

# Rani kombinirani probir i neinvazivni prenatalni testovi u prenatalnom probiru kromosomopatija

---

Škrobo, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:500543>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

**Tea Škrobo**

**Rani kombinirani probir i neinvazivni prenatalni  
testovi u prenatalnom probiru kromosomopatija**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2024.**

Ovaj diplomski rad izražen je u Zavodu za perinatalnu medicinu Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb pod vodstvom doc. dr. sc. Trpimira Goluže i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.

# 1 POPIS I OBJAŠNJENJA KRATICA:

**aCGH** – (engl. Array Comparative Genomic Hybridization) komparativna genomička hibridizacija na mikročipu

**ACOG** – (engl. American College of Obstetricians and Gynecologists) Američko društvo porodničara i ginekologa

**AFP** – alfa fetoprotein

**cfDNA** – (engl. cell free deoxyribonucleic acid) slobodna cirkulirajuća deoksiribonukleinska kiselina

**cffDNA** – (engl. cell free fetal deoxyribonucleic acid) slobodna cirkulirajuća fetalna deoksiribonukleinska kiselina

**CMA** – (engl. chromosomal microarray) kromosomski mikročip

**CRL** – (engl. crown-lump length) udaljenost tjeme-trtica

**CVS** – (engl. chorionic villus sampling) biopsija korionskih resica

**DIA** – dimerni inhibin A

**DNA** – (engl. deoxyribonucleic acid) deoksiribonukleinska kiselina

**DR** – (engl. detection rate) stopa otkrivanja

**DTC** – (engl. direct to consumer) komercijalno dostupni genetički testovi

**EDTA** – etilendiamintetraoctena kiselina

**FCT** – (engl. First trimester combined test) rani kombinirani probir

**FF** – (engl. fetal fraction) fetalna frakcija

**FPR** – (engl. false positive risk) stopa lažno pozitivnog rezultata

**FSH** – folikulostimulirajući hormon

**HCG** – humani korionski gonadotropin

**IUGR** – (engl. Intrauterine growth restriction) intrauterin zastoj rasta

**LH** – luteinizirajući hormon

**NGS** – (engl. next-generation sequencing) sekvenciranje sljedeće generacije

**NIPT** – neinvazivni prenatalni test

**NT** – (engl. nuchal translucency) nuhalni nabor

**MPSS** – (engl. Massive Parallel Sequencing) masivno paralelno sekvenciranje

**PAPP-A** – (engl. pregnancy-associated plasma protein A) plazma protein A vezan uz trudnoću

**PPV** – pozitivna prediktivna vrijednost

**RCA** – (engl. rolling circle amplification)

**SNP** – (engl. single nucleotide polymorphism) polimorfizam jednog nukleotida

**T21** – trisomija 21

**T18** – trisomija 18

**T13** – trisomija 13

**TSH** – hormon koji stimulira štitnjaču

**UE3** – (engl. unconjugated estriol) nekonjugirani estriol

**VUS** – (engl. variant of uncertain significance) dvarijanta neizvjesnog značenja

# SADRŽAJ

POPIS I OBJAŠNENJA KRATICA:.....	
SADRŽAJ.....	
SAŽETAK .....	
SUMMARY .....	
UVOD.....	1
1 KROMOSOMOPATIJE .....	2
1.1 Incidencija, etiologija i čimbenici rizika .....	2
1.2 Trisomija 21 .....	3
1.3 Trisomija 18 .....	6
1.4 Trisomija 13 .....	7
1.5 Aneuploidije spolnih kromosoma.....	8
1.5.1 Turnerov sindrom .....	8
1.5.2 Klinefelterov sindrom.....	8
2 RANI KOMBINIRANI PROBIR.....	10
2.1 Ultrazvučni biljezi .....	10
2.2 Biokemijski biljezi.....	11
3 NEINVAZIVNI PRENATALNI TESTOVI.....	13
3.1 Slobodni cirkulirajući fragmenti DNA (cfDNA).....	13
3.2 Fetalna frakcija .....	14
3.3 Metode sekvenciranja.....	15
3.3.1 Cjelogenomsko sekvenciranje.....	15
3.3.2 Ciljano sekvenciranje .....	16
3.4 NIPT i trisomije .....	18
3.5 NIPT i abnormalnosti spolnih kromosoma.....	18
3.6 Komercijalni NIPT testovi .....	19
3.7 Prednosti NIPT-a.....	21
3.8 Nedostatci NIPT-a .....	22
ZAKLJUČAK.....	24
ZAHVALE.....	25
LITERATURA .....	27
ŽIVOTOPIS .....	32

## SAŽETAK

### RANI KOMBINIRANI PROBIR I NEINVAZIVNI PRENATALNI TESTOVI U PRENATALNOM PROBIRU KROMOSOMOPATIJA

**Tea Škrobo**

Kromosomopatija je promjena u strukturi ili broju kromosoma koja može uzrokovati različite kliničke posljedice. Abnormalnosti broja kromosoma dijele se na poliploidije i aneuploidije, gdje dolazi do gubitka ili dobitka jednog kromosoma. Identifikacija ovih abnormalnosti je ključna za preventivne strategije, genetsko savjetovanje i odgovarajuće liječenje. Najčešći test koji se nudi je rani kombinirani probir u prvom tromjesečju. On uključuje detaljni ultrazvuk za mjerenje udaljenosti tjeme-trtica i nuhalne translucencije fetusa u razdoblju od 11. do 13. tjedna gestacije, uz serumski probir slobodnog beta-humanog korionskog gonadotropina ( $\beta$ hCG) i proteina A povezanog s trudnoćom (PAPP-A) između 8. i 13. tjedna gestacije. Iako rani kombinirani probir ima stopu detekcije od 90 %, glavni problem je relativno visoka stopa lažno pozitivnih rezultata, gdje bi 1 od 20 (5 %) pacijentica bila nepotrebno zabrinuta. S pojavom neinvazivnog prenatalnog testiranja (NIPT) vrlo je izgledno da će upravo ono zamijeniti klasični rani probir, a neke zemlje su ga već uvele u svoj nacionalni probirni program. Radi se o tehnici koja analizira kratke fragmente slobodne fetalne DNK uzduž cijelog genoma kako bi se identificirale kromosomske abnormalnosti poput Patauovog (T13), Edwardsovog (T18) i Downovog sindroma (T21). Zahvaljujući napretku masovnog paralelnog sekvenciranja, NIPT je značajno smanjio upotrebu invazivnih metoda poput amniocenteze i biopsije korionskih resica te postaje ključan probirni test zbog svoje jednostavnosti, neinvazivnosti i niskog rizika. Međutim, ovi testovi se često provode bez adekvatnog genetičkog savjetovanja te su katkad pogrešno interpretirani kao dijagnostički testovi, a zapravo su testovi probira. Neovisno o tome, uvođenje neinvazivnog prenatalnog testiranja predstavlja značajan napredak u identifikaciji kromosomopatija, omogućujući precizniju dijagnostiku i unaprjeđujući skrb za trudnice i nerođene potomke.

**Ključne riječi:** Downov sindrom, metode probira, NIPT, prenatalna dijagnostika, slobodna cirkulirajuća DNK, trisomija

## SUMMARY

### FIRST TRIMESTER COMBINED SCREENING AND NON-INVASIVE PRENATAL TESTING IN PRENATAL SCREENING FOR CHROMOSOMAL ABNORMALITIES

**Tea Škrobo**

Chromosomopathy is a change in the structure or number of chromosomes that can cause various clinical consequences. Numerical chromosomal abnormalities can be polyploidies or aneuploidies, involving the loss or gain of a single chromosome. Identifying these abnormalities is crucial for preventive strategies, genetic counselling, and appropriate treatment. The most common test offered is the combined first trimester screening. It includes detailed ultrasound to measure the crown-rump length and nuchal translucency of the fetus between the 11th and 13th weeks of gestation, combined with serum screening of free beta-human chorionic gonadotropin ( $\beta$ hCG) and pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) between the 8th and 13th weeks of gestation. Although early combined screening has a detection rate of 90 %, the main issue is the relatively high rate of false positive results, where 1 out of 20 (5 %) patients would be unnecessarily concerned. With the emergence of non-invasive prenatal testing (NIPT), it is very likely that it will replace traditional early screening, and some countries have already incorporated it into their national screening programs. This technique analyses cell-free DNA fragments across the whole genome to identify chromosomal abnormalities such as Patau (T13), Edwards (T18), and Down syndrome (T21). Thanks to the advancement of massive parallel sequencing, NIPT has significantly reduced the use of invasive methods such as amniocentesis and chorionic villus sampling and will probably become a key screening test due to its simplicity, non-invasiveness, and low risk. However, these tests are often performed without adequate genetic counselling and are sometimes wrongly interpreted as diagnostic tests, when in fact they are screening tests. Nonetheless, the introduction of non-invasive prenatal testing represents a significant advancement in the identification of chromosomal abnormalities, enabling more precise diagnosis and improving care for pregnant women and their unborn children.

**Keywords:** Down syndrome, screening methods, NIPT, prenatal diagnosis, cell-free circulating DNA, trisomy



## UVOD

Kromosomske abnormalnosti fetusa jedan su od vodećih uzroka mrtvorođenosti i prirođenih malformacija. Aneuploidija je kromosomska abnormalnost viška ili manjka kromosoma uzrokovana pogreškama u procesu mejotičke stanične diobe. Najčešća aneuploidija je Downov sindrom koji je rezultat prisutnosti dodatnog kromosoma 21 (trisomija 21). Trisomija 18 ili Edwardsov sindrom, druga je najčešća aneuploidija. Vjerojatnost preživljavanja nakon rođenja s ovim sindromom izuzetno je niska, oko 10 % djece preživi više od godinu dana. Trisomija 13 ili Patauov sindrom također znatno smanjuje životni vijek. Čak 44 % novorođenčadi s Patauovim sindromom umire u prvom mjesecu života. Turnerov sindrom aneuploidija je spolnog kromosoma kod koje nedostaje cijeli ili dio kromosoma X. Radi se većinom o ženama kariotipa 45 X (1).

Svrha prenatalne dijagnostike je smanjenje učestalosti i prevalencije nasljednih stanja koja uzrokuju značajno slabiju kvalitetu života, trajnu ovisnost o tuđoj skrbi i pomoći i bitno kraći životni vijek oboljele osobe te imaju snažan utjecaj kako na psihološke tako i na ekonomske aspekte života tih ljudi te predstavljaju ekonomski teret za nacionalne zdravstvene sustave (2). Prenatalno testiranje na kromosomske abnormalnosti osmišljeno je kako bi pružilo točnu i pravovremenu procjenu rizika od postojanja kromosomskog poremećaja. Postoji više metoda prenatalnog probira, odnosno dijagnostičkih testova za postavljanje sumnje na postojanje kromosomske anomalije. Testovi se međusobno razlikuju po razini informacija koje se mogu iz njih iščitati, no svi imaju određena ograničenja. Ne postoji superiorni test, stoga je potreban strogo individualan pristup svakoj trudnici (3).

Prije petnaestak godina, 2011. godine predstavljen je neinvazivni prenatalni test (NIPT) za otkrivanje fetalnih aneuploidija. NIPT se temelji na analizi slobodne DNK dobivene iz majčine krvi i ima nekoliko određene prednosti u usporedbi s drugim metodama probira poput kombiniranog testa u prvom tromjesečju (FCT) (4).

# 1. KROMOSOMOPATIJE

Kromosomopatija, odnosno kromosomska abnormalnost, poremećaj je karakteriziran morfološkom ili numeričkom promjenom u jednom ili više kromosoma. Poremećaj može biti vezan uz autosomne ili spolne kromosome. Vrlo rijetko poremećaj istovremeno zahvaća i autosome i spolne kromosome.

Normalni ljudski kariotip sadrži DNK organiziranu u 46 kromosoma: 22 para homolognih autosomnih kromosoma i set spolnih kromosoma koji se sastoje od dva X kromosoma kod žena ili jednog X i jednog Y kromosoma kod muškaraca. Sva genetska informacija potrebna za rast i razvoj potječe iz kromosoma (oko 20 do 25 tisuća gena). Kromosomske abnormalnosti obično uključuju pogrešku u diobi stanica (mitoza ili mejoza), koja se može dogoditi u predimplantacijskom, prenatalnom ili postnatalnom razdoblju. Ove promjene imaju značajne kliničke posljedice, poput: spontanih pobačaja, mrtvorodenosti, neonatalne smrti, malformacija, intelektualne ograničenosti ili prepoznatljivog sindroma. Točna i pravovremena identifikacija ovih kromosomskih pogrešaka važna je zbog preventivne strategije, genetskog savjetovanja i odgovarajućeg liječenja (5).

Abnormalnost broja kromosoma odnosno numerička abnormalnost može biti uzrokovana dobicom jednog ili više potpunih haploidnih setova kromosoma (poliploidni kariotip). Primjer je triploidni broj kromosoma (npr. 69, XXY) u parcijalnoj hidatiformnoj moli. Međutim, češće se događa selektivni dobitak ili gubitak pojedinog kromosoma (aneuploidija). Na primjer, trisomija 21, koja uzrokuje Downov sindrom, karakterizirana je dobicom jedne dodatne kopije kromosoma 21. Osim numeričkih postoje i strukturne kromosomske anomalije koje obuhvaćaju promjene koje nastaju zbog jednog ili više prekida u kromosomu, nakon kojeg odvojeni fragmenti mogu sudjelovati u kromosomskim preuređenjima (6).

## 1.1 Incidencija, etiologija i čimbenici rizika

Kromosomski poremećaji značajna su kategorija ljudskih bolesti. Javljaju se u 0,5 % svih živorođene novorođenčadi i u svakoj pedesetoj trudnoći žena starijih od 35 godina. Uzrokuju 50 % svih spontanih pobačaja u prvom tromjesečju i odgovorni za više od 100 ljudskih sindroma. Većina fetusa s kromosomskom abnormalnošću ne preživi (7). Etiologija

kromosomskih abnormalnosti prilično je varijabilna. Najčešći uzrok kromosomopatija je greška koja se događa tijekom diobe stanica. Ostali uzroci su majčina dob i utjecaj okoliša. Očeva dob manje je važna zbog razlike u diobi ženskih i muških reproduktivnih stanica.

Ženska novorođenčad pri rođenju ima 500.000 – 1.000.000 jajnih stanica no do puberteta taj broj se smanji na svega 10 %. Tijekom života, a poglavito u reproduktivnoj dobi, jajne stanice kontinuirano višekratno prolaze kroz mejozu. Upravo zbog tih intenzivnih dioba, kasnija reproduktivna dob rizična je za trudnoće u smislu učestalijih kromosomopatija ploda. Nasuprot tome, razvoj spermija, muških spolnih stanica, traje samo 72 sata pa je stoga rizik pogreške tijekom tog razdoblja značajno manji. Iz tog razloga ženama iznad 35. godine života preporučuje se posjeta genetičkom savjetovalištu kako bi se već prenatalno dijagnosticirala eventualna kromosomopatija (7). Upitan je utjecaj okoliša na nastanak kromosomopatija. Iako nisu pronađene značajne razlike u incidenciji, smatra se da izloženost rendgenskom zračenju i određenim lijekovima ima nepovoljan kumulativni karakter za nastanak kromosomskih poremećaja (7).

## 1.2 Trisomija 21

Downov sindrom je najčešća kromosomska abnormalnost među živorođenom djecom te je najčešći oblik intelektualne ograničenosti uzrokovane mikroskopski dokazivom kromosomskom aberacijom (8). Sindrom je posljedica trisomije cijelog ili dijela kromosoma 21 u svim ili samo nekim stanicama tijela, te naknadnog povećanja ekspresije zbog genske doze trisomnih gena. Povezan je s mentalnom retardacijom, prirođenim srčanim manama, gastrointestinalnim anomalijama, slabim neuromišićnim tonusom, dismorfijom glave, vrata i dišnih putova, audiovestibularnim i vizualnim oštećenjem, karakterističnim facijalnim i tjelesnim značajkama, hematopoetskim poremećajima i većom incidencijom drugih zdravstvenih poremećaja (9). Rano otkrivanje trudnoća s visokim rizikom za trisomiju 21 primarni je cilj prenatalnog probira na aneuploidije (10). Američko društvo porodničara i ginekologa (ACOG) preporučuje probir na aneuploidije svim trudnicama u ranoj fazi trudnoće. Postoji više metoda prenatalnog probira kromosomopatija.

Rani kombinirani probir uključuje sonografsko određivanje nuhalnog nabora (fiziološki 'marker' u fetusu koji odražava fetalni limfatički i vaskularni razvoj u području glave i vrata)

(9) te određivanje biokemijskih markera povezanih s aneuploidijom: trudnoća-povezani plazma protein A (PAPP-A) i slobodni-beta ili ukupni hCG. Kod većine pacijentica, probir se obavlja u 11+0 do 13+6 tjedana trudnoće. Neki protokoli omogućuju ranije prikupljanje uzorka seruma (počevši od 9+0 tjedana) s kasnijim obavljanjem ultrazvuka (10+3 do 13+6 tjedana) (10). Izoliranom primjenom određivanja nuhalnog nabora, otprilike 83 % trisomija 21 u trudnoći identificirano je u prvom tromjesečju. Kasnije je otkriveno da probir kombinacijom dobi majke, određivanjem nuhalnog nabora i dvostrukog probira [trudnoća-povezanog plazma proteina (PAPP-A) i slobodnog  $\beta$ -hCG] ili trostrukog probira [alfa-fetoproteina (AFP), estriola i slobodnog  $\beta$ -hCG] ima potencijalnu osjetljivost od 94 % za stopu lažno pozitivnih rezultata od 5 % (9). Nudi se i četverostruki probir koji mjeri razinu biokemijskih markera AFP, nekonjugiranog estriola (uE3), humanog korionskog gonadotropina (hCG) i dimernog inhibina A (DIA) u majčinom serumu. Razine AFP-a i uE3-a u majčinom serumu, u prosjeku, su smanjene za 25 do 30 % u trudnoćama zahvaćenim Downovim sindromom, dok su razine hCG-a i DIA-a, u prosjeku, dvostruko više nego u trudnoćama koje nisu zahvaćene (10). Nosna kost važan je biljeg u otkrivanju fetalnih kromosomskih abnormalnosti. Odsutnost nosne kosti u fetusa na pregledu između 11. i 14. tjedna povezana je s Downovim sindromom. Ovaj marker je u početku pronađen u 73 % fetusa s trisomijom 21 i samo u 0,5 % kromosomski normalnih fetusa. Kombinacija dobi majke, procjene nuhalnog nabora, biokemijskog screeninga majčinog seruma (putem dvostrukog ili trostrukog testa) i pregleda nosne kosti povećava stopu detekcije kromosomopatije na 97 %. Općenito je prihvaćeno da je fetalna nosna kost vrijedan sonografski marker, bez obzira na dokazane rasne razlike u duljini ove kosti (10).

*Tablica 1. Stope detekcije i stopa lažno pozitivnih rezultata Downovog sindroma u različitim testovima probira  
Prema: Kazemi M, Salehi M, Kheirollahi M. (2016) (7)*

TEST	Marker aneuploidije	Trimestar	DR(%)	FPR(%)
NT	NT	1.	64-70	5
Kombinirani probir	NT + PAPP-A+ $\beta$ hCG	1.	65	5
Trostruki probir	$\beta$ hCG + AFP + estriol	2.	70	14
Četverostruki probir	$\beta$ hCG + AFP + estriol + inhibin A	2.	81	7
Serumski integrirani	$\beta$ hCG + AFP + estriol + inhibin A + PAPP-A	1. i 2.	85-88	5

Integrirani	NT + $\beta$ hCG + AFP + estriol + inhibin A + PAPP-A	1. i 2.	94-96	1
Sekvencijski	NT + $\beta$ hCG + AFP + estriol + inhibin A + PAPP-A	1. i 2.	95	2

Potencijalni rizik od gubitka fetusa radi invazivnih postupaka potaknuo je potragu za neinvazivnim pristupima za genetski probir i dijagnozu (9). Neinvazivno prenatalno testiranje (NIPT) tehnika je koja je unaprijedila područje prenatalnog testiranja za otkrivanje genetskih abnormalnosti i stanja s ciljem smanjenja incidencije i prevalencije navedenih nasljednih stanja. NIPT ostaje metoda izbora za uobičajene autosomne aneuploidije, uglavnom trisomiju 21, kao i ostale monogenske poremećaje (11). Napredak u genomici i povezanim tehnologijama rezultirao je razvojem neinvazivnog prenatalnog testiranja korištenjem sekvenci fetalne DNA, izolirane iz majčinog uzorka krvi. Gotovo 4-10 % DNA u majčinom serumu je fetalnog podrijetla. Otkrivanje fetalne trisomije s pomoću cfDNA iz majčine krvi moguće je zahvaljujući masovnom paralelnom sekvenciranju (MPSS). MPSS otkriva veće relativne količine DNA u majčinoj plazmi iz fetalnog trisomnog kromosoma u usporedbi s referentnim kromosomima.

*Tablica 2 Stope detekcija i lažno pozitivni rezultati najčešćih aneuploidija koristeći NIPT Prema: Kazemi M, Salehi M, Kheirollahi M. (2016) (7)*

Kromosom	Stopa detekcije (%) 95% CI	Lažno pozitivan rezultat (%) 95% CI
Trisomija 21	99.2 (98.5-99.6)	0.09 (0.05-0.14)
Trisomija 18	96.3 (94.3-97.9)	0.13 (0.07-0.20)
Trisomija 13	91.0 (85-95.6)	0.13 (0.05-0.26)
Monosomija X	90.3 (85.7-94.2)	0.23 (0.14-0.34)

Široka primjena metoda probira u kombinaciji s prenatalnom dijagnostikom bitno je unaprijedila i učinila sigurnijim prenatalno dijagnosticiranje Downovog sindroma što je utjecalo i na značajno smanjenje broja rođenih s Downovim sindromom (10).

### 1.3 Trisomija 18

Trisomija 18, poznata kao Edwardsov sindrom, druga je najčešća autosomna trisomija zabilježena pri rođenju s prevalencijom 1 na 5500 rođenih. Kao i kod trisomije 21, postoji povezanost između poodmakle dobi majke i pojave trisomije 18 kod potomaka. Omjer žena i muškaraca među pogođenom novorođenčadi je 3:1. Klinički spektar trisomije 18 može uključivati bilo koji organski sustav. Glavne fenotipske značajke uključuju: intrauterini zastoja rasta (IUGR), hipertoniju, istaknut zatiljak, mala usta, mikrognatiju, šiljate uši, kratak prsni koš, potkovasti bubreg i savijene prste, s kažiprstom koji preklapa treći prst i malim prstom koji preklapa četvrti. Kongenitalna srčana bolest javlja se u više od 50 % pogođenih osoba, a najčešće su zahvaćeni zalistci. Učestali su i defekti ventrikularnog septuma i otvoreni ductus arteriosus. Gastrointestinalni sustav zahvaćen je u približno 75 % slučajeva. Meckelov divertikul, malrotacija i omfalokela su glavne abnormalnosti probavnog sustava (12). Prenatalni ultrazvučni nalazi trisomije 18 odgovaraju fizičkim abnormalnostima. IUGR povezan s polihidramnijem, posebno u fetusa s abnormalnim položajem ruku ("stisnute ruke") također sugerira ovo stanje. Česte su i ciste koroidnog plexusa. (12). Većina prenatalno dijagnosticiranih slučajeva trisomije 18 umire intrauterino. U seriji od 23 trudnoće s dijagnosticiranim fetalnom trisomijom 18, 14 fetusa umrlo je intrauterino, a preostali su umrli unutar 48 sati nakon rođenja. Općenito, 50 % pogođenih dojenčadi umire unutar prva dva tjedna života, a samo 5 do 10 % preživi prvu godinu. Moguće je preživljavanje do školske dobi, no uz obilgatnu tešku intelektualnu invalidnost (14).

Primjenom ranog kombiniranog testa uočava se biokemijski obrazac karakterističan za trisomiju 18 u prvom tromjesečju: vrlo niska razina beta-humanog korionskog gonadotropina (hCG), vrlo niska razina proteina A povezanog s trudnoćom (PAPP-A) i povećan nuhalni nabor (13). Najčešći ultrazvučni markeri otkriveni u kasnom prvom i ranom drugom tromjesečju su povećana debljina nuhalnog nabora i odsutnost ili hipoplazija nosne kosti; probir procjenom nuhalnog nabora i nosne kosti identificira 66,7 % slučajeva s trisomijom 18 ali i trisomijom 13 (15). Primjena kombiniranog probira vrlo je učinkovita u identificiranju slučajeva trisomije 18. U studiji koja je koristila četiri serumska markera (PAPP-A u prvom tromjesečju s beta-hCG, alfa-fetoproteinom i nekonjugiranim estriolom u drugom tromjesečju) u kombinaciji s dobi majke detektirano je 90 % trudnoća s trisomijom 18 uz FPR od 0,1 %. Dodavanje mjere

nuhalnog nabora algoritmu probira za trisomiju 18 (potpuni kombinirani test) test čini pouzdanijim (13).

## 1.4 Trisomija 13

Trisomija 13, također poznata kao Patauov sindrom, treća je najčešća aneuploidija, s prevalencijom živorođene djece od 1 na 18 000. Rizik od trisomije 13, koji je često posljedica mejotičkog nerazdvajanja kod majke, raste s majčinom dobi (16). Patauov sindrom obično uključuje intrauterini zastoje rasta i mikrocefaliju. Defekti lica uključuju ciklopiju, rascjep usne i nepca, male deformirane uši, anoftalmiju ili mikroftalmiju i mikrognatiju. Od abnormalnosti središnjeg živčanog sustava alobarna holoprozencefalija najčešći je defekt, a radi se o smrtonosnoj anomaliji karakteriziranoj potpunim nedostatkom cijepanja prozencefalona. U 75 % slučajeva povezana je s trisomijom 13 (18). Od poremećaja ekstremiteta učestala je postaksijalna polidaktilija, kongenitalni talipes ekvino-varus odnosno stopala nalik kolijevci. Spektr srčanih bolesti kod Patauovog sindroma sastoji se od ventrikularnog septalnog defekta, atrijalnog septalnog defekta i Fallotove tetralogije. Dodatni organski sustavi zahvaćeni abnormalnostima su: pluća, jetra, bubrezi, mokraćni sustav, probavni trakt i gušterača. Defekti u tim organskim sustavima koji se javljaju u više od 50 % pacijenata su kriptorhizam, hipospadija, hipoplazija malih usana i bikornuatna maternica. U manje od 50 % pacijenata s Patauovim sindromom prisutna je omfalokela, nepotpuna rotacija kolona, Meckelov divertikul, policistični bubrezi, hidronefroza ili potkovasti bubreg. Složeni, teški psihomotorni poremećaji, neuspjeh napredovanja, intelektualna onesposobljenost i epileptički napadi obilježja su osoba koje s Patauovim sindromom dosegnu stariju životnu dob (17). Prenatalni ultrazvučni nalazi karakterističnih defekata središnjeg živčanog sustava s velikom vjerojatnošću upućuju na ovu dijagnozu (12). Prenatalni probir za trisomiju 13 može se provesti i korištenjem sekvenciranja sljedeće generacije slobodne DNK (cfDNA) u majčinoj cirkulaciji odnosno NIPT testovima (19).

Istraživanje Sian Taylor-Phillips i suradnika, koje je korištenjem slobodne fetalne DNK validiralo točnost neinvazivnog prenatalnog testiranja (NIPT) za Downov, Edwardsov i Patauov sindrom, zaključilo je kako NIPT ima vrlo visoku osjetljivost i specifičnost za Downov sindrom, a nešto nižu osjetljivost za Edwardsov i Patauov sindrom. Treba naglasiti kako NIPT

nema 100% točnost te stoga ne smije biti shvaćen kao konačna dijagnoza za pozitivne slučajeve, već ista treba biti potvrđena nalazom amniocenteze (20).

## 1.5 Aneuploidije spolnih kromosoma

Najčešće aneuploidije spolnih kromosoma su 45, X (Turnerov sindrom); 47, XXY (Klinefelterov sindrom); 47, XYY (sindrom XYY); i 47, XXX. Učestalost Turnerova sindroma je oko 1:2500 rođenih, Klinefelterova 1: 500 do 1:1000, sindroma XYY između 1: 850 i 1 : 3000, a sindroma XXX 1 :1000 (21).

### 1.5.1 Turnerov sindrom

Turnerov sindrom je poremećaj spolnih kromosoma uzrokovan gubitkom dijela ili cijelog X kromosoma (22). Ovaj sindrom karakteriziran je niskom tjelesnom visinom i dismorfničnim obilježjima: male i straga rotirane uši, pterigij vrata, širok prsni koš s razmaknutim bradavicama, kubitus valgus, kratka četvrta i peta metakarpalna kost, te hipoplastični nokti. Uz Turnerov sindrom često se pojavljuju limfedem, pigmentirani nevusi, kongenitalne srčane greške i koarktacija aorte. Limfedem na dorzumu ruku i stopala novorođenčeta može biti jedina uočljiva klinička značajka Turnerova sindroma. Pacijentice s Turnerovim sindromom imaju odgođen pubertet zbog primarnog hipogonadizma (21,22). Ultrazvučni nalaz fetusa s Turnerovim sindromom pokazuje povećanu nugalnu translucenciju, cistični higrom ili fetalni hidrops. Pronalazak 45, X kariotipa u fetusa s velikim cističnim higromom ili hidropsom potvrđuje dijagnozu Turnerovog sindroma. U takvim slučajevima, vjerojatnost spontanog pobačaja je visoka. Napredne metode neinvazivnog prenatalnog testiranja upotrebom molekularnog sekvenciranja također mogu otkriti Turnerov sindrom (bilo u fetusu ili majci), nakon čega je nužno provesti dodatno testiranje te genetsko savjetovanje. Trenutno nema dovoljno dokaza za preporuku rutinskog korištenja neinvazivnog prenatalnog testiranja za prenatalno dijagnosticanje Turnerovog sindroma, bilo da se izvodi sekvenciranjem ili analizom polimorfizma jednog nukleotida DNK slobodne fetalne DNK iz majčine krvi (24).

### 1.5.2 Klinefelterov sindrom



Klinefelterov sindrom najčešći je uzrok primarnog hipogonadizma. Učestalost ovog sindroma je otprilike 1 do 2,5 na 1000 muške novorođenčadi. Tek 25 do 50 % pacijenata s Klinefelterovim sindromom uspješno se dijagnosticira, dok jednak broj oboljelih ostane neprepoznat. Dijagnoza Klinefelterovog sindroma trebala bi se postaviti ili isključiti kod svakog novorođenčeta s mikropenisom, hipospadijom ili kriptorhizmom, kod tinejdžera s odgođenim pubertetom ili muškaraca koji se javljaju s malim testisima i nedostatkom androgena ili neplodnosti (23). Niti prenatalno niti novorođenačko testiranje trenutno se ne nudi rutinski, no ako se izvodi, ono se obavlja na uzorku majčine krvi s kariotipizacijom fetalne DNK koja kruži u slobodnom, nevezanom stanju. Dijagnoza se mora potvrditi kariotipizacijom stanica iz prenatalne amniocenteze, uzorkovanja korionskih resica ili postnatalnim testiranjem stanica iz uzorka krvi novorođenčeta. Arteficialni prekid trudnoće na temelju ove prenatalne dijagnoze bio je uobičajen postupak u prošlosti, no danas se sve manje parova u slučaju dijagnosticiranja XXY kariotipa čeda odlučuje na prekid trudnoće. Uloga liječnika kliničara iznimno je značajna u procesu donošenja odluka o nastavku odnosno prekidu trudnoće kod prenatalne dijagnoze Klinefelterova sindroma. Važno je potencijalne roditelje objektivno informirati o posljedicama ovog sindroma koje su značajno manje ozbiljne od drugih uobičajenih trisomija, poput Downovog sindroma (23).

## 2 RANI KOMBINIRANI PROBIR

Ultrazvučni pregled u prvom tromjesečju trudnoće osim za određivanje gestacijske dobi važan je i zbog prenatalnog probira kromosomopatija. Na osnovu njega, kasnije se u trudnoći, može objektivno i pravovremeno prepoznati zastoj u rastu čeda, ali i postaviti indikacija za indukciju poroda zbog prenošenja. Tim ultrazvučnim pregledom dijagnosticiraju se višeploidne trudnoće i određuje njihova zigotnost. Dio probira je za trisomije i grube anomalije poput anencefalije i cističnih higroma (25). Ultrazvučni pregled za određivanje gestacijske dobi i test ranog kombiniranog probira treba obaviti između 11+0 i 13+6 tjedana gestacije (13), kada je udaljenost tjeme-trtica (CRL) između 45 i 84 mm (25). Određivanje nuhalne prozirnosti (NT), mjerenje majčinog slobodnog ljudskog korionskog gonadotropina ( $\beta$ -hCG) i proteina A plazme povezanog s trudnoćom (PAPP-A), u korelaciji s dobi trudnice, omogućuje detekciju trisomije 21 s preciznošću od oko 90 %. Lažno pozitivna stopa može se smanjiti na 3 % dodatnim pregledom nosne kosti, protoka kroz ductus venosus i trikuspidalnog protoka, čime se dobiva detekcijska stopa od oko 95 % (25). Trudnoće opterećene Downovim sindromom u čeda obilježene su povišenom razinom hCG-a, smanjenom razinom PAPP-A te povećanom nuhalnom prozirnošću (NT). Kombinirani probir u prvom tromjesečju ne bi se trebao raditi ako nije dostupna metoda biopsije korionskih resica (CVS) jer je ista nužna za postavljanje konačne dijagnoze. U tom slučaju bolja je opcija integrirani serumski test ili probir slobodne fetalne DNK uz amniocentezu kao dijagnostički genetski test jer su se ti testovi pokazali pouzdanijim (višu stopu otkrivanja uz nižu stopu lažno pozitivnih rezultata) (13).

### 2.1 Ultrazvučni biljezi

Nuhalna prozirnost, engl. nuchal translucency (NT) ili nuhalni nabor je maksimalna debljina potkožnog prozirnog područja između kože i mekog tkiva koje prekriva fetalnu kralježnicu na stražnjoj strani vrata. Mjeri se u sagitalnoj ravnini kada je udaljenost tjeme-trtica između 38 i 84 mm. Mjerenje NT izražava se kao višekratnik srednje vrijednosti specifične za gestacijsku dob. Povećana debljina NT sama po sebi nije fetalna abnormalnost, već marker koji ukazuje na povećani rizik. Otprilike jedna trećina fetusa s povećanom debljinom NT imat će kromosomsku abnormalnost, od čega je gotovo polovica Downov sindrom. Kao izolirani marker, NT detektira 64 do 70 % fetusa s Downovim sindromom uz stopu lažno pozitivnih

rezultata od 5 %, te ima maksimalnu osjetljivost u 11. tjednu (27). Rizik od ovih nepovoljnih ishoda raste s povećanjem veličine nuhalne prozirnosti (13) te se općenito koristi kao izolirani marker samo u probiru višeplođnih trudnoća, gdje serumski probir nije tako točan ili nije dostupan. Povećana debljina NT također je povezana s drugim aneuploidijama, genetskim sindromima i raznim prirođenim manama, posebno fetalnim srčanim anomalijama. (26) Kod trisomije 21 sadržaj kolagena u dermisu je abnormalan; njegova hidrofilnost može dovesti do nakupljanja potkožne tekućine. Kod Turnerovog sindroma, limfatična displazija može dovesti do povećanja nuhalne tekućine, ili suženje istmusa aorte i širenje uzlazne aorte može dovesti do prekomjerne perfuzije glave i vrata, što doprinosi razvoju potkožnog edema. Kod fetusa s prirođenim srčanim bolestima, patogene varijante u genima koji kodiraju endotel i sudjeluju u razvoju srca i limfnog sustava mogu doprinijeti povećanju nuhalne tekućine (27).

Potencijalni uzrok pogreške pri očitavanju nuhalne prozirnosti prvenstveno je nedostatak stručnosti. Naime, ona je važna jer manje promjene u tehnici utječu na mjerenje nuhalne prozirnosti (NT) i posljedično na predikciju rizika aneuploidije kada se koristi samostalno ili u serumskim algoritmima probira. Postoji značajan period učenja za točno izvođenje mjerenja NT u prvom tromjesečju. Pogreške u mjerenju mogu biti povezane s pogrešnom dijagnozom amnionske membrane koja se nalazi uz i iza fetalnog vrata ili separacijom korioamniona. Također nepovoljan položaj fetusa i tjelesna građa majke mogu otežati točno mjerenje. (27)

## 2.2 Biokemijski biljezi

Dva analita koja se koriste za probir aneuploidija u prvom tromjesečju su ljudski korionski gonadotropin (hCG) ili intaktni ili slobodni  $\beta$ -hCG i plazma protein A povezan s trudnoćom (PAPP-A) (26). hCG je dio obitelji glikoproteinskih hormona, s luteinizirajućim hormonom (LH), folikul-stimulirajućim hormonom (FSH) i hormonom koji stimulira štitnjaču (TSH). Ovi hormoni su heterodimeri koji dijele alfa-podjedinicu i različite stupnjeve homologije u njihovim beta-podjedinicama. Razine beta-hCG su, u prosjeku, dvostruko više u trudnoćama pogođenim Downovim sindromom nego u euploidnim trudnoćama. Beta-hCG se može analizirati u slobodnom ili ukupnom obliku. Test za slobodni beta-hCG za probir na Downov sindrom je učinkovit od 9+0 do 13+6 tjedana, a učinkovitost probira poboljšava se kako gestacijska dob napreduje unutar ovog intervala. Test za ukupni beta-hCG za probir na

Downov sindrom je učinkovit od 11+0 do 13+6 tjedana, a učinkovitost probira poboljšava se također kako gestacijska dob napreduje unutar ovog intervala. Između 11+0 i 13+6 tjedana ne postoji konsenzus o tome da li slobodni beta-hCG ima značajno bolju učinkovitost od ukupnog beta-hCG za probir na Downov sindrom kada se tumači s dobi majke i mjerenjem PAPP-A i NT. PAPP-A je složeni glikoprotein visoke molekularne mase. Razine PAPP-A su, u prosjeku, niže u trudnoćama pogođenim Downovim sindromom. Učinkovitost PAPP-A kao markera za probir na Downov sindrom smanjuje se s napredovanjem gestacijske dobi između 9+0 i 13+0 tjedana (13).

Ako je gestacijska dob točno određena, izolirano korištenje ovih serumskih markera, bez mjerenja NT, rezultira stopom otkrivanja fetalnog Downovog sindroma do 67 % uz stopu lažno pozitivnih rezultata od 5 %. Nadalje, u trudnoćama s blizancima, razine slobodnog  $\beta$ -hCG i PAPP-A približno su udvostručene u usporedbi s vrijednostima za jednoplodne trudnoće (26).

### 3 NEINVAZIVNI PRENATALNI TESTOVI

Neinvazivno prenatalno testiranje (NIPT) prvi put je primijenjeno 1988. godine. Prvotno se smatralo da se njime mogu otkriti samo uobičajene aneuploidije, kao što su Patauov sindrom (T13), Edwardsov sindrom (T18) i Downov sindrom (T21). Testiranje se sastoji od jednostavne tehnike koja uključuje analizu slobodne fetalne DNK (cffDNA) dobivene iz majčinog seruma, koristeći napredak u masovnom paralelnom sekvenciranju. Tijekom posljednjeg desetljeća, neinvazivno prenatalno testiranje (NIPT) dramatično je unaprijedilo prenatalnu skrb, smanjujući upotrebu i rizike povezane s invazivnim postupcima poput amniocenteze i uzorkovanja korionskih resica (31). NIPT je pokazao obećavajuće rezultate kao jednostavan i niskorizičan probirni test, što je navelo organizacije širom svijeta da posvete značajne resurse njegovoj integraciji u nacionalne zdravstvene inicijative, kao i formiranje istraživačkih studija usmjerenih na standardizaciju njegove primjene (28). Naravno, prije uvođenja analize slobodnog fetalnog DNK-a u rutinsku praksu, potrebno je regulirati etička pitanja poput autonomije i prava nerođenog djeteta, dostupnosti testiranja i mogućnost selekcije spola iz nemedicinskih razloga (35).

#### 3.1 Slobodni cirkulirajući fragmenti DNA (cfDNA)

Lo i suradnici su 1997. godine istražili su prisutnost slobodne fetalne DNK u majčinoj krvnoj cirkulaciji (28). I majka i fetalno-placentarna jedinica proizvode slobodnu DNK (cfDNA). Smatra se da je primarni izvor tzv. fetalne cfDNA (cffDNA) u majčinoj cirkulaciji apoptoza placentarnih stanica (sinciotrofoblast), dok su matične hematopoetske stanice izvor većine majčine cfDNA (29). Slobodna fetalna DNK (cffDNA) potječe iz posteljice i zatim se kreće zahvaljujući majčinoj krvnoj cirkulaciji. U početku se placentni citotrofoblasti spajaju sa sinciotrofoblastima kako bi sazrijeli, prije nego što se integriraju u majčinu cirkulaciju kroz sincijskijske čvorove. Raspad tih čvorova u majčinoj cirkulaciji oslobađa fetalnu DNK, koja obično ima manje od 313 baza parova, u usporedbi s majčinom staničnom DNK koja pokazuje prosječnu duljinu od 400–500 baza parova. To omogućuje lakše prepoznavanje cffDNA u

majčinom serumu. cffDNA se može otkriti već u 4. tjednu trudnoće, a fetalni udio raste na 10–15 % ukupne majčine plazme od 10. do 20. tjedna trudnoće. Međutim, ona se brzo uklanja nakon što je posteljica izbačena u završnoj fazi porođaja. Ova činjenica čini cffDNA vrlo poželjnim biomarkerom za otkrivanje kromosomskih aneuploidija, već u prvom tromjesečju trudnoće (28).

## 3.2 Fetalna frakcija

Fetalna frakcija (FF) predstavlja udio cfDNA fetalnog podrijetla u ukupnoj cfDNA u majčinoj plazmi (zbroj cfDNA fetalnog i cfDNA majčinog podrijetla).

"Fetalna" DNK zapravo je placentalna. Između 10. i 20. tjedna trudnoće, prosječan FF je 10 % do 15 %. Mjerenje FF-a ključna je komponenta kontrole kvalitete uzoraka i statističke pouzdanosti. Mjerenje FF-a osigurava da je placentalna cfDNA detektibilna u majčinoj plazmi u dovoljnoj količini za generiranje značajnog rezultata. Minimalni prag FF-a za adekvatnu izvedbu NIPT-a varira ovisno o testu obično je između 2 % i 4 %. S višim FF-om postoji veća statistička razlika između aneuploidnih i euploidnih trudnoća, što pruža veću sigurnost u konačni rezultat. Stope detekcije opadaju s niskim FF-om te on može rezultirati neuspjehom testa ili rezultatom "bez odgovora". Stopa rezultata "bez odgovora" kreće se od 1 % do 8 %, ovisno o tehnologiji testa, pri čemu je nizak FF najčešći uzrok. Približno 50 % do 60 % žena s neuspjelim NIPT rezultatom uspijet će s drugim uzorkovanjem krvi. Međutim, glavni problem neuspjelog rezultata zbog niskog FF-a je ta što je to povezano s većim rizikom od aneuploidije na nekoliko sekvencijskih platformi, u rasponu od 2,7 % do 23,3 % (30).

Uzroci niskog FF-a su raznoliki. Primarni uzrok je rana gestacijska dob jer je fetalni udio znatno niži prije 10. tjedna trudnoće, pa većina laboratorija zahtijeva da trudnice s testiranjem čekaju barem do 10. tjedna trudnoće kako bi se osigurao adekvatan fetalni udio za testiranje. Sljedeći uzrok je nepravilno uzimanje uzoraka upravo jer je pravilnost uzimanja uzoraka i stabilizacija fragmentirane cfDNA ključna za očuvanje fetalnog udjela jer će mali broj degradiranih bijelih krvnih stanica iz majčine krvi znatno smanjiti fetalni udio. Radi toga, uzorak treba uzeti u epruvetu s ljubičastim čepom (EDTA) i centrifugirati unutar šest sati te je nakon toga dobivena plazma stabilna pri skladištenju na  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Također kako se povećava težina majke (i u manjoj mjeri indeks tjelesne mase), fetalni udio sustavno se smanjuje. Taj inverzni odnos pripisuje se razrjeđenju relativno konstantne količine fetalne cfDNA u većem

volumenu majčine plazme i povećanju količine cfDNA majčinog podrijetla kod pretilih trudnica te prosječan fetalni udio od 10. do 20. tjedna trudnoće niži je u trudnoćama s trisomijom 18 (prosječan fetalni udio 9 %) nego u trudnoćama s euploidnim fetusom (prosječan fetalni udio 11 do 13 %), a viši je u trudnoćama s trisomijom 21 (prosječan fetalni udio 13 do 15 %). To može djelomično objasniti zašto su stope detekcije trisomije 21 veće no one detekcije trisomije 18. Fetalni udjeli kod trisomije 13 i Turnerovog sindroma također su niži nego kod euploidnih fetusa. Triploidni fetusi imaju izuzetno niske fetalne udjele, obično ispod 4 % (29).

Nakon porođaja, majčino čišćenje fetalne cfDNA događa se brzo. Kod zdravih trudnica, poluvijek je približno jedan sat, s gotovo potpuno eliminiranom fetalnom cfDNA unutar dva dana nakon porođaja. Upravo zato buduće trudnoće nisu opterećene cfDNA u cirkulaciji iz prethodnih trudnoća (29).

### 3.3 Metode sekvenciranja

Sve metode koje koriste cfDNA zahtijevaju uzimanje barem jednog uzorka majčine krvi od 10 mL koristeći određenu epruvetu za prikupljanje uz pretpostavku da je majka euploidna. Neke metode ispituju cijeli genom, dok su druge usmjerene na kromosome od najvećeg interesa, 21, 18, 13, X i Y (29).

#### 3.3.1 Cjelogenomsko sekvenciranje

Najčešća metoda probira koja koristi cfDNA-a sekvencira fragmente cfDNA-a preko cijelog genoma (29). Masivno paralelno sekvenciranje čitavog genoma karakterizira 10-20 milijuna očitavanja te potencijal za utvrđivanje aneuploidija svih kromosoma. Temelji se na sekvenciranju i brojanju velikog broja pojedinačnih DNK fragmenata iz plazme i dodjeljivanju odgovarajućem kromosomu. Drugim riječima, kromosomsko podrijetlo fragmenta identificira se putem poravnanja s ljudskim genomom (29,35). Primjerice, kod euploidnih žena koje nisu trudne, približno 1,3 % fragmenata cfDNA-a potječe s kromosoma 21 (npr., kromosom 21 sadrži približno 1,3 % ljudskog genoma). U trudnoći, očekivani postotak fragmenata kromosoma 21 ostaje na 1,3 % kada su i fetus i majka euploidni. Međutim, ako fetus ima tri kopije kromosoma 21, proporcija fragmenata kromosoma 21 bit će nešto veća od očekivanih 1,3 %. Njena veličina ovisi o postotku poravnatih fragmenata fetalnog podrijetla. Primjerice,

ako fetus ima trisomiju 21, a fetalni udio je 10 % očekivani postotak fragmenata kromosoma 21 bit će neznatno veći, npr. 1,365 %. Nasuprot tome, kada je fetalni udio niži, povećanje fragmenata kromosoma 21 manje je (npr., <1,365), i teže je otkriti trisomiju 21. Ova se metoda ponekad naziva "shotgun" sekvenciranjem i može zahtijevati nekoliko milijuna poravnatih fragmenata kako bi se dobio pouzdan testni rezultat (29). Sekvenciranje cijelog genoma skuplje je od ograničenog sekvenciranja jer je cijeli genom ekvivalentan otprilike  $3,3 \times 10^9$  baza. Sekvenciranje cijelog genoma može postati poželjnije od sekvenciranja egzoma kako troškovi padaju i više informacija o ulozi nekodirane DNK u ljudskim bolestima postaje dostupno. Sekvenciranje cijelog genoma može se koristiti za detekciju delecija i dupliciranja koje se obično detektiraju samo s pomoću komparativne hibridizacije genoma (aCGH), što smanjenje potrebu za drugim dodatnim testiranjima (32).

### 3.3.2 Ciljano sekvenciranje

Ciljane metodologije uključuju dodatni početni korak u kojem se selektivno umnažaju odabrane regije na kromosomima od interesa (13, 18, 21) te nakon toga evaluira postoji li višak signala s pojedinog kromosoma u odnosu na drugi (35). Ciljanjem odabranih kromosoma potrebno je poravnati manje sekvenci i potrošiti manje resursa (32).

Prva metoda odnosno SNP (engl. Single nucleotide polymorphism) sekvenciranje lokusa na kromosomima od interesa (T21, T18 i T13) uzima u obzir relativni kvantitativni doprinos majčinog i očevog genoma u plazmi, ne zahtijeva referentnu vrijednost te ima potencijal za utvrđivanje triploidije, uniparentalne disomije i roditeljskog podrijetla aneuploidije. U jednoj reakciji umnaža se 20.000 SNP sekvencija koje se nakon toga sekvenciraju, odrede položaji na kromosomima te procijeni je li riječ o monosomičnom, disomičnom ili trisomičnom fetusu (29,34,35). Oblici SNP-ova preko ovih analiziranih kromosoma rezultirat će specifičnim uzorcima na temelju maternalnih i fetalnih genotipova. Ako je prisutan dodatni kromosom, kao u fetalnoj trisomiji 21, dodatni uzorci SNP-ova bit će na trećem kromosomu 21. Metode SNP-ova mogu identificirati aneuploidiju u trudnoćama blizanaca i kod nestanka dizigotskog blizanca (32). Analiza SNP-ova putem multiplex PCR-a može razlikovati majčine fragmente DNK-a od fetalnih fragmenata, što se može koristiti za kvantifikaciju fetalne frakcije. Iako analiza SNP-ova ima slične karakteristike kao masivno paralelno sekvenciranje (MPSS), ima veću stopu neuspjeha (33). Kao i kod drugih metoda, i



za analizu SNP-ova potreban je samo uzorak krvi majke. Testiranje SNP-ova ne može se koristiti u rijetkim slučajevima u kojima trudnica nije biološka majka ploda: trudnoće ostvarene donacijom jajne stanice, trudnoće kod primatelja transplantirane koštane srži ili organa. U tim slučajevima, kliničar treba osigurati da se uzorci šalju u laboratorij koji koristi drugu metodologiju. Rezultati postaju teži za interpretirati kako fetalni udio postaje niži, što može rezultirati nepouzdanošću testa (32).

Metoda CMA (engl. Chromosomal microarray) je tehnika molekularne citogenetike temeljena na mikročipu za dijagnosticiranje kromosomskih neuravnoteženosti. Posebno je korisna zbog svoje sposobnosti otkrivanja submikroskopskih dobitaka i gubitaka na svakom kromosomu te pružanja rezultata iz stanica koje ne rastu u kulturi, na primjer nakon fetalne smrti (36). Ona kvantificira nekoliko stotina jedinstvenih lokusa na svakom od ciljanih kromosoma (obično 21, 18 i 13). Dobiveni uzorci se sekvenciraju (29). Otkrivanje dobitaka ili gubitaka uključuje usporedbu uzorka pacijenta s uzorkom normalne kontrolne osobe ili usporedbu intenziteta signala na različitim sondama s očekivanim intenzitetima. Otkriveni dobitci/gubitci mogu varirati u veličini od vrlo velikih (npr., aneuploidija cijelih kromosoma) do vrlo malih (npr., 200.000 baznih parova [0,2 Mb]) i mogu odgovarati prepoznatljivim strukturnim promjenama (kao što su većina neuravnoteženih translokacija). Kao i kod metodologije cijelog genoma, brojevi se povećavaju kada fetus ima trisomiju za jedan od ciljanih kromosoma (29, 36). Prenatalna CMA obično procjenjuje cijeli genom, što može rezultirati izazovnim pitanjima jer se detektiraju varijante neizvjesnog značenja (VUS) i genetske abnormalnosti koje nisu povezane s dijagnostičkim ciljem. CMA se može usmjeriti na regije genoma poznate ili visoko sumnjive za uzrokovanje specifičnih fenotipova kada su izbrisane ili duplicirane (36).

Metoda RCA (engl. Rolling circle amplification) također cilja odabrane fragmente cfDNA. Specifično dizajnirane sonde za ove fragmente vežu se za svaki ciljani kromosom (obično 21, 18 i 13). Korištenjem RCA, ovi uzorci se amplificiraju u fluorescentne proizvode koji se mogu vidjeti na automatiziranoj mikroskopskoj ploči i brojati. Kao i kod drugih metoda, brojevi se povećavaju kada fetus ima trisomiju za jedan od ciljanih kromosoma (29).

### 3.4 NIPT i trisomije

U zadnjih pet godina brojne studije su se fokusirale na kliničku primjenjivost NIPT-a u uobičajenim trisomijama i aneuploidijama spolnih kromosoma. Iako je stopa otkrivanja (DR) za trisomiju 21 izuzetno visoka (više od 95 %) u svim studijama, njezina točnost u pogledu stope otkrivanja za T18 i T13 došla je pod povećalo, posebno prilikom promatranja podskupina, a ne populacije visokog rizika. U meta-analizi Nacionalnog instituta za zdravlje i kliničku izvrsnost, DR za Downov sindrom bio je 96 %, 87 % za T18 i 77 % za T13 kada se gleda opća populacija (37).

Izvedba probira opisuje se detekcijskom stopom (DR) i stopom lažno pozitivnih rezultata (FPR). Važno je napomenuti da mali postotak probira s cirkulirajućim slobodnim DNA testovima ne pruža korisne kliničke rezultate (tj. nema rezultata, neuspjeh testa). Kod trisomija 21, 18 i 13 cirkulirajuća slobodna DNA najosjetljivija je opcija probira za ove aneuploidije, koje čine 71 % svih prenatalno detektiranih kromosomskih abnormalnosti. Rezultati variraju prema trisomiji, ali ne prema metodologiji i slične su kako kod trudnica visokog rizika tako i kod trudnica niskog rizika (29).

### 3.5 NIPT i abnormalnosti spolnih kromosoma

Aneuploidije spolnih kromosoma su česte, pogađajući jedno od 400 novorođenčadi. Stopa otkrivanja (DR) cfDNA testova za ove poremećaje je niža, a stope lažno pozitivnih rezultata su više nego za uobičajene autosomalne trisomije (PPV za sve aneuploidije spolnih kromosoma kombinirane iznosio je 37 % u jednom istraživanju) (29). Ipak, rezultati neinvazivnog prenatalnog testiranja su dovoljno točni da se nude s prenatalnim probirom za autosomne aneuploidije uz specifično savjetovanje i pristanak. Uspoređujući s autosomnim aneuploidijama, niži PPV za aneuploidiju spolnih kromosoma, posebno 45 monosomiju, vjerojatno odražava prirodne karakteristike 45,X kao što su veća učestalost fetalnog, posteljličnog, pa čak i majčinskog mozaicizma (45,X/46,XX). Međutim, PPV za 45,X može se povećati pozitivnim ultrazvučnim nalazima jer je 45,X jedina aneuploidija spolnih kromosoma s prenatalnim fenotipom, koja može uključivati povećanu nuhalnu prozirnost i/ili cistični

higrom (29). Dakle isključujući Turnerov sindrom, ostala stanja ne pokazuju nikakve simptome u neposrednom periodu nakon poroda. Testiranje na monosomiju X dostupno je od 2012. godine i prvotno je ponuđeno ženama koje pokazuju ultrazvučne značajke Turnerovog sindroma. Nakon toga, uvedeni su testovi i za druge bolesti povezane sa spolnim kromosomima koji omogućuju otkrivanje XXX, XXY i XYY. Stopa otkrivanja (DR) za monosomiju X iznosi 89 %, a za diploidni Y, Klinefelterov i Triple X sindrom 82 % do 90 % (35). Nakon uključivanja NIPT-a kao pouzdanog alata za probir uobičajenih trisomija, probir za spolne kromosomske anomalije sada se također nudi od većine komercijalnih pružatelja NIPT-a. Uključivanje spolnih kromosomskih anomalija u opći probirni pristup ima nekoliko izazova i nikada se ne bi trebalo nuditi bez temeljitog savjetovanja prije i poslije testa. Probir za spolne kromosomske anomalije uključuje 45,X (Turnerov sindrom) i njegove genetske varijante, Klinefelterov sindrom (47,XXY), Triple X (47,XXX) i Jacobsenov sindrom (47,XYY). Stopa spontanih pobačaja ne čini se povećanom kod fetusa s 47,XXY, 47,XXX ili 47,XYY, ali je znatno visoka kod Turnerovog sindroma. Većina žena s Triple X i muškaraca s Jacobsenovim sindromom ostaje neprepoznata tijekom života. Teško je ili čak nemoguće predvidjeti fenotip za potonji sindrom, a čak je upitno i opisati ih kao patološka stanja po sebi, što otežava prenatalno savjetovanje i donošenje odluka. Iako mentalna retardacija u Turnerovom sindromu nije značajan problem, stopa induciranih pobačaja i dalje je visoka, posebno ona fetusa s Turnerovim sindromom. Izuzetak se daje kariotipovima s više od tri X kromosoma (npr. 48,XXXX ili 49,XXXXY) jer je kod njih mentalna retardacija značajno učestalija i teža. Trenutni testovi nisu evaluirani za otkrivanje ovih teških anomalija i one mogu biti prikrivne iza pozitivnog rezultata NIPT-a (34).

### 3.6 Komercijalni NIPT testovi

NIFTY © test firme BGI je neinvazivni prenatalni probirni test za trudnice koji procjenjuje rizik da će fetus imati određene kromosomske abnormalnosti (38). Test analizira uzorke korištenjem metode masivnog paralelnog sekvenciranja. NIFTY je dostupan za jednoplodne trudnoće, blizanačke trudnoće i trudnoće s doniranom jajnom stanicom. On provjerava uobičajene kromosomske abnormalnosti, uključujući trisomije (T21, T18, T13), rijetke autosomne aneuploidije (T9, T16, T22), aneuploidije spolnih kromosoma, 84 tipa mikrodelecijskih ili duplikacijskih sindroma i spol fetusa (38). Prema Američkom društvu

porodničara i ginekologa (ACOG), probir slobodne stanične DNK treba ponuditi svim trudnicama bez obzira na dob majke ili rizik od kromosomskih abnormalnosti. Probir slobodne stanične DNK je najosjetljiviji i najspecifičniji probirni test za uobičajene fetalne aneuploidije (39). Pod svoje prednosti navode se sigurnost i neinvazivnost, bez rizika od pobačaja te jednostavnost uzimanjem uzorka majčine krvi (>5 ml) već od 10. tjedna trudnoće (38). Osjetljivost NIFTY testa za trisomiju 21, 18 i 13 procjenjuje se na 99 %, 97 % i 79 % respektivno, uz stopu lažno pozitivnih rezultata za sve ispitane trisomije i monosomiju X manju od 1 %. Abnormalni rezultati NIFTY testa još uvijek trebaju biti potvrđeni korištenjem drugih dijagnostičkih tehnika (40).

Također koristeći tehnologiju cjelogenomskog sekvenciranja Verifi © test tvrtke Illumina pruža informativne rezultate skeniranjem parcijalnih duplikacija i delecija te status aneuploidije za sve autosome, abnormalnosti spolnih kromosoma i uobičajene kromosomske poremećaje, uključujući trisomiju 21, trisomiju 18 i trisomiju 13. Princip detekcije sastoji se od nekoliko koraka a složenost tih koraka uvelike varira ovisno o testovima i tehničkom pristupu koji se koristi. Detekcija započinje izolacijom plazme iz uzorka krvi. Slobodna DNK (cfDNA) se izdvaja iz plazme i priprema za analizu. Illumina NIPT koristi tehnologiju sekvenciranja cijelog genoma nove generacije (NGS). Test analizira fragmente cfDNA-a kroz cijeli genom, što ima prednosti u odnosu na druge NIPT metodologije, uključujući ciljno sekvenciranje i testove temeljene na microarray tehnologiji. NIPT sa sekvenciranjem cijelog genoma dosljedno ima niže stope neuspjeha u usporedbi s ciljanim sekvenciranjem ili platformama baziranim na microarray tehnologiji (41).

Harmony © test tvrtke Ariosa također nudi dijagnostiku trisomije 21, trisomije 18 i trisomije 13 uz DiGeorgeov sindrom (mikrodelecija 22q11.2) te pregled spolnih kromosoma X i Y odnosno Turnerovog ili Klinefelterovog sindroma korištenjem metode cjelogenomskog sekvencioniranja ili microarray tehnologijom (42).

Panorama™ test tvrtke Natera prenatalni je test na temelju krvi trudnice koji provjerava uobičajene kromosomske poremećaje no jedini je test koji koristi tehnologiju temeljenu na SNP-u za pružanje vrlo preciznih rezultata. Panorama™ se može provesti već od devetog tjedna gestacije te pretražuje uobičajene genetske poremećaje koji su uzrokovani dodatnim ili

nedostajućim kromosomima u DNK čeda (trisomije, aneuploidije spolnih kromosoma), mikrodelecije sindrome; DiGeorge, Prader- Willy, Angelman, Cri-du-chat sindrom. Budući da Panorama koristi jedinstvenu tehnologiju za razlikovanje između DNK trudnice i DNK djeteta, ona je jedini NIPT koji detektira triploidiju (43). Djeca s triploidijom imaju potpuni dodatni set kromosoma s ukupno 69 kromosoma umjesto uobičajenih 46. U 10. tjednu gestacije, 1 od 1000 trudnoća zahvaćena je triploidijom. Izuzetno je rijetko da ove trudnoće dosegnu termin jer obično spontano završe pobačajem u ranim fazama trudnoće. Rijetki živorođeni obično umiru u roku od nekoliko dana nakon poroda zbog problema s srcem, mozgom i bubrezima. Triploidna novorođenčad često imaju prirodene mane udova i lica. Trudnoća s triploidnim čedom može povećati rizik majke za preeklampsiju i obilnija postpartalna krvarenja. U rijetkim slučajevima, trudnoće s triploidijom mogu trajati i razviti se u malignitet nazvan koriokarcinom. Pravovremeno prenatalno dijagnosticiranje triploidije upozorava liječnika na povećan rizik komplikacija u trudnice i omogućava mu bolju pripremu za odgovarajuće praćenje majčina zdravlja (43).

Od uvođenja neinvazivnog prenatalnog testiranja (NIPT) za otkrivanje fetalnih aneuploidija u kliničku praksu 2011. godine, test je brzo promijenio izgled prenatalnog probira. Test je dostupan u više od 60 zemalja, preko 10 milijuna testiranja izvrši se svake godine. Brza diseminacija NIPT-a pokrenuta je tehnološkim razvojem i komercijalnim poticajima koji su potaknuli interes trudnica i zdravstvenih stručnjaka (46). U radu iz 2020. godine koji opisuje implementaciju NIPT-a, pokazano je da je 14 od 30 europskih država uključenih u studiju usvojilo nacionalnu politiku za NIPT (47). Većina ovih europskih država nudi NIPT kao kontingentni test, s izuzetkom Belgije, Nizozemske i Ujedinjenog Kraljevstva (44, 45) gdje se NIPT nudi kao test prvog izbora unutar njihovih nacionalnih prenatalnih probira. U nekoliko država postoji komercijalna ponuda NIPT-a kao testa prvog izbora (48).

### 3.7 Prednosti NIPT-a

Glavna prednost primjene slobodnog fetalnog DNA-a iz majčine krvi za probir aneuploidija je neinvazivnost, odnosno neškodljivost kako za majku tako i za plod (35). Američko društvo porodničara i ginekologa (ACOG) snažno preporučuje korištenje NIPT-a prvog izbora nad tradicionalnim metodama probira zbog njegove superiorne učinkovitosti (49). Osjetljivost ili stopa otkrivanja za FCT (engl. First trimester combined screening) iznosi

otprilike 80 %–90 %. U usporedbi s FCT-om, NIPT ima veću osjetljivost (>99 % za Downov sindrom), što znači da će manje žena biti suočeno s lažno negativnim rezultatom nakon probira. Osim toga, NIPT ima manje lažno pozitivnih rezultata (0,1 %) u usporedbi s FCT-om (5 %). To znači da NIPT dovodi do manjeg broja (neophodnih) dijagnostičkih testova u usporedbi s FCT-om (48). U usporedbi s NIPT probirom temeljenim na povećanim FCT rezultatima, NIPT prvog izbora ima nekoliko prednosti u pogledu vremenske usklađenosti: može se obaviti rano tijekom trudnoće (počevši od 9. tjedna gestacije) i tijekom cijele trudnoće (35,48), dok FCT ima vremenski prozor i može se izvoditi samo između 11. i 14. tjedna gestacije. Biološke karakteristike slobodnog fetalnog DNA-a su takve da je njegov udio to veći što je veći stupanj trudnoće, što dodatno pridonosi točnosti rezultata. Nasuprot tome, biokemijski biljezi koji se primjenjuju u konvencionalnim metodama probira imaju ograničenu dijagnostičku vrijednost s obzirom na tjedan trudnoće (35). Nadalje, više žena će dobiti konačni rezultat nakon jednog testa s NIPT-om prvog izbora, te je potrebno samo jedno (invazivno) testiranje nakon pozitivnog rezultata NIPT-a, što rezultira kraćim razdobljem neizvjesnosti za trudne parove. Međutim, neke žene s visokorizičnim rezultatom prvog izbora NIPT-a možda će morati pričekati nekoliko tjedana prije nego što mogu obaviti potvrđujuće testiranje (npr. amniocenteza, koje se radi samo od 15. tjedna gestacije). Ovo duže razdoblje čekanja može rezultirati više vremena za razmatranje izbora invazivnog testiranja, ali također može značiti i produženo razdoblje neizvjesnosti. S probirnim testiranjem, nakon povećanih FCT rezultata mogu biti potrebna dva dodatna testa (tj. NIPT i invazivna dijagnostika) kako bi se dobila konačna dijagnoza, što rezultira dužim razdobljem neizvjesnosti i tjeskobe. Iako NIPT može biti obavljen ranije u trudnoći od FCT-a, to također može rezultirati otkrivanjem trudnoća s fetalnim aneuploidijama, koje bi rezultirale spontanom pobačajem prije vremenskog prozora FCT-a. Takav je pristup, iako pruža korisne informacije o razlogu pobačaja, financijski zahtjevniji (48).

### 3.8 Nedostatci NIPT-a

Uz spomenute prednosti primjene slobodnog fetalnog DNA-a iz majčine krvi za probir aneuploidija, postoje i ograničenja koja ovaj test u ovom trenutku sprječavaju da postane klinički dijagnostički test. Riječ je o komercijalno dostupnim genetičkim testovima (DTC, engl. direct to consumer) koji se često provode bez adekvatnog genetičkog savjetovanja te su katkad

pogrešno interpretirani kao dijagnostički testovi, a zapravo su testovi probira kod kojih se patološki rezultat mora potvrditi invazivnom metodom. U mnogim državama ne postoji zakonska regulativa ni stručne smjernice koje bi regulirale provođenje NIPT-a, a zdravstvena osiguranja u pravilu ne pokrivaju troškove testiranja (35). Posljedica provođenja NIPT –a je smanjenje invazivnih testova, no nije se poboljšala stopa detekcije odnosno smanjio se postotak otkrivenih drugih kromosomskih abnormalnosti koje bi standardna kariotipizacija detektirala (35). NIPT ima potencijal smanjenja rizika za trudnice i fetuse u vidu smanjene potrebe za invazivnim testiranjem. Međutim, NIPT može bezrazložno uzrokovati anksioznost i više invazivnih postupaka u slučaju nepouzdanog odnosno netočnog rezultata testiranja. Perspektivno NIPT moglo bi uzrokovati značajno smanjenje broja ljudi rođenih i živih s genetskim stanjima ili oštećenjima, što bi moglo izazvati manja ulaganja u istraživanja i zdravstvenu i socijalnu skrb vezanu uz ljude s genetskim stanjima te izazvati stigmatizaciju i društvenu izolaciju oboljelih (50).

## ZAKLJUČAK

Približno jedno od 160 novorođenčadi ima abnormalnost u broju ili strukturi kromosoma, što je najčešći uzrok ranog gubitka trudnoće. Više od 30 godina, identificiranje trudnica s povećanim rizikom za trudnoće s kromosomskim abnormalnostima u fokusu je prenatalnih probirnih programa koji kombiniraju dob majke, razine specifičnih analita u majčinom serumu i ultrazvučni nalaz fetalne nuhalne prozirnosti s ciljem procjene rizika kromosomopatije. Neinvazivno prenatalno testiranje (NIPT) promijenilo je prenatalnu skrb tijekom posljednjeg desetljeća i značajno smanjilo upotrebu invazivnih dijagnostičkih postupaka poput amniocenteze. Neinvazivni probirni testovi na bazi slobodne fetalne DNK uvedeni su u prenatalnu skrb. Unatoč nekim njihovim ograničenjima, čini se da će NIPT zamijeniti druge metode probira za kromosomske aberacije. Kontinuirana istraživanja usmjerena su u nastojanje prevladavanje ograničenja NIPT-a, povećanje njihove točnosti i proširenje opsega testiranih defekata s namjerom postizanja veće razina dijagnostičke točnosti i posljedičnog izbjegavanja potrebe za dodatnom potvrdom dijagnoze korištenjem invazivnih dijagnostičkih postupaka. NIPT pruža jedinstvenu perspektivu u odnosu trudnice i čeda te njihovog zdravstvenog stanja. Ipak valja biti oprezan i kritičan jer abnormalni nalaz otkriva rizik, a ne postavlja definitivnu dijagnozu zdravstvene komplikacije, što otvara etičke dileme.



## ZAHVALE

Zahvaljujem se od srca doc.dr.sc. Trpimiru Goluži na ponuđenoj temi i pomoći pri pisanju ovog rada.

Zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima koji su me podrškom pratili kroz posljednjih 6 godina.

Hvala, *Hrvoje*.



## LITERATURA

1. Lucas Hixson, Srishti Goel, Paul Schuber, Vanessa Faltas, Jessica Lee, Anjali Narayakkadan, Ho Leung, Jim Osborne, An Overview on Prenatal Screening for Chromosomal Aberrations, *SLAS Technology*, Volume 20, Issue 5, 2015, Pages 562-573 Dostupno na: <https://doi.org/10.1177/2211068214564595>
2. Carbone L, Cariati F, Sarno L, Conforti A, Bagnulo F, Strina I, Pastore L, Maruotti GM, Alviggi C. Non-Invasive Prenatal Testing: Current Perspectives and Future Challenges. *Genes (Basel)*. 2020 Dec 24;12(1):15. Dostupno na: doi: 10.3390/genes12010015.
3. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Practice Bulletins—Obstetrics; Committee on Genetics; Society for Maternal-Fetal Medicine. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities: ACOG Practice Bulletin, Number 226. *Obstet Gynecol*. 2020 Oct;136(4):e48-e69 Dostupno na: doi: 10.1097/AOG.0000000000004084
4. van der Meij, K.R.M., Njio, A., Martin, L. *et al.* Routinization of prenatal screening with the non-invasive prenatal test: pregnant women's perspectives. *Eur J Hum Genet* **30**, 661–668 (2022). Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41431-021-00940-8>
5. Queremel Milani DA, Tadi P. Genetics, Chromosome Abnormalities. 2023 Apr 24. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan
6. [Iris Schrijver, MD](#), James L Zehnder, MD. Chromosomal translocations, deletions, and inversions. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
7. Khandekar S, Dive A, Munde P. Chromosomal abnormalities a review. *Central India J Dent Sci* 2013;4:3540
8. [Kathryn K Ostermaier, MD, FAAP](#). Down syndrome: Clinical features and diagnosis. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
9. Kazemi M, Salehi M, Kheirollahi M. Down Syndrome: Current Status, Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Cell Med*. 2016 Summer;5(3):125-133.
10. [Geralyn M Messerlian, PhD](#), [Jacquelyn V Halliday, MS](#), [Glenn E Palomaki, PhD](#). Down syndrome: Overview of prenatal screening. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer

11. Abedalthagafi M, Bawazeer S, Fawaz RI, Heritage AM, Alajaji NM, Faqeih E. Non-invasive prenatal testing: a revolutionary journey in prenatal testing. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Nov 9;10:1265090. Dostupno na: doi: 10.3389/fmed.2023.1265090
12. [Anne BS Giersch, PhD](#). Congenital cytogenetic abnormalities. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
13. [Geralyn M Messerlian, PhD](#), [Antonio Farina, MD, PhD](#), [Glenn E Palomaki, PhD](#). First-trimester combined test and integrated tests for screening for Down syndrome and trisomy 18. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
14. Burke AL, Field K, Morrison JJ. Natural history of fetal trisomy 18 after prenatal diagnosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2013 Mar;98(2):F152-4. Dostupno na: doi: 10.1136/archdischild-2011-301589
15. Cereda A, Carey JC. The trisomy 18 syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2012 Oct 23;7:81. Dostupno na: doi: 10.1186/1750-1172-7-81
16. [Elaine Maria Pereira, MD](#). Trisomy 13 *Pediatr Rev* (2023) 44 (1): 53–54. Dostupno na: <https://doi.org/10.1542/pir.2022-005517>
17. Williams GM, Brady R. Patau Syndrome. [Updated 2023 Jun 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538347/>
18. [Ana Monteagudo, MD](#), [Ilan E Timor-Tritsch, MD](#). Prenatal diagnosis of CNS anomalies other than neural tube defects and ventriculomegaly. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
19. [Glenn E Palomaki, PhD](#), [Geralyn M Messerlian, PhD](#), [Jacquelyn V Halliday, MS](#). Prenatal screening for common aneuploidies using cell-free DNA. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
20. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, Madan J, Clarke A, Quenby S, Clarke A. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2016 Jan 18;6(1):e010002. Dostupno na: doi: 10.1136/bmjopen-2015-010002.
21. [Carlos A Bacino, MD, FACMG](#). Sex chromosome abnormalities. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer

22. [Philippe Backeljauw, MD](#). Clinical manifestations and diagnosis of Turner syndrome. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
23. [Alvin M Matsumoto, MD](#), [Bradley D Anawalt, MD](#). Clinical features, diagnosis, and management of Klinefelter syndrome. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
24. [Philippe Backeljauw, MD](#). Management of Turner syndrome in children and adolescents. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
25. Clayton, Stanley G.; Fraser, Donald; Lewis, T. L. T.; Barbo, Dorothy M. MD, FACOG. OBSTETRICS BY TEN TEACHERS. (2017) *Obstetrics & Gynecology*. Louise C Kenny Jenny E Myers. CRC Press Taylor & Francis Group
26. Cunningham, F. Gary and Leveno, Kenneth J. and Bloom, Steven L. (2014) *Williams Obstetrics*. 24th edition . Mc Graw Hill.
27. [Lynn L Simpson, MD](#). Enlarged nuchal translucency and cystic hygroma. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
28. Jayashankar SS, Nasaruddin ML, Hassan MF, Dasrilayah RA, Shafiee MN, Ismail NAS, Alias E. Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT): Reliability, Challenges, and Future Directions. *Diagnostics (Basel)*. 2023 Aug 2;13(15):2570. Dostupno na: doi: 10.3390/diagnostics13152570.
29. [Glenn E Palomaki, PhD](#), [Geraldyn M Messerlian, PhD](#), [Jacquelyn V Halliday, MS](#). Prenatal screening for common aneuploidies using cell-free DNA. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
30. Hui L, Bianchi DW. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know. *Prenat Diagn*. 2020 Jan;40(2):155-163. Dostupno na: doi: 10.1002/pd.5620.
31. [Moufarrej, Mira N.](#); [Bianchi, Diana W.](#); [Shaw, Gary M.](#); [Stevenson, David K.](#); [Quake, Stephen R.](#) Noninvasive Prenatal Testing Using Circulating DNA and RNA: Advances, Challenges, and Possibilities. Vol. 6:397-418 (August 2023). Dostupno na: <https://doi.org/10.1146/annurev-biodatasci-020722-094144>
32. [Peter J Hulick, MD, MMSc, FACMG](#). Next-generation DNA sequencing (NGS): Principles and clinical applications. In: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
33. Abedalthagafi M, Bawazeer S, Fawaz RI, Heritage AM, Alajaji NM, Faqeih E. Non-invasive prenatal testing: a revolutionary journey in prenatal testing. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Nov 9;10:1265090. Dostupno na: doi: 10.3389/fmed.2023.1265090.

34. Bedei I, Wolter A, Weber A, Signore F, Axt-Fliedner R. Chances and Challenges of New Genetic Screening Technologies (NIPT) in Prenatal Medicine from a Clinical Perspective: A Narrative Review. *Genes (Basel)*. 2021 Mar 29;12(4):501. Dostupno na: doi: 10.3390/genes12040501.
35. Wagner, Jasenka Primjena slobodne fetalne DNA iz krvi majke za probir aneuploidija: prednosti i ograničenja // *Paediatrica Croatica*, 59 (2015), 2; 118-124. Dostupno na: doi: 10.13112/PC.2015.19
36. [David T Miller, MD, PhD, FACMG](#). Prenatal diagnosis of chromosomal imbalance: Chromosomal microarray. In: *UpToDate*, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer
37. Suci ID, Toader OD, Galeva S, Pop L. Non-Invasive Prenatal Testing beyond Trisomies. *J Med Life*. 2019 Jul-Sep;12(3):221-224. Dostupno na: doi: 10.25122/jml-2019-0053.
38. Introduction to NIFTY (Internet) Dostupno na: <https://www.niftytest.com/introduction-to-nifty>
39. Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Guo Y, Zhu Z, Lin M, Liu Q, Tian Z, Zhang H, Chen F, Lau TK, Zhao L, Yi X, Yin Y, Wang W. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015 May;45(5):530-8. Dostupno na: doi: 10.1002/uog.14792.
40. Łączmańska I, Stembalska A. Nieinwazyjny test NIFTY w diagnostyce najczęstszych trisomii chromosomowych u płodu [Non-invasive fetal trisomy (NIFTY) test in prenatal diagnosis]. *Ginekol Pol*. 2014 Apr;85(4):300-3. Polish. Dostupno na: doi: 10.17772/gp/1727.
41. Selecting a Type of NIPT Technology (Internet) Dostupno na: <https://emea.illumina.com/clinical/reproductive-genetic-health/nipt/labs/nipt-technology-types.html>
42. Harmony prenatal test (Internet) Dostupno na: <https://www.medilab.at/harmony-prenatal-test-fuer-werdende-eltern/>
43. Panorama (Internet) Dostupno na: <https://www.natera.com/womens-health/panorama-nipt-prenatal-screening/>
44. Bakkeren IM, Kater-Kuipers A, Bunnik EM, Go ATJI, Tibben A, de Beaufort ID, Galjaard RH, Riedijk SR. Implementing non-invasive prenatal testing (NIPT) in the Netherlands: An interview study exploring opinions about and experiences with

- societal pressure, reimbursement, and an expanding scope. *J Genet Couns.* 2020 Feb;29(1):112-121. Dostupno na: doi: 10.1002/jgc4.1188.
45. NIPT available as standard option for all pregnant women from 1 April (Internet) Dostupno na: <https://www.rivm.nl/en/news/nipt-available-as-standard-option-for-all-pregnant-women-from-1-april>
46. Ravitsky V, Roy MC, Haidar H, et al. The emergence and global spread of noninvasive prenatal testing. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2021; **22**(1): 309-338. Dostupno na: <https://doi.org/10.1146/annurev-genom-083118-015053>
47. Gadsbøll K, Petersen OB, Gatinois V, et al. Current use of noninvasive prenatal testing in Europe, Australia and the USA: a graphical presentation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020; **99**(6): 722-730. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/aogs.13841>
48. van der Meij, K.R.M., Henneman, L. and Sistermans, E.A. (2023), Non-invasive prenatal testing for everybody or contingent screening?. *Prenatal Diagnosis*, 43: 443-447. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/pd.6296>
49. Dungan JS, Klugman S, Darilek S, et al. Noninvasive prenatal screening (NIPS) for fetal chromosome abnormalities in a general-risk population: an evidence-based clinical guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2022;S1098-3600(22):1004-8. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.11.004>
50. Nuffield Council on Bioethics. Non-invasive prenatal testing: ethical issues. (2017) Dostupno na: <https://www.nuffieldbioethics.org/assets/pdfs/NIPT-ethical-issues-full-report.pdf>

## ŽIVOTOPIS

### Osobni podatci:

Ime i prezime: Tea Škrobo

Datum rođenja: 07.02.2000

Mjesto rođenja: Zagreb

### Obrazovanje:

2006.-2014.- OŠ Antuna Matoša, Zagreb

2014.-2018.- II. Gimnazija, Zagreb

2018.-2024.- Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu