**Zastosowanie wolnego pozakomórkowego DNA [cfDNA - cell free DNA) w skriningu aneuploidi
w ciążach bliźniaczych.**

**Witold Malinowski**

W ciąży bliźniaczej ogólna Ilość cfDNA jest o około 35 procent wyższa niż w przypadku ciąży pojedynczej [1]. Z drugiej zaś strony ilość cfDNA wnoszona do krążenia matki przez każdego z bliźniąt jest niższa niż w przypadku ciąży pojedynczej, a w ciąży dwuzygotycznej może być różna dla każdego płodu [2]. W takim przypadku jedną z możliwości uściślenia badania jest zmodyfikowanie algorytmu stosowanego dla ciąż pojedynczych w celu oszacowania najmniejszego udziału frakcji płodowej u obu płodów. Badania te obejmują identyfikację niepolimorficznych i polimorficznych loci w których allele płodowe różnią się od matczynych alleli [3]. Jednakże tego typu analiza nie jest rutynowo przeprowadzana w większości laboratoriów medycznych. Ponadto, niemożliwe jest aby w oparciu o samą analizę cfDNA ustalić, które bliźnię rozwija się nieprawidłowo, bowiem wyniki są oznaczane dla całej ciąży. Z tego powodu konieczne są następowe badania inwazyjne w celu rozróżnienia, które z bliźniąt jest dotknięte chorobą. Niektóre laboratoria oferujące oznaczanie cfDNA w ciążach bliźniaczych stosują metody, które są "ślepe" na liczbę płodów.

Na podstawie wstępnych danych pochodzących z 758 ciąż bliźniaczych o znanym wyniku końcowym stwierdzono, że wskaźniki wykrywalności dla trisomii 21, 18 i 13 wynosiły odpowiednio 95%, 85% i 100% [4]. Wykazano również, że częstość niepowodzeń testu była wyższa w ciążach bliźniaczych niż pojedynczych. Dlatego test NIFTY, czyli Nieinwazyjny Genetyczny Test Prenatalny nie jest jeszcze popierany przez większość Naukowych Towarzystw Położników i Ginekologów (ACOG, ACMG i inne).

**Wnioski:**

Zastosowanie w ciążach bliźniaczych badań przesiewowych w kierunku wykrycia aneuploidii u płodów za pomocą oznaczania cfDNA jest kontrowersyjne z powodu ograniczonych danych dotyczących skuteczności testu.

Piśmiennictwo

1. Canick JA, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations. Prenat Diagn 2012; 32:730.

2. del Mar Gil M, Quezada MS, Bregant B, et al. Cell-free DNA analysis for trisomy risk assessment in first-trimester twin pregnancies. Fetal Diagn Ther 2014; 35:204.

3. Struble CA, Syngelaki A, Oliphant A, et al. Fetal fraction estimate in twin pregnancies using directed cell-free DNA analysis. Fetal Diagn Ther 2014; 35:199.

4, Bevilacqua E, Gil MM, Nicolaides KH, et al. Performance of screening for aneuploidies by cell-free DNA analysis of maternal blood in twin pregnancies. Ultrasound Obstet Gynecol 2015; 45:61.

W chwili obecnej w diagnostyce prenatalnej wad u bliźniąt w I trymestrze ciąży największe zastosowanie mają:

• ultrasonografia,

• badania (markery) biochemiczne,

• metody inwazyjne (biopsji kosmówki, amniopunkcja, kordocenteza).

W ciążach wielopłodowych najistotniejsze badanie stanowi ultrasonografia. Stwierdzenie różnicy w CRL pomiędzy embrionami/płodami większej niż 3 mm sugeruje obecność płodowych anomalii rozwojowych u mniejszego z nich i stanowi wskazanie do przeprowadzenia dalszych badań diagnostycznych. Pomiar przejaśnienia karkowego w ciążach dwukosmówkowych dwuowodniowych [DK DO] stanowi kolejne istotne badanie w diagnostyce aneuploidii. Sytuacja staje się odmienna w ciążach jednokosmówkowych [JK]. Wynika to z faktu, że wzrost przejaśnienia karkowego powyżej 95 percentyla dla danego wieku ciążowego u jednego z bliźniąt JK może być związany z rozwinięcia się zespołu przetoczenia krwi pomiędzy płodami [TTTS] (5-krotnie większe ryzyko) niż z obecnością wady rozwojowej.

 Interpretacja poziomu markerów biochemicznych w surowicy matki jest problematyczna, ponieważ oba płody przyczyniają się do wzrostu ich stężenia. Ponadto, na poziomy markerów w ciąży wielopłodowej może mieć wpływ wczesna utrata jednego lub większej liczby zarodków.

Reasumując, prenatalna diagnostyka ultrasonograficzna wad rozwojowych w 10 - 14 tygodniu ciąży wielopłodowej powinna obejmować:

- wiek ciąży i liczbę płodów,

- rodzaj kosmówkowości i owodniowości,

- pomiar NT, biometria (CRL), anatomia płodów (wady oun).

W ciążach wielopłodowych, podobnie jak w jednopłodowych, częstość występowania aneuploidi zależy od wieku i rodności kobiety. Z modelu matematycznego wynika, że w ciążach bliźniaczych jednozygotycznych [JZ], w których oba płody posiadają identyczny kariotyp, ryzyko wystąpienia aneuploidi jest takie samo, w danym wieku kobiety, jak w ciążach jednopłodowych. Natomiast w dwuzygotycznych [DZ] ryzyko jest odmienne. Szansa, że w ciąży DZ oba płody będą miały aneuploidię wynosi X² (gdzie X= wartość związanego z wiekiem ryzyka aneuploidi w ciąży jednopłodowej), a tylko jeden z pary bliźniąt 2X, czyli podwojenie ryzyka. W przypadkach gdy zygotyczność jest nieznana ryzyko będzie wynosić 5/3X. Zatem, wynoszące 1:192 ciąże ryzyko wystąpienia aneuploidi u jednego płodu jest takie samo u 35 letniej kobiety z ciąża pojedynczą, 31 letniej z bliźniaczą i 27 letniej z trojaczą. Inwazyjna diagnostyka prenatalna w celu wykrycia aneuploidii płodu powinna być zatem proponowana każdej 31 letniej lub starszej kobiecie z ciążą bliźniaczą, a 27 letniej z trojaczą.