NOVOSTI U PRENATALNOJ DIJAGNOSTICI

Doc.dr.sc. **Jasenka Wagner**, spec.med.biokem. i lab.medicine

Laboratorij za medicinsku genetiku

Katedra za medicinsku biologiju i genetiku

Medicinski fakultet Osijek

HDMBLM-SiB-Osijek-18.11.2014.

Prenatal
Testing
Invasive or
Noninvasive?

UVOD

- prenatalna dijagnostika (neinvazivna/invazivna)
- genetičko savjetovanje
- kod oko 4% novorođenčadi nalazimo bolesti koje u potpunosti ili djelomično imaju gensku etiologiju
- "genske" bolesti:

  a) kromosomski poremećaji

  b) monogenske bolesti

  c) poligenske/multifaktorijalne bolesti

INVAZIVNE TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

- najčešće korištene metode →
  amniocenteza i **biopsija korionskih resica**

  - **Prednost:**
    - uzorak sadrži fetalni materijal pogodan za citogenetičku, molekularno-genetičku ili biokemijsku analizu

  - **Nedostaci:**
    - invazivnost
    - dugotrajnost (u slučaju kariotipizacije)

INVAZIVNE TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

- Indikacije:
  - starost trudnice >35 g.
  - opterećena osobna ili obiteljska anamneza
  - abnormalan ultrazvučni nalaz
  - povišen rizik nakon biokemijskog probira
  - psihološki razlozi
  - ostalo

- Komplikacije:
  - spontani pobačaj
  - prijevremeni porod
  - krvarenja majke i ploda
  - kontrakcije maternice
  - oštećenje posteljice
  - ozljeda ploda
  - otjecanje plodove vode
  - infekcije
  - Rh imunizacija

INVAZIVNE TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

CVS vs. amniocenteza

Prednosti :

nalaz PD u 1. tromjesečju,

količina dobivenog tkiva za analizu je veća

Nedostaci:

dvopostotna mogućnost ograničenog placentarnog mozaicizma,

nešto veći rizik za pobačaj

TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

- **ultrazvuk** u dijagnostičkoj praksi od 1961.g.
  - indirektna pomoć pri uzimanju uzoraka za invazivne analize
  - neinvazivno direktno ispitivanje morfologije ploda
    - otkrivanje poremećaja ranog razvoja embrija u 1. tromjesečju transvaginalnom ultrasonografijom
    - precizna morfološka UZV istraživanja: 15.-20. gestacijski tjedan – određivanje specifičnih UZV biljega određenih nasljednih bolesti (kongenitalnih malformacija ploda)
    - fetalna ehokardiografija - komplementarna tehnika probira

NEINVAZIVNE TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

- od 90-ih g. 20.st. neinvazivni *screening* testovi - **testovi probira**
- princip:
  - stadij trudnoće
  - dob trudnice
  - koncentracije biokemijskih biljega u serumu trudnice: **AFP, nE3, slobodna βHCG, Inhibin A, PAPP-A**
  - UZV biljeg – **nuhalni nabor (NN)**

izračun rizika za fetalnu aneuplodiju i
oštećenje neuralne cijevi

STOPA DETEKCIJE SINDROMA DOWN

(UZ STOPU LAŽNO POZITIVNIH REZULTATA OD 5%)

NAZIV TESTA	BILJEZI	TROMJESEČJE	USPJEŠNOST TESTA
dvostruki	AFP + slobodna βHCG	drugo	63%
trostruki	AFP + slobodna βHCG + nE3	drugo	67%
četverostruki	AFP + slobodna βHCG + nE3 + inhibin A	drugo	72 %
kombinirani	NN + slobodna βHCG + PAPP-A	prvo	89 %

NEINVAZIVNE TEHNIKE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

- **Testovi probira**

  - **Prednosti:**
    - neinvazivnost
    - dostupnost široj populaciji

  - **Nedostaci:**
    - zbog nepotpune osjetljivosti i specifičnosti to su testovi probira, a ne dijagnostički testovi
    - stopa lažno pozitivnih rezultata kod ovih testova iznosi 1.9-5.2%, a lažno negativnih 19-23%

Hrvatsko društvo za perinatalnu medicinu Hrvatskog liječničkog zbora. Nacionalna stručna preporuka za prenatalni probir i dijagnostiku kromosomopatija. Gynaecol Perinatol 2010;19:119-26.

- neinvazivni testovi probira preporučuju se u nisko rizičnih trudnoća, odnosno trudnica mlađih od 36 godina koje imaju negativnu osobnu ili obiteljsku anamnezu
- invazivna prenatalna dijagnostika preporučuje se trudnicama s navršenih 36 godina života i starijim zbog dokazanog povećanog rizika za sindrom Down, ali i za druge sindrome uzrokovane promjenama kromosoma, posebno trisomijama
- osim zbog poodmakle dobi trudnice, invazivna prenatalna dijagnostika medicinski je opravdana i preporučuje se u:
  - pozitivne ili opterećene obiteljske i/ili reproduktivne anamneze
  - pozitivnih ultrazvučnih biljega kromosomopatija
  - pozitivnog nalaza testova probira prvog ili drugog tromjesečja

PRENATALNA DIJAGNOSTIKA

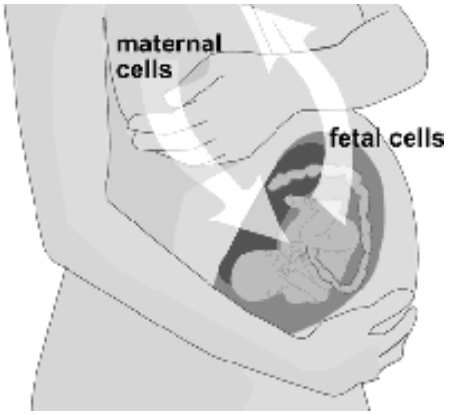
Invazivna

- biopsija korionskih resica
- amniocenteza

Neinvazivna

- biokemijski i ultrazvučni biljezi
- **fetalne stanice**
- **slobodna fetalna DNA**

FETALNE STANICE



- 1893.g. njem. patolog Georg Schmorl → dokaz fetalnog mikrokimerizma
  - *Bianchi DW. Fetal cells in the maternal circulation: feasibility for prenatal diagnosis. Br J Haematol 1999;105:574–83.*
- 1979. g. Herzenberg pronašao stanice s kromosomom Y u perifernoj krvi trudnica koje su nosile muški plod
  - *Herzenberg LA, Bianchi DW, Schroder J, Cann HM, Iverson GM. Fetal cells in the blood of pregnant women: detection and enrichment by fluorescence-activated cell sorting. Proc Natl Acad Sci USA 1979;76:1453-5.*
- 1990. g. Diana Bianchi dokazala „muške“ stanice kod žena koje su rodile sinove prije više desetljeća
  - *Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, Sylvester S, DeMaria MA. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:705–8.*
- fetalne stanice normalno fiziološki migriraju i u druga tkiva majke, ali su prisutne u iznimno malim količinama: oko 2-12 fetalnih st. / 1 ml majčine krvi (1 fetalna st. / 1 milijun majčinih st.)

FETALNE STANICE

- **prednost**:
  dobar izvor genetičkog materijala fetusa (nema smetnji od strane majčine DNA)

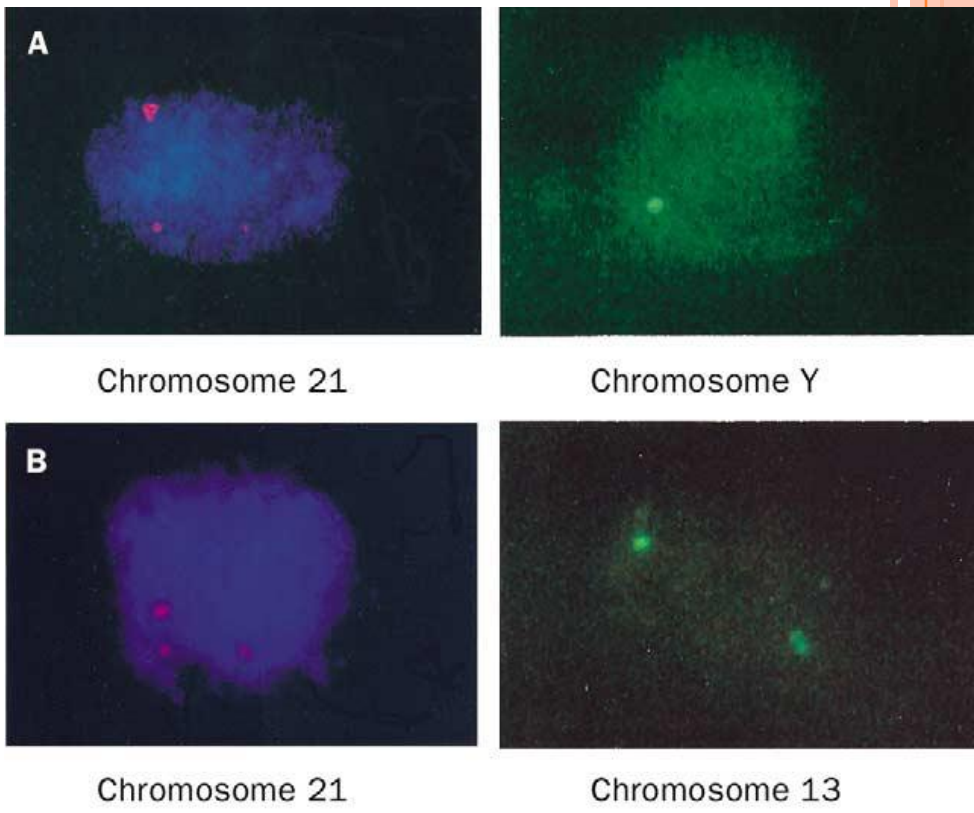
- **nedostatak**:
  teško "uhvatljive", zaostaju u organizmu majke godinama nakon poroda

Analiza fetalnih stanica do danas nije zaživjela u kliničkoj praksi!

Neinvazivna prenatalna detekcija Down sindroma analizom fetalnih stanica?

1) *Poon LLM, Leung TN, Lau TK, Lo YMD. Prenatal detection of fetal Down's syndrome from maternal plasma. Lancet 2000;356:1819-20.*

2) *Bianchi D et al. Fetal gender and aneuploidy detection using fetal cells in maternal blood: analysis of NIFTY I data. National Institute of Child Health and Development Fetal Cell Isolation Study. Prenat Diagn. 2002;22:609-15.*



Slobodna DNA – kronologija otkrića

- prisutnost nukleinskih kiselina u plazmi čovjeka
  - P. Mandel and P. Metais, Les acides nucleiques du plasma sanguin chez l'Homme, *C R Acad Sci Paris* 142 (**1948**) 241-243.
- potencijalna primjena slobodne DNA u tumorskoj dijagnostici i praćenju uspješnosti antitumorske terapije
  - S. A. Leon, B. Shapiro, D. M. Sklaroff and M. J. Yaros, Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy *Cancer Res.* 37 (**1977**) 646-650.
- otkriće prisutnosti slobodne fetalne DNA u krvi majke
  - Y. M. D. Lo, N. Corbetta, P. F. Chamberlain, V. Rai, I. L. Sargent, C. W. G. Redman, J. S. Wainscoat, Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum, *Lancet* 350 (**1997**) 485–487.

SLOBODNA DNA (cfDNA)

ENG. *CELL FREE DNA / FREE DNA / PLASMA DNA*

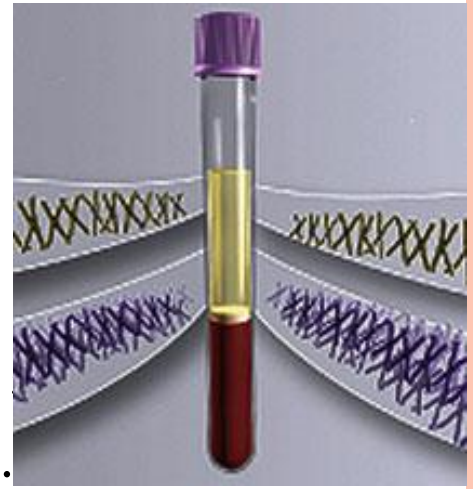
WAGNER J. BIOCHEMIA MEDICA 2012; 22(1): 24-38

- smjesa fragmenata DNA detektabilnih u različitim tjelesnim tekućinama
  - plazma, serum, urin, likvor, slina, feces, peritonejska tekućina, sinovijalna tekućina
  - 0-100 ng/ml krvi normalna koncentracija
- fragmenti većinom dvolančani, širokog raspona veličina (0.18 - 21 kilobaza)
- mehanizam nastanka: apoptoza / nekroza
- eliminacija iz organizma naročito brza (jetra, bubreg)

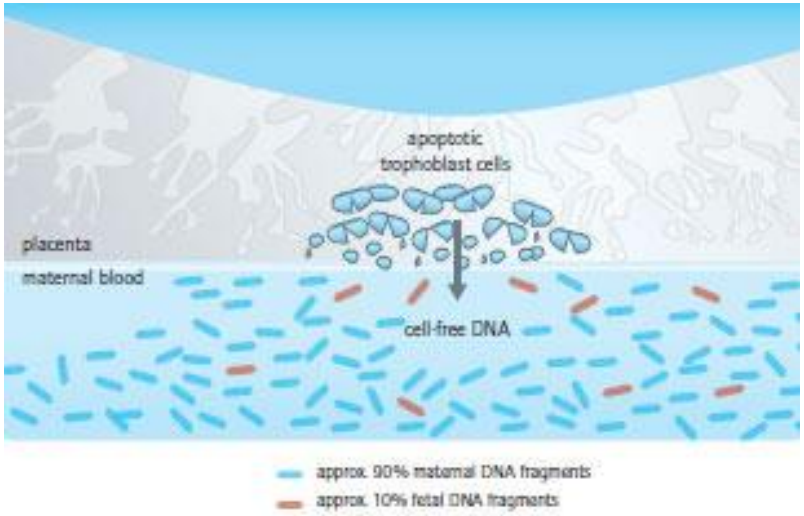
SLOBODNA FETALNA DNA

ENG. *CELL FREE FETAL DNA* (CFFDNA)

***WAGNER J**. BIOCHEMIA MEDICA 2012; 22(1): 24-38*

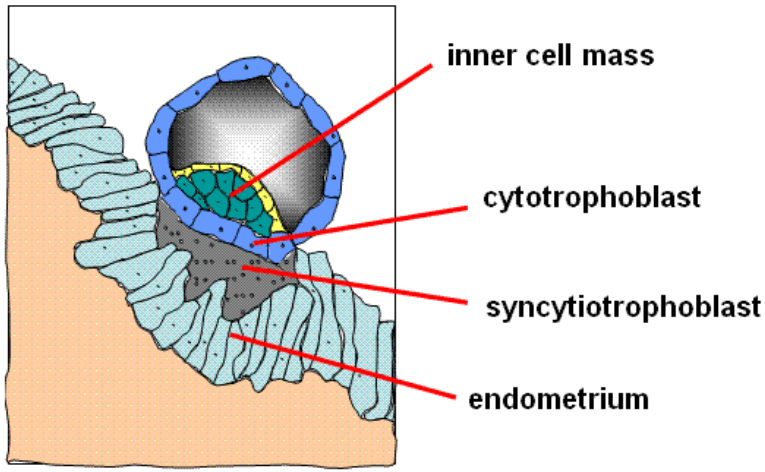


- alternativni izvor fetalnog genetičkog materijala
- (neinvazivnu) prenatalnu dijagnostiku od 1997.g.
  → Dennis Lo i sur. metodom *nested PCR* identificirali Y kromosom (DYS14 marker) u plazmi i serumu trudnica → muški spol ploda
- progresivan rast tijekom trudnoće, udio u ukupnoj cfDNA 3.4 - 6.2% (5-10%)



SLOBODNA FETALNA DNA
ENG. *CELL FREE FETAL DNA* (CFFDNA)

- brza eliminacija nakon poroda (t½=16.3 minute) → specifičnost
- porijeklom iz sinciciotrofoblasta (placente)
- u odnosu na majčinu cfDNA kraća, degradiranija i hipometiliranija
- detektabilna od 4. gestacijskog tjedna
- lako dostupna, ali praktički neodvojiva od majčine slobodne DNA
- dokazana i u plodovoj vodi, urinu, likvoru i peritonejskoj tekućini



Wagner J. *Biochemia Medica 2012; 22(1): 24-38*

PRIMJENA SLOBODNE FETALNE DNA U NEINVAZIVNOJ PRENATALNOJ DIJAGNOSTICI / PRENATALNOM PROBIRU

1. NEINVAZIVNO ODREĐIVANJE SPOLA PLODA (NIPD)

- PCR u stvarnom vremenu, osjetljivost 87-100%, specifičnost 98-100%, pouzdano od 5. gest. tjedna
- indikacije: sumnja na X vezanu bolest, potvrda genetičkog spola, sumnja na kongenitalnu adrenalnu hiperplaziju

2. NEINVAZIVNO UTVRĐIVANJE RHD STATUSA PLODA (NIPD)

- kod RhD negativnih trudnica ispituje se prisutnost RhD gena (1p34-p36), pouzdana od 6. gestacijskog tjedna
- PCR u stvarnom vremenu, osjetljivost 98-100%, specifičnost 95-100%

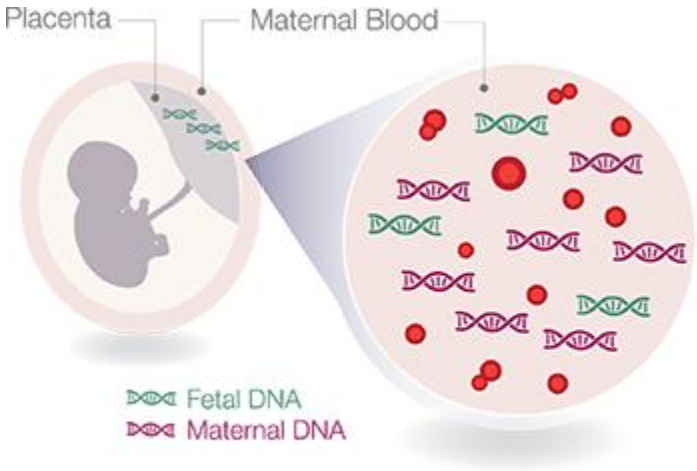
3. NEINVAZIVNA PRENATALNA DIJAGNOSTIKA MONOGENSKIH BOLESTI

- de novo mutacije ili paternalno naslijeđene (ß-talasemija major, miotonična distrofija, ahondroplazija, Huntingtonova bolest i cistična fibroza)

4. NEINVAZIVNO UTVRĐIVANJE BROJA KROMOSOMA KOD PLODA –

- visoko diskriminirajuće kvantitativne metode za analizu broja kromosoma simultanom analizom majčine i fetalne DNA

ISTRAŽIVANJA cffDNA



Cell-free fetal DNA in maternal circulation

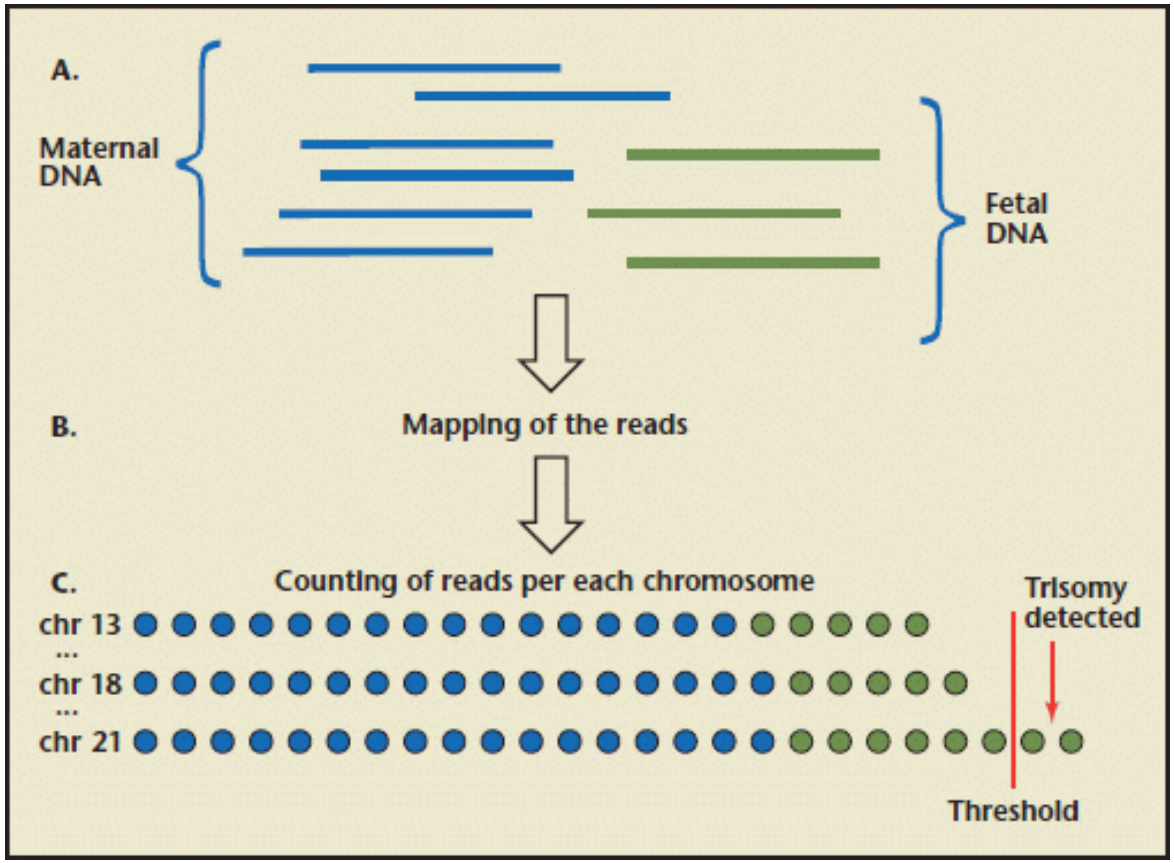
3 osnovna eksperimentalna pristupa:

1. **obogaćivanje fetalne frakcije slobodne DNA u plazmi**
   A. tretman formaldehidom
   B. frakcioniranje slobodne plazmatske DNA

2. **traženje fetalno specifičnih epigenetičkih biljega (*RASSF1A*) ili biljega glasničke RNA specifičnih za placentu (*PLAC4*)**

3. **razvoj visoko diskriminirajuće kvantitativne metode za analizu broja kromosoma**
   A. precizne metode digitalni PCR
   B. genetičkog sekvencioniranja druge generacije

NIPT – NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE



Norwitz ER, Levy B. **Noninvasive Prenatal Testing: The Future Is Now.** Rev Obstet Gynecol. 2013;6(2):48-62.

Massively parallel shotgun sequencing for the noninvasive prenatal detection of fetal chromosomal aneuploidy. (A) Fetal DNA (*green) circulates in the maternal plasma as a minor population among a high* background of maternal DNA (*blue). A sample of maternal plasma is obtained. Short fragments of cell-free* DNA are then sequenced. (B) The chromosomal origin of each sequence is identified by mapping the reads to the human reference genome. (C) The number of unique sequences mapped to each chromosome is then counted and the number of sequences for the chromosomes of interest is determined in subsequent analysis. Aneuploidy is detected by various statistical techniques based on the number of reads representing the chromosome of interest compared with the other chromosomes. The *blue and green circles represent the* reads mapped to each chromosome from maternal and fetal DNA fractions, respectively. However, there is no way to distinguish the origin of the individual reads; the only difference is in the total number of reads that are detected. If the reads exceed that expected, the fetus is trisomic for that chromosome.

TABLE 1

Performance Parameters of Noninvasive Screening Tests for Fetal Trisomy 21

Risk Factor/ Biomarker[a]	GA (wks)	Sensitivity (%)	Screen Positive (%)	Specificity	DR[b] (for a 5% FPR) (%)	FPR[c] (for an 85% DR) (%)	Study
Age ≥ 35 y	—	30	5	1 in 100	30-50	48-55	ACOG,[9] Driscoll DA et al,[10] Haddow JE et al,[19] Wald NJ et al,[25] Wald NJ et al,[26] Wapner R et al.[28]
First trimester risk assessment	11-14	82-87	5	1 in 25	79-90	5-9	ACOG,[9] Driscoll DA et al,[10] Malone FD et al,[20] Nicolaides KH,[22] Spencer K et al,[24] Wald NJ et al,[26] Wapner R et al.[28]
Second trimester serum analyte (quad) screen	15-20	80	5	1 in 40	75-85 (only ~ 50% for twins)	5-10	ACOG,[9] Driscoll DA et al,[10] Benn PA et al,[18] Malone FD et al,[20] Neveux LM et al,[21] Wald NJ et al,[26] Wald NJ et al.[27]
Integrated screen	11-20	94-97	4-5	1 in 30	90-96	1-5	Driscoll DA et al,[10] Malone FD et al,[20] Platt LD et al,[23] Wald NJ et al,[26] Wald NJ et al,[27] Wright D et al,[29] Cuckle H et al,[63] Palomaki GE et al.[64]
Cell-free DNA —MPSS	> 10	98.6-100	—	97.9-99.8	—	—	Fan HC et al,[72] Palomaki GE et al,[73] Fan and Quake,[74] Chiu RW et al,[76] Bianchi DW et al,[77] Palomaki GE et al,[78] Chen EZ et al,[79] Sehnert AJ et al,[84] Ehrich M et al,[100] Liao GJ et al.[101]
—Targeted sequencing + DANSR + FORTE	> 10	100	—	99.7-100	—	—	Sparks AB et al,[75] Sparks AB et al,[80] Ashoor G et al.[86]
—Targeted sequencing + PS	> 9	100	—	99.8-100	—	—	Zimmermann B et al,[85] Nicolaides KH et al.[92]

Norwitz ER, Levy B. **Noninvasive Prenatal Testing: The Future Is Now.** Rev Obstet Gynecol. 2013;6(2):48-62.

NIPT TEHNIKE

1. masivno paralelno sekvencioniranje čitavog genoma
   - 10-20 milijuna očitanja (“reads/tags”)
   - potencijal za utvrđivanje aneuploidija svih kromosoma
2. ciljano sekvencioniranje kromosoma od interesa
   - manji broj očitanja, “jeftinije” i brže do rezultata
   - daje manju količinu informacija o genomu
3. SNP sekvencioniranje lokusa na kromosomima od interesa
   - uzima u obzir majčin genotip i teoretski očev genotip
   - ne zahtijeva referentnu vrijednost
   - potencijal za utvrđivanje triploidije

Klinička primjena analize slobodne fetalne DNA iz majčine plazme

Clinical Experience with NIDT Ferres et al. American Journal of Perinatology Vol. 31 No. 7/2014

Test	Metodologija	Klinička primjena
Najčešće aneuploidije (13, 18, 21, X, and Y)	MPS čitavog genoma; ciljano sekvencioniranje; SNPs	Širom svijeta
Poremećaji koji se nasljeđuju spolno vezano (npr. CAH, hemofilija, DMD)	MPS čitavog genoma; ciljano sekvencioniranje; SNPs; PCR SRY gena	Europa (u Velikoj Britaniji dio standardne zdravstvene skrbi)
Rhesus D inkompatibilnost	PCR RHD gena	Europa (Švedska, Danska, Francuska, Nizozemska, Njemačka, Velika Britanija, Poljska, Češka, Slovačka, Slovenija, Hrvatska)
Monogenski poremećaji (i.e., thalassemia)	PCR, MPS	Samo u istraživačke svrhe
Drugi strukturni kromosomski poremećaji (npr. delecije, duplikacije)	MPS čitavog genoma; ciljano sekvenciniranje; SNPs	Ograničena dostupnost počevši od 2014.g.

Karakteristike NIPT (NIDT)

Aneuploidija	Osjetljivost (%) (95% CI)	Specifičnost (%) (95% CI)
T21	98.6–100 (95.9–100)	100 (99.1–100)
T18	97.2–100 (85.5–99.9)	100 (99.2–100)
T13	78.6–91.7 (49.2–99.9)	100 (99.2–100)

Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. Genet Med 2012;14:296–305

Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. Obstet Gynecol 2012;119:890–901.

NIPT KOMERCIJALNI LABORATORIJI

- SAD: Sequenom, Natera, Verinata, Ariosa
- Europa: LifeCodexx
- Kina: BGI, Berry Genomics

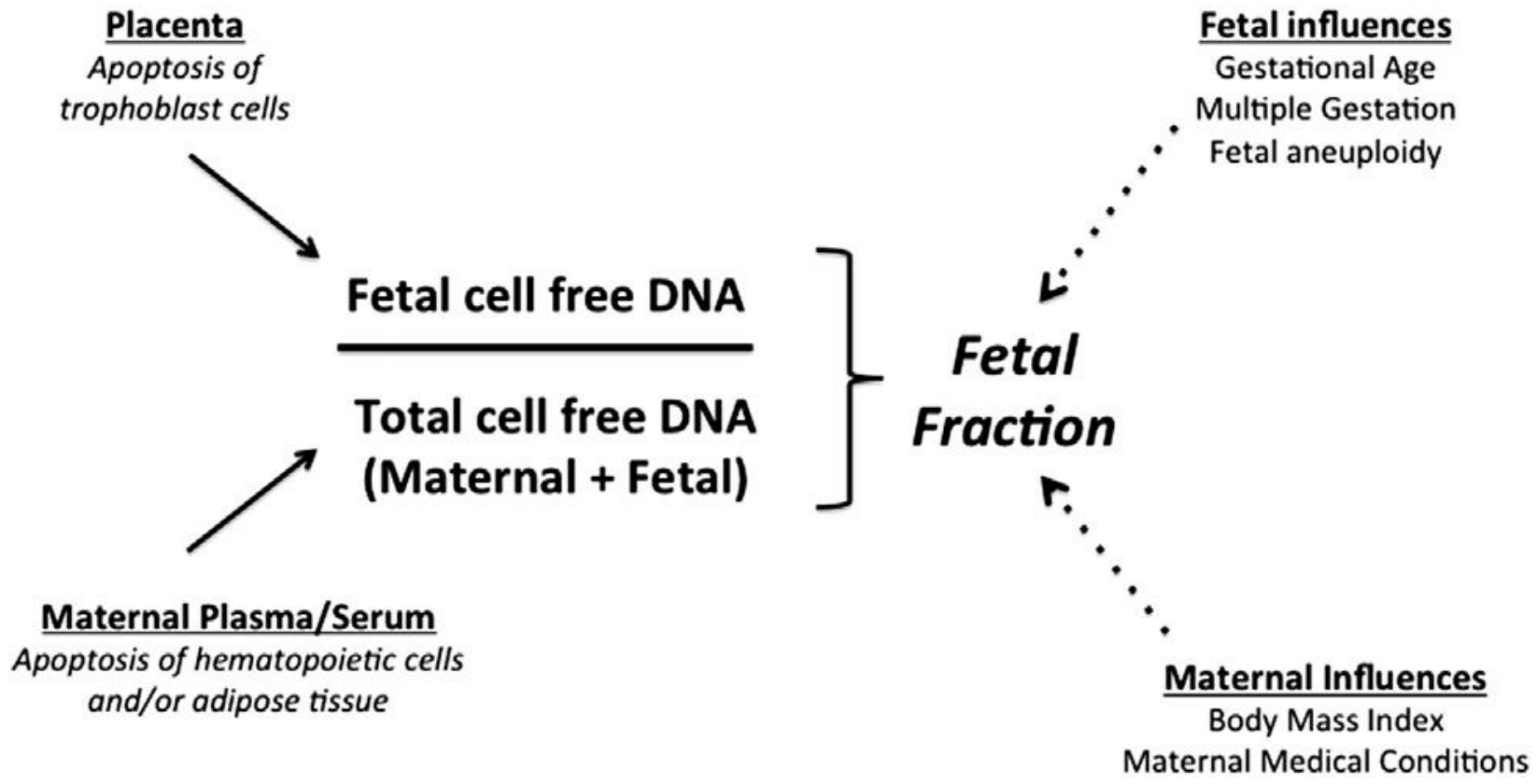
- Hrvatska: BGI, Ariosa, LifeCodexx

US NIPT brands

PROVOĐENJE NIPT ANALIZE

- komercijalno dostupni testovi ("*direct to consumer*")
- najčešće bez adekvatnog genetičkog savjetovanja
- ponekad predstavljeni kao dijagnostički testovi, a ustvari su testovi probira čiji patološki rezultat se mora potvrditi invazivnom metodom
- zdravstveno osiguranje ne pokriva troškove testiranja
- smjernice stručnih udruženja, postoje li ?
- nedovoljna informiranost javnosti, ali i struke o testovima koji se "rutinski"primjenjuju

Biološki čimbenici koji utječu na fetalnu frakciju slobodne DNA



E.S. Taglauer et al. / Placenta 35, Supplement A, Trophoblast Research, Vol. 28 (2014) S64eS68

Stope detekcije sindroma Down u ovisnosti o primijenjenom testu i mjerenim biljezima

DM, dob majke; PAPP-A, plazmatski protein A povezan s trudnoćom; HCG, human korionski gonadotropin; NN, nuhalni nabor; AFP, alpha-fetoprotein; E3, estriol; NIPT, neinvazivno prenatalno testiranje

1. tromjesečje (11.–14. tjedan trudnoće)		
Neinvazivni	DM	30–50%
	PAPP-A, HCG, DM	60–63%
	Mjerenje NN i DM	74–80%
	Kombinirani test (NN, PAPP-A, HCG, DM)	**86–90%**
	Kombinirani test + nosna kost/ trikuspidni protok/ ductus venosus/ facial angle	**95%**
	NIPT (slobodna DNA)	**99%**
Invazivni	Biopsija korionskih resica	blizu 100%
2. tromjesečje (15.–19. tjedan trudnoće)		
Neinvazivni	DM	30–50%
	Dvostruki test (AFP, HCG, DM)	60%
	Trostruki test (AFP, HCG, E3, DM)	68%
	Četverostruki test (AFP, HCG, E3, Inhibin A, DM)	79%
	Ultrazvuk (16.–23. tjedan trudnoće) uz prisutnu anomaliju	75%
Invazivni	Amniocenteza	blizu 100%

NEINVAZIVNO DNA TESTIRANJE NA NAJČEŠĆE AUTOSOMALNE ANEUPLOIDIJE

WAGNER J. NEINVAZIVNA PRENATALNA DIJAGNOSTIKA GENSKIH BOLESTI. U: TAJNE I NEDOUMICE U PEDIJATRIJI, PROGRAM STALNOG MEDICINSKOG USAVRŠAVANJA I. KATEGORIJE, OSIJEK, 20.9.2014., STR. 143-153, ISBN: 978-953-7736-19-4

- **prednosti**
  - neinvazivnost
  - može se provoditi tijekom cijele trudnoće
- **ograničenja**
  - usmjerenost na najčešće trisomije
  - ne detektira druge kromosomske abnormalnosti, samo aneuploidije čitavih kromosoma
  - relativno velik udio neuspjelih analiza (2.6%-5.4%)
  - neuspješan u slučaju niske koncentracije slobodne fetalne DNA
  - nije validiran za višeplodne trudnoće
  - svaki pozitivni rezultat NIPT testa mora se potvrditi referentnom metodom - postotak lažno pozitivnih (0.25 - 1%) i lažno negativnih rezultata (manje od 1%)
- **posljedice**

NIPT je smanjilo broj invazivnih testova, no nije poboljšalo stopu detekcije te je smanjilo postotak otkrivenih drugih kromosomskih abnormalnosti koje bi standardna kariotipizacija detektirala

BIOLOŠKI RAZLOZI NESLAGANJA FETALNOG KARIOTIPA I NIDT REZULTATA (0.1%)

- ograničeni placentarni mozaicizam
- uniparentalna disomija
- abnormalan kariotip majke (abnormalnosti spolnih kromosoma, mozaicizam)
- maligno oboljenje trudnice
- gubitak jednog od blizanaca

Influence of confined placental mosaicism on the discordance between NIPT results and fetal karyotype (E. Taglauer et al. Placenta 35, Vol.28, (2014) S64-S68)

NIPT rezultat	Fetalni kariotip	CVS	Reference
Autosomal aneuploidy			
Trisomy 13	46, XX (amniocentesis)	CPM: 46, XX, +13, der (13; 13) (q10; q10) [5] in direct preparation	Mennuti et al. Am J Obstet Gynecol 2013
Trisomy 13	46, XY (fetal tissue)	CPM: 47,XY, +13 in direct preparation	Mennuti et al. Am J Obstet Gynecol 2013
Trisomy 13	46, XY (amniocentesis and cord blood)	CPM:47, XY, +13 [10]/46, XY [12	Hall et al. Genet Med 2013
Trisomy 21	46, XX, upd (21) mat	CPM: Trisomy 21	Pan et al. Prenat Diagn 2013
Trisomy 22	Cord blood normal by sequencing	CPM: Trisomy 22	Choi et al. Prenat Diagn 2013
Sex chromosome aneuploidy			
47, XXY	46, XY (amniocentesis)	CPM: 49, XXX, +7, +21 [24]/46, XY [6]	Lau et al. Prenat Diagn 2013

Lažno negativni slučajevi

NIPT rezultat	Fetalni kariotip	CVS	Reference
T21	T18	T21 and T18 mosaicism	Clin Chim Acta. 2014 Jun 10;433:190-3.
False negative	T21	Euploid cells in the placenta	Prenat Diagn 2013;33:1207-10

Expanded chromosome testing panel

(Clinical Experience with NIDT, Ferres et al. American Journal of Perinatology Vol. 31 No. 7/2014)

Resolution: 3 Mb duplications or deletions, deletions as small as 300 kb

Trisomy 16
Trisomy 22
1p36 deletion
4p deletion (Wolf Hirschhorn)
5p deletion (Cri du chat)
7q11.23 deletion (Williams–Beuren)
15q11-q13 deletion (Prader–Willi/Angelman)
17p11.2 deletion (Smith Magenis)
17p13.3 deletion (Miller–Dieker)
22q11.2 deletion (DiGeorge)
22q13.3 deletion (Phelan–McDermid)

Neinvazivno testiranje na monogenske poremećaje

- relativno spor napredak u razvoju testova
  - manje tržište
  - tehnički zahtjevnije (FGFR3 gen; β-globin gen; HD)
  - još u fazi istraživanja
  - trenutno nespremni za kliničku implementaciju

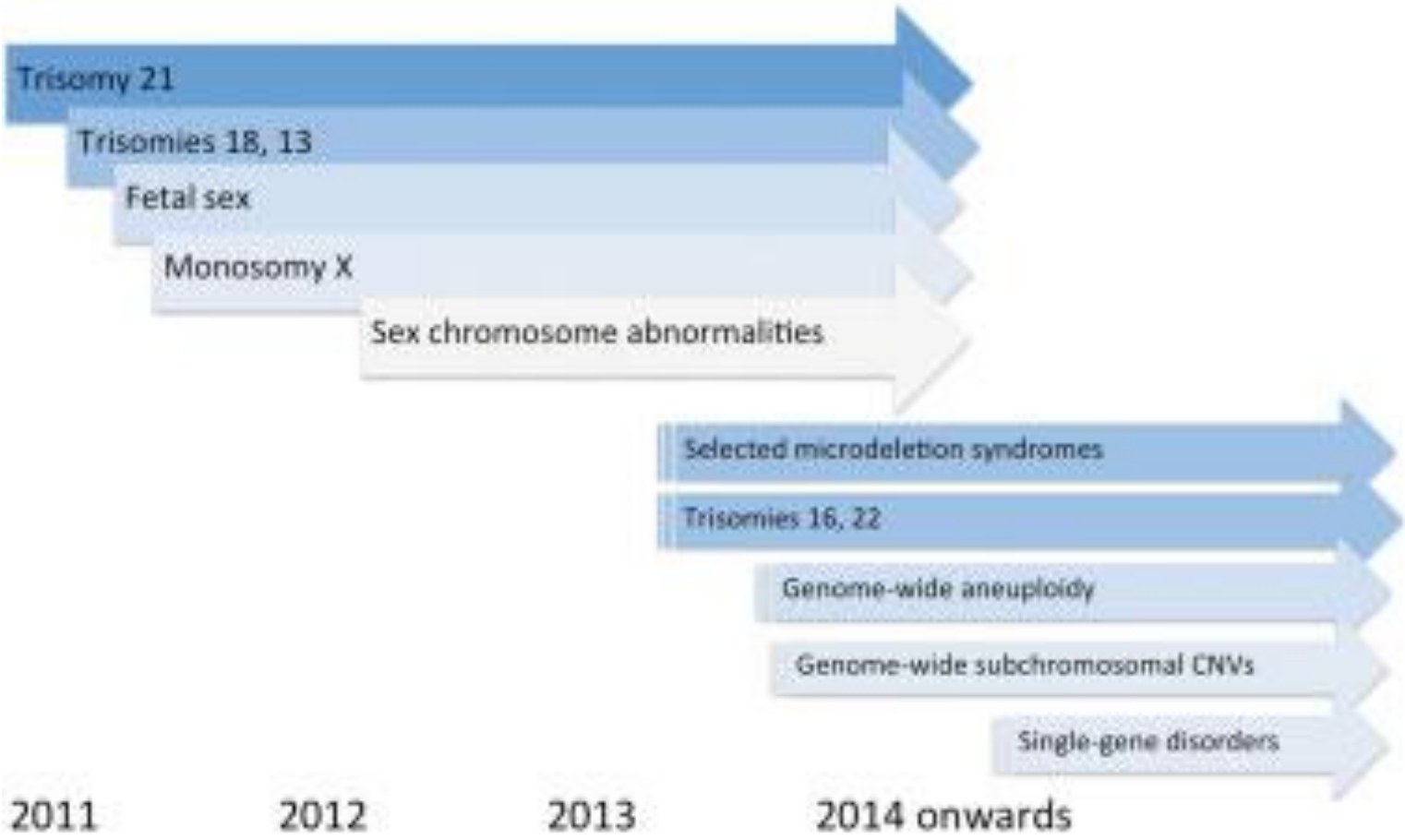
Neinvazivno testiranje čitavog fetalnog genoma

- izvedivo, ali limitirano relativnom količinom fetalne DNA u uzorku
- neophodno regulirati etičke dvojbe prije nego postane klinički dostupno

Timeline of current and likely future clinical NIDT assays available in the United States.

(CNVs, copy number variations; NIDT,noninvasive DNA testing)

Clinical Experience with NIDT Ferres et al. American Journal of Perinatology Vol. 31 No. 7/2014



Ukratko...

Wagner J. Neinvazivna prenatalna dijagnostika genskih bolesti. u: Tajne i nedoumice u pedijatriji, Program stalnog medicinskog usavršavanja I. Kategorije, Osijek, 20.9.2014., str. 143-153, ISBN: 978-953-7736-19-4

- neinvazivna DNA testiranja (NIDT) / neinvazivna prenatalna testiranja (NIPT) vrlo su brzo prošla put "bench to bedside"
- NIPD za određivanje RHD i SRY statusa dio je rutinske antenatalne skrbi u mnogim dijelovima Europe
- NIDT za najčešće autosomalne aneuploidije je u procesu integracije u kliničku skrb širom svijeta
- iako NIDT za aneuploidije još uvijek nije dijagnostički test, kao posljedica njegove visoke specifičnosti primijećeno je značajno smanjenje invazivnih zahvata
- novost u prenatalnom probiru, određivanje fetalnog spola i aneuploidije gonosoma, zahtijeva daljnje studije
- u bliskoj budućnosti, mogućnosti testiranja će se proširiti na detekciju submikroskopskih abnormalnosti i monogenskih poremećaja, a možda i čitavog genoma
- buduće studije trebaju istražiti i definirati: tehničke karakteristike testova, etička pitanja i ekonomičnost (*cost-effectiveness*) NIDT, popuniti "rupe" u znanju o slobodnoj fetalnoj DNA

Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 545. American College of Obstetricians and Gynecologists. Obstet Gynecol 2012;120:1532–4.

- ACOG (*American College of Obstetricians and Gynecologists*) preporučuje primjenu NIPT <u>samo kod visokorizičnih trudnoća:</u>
  - NIPT nuditi samo trudnicama s visokim rizikom za enuploidiju, a invazivne metode primijeniti samo kod trudnica s iznimno visokim rizikom za aneuploidiju, odnosno, da NIPT bude opcija nakon patološkog nalaza kombiniranog probira, a prije invazivnog zahvata