

Alenka Erjavec Škerget\*

# Neinvazivna prenatalna genetska diagnostika – prednosti, pasti in priložnosti sodobne tehnologije

## POVZETEK

Prenatalna ali predrojstvena genetska diagnostika (PGD) je pred kratkim predvsem na račun sodobne tehnologije doprinesla številne prednosti in olajšave pri odkrivanju določenih genetskih napak. Tako je dandanes na prostem trgu že vsakemu potrošniku dostopna novejša, popolnoma validirana genetska tehnologija, ki omogoča analizo genoma nerojenega otroka iz materine krvi (neinvazivna prenatalna genetska diagnostika - NPGD). Tehnologija je osnovana na sekveniranju t.i. cell-free DNA (zunajcelične DNA) fetusa, ki v času nosečnosti kroži v materinem krvnem obtoku.

NPGD je bila razvita z namenom čim zgodnejšega odkrivanja najpogostejših številčnih kromosomskih sprememb (trisomija kromosomov 13, 18, in 21 ter spolnih kromosomov X in Y) pri fetusu. V primeru potrjene kromosomske anomalije je nosečnici zagotovljen dovolj zgodnji in zanjo čim manj medicinsko obremenjujoč ter etično sprejemljiv biomedicinski poseg.

Implementacija naprednih genetskih diagnostičnih metod pa poleg izboljšanja v smislu genetske preventive lahko vodi tudi k nekaterim nepredvidenim spremembam v demografski strukturi, ki so lahko potencialno škodljive in kot take vzbujajo etične pomisleke. V prispevku želim predstaviti poleg koristnih, preventivnih lastnosti novejših tehnologij, tudi možni vpliv PGD na t.i. „reproduktivno svobodo“ ter posledično opozoriti na možni vpliv na demografske razmere.

Poleg iskanja namenskih označevalcev za odkrivanje fetalnih genetskih karakteristik, se je tovrstni genetski material izkazal za uporabnega v druge namene, npr v onkologiji. Kot začetne t.i. „naključne najdbe“ pri nosečnicah, se danes prostocelična DNA kaže kot zelo uporabni diagnostični in prognostični biomarker v tumorski genetiki.

Namen prispevka je vzpodbuditi razmišljanje in razpravo o vrednosti omenjenega testiranja ter predstaviti vlogo povezanega dela kliničnega in laboratorijskega genetika pri pojasnjevanju testiranj in rezultatov.

Na tak način namreč še obstaja možnost napovedi ukrepov in nasvetov, kako delovati tudi na državnem nivoju v okviru spoštovanja človekovih pravic za vse vpletene v genetski diagnostični in prognostični proces.

**Ključne besede:** predrojstvena genetska diagnostika, prenatalno genetsko testiranje, številčne kromosomske spremembe, aneuploidije.

## Uvod

Namen prenatalnega ali predrojstvenega testiranja je podati družini in zdravniku čim hitrejšo ter popolnejšo informacijo o kromosomskem stanju pri fetusu. Konec prejšnjega stoletja so zaznamovale številne aktivnosti namenjene izboljšanju presejalnih metod pri nosečnicah za odkrivanje najpogostejših kromosomskih številčnih sprememb ali aneuploidij.

Najpogostejša kromosomska sprememba je trisomija kromosoma 21 (prevalenca 1/700), med najpogostejše razloge za prisotnost fetalne kromosomske anomalije pa od začetka 1970-let spada indikacija starost matere (Tabor s sod, 2010).

Prvotna metodologija odkrivanja najpogostejših kromosomskih sprememb je bila osnovana na neinvazivnem odvzemu materiala, vendar je značilnost takratne detekcijske tehnologije bila nizka natančnost (30% senzitivnost).

Novorazvite metode danes morajo dosegati visoke kriterije laboratorijskega testiranja (specifičnost, senzitivnost) (nad 95%), da so sprejete kot del prognostičnega in/ali diagnostičnega postopka in kot take tudi uporabne. Pri predrojstveni diagnostiki poleg laboratorijskih karakteristik obstaja še posebnost odvzema ali pridobitve fetalnega materiala, ki vpliva na izvedbo in rezultat genetskega testiranja. Obstajajo invazivni in neinvazivni posegi za pridobitev informacij o fetalnem genomu. Med neinvazivne posege za fetus sodijo ultrazvok in odvzem materine krvi, med najpogosteje uporabljenimi invazivnimi tehnikami so postopki amniocenteze, biopsija horionskih resic in kordocenteza. Prednost invazivnih posegov je visoka senzitivnost in specifičnost laboratorijskega testiranja. Vendar so vsi invazivni postopki rizični tako za fetus, tako iz fizičnega stališča kot tudi iz psihičnega stališča za nosečnico in celotno družinsko okolje, ker predstavljajo dodatni psihični dejavnik, stres (Strah s sod. 2013), ki lahko vodi v prezgodnjo prekinitev nosečnosti.

V začetnih fazah odkrivanja trisomije kromosoma 21 na neinvaziven način odvzema, je bila manj kot tretjina nosečnosti

\*Laboratorij za medicinsko genetiko, Klinika za ginekologijo in perinatologijo, UUniverzitetni klinični center Maribor

z Downovim sindromom pravilno prenatalno določena. Med tistimi, kjer so izvajali invazivno prenatalno diagnostiko, je bilo najdenih 2% abnormalnih kariotipov (Ferguson -Smith s sod, 1984). Na podlagi zbranih podatkov več raziskav (meta analiza) o izvajanju posegov, obstajajo rezultati o 0.5 do 1% verjetnosti, da je invazivni postopek vzrok za t.i. PROM (premature rupture of membranes), ki je vodil do izgube fetusa (Tabor, Alfirević, 2010). V poznih 1980 do zgodnjih 1990 so bile vpeljane nove neinvazivne metode predrojstvenega testiranja na osnovi materinih serumskih markerjev. Dvojni, trojni ali več-kratni hormonski testi so signifikantno povečali presejalno uspešnost za odkrivanje aneuploidij. Delež odkritih fetusov s trisomijo kromosoma 21 se je takrat povečal na približno polovico in delež odkritih kromosomskih abnormalnosti se je povečal na 4% glede na število tistih, ki so bile med presejanjem pozitivne (Benn, 2004). Presejanje za iskanje aneuploidij se tako dandanes začne že v prvem trimestru nosečnosti in sicer na osnovi t.i. kombiniranega testa, ki je sestavljen iz vrednosti ultrazvočnih meritev nuhalne svetline (NS) ter vrednosti materine serumske koncentracije placentalnih proteinov (hCG) ter z nosečnostjo povezanih plazemskih proteinov (Strah, 2016).

Trenutno uporabljani presejalni protokoli za prenatalno genetsko testiranje vključujejo poleg merjenja NS še dodatne ultrazvočne markerje ter sekvenčno presejanje z uporabo dveh krvnih vzorcev, enega v prvem in enega v drugem trimestru nosečnosti. Posledično na tak način prenatalno zaznamo 9 od 10 Downovih sindromov (Cuckle, 2010). Izplen invazivnega prenatalnega testiranja se je tako povečal na okrog 6% zaznanih fetusov s kromosomsko anomalijo kromosoma 21 (Syngelaki, 2011).

Od leta 2014 so na trgu dostopne validirane nove metode, ki omogočajo analizo genoma fetusa iz materine krvi. Osnovane so na sekveniranju t.i. cell-free DNA (prostocelične DNA) fetusa, ki v času nosečnosti kroži v materinem krvnem obtoku. Govorimo o t.i. neinvazivni prenatalni diagnostiki (NIPD). Kot povsem validirana metodologija je testiranje z NIPD možno za namen odkrivanja številčnih kromosomskih sprememb kromosomov 13, 18, in 21 ter spolnih kromosomov X in Y.

V prispevku se v glavnem osredotočamo na detekcijo najpogostejših fetalnih kromosomskih sprememb, z zavedanjem, da bo omenjena tehnologija v prihodnosti uporabljena tudi za širok nabor ostalih genetskih sprememb.

### Prostocelična DNA (cf DNA)

**Cf DNA (cell free DNA) ali prostocelična DNA** so majhni kosi genetskega materiala, ki krožijo prosti po krvnem obtoku vsakega posameznika. Najnovejše raziskave uporabljajo za prenatalno diagnosticiranje iz materine plazme izolirano cfDNA (Hui, 2008), ki je za razliko od RNA, izolirane iz celic, stabilnejša in se kaže kot boljši potencial za presejanje v prihodnosti. Pri nosečnicah je ta prostocelična DNA sestavljena iz materinega in fetalnega genoma. Leta 1997 je Lo s sod. (1997) prvi poročal o vsebnosti cf DNA v serumu nosečnic, ki ji je primešana tudi frakcija fetalne DNA. Le-ta naj bi izvirala iz placentalnega tkiva, iz apoptotičnih celic trofoblata. Prve študije so nakazovale, da naj bi fetalne frakcije bilo nekje med 3-6%, novejše študije pa nakazujejo na 10-20% delež. Fetalna cfDNA je lahko zaznana že po 4 tednih gestacije in presega delež

fetalne frakcije v celotni cfDNA (4%) pri skoraj vseh nosečnicah od 10 tednov naprej (Zhang, 2015).

Običajno je velikost cfDNA fragmentov okoli 150bp (Chan 2004, Li, 2004) na podlagi katerih je predstavljen celotni fetalni genom. Razpolovna doba fetalne cfDNA je dve uri, zato kmalu po rojstvu fetalni fragmenti v materinem obtoku niso več prisotni (Benn, 2013). Delež fetalne cfDNA v materinem krvnem obtoku se povečuje v drugem in v tretjem trimestru nosečnosti. Že nekaj ur po rojstvu količina fetalne cfDNA v materinem obtoku zelo pade in je komaj zaznavna. Z današnjimi novejšimi metodami lahko zaznamo in izoliramo fetalno cfDNA, če je le ta prisotna v vsaj 4% deležu. Ponavadi se zadostna količina z navadnim venoznim odvzemom pri materi doseže po 10 tednu gestacije.

### Princip NIPD testiranja

Metoda preštevanja cfDNA fragmentov je lahko različna, kar se razlikuje tudi pri ponudnikih komercialnih testov in njihovih rezultatih. Obstajata dva osnovna pristopa k analizi: prvi je t.i. vsegenomski pristop, kjer se cfDNA fragmenti sekvencirajo s sistemom nove generacije. Gre za metodologijo, ki bazira na analiziranju kratkih ponovitev DNA (single nucleotide polymorphism, SNP), ki pa poteka s sekveniranjem nove generacije (Panorama test) ali z metodo analize z uporabo mikromrež (Harmony test). Drugi pristop je t.i. tarčni pristop, kjer izbrane fragmente (markerje) najprej pomnožimo (metoda analize z uporabo RT-PCR) ali uporabimo metodo analize na osnovi fluorescentno označenih DNA tarč (Vanadis) in nato sekvenciramo. Sledi bioinformatična analiza, ki zajema naslednje stopnje: 1. poravnava DNA sekvenc z referenčnim genomom, 2. določitev pokritja in GC korelacije, 3. izračun deleža fetalne frakcije, ter 4. stopnja: določitev tveganja aneuploidije z binarno hipotezo (Bernik s sod., 2016).

Fetalne cfDNA molekule se sekvencirajo (preberejo) in določi se kromosomski izvor vsake molekule na osnovi primerjave humanega človeškega genoma. V trisomičnih nosečnostih je število molekul, ki izvirajo od dodatnega kromosoma, kot delež vseh sekvenciranih molekul, višji v primerjavi z euploidno nosečnostjo.

### Rezultati NIPD kot prednosti

Med glavne prednosti prenatalnega cfDNA testiranja sodijo:

- visoka stopnja detekcije za trisomije kromosomov 13, 18, 21,
- gre za testiranje, ki ne predstavlja zvišanega tveganja za otroka in mater,
- testiranje je mogoče ponuditi vsem nosečnicam,
- testiranje omogoča znižanje lažno pozitivnih rezultatov pridobljenih pri predhodnih testiranjih.

Študije pri nosečnicah z visokim tveganjem za trisomijo so pokazale, da z analizo materine plazme, v kateri se nahaja cfDNA, lahko zaznamo 98.9% pozitivnih primerov, pri čemer je detekcija lažno pozitivnih v rangi 0.1%. Med visoko rizičnimi nosečnostmi na osnovi opisane detekcije tako zaznamo skoraj vse primere trisomije 21, nekoliko nižja je senzitivnost za

trisomijo 13 in trisomijo 18. Na tak način detekcije trisomij lahko potencialno tudi do 95% reduciramo invazivne diagnostične postopke za odvzem fetalnega genoma ter z njimi povezano izgubo.

Največja objavljena klinična raziskava v letu 2015 je vključevala 147 314 vzorcev (Zhang et. al. 2015), med katerimi je bilo 1578 pozitivnih rezultatov (1.07%). Na podlagi rezultatov za 1066 pozitivnih vzorcev (67.55%) so bile določene laboratorijske karakteristike za določitev verjetnosti za pojav trisomije 13, 18 ali 21 pri plodu. Vsi testi so visoko specifični in senzitivni: test za določanje T21 dosega 99.17% senzitivnost ter 99.95% specifičnost; pri testiranju za T18 se dosega 98.24% senzitivnost ter 99.95% specifičnost, za test T13 je opisana 100% senzitivnost ter 99.96% specifičnost.

Na podlagi zadnje opravljene META analize (Taylor-Phillips et al. 2016), ki je vključevala rezultate 41 relevantnih raziskav iz obdobja 1997 do 2015, so bile določene natančnejše vrednosti laboratorijskega testa (tabela 1.).

**Tabela 1.** Laboratorijske karakteristike testiranja z NIPD (zbrani podatki od leta 1997 do 2015); povzeto po TAYLOR-PHILLIPS, BMJ 2016.

	T21	T18	T13	POPULACIJA
<b>Senzitivnost</b>	97,00%	93,00%	95,00%	<b>VISOKO RIZIČNA</b>
<b>Specifičnost</b>	99,70%	99,70%	99,90%	
<b>PPV</b>	91,00%	84,00%	87,00%	
<b>Senzitivnost</b>	95,90%	86,50%	77,50%	<b>SPLOŠNA POPULACIJA</b>
<b>Specifičnost</b>	99,90%	99,80%	99,90%	
<b>PPV</b>	82,00%	37,00%	49,00%	

Po zbranih najnovejših podatki lahko zaključimo, da sta senzitivnost in specifičnost cfDNA testiranja za T21, T18 ter T13 zelo visoki, pri čemer je specifičnost malenkost višja kot senzitivnost. Dosedanje študije niso pokazale statistično značilnih razlik v zanesljivosti testiranja glede na uporabo različnih tehnologij. Vendar pa je v splošni populaciji približno 20% visoko rizičnih rezultatov za T21 lažno pozitivnih (Bernik, 2016), zato morajo biti vsi visoko rizični rezultati potrjeni z drugo diagnostično metodo.

Pri dvoplodnih nosečnostih je senzitivnost cfDNA testiranja nižja kot pri enoplodnih nosečnostih (za 9% nižja pri T21, 28% nižja pri T18 ter za 22% pri T13).

Pri testiranju števila spolnih kromosomov, se opisuje nižja stopnja detekcije. Za testiranje monosomije kromosoma X je na podlagi 16 objavljenih študij opisana stopnja detekcije 90.3%, za druge vrste aneuploidij spolnih kromosomov pa 93% (Gii MM, 2015, Benn, 2015). Razlogi za nižje vrednosti so prisotnost mozaicizma pri 30% odkritih primerov, visoko polimorfni lokusi na kromosomu Y, izbrani za testiranje ter vključitev procesa inaktivacije kromosoma X pri ženskah.

Na začetku uvajanja metodologije je cfDNA testiranje za odkrivanje mikrolecij in mikroduplicacij v genomu. Medtem,

ko so za nevedeno testiranje že opisani princip tehnologije in metodologija, večje validacijske študije še ni na voljo. Največje težave za pridobitev relevantnih kliničnih podatkov je spremenljiv fenotip ter razmeroma majhna prevalenca mikrosprememb v populaciji (Strah s sod. 2015).

### Pasti / nevarnosti NIPD

Največja nevarnost **invazivnega** posega amniocenteze ali bipsije horionskih resic je sprožitev splava. Težko pa je natančno kvantificirati stopnjo povečanega tveganja. Okrog 3-4% nosečnosti v srednjem trimestru se namreč zaključijo s splavom brez posega, zato je težko ocenjevati vpliv posega na izid nosečnosti.

Morebitne nevarnosti **neinvazivnega** testiranja z NIPD so:

- splavnost, ki je v primeru NIPD nična ali zanemarljiva;
- lažno negativni rezultati; (specifičnost=delež res negat); odvisno od T, povsod nad 90%
- lažno pozitivni rezultati (senzitivnost=delež res pozit.), odvisno od T, od 70 do 97%
- vpliv na izid nosečnosti; v primeru NIPD je nična ali zanemarljiva; razen zaradi psihološkega vidika, ki pa je težko ocenljiva.

Kljub zadovoljivim karakterističnim laboratorijskim zahtevam glede testiranja, NIPD lahko vodi tudi v nevarnosti. Predvsem uporaba NIPD v komercialne namene, brez vpletenosti zdravstvenega sistema in osebja, vzbujata tudi pomisleke. Zato je ena glavnih nalog vsakega državnega zdravstvenega sistema optimalna vpeljava NIPD v ustaljeni presejalni protokol posamezne institucije oz. države z namenom zagotoviti optimalno in celovito zdravstveno oskrbo in informiranost vsakega državljanca.

Opažamo namreč, da implementacija današnjih novih, naprednih genetskih diagnostičnih metod, ki so na voljo vsakomur, lahko vpliva tudi na spremembe v demografski strukturi, ki pa so lahko potencialno dolgoročno škodljive in kot take vzbujajo etične pomisleke.

Kot primer naj predstavim možni vpliv predrojstvenega genetskega testiranja na t.i. „reproduktivno svobodo“ ter posledično vpliv na razmerje med spoloma pri rojstvu. Z razvojem pred-implantacijske genetske diagnostike kombinirane z IVF postopki ter razvojem ne-invazivne prenatalne diagnostike, je postala možna izbira potomcev glede na spol. Z 99% zanesljivostjo namreč danes testi to zagotavljajo. Nekateri podatki o porušitvi razmerja med spoloma pri rojstvu to že nakazujejo zato je umestno vzpodbuditi razmišljanje in razpravo o vrednosti omenjenega testiranja.

Podatki iz 15-letnega registra v Črni Gori nakazujejo možni vpliv prenatalne genetske diagnostike na populacijo novorojenčkov (Miljanović O. 2015). Ocena stanja fenomena na primeru ČG in Balkanske regije nam lahko nudi koristen vpogled v izzive in uporabnost sodobne tehnologije. Obenem nam nudi možnost napovedi ukrepov in nudi nasvete kako delovati v okviru spoštovanja človekovih pravic ter prispevati k uravnoteženju rojstev otrok obeh spolov.

S prispevkom in ozaveščanjem javnosti tako želimo osvetliti informacije za klinike v javnem zdravstvu in javnost, ki naj bi

pripomogle k odločitvam, kdaj in komu je NIPD namenjen. Glede na posledice, ki jih prinaša sedanja neurejenost področja v Sloveniji, lahko tudi na tak način omogočimo učinkovit praktičen način za implementacijo opisane nove tehnologije v rutinsko prakso.

### Priložnosti NIPD

Z željo najti najučinkovitejši ter pacientu prijazen način za detekcijo, spremljanje in zdravljenje kancerogenih bolezni se na področju onkologije zadnja leta kaže izrazit trend iskanja t.i. neinvazivnih kancerogenih biomarkerjev; gre za biološke molekule, najdene v krvnem obtoku pacienta, ki naj bi nakazovale prisotnost bolezni. Metode sekvenciranja tumorskega genoma so tako omogočile tudi identifikacijo genetskih sprememb, ki povzročijo rast in razvoj tumorskih celic. Odkrili so, da imajo skoraj vse tumorske celice somatske DNA mutacije, ki se porajajo tekom življenja v posameznih celicah osebkov in se ne dedujejo od staršev na potomce (dedne mutacije). Somatske mutacije, ki so prisotne samo v tumorskih celicah, so lahko zelo specifični uporabni biomarker, ki je na voljo za detekcijo in sledenje. Glavni vir tumorske DNA je tumor sam, pridobitev le-te preko invazivnih postopkov je pogosto nevarno, tvegano ali pa celo neizvedljivo. Odkrili so, da propadajoče tumorske celice sproščajo majhne delce njihove DNA v krvni obtok = cirkularna tumorska DNA (ctDNA) (povzeto po Burke, 2014).

V letu 2014 je bila objavljena študija o uporabi potencialnega presejanja ctDNA z namenom detekcije in spremljanja progresije pacietovega tumorja oz. specifičnih tumorskih mutacij (Bettegowda, 2014). Odkrili so, da je ctDNA bila prisotna pri >75% pacientih z napredovalim pankreatskim, ovarijskim, kolorektalnim, gastroezofagealnim, hepatocelularnim rakom dojk, mehurja, glave in vratu ter pri melanomu. in pri manj kot 50% primarnega tumorja možganov, ledvic, prostate in ščitnice. Dokazali so, da je ctDNA zelo uporabna, senzitivna (KRAS mutacija: 87,2%) in specifični (KRAS: 99,2%) biomarker, ki je lahko uporabljena za različne klinične in raziskovalne namene pri pacientih z različnimi tipi rakastega obolenja.

Iz leta 2016 objavljenih podatkih (Pietrasz, 2016) poročajo o zelo visoki specifičnosti uporabe ctDNA (95%) pri kolorektalnem raku, NSCLC=non-small celični pljučni rak ter adenokarcinom pri pankreasu. Izkazalo se je, da je prisotnost ctDNA dober prognostični dejavnik za ocenjevanje progression-free survival (preživetje brez napredovanja) ter preživetja na splošno. Poleg tega lahko spreminjajoče vrednosti ctDNA med sitemskim zdravljenjem imajo pomembno napovedno vrednost za terapevtsko učinkovitost. Zelo obetajoči rezultati tudi pričajo o tem, da bi lahko uporabili ctDNA za spremljanje zgodnje ponovitve ali napredovanja bolezni.

Povsem naključno so tovrstno DNA odkrili tudi pri nekaterih nosečnicah z namenom testiranja fetalnega genoma. Dilema glede sporočanja najdenih t.i. Naključnih najdb oz. rezultatov pri njih ostaja še posebej glede na to, da raziskava genoma pri njih ni bila opravljena za tovrstne namene. Obstajajo pa tako etične dileme o tem, ali jih opozoriti na najdeno ali ne.

### Zaključek

Da je prostocelična cf DNA zelo uporabni biomarker, dandanes dokazujejo že številne raziskovalne študije. Predvsem na področjih perinatologije in onkologije se je le-ta izkazala za zelo uporabno presejalno in prognostično orodje.

Na področju perinatologije se uporablja fetalna prostocelična DNA, ki se kot del fetalnega genoma nahaja v krvnem obtoku matere. S pridobitvijo tovrstnega materiala je možno na neinvaziven način pridobiti nekatere informacije o fetalnem genomu, ne da bi bil zato ogrožen fetus. V klinične namene se fetalna cf DNA kot biomarker uporablja za detekcijo najpogostejših kromosomskih sprememb pri fetusu, to so T21, T18 in T13, kjer se dosegajo zelo zadovoljivi kazalci dobrega laboratorijskega testiranja. V preverjanju so še uporaba fetalne cf DNA za namene testiranja števila spolnih kromosomov ter za namene testiranja manjših, t.i. mikrokromosomskih sprememb (mikrodelecijski in mikroduplicacijski sindromi).

V Laboratoriju za medicinsko genetiko UKC Maribor tovrstnega testiranja ne izvajamo, nudimo pa možnost nosečnicam, da preko Ambulante za genetsko svetovanje izvedejo tovrstno storitev kot samoplačnice. Zaenkrat se v Sloveniji tovrstne analize ne opravlja še nikjer, tudi na področju EU obstajata samo dva verificirana centra za tovrstno dejavnost. Po posameznih državah obstajajo večinoma samo mesta za zbiranje vzorcev, preko katerih se potem vodijo nadaljnji postopki. V Sloveniji takšen proces vključuje sodelovanje zdravstvenega osebja: predhodno genetsko svetovanje, kontroliran odvzem vzorca, priprava vzorca za odpošiljanje, sprejem in interpretacija rezultatov z genetskim svetovanjem. Zaenkrat so vse tovrstne storitve NIPD še samoplačniške. V primeru pozitivnih rezultatov so pacientke upravičene do v Republiki Sloveniji uradno priznanega a invazivnega prenatalnega diagnostičnega postopka (amniocenteze ali biopsije horionskih resic).

Poleg iskanja namenskih označevalcev za odkrivanje fetalnih genetskih karakteristik, se je cf DNA kot genetski material izkazala za uporabno v onkologiji. Naključne najdbe tumorske cf DNA pri nekaterih nosečnicah so bile vodilo do odkritij v tumorski genetiki. Ct DNA se v raziskovalnih krogih kaže kot zelo učinkovit in uporaben marker, pridobljen na neinvaziven, manj tvegan način. Potrebne so sicer še raziskovalne študije, preden bo proces vpeljan v klinično delo, po dosedanjih rezultatih pa obstaja velik potencial za uporabo ct DNA pri odkrivanju zgodnjega rakastega obolenja, pri spremljanju napredovanja ter pri postopkih zdravljenja kancerogenih obolenj.

Nadaljni razvoj cf DNA testiranja gre v dveh smereh: možnost analize celotnega genoma posameznika, kar je sicer komercialno v ZDA že na voljo, porajajo pa se številna strokovna in etična vprašanja in dileme o tem kdaj, kdo in komu. Druga smer analiziranja genoma pa je ciljna detekcija najpogostejših monogenetskih bolezni na osnovi cfDNA v populacijah ali družinah, kjer obstaja povečano tveganje za pojav bolezni ( npr. b-thalassemia, anemija srpastih celic, hemofilija, Huntingtonova bolezen, mišična distrofija, ahondroplazija).

Razvidno je, da kljub zadovoljivim karakterističnim laboratorijskim zahtevam glede testiranja, NIPD lahko vodi tudi

v nevarnosti. Predvsem uporaba NIPD v komercialne namene, brez vpletenosti zdravstvenega sistema in osebja, vzbujajo pomisleke. Zato je ena glavnih nalog vsakega državnega zdravstvenega sistema optimalna vpeljava NIPD v ustaljeni presejalni protokol posamezne institucije oz. države z namenom zagotoviti optimalno in celovito zdravstveno oskrbo in informiranost vsakega državljanca. Namen prispevka je vzpodbuditi razmišljanje in razpravo o vrednosti omenjenega testiranja, ter opredelitev vloge kliničnega in laboratorijskega genetika pri pojasnjevanju testiranja in rezultatov. Tako namreč še obstaja možnost napovedi ukrepov in nasvetov, kako delovati tudi na državnem nivoju v okviru spoštovanja človekovih pravic vseh vpletenih v genetski proces.

## Reference

1. Strah D., Bernik J. Neinvazivno predporodno presejanje za aneuploidije na osnovi proste plodove DNA- pregled razvoja in priporočila za klinično prakso. *Farmacevtski vestnik* 2013; 64:363-70.
2. Strah D., Ovniček P., Bernik J. Non invasive prenatal cell-free fetal DNA testing for Down syndrome and other chromosomal abnormalities. *Zdravniški vestnik* 2015; let.84:št.11.
3. Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, et al. 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. doi: 10.1002/uog.14792. Epub 2015 Apr 8.
4. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, Agbebiyi A, Uthman OA, et al. 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. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010002.
5. Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013 Jul;42(1):15-33. doi: 10.1002/uog.12513. Review.
6. Wong FC, Lo YM. Prenatal Diagnosis Innovation: Genome Sequencing of Maternal Plasma.
7. *Annu Rev Med.* 2016;67:419-32. doi: 10.1146/annurev-med-091014-115715. Epub 2015 Oct 15.
8. Lo YMD, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet.* 1997;350:485-487.
9. Ferguson-Smith MA, Yates JR. Maternal age specific rates for chromosome aberrations and factors influencing them: report of a collaborative european study on 52 965 amniocenteses. *Prenat Diagn.* 1984 Spring;4 Spec No:5-44.
10. Tabor A, Alfirevic Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques.
11. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(1):1-7. doi: 10.1159/000271995. Epub 2009 Dec 24. Review.
12. Benn PA, Egan JF, Fang M, Smith-Bindman R. Changes in the utilization of prenatal diagnosis.
13. *Obstet Gynecol.* 2004 Jun;103(6):1255-60.
14. Cuckle H. Monitoring quality control of nuchal translucency. *Clin Lab Med.* 2010 Sep;30(3):593-604. doi: 10.1016/j.cll.2010.04.012. Review.
15. Chan, K. C., et al. "Size distributions of maternal and fetal DNA in maternal plasma". *Clinical Chemistry* 50 (1); 2004: 88-92.
16. Bernik, J. Širši pregled področja cf-DNA testiranja. Vloga cf-DNA testiranja v prenatalni diagnostiki: zbornik strokovnega srečanja z mednarodno udeležbo, Maribor, 18.3.2016, Medicinska fakulteta, 2016.
17. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Mar;45(3):249-66. doi: 10.1002/uog.14791. Epub 2015 Feb 1. Review.
18. Benn P. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 530-538.
19. Miljanovic O. The emerging prenatal genetic technologies: benefits and concerns, and the role of medical genetics' professionals. 11th Balkan Congress of Human Genetics, Belgrade, Sept 17th. to 20<sup>th</sup> 2015. p. 12.
20. Burke E. Circulating tumor DNA : A new generation of cancer biomarkers; last updated July 3, 2014: <https://www.genome.gov/27556716/circulating-tumor-dna-a-new-generation-of-cancer-biomarkers/>.
21. Amant F, Verheecke M, Wlodarska I, Dehaspe L, Brady P, et al. Presymptomatic Identification of Cancers in Pregnant Women During Noninvasive Prenatal Testing. *JAMA Oncol.* 2015 Sep;1(6):814-9.
22. Bettegowda C, Sausen M, Leary RJ, Kinde I, Wang Y, et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med.* 2014 Feb 19;6(224):224ra24.
23. Pietrasz D, Pécuchet N, Fabre E, et al. [What future for circulating tumor DNA? Current data and prospects in colorectal, non-small cell lung and pancreatic cancers]. *Bull Cancer.* 2016 Jan;103(1):55-65.