

# NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE U PROBIRU NAJČEŠĆIH ANEUPLOIDIJA

---

Tadić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:161115>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ana Tadić

NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE U  
PROBIRU NAJČEŠĆIH ANEUPLOIDIJA

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

SVEUČILIŠTE U RIJECI  
MEDICINSKI FAKULTET  
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ  
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Ana Tadić

NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE U  
PROBIRU NAJČEŠĆIH ANEUPLOIDIJA

Diplomski rad

Rijeka, 2022.

Mentor rada: (Ime i prezime mentora, akademska titula i znanstveno- nastavno zvanje)

Diplomski rad obranjen je dana \_\_\_\_\_ u/na \_\_\_\_\_, pred povjerenstvom u sastavu:

1. \_\_\_\_\_

2. \_\_\_\_\_

3. \_\_\_\_\_

Rad sadrži \_\_\_\_\_ stranica, \_\_\_\_\_ slika, \_\_\_\_\_ tablica, \_\_\_\_\_ literaturnih navoda.

## ZAHVALA

Od srca se zahvaljujem mentorici izv.prof.dr.sc. Jadranki Vraneković i komentorici dr.sc. Aniti Barišić na ukazanom povjerenju, svim savjetima i sugestijama tijekom izrade ovog diplomskog rada, te na iznimnoj ljubaznosti, strpljenju i najvažnije, uvijek pozitivnom stavu.

Također, hvala svom osoblju Zavoda za medicinsku biologiju i genetiku, Medicinskog fakulteta u Rijeci.

Veliko hvala mojim roditeljima i mom bratu što su mi bili i ostali podrška u svakom koraku mog obrazovanja. Bez njih ništa od ovoga ne bi bilo moguće.

## SAŽETAK

Prenatalna dijagnostika kromosomopatija neizostavan je dio prenatalne skrbi, a provodi se tijekom prvog i drugog tromjesečja trudnoće te uključuje brojne invazivne i neinvazivne metode. Neinvazivnim metodama probira utvrđuje se rizik za aneuploidije u ploda dok se invazivnim metodama dijagnostički potvrđuje ili isključuje kromosomska promjena. Neinvazivna metoda prenatalnog probira koja s visokom pouzdanošću može utvrditi rizik za najčešće aneuploidije kromosoma danas je neinvazivno prenatalno testiranje slobodno cirkulirajuće DNA fetusa iz krvi majke (NIPT). Cilj ovoga rada je prezentirati rezultate NIPT-a koji se provodio na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci u razdoblju od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine. U navedenom periodu, NIPT analizu napravile su 63 ispitanice, uz razvidan godišnji porast broja ispitanica. Između udjela fetalne frakcije i tjedna trudnoće, indeksa tjelesne mase i dobi majke nije utvrđena statistički značajna povezanost. NIPT je u 54% slučajeva bio samostalna indikacija za citogenetičku analizu stanica plodove vode, a slijedile su ga kombinacija NIPT-a i UZV-a te kombinacija NIPT-a i dobi trudnice. Najveću točnost u procjenjivanju rizika za aneuploidiju ploda imala je kombinacija NIPT-a i UZV-a. Usporedbom rezultata NIPT analize i citogenetičke analize stanica plodove vode, utvrđeno je da je NIPT u 33,3% slučajeva imao lažno pozitivne rezultate. NIPT analiza bila je najpouzdanija u procjenjivanju rizika za trisomiju kromosoma 21 dok je u procjeni aneuploidija spolnih kromosoma bila manje pouzdana. Invazivne metode i nadalje ostaju temelj dijagnostike kromosomskih abnormalnosti u prenatalnom razdoblju.

Ključne riječi: fetalna frakcija, neinvazivno prenatalno testiranje, prenatalna dijagnostika, slobodno cirkulirajuća fetalna DNA

## SUMMARY

Prenatal diagnosis of chromosomalopathies is an indispensable part of prenatal care, and is performed during the first and second trimester of pregnancy. It includes a number of invasive and non-invasive methods. Non-invasive screening methods determine the risk of aneuploidies in the fetus, while invasive methods diagnostically confirm or exclude chromosomal changes. A non-invasive method of prenatal screening that can reliably determine the risk of the most common chromosome aneuploidies today is non-invasive prenatal testing of cell-free circulating fetal DNA from the mother's blood (NIPT). The aim of this paper is to present the results of the NIPT conducted at the Department of Medical Biology and Genetics, Faculty of Medicine, University of Rijeka in the period from January 2019 to December 2021. In this period, the NIPT analysis was performed by 63 respondents, with a clear annual increase in the number of respondents. No statistically significant correlation was found between the proportion of fetal fraction and week of pregnancy, body mass index and maternal age. In 54% of cases, NIPT was an independent indication for cytogenetic analysis of amniotic fluid cells, followed by a combination of NIPT and ultrasound and a combination of NIPT and the age of the pregnant woman. The combination of NIPT and ultrasound had the highest accuracy in assessing the risk of fetal aneuploidy. When comparing the results of NIPT analysis and cytogenetic analysis of amniotic fluid cells, it was found that NIPT had false positive results in 33.3% of cases. NIPT analysis was the most reliable in assessing the risk for trisomy 21 while in assessing sex chromosome aneuploidies, it was less reliable. Altogether, invasive methods continue to be the basis for the diagnosis of chromosomal abnormalities in the prenatal period.

Keywords: cell-free fetal DNA, fetal fraction, non-invasive prenatal testing, prenatal diagnosis

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. NUMERICKE KROMOSOMSKE ABERACIJE .....	1
1.1.1. TRISOMIJA 21.....	1
1.1.2. TRISOMIJA 18.....	2
1.1.3. TRISOMIJA 13.....	2
1.1.4. ANEUPLOIDIJE SPOLNIH KROMOSOMA .....	2
1.2. PRENATALNA DIJAGNOSTIKA KROMOSOMOPATIJA .....	3
1.2.1. INVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE. ....	3
1.2.2. NEINVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE .....	4
1.2.2.1. ULTRAZVUČNI PROBIR (UZV).....	4
1.2.2.2. BIOKEMIJSKI BILJEZI .....	5
1.2.2.3. KOMBINIRANI TEST PROBIRA.....	5
1.2.2.4. NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE SLOBODNO CIRKULIRAJUĆE DNA FETUSA IZ KRVI MAJKE .....	6
1.2.2.4.1. FETALNE STANICE U KRVOTOKU MAJKE .....	6
1.2.2.4.2. SLOBODNO CIRKULIRAJUĆA DNA FETUSA U KRVOTOKU MAJKE .....	6
1.2.2.4.3. KATEGORIZACIJA FETALNE FRAKCIJE .....	7
1.2.2.4.4. METODE ANALIZE cff DNA SEKVENCIRANJEM .....	8
<b>2. CILJ RADA</b> .....	10
<b>3. ISPITANICI I METODE</b> .....	11
3.1. ISPITANICI.....	11
3.2. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA .....	11
<b>4. REZULTATI</b> .....	12
<b>5. RASPRAVA</b> .....	19
<b>6. ZAKLJUČAK</b> .....	27
<b>7. LITERATURA</b> .....	28
<b>8. POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA</b> .....	37
<b>9. KRATKI ŽIVOTOPIS</b> .....	38



# 1. UVOD

Prenatalna dijagnostika uključuje dijagnostičke postupke kojima se utvrđuje zdravstveno stanje ploda. Svrha prenatalne dijagnostike je pravovremeno informiranje roditelja o stanju ploda kako bi na osnovi dobivenih informacija donijeli odluku o ishodu trudnoće te omogućavanje medicinskih postupaka za eventualno liječenje ploda. Numeričke i strukturne promjene kromosoma uzrok su mnogobrojnih razvojnih poremećaja ploda koji se nastoje otkriti što ranije u trudnoći, tijekom prvog ili drugog tromjesečja, različitim invazivnim i neinvazivnim metodama (1).

## 1.1. NUMERICKE KROMOSOMSKE ABERACIJE

Svaka ljudska stanica sadrži diploidan broj kromosoma koji iznosi 46. Odstupanja od normalnog broja kromosoma unutar homolognog para kromosoma nazivaju se numeričke aberacije kromosoma, odnosno aneuploidije. Aneuploidije se dijele na trisomije i monosomije, a nastaju kao posljedica nepravilnog razdvajanja kromosoma tijekom mejoze ili mitoze (2).

### 1.1.1. TRISOMIJA 21

Trisomija 21, klinički prepoznatljiva kao sindrom Down, uzrokovana je dodatnom kopijom 21. kromosoma. Pojavljuje se u 1 od 800 živorođene djece. Ovo je najčešća aneuploidija u humanoj populaciji i jedan od najčešćih uzroka poteškoća u intelektualnom razvoju. Osim intelektualnog zaostajanja, prisutna je karakteristična dismorfologija, nizak rast, srčane greške te anomalije drugih organa o čijoj težini ovisi kvaliteta i trajanje života. Često se pojavljuju i problemi sa sluhom i vidom, a nerijetko se razvija i Alzheimerova bolest (3).

### 1.1.2. TRISOMIJA 18

Trisomija kromosoma 18 klinički se prezentira kao sindrom Edwards. Javlja se u 1 od 6000 živorođene djece. Uzrokuje izrazito teško intelektualno zaostajanje, anomalije srca, mozga i drugih organa. Zbog teških tjelesnih oštećenja ploda, trudnoće s trisomijom 18 obično završe spontanim ili medicinski induciranim pobačajem, a ukoliko dođe do poroda, smrt djeteta obično nastupi u prvoj godini života (4).

### 1.1.3. TRISOMIJA 13

Trisomija kromosoma 13 ili sindrom Patau, očituje se izrazito teškim intelektualnim zaostajanjem, malformacijama prednjeg dijela velikog mozga te poremećajem razvoja oka i rascjepa nepca. Kao i u trisomiji 21 i 18, prisutne su i srčane malformacije i malformacije drugih organa. Javlja se u 1 od 10 000 živorođene djece koja zbog težine kliničke slike uglavnom ne dožive prvu godinu života (5).

### 1.1.4. ANEUPLOIDIJE SPOLNIH KROMOSOMA

Aneuploidije spolnih kromosoma uzrokovane su viškom ili manjkom X i Y kromosoma. U ove aneuploidije ubrajaju se sindrom Turner (45,X), sindrom Klinefelter (47,XXY), sindrom Jacobs (47,XYY) te sindrom trostrukog X kromosoma (47,XXX). Osobe s ovim sindromima uglavnom imaju probleme u spolnom sazrijevanju što za posljedicu ima infertilitet ili sterilitet, a mogu se javiti i srčane te bubrežne anomalije. U pravilu ih ne prate intelektualne poteškoće (6–8).

## 1.2. PRENATALNA DIJAGNOSTIKA KROMOSOMOPATIJA

Prenatalna dijagnostika kromosomopatija neizostavan je dio prenatalne skrbi, a provodi se tijekom prvog i drugog tromjesečja te uključuje brojne invazivne i neinvazivne metode. Invazivne metode su dijagnostičke, ali nose rizik za majku i plod, odnosno rizik za spontani pobačaj. Iz tog razloga se one provode samo kod visoko rizičnih trudnoća, odnosno kod trudnica s opravdanom indikacijom. Neinvazivne metode namijenjene su svim trudnicama. Smatraju se metodama probira jer se njima probiru trudnice s povećanim rizikom za kromosomopatije. One nisu točne i pouzdane kao invazivne metode, tako da se, ako je utvrđeni rizik visok, trudnica dodatno upućuje na invazivne metode prenatalne dijagnostike. U prenatalnu skrb ubraja se i genetičko savjetovanje roditelja pomoću kojeg roditelji donose informiranu odluku o ishodu trudnoće (9–11).

### 1.2.1. INVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE.

Metode koje uključuju direktno uzimanje uzorka tkiva ploda nazivaju se invazivne metode (10). Najčešće primjenjivane su biopsija korionskih resica (CVS), amniocenteza (ACZ) te kordocenteza (9). Glavni cilj ovih metoda je dobivanje uzorka određenog tkiva ploda za citogenetičke, molekularne i biokemijske analize (9). Trudnice se na invazivne postupke upućuju s određenom indikacijom od kojih su najčešće (10):

- abnormalan ultrazvučni nalaz;
- povećan rizik za kromosomopatiju utvrđen kombiniranim testom;
- povećan rizik za kromosomopatiju utvrđen neinvazivnim prenatalnim testiranjem (engl. non invasive prenatal testing, NIPT);
- dob trudnice iznad 35 godina;
- kromosomske aberacije u obitelji ili prethodnoj trudnoći.

Biopsija korionskih resica izvodi se od 11. do 14. tjedna trudnoće, a podrazumijeva uzimanje uzorka korionskih resica. Amniocenteza je najčešće primjenjivana invazivna metoda kojom se

dobiva uzorak plodove vode. Izvodi se od 15. do 17. tjedna trudnoće (10). Prednost biopsije korionskih resica u odnosu na amniocentezu je mogućnost postavljanja dijagnoze u prvom tromjesečju, no ovaj zahvat nosi nešto veći rizik za pobačaj u odnosu na ACZ (1-2%) (9,10). Kordocenteza je postupak transabdominalnog uzimanja krvi ploda iz pupkovine nakon 20. gestacijskog tjedna. Ovom metodom se mogu, osim kromosomske analize, dobiti podaci o krvnoj grupi fetusa, otkriti intrauterine infekcije, koagulopatije, imunodeficijencije itd. (10). Rizik za pobačaj nakon izvođenja kordocenteze iznosi oko 1% (9).

## 1.2.2. NEINVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

Neinvazivnim metodama prenatalne dijagnostike utvrđuje se rizik za najčešće aneuploidije ploda. Neinvazivni testovi nisu dovoljno specifični i osjetljivi da bi bili dijagnostički, pa se nazivaju testovima probira. Testovi probira uključuju ultrazvuk, mjerenje biokemijskih biljega iz krvnog seruma majke, kao i analizu slobodno cirkulirajuće DNA fetusa u krvi majke (10).

### 1.2.2.1. ULTRAZVUČNI PROBIR (UZV)

Ultrazvuk (UZV) je dijagnostički uređaj koji odašilje longitudinalne mehaničke valove frekvencije približno 20 000 Hz sa svrhom dijagnosticiranja i liječenja različitih stanja i bolesti (12). U ginekologiju i porodništvo uveden je šezdesetih godina prošlog stoljeća sa ciljem proučavanja rasta i razvoja ploda te otkrivanja anomalija ploda. Njegovo uvođenje u prenatalnu dijagnostiku predstavlja veliki korak, s obzirom na to da su se prije njegova uvođenja bolesti ploda utvrđivale tek nakon rođenja. Danas je uz njegovu pomoć već tijekom rane gestacijske dobi moguće ispitati morfologiju ploda, a također se koristi i kao pomoć tijekom izvođenja invazivnih zahvata (10). Otkrivanje fetalnih abnormalnosti u ranoj gestacijskoj dobi uvelike smanjuje stopu perinatalnog morbiditeta i mortaliteta. U perinatologiji je vrlo važno precizno određivanje ultrazvučnih markera (biljega), što omogućuje utvrđivanje rizika za određene kromosomopatije.

Ultrazvučni biljeg od iznimne važnosti, posebno za dijagnostiku DS, je nuhalni nabor ili nuhalno prosvjetljenje (NT, engl. nuchal translucency). Radi se o nakupljanju tekućine u potkožnom tkivu nuhalne regije koji upućuje na poremećaj limfne drenaže. Povećano nuhalno prosvjetljenje, 3 mm i više, prisutno je u prvom tromjesečju u 70% DS slučajeva, dok je za ostale aneuploidije postotak nešto manji (50-60% za sindrom Edwards, 30% za sindrom Patau). Mjerenje nuhalnog prosvjetljenja u kombinaciji s majčinom dobi postiže detekciju DS od 70-75% uz 5% lažno pozitivnih nalaza (10). Osim nuhalnog nabora, ultrazvučni DS biljezi su aplazija/hipoplazija nosne kosti te reverzni protok u duktusu venozusu u prvom tromjesečju te kratki femur i/ili humerus, pijelektazija, hiperehogeno crijevo u drugom tromjesečju (11).

#### 1.2.2.2. BIOKEMIJSKI BILJEZI

Određivanje biokemijskih biljega iz krvnog seruma majke sastavni je dio prenatalne dijagnostike više od 25 godina u Hrvatskoj. Biljezi koji se određuju biokemijskim testovima jesu alfa-fetoprotein (AFP), nekonjugirani estriol (nE3), beta podjedinica humanog korionskog gonadotropina ( $\beta$  HCG), inhibin A te plazmatski protein trudnoće A (PAPP-A) (10). Određivanje biokemijskih biljega se ubraja u biokemijski probir fetalnih aneuploidija kao dio četverostrukog, trostrukog i dvostrukog testa u II. tromjesečju (13).

#### 1.2.2.3. KOMBINIRANI TEST PROBIRA

Do prije nekoliko godina, neinvazivni testovi probira određivanjem biokemijskih biljega su se mogli raditi samo u II. tromjesečju trudnoće. Razvojem kombiniranog testa probira omogućilo se testiranje već u I. tromjesečju, što je prednost ovog testa u odnosu na ranije testove (13). Kombinirani test probira uključuje dob majke, mjerenje nuhalnog prosvjetljenja te dva biokemijska biljega,  $\beta$  HCG i PAPP-A. Temeljem tih parametara stopa detekcije za DS znatno se

povećala u odnosu na biokemijske testove probira II. tromjesečja (75%) i u Republici Hrvatskoj iznosi 89% (9,10).

#### 1.2.2.4. NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE SLOBODNO CIRKULIRAJUĆE DNA FETUSA IZ KRVI MAJKE

Neinvazivno prenatalno testiranje slobodno cirkulirajuće DNA fetusa iz krvi majke zapravo predstavlja testiranje slobodno cirkulirajuće DNA koja se oslobađa iz posteljice. Zbog uvriježenog nazivlja u literaturi, koristi se termin „DNA fetusa“, ali je zbog ispravne interpretacije rezultata vrlo važno imati na umu da se zapravo radi o DNA posteljice.

##### 1.2.2.4.1. FETALNE STANICE U KRVOTOKU MAJKE

Budući da invazivni testovi nose određeni rizik za majku i plod, u posljednjih desetak godina uloženi su veliki naponi u razvoj neinvazivnih testova probira sa što većom stopom detekcije najčešćih aneuploidija ploda (9). Prvi korak prema tom cilju bilo je otkriće prisutnosti fetalnih stanica u krvotoku majke. One predstavljaju dobar izvor genetičkog materijala fetusa, a mogućnost kontaminacije uzorka majčinom DNA je isključena. Međutim, njihova analiza nije dobila svoje mjesto u kliničkoj praksi zbog male količine (u prosjeku 2-12 fetalnih stanica u 1 mL krvi) te teškog izdvajanja, a osim toga, u krvi majke zaostaju i do nekoliko godina nakon poroda što može utjecati na rezultate u kasnijim trudnoćama (14,15).

##### 1.2.2.4.2. SLOBODNO CIRKULIRAJUĆA DNA FETUSA U KRVOTOKU MAJKE

Od pedesetih godina prošlog stoljeća poznato je da se u krvotoku čovjeka mogu naći slobodne molekule DNA (10). Godine 1977. dokazano je da se kod osoba koje boluju od zloćudnog tumora mogu u krvotoku pronaći slobodne DNA molekule tumora (16). Dennis Lo i

sur. 1997. godine otkrivaju prisutnost slobodno cirkulirajuće fetalne DNA (engl. cell-free fetal DNA - cffDNA) u krvotoku majke, što otvara vrata novim neinvazivnim metodama u prenatalnoj dijagnostici. Svojim su istraživanjem koje se temeljilo na korištenju lančane reakcije polimerazom (engl. polymerase chain reaction - PCR) utvrdili muški spol ploda umnožavanjem biljega DYS14 gena TSPY (engl. testis-specific protein Y) koji se nalazi na Y kromosomu (17). Ova metoda je daljnjim istraživanjima unaprijeđena, čime se povećala osjetljivost i brzina detekcije slobodno cirkulirajuće fetalne DNA (10). Udio slobodno cirkulirajuće fetalne DNA u krvi trudnice naziva se fetalna frakcija (FF; engl. fetal fraction) (18). Njezina vrijednost s odmicanjem trudnoće raste (19). Udio fetalne frakcije ne ovisi samo o gestacijskom tjednu, već i o indeksu tjelesne mase trudnice, potencijalnoj višeploidnoj trudnoći i mozaicizmu te tipu fetalne aneuploidije ukoliko je ona prisutna (20). Povećani indeks tjelesne mase (ITM) povezuje se sa smanjenim udjelom slobodno cirkulirajuće DNA (21). U slučaju višeploidnosti, ukupna FF se prezentira u većem postotku, ali frakcija „po fetusu“ je puno manja nego u jednoploidnoj trudnoći (22). Do još većeg razrjeđenja FF doći će ako je npr. jedan blizanac euploidan, a drugi blizanac aneuploidan (23). Spomenuto je da udio FF ovisi i o tipu fetalne aneuploidije, pa tako kod prisutnosti trisomije kromosoma 21 udio FF je veći u odnosu na zdravu trudnoću. Ako se radi o trisomiji kromosoma 13, 18 ili pak monosomiji X kromosoma, postotak FF je manji zbog smanjene veličine posteljice (24). Do povećanja FF može doći i zbog moguće bolesti trudnice, kao što je sistemski lupus eritematodes (25).

#### 1.2.2.4.3. KATEGORIZACIJA FETALNE FRAKCIJE

Zadovoljavajuća vrijednost fetalne frakcije preduvjet je uspješne analize. Udio FF manji od 4% smatra se preniskom za izvještaj i rezultati dobiveni testiranjem s niskim udjelom FF se često zapravo odnose na majčinu DNA, a ne fetalnu DNA. Ako je udio FF između 4% i 8%, govorimo o intermedijarnoj FF. Poželjna vrijednost FF za analizu je iznad 8% (26).

#### 1.2.2.4.4. METODE ANALIZE cff DNA SEKVENCIRANJEM

Slobodno cirkulirajuća fetalna DNA u početku se koristila za neinvazivno utvrđivanje muškog spola ploda, a nedugo nakon se počinje primjenjivati i za određivanje RhD statusa kod RhD negativnih trudnica (27,28). Otkrićem masivnog sekvenciranja genoma započinje i primjena u svrhu probira za aneuploidije ploda (9). Prvi suvremeni neinvazivni prenatalni test koji analizira cff DNA predstavljen je 2011. godine od strane komercijalnih laboratorija (15). Danas je za analizu slobodne fetalne DNA moguće primijeniti nekoliko metoda: masivno paralelno sekvenciranje genoma nasumičnim pristupom, ciljano sekvenciranje genoma te sekvenciranje jednonukleotidnog polimorfizma (*engl. single nucleotide polymorphism - SNP*) (9). Masivno paralelno sekvenciranje čitavog genoma nasumičnim pristupom karakterizira sekvenciranje i brojanje 10-20 milijuna DNA fragmenata dugih 25 parova baza. Fragmenti se zatim uspoređuju s referentnim humanim genomom s ciljem određivanja točnog lokusa i kromosoma kojem pripadaju (9,29). Pojava viška ili manjka DNA fragmenata u odnosu na referentni humani genom upućuje na aneuploidiju fetusa (30). Ciljano sekvenciranje genoma temelji se na sekvenciranju i brojanju DNA fragmenata koji su pridruženi regijama od interesa (najčešće kromosomi 13, 18, 21 te spolni kromosomi) (30). Ova metoda je jeftinija i brža u odnosu na sekvenciranje nasumičnim pristupom, s obzirom na to da ne zahtijeva sekvenciranje svih regija, ali se dobiva manja količina podataka o genomu (9,30). Sekvenciranje jednonukleotidnog polimorfizma analizira promjenu jedne nukleotidne baze koja se pojavljuje u više od 1% populacije. U usporedbi s prethodno opisanim metodama, jedino ovom vrstom sekvenciranja je moguće razlikovati DNA majke i fetusa (30). Ova metoda uzima u obzir doprinos majčinog i očevog genoma te ne zahtijeva uspoređivanje s referentnim humanim genomom. Princip metode zasniva se na umnažanju oko dvadeset tisuća SNP sekvenci koje se zatim sekvenciraju, odredi im se lokus na kromosomima te ovisno o broju kopija, utvrdi radi li se o euploidnoj ili aneuploidnoj trudnoći. Ovom metodom sekvenciranja se mogu dobiti rezultati i kada je udio FF manji od 8%, što nije slučaj u prethodno opisanim metodama. Ova metoda može dati informaciju o roditeljskom podrijetlu aneuploidije, detektirati triploidiju, konsangvinitet i uniparentnu disomiju (9,30).

NIPT testovi koji se nalaze na Hrvatskom tržištu nisu u nacionalnoj strategiji prenatalne skrbi kromosopatija već se nude uglavnom u sklopu privatnih ginekoloških ordinacija uz



osobno plaćanje. Analiza cfDNA i obrada podataka za sve vrste NIPT testova provodi se u matičnoj instituciji koja ima odobren patent za analizu. Zavod za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci u suradnji s Klinikom za ginekologiju i porodništvo KBC Rijeka sudionik je u prenatalnoj skrbi kromosomopatija i od 2018. godine s tvrtkom Natera, ima potpisan ugovor za pružanje usluga prenatalnog testa probira analizom slobodno cirkulirajuće DNA fetusa iz krvi majke metodom sekvenciranja SNP lokusa.

## **2. CILJ RADA**

Glavni cilj rada je prezentirati rezultate NIPT testiranja koje se provodi na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci od 2019. godine. Specifični ciljevi rada su sljedeći:

1. prikazati i analizirati NIPT u razdoblju od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine;
2. analizirati frakciju DNA ploda u odnosu na tjedan trudnoće, indeks tjelesne mase i dob majke;
3. odrediti učestalost NIPT indikacije za amniocentezu u razdoblju od siječnja 2017. godine do prosinca 2021. godine;
4. usporediti rezultate NIPT-a s kariotipom ploda.

### **3. ISPITANICI I METODE**

#### **3.1. ISPITANICI**

U ovo retrospektivno istraživanje uključene su 63 ispitanice koje su napravile NIPT u razdoblju od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Rijeka. Nadalje, u analizu su uključene i dodatne 24 ispitanice koje su upućene na amniocentezu na Kliniku za ginekologiju i porodništvo KBC Rijeka zbog povećanog rizika za aneuploidije ploda utvrđenog NIPT-om koji je napravljen u različitim ginekološkim ordinacijama od siječnja 2017. godine do prosinca 2021. godine. Podaci potrebni za statističku analizu preuzeti su iz medicinske dokumentacije citogenetičkog laboratorija Zavoda za medicinsku biologiju i genetiku.

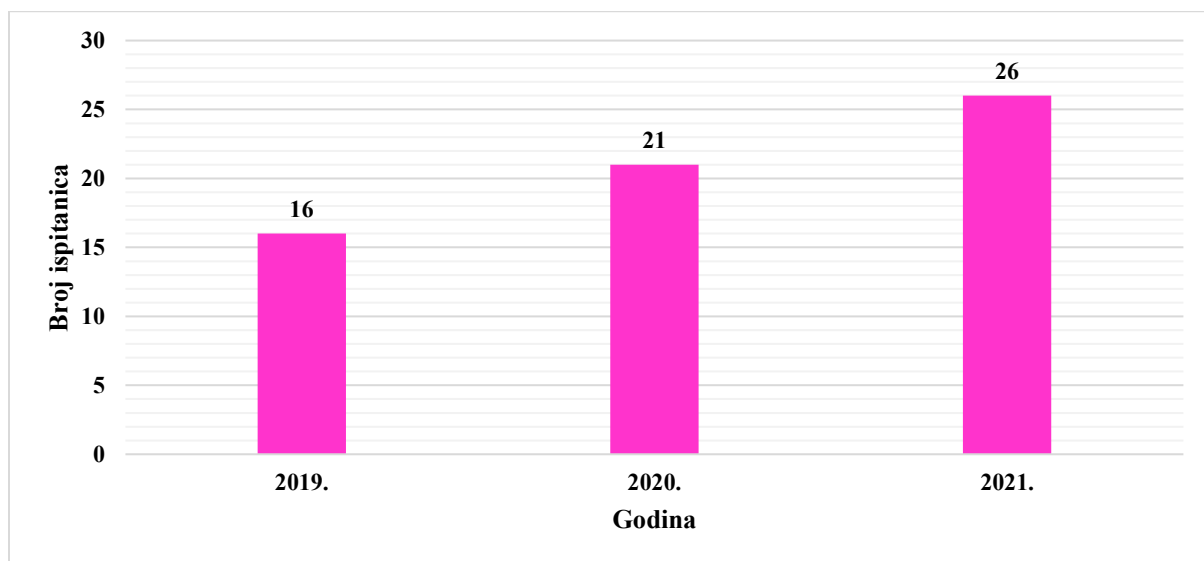
#### **3.2. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA**

Za obradu podataka korišteni su računalni program Excel for Windows i Statistica for Windows, inačica 13.3 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, SAD). Epidemiološki podaci prikazani su deskriptivnom statistikom. Kvantitativni podaci prikazani su medijanom i interkvartilnim raspršenjem, dok su kvalitativni podaci prikazani apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razina statističke značajnosti potvrđena je na razini  $p$  vrijednosti manjoj ili jednakoj 0,05.

## 4. REZULTATI

### 4.1. ANALIZA REZULTATA NIPT-A

U razdoblju od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku, prenatalni test probira analizom slobodno cirkulirajuće DNA fetusa iz krvi majke napravljen je u 63 ispitanice (Slika 1.)



Slika 1. Broj analiza NIPT-a po godinama u razdoblju od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine

Medijan starosne dobi ispitanica koje su pristupile testiranju je 36 godina, s rasponom od 24 do 43 godine. Jedna ispitanica (1,6%) je mlađa od 25 godina. U životnoj dobi između 25 i 35 godina je 46% (29/63) ispitanica, a najveći broj ispitanica je stariji od 35 godina, 52,4% (33/63). Medijan gestacijske dobi iznosi 12,7 tjedana, s rasponom od 9,6 do 21,3 tjedana. Medijan indeksa tjelesne mase iznosi 23,6 kg/m<sup>2</sup>, s rasponom od 18,6 do 95,6 kg/ m<sup>2</sup>.

#### 4.2. ANALIZA FRAKCIJE DNA PLODA U ODNOSU NA TJEDAN TRUDNOĆE, INDEKS TJELESNE MASE I DOB MAJKE

Medijan fetalne frakcije DNA iznosi 8,3%, a vrijednosti udjela kreću se od 3,4% do 17,8%. Samo 5% (3/63) uzoraka ima udio FF manji od 4%. Njih 40% (25/63) ima intermedijarnu fetalnu frakciju, dok 55% (35/63) pokazuje udio fetalne frakcije >8%.

Spearmanovim rank testom korelacije nije utvrđena povezanost udjela fetalne frakcije s tjednom trudnoće i dobi majke na razini p vrijednosti manjoj ili jednakoj 0,05, dok je povezanost udjela fetalne frakcije i ITM-a vrlo slaba s graničnim statističkim značajem (Tablica 1.).

Tablica 1. Povezanost tjedna trudnoće, indeksa tjelesne mase i dobi majke s udjelom fetalne frakcije.

Varijable	Broj uzoraka	Spearman R	t (N-2)	p-vrijednost
FF/% & tjedan trudnoće	63	-0,09	-0,70	0,489
FF/% & ITM	63	-0,25	-2,00	0,050
FF/% & dob majke	63	0,02	0,13	0,899

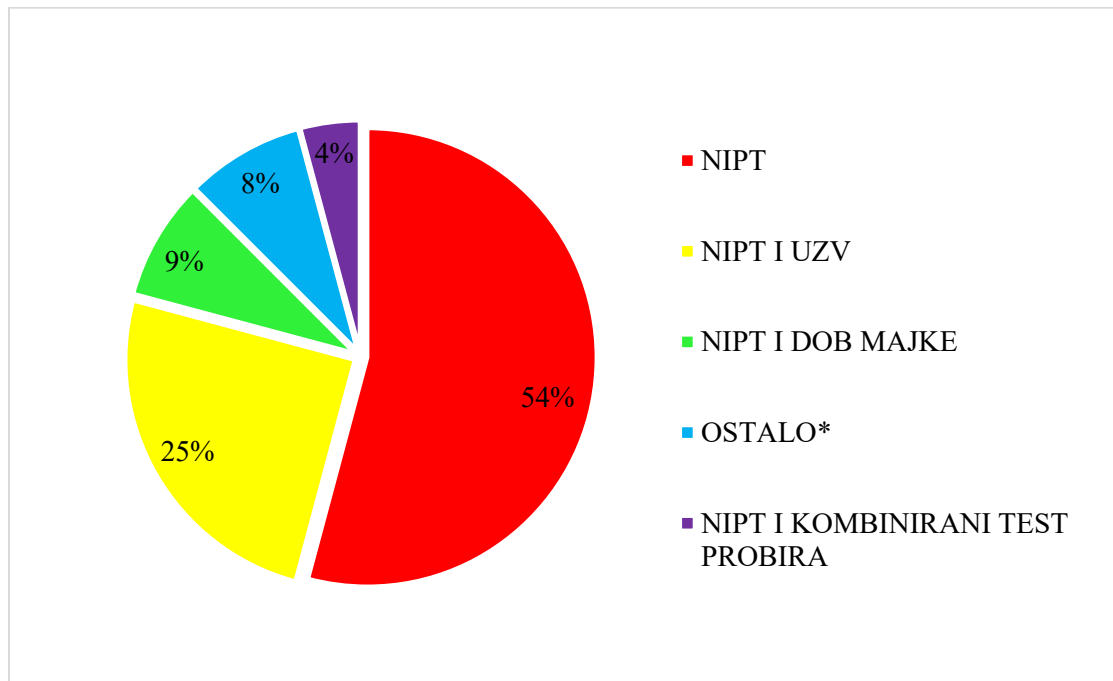
Testom višestruke regresije analiziran je zajednički utjecaj tjedna trudnoće i ITM-a na udio FF. Utvrđeno je da zajednički utjecaj tih dvaju faktora nije statistički značajan ( $p > 0,050$ ).

#### 4.3. UČESTALOST NIPT INDIKACIJE ZA AMNIOCENTEZU

Od siječnja 2017. godine do prosinca 2021. godine u laboratorij za citogenetiku Zavoda za medicinsku biologiju i genetiku zaprimljen je 441 uzorak plodove vode za citogenetičku analizu. Povećan rizik za aneuploidiju ploda utvrđen NIPT-om bio je indikacija za amniocentezu u 5,4% (24/441) uzoraka.

Medijan starosne dobi ispitanica upućenih na amniocentezu zbog povećanog rizika za aneuploidiju utvrđenog NIPT-testom je 38 godina s rasponom od 24 do 47 godina. Kod 4,2% ispitanica starosna dob je manja od 25 godina (1/24). Njih 29,2% (7/24) starosne je dobi između 25 i 35 godina. Najviše ispitanica je starije od 35 godina, 66,6% (16/24). Medijan gestacijske dobi ovih ispitanica iznosi 16,0 tjedana s rasponom od 14,9 do 18,0 tjedana.

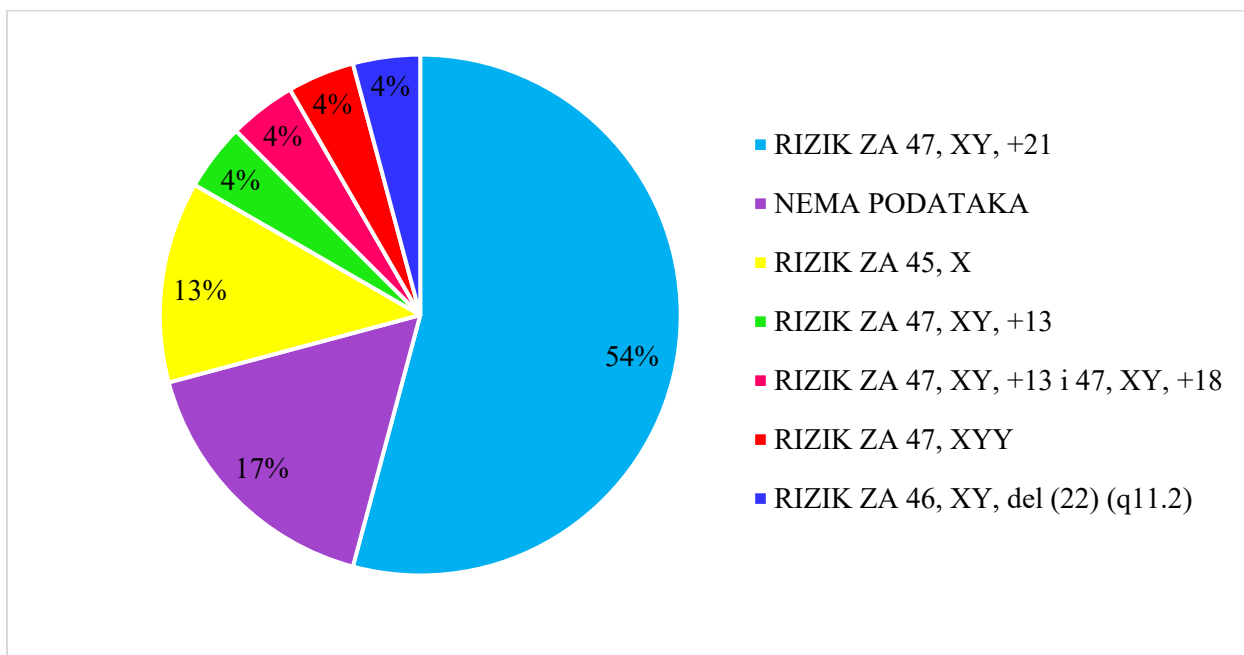
U 54% (11/24) uzoraka NIPT se pojavljuje kao samostalna indikacija za amniocentezu, u 25% (6/24) uzoraka je u kombinaciji s UZV-om, a s dobi u 9% (2/24) uzoraka. NIPT i kombinirani test su kao indikacija za amniocentezu prisutni u 4% (1/24) uzoraka. U preostalim 8% (2/24) uzoraka indikacija za amniocentezu bila je kombinacija NIPT-a, UZV-a i kombiniranog testa probira te kombinacija NIPT-a, dobi i kombiniranog testa probira (Slika 2.).



Slika 2. Učestalost NIPT testa kao indikacije za amniocentezu u ispitivanom uzorku (N=24). \*Pod ostalo spadaju: kombinacija NIPT-a, UZV-a i kombiniranog testa probira te kombinacija NIPT-a, dobi trudnice i kombiniranog testa probira.

#### 4.4. USPOREDBA REZULTATA NIPT-a S KARIOTIPOM PLODA

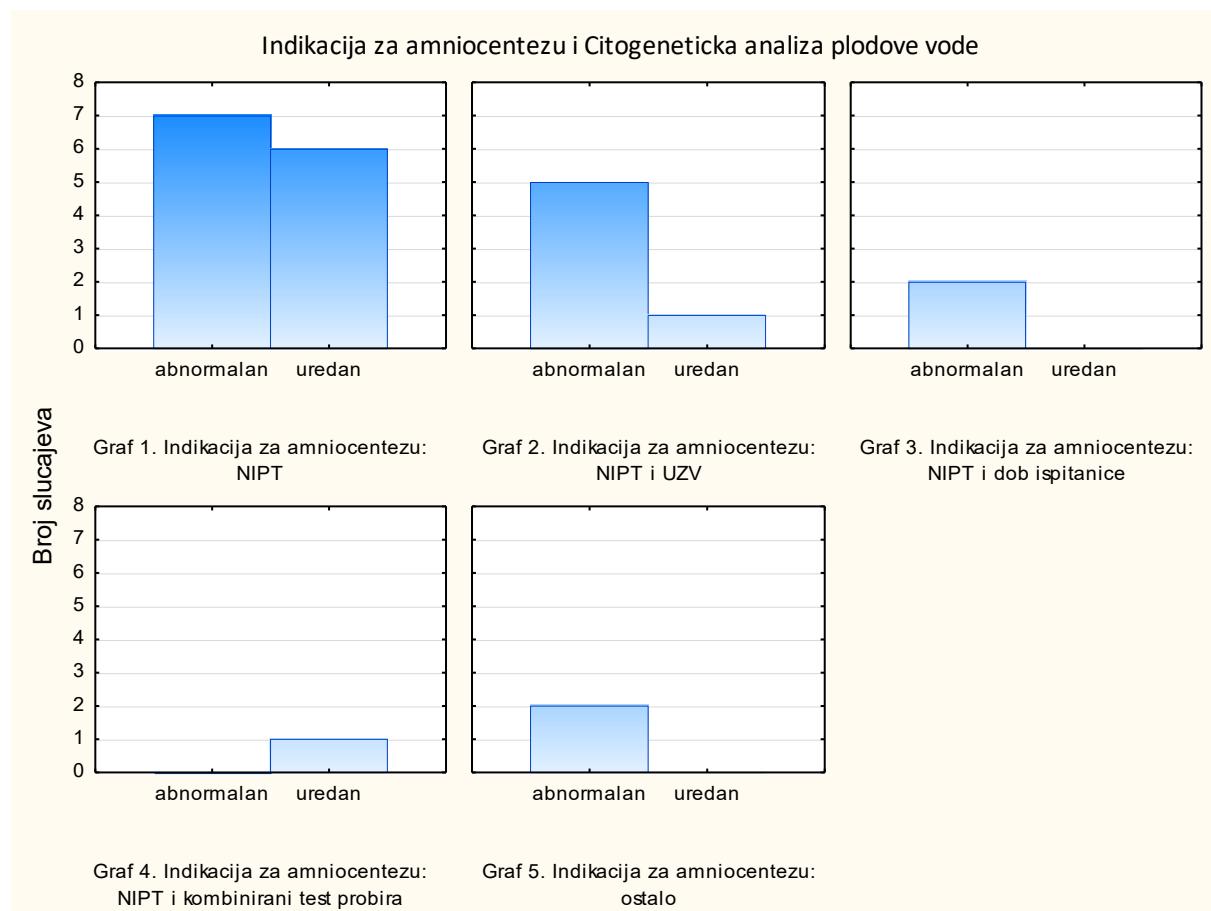
Povećan rizik za trisomiju 21 bio je prisutan kod 54% ispitanice (13/24) dok je povećani rizik za monosomiju X kromosoma utvrđen u 13% ispitanica (3/24). Kod 4% ispitanica (1/24) bio je prisutan povećan rizik za trisomiju kromosoma 13 dok je povećan rizik za mikrodeleciju kromosoma 22q prisutan u 4% ispitanica (1/24). NIPT nalaz je u 4% ispitanica (1/24) upućivao na povećan rizik za trisomiju kromosoma 13 i 18, dok je u 4% ispitanica (1/24) ukazivao na povećan rizik za dvostruki Y kromosom. U 17% uzoraka (4/24) podaci o rezultatu NIPT-a nisu bili dostupni (Slika 3.).



Slika 3. Povećani rizici utvrđeni NIPT testom.



Slika 4. prikazuje rezultate citogenetičke analize stanica ploda u odnosu na indikacije za amniocentezu. Lažno pozitivni rezultati NIPT-a utvrđeni su u 46,2% (6/13) analiziranih uzoraka stanica plodove vode (Slika 4., Graf 1.), dok je najbolja procjena rizika za aneuploidije dobivena kombinacijom NIPT-a i UZV-a, u 83,3% (5/6) analiziranih uzoraka. (Slika 4., Graf 2.)



Slika 4. Grafički prikaz usporedbe indikacija za amniocentezu i nalaza citogenetičke analize stanica plodove vode.

Tablica 2. prikazuje usporedbu rezultata NIPT-a s utvrđenim kariotipom ploda. Povećan rizik za trisomiju kromosoma 21 potvrđen je kariotipom u 100% (13/13) slučajeva. Rezultati NIPT-a koji ukazuju na povećan rizik za trisomiju kromosoma 13 i 18 nisu potvrđeni citogenetičkom analizom. Povećan rizik za monosomiju kromosoma X (1/3) potvrđen je u jednom uzorku, kao i za i dvostruki kromosom Y (1/1). Uzorak s povećanim rizikom za mikrodeleciju 22q analiziran je konvencionalnom citogenetičkom metodom te metodom komparativne hibridizacije genoma na mikročipu. Obje metode utvrdile su uredan kariotip. U uzorcima s nepoznatim NIPT rezultatom trisomija kromosoma 21 utvrđena je u 25% (1/4) slučajeva, dok je u 75% (3/4) slučajeva utvrđen uredan kariotip. Rezultati NIPT-a su u 33,3% (8/24) slučajeva bili lažno pozitivni, dok je procjena rizika za aneuploidije u 66,7% (16/24) slučajeva potvrđena citogenetičkom analizom stanica plodove vode.

Tablica 2. Usporedba povišenih rizika utvrđenih NIPT-om i konačne dijagnoze potvrđene citogenetičkom analizom stanica plodne vode.

POVIŠENI RIZIK UTVRĐEN NIPT-OM	UREDAN KARIOTIP	47, XY, +21	45, X	47, XYY	UKUPNO
TRISOMIJA 21	0	13	0	0	13
TRISOMIJA 13	1	0	0	0	1
TRISOMIJA 13 I 18	1	0	0	0	1
TURNER SINDROM	2	0	1	0	3
JACOBS SINDROM	0	0	0	1	1
SINDROM DELECIJE 22Q11.2	1	0	0	0	1
NEMA PODATAKA	3	1	0	0	4
UKUPNO	8	14	1	1	24

## 5. RASPRAVA

Ovim istraživanjem prikazani su rezultati analize NIPT-a, frakcije DNA ploda u odnosu na tjedan trudnoće, ITM i dob majke, učestalost pojavljivanja NIPT-a kao indikacije za amniocentezu te su uspoređeni rezultati NIPT-a koji su ukazivali na povećani rizik za neku od najčešćih aneuploidija s rezultatima citogenetičke analize plodove vode.

### 5.1. ANALIZA REZULTATA NIPT-a

Rezultati istraživanja ukazuju na postepen rast broja trudnica koju su pristupile NIPT-u u analiziranom razdoblju. S obzirom na trend u svijetu rezultati nisu neočekivani (31) Neinvazivnost, brzi rezultati, pouzdanost u detekciji trisomije kromosoma 21, kao i trisomije kromosoma 13 i 18 već u prvom tromjesečju trudnoće osnovni su razlozi sve većeg broja trudnica koje se odlučuju za taj test probira. Medijan gestacijske dobi u kojem trudnice pristupaju testu od 12,7 tjedana je također očekivan s obzirom na to da NIPT ima mogućnost izvođenja već nakon 9. tjedna trudnoće, odnosno pouzdane detekcije od 11. tjedna trudnoće, kada se i preporuča njegovo izvođenje. Medijan dobi trudnica iznosi 36 godina, što je u skladu sa sve starijom dobi trudnica te preporukama za poduzimanje ovakve vrste testa u trudničkoj dobi iznad 35 godina s obzirom da je dob dobro opisani čimbenik rizika za aneuploidije (1,2).

## 5.2. ANALIZA FRAKCIJE DNA PLODA U ODNOSU NA TJEDAN TRUDNOĆE, INDEKS TJELESNE MASE I DOB MAJKE

Udio fetalne frakcije je važan parametar koji utječe na točnost NIPT-a (23). Adekvatna FF potrebna da bi se dobili što pouzdaniji rezultati iznosi minimalno 4% (32,33). Prema dostupnoj literaturi, na udio FF utječu ponajviše gestacijska dob i ITM trudnice. U ovom istraživanju analizirana je povezanost udjela FF s gestacijskom dobi, ITM-om i dobi trudnice te je utvrđeno da nema povezanosti između udjela FF i ispitivanih parametara, što nije u skladu s literaturnim podacima (34–36). Za pretpostaviti je da je najvjerojatniji uzrok odstupanja veličina ispitivanog uzorka sa svega 63 ispitanice.

Dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je da porastom gestacijske dobi dolazi do povećanja cff-DNA u majčinom krvotoku što je posljedica povećanja mase posteljice iz koje se oslobađa cff-DNA (35,37,38). U velikoj studiji koju su proveli Wang i suradnici utvrđeno je da se FF povećavala za 0,1% po tjednu između 10. i 21. tjedna trudnoće. Nakon 21. tjedna, to povećanje iznosilo je 1% po tjednu (35). Međutim, Hestand i suradnici nisu utvrdili korelaciju između FF i gestacijske dobi sve do 21. tjedna trudnoće (34). To može biti zato što je povećanje udjela FF sporo, a stopa povećanja nije konstantna. Od 10. do 12,5. tjedna udio FF povećava se za 0,44% po tjednu (39), dok to povećanje između 12,5. i 20. tjedna iznosi 0,083% po tjednu. Nakon 20. tjedna trudnoće udio FF se konstantno povećava za 0,82% po tjednu. Osim malog ispitivanog uzorka, uzrok odstupanja može biti i krivo procijenjena gestacijska dob. Gestacijska dob u prvom tromjesečju uglavnom se određuje na temelju prvog dana zadnjeg menstrualnog krvarenja što ponekad može dovesti do krive procjene ako žena nema pravilne menstrualne cikluse. U ovo istraživanje su bile uključene i dvije blizanačke trudnoće s relativno visokim udjelom FF što je također mogući uzrok odstupanja od literaturnih podataka. Kod blizanačkih trudnoća situacija s fetalnom frakcijom drugačija je nego kod jednoplodnih trudnoća. U istraživanju koje su proveli Herman i suradnici, ustanovljeno je da je ukupna FF veća u blizanačkoj trudnoći u odnosu na jednoplodnu trudnoću, no udio FF po fetusu je puno manji. Ako se radi o monozigotnim blizancima, ukupni udio FF veći je u odnosu na jednoplodnu trudnoću, a manji nego u dvozigotnih blizanaca, no u ovom slučaju nije moguće utvrditi doprinos fetalnoj frakciji pojedinog fetusa (22).

U trudnoća s dvozigotnim blizancima u kojima je jedan od blizanaca zdrav, a drugi abnormalan, javlja se problem „maskiranja“ fetalne frakcije abnormalnog blizanca. Naime, u slučajevima kada jedan plod ima uredan kariotip, a drugi ima npr. trisomiju kromosoma 21, fetalna frakcija zdravog ploda maskira ili prekriva abnormalnost u broju kopija u fetalnoj frakciji ploda s trisomijom kromosoma 21. To se događa posebno ako je posteljica zdravog ploda veća od one ploda s trisomijom kromosoma 21, jer ona oslobađa veću količinu slobodno cff- DNA. U takvim slučajevima, FF ploda s aberacijom kromosoma može biti manja od 4%, što može dovesti do lažno negativnih rezultata (40).

Osim utjecaja tjedna trudnoće, dosadašnjim istraživanjima utvrđeno je da je ITM trudnice u negativnoj korelaciji s FF (39,41–43), što znači da porast ITM-a dovodi do smanjenja udjela FF. Ovdje se radi o efektu razrjeđenja fetalne DNA. Kod trudnica s povećanim ITM-om, povećava se volumen krvi i razgradnja adipocita koji rezultiraju povećanim udjelom majčine DNA u krvi. U takvim slučajevima, udio fetalne DNA je isti, ali je zbog velike količine majčine DNA, fetalnu DNA teže izolirati (44–46).

Analizirana je i povezanost FF s dobi majke, te je također utvrđeno kako povezanosti između te dvije varijable nema. Trenutno je još uvijek upitno ima li majčina dob utjecaj na udio FF. U mnogim studijama utvrđeno je da je FF u negativnoj korelaciji s dobi majke (37,47,48). Štoviše, nakon prilagodbe udjela FF prema gestacijskoj dobi i karakteristikama majki, utvrđeno je da dob majke značajno utječe na udio FF (49). Međutim, u drugim studijama nije pronađena korelacija između udjela FF i dobi majke (24,34,50). Ono što je sigurno je da povezanost dobi majke i FF još uvijek treba istražiti.

Zaključno, na FF mogu utjecati gestacijska dob, indeks tjelesne mase trudnice, blizanačke trudnoće te fetalni kariotip. S obzirom na to da je nizom istraživanja utvrđena pozitivna korelacija gestacijske dobi i FF, NIPT bi se trebao provoditi u gestacijskoj dobi od 9-10 tjedana ili više (51). Ako se radi o blizanačkoj trudnoći, važno je ustanoviti zigotnost blizanaca i odrediti FF po fetusu. Zbog svih čimbenika koji utječu na udio FF, liječnici bi trebali prikupiti što više informacija o samoj trudnici i fetusu, kako bi se osigurala što veća količina FF i samim time dobili pouzdaniji rezultati NIPT-a.

### 5.3. UČESTALOST NIPT INDIKACIJE ZA AMNIOCENTEZU

U ovom istraživanju analizirana je učestalost NIPT-a kao indikacije za ACZ. Povećan rizik za aneuploidije u najvećem je broju slučajeva bio utvrđen samo NIPT-om (54%). NIPT se pojavljivao i u kombinaciji s drugim indikacijama kao što su UZV, dob majke te kombinirani test probira. Najčešća kombinacija indikacija za ACZ bila je kombinacija NIPT-a i UZV-a (25%), dok su ostale kombinacije indikacija slabo zastupljene u ispitivanom uzorku (manje od 10%). Postavlja se pitanje koja je metoda probira najtočnija u procjeni rizika za prisutnost aneuploidija u fetusa?

Lažno pozitivni rezultati NIPT-a kao samostalne indikacije bili su prisutni u 46,2% uzoraka, dok je kombinacija NIPT-a i UZV-a bila točna u procjeni rizika za aneuploidije u 83,3% slučajeva. NIPT-om se ne mogu otkriti oštećenja neuralne cijevi niti se mogu otkriti strukturne anomalije ploda stoga NIPT ne može zamijeniti UZV, već mu samo može biti dodatni alat za bolju procjenu rizika za aneuploidije ploda. UZV može pomoći u procjeni rizika za aneuploidije otkrivanjem ultrazvučnih markera i strukturnih abnormalnosti ploda. Dokazano je da se kod trudnica s lažno negativnim rezultatima NIPT-a, stopa detekcije može poboljšati primjenom UZV-a. Međutim, na UZV mogu utjecati vještine liječnika i rezolucija uređaja te se UZV-om ne može procijeniti rizik u slučajevima kada strukturnih malformacija fetusa nema ili ako su te malformacije nejasne. U takvim situacijama, NIPT upotpunjuje UZV te se kombinacijom ove dvije metode može uvelike poboljšati probir na aneuploidije ploda (52). Kombinacija NIPT-a, dobi majke i kombiniranog testa probira kao indikacije za ACZ bila je jako malo zastupljena tako da se ne može sa sigurnošću reći koliko je utvrđivanje rizika pouzdano, ali je svakako sigurno da zajedno s ostalim indikacijama i metodama probira NIPT pouzdanije procjenjuje rizik za aneuploidije. Istraživanjem provedenim u Australiji također je ustanovljeno da NIPT zajedno sa kombiniranim probirom i UZV-om ima veću stopu detekcije aneuploidija, posebno spolnih kromosoma (53).

U svakom slučaju, potrebno je voditi računa o prednostima i nedostacima svake dostupne metode probira. Ne postoji jedna savršena metoda, koja pokriva sve, već postoji više

komplementarnih metoda koje treba smisleno kombinirati kako bi, u konačnici, dobili najbolje i najpouzdanije rezultate za majku i dijete.

#### 5.4. USPOREDBA REZULTATA NIPT-A S KARIOTIPOM PLODA

Jedan od specifičnih ciljeva ovog istraživanja bio je utvrditi koliko je NIPT precizan u procjeni rizika za aneuploidije uspoređivanjem rizika utvrđenih NIPT-om s rezultatima citogenetičke analize plodove vode. Do sada su provedena brojna istraživanja na temelju osjetljivosti NIPT-a prema najčešćim aneuplodijama autosoma i spolnih kromosoma, kako bi se utvrdila pouzdanost ovog testa (54–56). Ta pouzdanost se provjeravala usporedbom rezultata neinvazivnog prenatalnog testiranja i rezultata citogenetičke analize stanica ili plodne vode ili korionskih resica. NIPT se smatra prenatalnim testom probira visoke osjetljivosti i specifičnosti za trisomije kromosoma 21, 18 i 13, a zbog svojih svojstava opseg probira proširen je na aneuploidije spolnih kromosoma te submikroskopske varijante broja kopija čija je osjetljivost i specifičnost te opravdanost testiranja još uvijek upitna (57–59).

Ovim istraživanjem utvrđeno je kako NIPT ima visoku stopu detekcije trisomije kromosoma 21, čak 100% dok kod trisomije 13 i 18 stopa detekcije iznosi 0%. Stopa detekcije trisomije kromosoma 21 u skladu je s literaturnim podacima gdje iznosi više od 98% (60–62). Međutim, stopa detekcije za trisomije kromosoma 13 i 18 je jednaka nuli, što nije u skladu s dosada provedenim istraživanjima. Ipak, u našem istraživanju radi se o samo dva uzorka pa je mogućnost interpretacije rezultata ograničena. Dosadašnja istraživanja pouzdanosti ovog testa probira ukazuju na to da je stopa detekcije trisomija kromosoma 13 i 18 veća od 90%, što NIPT čini vrlo dobrim testom probira za te aneuploidije (63–66). Također, meta analiza koja obuhvaća istraživanja pouzdanosti procjene rizika NIPT-a za aneuploidije u razdoblju od siječnja 2011. godine do prosinca 2016. godine utvrdila je kako stopa detekcije za trisomiju kromosoma 13 iznosi 99,0% uz 0,04% lažno pozitivnih rezultata, odnosno 97,9% uz 0,04% lažno pozitivnih rezultata za trisomiju kromosoma 18 (60). Važno je napomenuti kako ovo istraživanje nije obuhvatilo praćenje

ishoda trudnoće stoga nije moguće utvrditi lažno negativne rezultate NIPT-a. Dai i suradnici su u svoje istraživanje uključili i analizu ishoda trudnoće te je utvrđeno kako NIPT nema lažno negativne rezultate (54). Očigledno je da NIPT ima iznimno visoku stopu detekcije trisomije kromosoma 21, dok je stopa detekcije trisomije kromosoma 13 i 18 malo manja, ali vrlo zadovoljavajuća. Također, razvojem tehnologije smatra se da će stopa detekcije trisomije kromosoma 13 i 18 u skoroj budućnosti biti veća te time i usporediva s detekcijom trisomije kromosoma 21 (67).

Rizik za monosomiju X kromosoma potvrđen je u 33,3% slučajeva (1/3). Rezultati ovog istraživanja nisu u skladu s literaturnim podacima gdje je stopa detekcije monosomije X kromosoma oko 90% uz 0,14% lažno pozitivnih rezultata (60,68). Međutim, rezultati istraživanja provedenog u Kini u razdoblju od 2015. godine do 2017. godine utvrdilo je da je stopa detekcije monosomije X kromosoma samo 18,39% što je još i manje nego u ovom istraživanju (69). Osim monosomije X kromosoma, NIPT-om je utvrđen povećan rizik za sindrom dvostrukog Y kromosoma. Stopa detekcije iznosi 100% što je u skladu s literaturnim podacima (68). Smatra se da raznolikost aberacija koje zahvaćaju spolne kromosome te složenost kliničkih manifestacija spolnih kromosoma utječu na pojavljivanje lažno pozitivnih rezultata. Lažno pozitivni rezultati mogu se javiti u slučaju placentnog mozaicizma, smrti jednog od blizanaca ili zbog aneuploidije spolnih kromosoma majke (58,70). Vrlo je važno naglasiti trudnicama kako primjerice pozitivan nalaz NIPT-a za monosomiju X kromosoma ne znači da dijete ima sindrom Turner. U takvim situacijama, preporuča se napraviti dijagnostički test kojim će se prisutnost monosomije X kromosoma potvrditi ili isključiti. Zbog visokog udjela lažno pozitivnih rezultata i nedovoljne preciznosti prilikom procjenjivanja rizika za aneuploidije spolnih kromosoma, mnogi stručnjaci još uvijek sumnjaju u upotrebu NIPT-a za procjenu rizika za aneuploidije spolnih kromosoma, te su mišljenja da bi se NIPT prvenstveno trebao koristiti kao metoda probira za trisomije kromosoma 21, 13 i 18 (71,72).

Mišljenja su podijeljena i kada je riječ o detekciji mikrodelecija. Mikrodelecije se u populaciji pojavljuju rjeđe od aneuploidija autosoma te se mogu manifestirati različitim fenotipskim obilježjima. Zbog rijetkog pojavljivanja u populaciji, stopa detekcije je niža nego za aneuploidije autosoma ili spolnih kromosoma. Zapravo, ne postoje podaci o stopi detekcije niti pouzdanosti testiranja za mikrodelecije. Struka je još uvijek podijeljena u pogledu korištenja



NIPT-a u procjeni rizika za mikrodelecije. Dok jedni smatraju da se NIPT ne bi trebao nuditi kao metoda probira za mikrodelecije, drugi preporučuju NIPT uz obvezno prethodno detaljno savjetovanje roditelja pri čemu im se mora objasniti da ovim testom nije isključena opcija potencijalnog invazivnog zahvata te dijagnostika odgovarajućim metodama invazivnog (51,73,74).

Klinička primjena NIPT-a danas je u porastu zbog više razloga: NIPT je test neškodljiv za majku i plod, visoke osjetljivosti i specifičnosti za najčešće kromosomske aneuploidije uz mogućnost izvođenja već u prvom tromjesečju trudnoće. Odličan je probir za trisomiju kromosoma 21, a vrlo dobar za trisomije kromosoma 13 i 18. Njegova stopa detekcije iznosi više od 90% za aneuploidije autosoma, što se u kombinaciji s drugim metodama probira još može dodatno povećati. Kao probir za aneuploidije spolnih kromosoma ima slabiju stopu detekcije, zbog bioloških razloga kao što je placentni mozaicizam ili aneuploidija spolnih kromosoma majke. Također, senzitivnost i pouzdanost NIPT-a u procjeni rizika za rijetke kromosomske aberacije vrlo je niska. Istraživanja su pokazala kako NIPT neće uspješno procijeniti rizik za 20-30% kromosomskih aberacija koje se mogu otkriti invazivnim dijagnostičkim metodama (55,56). (54,69). Ipak, uvođenje NIPT-a doprinijelo je smanjenju izvođenja nepotrebnih invazivnih zahvata (75). Značajnu ulogu u primjeni ovog testa ima i njegova cijena. U Republici Hrvatskoj on se izvodi samo uz osobno plaćanje, dok su zemlje poput Švedske, Finske i Norveške omogućile financiranje za trudnice s visokim rizikom za aneuploidije na temelju rezultata kombiniranog testa (31). Vjeruje se da će se razvitkom tehnologije troškovi izvođenja NIPT-a smanjiti te će se na taj način povećati dostupnost i primjena samog testa, a potencijalno i (su)financiranje od strane državnih tijela. Osim razvoju tehnologije, veliku pozornost treba obratiti na edukaciju i pružatelja usluge NIPT-a, ali i edukaciju pacijenata. Potrebno je da osoblje koje pruža uslugu neinvazivnog prenatalnog testiranja bude educirano kako bi na što jednostavniji i roditeljima shvatljiviji način objasnili rezultate testiranja i pomoći im donijeti jednu od najvažnijih odluka njihova života. Katkad to sa sobom nosi anksioznost i stres s obzirom na to da, ukoliko roditelji odluče zadržati dijete, slijedi niz postupaka i terapija kako bi se njihovom djetetu olakšao život. Pacijenti pak moraju razumjeti da NIPT ne postavlja dijagnozu te da je svaki rizik utvrđen NIPT-om potrebno potvrditi invazivnom metodom prenatalne dijagnostike. Potrebno je da osoblje koje pruža uslugu neinvazivnog prenatalnog testiranja bude adekvatno educirano kako bi na što točniji, jednostavniji i roditeljima shvatljiviji način objasnilo mogućnosti testa. Trudnica mora razumjeti da NIPT ne

može postaviti dijagnozu te da bi svaki rizik utvrđen NIPT-om trebalo dijagnostički potvrditi invazivnom metodom prenatalne dijagnostike. Trudnice ne bi smjele na temelju rezultata NIPT-a donositi odluku o prekidu trudnoće. U svakom trenutku, trebalo bi biti potpuno jasno koje su prednosti, a koja ograničenja ovoga testa.

Smatra se da će se u budućnosti NIPT-om moći otkriti niz kompleksnih informacija vezanih za fetus kao što su status nositelja, prisutnost gena za razvoj određenih bolesti, bolesti koje započinju tek u starijoj dobi, ali i nekliničke osobine kao što su boja očiju, boja kose, atletske sposobnosti itd. U tom slučaju postavljaju se pitanja: Je li to oduzimanje autonomije samog djeteta i prava na otvorenu budućnost? Hoće li posjedovanje tolikih informacija dovesti do negativnih učinaka tijekom odgajanja djeteta? Može li razvoj NIPT-a dovesti do povećane stope namjernih pobačaja zbog manjka „dobrih“ osobina ili pak do promjene društvene percepcije „zdravog“ i „normalnog“ (76)? Upravo iz tih razloga, ulaganje u edukaciju je jednako važno kao i ulaganje u tehnologiju. Jednostavno moramo voditi računa o tome da ova metoda probira ne bi napravila više štete nego koristi.

## 6. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog retrospektivnog istraživanja NIPT testiranja koje se provodi na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci od 2019. godine, zaključci su sljedeći:

- Od siječnja 2019. godine do prosinca 2021. godine, NIPT analizu napravile su 63 ispitanice, uz razvidan godišnji porast broja ispitanica;
- Između udjela fetalne frakcije i tjedna trudnoće, indeksa tjelesne mase i dobi majke nije utvrđena statistički značajna povezanost.

Nakon provedenog retrospektivnog istraživanja usporedbe rezultata dobivenih NIPT testiranjem i rezultata dobivenih citogenetičkom analizom stanica plodove vode, na Zavodu za medicinsku biologiju i genetiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci od 2017. godine, zaključci su sljedeći:

- NIPT se kao samostalna indikacija pojavljivao u 54% slučajeva, a slijedile su ga kombinacije NIPT-a i UZV-a (25%) te kombinacija NIPT-a i dobi trudnice (9%);
- Najveću točnost u procjenjivanju rizika za razvoj aneuploidija ploda imala je kombinacija indikacija NIPT-a i UZV-a;
- Rizik utvrđen NIPT-om te rezultati citogenetičke analize stanica plodove vode podudaraju se u 66,7% uzoraka, dok su lažno pozitivni rezultat NIPT-a utvrđeni u 33,3% uzoraka ;
- Stopa detekcije trisomije kromosoma 21 iznosi 100%;
- Stopa detekcije monosomije X kromosoma iznosi 33,3%, a dvostrukog Y kromosoma 100%.

## 7. LITERATURA

1. Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities. *Obstet Gynecol.* 2020;136(4).
2. Turnpenny PD, Ellard S. Chromosomes and cell division. In: Emery's Elements of Medical Genetics. 2007.
3. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Downov sindrom [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/downov-sindrom>
4. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Trisomija 18 [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/trisomija-18>
5. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Trisomija 13 [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/trisomija-13>
6. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Klinefelterov sindrom (47, xxy) [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: [http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/klinefelterov-sindrom-47\\_xxy\\_](http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/klinefelterov-sindrom-47_xxy_)
7. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Turnerov sindrom [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/turnerov-sindrom>
8. MSD priručnik dijagnostike i terapije: Sindrom 47, xyy [Internet]. [cited 2022 Apr 7]. Available from: [http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/sindrom-47\\_xyy](http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pedijatrija/kromosomopatije/sindrom-47_xyy)
9. Wagner J. NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTITANJE. *Paediatr Croat* [Internet]. 2016 [cited 2022 Jan 10];60(1):46–52. Available from: <http://www.hpps.com.hr/sites/default/files/Dokumenti/2016/PDF/Dok 9.pdf>

10. Wagner J. Suvremene metode prenatalne dijagnostike. *Med Vjesn.* 2010;42((1-2)).
11. Brajenović-Milić B. Invazivne i neinvazivne metode prenatalne dijagnostike. In: *Paediatrica Croatica, Supplement.* 2004.
12. ultrazvuk | Hrvatska enciklopedija [Internet]. [cited 2022 Jan 24]. Available from: <https://enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=63120>
13. Spencer K. Aneuploidy screening in the first trimester. Vol. 145, *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics.* 2007.
14. Poon LLM, Leung TN, Lau TK, Lo D. Prenatal detection of fetal Down's syndrome from maternal plasma. *LANCET* • 2000;356.
15. Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: What has happened since the rubber met the road? [Internet]. Vol. 60, *Clinical Chemistry.* 2014. p. 78–87. Available from: <https://academic.oup.com/clinchem/article/60/1/78/5581518>
16. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the Serum of Cancer Patients and the Effect of Therapy. *Cancer Res.* 1977;37(3).
17. Dennis Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sargent IL, Redman CWG, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350(9076).
18. Važnost fetalne frakcije | medicorus-2 [Internet]. [cited 2022 Jan 26]. Available from: <https://www.medicorus.hr/va-nost-fetalne-frakcije>
19. Wagner J. Free DNA - new potential analyte in clinical laboratory diagnostics? Vol. 22, *Biochemia Medica.* 2012.
20. Ferres MA, Hui L, Bianchi DW. Antenatal noninvasive DNA testing: Clinical experience and impact. Vol. 31, *American Journal of Perinatology.* 2014. p. 577–82.
21. Ashoor G, Poon L, Syngelaki A, Mosimann B, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: Effect of maternal and fetal factors. *Fetal*

- Diagn Ther. 2012;31(4).
22. Hedriana H, Martin K, Saltzman D, Billings P, Demko Z, Benn P. Cell-free DNA fetal fraction in twin gestations in single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal screening. *Prenat Diagn.* 2020;40(2).
  23. Benn P. Non-Invasive Prenatal Testing Using Cell Free DNA in Maternal Plasma: Recent Developments and Future Prospects. *J Clin Med.* 2014;3(2).
  24. Rava RP, Srinivasan A, Sehnert AJ, Bianchi DW. Circulating fetal cell-free DNA fractions differ in autosomal aneuploidies and monosomy X. *Clin Chem.* 2014;60(1).
  25. Hui L, Bianchi DW. Fetal fraction and noninvasive prenatal testing: What clinicians need to know. Vol. 40, *Prenatal Diagnosis.* 2020.
  26. Natera: A global leader in cfDNA testing [Internet]. [cited 2022 Jun 19]. Available from: <https://www.natera.com/>
  27. Rijnders RJP, van der Schoot CE, Bossers B, de Vroede MAMJ, Christiaens GCML. Fetal sex determination from maternal plasma in pregnancies at risk for congenital adrenal hyperplasia. *Obstet Gynecol.* 2001;98(3).
  28. Finning KM, Martin PG, Soothill PW, Avent ND. Prediction of fetal D status from maternal plasma: Introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion.* 2002;42(8).
  29. Fan HC, Blumenfeld YJ, Chitkara U, Hudgins L, Quake SR. Noninvasive diagnosis of fetal aneuploidy by shotgun sequencing DNA from maternal blood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(42).
  30. Kim K. Advantages of the single nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *J Genet Med.* 2015;12(2).
  31. Gadsbøll K, Petersen OB, Gatinois V, Strange H, Jacobsson B, Wapner R, et al. Current use of noninvasive prenatal testing in Europe, Australia and the USA: A graphical

- presentation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(6).
32. Guy GP, Hargrave J, Dunn R, Price K, Short J, Thilaganathan B. Secondary non-invasive prenatal screening for fetal trisomy: an effectiveness study in a public health setting. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2021;128(2).
  33. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn.* 2016;36(4).
  34. Hestand MS, Bessem M, van Rijn P, de Menezes RX, Sie D, Bakker I, et al. Fetal fraction evaluation in non-invasive prenatal screening (NIPS). *Eur J Hum Genet.* 2019;27(2).
  35. Wang E, Batey A, Struble C, Musci T, Song K, Oliphant A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat Diagn.* 2013;33(7).
  36. Deng C, Liu S. Factors Affecting the Fetal Fraction in Noninvasive Prenatal Screening: A Review. Vol. 10, *Frontiers in Pediatrics.* Frontiers Media S.A.; 2022.
  37. Hou Y, Yang J, Qi Y, Guo F, Peng H, Wang D, et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction: statistical analysis of 13,661 maternal plasmas for non-invasive prenatal screening. *Hum Genomics* [Internet]. 2019;13(1):62. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40246-019-0244-0>
  38. Qiao L, Zhang Q, Liang Y, Gao A, Ding Y, Zhao N, et al. Sequencing of short cfDNA fragments in NIPT improves fetal fraction with higher maternal BMI and early gestational age [Internet]. Vol. 11, *Am J Transl Res.* 2019. Available from: [www.ajtr.org](http://www.ajtr.org)
  39. Kinnings SL, Geis JA, Almasri E, Wang H, Guan X, Mccullough RM, et al. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2015;35(8).
  40. Srinivasan A, Bianchi D, Liao W, Sehnert A, Rava R. 52: Maternal plasma DNA sequencing: effects of multiple gestation on aneuploidy detection and the relative cell-free fetal DNA (cffDNA) per fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208(1).

41. Miltoft CB, Rode L, Ekelund CK, Sundberg K, Kjærgaard S, Zingenberg H, et al. Contingent first-trimester screening for aneuploidies with cell-free DNA in a Danish clinical setting. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(4).
42. Suzumori N, Ebara T, Yamada T, Samura O, Yotsumoto J, Nishiyama M, et al. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma is affected by fetal trisomy. *J Hum Genet.* 2016;61(7).
43. Talbot AL, Ambye L, Hartwig TS, Werge L, Sørensen S, Stormlund S, et al. Fetal fraction of cell-free DNA in pregnancies after fresh or frozen embryo transfer following assisted reproductive technologies. *Hum Reprod.* 2020;35(6).
44. Vora NL, Johnson KL, Basu S, Catalano PM, Hauguel-De Mouzon S, Bianchi DW. A multifactorial relationship exists between total circulating cell-free DNA levels and maternal BMI. *Vol. 32, Prenatal Diagnosis.* 2012.
45. Haghiaç M, Vora NL, Basu S, Johnson KL, Presley L, Bianchi DW, et al. Increased Death of Adipose Cells, a Path to Release Cell-Free DNA Into Systemic Circulation of Obese Women. *Obesity [Internet].* 2012;20(11):2213–9. Available from: [www.obesityjournal.org](http://www.obesityjournal.org)
46. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn.* 2013;33(7).
47. Qiao L, Yu B, Liang Y, Zhang C, Wu X, Xue Y, et al. Sequencing shorter cfDNA fragments improves the fetal DNA fraction in noninvasive prenatal testing. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(4).
48. Guo F fang, Yang J xia, Huang Y lin, Qi Y ming, Hou Y ping, Peng H shan, et al. Association between fetal fraction at the second trimester and subsequent spontaneous preterm birth. *Prenat Diagn.* 2019;39(13).
49. Rolnik DL, da Silva Costa F, Lee TJ, Schmid M, McLennan AC. Association between fetal fraction on cell-free DNA testing and first-trimester markers for pre-eclampsia.



- Ultrasound Obstet Gynecol. 2018;52(6).
50. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11-13 weeks' gestation: Relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1).
  51. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, Monaghan KG, Bajaj K, Best RG, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: A position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2016;18(10).
  52. Liu C, Zhou Y, Liu P, Geng Y, Zhang H, Dun Y, et al. Application of ultrasound combined with noninvasive prenatal testing in prenatal testing. *Transl Pediatr [Internet].* 2022;11(1):58–98. Available from: <https://dx.doi.org/10.21037/tp-21-617>
  53. McLennan A, Palma-Dias R, Da Silva Costa F, Meagher S, Nisbet DL, Scott F. Noninvasive prenatal testing in routine clinical practice - An audit of NIPT and combined first-trimester screening in an unselected Australian population. *Aust New Zeal J Obstet Gynaecol.* 2016;56(1):22–8.
  54. Dai R, Yu Y, Zhang H, Li L, Jiang Y, Liu R, et al. Analysis of 17,428 pregnant women undergoing non-invasive prenatal testing for fetal chromosome in Northeast China. *Medicine (Baltimore).* 2021;100(6).
  55. Wang J, Wang Z-W, Zhou Q, Zhang B, Yin T, Yu B, et al. Lower detectability of non-invasive prenatal testing compared to prenatal diagnosis in high-risk pregnant women. *Ann Transl Med.* 2019;7(14).
  56. Petersen OB, Vogel I, Ekelund C, Hyett J, Tabor A. Potential diagnostic consequences of applying non-invasive prenatal testing: Population-based study from a country with existing first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;43(3).
  57. Kotsopoulou I, Tsoplou P, Mavrommatis K, Kroupis C. Non-invasive prenatal testing (NIPT): Limitations on the way to become diagnosis. *Diagnosis.* 2015;2(3).
  58. Bedei I, Wolter A, Weber A, Signore F, Axt-Flidner R. Chances and challenges of new

- genetic screening technologies (Nipt) in prenatal medicine from a clinical perspective: A narrative review. *Genes (Basel)*. 2021;12(4).
59. Kucharik M, Gnip A, Hyblova M, Budis J, Strieskova L, Harsanyova M, et al. Non-invasive prenatal testing (NIPT) by low coverage genomic sequencing: Detection limits of screened chromosomal microdeletions. *PLoS One*. 2020;15(8 August).
  60. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. Vol. 50, *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. 2017. p. 302–14.
  61. Dobson LJ, Reiff ES, Little SE, Wilkins-Haug L, Bromley B. Patient choice and clinical outcomes following positive noninvasive prenatal screening for aneuploidy with cell-free DNA (cfDNA). *Prenat Diagn*. 2016;36(5).
  62. Fairbrother G, Johnson S, Musci TJ, Song K. Clinical experience of noninvasive prenatal testing with cell-free DNA for fetal trisomies 21, 18, and 13, in a general screening population. *Prenat Diagn*. 2013;33(6).
  63. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Neveux LM, Ehrich M, et al. DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study. *Genet Med*. 2011;13(11):913–20.
  64. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Birdir C, Nicolaides KH. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206(4).
  65. 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(5).
  66. Zimmermann B, Hill M, Gemelos G, Demko Z, Banjevic M, Baner J, et al. Noninvasive prenatal aneuploidy testing of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y, using targeted sequencing of polymorphic loci. *Prenat Diagn*. 2012;32(13).

67. Alberry MS, Aziz E, Ahmed SR, Abdel-fattah S. Non invasive prenatal testing (NIPT) for common aneuploidies and beyond. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2021;258.
68. Samango-Sprouse C, Banjevic M, Ryan A, Sigurjonsson S, Zimmermann B, Hill M, et al. SNP-based non-invasive prenatal testing detects sex chromosome aneuploidies with high accuracy.
69. Deng C, Zhu Q, Liu S, Liu J, Bai T, Jing X, et al. Clinical application of noninvasive prenatal screening for sex chromosome aneuploidies in 50,301 pregnancies: initial experience in a Chinese hospital. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44018-4>
70. Bianchi DW. Turner syndrome: New insights from prenatal genomics and transcriptomics. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet.* 2019;
71. Palomaki GE, Kloza EM. Prenatal cell-free DNA screening test failures: a systematic review of failure rates, risks of Down syndrome, and impact of repeat testing. Vol. 20, *Genetics in Medicine.* 2018.
72. Lambert-Messerlian GM, Eklund EE, Neveux LM, Palomaki GE. Measuring maternal serum screening markers for Down's syndrome in plasma collected for cell-free DNA testing. *J Med Screen.* 2017;24(3).
73. Harraway J. Non-invasive prenatal testing. 2017;46(10):735–9.
74. Benn P, Borrell A, Chiu RWK, Cuckle H, Dugoff L, Faas B, et al. Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenat Diagn.* 2015;35(8).
75. Chiu RWK, Akolekar R, Zheng YWL, Leung TY, Sun H, Chan KCA, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: Large scale validity study. *BMJ.* 2011;342(7790).
76. Haidar H, Iskander R. Non-invasive Prenatal Testing for Fetal Whole Genome Sequencing: An Interpretive Critical Review of the Ethical, Legal, Social, and Policy

Implications. Can J Bioeth. 2022;5(1).

## 8. POPIS KORIŠTENIH SKRAĆENICA

ACZ- amniocenteza

AFP- alfa-fetoprotein

cff DNA- slobodno cirkulirajuća DNA

CVS- biopsija korionskih resica

DNA- deoksiribonukleinska kiselina

DS- Down sindrom

FF- fetalna frakcija

HCG- humani korionski gonadotropin

nE3- nekonjugirani estriol

NIPT- neinvazivno prenatalno testiranje

NT- nuhalno prosvjetljenje

PAPP-A- plazmatski protein trudnoće A

PCR- lančana reakcija polimeraze

SNP- polimorfizam jednog nukleotida

TSPY- testis specifični protein Y

UZV- ultrazvuk

## 9. KRATKI ŽIVOTOPIS

### **OSOBNNE INFORMACIJE:**

**IME I PREZIME:** Ana Tadić

**DATUM I MJESTO ROĐENJA:** 02.12.1998., Rijeka

**ADRESA STANOVANJA:** Mate Lovraka 18, Rijeka

**KONTAKT:** +385 98/952 6506

**MAIL:** tadicanci@gmail.com

### **OBRAZOVANJE:**

**2005.-2013.:** Osnovna škola Srdoči

**2013.-2017.:** Prva sušačka hrvatska gimnazija u Rijeci

**2017.-2020.:** Preddiplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva, Medicinski fakultet Rijeka

**2020. – 2022.:** Diplomski sveučilišni studij sanitarnog inženjerstva, Medicinski fakultet Rijeka