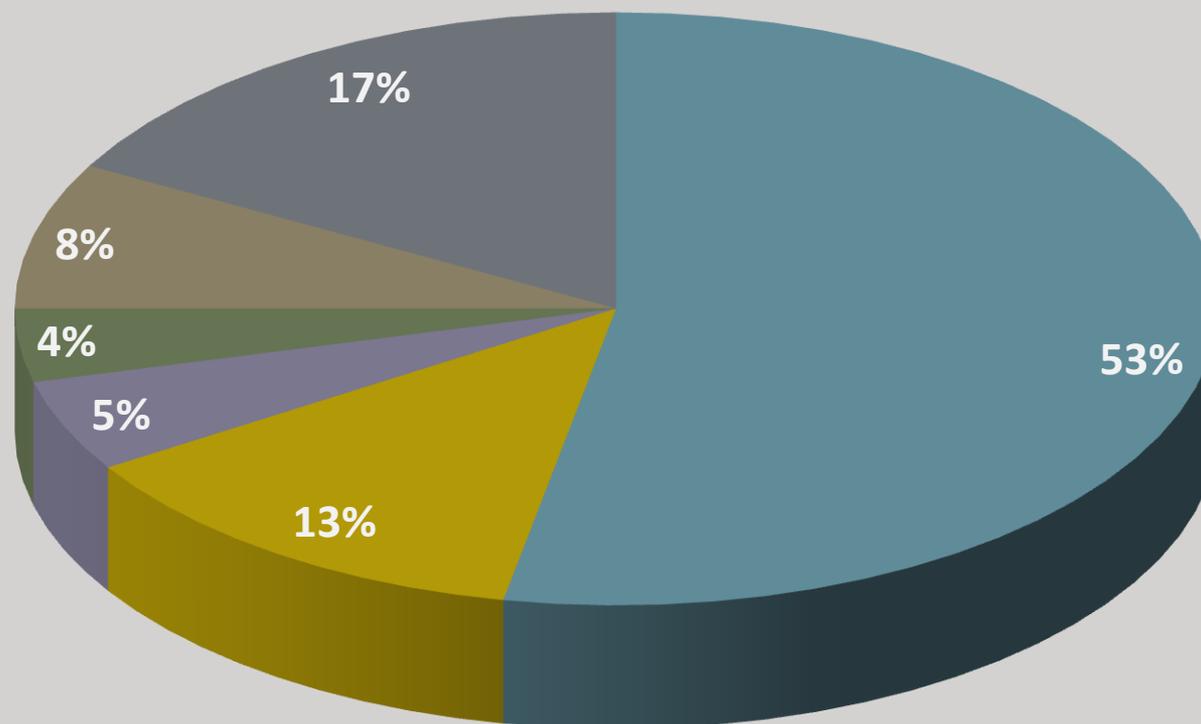
MARIANNA ANDREANI
CAM MONZA
DIAGNOSI PRENATALE



Anomalie cromosomiche in diagnosi prenatale

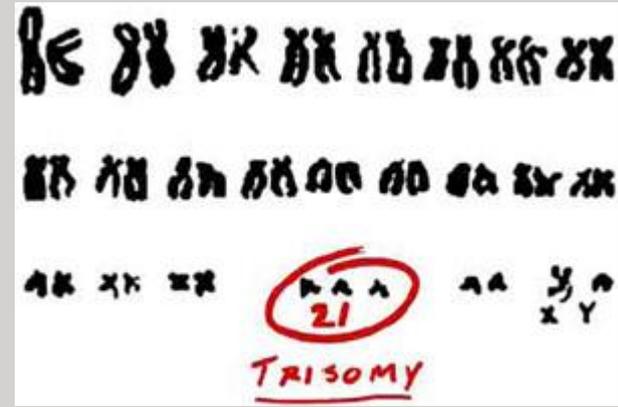
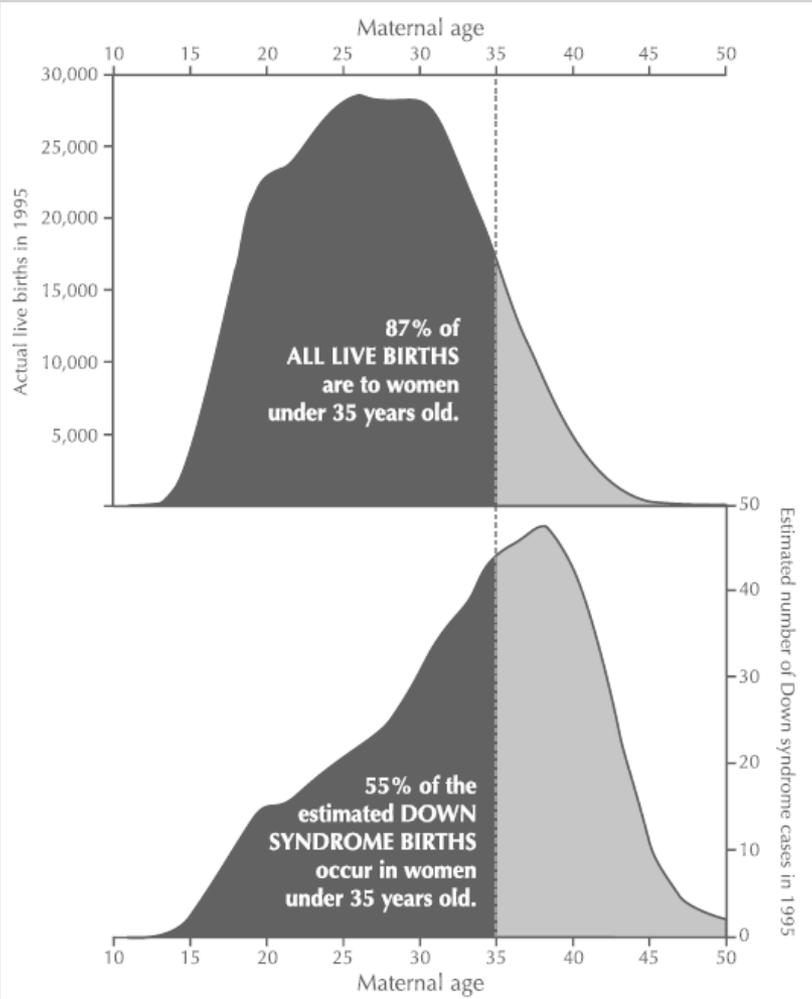


■ T21 ■ T18 ■ T13 ■ 45,X0 ■ TRIS. CROM. SEX ■ ALTRO



European Journal of Human Genetics (2012) 20, 521-526

Down Syndrome



Provider handbook for The California Prenatal Screening Program 2009

Linee guida italiane



Raccomandazioni

- ▶ Il percorso per la diagnosi prenatale della sindrome di Down deve essere offerto a tutte le donne entro 13⁺⁶ settimane. Se la donna si presenta al primo incontro a un'epoca che non consente l'offerta del test del primo trimestre, un test come il triplo test deve essere offerto in epoca più tarda (per esempio tra 15⁺⁰ settimane e 20⁺⁰ settimane).
- ▶ Per le donne che hanno scelto il test combinato – comprendente translucenza nucale, gonadotropina corionica umana (hCG), proteina plasmatica A associata alla gravidanza (PAPP-A) – questo deve essere eseguito tra 11⁺⁰ settimane e 13⁺⁶ settimane.
- ▶ La misurazione isolata della translucenza nucale non è raccomandata per individuare la sindrome di Down.

Lo stato attuale



- Screening per anomalie cromosomiche deve essere offerto a tutte le donne, indipendentemente dall'età.
- I test di screening tradizionali hanno una detection rate variabile tra 85-95% e un tasso di falsi positivi del 3-5%.
- Finora a una donna con test di screening positivo è stato offerto un test invasivo con rischio di perdita fetale dello 0.5%.
- Introduzione della NIPT come test accurato per le più comuni aneuploidie fetali

Questioni aperte



1. A chi offrire la NIPT?
2. NIPT e i test di screening tradizionali dovrebbero essere:
 - Correlati ma intesi come misurazioni indipendenti nella predizione del rischio di aneuploidie?
 - Complementari uno all'altro?
3. Come rendere edotti i medici e quale counseling proporre alle famiglie rispetto alle opzioni attualmente disponibili?

Professional Society Statements



- **International Society of Prenatal Diagnosis**
(Prenat Diagn 2012;32:1-2)
- **American College of Obstetricians and Gynecologists**
- **Society for Maternal Fetal Medicine**
(Committee opinion 545, 2012)
- **American College of Medical Genetics and Genomics**
(Genet Med 2013 doi.10.1038/gim.2013.29)

Professional Society Statements



- NIPT come scelta della coppia dopo adeguato counseling da personale specializzato e non parte della routine di esami di laboratorio prescritti nel I trimestre.
- Non dovrebbe essere offerto a donne a basso rischio o a donne con gravidanze multiple, perché il test non è stato sufficientemente valutato in questi gruppi.
- Un risultato del test negativo non garantisce un feto non affetto (DR: 98%-100%; FPR: 2%-0%)

Professional Society Statements



- Una donna con risultato positivo deve ricevere una consulenza genetica ed essere indirizzata alla diagnosi prenatale invasiva per la conferma dei risultati dei test.
- È indicata un'ecografia nel I trimestre pre test per confermare la vitalità del feto, la datazione della gravidanza ed escludere eventuali anomalie.
- Ecografia morfologica precoce/translucenza nucale per lo screening delle più comuni malformazioni fetali.

Alto rischio



- La maggior parte degli studi hanno valutato il ruolo della NIPT in donne ad alto rischio.

Table 2 Down syndrome and Edwards syndrome results in seven cell-free DNA studies carried out in high-risk pregnancies

Trial	Down syndrome		Edwards syndrome	
	DR (n (%))	FPR (n (%))	DR (n (%))	FPR (n (%))
Chiu <i>et al.</i> ^{65*}	86/86 (100)	3/146 (2.1)	—	—
Ehrich <i>et al.</i> ⁶⁶	39/39 (100)	1/410 (0.24)	—	—
Palomaki <i>et al.</i> ^{67,72}	209/212 (98.6)	3/1471 (0.20)	59/59 (100)	5/1688 (0.30)
Bianchi <i>et al.</i> ⁶⁸	89/90 (98.9)	0/410 (0.00)	35/38 (92.1)	0/463 (0.00)
Sparks <i>et al.</i> ⁷⁰	36/36 (100)	1/123 (0.81)	8/8 (100)	1/123 (0.81)
Ashoor <i>et al.</i> ⁶⁹	50/50 (100)	0/297 (0.00)	49/50 (98.0)	0/297 (0.00)
Norton <i>et al.</i> ⁷¹	81/81 (100)	1/2888 (0.03)	37/38 (97.4)	2/2888 (0.06)
Total	590/594 (99.3)	9/5745 (0.16)	188/193 (97.4)	8/5459 (0.15)

*2-plex and 8-plex data were reported but only the more favorable 2-plex results are included here. DR, detection rate; FPR, false-positive rate.

T21 DR 99.3% - FPR 0.16%; **T18** DR 97.4%; FPR 0.15%

Basso rischio



- Recentemente sono state pubblicate serie di donne a basso –medio rischio per aneuploidie
- Tutti questi studi, seppur con campioni numerici inferiori, confermano le performance precedentemente riportate sulle serie di donne ad alto rischio.



Basso rischio



1. Lau TK, Chan MK, Salome Lo PS, et al. Clinical utility of noninvasive fetal trisomy (NIFTY) test—early experience. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012; 25: 1856–1859.
2. Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, et al. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012; 207: 374.e1–6.
3. Dan S, Wang W, Ren J, et al. Clinical application of massively parallel sequencing-based prenatal noninvasive fetal trisomy test for trisomies 21 and 18 in 11,105 pregnancies with mixed risk factors. *Prenat Diagn* 2012; 32: 1225–1232.
4. Gil MM, Quezada MS, Bregant B, et al. Implementation of maternal blood cell-free DNA testing in early screening for aneuploidies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 34–40.
5. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn*. 2013 Jun;33(6):580-3.

Lau 2012



- *Studio prospettico*
- 567 pazienti
 - 179 (32%) risultate positive al test di screening,
 - 194 (34%) risultate negative al test di screening o in attesa di risultato,
 - 194 (34%) donne che non avevano effettuato alcuno screening.
- Età media 36 anni (20-46; 67.2%>35 anni)
- Follow-up insufficiente per fornire una DR affidabile
 - 8 casi di Down syndrome (6 casi nelle donne con screening positivo e 2 fra le rimanenti)
 - 1 caso di Edwards syndrome (1 caso tra le donne con screening positivo)
- No FP

Nicolaides 2012



- Studio prospettico
- 2049 donne sottoposte al test di screening convenzionale
- Età media 32 anni
- 11 (0.5%) casi di aneuploidia fetale individuati da NIPT (8 T21, 3 T13)
- cff-DNA fraction <4% in 2.2% dei campioni
- Fallimento del test in 2.6% dei campioni

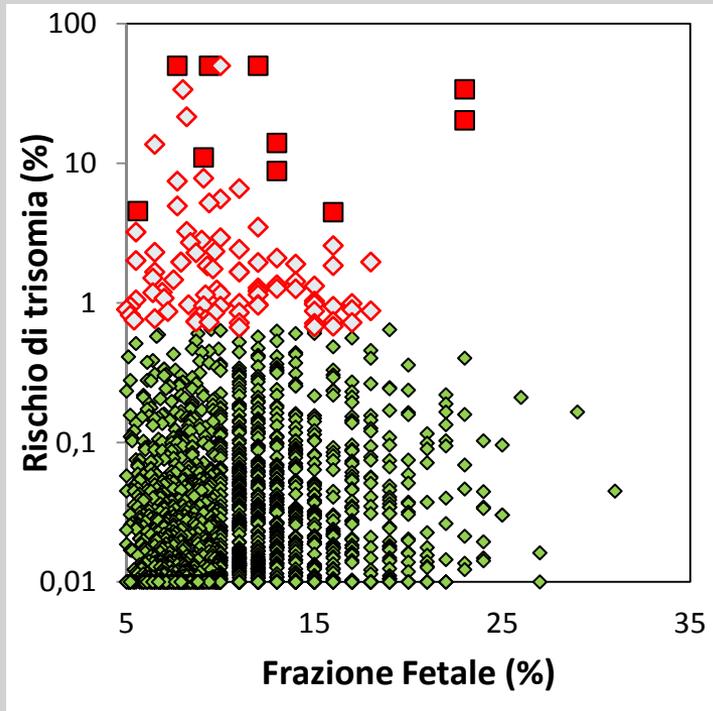
Nicolaides 2012



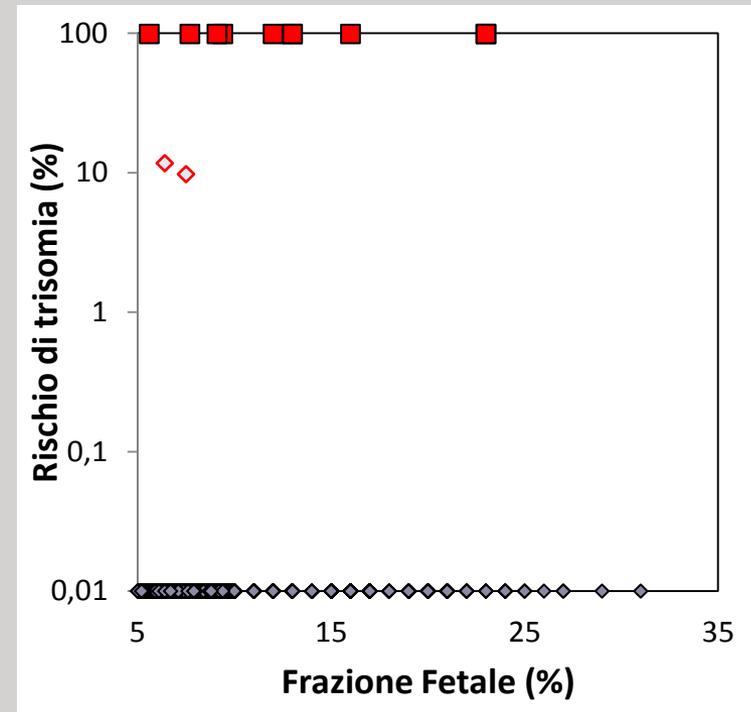
	DR T21+T18	FPR
NIPT	100%	0.1%
FTS	100%	4.5%



FTS



Harmony™
PRENATAL TEST



Dan 2012



- Studio prospettico cinese, numeri elevati
- 11.105 donne
 - Età media 31
 - 4522 (41%) con test di screening convenzionale positivo
 - 2770 (25%) con fattori di rischio (età materna avanzata, anomalie ecografiche, storia familiare)
- Tutti i casi di aneuploidia fetale individuati da NIPT (140 T21; 42 T18)
- 1/3 delle 10.915 donne con test negativo sono state perse al follow-up
- 2818 (26%) ha eseguito un test invasivo (no FN)
- 1 FP per T21 e 1 FP per T18

Gil 2013



- Studio prospettico
- 1005 donne
 - Rischio di aneuploidie (NIPT) fornito per 957 donne (95.2%)
 - In 48 casi (4.8%) nessun risultato (ottenuto mediante ripetizione del test nel 67.5%)
- Età media 37 anni
- Eseguito in parallelo anche test di screening convenzionale
- 15 casi (5%) di aneuploidie –confermate con test invasivo-
 - 10 casi di Down syndrome,
 - 4 casi di Edwards syndrome
 - 1 caso di Patau syndrome
- 1 risultato FP (per T18)
- Nessun FN

Fairbrother 2013



- 289 donne
 - 1 campione escluso*
 - 4 campioni (1.4%) nessun risultato
 - 284 test con risultato a basso rischio (<0.01%) per T21-T18-T13
- Età media 32 anni
- Media della frazione di DNA fetale: 12.4%
- Eseguito in parallelo anche test di screening convenzionale in 267 pazienti (4.5% screening positivo)

	DR T21+T18	FPR
NIPT	100%	0.1%
FTS	100%	4.5%

Impatto della NIPT



- MELISSA study: inserimento della NIPT nella pratica clinica nelle donne ad alto rischio.
- 532 casi
 - 66% in meno i test invasivi
 - 38% di donne in più hanno avuto una diagnosi di T21
 - Costo totale per lo screening e la diagnosi ridotto dell' 1% annualmente

Exhibit 4: Cost Inputs

Test	Estimated Cost
1st Trimester combined screen	\$378.50
2nd Trimester serum screen	\$117.96
2nd Trimester Ultrasound exam of fetus	\$330.18
Chorionic Villus Sampling	\$1,669.98
Amniocentesis	\$1,386.76
verifi™ prenatal test cost	\$1,200

Obstet Gynecol 2012; 119(5): 890-901
J Managed Care Med 2012; 15(2): 34-41

Impatto della NIPT su realta' italiana



OGGI...

- Circa il 70% delle donne accedono a screening ecografico e/o biochimico su sangue
 - Almeno 5% di risultati positivi
 - ✦ Una parte (non sappiamo quante) accedono alla procedura invasiva
- Una parte (molto variabile tra regioni) accede direttamente al test invasivo
 - Di questi 0.5% di perdita fetale

CON NIPT...

- NIPT nei casi di screening positivo e test invasivo solo per casi da confermare
- Aumento dell'accesso dopo screening positivo poiché non implica un rischio di abortività.
- Casi mancati di diagnosi diverse da DS

Implicazioni etiche della NIPT



- Confusione con test di routine
- Autoprescrizione
- Il fatto che si tratti di un semplice prelievo di sangue potrebbe diminuire la coscienza del possibile esito e delle implicazioni del test
- Aumento della disparità nell'accesso al test in base al censo o allo stato sociale
- Aumento delle IVG? Selezione del sesso? Pratica eugenetica?

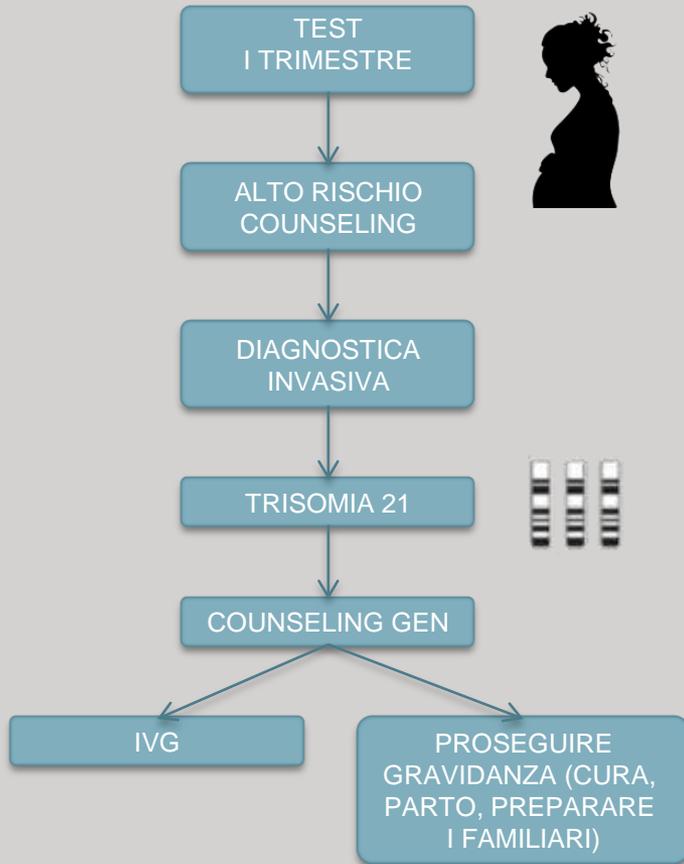
Raccomandazioni



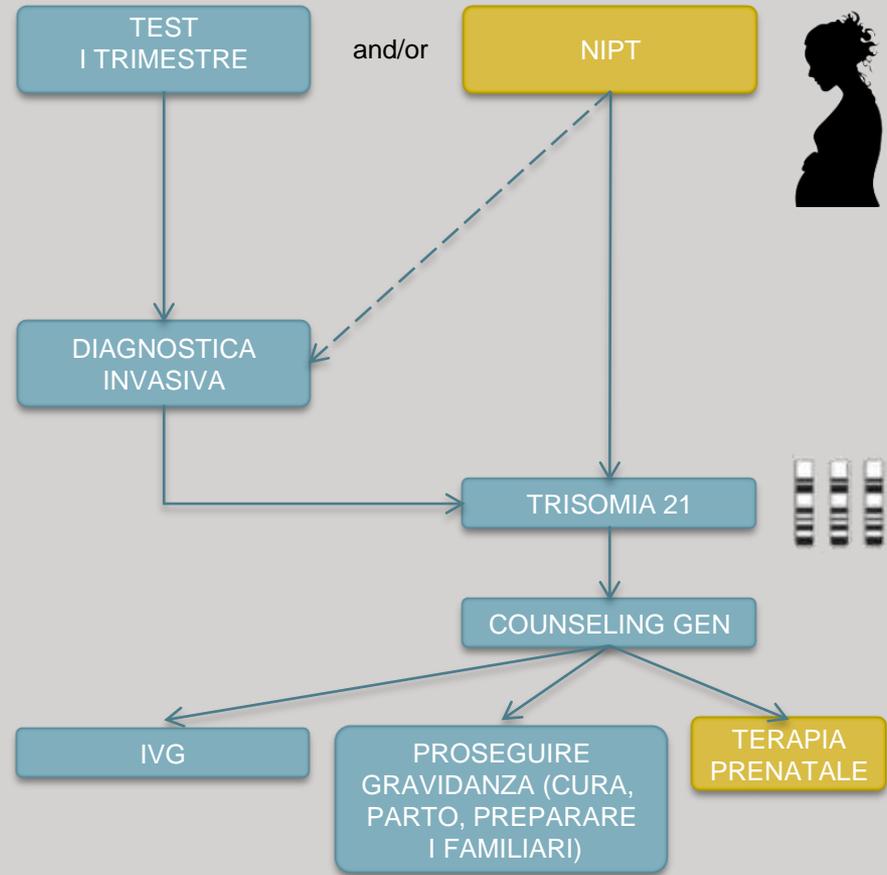
1. *Consideration needs to be made with **respect to the needs of specific patient groups** before the introduction of NIPT into clinical practice. [...]*
2. *Specific provision needs to be made to ensure parents have the time and information needed to make an **informed choice** about the use of NIPT. This may require building in time for reflection between information giving and seeking informed consent, as well as ensuring health professionals are appropriately trained.*
3. ***Further empirical research** is needed in a range of cultural settings to ensure that clinical practice is appropriate for the population served.*

Trattamento prenatale per DS

Current



Future



Nature Medicine 18, 1041-1051 (2012)

Trattamento prenatale per DS



Phenotypic alterations	Prenatal treatment	Adulthood treatment
Brain morphogenesis		
Microcephaly	Can be fully treated	No treatment possible
Cerebellar hypoplasia	Can be fully treated	No treatment possible
Hippocampal hypoplasia	Can be fully treated	No treatment possible
Cellular abnormalities		
Neurogenesis	Can be fully recovered	Only partially improved
Synaptogenesis	Can be fully recovered	Only partially improved
Axon myelination	Can be fully recovered	No or only partial recovery
Gene expression data		
Genes crucial for brain development	Can be fully corrected	No correction possible
Genes crucial for neuronal transmission	Can be fully corrected	Can be partially treated
Neurocognition	Can be fully normalized	Can be partially normalized



Prenatal Diagnosis 2013; 33: 614-618

New Genetic Therapy Could Erase DS



nature International weekly journal of science [Advanced search](#)

[Home](#) | [News & Comment](#) | [Research](#) | [Careers & Jobs](#) | [Current Issue](#) | [Archive](#) | [Audio & Video](#) | [For Authors](#)

[Research](#) > [Articles](#) > [Article](#)

ARTICLE PREVIEW
[view full access options >](#)

NATURE | ARTICLE 🔗 📧 🖨

Translating dosage compensation to trisomy 21

Jun Jiang, Yuanchun Jing, Gregory J. Cost, Jen-Chieh Chiang, Heather J. Kolpa, Allison M. Cotton, Dawn M. Carone, Benjamin R. Carone, David A. Shivak, Dmitry Y. Guschin, Jocelynn R. Pearl, Edward J. Rebar, Meg Byron, Philip D. Gregory, Carolyn J. Brown, Fyodor D. Urnov, Lisa L. Hall & Jeanne B. Lawrence

[Affiliations](#) | [Contributions](#) | [Corresponding authors](#)

Nature (2013) | doi:10.1038/nature12394
Received 21 May 2012 | Accepted 18 June 2013 | Published online 17 July 2013

Abstract

[Abstract](#) • [Accession codes](#) • [References](#) • [Author information](#) • [Supplementary information](#)

Down's syndrome is a common disorder with enormous medical and social costs, caused by trisomy for chromosome 21. We tested the concept that gene imbalance across an extra chromosome can be *de facto* corrected by manipulating a single gene, *XIST* (the X-inactivation gene). Using genome editing with zinc finger nucleases, we inserted a large, inducible *XIST* transgene into the *DYRK1A* locus on chromosome 21, in Down's syndrome pluripotent stem cells. The *XIST* non-coding RNA coats chromosome 21 and triggers stable heterochromatin modifications, chromosome-wide transcriptional silencing and DNA methylation to form a 'chromosome 21 Barr body'. This provides a model to study human chromosome inactivation and creates a system to investigate genomic expression changes and cellular pathologies of trisomy 21, free from genetic and epigenetic noise. Notably, deficits in proliferation and neural rosette

The Journal of Antibiotics
Antibiotics in the Clinical Pipeline in 2013
Mark S Butler, Mark A Blaskovich and Matthew A Cooper
Read this article today!
Impact Factor **2.191***
*2012 Journal Citation Reports® Science Edition (Thomson Reuters, 2013)

Editors' pick

A scientist's biological quest on the high seas >

Science jobs | **Science events**

natureevents directory

Generation of monocyte-derived dendritic cells (Mo-DCs)
23 October 2013 — 24 October 2013
Miltenyi Biotec GmbH, Friedrich-Ebert-Str. 68, Bergisch Gladbach/Cologne, Germany

NGS Data Analysis
15 October 2013 — 17 October 2013
501 Geary Street, San Francisco, United States

[Enhanced rare cell analysis – Visualize the](#)

Casi particolari - NIPT nei gemelli



	Harmony	Harmony + Analisi Y	Harmony + Analisi X, Y
Gravidanza singola, Incluso IVF	✓	✓	✓
Gravidanza gemellare, incluso IVF	✓	✗	✗
Più di 2 feti	✗	✗	✗

Gravidanze in cui la scomparsa di un gemello sia stata confermata o sospettata non sono adatti per il test in questo momento

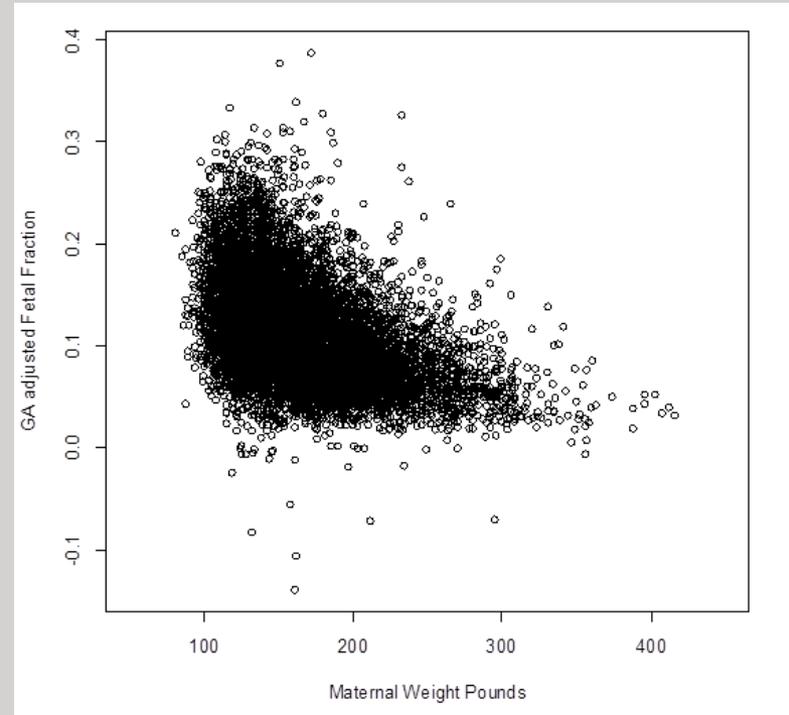
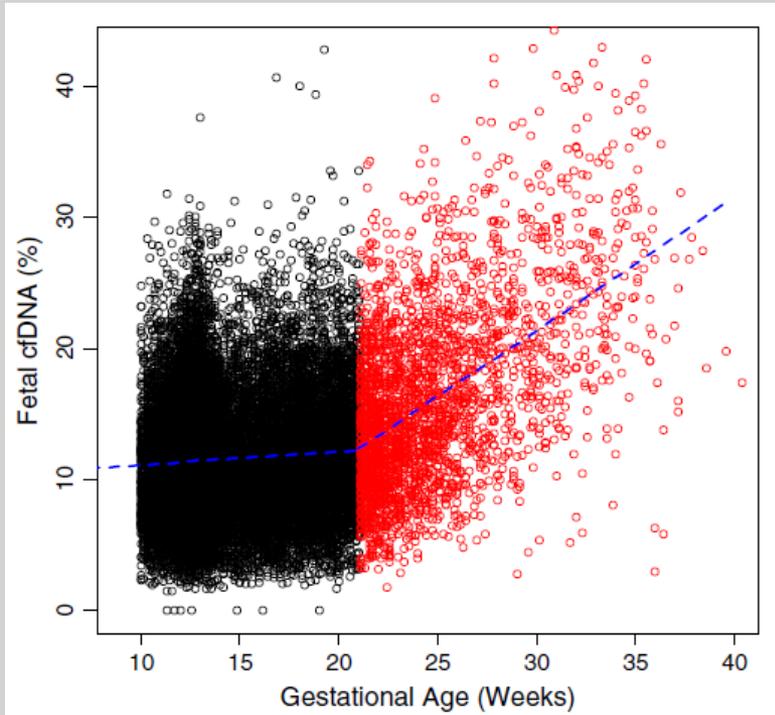
Nei gemelli discordanti per la trisomia, l'eccesso di frammenti di DNA del gemello affetto può essere mascherato dalla porzione normale di frammenti del gemello euploide.

Prenat Diagn 2012; 2: 1-5
Prenat Diagn 2013; 33: 675-681

Casi particolari - NIPT nelle obese



- La frazione di DNA fetale diminuisce nelle donne obese e all'aumentare dell'epoca gestazionale



Casi particolari - Screening I trimestre +



- Se FTS positivo per NT, il cariotipo può essere normale ma:
 - Malformazioni cardiache: 3% rischio se NT 3.5-4.5 mm
 - Ernia diaframmatica
 - Sindromi genetiche: Displasie scheletriche, Disordini del collagene (Acondroplasia), Atrofia muscolare scheletrica (SMA), Sindrome di Noonan, Sindrome di Smith-Lemli-Opitz., Walker Warburg, etc
 - Fetal akinesia syndrome

POSITION STATEMENT

Position statement from the Aneuploidy Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis[†]

Peter Benn^{1*}, Antoni Borell², Rossa Chiu³, Howard Cuckle⁴, Lorraine Dugoff⁵, Brigitte Faas⁶, Susan Gross⁷, Joann Johnson⁸, Ron Maymon⁹, Mary Norton¹⁰, Anthony Odibo¹¹, Peter Schielen¹², Kevin Spencer¹³, Tianhua Huang¹⁴, Dave Wright¹⁵ and Yuval Yaron¹⁶

Position statement ISPD



- Counseling non-direttivo con informazioni sullo screening
- Risk assesment (tener conto di particolari condizioni: infertilità, storia ostetrica pregressa, rischio genetico consistente, valori etici e morali della famiglia) mediante scelta del protocollo

Position statement ISPD



- Scelta del protocollo:
 - età materna da sola: non giustificabile come rischio di aneuploidia da solo
 - FTS
 - NIPT per
 - ✦ Donne risultanti ad alto rischio dal FTS
 - ✦ Donne che non hanno avuto accesso allo screening precoce
 - ✦ Donne ad alto rischio sulla base di: presenza di anomalie ecografiche suggestive per T21-T13-T18, storia familiare o pregresso figlio affetto da una di queste trisomie...

Take home messages

