



Ε Μ Γ Ε

Ελληνική Μαιευτική και
Γυναικολογική Εταιρεία

Κατευθυντήρια Οδηγία
No 73
Αύγουστος 2025

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΗΣΗΣ ΝΕΑΣ ΓΕΝΙΑΣ (NGS/WES) ΣΤΟΝ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΑΠΑΝΤΩΝΤΑΙ

- Ποιοι είναι οι βασικοί γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες στον προγεννητικό έλεγχο;
- Πώς η αλληλούχηση επόμενης γενιάς (NGS) βελτιώνει τη διαγνωστική απόδοση για τις γενετικές ανωμαλίες στον προγεννητικό έλεγχο;
- Ποια είναι τα βασικά μέτρα ελέγχου ποιότητας για τα εργαστήρια που εκτελούν NGS στον προγεννητικό έλεγχο;
- Γιατί συνιστάται η τριπλή ανάλυση (έμβρυο και γονείς) στον προγεννητικό γενετικό έλεγχο;
- Πώς αντιμετωπίζονται οι παραλλαγές άγνωστης σημασίας (VUS) στην προγεννητική γενετική ανάλυση;
- Ποια είναι τα κριτήρια για την αναφορά ή μη των τυχαίων και δευτερευόντων γενετικών ευρημάτων στον προγεννητικό έλεγχο;
- Ποια ηθικά και συμβουλευτικά ζητήματα πρέπει να εξετάζονται κατά τη γενετική συμβουλευτική πριν και μετά τον έλεγχο;
- Ποιες είναι οι κύριες ενδείξεις για την προγεννητική αλληλούχηση εξωνίων (PES) και πότε πρέπει να εξετάζεται;
- Ποιες είναι οι κύριες ενδείξεις για την προγεννητική αλληλούχηση εξωνίων (PES) και πότε πρέπει να εξετάζεται;
- Πώς πρέπει να κοινοποιούνται τα αποτελέσματα των γενετικών εξετάσεων στους γονείς με τρόπο που να διευκολύνει τη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων;

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. Εισαγωγή.....	2
II. Διαγνωστική αξία.....	3
III. Βέλτιστος τρόπος ανάλυσης.....	3
IV. Συμβουλευτική πριν την ανάλυση (Pre-Test counseling).....	4
V. Ενδείξεις Προγεννητικής Εξωμικής Ανάλυσης (Prenatal Exome Sequencing, PES).....	5
VI. Ευρήματα που δεν αποτελούν επί του παρόντος ενδείξεις για PES.....	7
VII. Συμβουλευτική Μετά την Ανάλυση (Post-Test counseling).....	7
VIII. Σύνοψη.....	7
IX. Τι αλλάζει από την προηγούμενη κατευθυντήρια οδηγία της ΕΜΓΕ.....	8
X. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	9

I. Εισαγωγή

➤ Ποιοι είναι οι βασικοί γενετικοί παράγοντες που συμβάλλουν στις μείζονες συγγενείς ανωμαλίες στον προγεννητικό έλεγχο;

Μείζονες συγγενείς ανωμαλίες (Major Congenital Anomalies, MCA) παρατηρούνται υπερηχογραφικά σε συχνότητα περίπου 1-3% των κυήσεων και είναι υπεύθυνες για ένα σημαντικό ποσοστό προ- και περιγεννητικών θανάτων αλλά και νεογνικής νοσηρότητας [1,2]. Ενώ έχουν αναγνωριστεί πολλά και ετερογενή αίτια, ανάμεσα στα οποία ενδομήτριες λοιμώξεις, γενετικοί παράγοντες και περιβαλλοντικές επιδράσεις, στη μεγάλη πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν υπάρχουν αναγνωρίσιμοι υποκείμενοι παράγοντες κινδύνου.

Ανευπλοειδίες (αριθμητικές χρωμοσωματικές ανωμαλίες), δομικές χρωμοσωματικές ανισοζυγίες/αναδιατάξεις, καθώς και παραλλαγές του αριθμού των αντιγράφων κατά μήκος του γονιδιώματος (Copy Number Variants, CNVs) ευθύνονται σε ποσοστό ως και 40% για κάποιες από τις συγγενείς ανωμαλίες που παρατηρούνται υπερηχογραφικά [3].

Ο προγεννητικός έλεγχος γίνεται σε δείγματα μετά από λήψη αμνιακού υγρού ή βιοψία τροφοβλάστης με την εφαρμογή γενετικών αναλύσεων, όπως ο συμβατικός καρυότυπος, το QF-PCR (ταχεία ανίχνευση συχνότερων ανευπλοειδιών), καθώς και η χρωμοσωματική ανάλυση με μικροσυστοιχίες (Chromosomal Microarray Analysis, CMA) ή αλλιώς μοριακός καρυότυπος [4]. Παρόλα ταύτα, περισσότερες από τις μισές περιπτώσεις εμβρύων με συγγενείς ανωμαλίες παραμένουν αδιάγνωστες.

Το επόμενο βήμα για τη γενετική ανάλυση μονογονιδιακών νοσημάτων σε επίπεδο νουκλεοτιδίων, αποτελεί η ανάλυση του εμβρυϊκού DNA με την τεχνική της **αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing, NGS)** [5,6].

Κατευθυντήριες οδηγίες για την προγεννητική ανάλυση μέσω αλληλούχησης νέας γενιάς έχουν θεσπισθεί από διεθνείς φορείς όπως οι κάτωθι:

- EuroGentest and the European Society of Human Genetics (ESHG), 2016 [7]
- American College of Medical Genetics & Genomics (ACMG), 2020 [8], 2021 [9], 2022 [10], 2023 [11]
- ACMG-ClinGen, 2020 [5]
- Canadian College of Medical Geneticists (CCMG), 2021 [6]

- British Society for Genetic Medicine (BSGM), 2021 [3]
- International Society for Prenatal Diagnosis (ISPD), 2022 [12]

Σημειώνεται ότι οι **Κατευθυντήριες Οδηγίες** που παρατίθενται δεν συνιστούν δεσμευτικό νομικό πλαίσιο περίθαλψης, καθώς η ερμηνεία των στοιχείων στα οποία βασίζονται, μπορεί να επηρεαστεί από μεμονωμένες περιπτώσεις, πρωτόκολλα ισχύοντα σε άλλα κράτη, και νέες διαθέσιμες βιβλιογραφικές πηγές.

II. Διαγνωστική αξία

➤ *Πώς η αλληλούχηση επόμενης γενιάς (NGS) βελτιώνει τη διαγνωστική απόδοση για τις γενετικές ανωμαλίες στον προγεννητικό έλεγχο;*

Επί του παρόντος ο προγεννητικός έλεγχος περιλαμβάνει τον συμβατικό και μοριακό καρυότυπο που πραγματοποιούνται σε εμβρυικά κύτταρα κατόπιν βιοψίας χοριακών λαχνών ή αμνιοπαρακέντησης. Η πιθανή πρόσθετη διαγνωστική αξία του NGS σε έμβρυα με παθολογικά υπερηχογραφικά ευρήματα υπολογίζεται στο 10-12% κατά μέσο όρο. Η πιθανότητα ταυτοποίησης παθολογικού γενετικού παραλλάγματος εμφανίζει πολύ μεγάλη διακύμανση από, π.χ 2% στη μεμονωμένη αυξημένη αυχενική διαφάνεια, μέχρι 53% σε σκελετικές δυσπλασίες και 72% σε υπερηχογενείς νεφρούς [13-15].

Ο βασικός ρόλος της αλληλούχησης νέας γενιάς και πιο συγκεκριμένα της αλληλούχησης των εξωνικών περιοχών, **Whole Exome Sequencing (WES)**, είναι η ανίχνευση γενετικών παθήσεων που οφείλονται σε παραλλαγές στο επίπεδο του ενός ή μερικών νουκλεοτιδίων, καθώς και σε μικρές ενθέσεις και ελλείμματα (small INDELS) εντός της κωδικοποιούσας περιοχής του γονιδιώματος. Παρόλον που υπολογίζεται ότι >85% των παραλλαγών στα μονογονιδιακά νοσήματα βρίσκονται μέσα στα εξώνια ή στα όρια εξωνίων/εσωνίων, μπορεί να υπάρχουν και “βαθιές” εσωνικές παραλλαγές (ευρήματα που εντοπίζονται στα εσώνια των γονιδίων), καθώς και παραλλαγές σε μη κωδικοποιούσες περιοχές, όπως υποκινητές (promoters), ενισχυτές (enhancers) κλπ, που η εξέταση WES δεν έχει τυπικά τη δυνατότητα να ανιχνεύει. Επίσης η εξέταση WES δεν ανιχνεύει μεγάλα ελλείμματα/διπλασιασμούς (large INDELS) παραλλαγές αριθμού αντιγράφων (Copy Number

Variants-CNVs, όπως στο σύνδρομο DiGeorge), επεκτάσεις επαναλήψεων τρινουκλεοτιδίων (π.χ σύνδρομο του Εύθραυστου Χ), διαταραχές μεθυλίωσης και μονογονεϊκή δισωμία (UPDs, όπως π.χ σύνδρομο Silver-Russell, Beckwith-Wiedemann, Angelman, Prader-Willi κ.α).

Επίσης, το WES δεν μπορεί να ανιχνεύσει με αξιοπιστία παραλλαγές που βρίσκονται σε περιοχές με ψευδογονίδια ή αντίγραφα γονίδια (π.χ Νωτιαία Μυϊκή Ατροφία, σ. Gaucher, CAH κ.α), περιοχές με υψηλό ποσοστό G/C βάσεων (G/C rich regions) και περιοχές με επαναλαμβανόμενα ίδια νουκλεοτιδία (homopolymer regions) όπως π.χ πολυμορφικές περιοχές poly-T και TG του γονιδίου *CFTR*. Σημειώνεται ότι για τεχνικούς λόγους, που αφορούν τον σχεδιασμό και την παραγωγή βιβλιοθηκών και διαφέρουν ανάλογα με τη κατασκευάστρια εταιρεία, δεν επιτυγχάνεται κάλυψη του 100% του συνόλου των εξωνίων (exome) όπου η μέγιστη κάλυψη φτάνει το 97%, ή του μιτοχονδριακού γονιδιώματος για το οποίο οι κατασκευάστριες εταιρείες διαθέτουν διαφορετικά συστήματα μελέτης/KIT.

III. Βέλτιστος τρόπος ανάλυσης

- *Ποια είναι τα βασικά μέτρα ελέγχου ποιότητας για τα εργαστήρια που εκτελούν NGS στον προγεννητικό έλεγχο;*
- *Γιατί συνιστάται η τριπλή ανάλυση (έμβρυο και γονείς) στον προγεννητικό γενετικό έλεγχο;*
- *Πώς αντιμετωπίζονται οι παραλλαγές άγνωστης σημασίας (VUS) στην προγεννητική γενετική ανάλυση;*
- *Ποια είναι τα κριτήρια για την αναφορά ή μη των τυχαίων και δευτερευόντων γενετικών ευρημάτων στον προγεννητικό έλεγχο;*

α) Το εργαστήριο που πραγματοποιεί τον έλεγχο πρέπει να ακολουθεί τις διαδικασίες ανάλυσης όπως προβλέπονται στα αντίστοιχα πρότυπα ποιότητας και να έχει αποδεδειγμένη εμπειρία σε προγεννητικές γενετικές αναλύσεις. Συνιστάται σε όλα τα εργαστήρια να προβούν σε διαδικασία διαπίστευσης (ISO 15189) για τον προγεννητικό έλεγχο μέσω αλληλούχησης νέας γενιάς και στο ενδιάμεσο χρονικό διάστημα να συμμετέχουν σε προγράμματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου.

β) Ο θεράπων ιατρός θα πρέπει να ενημερώνει το εργαστήριο εγγράφως, πριν την ανάλυση, για τον διαθέσιμο φαινότυπο του εμβρύου καταγράφοντας λεπτομερώς τα υπερηχογραφικά ευρήματα, την MRI κ.α, καθώς και τυχόν οικογενειακό ιστορικό που του έχει γνωστοποιηθεί.

γ) Στη διαγνωστική προσέγγιση υπάρχει ισχυρή σύσταση η ανάλυση να περιλαμβάνει ταυτόχρονη ανάλυση του εμβρύου και των γονέων (**trio ανάλυση**). Η προσέγγιση αυτή:

- i. μειώνει τον χρόνο της ανάλυσης
- ii. βοηθάει στην ορθότερη ερμηνεία των ευρημάτων
- iii. αυξάνει τη διαγνωστική απόδοση

δ) Σύμφωνα με τα πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα, η ανάλυση WES είναι η πλέον ενδεδειγμένη σε σχέση με την ανάλυση **Clinical Exome Sequencing (CES)**, δηλαδή τη μελέτη συνόλου εξωνικών περιοχών γονιδίων που έχουν γνωστή συσχέτιση με γενετική νόσο.

ε) Σε συγκεκριμένους **αναγνωρίσιμους εμβρυϊκούς φαινοτύπους**, είναι δυνατό να επιλέγεται βιοπληροφορικά προκαθορισμένη ομάδα γονιδίων **“gene panel”** (πχ. για κροσσοπάθειες, σκελετικές δυσπλασίες κ.α.). Ακόμα και σε περιπτώσεις διευρυμένων ελέγχων συνιστάται η χρήση προκαθορισμένων βιοπληροφορικών **“panels”** όπως το R21 του NHS του Ηνωμένου Βασιλείου και οι ανανεώσεις του.

στ) Δεν υπάρχουν επαρκή επιστημονικά δεδομένα για την αλληλούχηση όλου του γονιδιώματος (**Whole Genome Sequencing, WGS**) στον προγεννητικό έλεγχο, διότι επί του παρόντος εμφανίζει υψηλό ποσοστό ευρημάτων αβέβαιης/άγνωστης κλινικής σημασίας (Variants of Unknown Significance, VUS), τυχαίων ευρημάτων (Incidental Findings, IF) καθώς και δευτερευόντων ευρημάτων (Secondary Findings, SF) [16-18].

ζ) Η **κατηγοριοποίηση των παραλλαγών** θα πρέπει να γίνεται με βάση διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες όπως αυτές του **ACMG** [19]. Η ερμηνεία της παθογένειας των ευρημάτων, σε συνδυασμό με την κλινική σημασία τους, με βάση τον διαθέσιμο εμβρυϊκό φαινότυπο¹ θα

πρέπει να συζητούνται από **ομάδα ειδικών** (θεράπων ιατρός, εμβρυομητρικός ιατρός, ιατρός γενετιστής και εργαστηριακός γενετιστής).

η) Οι παραλλαγές που αναφέρονται σε προγεννητικά δείγματα θα πρέπει να είναι οι **παθογόνες** (pathogenic) και οι **πιθανά παθογόνες** (likely pathogenic) σε γονίδια που σχετίζονται με τον διαθέσιμο εμβρυϊκό φαινότυπο.

θ) Παραλλαγές **αβέβαιης κλινικής σημασίας (VUS)** **δεν** αναφέρονται.

ι) Κατ' εξαίρεση, η αναφορά VUS θα τίθεται υπό συζήτηση λαμβάνοντας υπόψη την αιτία παραπομπής, το οικογενειακό ιστορικό και τα υπερηχογραφικά ευρήματα/εμβρυϊκό φαινότυπο (όπως αυτά καταγράφονται μέχρι και την τελευταία υπερηχογραφική εξέταση που διενεργήθηκε πριν την έκδοση του πορίσματος). Ως εκ τούτου, είναι δυνατό να συζητηθούν και να αναφερθούν:

- Αν αφορούν σε γονίδιο που έχει συσχετιστεί βιβλιογραφικά με τα υπερηχογραφικά ευρήματα του εμβρύου,
- Αν προέκυψαν *de novo* σε γονίδιο ισχυρά υποψήφιο για τον εμβρυϊκό φαινότυπο ή αν είναι σε διάταξη «trans» με παθογόνο ή πιθανά παθογόνο παραλλαγή σε αυτοσωματικό υπολειπόμενο γονίδιο που μπορεί να «εξηγεί» τον εμβρυϊκό φαινότυπο. Συνιστάται ισχυρά η διεπιστημονική προσέγγιση για τη τελική εκτίμηση των παραλλαγών άγνωστης κλινικής σημασίας στη βάση των διαθέσιμων επιστημονικών δεδομένων την τρέχουσα χρονική στιγμή [8,12].

κ. **Μη παθογόνες** (benign) ή **πιθανά μη παθογόνες** (likely benign) παραλλαγές **δεν** αναφέρονται.

IV. Συμβουλευτική πριν την ανάλυση (Pre-Test counseling)

➤ Ποια ηθικά και συμβουλευτικά ζητήματα πρέπει να εξετάζονται κατά τη γενετική συμβουλευτική πριν και μετά τον έλεγχο;

¹ Διαθέσιμος εμβρυϊκός φαινότυπος, υπό την έννοια ότι αυτός είναι κατά κανόνα ατελής, καθώς μετά τη γέννηση αναγνωρίζονται συνήθως πρόσθετα μορφολογικά χαρακτηριστικά ή ειδικά παθολογοανατομικά και ιστοπαθολογικά ευρήματα μετά από μεταθανάτια παθολογοανατομική εξέταση.

Οι ενδιαφερόμενοι θα πρέπει να ενημερώνονται από ειδικούς (θεράποντα ιατρό, ιατρό γενετιστή, εργαστηριακό γενετιστή) και **να υπογράφουν έγγραφο συναίνεσης του εργαστηρίου που αναλαμβάνει** τη διεξαγωγή της γενετικής ανάλυσης. Στο έγγραφο αυτό θα πρέπει να εξηγείται με όσο το δυνατόν πιο κατανοητό τρόπο η ανάλυση που προτείνεται, τα πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί της καθώς και η πολιτική αναφοράς των ευρημάτων. Πιο συγκεκριμένα οι ενδιαφερόμενοι θα πρέπει να γνωρίζουν:

- α) Ότι ο στόχος της εξέτασης είναι να βρεθεί – αν υπάρχει – παθογόνος γενετική παραλλαγή που να εξηγεί τα εμβρυϊκά ευρήματα, και ότι δεν δύναται να εξασφαλίσει τη γέννηση υγιούς παιδιού.
- β) Ότι αποτέλεσμα χωρίς εύρημα δεν σημαίνει ότι αποκλείει κάποιο γενετικό νόσημα, καθώς αυτό μπορεί να οφείλεται σε:
 - i. γενετική διαταραχή που δεν ελέγχει η συγκεκριμένη τεχνολογία (π.χ μονογονεϊκή δισωμία, παραλλαγές σε βαθιά εσονικές ή μη κωδικοποιούσες περιοχές κ.α.)
 - ii. άγνωστο μέχρι τώρα γενετικό νόσημα/γονίδιο
 - iii. αδυναμία της χρησιμοποιούμενης τεχνικής να ανιχνεύσει όλους τους τύπους των γενετικών παραλλαγών
 - iv. πιθανότητα ύπαρξης ψευδώς αρνητικών και ψευδώς θετικών ευρημάτων.
- γ) Τον χρόνο που απαιτείται για την ολοκλήρωση της ανάλυσης. Με δεδομένο ότι ο χρόνος έκδοσης των αποτελεσμάτων της αποκάλυψης της αλληλουχίας του εμβρυϊκού DNA κυμαίνεται γενικά μεταξύ 3-4 εβδομάδων (και κατά περίπτωση μπορεί και περισσότερο), είναι πιθανό ότι σε κάποιες περιπτώσεις θα έχει επέλθει τοκετός πριν από την ολοκλήρωση έκδοσης των αποτελεσμάτων.
- δ) Την πιθανότητα να μη δοθεί αποτέλεσμα λόγω π.χ ποιότητας του δείγματος, ή να δοθεί σε χρόνο που να μη μπορεί να επηρεάσει την κύηση ή τον θεραπευτικό χειρισμό του νεογνού.

ε) Την πολιτική αναφοράς των παραλλαγών αβέβαιης κλινικής σημασίας (VUS).

στ) Την πολιτική αναφοράς ή μη των δευτερευόντων και τυχαίων ευρημάτων, τόσο στο έμβρυο όσο και στους γονείς, καθώς και αν συναινούν οι γονείς να γνωρίζουν τέτοια ευρήματα ή όχι.

- **Δευτερεύοντα ευρήματα (secondary findings, SF)** είναι παθογόνες ή πιθανά παθογόνες παραλλαγές σε γονίδια που δεν συνδέονται με την αιτία παραπομπής, αλλά ευθύνονται για την εκδήλωση ασθενειών που μπορεί να επιδέχονται ιατρικής παρέμβασης² [9,20] και σύμφωνα με την τοποθέτηση του ACMG (statement table 1) [11], π.χ γονίδια για προδιάθεση καρκίνου.
- **Τυχαία ευρήματα (incidental findings, IF)** είναι παθογόνες ή πιθανά παθογόνες παραλλαγές που δεν συνδέονται με την αιτία παραπομπής και δεν συμπεριλαμβάνονται στη λίστα γονιδίων σχετιζόμενων με νοσήματα που επιδέχονται ιατρική παρέμβαση² [9-20] και σύμφωνα με την τοποθέτηση του ACMG (statement table 1) [11].

ζ) Ότι οι γενετικές παραλλαγές που θα ανευρεθούν πιθανόν να έχουν αντίκτυπο στο ευρύτερο οικογενειακό περιβάλλον

η) Την πιθανότητα να γίνει γνωστή η μη πατρότητα ή η στενή συγγένεια των βιολογικών γονέων, καθώς και τον τρόπο χειρισμού τέτοιων περιστατικών αναφορικά με την ανάλυση και την γραπτή έκθεση των αποτελεσμάτων.

θ) Ότι τα εργαστηριακά δεδομένα θα χρησιμοποιηθούν ανώνυμα για ερευνητικούς και εκπαιδευτικούς σκοπούς εφόσον υπάρξει έγγραφη συναίνεση.

V. Ενδείξεις Προγεννητικής Εξωμικής Ανάλυσης (Prenatal Exome Sequencing, PES)

➤ Ποιες είναι οι κύριες ενδείξεις για την προγεννητική αλληλούχηση εξωνίων (PES) και πότε πρέπει να εξετάζεται;

² “Medically actionable”, δηλαδή ευρήματα ή αποτελέσματα τα οποία θα οδηγούσαν σε κλινική παρέμβαση από τον πάροχο υγείας του ατόμου, διότι θα υπήρχε καθιερωμένη ιατρική/θεραπευτική παρέμβαση, προληπτική προσέγγιση, ή άλλες πράξεις (π.χ τροποποίηση στη φαρμακευτική αγωγή) που θα μπορούσαν δυνητικά να μεταβάλλουν την κλινική πορεία της νόσου, ή να παράσχουν σημαντική φαρμακογενετική πληροφορία που πιθανώς θα επηρέαζε τη μελλοντική φροντίδα.

Σε όλες τις ενδείξεις PES που ακολουθούν, απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η προηγούμενη ή ταυτόχρονη εφαρμογή μοριακού καρυοτύπου.

α) Σε έμβρυα με:

- πολλαπλές ανωμαλίες
- ευρήματα ύποπτα για σκελετική δυσπλασία (μη σχετιζόμενη με περιορισμό της αύξησης του εμβρύου)
- ηχογενείς νεφρούς, ιδιαίτερα όταν αυτοί είναι διογκωμένοι, με φυσιολογική ουροδόχο κύστη
- μείζονες ανωμαλίες του ΚΝΣ (εξαιρουμένων των ανωμαλιών του νευρικού σωλήνα)³
- μείζονα συγγενή καρδιοπάθεια
- πολλαπλές συγγενείς αρθρώσεων/αρθρογρύπωση (με εξαίρεση την μεμονωμένη αμφοτερόπλευρη στρεβλοποδία),
- φαινομενικά ανεξήγητη εμβρυϊκή υπερανάπτυξη (όλες οι μετρήσεις >97^η ΕΘ),

β) Σε κύηση όπου το έμβρυο έχει μία βασική δομική ανωμαλία ή πολλαπλές δομικές ανωμαλίες σε διάφορα όργανα και:

- i. Τα υπερηχογραφικά ευρήματα θέτουν τη διαφορική διάγνωση συγκεκριμένου μονογονιδιακού νοσήματος
- ii. Το πρότυπο των ανωμαλιών θέτει υποψία για μονογονιδιακή διαταραχή, ακόμη και αν δεν έχει προηγηθεί γενετική εξέταση. Στην περίπτωση αυτή προτείνεται να εκτιμηθεί η εκτέλεση του μοριακού καρυότυπου πριν ή παράλληλα με το PES.

γ) Ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού αδιάγνωστου εμβρύου ή παιδιού με μία ή πολλαπλές δομικές ανωμαλίες: όταν στην παρούσα κύηση εντοπίζονται οι ίδιες ανωμαλίες με προηγούμενη κύηση και δεν υπάρχει γενετική διάγνωση, ούτε για την προηγούμενη παθολογική κύηση, ούτε για το κυοφορούμενο έμβρυο. Εξαιρούνται τα ελλείμματα του νευρικού σωλήνα.

δ) Μεμονωμένος μη ανοσολογικής αιτιολογίας εμβρυϊκός ύδρωπας με φυσιολογικό μοριακό καρυότυπο. Ως ύδρωπας ορίζεται υγρό/οίδημα σε τουλάχιστον δύο διαμερίσματα (π.χ υποδόριο, πλευριτικό υγρό, περικαρδιακό υγρό ή ασκίτης).

ε) Αυχενική διαφάνεια > 4 χιλ. μεταξύ 11ης-14ης εβδομάδας κύησης

στ) Εμμένουσα αυξημένη αυχενική πτυχή (>6 χιλ.) στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης μπορεί να αποτελέσει ένδειξη, εφόσον συνυπάρχουν δομικές ανωμαλίες σε δύο ή περισσότερα συστήματα.

ζ) Σοβαρού βαθμού ανωμαλία ή πλήρης αγενεσία του μεσολοβίου, είτε μεμονωμένη είτε σε συνδυασμό με άλλες ανωμαλίες.

η) Έμβρυα με φαινομενικά μεμονωμένο σημαντικό περιορισμό της αύξησης μη πλακουντιακής αιτιολογίας (βιομετρία <1^η εκ. θέση, απουσία εμφανών ανατομικών ανωμαλιών, φυσιολογικά Doppler). i. Σε φαινομενικά μεμονωμένο περιορισμό της αύξησης πλακουντιακής αιτιολογίας (επηρεασμένα μητρικά ή/και εμβρυϊκά Doppler ή/και άλλες εκδηλώσεις πλακουντιακής ανεπάρκειας με απουσία εμφανών δομικών ανωμαλιών), συνιστάται η ενημέρωση των γονέων για πιθανότητα υποκείμενου μονογονιδιακού νοσήματος ~4%. ii. Προς το παρόν η PES δεν έχει μπει στην καθημερινή πράξη για ενδείξεις άλλες εκτός των εμβρυϊκών ανωμαλιών. Παρόλα ταύτα, θα μπορούσε να εφαρμοστεί μετά από γενετική συμβουλευτική σε έμβρυα χωρίς υπερηχογραφικά ευρήματα, στην περίπτωση που οι βιολογικοί γονείς έχουν ιστορικό τέκνου με σοβαρό γενετικό σύνδρομο που παρουσίαζε φυσιολογικό εμβρυϊκό φαινότυπο και στο οποίο ούτε έγινε, αλλά ούτε είναι πλέον δυνατή η γενετική ανάλυση. Στην περίπτωση αυτή συνιστάται ανάλυση γονέων και εμβρύου (ανάλυση trio).

θ) Σε περιπτώσεις που υπάρχουν οι ανωτέρω ενδείξεις παθολογικών ευρημάτων από τον απεικονιστικό προγεννητικό έλεγχο και έχει ήδη δρομολογηθεί διακοπή της κύησης ή προκύψει αυτόματα αποβολή ή ενδομήτριος θάνατος του εμβρύου στο Β' ή Γ' τρίμηνο της κύησης, είναι σκόπιμο να ληφθούν υπόψη τα ευρήματα της περιγεννητικής παθολογοανατομικής/ιστοπαθολογικής εξέτασης, τα οποία είναι πιθανόν να συμβάλουν στον καθορισμό πληρέστερου ή/και διαγνωστικού φαινοτύπου με την καταγραφή πρόσθετων ευρημάτων με διαγνωστική, προγνωστική ή /και ερευνητική αξία

³ Η ήπια κοιλιομεγαλία ορίζεται ως οπίσθιο κέρασ σταθερά αυξημένο 10-12 χιλ. σε δύο ή περισσότερες υπερηχογραφικές μετρήσεις. Η περίπτωση αυτή δεν θεωρείται ότι αποτελεί μείζονα μεμονωμένη ανωμαλία του ΚΝΣ.

που θα υποβοηθήσουν την αξιολόγηση των μοριακών γενετικών αποτελεσμάτων. Στην περίπτωση αυτή συνιστάται να αποθηκεύεται σε φυσιολογικό ορό και σε συνθήκες κατάψυξης εμβρυϊκός ιστός **πριν από τη μονιμοποίηση** σε φορμόλη.

VI. Ευρήματα που δεν αποτελούν επί του παρόντος ενδείξεις για PES

➤ Ποια είναι τα ευρήματα που δεν αποτελούν επί του παρόντος ενδείξεις για PES;

- α) «δείκτες ανευπλοειδίας» ή soft markers πχ. κύστεις του χοριοειδούς πλέγματος, ηχογενείς εστίες καρδιάς, ήπια διάταση νεφρικής πυέλου, μικρό ρινικό οστό, μακρά οστά στην 3^η ΕΘ κλπ.
- β) Φαινομενικά ανεξήγητο υδράμνιο και ολιγάμνιο (επί του παρόντος υπάρχουν ανεπαρκή στοιχεία από τη βιβλιογραφία, αλλά αυτό είναι πιθανό να αλλάξει στο μέλλον) [21].
- γ) Μεμονωμένες ανοικτές βλάβες του νευρικού σωλήνα
- δ) Αμνιακές ταινίες
- ε) Γονεϊκή επιθυμία

VII. Συμβουλευτική Μετά την Ανάλυση (Post-Test counseling)

➤ Πώς πρέπει να κοινοποιούνται τα αποτελέσματα των γενετικών εξετάσεων στους γονείς με τρόπο που να διευκολύνει τη λήψη τεκμηριωμένων αποφάσεων;

Μετά την ολοκλήρωση των αποτελεσμάτων είναι χρήσιμο οι ενδιαφερόμενοι να λάβουν **συμβουλευτική από ειδικούς**, ακόμη και όταν δεν έχει βρεθεί κάποιο κλινικά σημαντικό εύρημα. Επιπροσθέτως θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι:

- Η γραπτή έκθεση θα πρέπει να συντάσσεται σύμφωνα με το υπογεγραμμένο έγγραφο συναίνεσης των ενδιαφερόμενων μερών σχετικά με το ποια ευρήματα επιθυμούν να αναφερθούν και ποια όχι.
- Θα πρέπει να γνωστοποιηθεί ότι η κατηγοριοποίηση των ευρημάτων γίνεται σύμφωνα με τις τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες του ACMG,

αφορά στην επιστημονική γνώση την δεδομένη χρονική στιγμή, και **μπορεί να αναθεωρηθεί με την πάροδο του χρόνου**, όταν νέα επιστημονικά δεδομένα συμπεριληφθούν στις βάσεις δεδομένων.

- Είναι σκόπιμο να συζητηθεί το ενδεχόμενο της **εκ νέου ανάλυσης** των γενετικών δεδομένων σε περιστατικά όπου προκύπτουν νέα κλινικά δεδομένα κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του πάσχοντος, ή πρόσθετα μεταθανάτια νεκροτομικά, παθολογοανατομικά και ιστοπαθολογικά ευρήματα που συμβάλουν στη συσχέτιση φαινοτύπου/γονοτύπου, ώστε να γίνει οικογενειακός προγραμματισμός για επόμενη κύηση.
- Στην γραπτή έκθεση θα πρέπει να γνωστοποιούνται τα αποτελέσματα με απλή γλώσσα, κατανοητή από μη ειδικούς, και να αναφέρονται οι επιλογές για επόμενη κύηση, καθώς και η αναγκαιότητα ελέγχου και άλλων μελών της οικογένειας για εντοπισμό φορέων του παθολογικού ευρήματος.

VIII. Σύνοψη

- Ο βασικός ρόλος της αλληλούχησης νέας γενιάς και πιο συγκεκριμένα της αλληλούχησης των εξωνικών περιοχών, είναι η ανίχνευση γενετικών παθήσεων που οφείλονται σε παραλλαγές στο επίπεδο του ενός ή μερικών νουκλεοτιδίων, καθώς και σε μικρές ενθέσεις και ελλείμματα εντός της κωδικοποιούσας περιοχής του γονιδιώματος.
- Συνιστάται σε όλα τα εργαστήρια να προβούν σε διαδικασία διαπίστευσης (ISO 15189) για τον προγεννητικό έλεγχο μέσω αλληλούχησης νέας γενιάς και στο ενδιάμεσο χρονικό διάστημα να συμμετέχουν σε προγράμματα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου.
- Ο θεράπων ιατρός θα πρέπει να ενημερώνει το εργαστήριο εγγράφως, πριν την ανάλυση, για τον διαθέσιμο φαινότυπο του εμβρύου καταγράφοντας λεπτομερώς τα υπερηχογραφικά ευρήματα, την MRI κ.α, καθώς και τυχόν οικογενειακό ιστορικό που του έχει γνωστοποιηθεί.
- Στη διαγνωστική προσέγγιση υπάρχει ισχυρή σύσταση η ανάλυση να περιλαμβάνει ταυτόχρονη ανάλυση του εμβρύου και των γονέων (trio ανάλυση).

- Η κατηγοριοποίηση των παραλλαγών θα πρέπει να γίνεται με βάση διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες. Η ερμηνεία της παθογένειας των ευρημάτων, σε συνδυασμό με την κλινική σημασία τους, με βάση τον διαθέσιμο εμβρυϊκό φαινότυπο θα πρέπει να συζητούνται από ομάδα ειδικών (θεράπων ιατρός, εμβρυομητρικός ιατρός, ιατρός γενετιστής και εργαστηριακός γενετιστής). Οι παραλλαγές που αναφέρονται σε προγεννητικά δείγματα θα πρέπει να είναι οι παθογόνες (pathogenic) και οι πιθανά παθογόνες (likely pathogenic) σε γονίδια που σχετίζονται με τον διαθέσιμο εμβρυϊκό φαινότυπο. Παραλλαγές αβέβαιης κλινικής σημασίας (VUS), μη παθογόνες (benign) ή πιθανά μη παθογόνες (likely benign) δεν αναφέρονται.
- Οι ενδιαφερόμενοι θα πρέπει να ενημερώνονται από ειδικούς (θεράποντα ιατρό, ιατρό γενετιστή, εργαστηριακό γενετιστή) και να υπογράφουν έγγραφο συναίνεσης του εργαστηρίου που αναλαμβάνει τη διεξαγωγή της γενετικής ανάλυσης. Στο έγγραφο αυτό θα πρέπει να εξηγείται με όσο το δυνατόν πιο κατανοητό τρόπο η ανάλυση που προτείνεται, τα πλεονεκτήματα και οι περιορισμοί της καθώς και η πολιτική αναφοράς των ευρημάτων.
- Σημειώνονται λεπτομερώς τόσο οι ενδείξεις όσο και τα ευρήματα που δεν αποτελούν ένδειξη για έλεγχο με αλληλούχηση νέας γενιάς.
- Μετά την ολοκλήρωση των αποτελεσμάτων είναι χρήσιμο οι ενδιαφερόμενοι να λάβουν συμβουλευτική από ειδικούς, ακόμη και όταν δεν έχει βρεθεί κάποιο κλινικά σημαντικό εύρημα.

ΙΧ. Τι αλλάζει από την προηγούμενη κατευθυντήρια οδηγία της ΕΜΓΕ

- Δεν υπάρχει προηγούμενη οδηγία της ΕΜΓΕ.

Ομάδα εργασίας (αλφαβητικά)

Βούλα Βελισσαρίου

Γενετίστρια, Αθήνα

Αθηνά Βέρβερη

Κλινική Γενετίστρια, Θεσσαλονίκη

Ασπασία Διβανέ

Γενετίστρια, Αθήνα

Αναστασία Κωνσταντινίδου

Παθολογοανατόμος, Αθήνα

Γιώργος Μακρυδήμας

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Ιωάννινα

Περικλής Μακρυθανάσης

Κλινικός Γενετιστής, Αθήνα

Ανδρέας Πάμπανος

Γενετιστής, Αθήνα

Ιωάννης Παπουλίδης

Γενετιστής, Αθήνα

Σταύρος Σηφάκης (συντονιστής)

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Κρήτη

Χρυσταλένα Σοφοκλέους

Γενετίστρια, Αθήνα

Αλέξανδρος Σωτηριάδης

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Θεσσαλονίκη

Μαρία Τζέτη

Γενετίστρια, Αθήνα

Ιωάννα Traeger-Συνοδινού

Γενετίστρια, Αθήνα

Λίνα Φλωρεντίν

Γενετίστρια, Αθήνα

Ελένη Φρυσίρα

Κλινική Γενετίστρια, Αθήνα

Ομάδα συντονισμού

Απόστολος Αθανασιάδης

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Θεσσαλονίκη

Θεμιστοκλής Δαγκλής

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Θεσσαλονίκη

Παναγιώτης Μπεναρδής

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Αθήνα

Βασίλειος Περγιαλιώτης

Μαιευτήρας-Γυναικολόγος, Αθήνα

X. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Boyd PA, Tonks AM, Rankin J, Rounding C, Wellesley D, Draper ES, BINOCAR working group. Monitoring the prenatal detection of structural fetal congenital anomalies in England and Wales: Register-based study. *J Med Screen* 2011;18:2-7.
2. Calzolari E, Barisic I, Loane M, Morris J, Wellesley D, Dolk H, et al. Epidemiology of multiple congenital anomalies in Europe: A EUROCAT population-based registry study. *Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol* 2014;100:270-276.
3. Mone F, McMullan DJ, Williams D, Chitty LS, Maher ER, Kilby MD. Fetal Genomics Steering Group of the British Society for Genetic Medicine; Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Evidence to Support the Clinical Utility of Prenatal Exome Sequencing in Evaluation of the Fetus with Congenital Anomalies. Scientific Impact Paper No. 64. *BJOG* 2021;128(9):e39-e50.
4. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med* 2012;367:2175-2184.
5. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med* 2020; 22(2):245-257.
6. Lazier J, Hartley T, Brock JA, Caluseriu O, Chitayat D, Laberge AM, et al. On behalf of the Canadian College of Medical Geneticists. Clinical application of fetal genome-wide sequencing during pregnancy: position statement of the Canadian College of Medical Geneticists. *J Med Genet* 2022;59:931-937
7. Matthijs G, Souche E, Alders M, Corveleyn A, Eck S, Feenstra I, et al. Guidelines for diagnostic next-generation sequencing. *Eur J Hum Genet* 2016;24:2-5.
8. Monaghan KG, Leach NT, Pekarek D, Prasad P, Rose NC; ACMG Professional Practice and Guidelines Committee. The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: a points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med*. 2020;22(4):675-680.
9. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, et al. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021;23(8):1381-1390.
10. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, Amendola LM, Brothers K, Chung WK, et al. ACMG STATEMENT. ACMG SF v3.1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2022;24(7):1407-1414.
11. Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, Amendola LM, Brothers K, Chung WK, et al; ACMG Secondary Findings Working Group. Electronic address: documents@acmg.net. ACMG SF v3.2 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2023;25(8):100866.
12. Van den Veyver IB, Chandler N, Wilkins-Haug LE, Wapner RJ, Chitty LS; ISPD Board of Directors. International Society for Prenatal Diagnosis Updated Position Statement on the use of genome-wide sequencing for prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 2022;42(6):796-803.
13. Mone F, Abu Subieh H, Doyle S, Hamilton S, McMullan DJ, Allen S, et al. Evolving fetal phenotypes and clinical impact of progressive prenatal exome sequencing pathways: cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2022;59(6):723-730.
14. Mellis R, Oprych K, Scotchman E, Hill M, Chitty LS. Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Prenat Diagn* 2022;42(6):662-685.
15. Chandler NJ, Scotchman E, Mellis R, Ramachandran V, Roberts R, Chitty LS. Lessons learnt from prenatal exome sequencing. *Prenat Diagn* 2022;42(7):831-844.
16. Shickh S, Mighton C, Uleryk E, Pechlivanoglou P, Bombard Y. The clinical utility of exome and genome sequencing across clinical indications: a systematic review. *Hum Genet* 2021;140(10):1403-1416.
17. Manickam K, McClain MR, Demmer LA, Biswas S, Kearney HM, Malinowski J, et al; ACMG Board of Directors. Exome and genome sequencing for pediatric patients with congenital anomalies or intellectual disability: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med* 2021;23(11):2029-2037.
18. Wang Y, Greenfeld E, Watkins N, Belesiotis P, Zaidi SH, Marshall C, et al. Diagnostic yield of genome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies. *Prenat Diagn* 2022;42(7):822-830.

19. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med 2015;17(5):405-24.
20. Miller DT, Lee K, Gordon AS, Amendola LM, Adelman K, Bale SJ, et al; ACMG Secondary Findings Working Group. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2021 update: a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med 2021;23(8):1391-1398.
21. Shi X, Ding H, Li C, Liu L, Yu L, Zhu J, et al. Clinical utility of chromosomal microarray analysis and whole exome sequencing in fetuses with oligohydramnios. Ann Med 2023;55(1):2215539.

Η παρούσα οδηγία συντάχθηκε από ομάδα ιατρών και γενετιστών ειδικών στον προγεννητικό έλεγχο, υπό την αιγίδα της Ελληνικής Εταιρείας Υπερήχων στη Μαιευτική και Γυναικολογία (ΕΕΥΜΓ) και συζητήθηκε σε ειδικό "workshop" που διοργανώθηκε από την ΕΕΥΜΓ 2023. Οι Επιστημονικοί Φορείς που συμμετείχαν είναι: ΕΕΥΜΓ, Ελληνική Εταιρεία Ιατρικής Γενετικής, Σύνδεσμος Ιατρικών Γενετιστών Ελλάδας.

Οι κατευθυντήριες οδηγίες δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε όλες ανεξαιρέτως τις περιπτώσεις και δεν έχουν σκοπό να υποκαταστήσουν την κλινική κρίση του θεράποντος γιατρού. Η περίπτωση κάθε ασθενούς είναι ξεχωριστή και ο γιατρός οφείλει να προσαρμόσει την επιστημονική γνώση στις ιδιαιτερότητες του συγκεκριμένου περιστατικού.