

**UNIVERZITET U BEOGRADU
MEDICINSKI FAKULTET**

Bojana Petrović

**ZNAČAJ KARIOTIPIZACIJE FETUSA SA
IZOLOVANOM ANOMALIJOM OTKRIVENOM
ULTRAZVUČNIM PREGLEDOM**

Doktorska disertacija

**Beograd
2018.**

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF MEDICINE

Bojana Petrović

**SIGNIFICANCE OF KARYOTYPING IN
ISOLATED FETAL ANOMALY DETECTED BY
ULTRASOUND**

Doctoral Dissertation

Belgrade

2018.

Mentor

Prof. dr Olivera Kontić-Vučinić, vanredni profesor na katedri ginekologije i akušerstva, Klinika za ginekologiju i akušerstvo, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor

Prof. dr Ivana Novaković, redovni profesor na katedri humane genetike, Institut za humanu genetiku, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Članovi Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije

Prof. dr Jelena Stamenković, vanredni profesor na katedri ginekologije i akušerstva, Klinika za ginekologiju i akušerstvo, Klinički centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Momčilo Ristanović, vanredni profesor na katedri humane genetike, Institut za humanu genetiku, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Nenad Šulović, redovni profesor na katedri ginekologije i akušerstva, Univerzitet u Prištini, Medicinski fakultet u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici

Datum odbrane:

Izrada ove doktorske disertacije ne bi bila moguća bez bezrezervne podrške moje mentorke, prof. dr Olivera Kontić-Vučinić. Dugujem joj pre svega veliku zahvalanost na usmeravanju i savetima u istraživačkom radu, nesebičnom deljenju svog ogromnog znanja i iskustva, ali i na prijateljskom pristupu, strpljenju, trudu i pozitivnoj energiji koja je pomogla da ovaj rad ugleda svetlo dana.

Prof. dr Ivani Novaković, mojoj mentorki, koja me je uvela u svet genetike i nauke i imala strpljenja za mene i sva moja pitanja od osnova genetike pa do poslednje stranice ove teze, neprestano šireći moje naučne i stručne vidike, veliko hvala na iskrenom prijateljstvu, zalaganju, posvećenosti i spremnosti da me podrži u mojoj težnji ka stalnom usavršavanju.

Posebno se zahvaljujem prof. dr Jeleni Dukanac na iskrenom prijateljstvu, prenošenju ideja i znanja, brojnim savetima, stručnim komentarima i konstruktivnim kritikama koje su značajno doprinele kvalitetu ovog rada.

Prof. dr Aleksandru Ljubiću, koji me je upoznao sa svetom ultrazvuka u perinatologiji, zahvaljujem se na ukazanom poverenju, dragocenim savetima, zajedničkom radu, uspešnoj saradnji i iskrenom prijateljstvu.

Članovima Komisije, Prof. dr Momčilu Ristanoviću i Prof. dr Nenadu Šuloviću, hvala na lepoj saradnji i sugestijama koje su doprinele da disertacija dobije sadašnju strukturu.

Oliveri i Milici, mojim kolegicama, hvala za nesebičnu pomoć, podršku i ohrabrenje u toku izrade ove doktorske disertacije.

Prof. dr Oliveru Stojkoviću i mojim kolegama iz DNK laboratorije Instituta za sudsku medicinu hvala na razumevanju, dragocenim savetima i stručnoj pomoći.

Doc. dr Neli Maksimović hvala za nesebičnu stručnu i tehničku pomoć tokom izrade doktorske teze.

Hvala mojim sestrama, čija je podrška, uvek i u svemu, bila moj oslonac proteklih godina.

Dušanu, hvala na bezgraničnoj ljubavi.

Najveću zahvalnost za nesebičnu ljubav, podršku, strpljenje, razumevanje i brojna odricanja tokom izrade ove doktorske disertacije, dugujem svojoj deci, koja daju smisao mom životu, moja su inspiracija i izvor snage.

Mojoj deci

ZNAČAJ KARIOTIPIZACIJE FETUSA SA IZOLOVANOM ANOMALIJOM OTKRIVENOM ULTRAZVUČNIM PREGLEDOM

Sažetak

Uvod Fetusi sa patološkim kariotipom obično imaju specifične, multiple ultrazvučne markere (major anomalije i "soft" markere), koji predstavljaju markere hromozomopatija, zbog čega su u žiži interesovanja u ultrasonografiji. Kariotipizacija, "zlatni standard" u analizi fetalnih hromozoma, izvodi se nakon uzimanja uzoraka invazivnim procedurama koje nose rizik od pobačaja od 1,5%. Dilema nastaje u proceni potrebe za kariotipizacijom kod fetusa sa izolovanim ultrazvučnim markerom (major anomalijom i "soft" markerom), uzimajući u obzir rizik koji nose invazivne procedure. Kariotipizacijom nije moguće detektovati promene na hromozomima manje od 4Mb. ArrayCGH je molekularno-citogenetička metoda kojom se analiziraju varijacije u broju ponovaka (copy number variations - CNVs) u genomu. Ovom metodom moguće je otkriti promene u broju ponovaka u sekvenci DNK na nivou od 5-10kb, čime je omogućena identifikacija mikroleucija i mikroduplicacija kod fetusa sa defektima uzrokovanim hromozomskim aberacijama.

Cilj Ova studija ima za cilj analizu učestalosti hromozomskih aberacija fetusa u odnosu na tip izolovanog ultrazvučnog markera (major anomalija ili "soft" marker) i zahvaćenost organskog ili tkivnog sistema. Zatim, utvrđivanje i komparaciju empirijskog rizika za nalaz hromozomske aberacije i rizika od komplikacija nakon intervencije (invazivnog uzimanja uzorka za kariotipizaciju) u slučajevima detekcije izolovane fetalne anomalije ili izolovanog "soft" markera. Takođe, i komparaciju efikasnosti citogenetičkih metoda (kariotipizacija vs tehnika hromozomskih mikronizova) na primeru pet izolovanih anomalija centralnog nervnog sistema fetusa (umerena ventrikulomegalija).

Metod Istraživanje je sprovedeno je u dve etape. Prvi deo istraživanja predstavlja studiju preseka u koju je uključeno 3000 analiza kariotipa fetusa sa povišenim rizikom za hromozomopatije, obavljenih u periodu od 16 godina. Pretraživanjem baze podataka citogenetičke laboratorije dobijeni su podaci o nalazima ultrazvučnih pregleda fetusa, rezultatima analize hromozoma, kao i ishodu trudnoća nakon uzimanja uzoraka. Svi ultrazvučni nalazi dobijeni su tokom rutinskog ultrazvučnog skrininga fetalnih anomalija, a pre invazivne dijagnostike hromozomskih aberacija. U drugom delu

istraživanja, kod pet fetusa sa umerenom ventrikulomegalijom i normalnim kariotipom, obavili smo dodatnu analizu hromozoma arrayCGH metodom.

Rezultati U periodu od 16 godina, ispitivano je 3000 fetusa, od kojih je kod 1832 (61,5%) kariotip analiziran zbog pozitivnog ultrazvučnog skrininga. Izolovana anomalije ili izolovani "soft" marker nađeni su kod 1493 (81,5%) fetusa sa pozitivnim ultrazvučnim skriningom. Dobijeni podaci pokazali su da su trudnice uključene u studiju pripadale populaciji sa niskim rizikom za hromozomske aberacije fetusa. Izolovane major anomalije ili izolovani "soft" markeri sa približno jednakom učestalošću otkrivane su u drugom (47,2%) i trećem trimestru (46,6%), dok su u prvom trimestru detektovane u znatno nižem procentu (6,2%). Patološki kariotip otkriven je kod 103 (6,9%) fetusa sa izolovanim major anomalijama ili izolovanim "soft" markerima. Sa najvećom učestalošću nađene su numeričke hromozomske aberacije (80,6%), i to aneuploidije. Najzastupljenija je bila trizomija 21, sa udelom od 50% u svim detektovanim aberacijama. Hromozomske aberacije su sa najvećom učestalošću nađene kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima glave, lica i vrata (36%), zatim koštano-mišićno-zglobnog (11%) i kardiovaskularnog sistema (9%). Najmanja frekvencija hromozomskih aberacija nađena je kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima CNS-a (3%), tumorima (2,1%) i izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima urogenitalnog trakta (1,0%). Major anomalije nađene su kod 1016 (82,3%), a "soft" markeri kod 218 (17,7%) fetusa sa izolovanim ultrazvučnim markerom. Kao poseban entitet evaluirani su poremećaji u količini plodove vode koji su kao izolovan nalaz otkriveni kod 259 fetusa, ili u 17,2% svih otkrivenih izolovanih anomalija. Hromozomske aberacije nađene su kod 5,5% fetusa sa izolovanom major anomalijom i 12,4% fetusa sa izolovanim "soft" markerom. Nalaz izolovane major anomalije nije pokazao značajno povećanje rizika za hromozomske aberacije fetusa (LR+ 0,8; OR 0,4), dok se nalaz izolovanog "soft" markera pokazao kao statistički značajan prediktor, koji povećava rizik za hromozomske aberacije fetusa više od dva puta (LR+ 1,9; OR 2,4). Značajan rizik za hromozomske aberacije nađen je samo kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima glave, lica i vrata (LR+ 7,9 OR 10,1), koštano-mišićno-zglobnog sistema (LR+ 0,5 OR 1,5) i kardiovaskularnog sistema (LR+ 0,5 OR 1,5). Uvećanje NT-a (LR+ 14,1; OR 16,4), cistični higrom (LR+ 14,1; OR 15,4), VSD (LR+ 8,04; OR 8,7), tetralogija Fallot (LR+ 7,04; 7,2), SUAS (LR+ 4,7; OR 4,8), skraćeni femur (LR+ 2,1; OR 2,1) i fetalni hidrops (LR+ 2,01; 2,1) pokazali su najveći

predikcijski značaj za hromozomske aberacije. Izolovani polihidroamnion je takođe imao značaj u predikciji hromozomskih aberacija fetusa (LR+ 1.5; OR 1,6). U ukupnom broju ispitanih trudnoća, rizik od pobačaja nakon invazivnih intervencija, biopsije horionskih resica i kordocenteze, iznosio je 0,5%.

ArrayCGH analiza sprovedena je kod 5 fetusa sa ultrazvučno otkrivenom izolovanom umerenom ventrikulomegalijom, uz uredan nalaz kariotipa. Kod 4 fetusa (80%) utvrđene su mikroleucije/mikroduplicacije u regionima hromozoma 1q44, 2q14.3, 3q26.1, 5q13.2, 6p21.32, 7p14.1, 8p11.22, 11q11, 12p13.31, 14q32.33, 22q11.22 i Xq21.1. Poređenjem sa podacima u bioinformatičkim bazama podataka na slične varijante kao kod ispitivanih fetusa u našoj studiji, nisu utvrđene varijante gena koji mogu biti povezani s razvojem ventrikulomegalije ili definisanih sindroma.

Zaključci Hromozomske aberacije mogu se detektovati kod 6% fetusa sa ultrazvučno otkrivenom izolovanom major anomalijom i 12% fetusa sa ultrazvučno otkrivenim izolovanim "soft" markerom. Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri vrata, srca i koštanog sistema fetusa imaju najveći značaj u predikciji patološkog kariotipa fetusa. Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri urogenitalnog trakta i tumori fetusa ne predstavljaju indikaciju za kariotipizaciju, jer se samo koincidentalno mogu naći udruženi sa hromozomskim aberacijama. Detekcija bilo kakvog fetalnog defekta zahteva brzu, detaljnu ultrazvučnu evaluaciju fetusa u cilju otkrivanja mogućih udruženih anomalija. U svim slučajevima nalaza izolovanog ultrazvučnog markera, bilo major anomalije ili "soft" markera, u proceni potrebe za kariotipizacijom fetusa, potrebna je evaluacija individualnog rizika za hromozomopatije, koja uključuje pozitivni odnos verodostojnosti (LR+) za detektovani marker. U evaluaciji fetusa sa izolovanom anomalijom i normalnim kariotipom, neophodna je dalja genetička dijagnostika, koja bi obuhvatila molekularno-citogenetičke i/ili molekularno genetičke metode. U slučajevima umerene fetalne ventrikulomegalije analiza hromozomskih mikronizova nije imala veću informativnost od kariotipizacije, obzirom da su nađene varijante u regionima gena za koje nije utvrđeno da učestvuju u neurogenezi, ali su naši rezultati osnov za dalja istraživanja genetičke osnove ventrikulomegalije.

Ključne reči: kariotipizacija, izolovana anomalija fetusa, arrayCGH

Naučna oblast: medicina

Uža naučna oblast: medicinska genetika i humana reprodukcija

SIGNIFICANCE OF KARYOTYPING IN ISOLATED FETAL ANOMALY DETECTED BY ULTRASOUND

Abstract

Introduction Fetuses with an abnormal karyotype are in the focus of interest in ultrasonography because they are usually characterized by specific, multiple markers (major anomalies and "soft" markers) recognized as sonographic markers of chromosomopathies. Karyotyping, "the gold standard" in fetal chromosome analysis, is performed after invasive sample obtaining procedures associated with 1,5% risk of miscarriage. The dilemma is if karyotyping should be performed when an isolated fetal anomaly is detected, taking into account sampling procedure risk.

Karyotyping is not able to detect chromosomal changes smaller than 4Mb. ArrayCGH is a molecular cytogenetic method that analyzes a copy number variations (CNVs) in the genome. Copy number changes at a level of 5–10kb of DNA sequences can be detected, allowing additional identification of microdeletions and microduplications in anomalous fetuses.

Aim The aim of the study is to determine the frequency of chromosome aberrations in fetuses according to the type of isolated sonographic marker (major anomaly or "soft" marker) and organ system involved. The additional aim is to estimate and compare the risk of chromosomal aberrations and the risk of miscarriage after invasive sampling procedures in fetuses with an isolated anomaly or isolated "soft" marker. The secondary goal is to examine the efficiency of cytogenetic methods (karyotyping vs. arrayCGH) in five fetuses with isolated central nervous system anomaly (moderate ventriculomegaly).

Method The study includes two separate study lines. The first investigation presents cross-sectional study comprising 3000 karyotype analysis of fetuses with an increased risk for chromosomal aberrations, during 16 years period. Fetal ultrasound findings, chromosome analysis results, as well as post invasive interventions pregnancy outcomes, were obtained from the cytogenetic laboratory database. All ultrasonographic data were collected after routine screening for fetal anomalies, and before invasive diagnostic procedures for chromosomal abnormalities detection. During the second part of the investigation, we performed additional arrayCGH analysis for five fetuses with isolated mild ventriculomegaly and normal karyotype.

Results Among 3000 karyotyped fetuses in 16 year period, 1832 (61,5%) were found to have ultrasonographically detected anomalies. The isolated sonographic marker was observed in 1493 (81,5) of those fetuses. Obtained data showed that pregnant women included in our investigation belonged to the low-risk population. Almost the same incidence of fetal anomalies or "soft" markers was diagnosed in second (47,2%) and third (46,6%), and considerably lower incidence (6,2%) in the first trimester of pregnancy. Aberrant karyotype was found in 103 (6,9%) fetuses with an isolated anomaly or isolated "soft" markers. Among them, numerical chromosomal abnormalities (80,6%), predominate aneuploidies, were the most frequent, with the highest incidence of trisomy 21 (50,5%). The highest frequency of chromosomal aberrations were among fetuses having isolated anomaly or isolated "soft" markers of the head, face, and neck (35,8%), then isolated anomaly or isolated "soft" markers of musculoskeletal (10,9%) and cardiovascular system (9,4%). The lowest frequency of pathological karyotype was found in fetuses with isolated anomaly or isolated "soft" markers on CNS (3%), tumors (2,1%) and an isolated anomaly or isolated "soft" markers of the genitourinary system (1%). Major anomalies were detected in 1016 (82,3%), and "soft" markers in 218 (17,7%) fetuses with an isolated sonographic marker. Isolated amniotic fluid abnormalities were found in 259 (17,2%) fetuses and evaluated separately. Karyotype abnormalities were detected in 5,5% of fetuses with major isolated anomaly and 12,4% of fetuses with isolated "soft" marker. Isolated major fetal anomalies had no significance in prediction of chromosomal aberrations (LR+ 0,8; OR 0,4). Isolated "soft" markers were found to be the significant predictor of fetal pathological karyotype (LR+ 1,9; OR 2,4). Significant association with chromosome abnormalities was found only in fetuses with an isolated anomaly or isolated "soft" markers of the head, face, and neck (LR+ 7,9 OR 10,1), then isolated anomaly or isolated "soft" markers of musculoskeletal (LR+ 0,5 OR 1,5) and cardiovascular system (LR+ 0,5 OR 1,5). The most important prognostic factor in prediction of pathologic karyotype were increased NT (LR+ 14.1; OR 16,4), cystic hygroma (LR+ 14.1; OR 15,4), VSD (LR+ 8.04; OR 8,7), tetralogy Fallot (LR+ 7.04; 7,2), SUAS (LR+ 4.7; OR 4,8), short femur (LR+ 2.1; OR 2,1) and fetal hydrops (LR+ 2.01; OR 2,1). Isolated polyhydramnion also showed significant correlation with fetal chromosomal aberrations (LR+ 1.5; OR 1,6). Risk of miscarriage after invasive interventions, CVS and cordocentesis was 0,5%.

We performed arrayCGH analysis in 5 fetuses with mild ventriculomegaly and normal karyotype. Four (80%) fetuses were found to have microduplications/microdeletions in chromosome regions 1q44, 2q14.3, 3q26.1, 5q13.2, 6p21.32, 7p14.1, 8p11.22, 11q11, 12p13.31, 14q32.33, 22q11.22 and Xq21.1. Comparing obtained data with bioinformatic databases, we didn't find similar variants included neither in the pathogenesis of ventriculomegaly or defined syndromes.

Conclusions In our study, chromosome aberrations were found in 6% of fetuses with major isolated anomaly and 12% of fetuses with the isolated "soft" marker. Isolated anomalies or isolated "soft" markers of neck, heart, and bones were the most significant predictors of fetal pathological karyotype. Isolated anomalies or isolated "soft" markers of genitourinary tract and tumors should not be an indication for fetal karyotyping, considering that only coincidentally were found associated with chromosome aberrations. Detection of fetal defect requires prompt, detailed ultrasonographic fetal evaluation to reveal possible additional anomalies. When assessing the need for karyotyping, all ultrasound findings of isolated fetal major anomalies or isolated "soft" markers should be evaluated regarding the individual risk for chromosomopathies, including positive likelihood ratio (LR+) for the detected marker. Evaluation of fetuses with isolated anomaly and normal karyotype requires further diagnosis, encompassing molecular cytogenetic and molecular genetic techniques. ArrayCGH in mild fetal ventriculomegaly has not been more informative than karyotyping, because found gene variants are not involved in neurogenesis.

Key words: karyotyping, isolated fetal anomaly, arrayCGH

Scientific field: medicine

Specific scientific field: medical genetics and human reproduction

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 KONGENITALNE ANOMALIJE.....	1
1.2 HROMOZOMSKE ABERACIJE.....	2
1.2.1. Numeričke aberacije.....	4
1.2.2. Strukturne aberacije.....	5
1.3 HROMOZOMOPATIJE.....	6
1.3.1. Hromozomopatije sa najvećom učestalošću.....	7
1.4 SKRINING HROMOZOMOPATIJA.....	13
1.4.1 Skrining hromozomopatija u prvom trimestru trudnoće.....	13
1.4.2 Skrining hromozomopatija u drugom trimestru trudnoće.....	14
1.4.3 Neinvazivni prenatalni test (NIPT).....	14
1.5 ULTRAZVUČNI SKRINING HROMOZOMOPATIJA.....	18
1.5.1. Ultrazvučni markeri hromozomskih aberacija.....	18
1.5.2 Ultrazvučni skrining u prvom trimestru trudnoće.....	19
1.5.3 Ultrazvučni skrining u drugom trimestru trudnoće.....	21
1.5.4 Ultrazvučni pregled u trećem trimestru trudnoće.....	24
1.6 INVAZIVNA PRENATALNA DIJAGNOSTIKA.....	25
1.6.1. METODE UZIMANJA UZORAKA ZA ANALIZU KARIOTIPA PLODA.....	25
1.6.1.1 Biopsija horionskih resica.....	25
1.6.1.2 Amniocenteza.....	26
1.6.1.3 Kordocenteza.....	26
1.6.2 KARIOTIPIZACIJA.....	27

1.6.3 TEHNIKA HROMOZOMSKIH MIKRONIZOVA (mikroerej CGH).....	31
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	36
3. MATERIJAL I METODE RADA.....	37
3.1 Metodologija prvog dela istraživanja.....	37
3.1.1 Ispitivanje fetusa.....	37
3.1.2 Ispitivanje novorođenčadi.....	37
3.1.3 Uzorci za citogenetičku analizu.....	38
3.1.4 Citogenetička analiza (kariotipizacija).....	38
3.1.4.1 Citogenetička analiza fetusa iz uzoraka horionskih resica.....	38
3.1.4.2 Citogenetička analiza fetusa iz uzoraka fetalne krvi i novorođenčadi iz uzoraka periferne krvi.....	39
3.1.5 Ultrazvučni nalaz.....	39
3.1.5.1 Ultrazvučni nalazi fetusa u prvom trimestru.....	40
3.1.5.2 Ultrazvučni nalazi fetusa u drugom trimestru.....	40
3.1.5.3 Ultrazvučni nalazi fetusa u trećem trimestru.....	41
3.1.5.4 Definisane ultrazvučnih nalaza.....	42
3.2 Metodologija drugog dela istraživanja.....	44
3.2.1 Metod analize uzoraka tehnikom hromozomskih mikronizova.....	44
3.3 Statistička obrada podataka.....	45
4. REZULTATI.....	46
4.1 Učestalosti ultrazvučno otkrivenih markera i hromozomskih aberacija fetusa.....	46

4.1.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim major anomalijama.....	49
4.1.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima.....	52
4.1.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima po organskim sistemima.....	54
4.1.3.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima CNS-a.....	54
4.1.3.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima lica, glave i vrata.....	56
4.1.3.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima pluća.....	57
4.1.3.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima KVS-a.....	57
4.1.3.5 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima GIT-a.....	59
4.1.3.6 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima UGT-a.....	60
4.1.3.7 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima KMZ sistema.....	60
4.1.3.8 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim tumorima.....	61

4.1.3.9 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa drugim izolovanim anomalijama.....	61
4.1.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim poremećajima u količini plodove vode.....	62
4.1.5 Učestalost hromozomskih aberacija kod pojedinačnih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera fetusa.....	63
4.1.6 Otkrivene izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri kod fetusa sa najčešćim hromozomskim aberacijama.....	65
4.1.7 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim anomalijama.....	65
4.1.8 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim "soft" markerima.....	67
4.2 Učestalost izolovanih kongenitalnih anomalija i hromozomskih aberacija kod novorođenčadi.....	67
4.2.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa major izolovanim anomalijama.....	67
4.2.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa minor izolovanim anomalijama.....	68
4.2.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama po organskim sistemima.....	68
4.2.3.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama CNS-a.....	68
4.2.3.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama glave, lica i vrata.....	69
4.2.3.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama pluća, srca, GIT-a i UGT-a.....	69

4.2.3.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama KMZ-a.....	69
4.3 Razlike u učestalostima hromozomskih aberacija kod fetusa i novorođenčadi.....	69
4.3.1 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima i fetusa sa multiplim anomalijama.....	69
4.3.2 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim major ili minor anomalijama.....	70
4.3.3 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, fetusa sa multiplim anomalijama, fetusa sa multiplim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim anomalijama.....	70
4.4 Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija.....	71
4.5 Analiza hromozomskih mikronizova kod fetusa sa umerenom ventrikulomegalijom.....	78
5. DISKUSIJA.....	80
6. ZAKLJUČCI.....	96
7. LITERATURA.....	97

1. UVOD

1.1 KONGENITALNE ANOMALIJE

Razvoj čoveka je veoma složen proces koji obuhvata rast i diferencijaciju u prenatalnom i postnatalnom razdoblju. Bilo kakvo anatomsko, funkcionalno ili metaboličko odstupanje od normalnog razvojnog procesa rezultira nastankom razvojnih anomalija (Jones, 2006).

Obzirom na razdoblje kliničke ekspresije, razvojne anomalije mogu se podeliti na prenatalne i postnatalne (Jones, 1983). One koje se otkrivaju prenatalno, ili prilikom rođenja, ili tokom prvih mesec dana života novorođenčeta, nazivaju se kongenitalnim anomalijama, i obuhvataju strukturne anomalije, metaboličke i funkcionalne poremećaje. Prema statistikama Svetske zdravstvene organizacije danas se oko 6% novorođenčadi rađa sa nekom anomalijom, dok među mrtvorodenima incidencija raste na 20 % (WHO, 2009).

Kongenitalne strukturne anomalije dele se na izolovane, koje zahvataju jednu regiju i multiple, koje zahvataju više telesnih regija. Prema kliničkom značaju izolovane kongenitalne strukturne anomalije dele se na major i minor anomalije, a multiple anomalije čini kombinacija više major i/ili minor anomalija.

Major anomalije su teški strukturni defekti tkiva i organa, koji mogu da ugrožavaju život, stvaraju ozbiljne funkcionalne smetnje ili ometaju razvoj. Većina major anomalija nastaje u razdoblju od 4. do 8. nedelje gestacije kada se odvija najintenzivnija organogeneza (Pereza, 2010).

Minor anomalije zapravo su fizičke varijante koje se na temelju frekvencije javljanja u opštoj populaciji mogu podeliti na minor anomalije (u <4% populacije) i normalne varijante (u >4% populacije). Najčešće se nalaze u području složeno građenih i izrazito varijabilnih delova tela, kao što su lice i distalni delovi ekstremiteta (Marden i sar, 1964). Nemaju većeg kliničkog značenja (osim estetskog), ali imaju veliku dijagnostičku i prediktivnu vrednost, te su pomoć u otkrivanju mnogih genetičkih sindroma, zbog njihove velike učestalosti. Izolovane minor anomalije javljaju se u 15% novorođenčadi. Velika važnost minor anomalija leži u činjenici da kod 90 % sve novorođene dece koja imaju 3 ili više minor anomalija postoji i major anomalija, pa

tako zapravo minor anomalije upućuju na moguću prisutnost major anomalija (Leppig, 1987). Rizik pojave major anomalija povećava se s brojem minor anomalija.

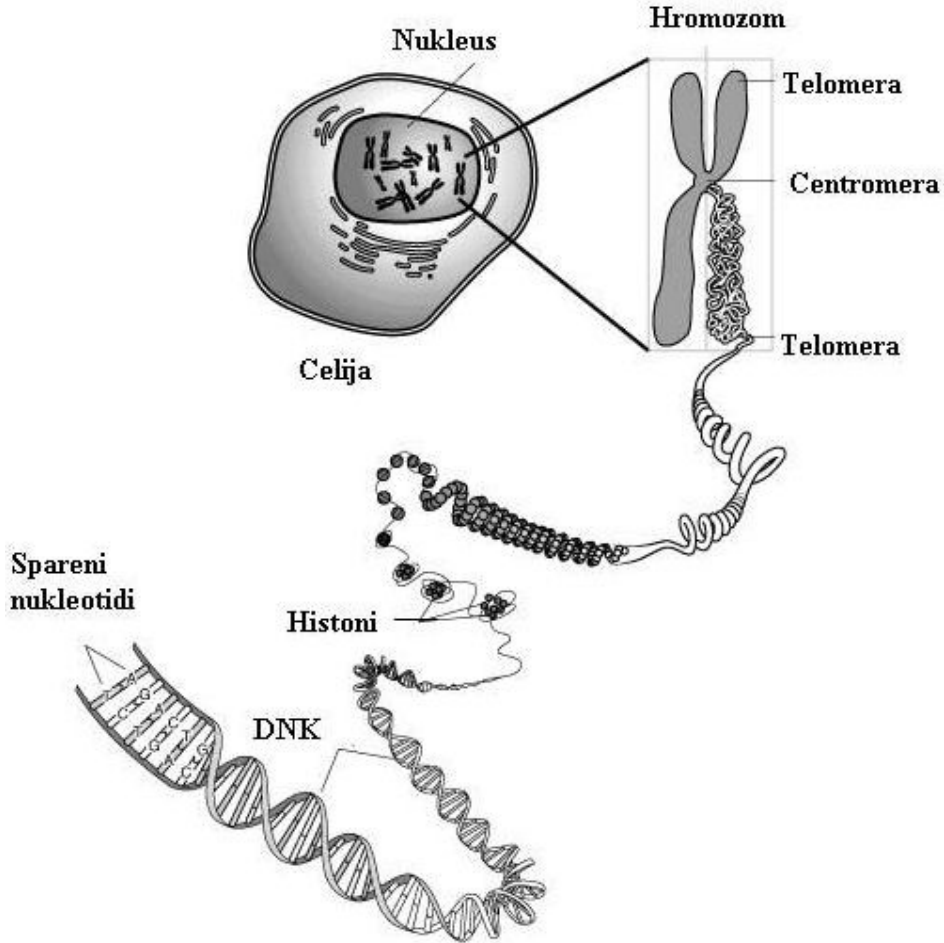
Uzroci kongenitalnih anomalija dele se na genetičke, teratogene (spoljosredinske), multifaktorijalne i nepoznate (Pereza, 2009). Od poznatih uzroka genetički činioci su najzastupljeniji (~25 %), dok je samo manji broj kongenitalnih anomalija uzrokovan teratogenima (~12 %). Smatra se kako veliki deo izolovanih kongenitalnih anomalija nastaje kao posledica sadejstva gena i spoljašnjih faktora, te se svrstavaju u grupu multifaktorijalnih uzroka (~25 %). Ipak, u većini slučajeva (~40 %) etiologija ostaje nepoznata, iako poslednja istraživanja pokazuju kako je samo 17 % kongenitalnih anomalija nepoznatog uzroka zbog novijih otkrića o genetičkim uzrocima (Kumar, 2008).

Genetički uzroci kongenitalnih anomalija mogu biti greške (mutacije) u jednom genu (monogenski), više gena (poligenski) ili hromozomske aberacije.

Do pre četrdesetak godina kongenitalne anomalije su otkrivane po rođenju, dok se danas anomalije ne samo otkrivaju nego i leče antenatalno. U antenatalnoj dijagnostici fetalnih anomalija koristi se veliki broj metoda koje možemo podeliti u dve grupe: neinvazivne i invazivne. Najčešće primenjivana neinvazivna metoda u dijagnostici fetalnih anomalija je ultrazvuk koji se upotrebljava samostalno ili se kombinuje sa biohemijskim metodama skrininga za hromozomske aberacije. Ove neinvazivne metode upućuju na invazivne metode kao što su amniocenteza, kordocenteza, biopsija horionskih resica i placentocenteza (Balić, 2008).

1.2 HROMOZOMSKE ABERACIJE

Osnovna matrica za oblikovanje i održavanje organizama, DNK (deoksiribonukleinska kiselina), sastoji se od dugih lanaca koji su čvrsto umotani i upakovani u hromosome. Za razliku od DNK, hromozomi se mogu videti za vreme ćelijske deobe, pod svetlosnim mikroskopom, kao končaste strukture ili "obojena tela" (Dolan, 2011).



Slika 1. Hromatin i struktura kondenzovanog hromozoma. /Modifikovano sa <http://www.genome.gov/Pages/Hyperion/DIR/VIP/Glossary/Illustration/chromosome.cfm>

Hromozomi su strukture po kojima se razlikuje jedna vrsta od druge i sposobni su da prenesu genetičku informaciju s jedne generacije na sledeću. Ponašanje hromozoma u somatskim ćelijama za vreme deobe, u mitozu, omogućava da svaka ćerka ćelija zadži svoj kompletan genetički materijal (komplement). Slično tome, u formiranju gameta, za vreme mejoze, svaka zrela jajna ćelija i spermatozoid dobijaju po jedan jedinstveni set roditeljskih gena. Hromozomi se bukvalno mogu nazvati "vozilima" koja omogućuju reprodukciju i održavanje vrsta.

Tokom 1956. godine razvijene su pouzdane tehnike za analizu hromozoma, što je ubrzo dovelo do otkrića da je jedan broj odranije poznatih patoloških stanja prouzrokovan abnormalnim brojem hromozoma. Vrlo brzo opisano je više multiplih malformacionih sindroma u kojima je postojao višak ili manjak hromozomskog materijala. Do danas je u laboratorijskim bazama podataka registrovano najmanje 20000 hromozomskih aberacija.

Hromozomske aberacije predstavljaju promene u broju i strukturi hromozoma. U zavisnosti od toga da li se promene prenose na potomstvo ili ne, razlikuju se nasledne (familijarne) hromozomske aberacije i nenasledne (*de novo*) hromozomske aberacije (Kolgeci,2004).

Hromozomske aberacije veličine do 4Mb mogu se rutinski dijagnostikovati analizom pod svetlosnim mikroskopom, dok se one manje, dijagnostikuju molekularno-citogenetičkim i molekularnim metodama.

Hromozomske aberacije se dele na numeričke i strukturne, a mogu se dogoditi kako na autozomima, tako i na polnim hromozomima (Guć-Šćekić i Radivojević, 2009).

1.2.1. Numeričke aberacije

Ovaj tip hromozomskih aberacija nastaje usled promena u broju pojedinačnih hromozoma (aneuploidije) ili pak celih hromozomskih garnitura (poliploidije).

a) Aneuploidije

Promene broja pojedinačnih hromozoma u somatskoj ćeliji su heteroploidije. Jedan od najčešćih oblika heteroploidije je aneuploidija, kada ćelija sadrži jedan, dva ili nekoliko hromozoma više (trizomije, $2n+1$; tetrazomije, $2n+2$) ili manje (monozomije, $2n-1$).

Najčešći uzrok nastanka aneuploidija je nerazdvajanje hromozoma (*nondisjunction*) ili anafazno zaostajanje hromozoma u toku ćelijskih deoba. Nerazdvajanje hromozoma može biti posledica pogrešnog sparivanje hromozoma u prvoj mejotskoj deobi, što dovodi do poremećaja u njihovom odvajanju u anafazi I, ili nerazdvajanja sestrinskih hromatida u drugoj mejotičkoj deobi ili u mitozu. Anafazno zaostajanje hromozoma je obično rezultat poremećaja u funkcionisanju deobnog vretena ili centromera (Papović i sar., 2011). Uzrok nerazdvajanja hromozoma još uvek nije u potpunosti poznat, mada

se sa većom učestalošću javlja kod starijih žena, zatim nakon zračenja i virusnih infekcija. Povećana učestalost nerazdvajanja kod starijih žena, objašnjava se specifičnošću procesa oogeneze (Driscoll i Gross, 2009).

Jedina monozomija koja nije letalna u hromozomskom komplementu čoveka je monozomija X (Turner sindrom), a najučestalije trizomije su trizomija 21 (Down sindrom), trizomija 18 (Edwards sindrom) i trizomija 13 (Patau sindrom).

b) Poliploidije

Poliploidne ćelije sadrže više puta umnožen haploidan set hromozoma ($n=23$), kao 69, triploidija ili 92, tetraploidija. Triploidije su uglavnom rezultat oplodjenja jajne ćelije sa dva spermatozoida, što se zove dispermija, ili pak oplodjenja koje uključuje već aberantne (diploidne) gamete, koji mogu nastati kao rezultat poremećaja mitotskih deoba u gonijama (endoreduplikacija) ili poremećaja u mejozi I ili II (Komnenić i sar, 2015). Kod čoveka, triploidija se može potvrditi najčešće u materijalu ispitanom nakon spontanih pobačaja, jer je preživljavanje ploda posle polovine trudnoće retko (Turnpenny i Ellard, 2007). Tetraploidije su uglavnom rezultat izostanka prve deobe zigota.

1.2.2. Strukturne aberacije

Strukturne hromozomske aberacije nastaju kao posledica prekida na hromozomima, posle čega se oni ponovo spajaju ali na drugačiji način, a rearanžmani se dešavaju uglavnom u interfazi ćelijskog ciklusa, posebno u fazi replikacije DNK, kada je on veoma osetljiv na delovanje različitih, nepovoljnih faktora sredine. Kao rezultat ponovne fuzije prekinutih hromozomskih fragmenata mogu nastati balansirane ili nebalansirane hromozomske aberacije. Nosioци balansiranih hromozomskih rearanžmana, u svom kariotipu sadrže kompletan hromozomski komplement, bez viška ili manjka genetičkog materijala, ali imaju povećan rizik za dobijanje potomstva sa nebalansiranim hromozomskim komplementom. Kod osoba koje su nosioci nebalansiranih hromozomskih aberacija, kao posledica viška ili manjka genetičkog materijala, dolazi do blažih ili težih poremećaja i patološke kliničke slike (Morin, 2017). Strukturne aberacije se dele na interhromozomske (nastaju usled prenosa hromozomskog materijala sa jednog hromozoma na drugi, gde spadaju translokacije) i

intrahromozomske (nastaju usled promena unutar jednog hromozoma, gde spadaju delecije, duplikacije, inverzije i izohromozomi) (Guć-Šćekić i Radivojević, 2009).

1.3 HROMOZOMOPATIJE

Hromozomopatije (hromozomske bolesti) nastaju kao posledica numeričkih i strukturnih aberacija, kako autozoma, tako i polnih hromozoma.

Ako se posmatraju posebno, većina tih poremećaja je izuzetno retka, ali svi zajedno imaju značajan udeo u morbiditetu i mortalitetu čoveka. Hromozomske aberacije su čest uzrok spontanih pobačaja, zatim invaliditeta kod dece, a u genezi većeg broja maligniteta, kako u dečjem, tako i u odraslom dobu, učestvuju stečene-somatske aberacije hromozoma.

Hromozomske aberacije postoje kod najmanje 10% svih spermatozoida i 25% zrelih oocita (Guttenbach i sar., 1997; Gutierrez-Mateo i sar., 2004). Između 15 i 25% svih potvrđenih trudnoća završava se spontanim pobačajem. Hromozomske aberacije su prisutne kod približno 50% spontanih pobačaja u prvom trimestru trudnoće (Al Hussain i sar., 2000). Procenjuje se da je daleko veći broj zigota i embriona koji su toliko nekompatibilni da nije moguće da prežive duže od nekoliko dana posle oplodjenja. Ova zapažanja navode na zaključak da su hromozomske aberacije uzrok prekida vrlo velikog procenta trudnoća.

Od momenta oplodjenja pa nadalje incidenca hromozomskih aberacija izrazito opada, tako da je kod živorođene dece incidenca 0,5%, dok je kod mrtvorođene dece mnogo veća i iznosi preko 5% (Raniga 2006, Finderle i Petrović, 2007, Cerrillo 2009).

Aneuploidije su vodeći uzrok perinatalnog morbiditeta i mortaliteta. Najčešće prenatalno otkrivene aneuploidije su trizomija 21 (Down sindrom), trizomija 18 (Edwards sindrom) i trizomija 13 (Patau sindrom) i aneuploidije polnih hromozoma koje uključuju XXY (Klinefelterov sindrom), XXX ("Triple" X sindrom), monozomiju X (Turner sindrom) i XYY. Utvrđena je asocijacija ovih aneuploidija sa starošću majke, osim monozomije X i XYY sindroma kod kojih se greška dešava u mejozi oca (Zhong, 2012, Robinson, 1999).

Druge hromozomske aberacije otkrivene prenatalno sadrže mnogo manje hromozomske regione (parcijalne aneuploidije) uz koje bi razvoj fetusa bio moguć, premda sa klinički uočljivim anomalijama u većini slučajeva. Ovakvi slučajevi uglavnom obuhvataju nebalansirane rearanžmane (translokacije ili inverzije), delecije, duplikacije, izohromosome (hromozom sačinjen od dva identična kratka ili duga kraka), ring hromosome ili male prekobrojne marker hromosome (sSMC - mali fragmenti hromozoma nepoznatog porekla). Prognoza i ishod ovakvih trudnoća zavise od prirode i porekla hromozomske aberacije i često zahtevaju dodatne analize molekularno-citogenetičkim metodama (fluorescentna in situ hibridizacija i/ili komparativna genomska hibridizacija), kako bi se precizno okarakterisala hromozomska aberacija (Blennow i sar. 1995, Speicher i sar. 1996, Levy i sar. 1998, Schrock i sar. 1997)

Detekcija *de novo* ili nasleđenog nebalansiranog rearanžmana kod fetusa najčešće je povezana sa lošim ishodom trudnoće, dok trudnoće u kojima kod fetusa otkriven *de novo* balansirani rearanžman imaju dobar ishod u 94% slučajeva (Warburton 1991). Frekvencija balansiranih rearanžmana u prenatalnim analizama hromozoma je približno 1:250.

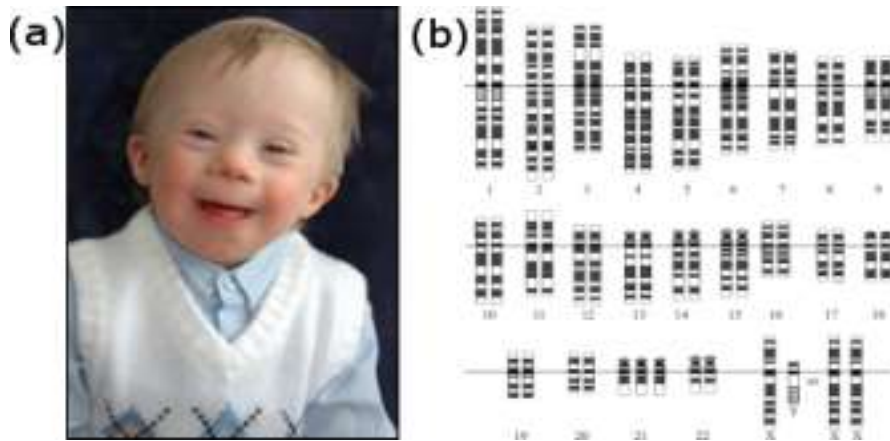
Incidenca malog prekobrojnog marker hromozoma (sSMC) u prenatalnoj dijagnostici je približno 1:1000 i oko jedne petine su nasleđeni (Levi 2006). Problem predstavljaju sSMC nastali *de novo* kod fetusa. Uopšteno, sSMC koji sadrže euhromatin (funkcionalne gene) verovatno će biti povezani sa patološkim fenotipom, dok će fetusi sa sSMC koji sadrže samo heterohromatin (neko-dirajuću DNK) najverovatnije imati normalan fenotip.

1.3.1. Hromozomopatije sa najvećom učestalošću

1. Down sindrom

Trizomija hromozoma 21 je najčešća i medicinski najznačajnija aberacija autozomnih hromozoma, koja se klinički manifestuje slikom Daunovog sindroma. Prvi put je opisan od strane Thomasa Langdon Dauna 1866. godine. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije, incidenca pojave DS u svetu je između 1:1000 i 1:1100 (WHO 2017). Daunov sindrom je posledica trizomije 21. hromozoma. U gotovo 95% slučajeva radi se o prostoj trizomiji, koja je, najčešće, posledica nerazdvajanja

hromozoma u prvoj mejozi majke. U 4% slučajeva radi se o translokacijskom tipu trizomije 21, koji najčešće nastaje kao posledica prisustva Robertsonove translokacije između hromozoma 21 i nekog drugog akrocentričnog hromozoma, a ređe usled drugih strukturnih aberacija hromozoma. U mozaičnom tipu Daunovog sindroma, koji se dijagnostikuje kod 1% slučajeva, postoje dva klon, jedan normalan i jedan trizomični sa viškom hromozoma 21 (Dimitrijević i sar. 2013). Daunov sindrom kod novorođenčadi veoma se uspešno i brzo dijagnostikuje na rođenju. Deca koja imaju Daunov sindrom zbog viška materijala u telesnim ćelijama imaju izmenjen fenotip, tako da više liče međusobno nego na svoju braću i sestre. Daunov sindrom je najčešći uzrok mentalne retardacije u dečijoj patologiji, te otprilike 80% pacijenata ima koeficijent inteligencije između 25 – 50, s izuzetkom pojedinih slučajeva s mozaičnim kariotipom gde su fenotipske karakteristike manje izražene te koeficijent može biti gotovo normalan ili normalan (Kumar i sar. 2014). Jedna od vodećih kliničkih karakteristika tokom intrauterusnog razvoja i postnatalno je znatno zaostajanje u rastu i razvoju. Neka od dijagnostičkih kliničkih obeležja na rođenju jesu smanjeni obim glave, ravni facijalni profil (pljosnato lice sa malim nosom), koso položene „mongoloidne“ palpebralne fisure, hipertelorizam, nabor kože na medijalnom očnom uglu (epikantus), brazda četiri prsta na dlanovima, nedostatak elasticiteta kože koji odaje utisak viška kože na telu (Kumar i sar. 2014; Mardešić i sar. 2003) (Slika 2). Kongenitalne srčane anomalije su zastupljene kod polovine dece sa trizomijom 21. Najčešće se pojavljuju defekti atrijsalnog i ventrikularnog septuma, i upravo te anomalije zaslužne su za većinu smrti u ranom razdoblju života. Hematološki poremećaji koji se javljaju u osoba s trisomijom 21 su makrocitoza, policitemija, prolazni mijeloproliferativni poremećaj, zatim akutna mijeloidna i limfoblastna leukemija za koje postoji 10 do 20 puta povećan rizik. Postoji neadekvatni imunološki odgovor koji ih predisponira za ozbiljne infekcije respiratornog trakta. Prisutna je generalizovana hipotonija u sklopu koje se javlja atlantoaksijalna nestabilnost i sklonost subluksaciji cervikalnog dela kičmene moždine, uz moguće ozbiljne komplikacije u vidu kompresije spinalnog kanala. Naposljetku, zahvaćenost nervnog sistema manifestuje se pojavom konvulzija, poremećaja u ponašanju, psihičkih poremećaja, kao i razvojem Alchajmerove bolesti koja se javlja kod gotovo svih pojedinaca s trizomijom 21 starijih od 40 godina (Kumar i sar. 2014; Mardešić i sar. 2003; Barišić, 2005).



Slika 2. a) fenotip deteta sa Down sindromom; b) kariotip osobe sa Down sindromom. /Preuzeto iz O'Connor C. Trisomy 21 causes Down syndrome. Nature Education 2008; 1(1):42.

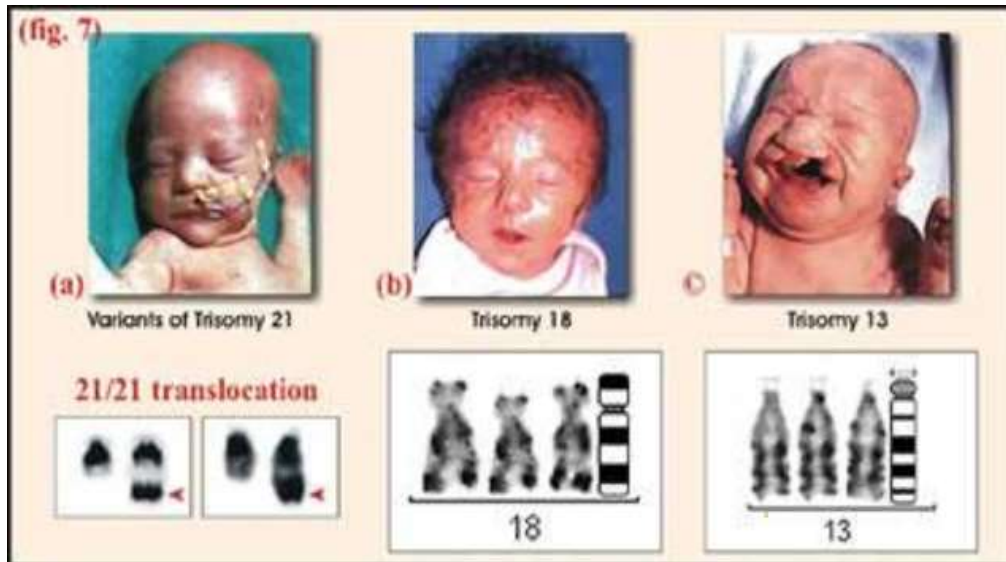
2. Edwards sindrom

Trisomija hromozoma 18 ili Edwardsov sindrom javlja se incidencijom oko 1:8000 živorodne dece. Kod većine pacijenata prisutna je prosta trizomija 18, koja je u 95% slučajeva rezultat hromozomskog nerazdvajanja u prvoj mejozi majke. Mozaični i strukturni oblici poremećaja su veoma retki. Životni vek nosilaca trizomije 18 je veoma kratak. Iako većina nosilaca umre tokom prvih nekoliko meseci života do godine dana, bilo je i slučajeva dece koja su živela 15 i više godina (Papović i sar., 2011). Fenotip nosioca trisomije 18 karakteriše mentalna retardacija, intrauterusni zastoj u rastu, kranio-facijalne anomalije, nisko usađene uši, mala usta, uske palpebralne fisure, kratak palac na nozi, atrezija jednjaka, traheo-ezofagealna fistula, spina bifida, kao i brojni poremećaji srca i bubrega (Crider i sar., 2008; Irving i sar., 2011).

3. Patau sindrom

Trisomija hromozoma 13 ili Patau sindrom se javlja sa incidencom od 1:12000 novorođenčadi. Kod 75% pacijenata ovaj poremećaj je posledica proste trizomije 13, koja je uslovljena nerazdvajanjem hromozoma u prvoj mejozi majke. Oko 5% nosilaca ima mozaični oblik trizomije, dok je kod 20% prisutan translokacijski oblik (Turnpenny i Ellard, 2007). Većina dece sa ovim sindromom umire tokom prvih dana ili prvih nedelja života, i retko prežive duže od šest meseci. Za fenotip nosioca je karakteristična

mikrocefalija, brojne anomalije nervnog sistema, srca, bubrega i polnih organa, zaostajanje u rastu i razvoju, rascep usne i nepca, polidaktilija, mikroftalmija (Crider i sar., 2008; Irving i sar., 2011).



Slika 3. Fenotip najčešćih trizomičnih sindroma sa hromozomskim aberacijama kojima su izazvane. /Preuzeto sa <http://www.pathcarelab.in/neonatologist.html>

4. Triploidija

Triploidija se u humanoj genetici susreće uglavnom prilikom citogenetičke analize spontano pobačenih plodova. Triploidija nastaje zbog greške u mejozi germinativnih ćelija ili u fertilizacionoj grešci, na primer dispermiji. U 80% triploidija dodatna haploidna garnitura hromozoma poreklom je od oca i dovodi do razvoja parcijalne hidatidiformne mole, vrste patološke trudnoće gde su prisutne hidatidiformne promene placente, i spontanog pobačaja u ranoj ili srednjoj fazi trudnoće. Slučajevi sa dva majčina hromozomska seta, preživljavaju nešto duže, ponekad čak do rođenja. Takva deca gotovo uvek ispoljavaju asimetrično usporen intrauterini rast, sa relativno očuvanom veličinom glave na račun sitnog trupa. Karakterističan izgled lica udružen je s arinencefalijom, heliognatopalatoshizom, očnim kolobomima, sindaktilijom trećeg i četvrtog prsta ruke i/ili drugog i trećeg nožnog prsta, zatim mnogobrojnim anomalijama unutrašnjih organa, a često je izmenjena i placenta. Vitalnost je vrlo slaba, tako da uglavnom umiru na porođaju ili nakon nekoliko dana (Hassan Toufaily i sar. 2016).

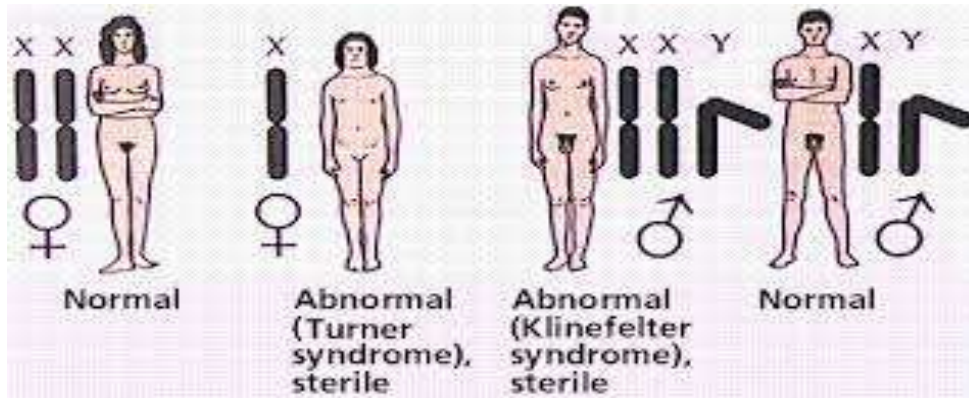
5. Turner sindrom

Turner-ov sindrom ili monosomija X hromozoma je poremećaj u broju polnih hromozoma kod žena, a posledica je nedostatka celog ili dela X hromozoma (Slika 4). Ovaj sindrom se pojavljuje sa učestalošću od 1:2 000 do 5 000 živorođene ženske dece. Činjenica da je u 80% slučajeva prisutni X hromozom poreklom od majke upućuje da do poremećaja dolazi u mejozi oca. Iako je postnatalna prognoza dobra, 99% embriona sa monozomijom X se spontano odbacuje. Kod rođenih, sindrom se manifestuje na različite načine: nizak rast, otoci, širok grudni koš, nisko postavljene uši i kosa, zadebljani vrat, veliki broj mladeža, nefunkcionalni, trakasti jajnici (ovarijalna disgeneza) i izostanak menstrualnog ciklusa (primarna amenoreja), neplodnost, poremećaj strukture srca i velikih krvnih sudova (koarktacija aorte), smanjeno lučenje hormona štitnjače, dijabetes, problemi s vidom i sluhom, mnoge autoimune bolesti. Simptomi se mogu ublažiti terapijom sa hormonom rasta i estrogenom (Ross i sar., 2006; Akbas i sar., 2012). Osobe sa monozomijom X hromozoma imaju normalnu inteligenciju. U značajnom broju slučajeva postoji hromozomski mozaicizam, tako da osobe sa normalnom ćelijskom linijom imaju mogućnost da budu plodne. U slučaju da u drugoj ćelijskoj liniji postoji materijal Y hromozoma, mora se ispitati disgenezija gonada, jer takve gonade mogu maligno da alteriraju i treba ih odstraniti hirurški (Al Alwan i sar., 2014).

6. Klinefelter sindrom

Klinefelter-ov sindrom ili sindrom XXY je poremećaj u broju polnih hromozoma kod muškaraca, a koji je posledica pojave jedne dodatne kopije X hromozoma (Slika 4). Ovaj sindrom se pojavljuje kod 1:500 do 1000 živorođene muške dece. Hromozom X koji je u višku može biti poreklom od majke zbog nerazdvajanja hromozoma u prvoj ili drugoj mejotskoj deobi ili od oca zbog nerazdvajanja hromozoma u prvoj mejotskoj deobi. Kod većine se simptomi ne manifestuju do puberteta. Dijagnostikovanje prema fizičkim karakteristikama nije pouzdano jer se one razlikuju od osobe do osobe, zbog čega je jedina pouzdana metoda genetičko testiranje. Neke od karakteristika ovog sindroma su: slabija mišićna snaga, viši rast, smanjeno stvaranje testosterona, manje muževno lice i dlakavost, širi bokovi, razvijene grudi (ginekomastija), slabije kosti, neplodnost zbog nepostojanja spermatozoida u spermi, mali testisi (hipogonadizam), povećana incidenca autoimunih bolesti, karcinoma dojke, bolesti vena, osteoporoze.

Razvoj sekundarnih seksualnih karakteristika i dugotrajna prevencija osteoporoze postižu se lečenjem testosteronom, počevši od puberteta. (Aksglaede i sar., 2013).



Slika 4. Aberacije polnih hromozoma. /Preuzeto iz Purves et al. Life: The Science of Biology. 4th ed. Sinauer Associates; 1994.

7. Cri-du-chat sindrom

Delecija kratkog kraka hromozoma 5 (delecija 5p) ili Cri-du-chat sindrom je poremećaj uzrokovan gubitkom dela kratkog kraka hromozoma 5 i jedan je od najučestalijih delecijskih sindroma. Učestalost ove bolesti kod teško mentalno zaostalih osoba (IQ<20) je otprilike 1:100. Ime „cri du chat“ dolazi od jedinstvenog mijaukavog plača koji jako nalikuje na mijauk male mačke a koji se čuje u neposrednom novorođenačkom razdoblju, traje nekoliko nedelja, a potom nestaje. Učestalost sindroma u ljudskoj populaciji je 1:20000 do 50000 novorođenčadi. Klinička slika sindroma mačjeg plača je: mentalna retardacija, mala težina po rođenju, usporen fizički i kognitivni razvoj, mikrocefalija i mesečast oblik lica sa malom bradom, antimongoloidni položaj očiju i hipertelorizam (veliki razmak između očiju), usta koja ne mogu potpuno da se zatvore, slab tonus mišića lica koji otežava ishranu (može da sisa) i govor, nisko postavljene i loše formirane ušne školjke, karakterističan plač kao mjaukanje mačke koji je posledica anomalija u razvoju grkljana (larinksa) (Espirito Santo i sar., 2016).

8. Wolf–Hirschhornov sindrom

Delecija kratkog kraka hromozoma 4 (delecija 4p) ili Wolf–Hirschhornov sindrom izaziva tešku mentalnu zaostalost. Manifestacije mogu uključivati mikrocefaliju, izbočeno čelo, širok ili povijen nos, promene kože glave u središnjoj liniji, epikantus, hiprertelorizam, ptozu i kolobome, rascep nepca, kratak vrat, usporeni razvoj kostiju te kod dečaka, anomalije srca i bubrega, hipospadiju i kriptorhizam. Mnoga zahvaćena deca umiru tokom dojenačkog doba, a mali broj onih koji dožive do dvadesetih godina života imaju teške anomalije i sklonost infekcijama i epilepsiji (Battaglia i sar., 2010).

Kod svake trudnoće postoji rizik za rađanje deteta sa hromozomskim bolestima. Za utvrđivanje individualnog rizika potrebno je uzeti u obzir njen početni rizik, koji zavisi od starosti majke i gestacijske starosti, i pomnožiti ga sa faktorima verovatnoće, koji, pak, zavise od rezultata niza skrining testova koji se primenjuju tokom trudnoće.

1.4 SKRINING HROMOZOMOPATIJA

Imajući u vidu da je značajan broj kongenitalnih anomalija uzrokovano hromozomskim aberacijama, u savremenoj perinatologiji skriningu hromozomopatija posvećuje se velika pažnja i postojeće metode se stalno unapređuju. Skrining hromozomopatija predstavlja neinvazivne metode za procenu individualnog rizika u svakoj trudnoći. Osim starosti majke, u proceni rizika za hromozomopatije koriste se neinvazivni biohemijski skrining i ultrazvučni pregled fetusa, kao i kombinacija ove dve metode. Efikasnost skrininga hromozomopatija se znatno poboljšala tokom poslednjih dvadeset godina i to poboljšanjem tehničkih mogućnosti, ali i izmenama koncepta skrininga.

1.4.1 Skrining hromozomopatija u prvom trimestru trudnoće

Skrining hromozomopatija u prvom trimestru kako ultrazvučnim pregledom tako i kombinacijom ultrazvučnog i biohemijskog skrininga ima značajne prednosti nad kasnijim skriningom – ranu dijagnozu sa sledstvenim jednostavnijim i manje traumatičnim prekidom trudnoće ukoliko se roditelji na to odluče. Kombinovani skrining prvog trimestra uključuje godine majke, majčinu zdravstvenu istoriju, gestacijsku dob, ultrazvučnim pregledom izmerenu vrednost vratnog nabora fetusa

(nuchal translucency, NT) između 11.0 i 13.6 nedelja gestacije i evaluirano prisustvo/odsustvo nosne kosti fetusa, i nivoje maternalnih serumskih hormona, slobodnog beta-humanog horionskog gonadotropina (free β -hCG) i sa trudnoćom povezanog plazma proteina A (pregnancy-associated plasma protein, PAPP-A) (Ray, 2015). Kombinovani skrining u prvom trimestru omogućava izračunavanje individualnog rizika za aneuploidije, kao što su trizomija 21, trizomija 13 i trizomija 18. Stopa detekcije kombinovanim testom je 84-90%, uz stopu lažno pozitivnih rezultata od 5% (Li, 2015). PAPP-A je nizak u trudnoćama sa Daunovim sindromom, a hCG povišen (Macri, 1993; Orlandi, 1997).

1.4.2 Skrining hromozomopatija u drugom trimestru trudnoće

U drugom trimestru trudnoće, između 16. i 20. nedelje gestacije u majčinom serumu mere se koncentracije humanog horionskog gonadotropina (hCG), nekonjugovanog estriola i alfa-fetoproteina (AFP) u "Triple" testu i dodatno inhibina A u "Quadruple" testu i procenjuje kompozitni rizik za trizomiju 21, trizomiju 18 i defekte neuralne tube (NTD-neural tube defect). Senzitivnost "Triple" testa iznosi 70%, a "Quadruple" testa 75%, uz 5% lažno pozitivnih rezultata. Kod fetusa sa Down sindromom nivoi AFP i estriola su sniženi, a nivoi hCG-a i inhibina povišeni. U trizomiji 18 nivoi sva tri markera su sniženi (Dey, 2013).

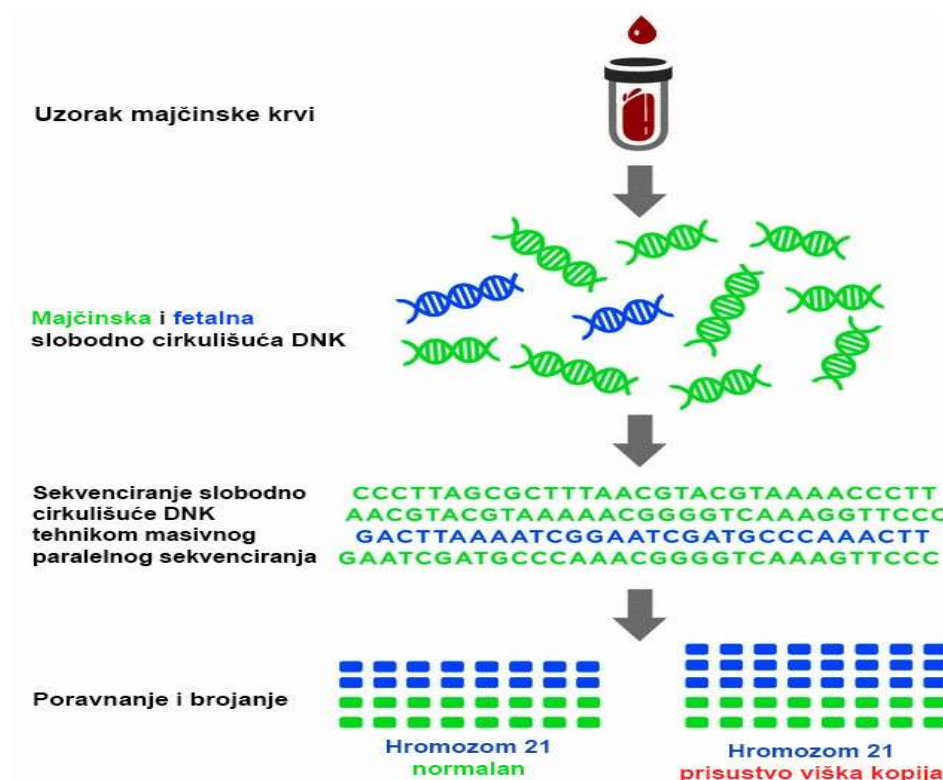
1.4.3 Neinvazivni prenatalni test (NIPT)

Poslednjih nekoliko godina teži se ka osmišljavanju neinvazivnih prenatalnih genetičkih testova iz krvi majke, kojima bi se smanjila učestalost invazivnih zahvata. Otkriće slobodne fetalne DNK (cfDNA, cell-free DNA) u majčinoj krvi označilo je prekretnicu u razvoju neinvazivnih prenatalnih molekularno-genetičkih analiza i približilo nas razvoju neinvazivne prenatalne dijagnostike (Wagner 2012).

Istraživanja su pokazala da koncentracija slobodne fetalne DNK raste tokom gestacije i krajem prvog trimestra trudnoće u majčinom krvotoku prisutno je oko 5-10% cfDNA, što je 20 do 25 puta veća koncentracija od koncentracije samih fetalnih ćelija (Chiu i sar. 2011).

Slobodna fetalna DNK poreklom je iz ćelija placente, sinciotrofoblasta, te je u odnosu na majčinu slobodnu DNK kraća (fragменти manji od 200 baznih parova), degradiranija i hipometiliranija (Albetty i sar. 2007).

Primena analize slobodne fetalne DNK iz trudničke plazme dugo vremena je bila onemogućena, zbog nemogućnosti odvajanja majčine od slobodne fetalne DNK. Tek otkrićem metode masivnog paralelnog sekvencioniranja (MPS) i razvojem bioinformatičkih alata omogućeno je testiranje aneuploidija (Chiu i sar. 2008; Fan i sar. 2008).



Slika 5. Šematski prikaz analize fetalne DNK iz majčine krvi. /Preuzeto sa <http://www.safegenebalkan.com>

Iako ova metodologija ima visoku cenu, a analize su dugotrajne i kompleksne, napredak tehnologije i sprovođenje velikih kliničkih studija tokom poslednjih godina doveli su do razvoja savremenih neinvazivnih prenatalnih testova koji analiziraju slobodnu fetalnu DNK iz majčine krvi (NIPT). Prvi takav test predstavljen je 2011. godine i od tada veoma brzo proširen po čitavom svetu, u čemu primat imaju komercijalne laboratorije koje su u poslednjih nekoliko godina značajno izmenile ovo dijagnostičko područje.

Na tržištu su prisutne tri varijante NIPT-a:

- masivno paralelno sekvenciranje čitavog genoma koje karakteriše 10-20 miliona očitavanja i potencijal za utvrđivanje aneuploidija svih hromozoma; temelji se na sekvenciranju i brojanju velikog broja pojedinačnih DNK fragmenata iz plazme koji se, poređenjem sa referentnim genomom, pridružuju hromozomu sa kog potiču;
- ciljano sekvenciranje hromozoma kojim se radi manji broj očitavanja, jeftinije i brže se dođe do rezultata, ali se dobije manja količina informacija o genomu;
- sekvenciranje SNP (single nucleotide polymorphism-polimorfizam jednog nukleotida) lokusa na hromozomima od interesa, koje uzima u obzir relativni kvantitativni doprinos majčinog i očevog genoma u plazmi, ne zahteva referentnu vrednost i ima potencijal za utvrđivanje triploidije; u jednoj reakciji umnožava se 20000 SNP sekvenci koje se nakon toga sekvenciraju, odrede njihovi položaji na hromozomima i proceni da li se radi o monozomičnom, dizomičnom ili trizomičnom fetusu (Bianchi and Wilkins-Haug 2014; Wagner 2015).

Trenutna ograničenja NIPT-a su relativno veliki udeo neuspelih analiza (2,6%-5,4%) i usmerenost na najčešće trizomije. Takođe, javlja se i određeni postotak lažno pozitivnih (0,25-1%) i lažno negativnih rezultata (manje od 1%), zbog čega se svaki pozitivan rezultat NIPT-a mora potvrditi referentnom metodom (Bianchi and Wilkins-Haug, 2014). Rezultati validacijskih NIPT studija pokazali su da je tačnost detekcije Down sindroma 99,5%, Edwards sindroma 99% i Patau sindroma 79-92% (Palomaki i sar, 2012; Bianchi i sar. 2012). NIPT testiranje je neuspešno u oko 2% slučajeva, a uglavnom zavisi od udela fetalne frakcije u ukupnoj slobodnoj DNK u cirkulaciji (Benn 2014). Na udeo slobodne frakcije utiču: indeks telesne mase trudnice, gestacijska dob, tip aneuploidije, višeploidnost i mozaicizam (Ferres i sar. 2014). Među lažno pozitivnim slučajevima značajni su biološki razlozi poput ograničenog placentarnog mozaicizma, uniparentalne dizomije, mozaicizma kod majke, sindroma nestajućeg blizanca, malignog oboljenja trudnice (Wagner 2016). Razlog za lažno negativan rezultat uglavnom je ograničeni placentarni mozaicizam (Mao i sar. 2014; Hochstenbach i sar. 2015). Poslednje dve godine, osim NIPT testiranja aneuploidija hromozoma 13, 18 i 21, sprovode se i analize poremećaja polnih hromozoma i nekih strukturnih hromozomskih aberacija (Wang i sar. 2016). Razvijene su i NIPT analize za mikrodelecijske sindrome (22q11.2, 1p36, Cri-du-Chat, Prader-Willi/Angelman), monogenske bolesti (Wilsonova bolest, kongenitalna adrenalna hiperplazija), neke

retke bolesti (Gaucherova bolest) pa čak i za neinvazivno prenatalno testiranje celogenomskog broja ponavljajućih sekvenci (eng. CNV's).

Glavna prednost primene slobodne fetalne DNK iz krvi majke je neinvazivnost, odnosno, neškodljivost kako za majku tako i za plod. Druga važna prednost pred konvencionalnim skrining testovima je mogućnost testiranja tokom cele trudnoće. Biološke karakteristike slobodne fetalne DNK su takve da se njen udeo povećava sa starošću trudnoće, što dodatno doprinosi tačnosti rezultata. Uz spomenute prednosti primene slobodne fetalne DNK iz krvi majke, postoje i ograničenja koja u ovom trenutku sprečavaju analizu slobodne fetalne DNK da postane klinički dijagnostički test. Radi se o komercijalno dostupnim genetičkim testovima koji se često sprovode bez adekvatnog genetičkog informisanja. Ponekad su pogrešno interpretirani kao dijagnostički testovi, a zapravo su skrining testovi čiji patološki rezultat mora da se potvrdi invazivnom metodom. U mnogim zemljama sveta ne postoji zakonska regulativa, niti stručne smernice koje bi regulisale sprovođenje NIPT-a, a zdravstvena osiguranja u pravilu ne pokrivaju troškove testiranja (Wagner 2016). Testiranja slobodne fetalne DNK usmerena su na najčešće trisomije, ne detektuju druge hromozomske abnormalnosti, samo aneuploidije čitavih hromozoma. Postoji relativno veliki udeo neuspelih analiza (2,6%-5,4%), a jedan od razloga je niska koncentracija slobodne fetalne DNK. NIPT nije validiran za višeploidne trudnoće, i u ovom slučaju, svaki pozitivan rezultat NIPT testa mora se potvrditi referentnom metodom (Wagner 2015). Pretraga fetalne DNK iz krvi majke u svrhu utvrđivanja fetalne trizomije nije dijagnostički test i iz razloga što je u ovom slučaju uzorak DNK poreklom iz placente, a kariotip ploda i posteljice se u retkim situacijama ne podudaraju (pojava 'ograničenog placentarnog mozaicizma').

Područje NIPT testiranja trenutno je najizazovnije i najdinamičnije područje prenatalne dijagnostike. NIPT polako evoluira prema fetalnoj molekularnoj kariotipizaciji zahvaljujući istraživanjima koja su pokazala da je moguće sekvencionirati čitav fetalni genom neinvazivnim uzorkovanjem.

Zbog svega prethodno navedenog, treba naglasiti da je ultrazvučna dijagnostika i dalje nezaobilazna kao komplementarna metoda prenatalne dijagnostike u svrhu isključivanja strukturnih fetalnih anomalija. Ukoliko se ultrazvučno primeti strukturna

anomalija ploda, odmah se preporučuje invazivni dijagnostički test (American College of Obstetricians and Gynecologists 2015).

1.5 ULTRAZVUČNI SKRINING HROMOZOMOPATIJA

U poslednjih četrdeset godina, zahvaljujući ne samo napretku tehnologije i usavršavanju ultrazvučnih aparata, nego i sticanju iskustava samih istraživača, kao i mogućnosti transabdominalnog i transvaginalnog pristupa, ultrazvuk postaje moćno "oružje" u praćenju intrauterinog stanja ploda. Zahvaljujući visokoj rezoluciji savremenih ultrazvučnih aparata, kao i primenom 3D i 4D ultrazvuka, ovom metodom je moguće otkriti sve veći broj fetalnih anomalija, pa je stoga ultrazvuk jedna od veoma važnih metoda prenatalne dijagnostike (Ray, 2015; Renna, 2013). To se ne odnosi samo na praćenje intrauterinog rasta, količine plodove vode, vitalnosti ploda nego i sve ranijeg otkrivanja fetalnih malformacija i ultrazvučnih markera hromozomskih i drugih fetalnih abnormalnosti (Balk i Balk, 2007).

Rutinska primena ultrazvuka u trudnoći dovela je do uspostavljanja različitih standarda, kako u pogledu sadržaja i dinamike pregleda, tako i u pogledu praćenja rasta i promena u strukturi određenih tkiva. Za pravilnu interpretaciju nalaza neophodno je poznavanje gestacijske dobi, faktora rizika i patoloških faktora vezanih za trudnoću.

U okviru antenatalne zaštite - praćenja rasta i razvitka fetusa, u većini evropskih zemalja standardno se preporučuju tri ultrazvučna pregleda: između 9. i 12. nedelje, zatim 19. i 22. nedelje kao i 29. i 32. nedelje gestacije (Ranta, 2010).

1.5.1. Ultrazvučni markeri hromozomskih aberacija

Tokom poslednje dve decenije otkriveni su brojni markeri, koji predstavljaju sonografski uočljive karakteristike fetusa, a udruženi su sa različitim hromozomskim abnormalnostima. U cilju identifikacije fetusa kod kojih postoji povećan rizik, sprovodi se ciljani ultrazvučni pregled, tokom koga se traga za specifičnim markerima hromozomskih aberacija (Antsaklis, 2008).

Ultrazvučnim pregledom moguće je uočiti dva tipa ultrazvučnih markera koji sugerišu postojanje hromozomskih poremećaja. Prvi tip predstavljaju krupne, "major",

strukturne anomalije fetusa. Drugi tip su "mogući markeri", odnosno "soft" markeri, koji nisu specifični, manje su značajni i često su tranzitorni. Ovi markeri mogu se uočiti i kod normalnih fetusa, ali je njihova incidenca veća kod fetusa sa hromozomskim aberacijama, zbog čega su oni važan deo ultrazvučnog pregleda (Ali i sar., 2012).

Iz didaktičkih razloga anomalije delimo prema organskim sistemima kojima pripadaju iako neke anomalije zahvataju više organa i organskih sistema zajedno (Kurjak i Kos, 1998).

Krupne anomalije mogu se naći kod preko 25% fetusa sa aberacijama hromozoma, dok se jedan ili više "soft" markera može uočiti u najmanje 50% ovakvih slučajeva (Nyberg i sar., 1998; Stoll i sar., 1993; Hill, 1996; Vintzileos i sar., 1997; Nadel i sar., 1995).

U studijama o stopama detekcije Daunovog sindroma ultrazvučnim skriningom mnogo je kontroverzi koje se odnose na značaj ultrazvučnih markera, posebno kada se nađu kao izolovani (Smith-Bindman i sar., 2007; Benn i Egan, 2007).

1.5.2 Ultrazvučni skrining u prvom trimestru trudnoće

Prvi ultrazvučni pregled temelji se na dijagnostikovanju trudnoće u uterusnoj šupljini, vitalnosti ploda, starosti trudnoće, kao i pregledu osnovnih anatomskih detalja ploda i posteljice.

Potom svaka trudnica treba da bude obavezno pregledana od 11 do 14 nedelje trudnoće, kada sledi ultrazvučna biometrija ploda, tj. metoda merenja određenih anatomskih struktura, upoređivanje sa standardnim vrednostima za određeno doba trudnoće i procene odgovara li plod svojom veličinom trajanju trudnoće.

Protokol ovog pregleda podrazumeva određivanje parametara kao što su broj plodova, zatim biometrija ploda – dužina teme-trtica (CRL- crown-rump length), biparijetalni dijametar (BPD), obim glave (HC- head circumference), obim abdomena (AC- abdominal circumference), dužina femura (FL- femur length), zatim položaj i zrelost posteljice, morfologija i položaj pupčanika, količina plodove vode, broj i ritmičnost otkucaja srca, protok kroz arterije uterine, kompletna anatomija ploda i pokreti ploda (Izquierdo i sar., 1991; Abu-Rustum i sar., 2010).

Devedesetih godina prošlog veka, Szabo i Gelen iz Mađarske objavili su prve rezultate koji su povezali debljinu nuhalne translucence (NT) sa trisomijom 21. para hromozoma i drugih velikih hromozomskih defekata, sa preko 50 različitih urođenih mana, te sa nepovoljnim perinatalnim ishodom (Szabo i Gelen, 1990). Prekretnica u ultrazvučnoj dijagnostici u prvom trimestru dogodila se 1992. godine, kada je Nikolaides sa saradnicima objavio studiju o incidenci hromozomskih defekata od 35% kod fetusa sa nuhalnom translucencom $\geq 3\text{mm}$ (Nikolaides i sar., 1992). Na taj način otvoreno je novo poglavlje u ranom neinvazivnom skriningu hromozomopatija, jer je danas merenje NT postalo sastavni deo nacionalnog programa antenatalne zaštite u velikom broju zemalja širom sveta. Nuhalna translucenca ili prosvetljenje predstavlja izolovanu nakupinu tečnosti ispod kože na zadnjoj strani vrata fetusa u prvom trimestru trudnoće. Termin translucenca se koristi jer dobro propušta ultrazvučne talase, pa je na konvencionalnom prikazu crn (transehosoničan). Brojne studije pokazale su povezanost zadebljanja vratnog nabora $> 3\text{mm}$, sa hromozomskim aberacijama, posebno aneuploidijama (Lončar i sar., 2011). Uvećana NT nije samo marker aneuploidija i drugih hromozomskih defekata fetusa, već i brojnih poremećaja na genskom nivou, kao i drugih strukturnih anomalija fetusa, prvenstveno srčanih mana (Souka i sar., 2005; McAuliffe i sar., 2004; Burger i sar., 2015)

Poslednjih godina, osim nuhalne translucence, u skrining se uvode i drugi "soft" markeri hromozomopatija prvog trimestra, nosna kost, dužina maksile, protok kroz dustus venosus, ugao ilijačnih kostiju, dužina femura (Nikolaides, 2011; Koo i sar., 2014).

Studije efektivnosti ultrazvučnog pregleda u otkrivanju strukturnih defekata fetusa između 11. i 13. nedelje gestacije, pokazale su širok opseg, između 18% i 71% (Borrel i sar., 2011). Najčešće otkrivene krupne (major) strukturne anomalije u prvom trimestru su akranija, holoprozencefalija, sindrom hipoplazije levog srca, omfalokela, megavezika, fetalni hidrops i skeletne anomalije (Yankova i sar., 2016). U multicentričnoj studiji Syngelaki i saradnici, pokazali su da je transabdominalni ultrazvučni pregled između 11. i 13. nedelje gestacije, 100% senzitivan za određene krupne fetalne anomalije, uključujući akraniju, holoprozencefaliju, gastrošizu, megaveziku i skeletne anomalije. Međutim, bilo je otkriveno samo 34% krupnih srčanih anomalija (Syngelaki i sar., 2011). Kasnije su Iliescu i saradnici objavili da je kombinovanom upotrebom transvaginalnog i transabdominalnog ultrazvučnog

pregleda, uz dodatnu upotrebu kolor Doplera, u prvom trimestru trudnoće moguće otkriti 76% svih krupnih defekata i 90% krupnih srčanih anomalija (Iliescu i sar., 2013).

Rana dijagnoza krupnih strukturnih defekata fetusa, kao što su holoproencefalija, omfalokela, megavezika i krupne srčane anomalije, važna je iz razloga što su ove anomalije često udružene sa hromozomskim aberacijama. Trizomija 13 ili trizomija 18 nađene su kod 65% fetusa sa holoproencefalijom, 55% fetusa sa omfalokelom i 30% fetusa sa megavezikom, dok je kod 40%-63,5% fetusa sa trizomijom 21 nađena anomalija srca (Kagan i sar., 2010; Novotna i sar., 2012).

Iako ultrazvučni pregled u prvom trimestru može otkriti 50% fetalnih malformacija, on ne može da zameni ultrazvučni pregled u drugom trimestru jer neke malformacije nastaju kasnije u razvoju fetusa. Takođe ne treba zaboraviti da tačnost ultrazvučnog nalaza u prvom trimestru može biti kompromitovana tranzitnim nalazima kao što su umbilikalna hernija, mali septalni defekt, hidronefroza ili megavezika, koji mogu spontano da se reše tokom intrauterusnog života (Kashyap i sar., 2015; Kagan i sar., 2010).

1.5.3 Ultrazvučni skrining u drugom trimestru trudnoće

Ultrazvučni pregled fetusa u drugom trimestru graviditeta predstavlja rutinski postupak za otkrivanje poremećaja fetalne anatomije.

Rutinska merenja fetusa u drugom trimestru uključuju biparijetalni dijametar (BPD), obim glave (HC- head circumference), obim abdomena (AC- abdominal circumference) i dužinu femura (FL- femur length).

Ultrazvučno ispitivanje fetalnih anomalija uključuje longitudinalne, transverzalne i kose preseke koji pokazuju sledeće:

- 1) glava, uključuje horioidni pleksus, lateralne komore, interhemisferičnu fisuru sa talamusom, moždanim stablom i cerebelumom,
- 2) fetalno lice (orbita, maksila, mandibula) i vrat,
- 3) srce, luk aorte sa descendntnom aortom,
- 4) abdomen sa jetrom desno i tečnošću napunjenim želucem levo, umbilikalnom venom do umbilikusa, oba bubrega i urinom napunjena bešika,
- 5) fetalni ekstremiteti,

6) mesto i položaj placente.

Cilj ovog ultrazvučnog pregleda je da se što je detaljnije moguće obavi opservacija svih delova tela ploda, proceni rast ploda, odredi lokalizacija i izgled posteljice i proceni količina plodove vode. Prilikom ovog pregleda posebna pažnja se poklanja građi mozga, izgledu lica, građi skeleta, detaljima na šakama i stopalima, izgledu i funkciji srca, digestivnog trakta, bubrega i bešike.

Sistem trodimenzionalne ultrazvučne vizuelizacije može da prikaže jedva vidljive morfološke abnormalnosti, kao što su abnormalnosti na fetalnom licu i polidaktiliju. S druge strane, dobro prikazuje distribuciju protoka placentarne krvi, znači daje dobru informaciju o placentarnoj cirkulaciji (Baba i sar., 1984).

Brojne fetalne strukturne anomalije i nepatološki ili "soft" markeri koje je moguće otkriti tokom ultrasonografskog pregleda fetusa u drugom trimestru povezani su sa hromozomskim aberacijama (Raniga i sar., 2006). Ultrazvučni markeri hromozomskih aberacija u drugom trimestru prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Major i "soft" ultrazvučni markeri hromozomskih aberacija

Sistem	Major markeri	Soft markeri
CNS	Ventrikulomegalija, holoprosencefalija, mikrocefalija, abnormalnosti zadnje fose	Cista horoidnog pleksusa
Mišićno-skeletni	Anomalije šaka i stopala-sindaktilija, klinodaktilija, stisnute šake fetusa, radijalna aplazija, uvrnuta stopala, rocker-bottom stopalo	Skraćene duge kosti
Lice	Rascep usne i nepca, mikrognacija, makroglosija, hipo i hipertelorizam, nisko postavljene uši, male uši	-
Vrat	Cistični higrom	Zadebljanje vratnog nabora
Srce	ASD, VSD, sindrom hipoplazije levog srca, tetralogija Fallot i druge kompleksne anomalije srca	Hiperehogeni fokus
GIT	Ezofagealna i duodenalna atrezija, dijafragmalna hernija, omphalocela	Hiperehogeni creva
Genito-urinarni trakt	Hidronefroza, displastična bolest bubrega i renalna ageneza	Pijelektazija
Druge anomalije	Simetrični IUZR	SUAS

Studije su pokazale da ultrasonografskim pregledom fetusa u drugom trimestru može biti otkriveno 50%-90% fetusa sa Down sindromom, 90%-100% fetusa sa Patau sindromom, 80%-100% fetusa sa Edwards sindromom (Driscoll i Gross, 2009; Breathnach i sar., 2007; Zhong i sar., 2011). Wax i sar. Sproveli su studiju efikasnosti ultrazvučne dijagnostike u otkrivanju fetusa sa hromozomskim aberacijama u drugom trimestru, u kojoj je pokazano da 82% fetusa sa aneuploidijama ima jednu ili više strukturnih anomalija ili "soft" markera, uključujući 71,4% fetusa sa trizomijom 21 (Wax i sar., 2000).

Intrauterusni zastoj u rastu (IUZR) fetusa patološko je stanje koje dovodi do toga da dete na rođenju ima telesnu masu ispod 10. percentila od one koja se smatra normalnom za njegovu gestacijsku starost. IUZR javlja se kod 3–10% trudnoća, dok se kod 20% mrtvorodenih neonatusa otkriva zastoj u rastu. Stopa perinatalnog mortaliteta je 4–8

puta veća kod novorođenih sa zastojem u rastu, a morbiditet je prisutan kod 50% novorođenih. Među etiološkim faktorima odgovornim za IUZR, jedna trećina varijacija u telesnoj težini novorođenčadi određena je genetičkim faktorima (Wollmann, 1998).

Pri svakom antenatalnom ultrazvučnom pregledu neophodno je odrediti i volumen amnionske tečnosti. Abnormalna količina plodove vode može biti uzrok različitih neželjenih ishoda trudnoće. Fetalne kongenitalne anomalije (npr. opstrukcija gastrointestinalnog ili urinarnog trakta), hromozomske abnormalnosti (npr. trizomija 18) i intrauterini zastoj u rastu mogu biti udruženi sa patološkom količinom amnionske tečnosti (Ott, 2005; Locatelli i sar., 2004; Chauhan i sar., 1999). Shodno tome, procena volumena amnionske tečnosti je jedan od osnovnih parametara u praćenju fetalnog razvoja.

1.5.4 Ultrazvučni pregled u trećem trimestru trudnoće

U periodu između 28. i 32. nedelje gestacije fetus se ponovo pregleda u celini. Proverava se veličina fetusa i da li prati očekivane krive rasta, da li se od prethodnog pregleda razvilo neko odstupanje od normalnog razvoja, definiše se položaj posteljice i ponovo procenjuje količina plodove vode.

Nalaz jedne krupne ("major") strukturne malformacije ili dva ili više "soft" markera na nekom od ultrazvučnih pregleda, povećava rizik za postojanje hromozomskih poremećaja ploda, što zahteva genetičko informisanje pacijenata i invazivnu prenatalnu dijagnostiku (Williamson i sar., 1987).

Veoma je važno da se pacijentima uvek napomene da se radi o procesu skrininga, ma koliko efikasan on bio, a ne definitivne dijagnoze i da se dijagnoza može postaviti samo na osnovu invazivne intervencije i određivanja kariotipa ploda.

Ultrazvuk u prenatalnoj dijagnostici ima višestruku primenu, na prvom mestu se koristi za otkrivanje fetalnih anomalija ali njegov značaj kao pomoćne metode prilikom izvođenja drugih prenatalno-dijagnostičkih postupaka, kao što su amniocenteza, biopsija horionski čupica, fetoskopija i druge, nije ništa manji (Popić-Paljić i Krstić, 1995).

1.6 INVAZIVNA PRENATALNA DIJAGNOSTIKA

Prenatalno genetičko testiranje odnosi se na primenu metoda citogenetike i molekularne genetike tokom trudnoće sa ciljem postavljanja dijagnoze ploda u rizičnim trudnoćama (Brajenović-Milić i Stipoljev, 2016).

Pouzdana dijagnostika hromozomopatija je moguća jedino analizom hromozoma fetalnih ćelija ili ćelija posteljice. Međutim, da bi se one dobile potrebne su određene intervencije koje zavise od starosti trudnoće, a koje se rade pod kontrolom ultrazvuka. S obzirom na to da kod svih postoji određeni procenat rizika za spontani pobačaj, potrebno je pažljivo odabrati trudnice kojima će se raditi citogenetička dijagnostika, odnosno trudnice kod kojih postoji visok rizik od hromozomopatija, pa je postupak opravdan.

Indikacije za citogenetičku analizu prvenstveno su starost trudnice i pozitivni biohemijski ili ultrazvučni markeri hromozomskih aberacija, a zatim ostali faktori rizika za rađanje deteta sa hromozomopatijama, kao što su anamnestički podaci ili bolesti majke.

Preporučuje se da sve invazivne metode prenatalne dijagnostike treba obavljati tek nakon genetičkog informisanja kada se trudnica mora upozoriti na moguće rizike ovih zahvata: krvarenje, infekciju i mogućnost spontanog pobačaja koja iznosi od 0.5 - 2% (Brajenović-Milić i Stipoljev, 2016). Invazivna prenatalna dijagnostika kao preventivna metoda u zdravstvenoj zaštiti trudnice i ploda ima svoje mesto samo ukoliko rizik od hromozomopatije prevazilazi rizik od komplikacija samog zahvata.

1.6.1. METODE UZIMANJA UZORAKA ZA ANALIZU KARIOTIPA PLODA

1.6.1.1 Biopsija horionskih resica

Analiza horionskih resica (biopsija horionskih resica ili aspiracija horionskih resica - chorion villi sampling CVS) je invazivna metoda prenatalne dijagnostike koja se primenjuje između 10. i 14. nedelje trudnoće. Kod ovog postupka se tankim kateterom unešenim u matericu kroz vaginu (transcervikalni pristup) ili preko trbuha (transabdominalni put), uz ultrazvučno navođenje, aspirira deo posteljičnog tkiva (horion) za analizu. Horionske resice su prstoliki izdanci posteljičnog tkiva koji su genetski identični fetusu, a razvijaju se veoma rano u trudnoći, tako da je njihova

analiza moguća pre analize plodove vode. Rizik od komplikacija nakon intervencije je 1,5-2%. Metodom direktne kariotipizacije, iz aspiriranog tkiva nalaz se dobija za svega tri dana (Lončar, 2008).

1.6.1.2 Amniocenteza

Amniocenteza je zahvat kojim se pod kontrolom ultrazvučne sonde iglom ulazi kroz trbuh majke u matericu i aspirira plodova voda za dalju analizu. Radi se između 16. i 20. nedelje gestacije, a rizik od komplikacija je 0,5%. Pre same punkcije vrši se detaljan ultrazvučni pregled, prilikom kojeg se određuje položaj bebe, kao i posteljice, kako bi se izbegla nepreciznost zahvata i povreda fetusa. Plodova voda je tečnost u kojoj se nalazi fetus, pa prema tome sadrži ćelije kože i organa fetusa. Za dobijanje dovoljnog broja ćelija za analizu potrebno je oko 15 - 20 ml plodove vode, a kultivacija fetalnih ćelija i kariotipizacija (analiza fetalnih hromozoma) traje oko 3 nedelje (Chitty, 1997).

1.6.1.3 Kordocenteza

Slično amniocentezi izvode se kordocenteza – punkcija umbilikalne (pupčane) vene i kardiocenteza - uzimanje krvi iz leve komore fetalnog srca. Kod kordocenteze punktira se najmanje 1 cm od mesta na kojem se pupčana vrpca odvaja od posteljice i aspirira mala količina krvi (do 2ml) iz pupčane vene. Rizik od komplikacija nakon intervencije je oko 1%. Intervencija se radi od 21. nedelje graviditeta, a kultivacija fetalnih limfocita i analiza kariotipa fetusa traju oko 7 do 10 dana (Radunović, 1989).

Navedenim invazivnim metodama dobijaju se ćelije fetusa koje je osim kultivacije u cilju citogenetičkih analiza (kariotipizacija, tehnika hromozomskih mikronizova, fluorescentna in situ hibridizacija-FISH), moguće koristiti i za molekularno-genetička, biohemijska i hematološka ispitivanja fetusa.

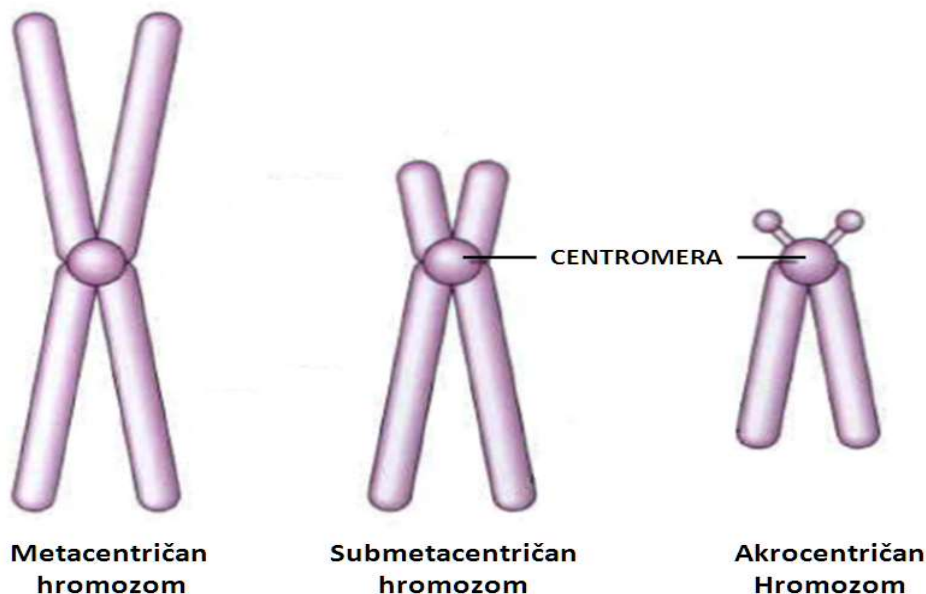
1.6.2 KARIOTIPIZACIJA

Citogenetika je nauka koja se bavi proučavanjem strukture i svojstva hromozoma, njihovim ponašanjem tokom divizije somatskih ćelija u toku rasta i razvoja (mitoze), i divizije germinativnih ćelija tokom reprodukcije (mejoze), kao i njihovim uticajem na fenotip. Citogenetika takođe uključuje proučavanje faktora koji izazivaju promene na hromozomima.

Hromozom sadrži genetički materijal svake ćelije. Naziv hromozoma potiče od grčke reči chromos-boja, odnosno, lepo se boji određenim baznim bojama, i soma-telo (Kearny, 2001). Veličina i broj hromozoma su karakteristični i tipični za svaku vrstu ponaosob. Godine 1956, Džo Hin Tjio i Albert Livan su utvrdili da ljudi poseduju 46 hromozoma. U telesnim ćelijama čoveka po dva hromozoma su slična, poreklom su jedan od majke, jedan od oca i sadrže grupe gena koji determinišu iste karakteristike, te se nazivaju homologni hromozomi. U pogledu hemijskog sastava, hromozom se sastoji od: DNK oko 35% (materija gena), proteina 60% (histoni i hertoni) i RNK 5%. Morfologija 7 hromozoma (izgled i veličina) je različita, što omogućava njihovo prepoznavanje tj. analizu, na osnovu čega su metafazni hromozomi klasifikovani u sedam grupa na Denverskoj konferenciji (1960), sa revizijama na Londonskoj konvenciji (1963), i konferenciji u Čikagu (1966).

Somatske ćelije čoveka sadrže 46 hromozoma tj. 23 para hromozoma. Od toga su 22 para identični za mušku i žensku osobu i nazivaju se autozomni hromozomi. Oni su poređani po veličini i numerisani su brojevima od 1 do 22, tako da su najmanji 21 i 22. Dvadeset treći par hromozoma jesu polni hromozomi i oni se razlikuju za žensku (XX) i za mušku (XY) osobu. Y hromozomom je mnogo manji od X-hromozoma i sarži manji broj gena, od kojih je najznačajniji TDF, zahvaljujući kojem Y-hromozom daje karakteristike muškog pola.

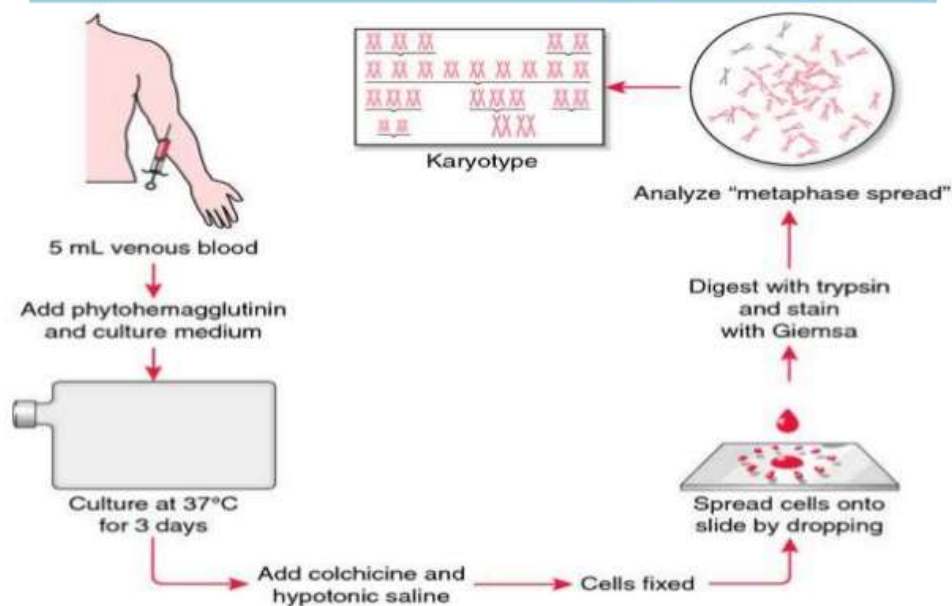
Hromozomi se najbolje vide u metafazi ćelijske deobe. Svaki hromozom ima suženje, centromeru, koja ima ulogu u njegovom kretanju u deobi. U zavisnosti od toga da li je ona postavljena centralno ili ne, hromozomi se dele na: metacentrične, submetacentrične i akrocentrične.



Slika 6. Klasifikacija hromozoma po mestu centromere. /Modifikovano iz Turnpenny PD, Ellard S. Emery's Elements of Medical Genetics. 14th ed. Elsevier Health Sciences; 2014.

Svaka živa ćelija koja ima sposobnost da se deli i sadrži jedro, može se koristiti za proučavanje hromozoma. Najčešće se u te svrhe koriste limfociti periferne krvi, a sa istom uspešnošću moguće je upotrebiti i ćelije kože, kičmene moždine, horionskih resica, iz amniotske tečnosti i druge ćelije, koje se odgajaju u kulturi tkiva. Posle izvesnog broja deoba dodaje se jedan biljni alkaloid – kolhicin koji sprečava formiranje deobnog vretena. Time se ćelija zaustavlja u metafazi mitoze kada su hromozomi najuočljiviji. Hromozomi se još dodatno obrađuju, a zatim se boje (Slika 7) (Petković, 2001)

Procedure of karyotyping



Slika 7. Procedura kariotipizacije. /Preuzeto iz Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics. 11th ed. London: Churchill Livingstone; 2001.

Za bojenje hromozoma danas se najčešće koristi uobičajna tehnika bojenja sa Giemsa bojom koja ravnomerno boji hromosome a centromere ostaju stisnute što omogućava merenje dužine hromozoma, položaj centromere i raspon krakova.

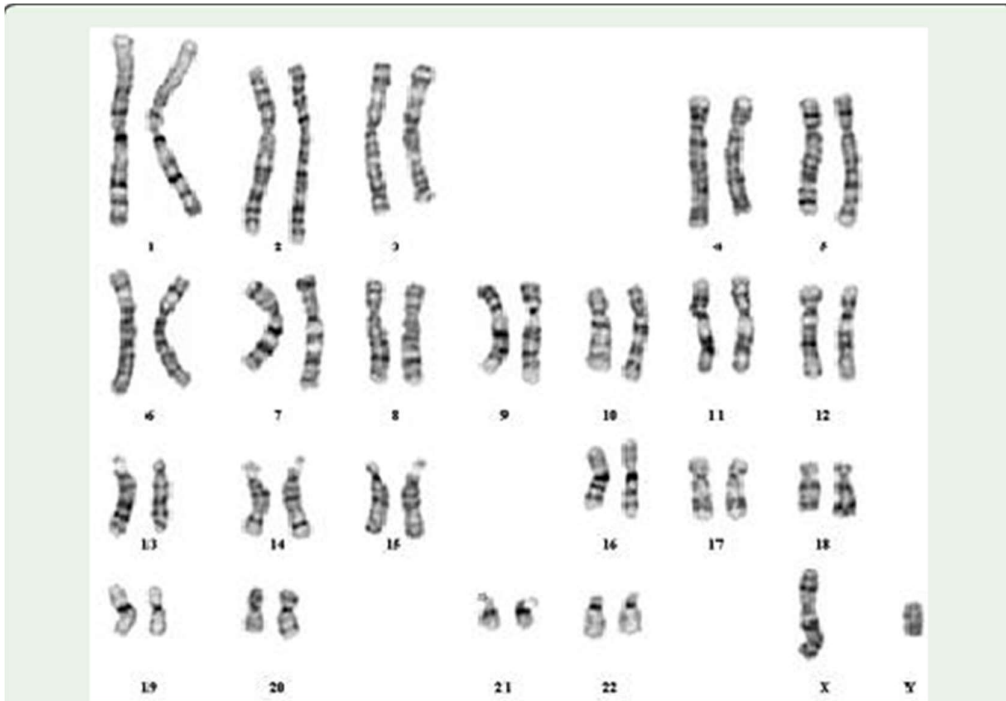
Glavna prekretnica u razvoju citogenetike nastupa uvođenjem tehnika pruga početkom sedamdesetih godina, kojima se hromozomi mogu definisati prema karakterističnom rasporedu pruga duž hromozomske ose (Caspersson, 1971). Ovom metodom se pomoću kvinakrinskih boja koje se vezuju ravno na DNK dobijaju pruge, brojem i širinom specifične za svaki hromozom (Blancato, 1999, Carpenter, 2002). Tom metodom se postiže bolji uvid u hromozomske homologe, koje su bez tehnika pruganja bile teško prepoznatljive. Zavisno od pripreme kulture tkiva dobijaju se različite vrste pruga. Svaka tehnika pruganja vezana je za samo određene hromozomske regije (G-metoda boji hromatide, T-metoda boji telomere, NOR-centromere). Svaki hromozom ima određeni uzorak pruganja što omogućuje razlikovanje pojedinih hromozoma unutar kariotipa. Pomoću tehnike pruganja svaki hromozom pokazuje celom dužinom svetlije i tamnije pruge koje predstavljaju euhromatinska i heterohromatinska područja

hromozoma, te su se bolje identifikovali ne samo celi hromozomi, već i njihovi pojedini delovi, odnosno omogućeno je otkrivanje velikog broja do tada neotkrivenih hromozomskih aberacija (Dimitrijević i Lazović, 2012).

Najčešće korišćeno pruganje je G-pruganje (tehnika G traka-GTG). To je metoda u kojoj se hromozomi tretiraju tripsinom, a nakon toga boje ljubičastom bojom Giemsa. Svaki homologi par ima jedinstven profil G-pruga što omogućuje prepoznavanje pojedinih hromozoma u kariotipu. Tretirani hromozomski preparati analiziraju se pod svetlosnim mikroskopom. Prvo se određuje broj hromozoma na osnovu njihovog brojanja u najčešće 15 - 20 ćelija. Za detaljnu analizu izabere se najmanje 5 najkvalitetnijih metafaznih ćelija. Detaljna analiza temelji se na poređenju rasporeda traka na homologim hromozomima, koji je specifičan za svaki pojedinačni hromozom.

Kariotip je skup svih hromozoma u jednoj ćeliji, sa opisom njihovog broja, veličine i morfologije. Nakon mikroskopske analize fotografišu se najkvalitetnije metafazne ćelije. Izrežu se svi hromozomi i slože u parove prema veličini i morfologiji u kariogram (Seabright, 1971).

Kariotipizacija obuhvata izradu, analizu i interpretaciju kariotipa.



Slika 8. Normalan muški kariotip. Bojenje tehnikom G-traka.

Osim kariotipizacije, kao citogenetičke metode, za analizu hromozoma mogu se koristiti i molekularno-citogenetičke metode kao što su fluorescentna in situ hibridizacija (FISH), kvantitativna fluorescentna lančana reakcija polimerazom (QF-PCR) ili komparativna genomska hibridizacija (CGH).

1.6.3 TEHNIKA HROMOZOMSKIH MIKRONIZOVA (mikrorej CGH)

U prenatalnoj genetičkoj dijagnostici metode klasične kariotipizacije, FISH i QF-PCR trenutno su metode izbora za otkrivanje hromozomopatija.

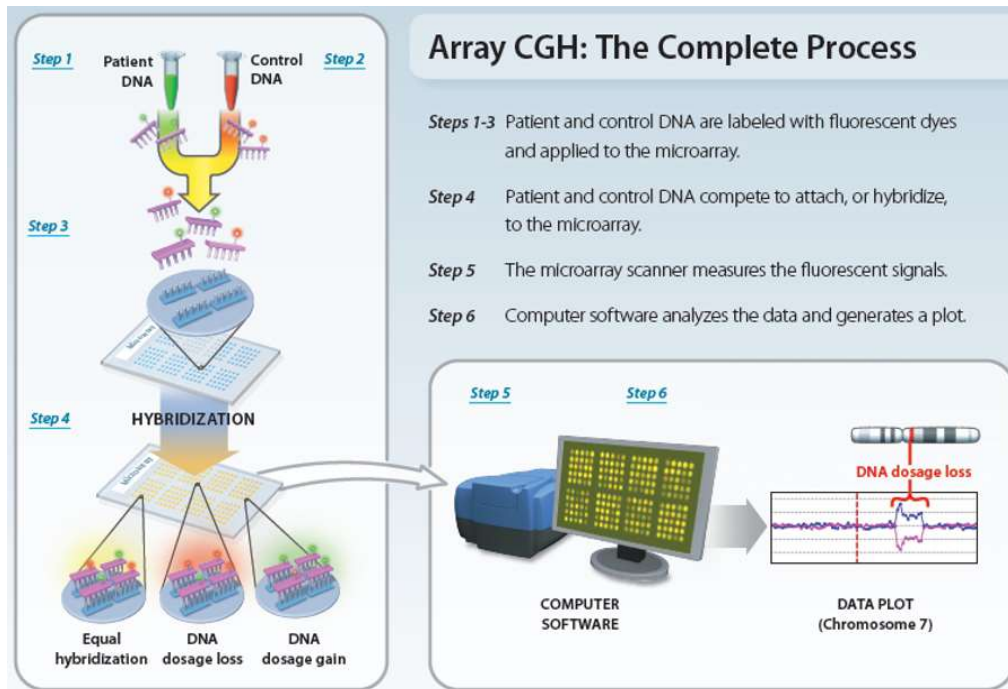
Konvencionalna metoda citogenetike, tehnika G-traka, decenijama se koristi za dijagnostikovanje hromozomskih aberacija (Bartnik i sar. 2014). Glavno ograničenje klasične citogenetičke metode je rezolucija, koja najčešće iznosi između 5 i 10 Mb, čime je onemogućeno otkrivanje manjih delecija/duplikacija (mikrodelecija/mikroduplikacija). S druge strane, mikrodelecije i mikroduplikacije uzrok su kliničkih poremećaja kod otprilike 15 % pacijenata sa sumnjom na gensku ili hromozomsku aberaciju (Vissers i sar. 2005). Dodatna ograničenja kariotipizacije su

subjektivna procena hromozomskih preuređenja i značajna varijabilnost u sposobnosti njihovog otkrivanja između različitih laboratorija.

Primena fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH) omogućila je precizniju dijagnostiku i do skoro bila primarna metoda koja se koristila u svrhu detekcije hromozomskih rearanžmana, međutim ova metoda je limitirana brojem proba koje se simultano mogu koristiti. Takođe, primena FISH-a zahteva precizniju kliničku dijagnozu potencijalnih lokusa u genomu na kojima je došlo do strukturnih promena (Shinawi i Cheung, 2008).

Metoda molekularne kariotipizacije omogućava analizu celog genoma pacijenta odjednom sa visokom rezolucijom i tako sve češće zamenjuje klasičnu kariotipizaciju.

Metoda komparativne genomske hibridizacije na hromozomima temelji se na fluorescentnom označavanju ispitivanog i referentnog DNK-a označenog različitim bojama, koje se potom istovremeno hibridizuju na unapred pripremljene normalne hromozomske preparate. Razlike u hibridizaciji ispitivanog i referentnog DNK-a uočavaju se kao razlike intenziteta boja, što je osnova za procenu prisutnosti hromozomskih preuređenja. Kako bi se dodatno povećala rezolucija, krajem devedesetih godina razvila se komparativna genomska hibridizacija sa upotrebom mikromreža, tj. molekularna kariotipizacija ili tehnika hromozomskih mikronizova (engl. array-based comparative genomic hybridization – aCGH ili chromosomal microarray analysis - CMA) (Slika 9.). Iako su prvobitno korišćeni BAC klonovi (engl. bacterial artificial chromosome), kasnije su ih zamenile mikromreže s oligonukleotidima, koje se sastoje od veštački sintetizovanih kratkih specifičnih nizova nukleotida, koji su jedinstvenog redosleda u genomu i predstavljaju specifičan odsečak humanog genoma (Solinas-Toldo i sar. 1997; Lovrečić i sar. 2014). Time je i rezolucija mikromreža determinisana razmakom i dužinom DNK proba (Cheung i sar. 2005). Trenutno dostupne komercijalne mikromreže nude rezoluciju od 1000 – 2000 bp. Analiza rezultata radi se na softveru koji je u mogućnosti da detektuje bazne parove na početku i na kraju mutacije, regione hromozoma, broj proba, veličinu aberacije, zatim koji geni su zahvaćeni mutacijama.



Slika 9. Proces komparativne genomske hibridizacije sa upotrebom mikromreža. /Preuzeto iz Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). Nature Education 2008; 1(1):45.

Primenom metode analize hromozomskih mikronizova (CMA) omogućava se detekcija varijacija u broju kopija koje predstavljaju strukturne promene u DNK na visokoj rezoluciji od 5-10 kilobaza. Sa odgovarajućim dizajnom oligonukleotidnih proba koje se mogu postavljati ciljano na određene regione hromozoma ili duž čitavog genoma, moguće je dijagnostikovati nebalansirane mikroskopske i submikroskopske hromozomske aberacije koje obuhvataju delecije, duplikacije, aneuploidije, marker hromozome, kao i gubitak heterozigotnosti.

Bolja rezolucija i preciznije mapiranje aberacija, a samim tim i veća sigurnost pri interpretaciji rezultata (subjektivnost očitavanja nije moguća), glavne su prednosti ereja u odnosu na druge citogenetičke metode. Takođe, nije neophodna kultivacija ćelija, što znatno doprinosi uštedi vremena prilikom dijagnostike. Većina dostupnih erej platformi koje se koriste u dijagnostici, zahtevaju svega nekoliko mikrograma genomske DNK, a probe koje se amplifikuju duž čitavog genoma daju mogućnost analize celog genoma odjednom i imaju sposobnost otkrivanja duplikacija sa većom osetljivošću (Tomić i

Vidović, 2016; Stankiewicz i Beaudet, 2007). Studije su pokazale da se array CGH-om detektuje mozaicizam koji nije vidljiv citogenetičkom analizom (Ballif i sar., 2006).

Glavno ograničenje metode je nemogućnost otkrivanja balansiranih rearanžmana, kao što su translokacije ili inverzije, kao ni poliploidija, zatim da li su aberacije nasleđene od roditelja ili su nastale *de novo*. Takođe primena platformi koje pokrivaju kompletan genom na visokoj rezoluciji su veoma skupe, i vrlo često detektuju nebalansirane aberacije koje nisu klinički razjašnjene (Park i sar., 2011). Upravo mogućnost otkrivanja varijacija u broju kopija (engl. Copy number variation – CNV) nepoznatog značenja (engl. Copy number variants of unknown significance – VUS) predstavljaju izazov prilikom interpretacije rezultata. Naime, većina otkrivenih CNV-ova su benigne varijacije i prisutne su u normalnoj populaciji, dok su neke patološke. Prilikom interpretacije rezultata važan korak čini pregled svih postojećih baza podataka, u kojima se redovno skupljaju novi primeri, kao što su DECIPHER, ECARUCA, ICCG i DGV (Bragin i sar., 2014; Vulto-van Silfhout i sar., 2013; Riggs i sar., 2012; MacDonald i sar., 2014)

Implementacija array CGH kao efektivnijeg i sveobuhvatnijeg dijagnostičkog alata značajno je poboljšala detekciju varijacija u broju kopija (CNVs), a njen poseban doprinos se ogleda kod pacijenata sa autizmom, multiplim kongenitalnim anomalijama, facijalnim dismorfizmom, zastojeom u razvoju i mentalnim retardacijama. Dobar dizajn platformi, odnosno DNK proba, koje su komercijalno dostupne, omogućava detekciju do 20% više aberacija hromozoma koje se primenom dosadašnjih metoda citogenetike nisu mogle dijagnostikovati (Miller i sar., 2010). Uvođenjem ove metode u dobru kliničku praksu, pored postojećih aplikativnih metoda, omogućava se preciznija dijagnoza genetičkih poremećaja, a time i bolja karakterizacija sindroma, što predstavlja poseban značaj kod retkih naslednih bolesti (Tomić i Vidović, 2016). Obzirom na sve veću upotrebu metode tokom poslednjih godina, raste i broj razjašnjenih slučajeva zaostajanja u razvoju i urođenih razvojnih anomalija, a otkrivaju se i novi sindromi, poput nedavno opisanih 5q31.34 i 13q12.3 mikrolelecijskih sindroma (Bartholdi i sar., 2014).

Molekularna kariotipizacija primenjuje se u svim područjima kliničke genetike, uključujući postnatalne slučajeve, prenatalnu genetičku dijagnostiku, i sve češće preimplantacijsku genetičku dijagnostiku. U navedenim područjima ova metoda

uspešno nadopunjuje klasičnu kariotipizaciju, posebno u slučajevima kada je potrebna analiza celog genoma sa većom rezolucijom nego kod klasične kariotipizacije.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi su:

1. Analiza učestalosti hromozomskih aberacija fetusa u odnosu na tip izolovanog ultrazvučnog markera (major anomalija ili "soft" marker) i zahvaćenost organskog ili tkivnog sistema.
2. Utvrđivanje i komparacija empirijskog rizika za nalaz hromozomske aberacije i rizika od komplikacija nakon intervencije (invazivnog uzimanja uzorka za kariotipizaciju) u slučajevima detekcije izolovane fetalne anomalije ili izolovanog "soft" markera.
3. Komparacija efikasnosti citogenetičkih metoda (kariotipizacija versus tehnika hromozomskih mikronizova) na primeru pet izolovanih anomalija centralnog nervnog sistema fetusa (umerena ventrikulomegalija).

3. MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog odbora Kliničkog centra Srbije i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, i sprovedeno je u dve etape.

3.1 Metodologija prvog dela istraživanja

Prvi deo istraživanja predstavlja studiju preseka, sprovedenu u Klinici za ginekologiju i akušerstvo, Kliničkog centra Srbije, u koju je uključeno 3000 nalaza fetusa i 500 nalaza novorođenčadi.

3.1.1 Ispitivanje fetusa

Istraživanjem je obuhvaćeno 3000 nalaza kariotipa fetusa iz uzoraka horionskih resica i fetalne krvi ispitivanih u periodu od 16 godina, od januara 2000. godine do januara 2016. godine, u kabinetu za citogenetiku Klinike za ginekologiju i akušerstvo.

U studiju su uključeni nalazi kariotipa svih fetusa sa detektovanim "soft" markerom ili major anomalijom, multiplim anomalijama ili multiplim markerima hromozomskih aberacija na jednom od redovnih ultrasonografskih pregleda tokom sva tri trimestra trudnoće, a pre analize kariotipa fetusa.

Kao izvori podataka o fetalnim sonografskim nalazima i citogenetičkim ispitivanjima korišćeni su protokoli bolesnika, istorije bolesti, zdravstveni kartoni i godišnji izveštaji o radu službi.

Uz sonografski nalaz evaluirani su i starost majke u trenutku zatrudnjivanja, starost trudnoće u trenutku detekcije anomalija i rezultati neinvazivnog kombinovanog (biohemijskog i ultrazvučnog) skrininga hromozomopatija u prvom ili drugom trimestru trudnoće.

3.1.2 Ispitivanje novorođenčadi

U studiju je takođe uključeno 500 analiza kariotipa novorođenčadi sa kongenitalnim anomalijama, dok se za novorođenčad bez dijagnostikovanih anomalija pretpostavlja da imaju normalan kariotip.

Pretraživanjem baze podataka citogenetičke laboratorije i istorija bolesti, dobijeni su podaci o kliničkim nalazima pregleda novorođenčadi kojima je rađena analiza kariotipa iz uzoraka periferne krvi.

Novorođenčad su upućivana na analizu hromozoma od strane pedijatra-neonatologa, ukoliko je kliničkim pregledima otkrivena izolovana anomalija, multiple anomalije ili multipli markeri.

U ispitivanje su uključene i novorođene bebe iz trudnoća kontrolisanih na Klinici za ginekologiju i akušerstvo, kod kojih je prenatalno rađen ekspertni ultrasonografski pregled koji je ukazao na postojanje anomalija.

Fetusi sa izolovanom anomalijom ili izolovanim "soft" markerom predstavljali su ispitivanu grupu, dok su kontrolu predstavljali fetusi sa multiplim anomalijama, novorođenčad sa izolovanim anomalijama, kao i referentni literaturni podaci.

3.1.3 Uzorci za citogenetičku analizu

Analiza kariotipa fetusa u prvom trimestru trudnoće, rađena je iz uzoraka horionskih resica dobijenih transabdominalnim uzorkovanjem iz posteljice (chorionic villus sampling-CVS) pod kontrolom ultrazvuka. Uzorkovanje horionskih resica rađeno je od 10. do 15. nedelje gestacije. Horionske resice su uzorkovane u špric sa fiziološkim rastvorom.

Analiza kariotipa fetusa u drugom i trećem trimestru trudnoće rađena je iz uzoraka fetalne krvi, koji su dobijeni kordocentezom. Svim fetusima obuhvaćenim ispitivanjem kordocenteza je rađena između 20. i 40. nedelje gestacije. Intervencijom je iz umbilikalne vene izvlačeno po 2ml fetalne krvi u špric sa heparinom.

Po 2ml krvi novorođenčadi uzimano je iz periferne vene šake, stopala ili glave, u špric sa heparinom.

3.1.4 Citogenetička analiza (kariotipizacija)

Ispitivanje kariotipa fetusa i novorođenčadi vršeno je konvencionalnim procedurama.

3.1.4.1 Citogenetička analiza fetusa iz uzoraka horionskih resica

Uzorci horionskih resica su inkubirani 24 sata na 37°C u RPMI podlozi (Gibco) ili AmnioChrome Plus Karyotyping Medijumu (Lonza) .

Preparacija hromozoma vršena je 1,5 sat nakon dodavanja kolcemida koncentracije 10 μ g/ml (PAA ili Gibco). Hromozomi su šireni hipotoničnim rastvorom natrijum-hlorida (1% NaCL), a zatim fiksirani smešom metanola (Merck) i sirćetne (glacijalne) kiseline (Merck), u odnosu 3:1.

U svakom uzorku analizirano je najmanje 10 ćelija u metafazi, nakon bojenja Gimzom (Giemza) i G-tehnikom traka, kada su preparati tretirani tripsinom pre bojenja gimzom (Giemza, Merck).

3.1.4.2 Citogenetička analiza fetusa iz uzoraka fetalne krvi i novorođenčadi iz uzoraka periferne krvi

Uzorci fetalne krvi i periferne krvi novorođenčadi su kultivisani 72 h na 37 °C u Parker medijumu (Torlak), uz dodatak 20% fetalnog telećeg seruma (Foetal bovine serum, Gibco) i mitogena fitohemaglutinina u koncentraciji 10 μ g/ml (Phytohaemagglutinin, PAA) ili u PB-MAX Karyotyping medijumu (Gibco).

Jedan sat pre preparacije kulture su tretirane kolcemidom koncentracije 10 μ g/ml (PAA ili Gibco), a zatim su metafazni hromozomi šireni i fiksirani smešom metanola (Merck) i sirćetne (glacijalne) kiseline (Merck), u odnosu 3:1.

Nakon sušenja, hromozomi su bojeni G-tehnikom traka, zbog čega su preparati tretirani tripsinom i bojeni gimzom (Giemza, Merck).

U svakom uzorku analizirano je najmanje 16 ćelija u metafazi, a u slučajevima mozaicizma analizirano je 100 metafaznih ćelija.

Opisivanje kariotipa i definisanje hromozomskih aberacija vršeno je po preporukama Međunarodnog sistema nomenklature za humanu citogenetku iz 1995., 2005. i 2009. godine (engl. ISCN-An International System for Human Cytogenetic Nomenclature) (Mitelman, 1995; Shaffer i Tommerup, 2005; Shaffer i sar., 2009).

3.1.5 Ultrazvučni nalaz

Pretraživanjem baze podataka citogenetičke laboratorije, kartona bolesnika i istorija bolesti dobijeni su podaci o nalazima ultrazvučnih pregleda fetusa u prvom trimestru (između 10. i 14. nedelje gestacije), u drugom trimestru (između 14. i 28. nedelje gestacije) i trećem trimestru (nakon 28. nedelje gestacije).

Svi ultrazvučni nalazi dobijeni su tokom rutinskog ultrasonografskog skrininga fetalnih anomalija, a pre invazivne dijagnostike hromozomskih aberacija.

Ultrazvučni pregledi obavljeni su transvaginalnom ili transabdominalnom sondom od strane licenciranog i iskusnog specijaliste akušera.

Ispitivanjem su obuhvaćene kako jednoplodne, tako i višepodne trudnoće.

3.1.5.1 Ultrazvučni nalazi fetusa u prvom trimestru

Ultrazvučni pregledi fetusa u prvom trimestru rađeni su transabdominalno, između 10. i 14. nedelje gestacije. U slučajevima kada je trudnica imala visok indeks telesne mase, u nekim slučajevima povećanog nuhalnog nabora (NT) ili suspektne anomalije, dodatno je rađen i transvaginalni ultrazvučni pregled.

Kao komponenta skrininga u prvom trimestru merena je debljine vratnog nabora (nuhalna translucenca-NT).

Dodatno, pregled prvog trimestra uključivao je:

- lokalizaciju placente
- sagitalne preseke kičme
- celovitost kranijuma
- "butterfly" znak (holoprozencefalija)
- četvorokomorni pregled srca (situs, simetrija i kolor Dopler kada je indikovano)
- pregled abdomena
- prednji trbušni zid sa insercijom pupčanika i
- četiri ekstremiteta.

3.1.5.2 Ultrazvučni nalazi fetusa u drugom trimestru

U drugom trimestru, ultrazvučni pregledi fetusa rađeni su transabdominalno, između 14. i 28. nedelje gestacije.

Ultrazvučni skrining u drugom trimestru osim biometrijskih merenja, biparijetalni dijametar (BPD), obim glave (HC), obim abdomena (AC) i dužinu femura (FL), uključivao je i:

- lokalizaciju placente
- sagitalne i aksijalne preseke kičme
- celovitost kranijuma, zadnji rog lateralnog ventrikula mozga, kavum septuma peluciduma, cerebellum, cisterna magna
- vratni nabor

- orbite
- gornja usna
- položaj srca i torako-abdominalnih organa, položaj pretkomora sa insercijom šupljih vena u desnu pretkomoru, četvorokomorni pregled srca, izlaze velikih krvnih sudova, luk aorte
- abdomen i gastrointestinalni trakt
- bubrege i bešiku
- prednji trbušni zid sa insercijom pupčanika
- pupčanik sa tri krvna suda
- protok kroz umbilikalnu arteriju i
- indeks količine plodove vode.

3.1.5.3 Ultrazvučni nalazi fetusa u trećem trimestru

Ultrazvučni pregledi fetusa u trećem trimestru rađeni su transabdominalno, nakon 28. nedelje gestacije, kada je merena veličina fetusa i kontrolisano da li prati očekivane krive rasta.

Ultrasonografski pregled podrazumeva je:

- standardna biometrijska merenja: biparijetalni dijametar (BPD), obim glave (HC), obim abdomena (AC) i dužinu femura (FL)
- evaluaciju fetalne anatomije cerebralnih ventrikula, fose posterior, kičmenog stuba
- četvorokomorni pregled fetalnog srca
- pregled abdomena, bubrega i bešike

Dodatno su evaluirani:

- cerebelum
- protoci kroz levi i desni ventrikularni trakt srca
- ekstremiteti
- pupčanik
- količina amnionske tečnosti (AFI).

3.1.5.4 Definisane ultrazvučnih nalaza

Nalazi su smatrani pozitivnim ukoliko je nađena najmanje jedna major anomalija, jedan "soft" marker, ili je nađena neadekvatna količina plodove vode.

Fetusi sa malformacijama na dva ili više sistema klasifikovani su kao fetusi sa multiplim anomalijama, dok su fetusi sa dva ili više "soft" markera klasifikovani kao fetusi sa multiplim "soft" markerima.

Major malformacije definisane su kao strukturne fetalne anomalije koje bi zahtevale hiruršku intervenciju nakon rođenja ili bi uzrokovale ozbiljna oboljenja ili smrt.

"Soft" markeri definisani su na sledeći način:

- nuchalni nabor u prvom trimestru $> 3\text{mm}$, a u drugom trimestru $> 6\text{mm}$ smatran je pozitivnim znakom;
- ciste horoidnog pleskusa su solitarne ili multiple, unilateralne ili bilateralne, kružne anehoidne strukture u horoidnom pleskusu lateralnog ventrikula;
- hiperehogeni fokus u srcu (golf ball) je malo svetlo polje, iste ehogenosti kao kost, koje se može naći u regionu papilarnog mišića jedne ili obe srčane komore;
- hiperehogeni creva su uočljiva kao fokalna ili multifokalna homogena polja jednake ili čak veće ehogenosti nego okolne kosti;
- pielektazije su hipoehogeni sferični ili elipsasti prostori u renalnoj karlici maksimalnog transverzalnog anterio-posteriornog promera $> 4\text{mm}$;
- skraćene duge kosti su definisane kao dužina femura i humerusa $< 2\text{ SD}$ za gestacijsku dob;
- jedna umbilikalna arterija (single umbilical artery syndrome - SUAS) je odsustvo jedne arterije u pupčanoj vrpci.

Kriterijum za postavljanje dijagnoze intrauterusnog zastoja u rastu fetusa (IUZR) bio je da procenjena telesna masa fetusa bude ispod 10. percentila od očekivane za gestacijsku starost (Cicero i sar., 2003; Ali i sar., 2012). Za procenu IUZR korišćene su krive intrauterusnog rasta po Fanarofu (Fanaroff i Martin, 1992).

Količina plodove vode određivana je kvantitativno kao indeks količine plodove vode (AFI). Polihidroamnion je definisan kao AFI > 20 cm, a oligoamnion kao AFI < 5cm.

Zastupljenost patološkog kariotipa najpre je posmatrana grupno za sve izolovane fetalne anomalije i "soft" markere, a potom odvojeno na major izolovane anomalije i izolovane "soft" markere.

Zatim je učestalost hromozomskih aberacija posmatrana posebno za major izolovane anomalije i izolovane "soft" markere u zavisnosti od anatomske lokacije, odnosno zahvaćenosti organskog sistema, koji su razvrstani u sledećih devet grupa:

1. centralni nervni sistem (CNS)
2. glava, lice i vrat
3. pluća
4. kardiovaskularni sistem (KVS)
5. gastrointestinalni trakt (GIT)
6. urogenitalni trakt (UGT)
7. koštano-mišićno zglobni sistem (KMZ)
8. tumori fetusa
9. druge anomalije (intrauterusni zastoj u rastu-IUZR; patološka količina plodove vode; sindrom jedne umbilikalne arterije-SUAS; hidrops fetusa)

Na kraju, zastupljenost hromozomskih aberacija posmatrana je u odnosu na pojedinačne izolovane anomalije i izolovane "soft" markere fetusa, a takođe je posmatrana i zastupljenost pojedinačnih izolovanih fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera kod fetusa sa najučestalijim hromozomskim aberacijama.

Na zahtev roditelja, a nakon genetičkog informisanja i odobrenja etičkog odbora, trudnoće u kojima su otkrivene strukturne anomalije ili je detektovan patološki kariotip su prekidane. Prekidi trudnoća vršeni su do 40. nedelje gestacije.

3.2 Metodologija drugog dela istraživanja

Drugi deo istraživanja sproveden je u Institutu za humanu genetiku, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

Pet fetusa sa izolovanom umerenom ventrikulomegalijom, kao najčešćom anomalijom centralnog nervnog sistema, i normalanim kariotipom, ispitano je i na molekularno-genetičkom nivou, tehnikom analize hromozomskih mikronizova (chromosomal microarray analysis-CMA).

3.2.1 Metod analize uzoraka tehnikom hromozomskih mikronizova

Genomska DNK za komparativnu genomsku hibridizaciju u mikronizu (array comparative genomic hybridization, aCGH) je izolovana iz uzoraka fetalne krvi, primenom komercijalnog kita.

Fetalna DNK u količini od 2 μ g je hibridizovana sa SurePrint G3 Human Genome CGH+SNP Microarray, 4x180K ili 8x60K (Agilent, USA).

Kao referentni uzorak istovremeno je hibridizovano 2 μ g DNK zdrave osobe odgovarajućeg pola.

Postupak digestije DNK, obeležavanja, purifikacije i hibridizacije u mikronizu vršen je prema protokolu proizvođača.

Pločice su skenirane u Agilent SureScan Microarray skeneru.

Image fajlovi su kvantifikovani korišćenjem Agilent Feature Extraction software (v10.7.3.1) i Agilent CytoGenomics Software (v.2.7).

Prema koordinatama hromozomskih regija detektovanih array analizom pretražene su bioinformatičke baze podataka sa ciljem utvrđivanja gena za koje prema literaturnim podacima postoje podaci o ekspresiji u ventrikulomegaliji ili su njihove aberacije povezane sa malformacijskim sindromima.

3.3 Statistička obrada podataka

Deskripcija numeričkih podataka koji zadovoljavaju kriterijume normalne raspodele prikazana je aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Korišćeni su matematički i grafički metodi za testiranje normalnosti raspodele. Od matematičkih primenjeni su: koeficijent varijacije (cv), mere oblika raspodele (engl. skewness i kurtosis) i testovi (Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Willk). Za grafičku procenu postojanja normalnosti raspodele korišćeni su: histogram, normalan Q-Q dijagram, detrendovan normalan Q-Q dijagram i dijagram kutije (engl. box plot). Kategorijalni podaci su prikazivani apsolutnim i relativnim brojem u formi n(%).

Za poređenje ispitivanih grupa prema učestalosti kategorija nominalnih varijabli korišćen je χ^2 test. Za procenu rizika (verovatnoće) za pripadnost grupi sa patološkim nalazom korišćen je odnos šansi (OR - engl. odds ratio) sa svojim 95% intervalom poverenja (CI - engl. confidence interval). Za ispitivanje dijagnostičke tačnosti ultrasonografije u poređenju sa kariotipizacijom kao zlatnim standardom korišćene su sledeće mere: senzitivnost (Sn), specifičnost (Sp), sveukupna tačnost, pozitivna prediktivna vrednost (PPV), negativna prediktivna vrednost (NPV), odnos verodostojnosti pozitivnog testa (LR+) i odnos verodostojnosti negativnog testa (LR-).

Uz svaku od mera prikazan je i njen 95% interval poverenja. Sve metode statističke analize smatrane su statistički značajnim ukoliko je $p \leq 0,05$.

Statistička obrada podataka vršena je softverskim paketima IBM SPSS ver. 21.0 i R.

4. REZULTATI

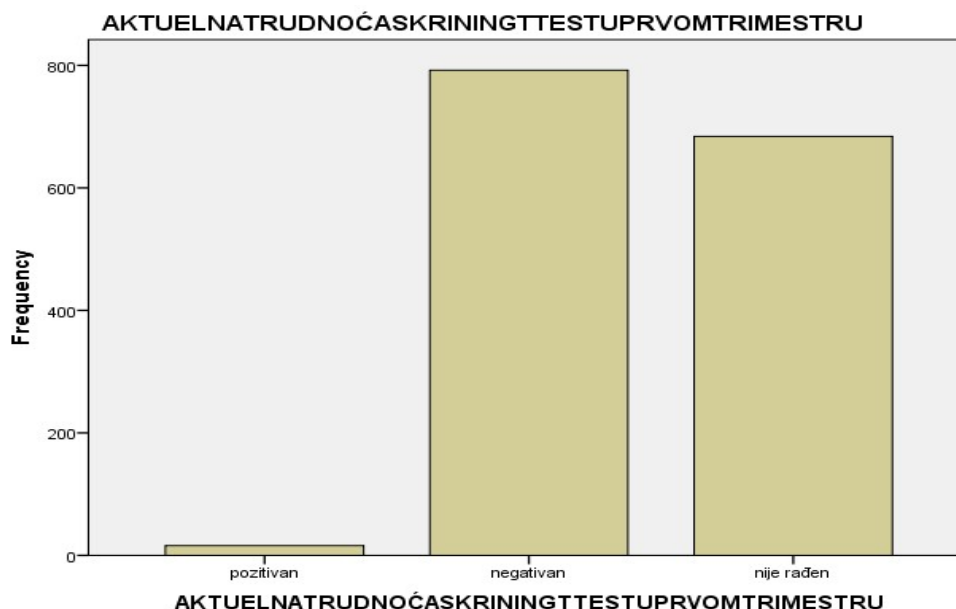
4.1 Učestalosti ultrazvučno otkrivenih markera i hromozomskih aberacija fetusa

U periodu od 16 godina, u kabinetu za citogenetiku Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije, ispitivano je 3000 fetusa, od kojih je kod 1832 (61,5%) kariotip analiziran zbog pozitivnog ultrazvučnog skrininga.

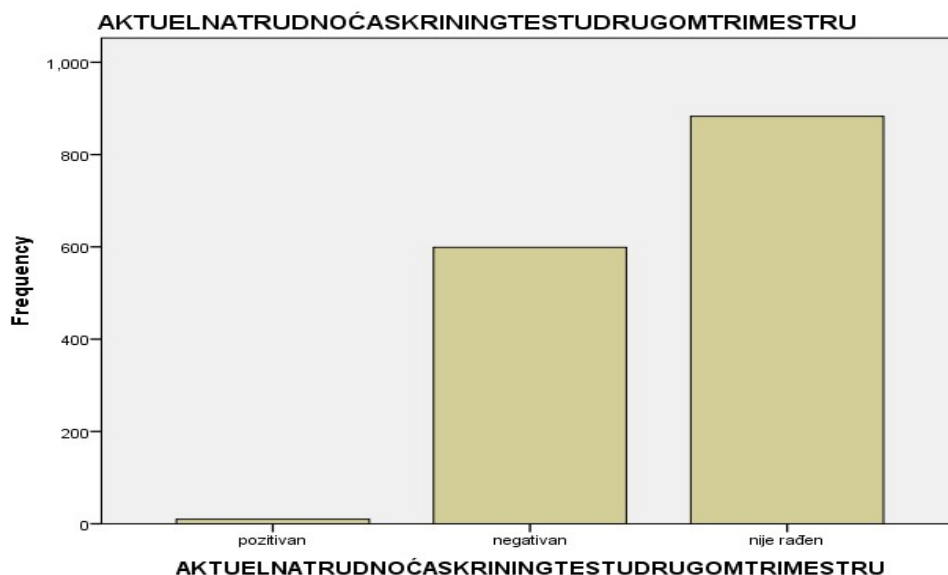
Od 1832 fetusa sa pozitivnim nalazom ultrazvučnog skrininga kod 1493 (81,5%) nađena je izolovana major anomalija ili izolovani "soft" marker, dok je 267 (14,6%) imalo multiple anomalije, a 72 (3,9%) multiple "soft" markere.

Prosečna starost trudnica kod čijih fetusa su otkrivene izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri iznosila je $28,2 \pm 5,6$ godina. Najmlađa trudnica je imala 15, a najstarija 45 godina.

Rezultati neinvazivnog skrininga hromozomopatija u prvom i drugom trimestru, kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, prikazani su u grafikonima 1 i 2.



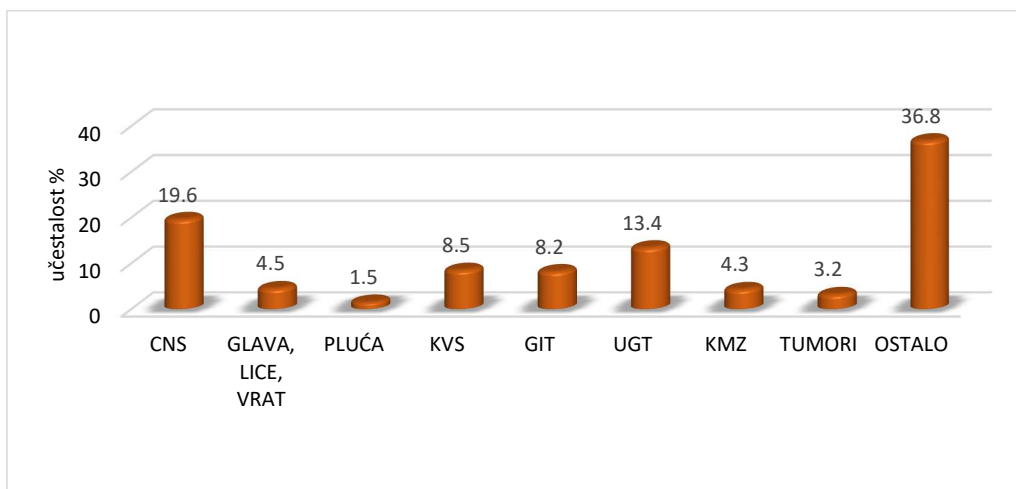
Grafikon 1. Rezultati neinvazivnog skrininga hromozomopatija u prvom trimestru kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima



Grafikon 2. Rezultati neinvazivnog skrininga hromozomopatija u drugom trimestru kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima

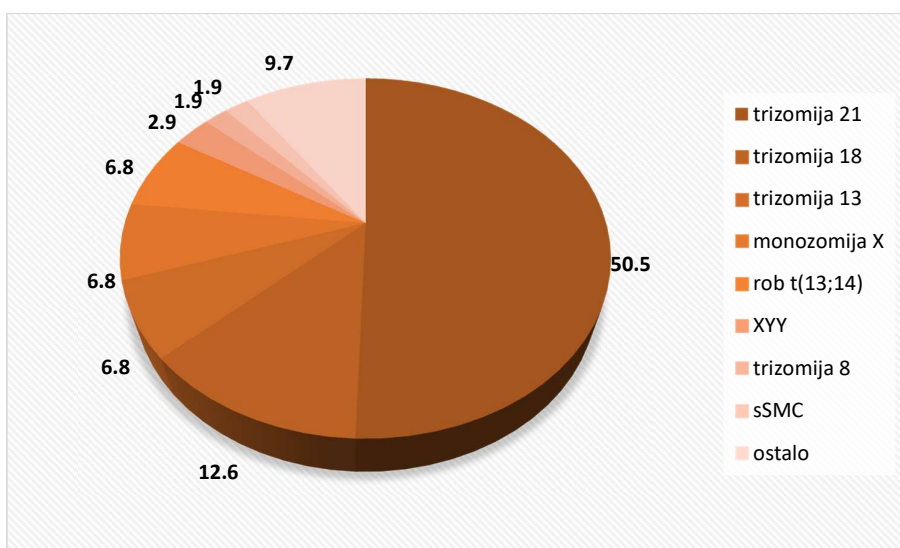
Izolovane fetalne anomalije ili izolovani "soft" markeri sa jednakom učestalošću otkrivani su u drugom (47,2%) i trećem trimestru (46,6%), a znatno manjom u prvom trimestru (6,2%).

Među fetusima sa izolovanom anomalijom ili izolovanim "soft" markerom sa najvećom frekvencom su otkrivane izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri CNS-a (19,6%), izolovani poremećaji u količini plodove vode (17,2%) i izolovani IUZR (16,8%). Zatim su se po učestalosti javljale izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri urogenitalnog trakta (13,4%), kardiovaskularnog sistema (8,5%), zatim izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri gastrointestinalnog trakta (8,2%), glave, lica i vrata (4,5%) i koštano-muskulo-skeletnog sistema (4,3%). Sa najmanjom učestalošću otkrivani su izolovani tumori fetusa (3,2%) i anomalije pluća (1,5). Prikaz učestalosti izolovanih fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera po organskim sistemima dat je u grafikonu 3.



Grafikon 3. Prikaz učestalosti nađenih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera fetusa po organskim sistemima

Zastupljenost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima bila je 6,9% (103 slučaja). Sa najvećom učestalošću nađene su numeričke hromozomske aberacije (80,6%), i to aneuploidije, među kojima je najfrekventnija bila trizomija 21 (50,5%). Prikaz učestalosti patološkog kariotipa kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima dat je u grafikonu 4.



Grafikon 4. Procentualna učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima

U tabeli 2 prikazana je distribucija hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima po organskim sistemima.

Tabela 2. Zastupljenost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima po organskim sistemima.

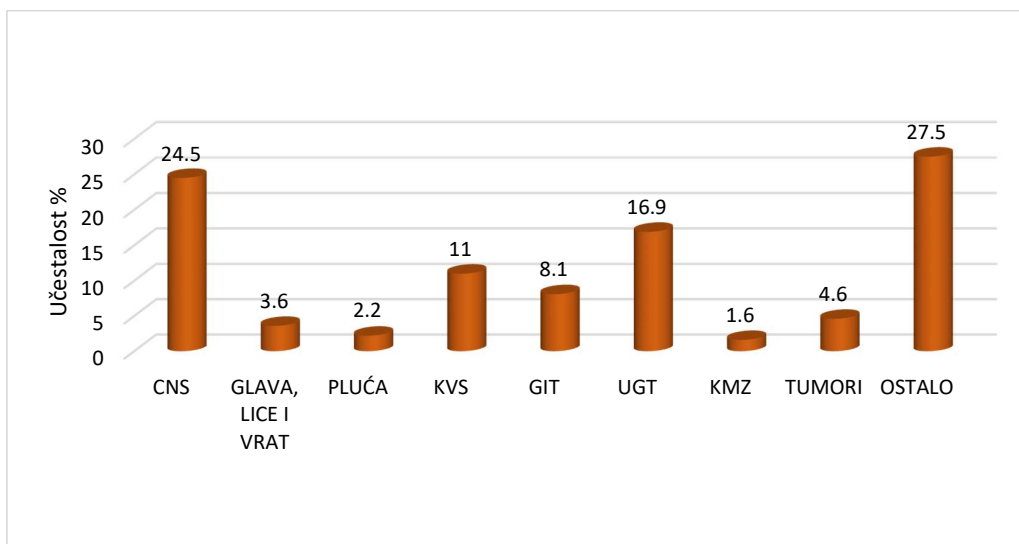
ORGANSKI SISTEM	% HROMOZOMSKIH ABERACIJA
Centralni nervni sistem	3,4%
Glava, lice i vrat	35,8%
Pluća	4,3%
Kardiovaskularni sistem	9,4%
Gastrointestinalni trakt	5,7%
Urogenitalni trakt	1,0%
Koštano-mišićno-zglobni sistem	10,9%
Tumori	2,1%
Druge anomalije	7,1%

Major anomalije nađene su kod 1016 (82,3%), a "soft" markeri kod 218 (17,7%) fetusa sa izolovanim ultrazvučnim markerom.

Kao poseban entitet evaluirani su poremećaji u količini plodove vode koji su kao izolovan nalaz otkriveni kod 259 fetusa, ili u 17,2% svih otkrivenih izolovanih anomalija.

4.1.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim major anomalijama

Distribucija otkrivenih major izolovanih fetalnih anomalija po organskim sistemima prikazana je na grafikonu 5.



Grafikon 5. Distribucija otkrivenih major izolovanih fetalnih anomalija po organskim sistemima

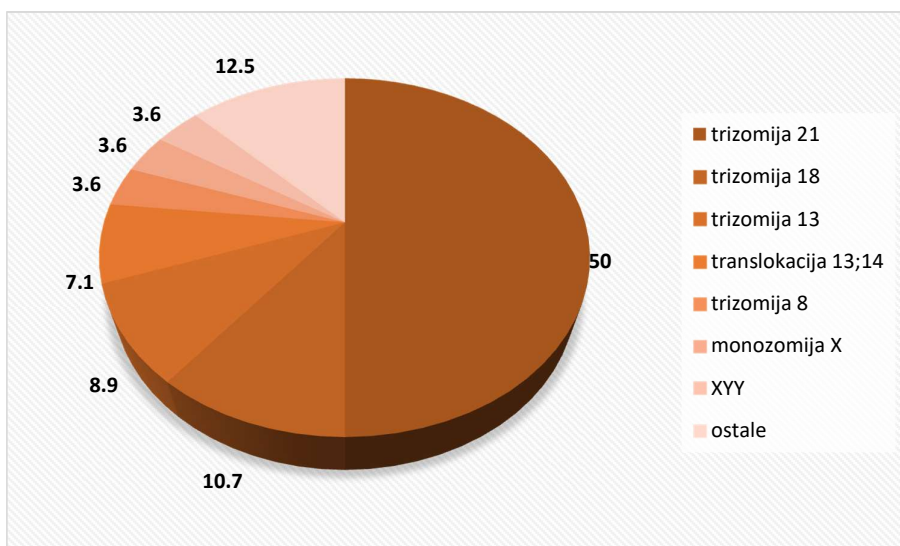
Učestalost otkrivenih pojedinačanih major izolovanih anomalija fetusa prikazana je u tabeli 3.

Tabela 3. Učestalost otkrivenih pojedinačnih major izolovanih anomalija fetusa

MAJOR ANOMALIJA	IZOLOVANA	UDEO (%)	MAJOR ANOMALIJA	IZOLOVANA	UDEO (%)	MAJOR ANOMALIJA	IZOLOVANA	UDEO (%)
Anencefalija		0,8%	Dilatacija desne komore		0,3%	Policističan jedan bubreg		1,9%
Ventrikulomegalija		9,8%	Hipoplazija desne komore		0,4%	Policistični bubrezi		1,5%
Jednostrana ventrikulomegalija		0,2%	Hipoplazija leve komore		1,0%	Displazija jednog bubrega		0,4%
Hidrocefalus		6,6%	Jednkomorno srce		0,3%	Agenezija jednog bubrega		0,2%
Mikrocefalija		1,5%	Prolaps mitralne valvule		0,4%	Nekroza bubrega		0,2%
Encefalokela		0,9%	Transpozicija velikih krvnih sudova		1,0%	Poterov sindrom		0,9%
Meningokela		0,5%	Tetralogio Fallot		0,6%	Tri bubrega		0,1%
Agenezija korpusa kalozuma		0,9%	Koarktacija aorte		0,4%	Potkovičast bubreg		0,2%
Dilatacija cisterne magne		0,3%	AV blok		0,2%	Ureterostenozna		0,4%
Agenezija cerebeluma		0,2%	Aritmija		0,4%	Megaureter		0,2%
Spina bifida		1,1%	Ektopija srca		0,7%	Megavezika		0,6%
Dandy Walker sindrom		0,9%	Povećana vaskularna rezistencija		0,4%	Nepravilnost genitalija		0,1%
Arnold Chiary malformacija		0,4%	Omfalokela		2,4%	Cista na jajniku		0,9%
Šizencefalija		0,4%	Gastrošiza		2,4%	Fokomelija		0,6%
Holoproencefalija		0,2%	Atrezija ezofagusa		0,5%	Pes equinovarus		0,6%
Rascep usne		0,4%	Uvećan želudac		0,2%	Koštana displazija		0,2%
Rascep nepca		0,4%	Ptoza želuca		0,1%	Osteogenesis imperfecta		0,1%
Rascep usne i nepca		0,9%	Stenoza duodenuma		0,2%	Osteohondrodizplazija		0,1%
Cistični higrom		1,8%	Atrezija duodenuma		0,6%	Tumor lobanjske jame		0,3%
Kraniosinostoza		0,2%	Stenoza tankog creva		0,3%	Tumor pluća		0,7%
Hidrotoraks		0,5%	Dilatacija creva		0,8%	Tumor srca		0,2%
Dijafragmalna hernija		1,1%	Atrezija anusa		0,2%	Tumor bubrega		0,2%
CCAM		0,6%	Hepatomegalija		0,1%	Tumor abdomena		2,0%
ASD		0,9%	Ascites		0,4%	Sakrokokcigealni teratom		0,6%
VSD		2,2%	Jednostrana hidronefroza		1,4%	Tumor placentne		0,7%
AVSD		1,5%	Hidronefroza		5,9%	Hidrops		3,1%
Kardiomegalija		0,5%	Cista na bubregu		2,1%	IUZR		24,3%

CCAM-kongenitalna cistična adenomatoidna malformacija, ASD-atrijalni septum defekt, VSD-ventrikularni septum defekt, AVSD-atrio-ventrikularni septum defekt, AV-BLOK-atrio-ventrikularni blok, IUZR-intrauterusni zastoj u rastu

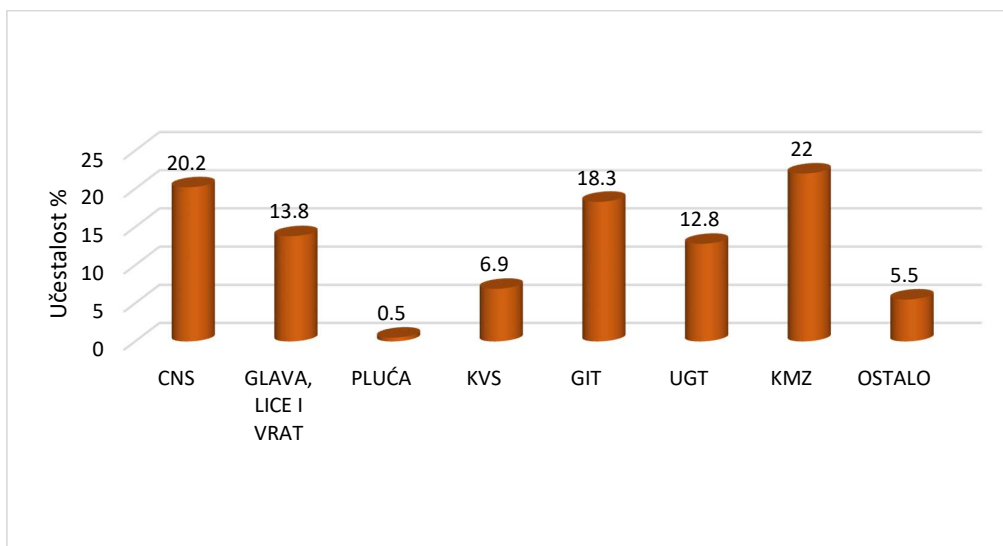
Patološki kariotip kod fetusa sa major izolovanom anomalijom nađen je u 56 (5,5%) slučajeva. U ovoj grupi fetusa sa najvećom učestalošću od 50% javljala se trizomija 21, u 96,4% prosta, a u 3,6% translokacijska forma. Zatim su po zastupljenosti sledile prosta trizomija 18 u 10,7% i trizomija 13 u 8,9% slučajeva, koja je u 80% bila prosta, a u 20% translokacijska forma, i Robertsonova translokacija 13;14 u 7,1%. Sa po 3,6% bile su zastupljene trizomija 8, monozomija X i XYY sindrom. Sa frekvencijom manjom od 2% detektovani su sSMC, derivat 5, derivat 7, derivat 8, mozaična monozomija X, mozaična monozomija 20 i delecija 4p (grafikon 6).



Grafikon 6. Procentualna zastupljenost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim major anomalijama

4.1.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima

Distribucija otkrivenih izolovanih fetalnih "soft" markera po organskim sistemima prikazana je na grafikonu 7.



Grafikon 7. Distribucija "soft" markera po organskim sistemima

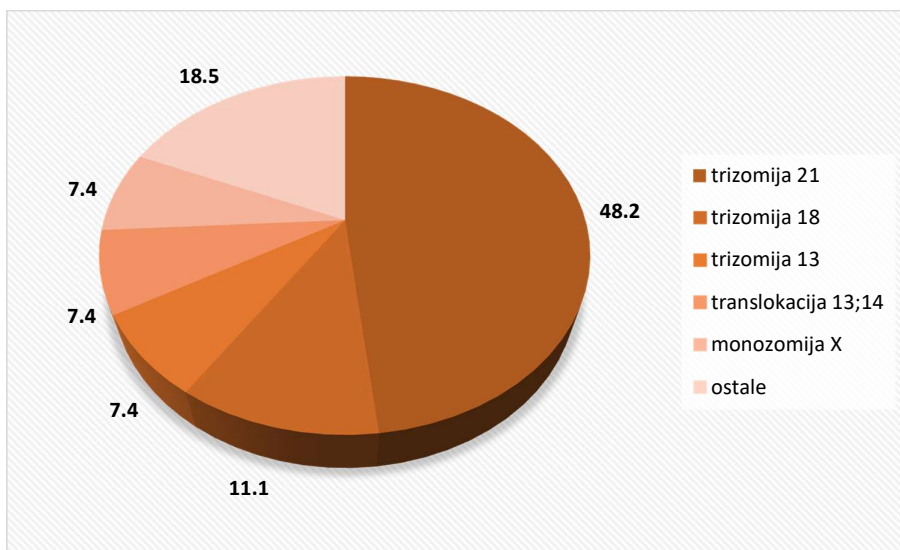
Učestalost otkrivenih pojedinačanih "soft" markera fetusa prikazana je u tabeli 4.

Tabela 4. Učestalost otkrivenih pojedinačanih "soft" markera fetusa

IZOLOVANI SOFT MARKER	UDEO (%)	IZOLOVANI SOFT MARKER	UDEO (%)
Cista horioidnog pleksusa	20,2%	Kalcifikati u jetri	0,5%
Povećan vratni nabor (NT)	13,8%	Jednostrana pijeletazija	3,2%
Hiperehogaena pluća	0,5%	Pijeletazije	9,6%
Hiperehogeni fokus u srcu	6,9%	Skraćen femur	13,8%
Hiperehogaena creva	16,9%	Skraćene duge kosti	8,2%
Hiperehogeni fokus u jetri	0,9%	SUAS	5,5%

SUAS-jedna umbilikalna arterija

Kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima hromozomske aberacije su otkrivene u 12,4% slučajeva. Numeričke aberacije su nađene u 70,4%, a strukturne u 29,6% fetusa sa patološkim kariotipom i minor izolovanom anomalijom. U ovoj grupi fetusa najučestalije je detektovana trizomija 21 (48,2%), koja je u 69,2% slučajeva bila prosta, a u 30,8% slučajeva translokacijska forma. Po frekventnosti se zatim javljala prosta trizomija 18 sa 11,1%, a nakon toga sa udelom od po 7,4% prosta trizomija 13, monozomija X i Robertsonova translokacija 13;14. Sa frekvencom od po 3,7% nađeni su sSMC, triple X, derivat X, mozaična monozomija X i delecija 5p (grafikon 8).



Grafikon 8. Procentualna zastupljenost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima

4.1.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima po organskim sistemima

4.1.3.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima CNS-a

Izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri centralnog nervnog sistema (CNS-a) nađeni su u 293 (19,6%) slučaja fetusa sa izolovanim markerom. Učestalosti pojedinačnih izolovanih ultrazvučnih markera CNS-a fetusa prikazane su u tabeli 5.

Tabela 5. Učestalosti otkrivenih izolovanih major anomalija i izolovanih "soft" markera CNS-a fetusa

IZOLOVANA ANOMALIJA FETUSA	CNS-A	UDEO (%)	IZOLOVANA ANOMALIJA FETUSA	CNS-A	UDEO (%)
Anencefalija		2,7%	Agenezija cerebeluma		0,7%
Ventrikulomegalija		34,1%	Spina bifida		3,7%
Hidrocefalus		22,9%	Dandy Walker sindrom		3,1%
Mikrocefalija		5,1%	Arnold Chiary malformacija		1,4%
Encefalokela		3,1%	Šizencefalija		1,4%
Meningokela		1,7%	Holoprozencefalija		0,7%
Agenezija korpusa kalozuma		2,7%	Jednostrana ventrikulomegalija		0,7%
Dilatacija cisterne magne		1,0%	Cista horoidnog pleksusa*		15,0%

*soft marker



Slika 10. Umerena ventrikulomegalija zadnjeg roga

Hromozomske aberacije u ovoj grupi fetusa detektovane su u 9 (3,1%) slučajeva, i u 77,8% bile su numeričke, a u 22,2% strukturne.

Major izolovane anomalije CNS-a fetusa nađene su u 85% slučajeva, od čega je 3,2% fetusa imalo hromozomsku aberaciju, u 75% slučajeva numeričku i 25% slučajeva

strukturnu. Sa najvećom učestalošću u ovoj grupi fetusa detektovana je prosta trizomija 21 (37,5%), zatim trizomija 13 (25%), u 50% prosta, a u 50% translokacijska forma. Sa frekvencom od po 12,5% nađene su prosta trizomija 18, trizomija 8 i Robertsonova translokacija 13;14.

Izolovani "soft" markeri CNS-a, ciste horoidnog pleksusa, otkriveni su u 15% slučajeva, a hromozomske aberacije su nađene samo kod jednog fetusa (2,3%) sa ovom anomalijom, i to prosta trizomija 18.

4.1.3.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima lica, glave i vrata

Među 67 (4,5%) fetusa kod kojih su otkriveni ultrazvučni markeri glave, lica i vrata, major anomalije su nađene 55,2%, a "soft" marker, zadebljanje vratnog nabora, u 44,8% slučajeva.

Učestalosti nađenih major izolovanih anomalija glave, lica i vrata prikazane su u tabeli 6.

Tabela 6. Učestalosti major izolovanih anomalija glave, lica i vrata

IZOLOVANA MAJOR ANOMALIJA	UDEO (%)
GLAVE LICA ILI VRATA FETUSA	
Rascep usne	10,8%
Rascep nepca	10,8%
Rascep usne i nepca	24,3%
Cistični higrom	48,7%
Kraniosinostoza	5,4%

Fetusi sa major izolovanim anomalijama glave, lica i vrata imali su hromozomske aberacije u 24,3% slučajeva i sve su bile numeričke. Prosta trizomija 21 detektovana je u 77,8%, a monozomija X i mozaična monozomija X u po 11,1% slučajeva fetusa iz ove grupe.

Kod fetusa sa izolovanim "soft" markerom, zadebljanjem vratnog nabora, patološki kariotip otkriven je u 50% slučajeva. U 53,3% fetusa sa izolovanim zadebljanjem vratnog nabora i hromozomskim aberacijama nađena je trizomija 21, u 75% slučajeva prosta i u 25% translokacijska forma. Kod fetusa iz ove grupe sa po 13,3% bile su zastupljene prosta trizomija 13, monozomija X i Robertsonova translokacija 13;14, dok je u 6,7% detektovana prosta trizomija 18.



Slika 11. Uvećana nuhalna translucenca

4.1.3.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima pluća

Izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri pluća fetusa nađeni su u 23 (1,5%) slučajeva, od čega je u samo jednom slučaju (4,3%) otkriven "soft" marker i taj fetus je imao normalan kariotip. Od 22 (95,7%) fetusa sa major izolovanom anomalijom pluća, samo jedan je imao patološki kariotip (4,5%), prostu trizomiju 13.

4.1.3.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima KVS-a

Izolovane ultrazvučni markeri kardiovaskularnog sistema uočeni su kod 127 (8,5%) fetusa, u 112 (88,2%) slučajeva major anomalije, a u 15 (11,8%) slučajeva "soft" marker, hiprehogeni fokus u srcu (Slika 12).

Prikaz učestalosti otkrivenih major izolovanih anomalija KVS-a fetusa dat je u tabeli 7.

Tabela 7. Učestalost major izolovanih anomalija kardiovaskularnog sistema fetusa

IZOLOVANA MAJOR ANOMALIJA UDEO (%)	IZOLOVANA MAJOR ANOMALIJA UDEO (%)
SRCA FETUSA	SRCA FETUSA
ASD 8,0%	Transpozicija velikih krvnih sudova 8,9%
VSD 19,6%	Tetralogio Fallot 5,4%
AVSD 13,4%	Koarktacija aorte 3,6%
Kardiomegalija 4,4%	AV blok 1,8%
Dilatacija desne komore 2,7%	Aritmija 3,6%
Hipoplazija desne komore 3,6%	Prolaps mitralne valvule 3,6%
Hipoplazija leve komore 8,9%	Ektopija srca 6,2%
Jednokomorno srce 2,7%	Povećana vaskularna rezistencija 3,6%

ASD-atrijalni septum defekt, VSD-ventrikularni septum defekt, AVSD-atrio-ventrikularni septum defekt, AV-BLOK-atrio-ventrikularni blok

Kod fetusa sa izolovanom major anomalijom KVS-a hromozomske aberacije nađene su u 10,7% slučajeva, i bile su numeričke u 83,3% slučajeva, a strukturne u 16,7% slučajeva. U ovoj grupi fetusa najučestalije je detektovana trizomija hromozoma 21 (75%), koja je u 88,9% slučajeva bila prosta, a u 11,1% translokacijska forma. Sa frekvencom od po 8,3% nađene su prosta trizomija 18, trizomija 8 i Robertsonova translokacija 13;14.



Slika12. Hiperehogeni fokus u srcu fetusa

Svi fetusi kod kojih je ultrazvučni pregled srca otkrio izolovani "soft" marker, hiperehogeni fokus, imali su normalan kariotip.

4.1.3.5 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima GIT-a

Ultrazvučnim pregledom otkrivena su 122 fetusa sa izolovanim ultrazvučnim markerom gastrointestinalnog trakta (GIT), koji je u 67,2% bio major anomalija, a u 32,8% "soft" marker. Frekvence nađenih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera GIT-a date su u tabeli 8.

Tabela 8. Frekvence izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera GIT-a

IZOLOVANA ANOMALIJA GIT-a	UDEO (%)	IZOLOVANA ANOMALIJA GIT-a	UDEO (%)
FETUSA		FETUSA	
Hiperehogena creva*	30,3%	Stenoza tankog creva	2,5%
Omfalokela	19,7%	Dilatacija creva	6,6%
Gastrošiza	19,7%	Atrezija anusa	1,6%
Atrezija ezofagusa	4,1%	Hepatomegalija	0,8%
Uvećan želudac	1,6%	Hiperehogeni fokusi u jetri*	1,6%
Ptoza želuca	0,8%	Kalcifikati jetre*	0,8%
Stenoza duodenuma	1,6%	Ascites	3,3%
Atrezija duodenuma	4,9%		

*soft marker



Slika 13. Protruzija intestinalnog trakta u umbilikus-omfalokela

Fetusi sa major izolovanom anomalijom GIT-a imali su hromozomske aberacije u 4,9% slučajeva, i sve su bile numeričke. U 50% fetusa sa patološkim kariotipom u ovoj grupi nađena je prosta trizomija 18, dok su u po 25% slučajeva otkrivene trizomija 21 i XYY sindrom.

Kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima GIT-a hromozomske aberacije su detektovane u 7,5% slučajeva, i u svim slučajevima se radilo o trizomiji 21, koja je u 33,3% bila prosta, a u 66,7% translokacijska forma.

4.1.3.6 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima UGT-a

Izolovane ultrazvučni markeri urogenitalnog trakta nađene su kod 200 (13,4%) fetusa, major anomalije u 85% i "soft" markeri u 15% slučajeva. U ovoj grupi fetusa hromozomske aberacije nađene su samo kod 2 (1,2%) fetusa sa major anomalijom, i to derivat 8 i mozaična monozomija 20.

4.1.3.7 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima KMZ sistema

Fetusi sa izolovanom anomalijom ili izolovanim "soft" markerom koštano-mišićno-zglobnog (KMZ) sistema nađeni su u 64 (4,3%) svih fetusa sa izolovanom ultrazvučnim markerom.

Tabela 9. Učestalosti izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera koštano-mišićno-zglobnog sistema

IZOLOVANA ANOMALIJA	KMZ	UDEO (%)	IZOLOVANA ANOMALIJA	KMZ	UDEO (%)
SISTEMA FETUSA			SISTEMA FETUSA		
Skraćen femur*		46,8%	Osteohondrodistrofija		1,6%
Skraćene duge kosti*		28,1%	Koštana displazija		3,1%
Pes equinvarus		9,4%	Fokomelija		9,4%
Osteogenesis imperfecta		1,6%			

*soft marker

Izolovane major anomalije na KMZ sistemu imalo je 25% fetusa, i samo kod jednog je (6,3%) je nađen patološki kariotip, prosta trizomija 21.

Izolovane "soft" markere KMZ sistema imalo je 75% fetusa iz ove grupe i kod njih je u 10,4% slučajeva nađena hromozomska aberacija. Kod ovih fetusa prosta trizomija 21 nađena je u 40% slučajeva, a u po 20% slučajeva detektovane su prosta trizomija 18, derivat X i mozaična monozomija X.

4.1.3.8 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim tumorima

Tumor kao samostalni patološki ultrazvučni nalaz imalo je 47 (3,2%) ispitivanih fetusa. Hromozomske aberacije nađene su samo kod jednog fetusa iz ove grupe (2,1%). U tom slučaju otkriven je derivat hromozoma 5, nastao kao posledica nebalansirane translokacije između hromozoma 5 i 14.

4.1.3.9 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa drugim izolovanim anomalijama

Izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri fetusa, koje su zbog činjenice da ne pripadaju ni jednom organskom ili tkivnom sistemu ponaosob, svrstani u grupu drugih anomalija, nađene su u 291 (19,5%) slučaju. Kod ovih fetusa izolovane major anomalije nađene su u 95,9%, a izolovani "soft" marker u 4,1% slučajeva. Prikaz učestalosti ovih ultrazvučnih markera dat je u tabeli 10.

Tabela 10. Učestalosti drugih izolovanih anomalija fetusa

DRUGE IZOLOVANE ANOMALIJE FETUSA	UDEO (%)
Hidrops fetusa	11,0%
SUAS*	4,1%
IUZR	84,9%

*soft marker, SUAS-jedna umbilikalna arterija, IUZR-intrauterusni zastoj u rastu

U ovoj grupi kod fetusa sa izolovanim major anomalijama hromozomske aberacije su nađene u 6,5% slučajeva. Najučestalije je detektovana prosta trizomija 21 u 38,8% slučajeva, zatim sa po 11,1% prosta trizomija 13, prosta trizomija 18 i Robertsonova translokacija 13;14. Monozomija X, sSMC, XYY sindrom, derivat 7 i delecija 4p javljale su se sa frekvencom od po 5,6% kod fetusa iz ove grupe.

Fetusi sa izolovanim "soft" markerom, jednom umbilikalnom arterijom (SUAS) imali su patološki kariotip u 25% slučajeva. U ovoj grupi fetusa sa jednakom učestalošću, od po 33,3% nađeni su sSMC, XXX sindrom i delecija 5p.

4.1.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim poremećajima u količini plodove vode

Od 259 (17,3%) fetusa sa izolovanim poremećajima u količini plodove vode, 4,2% imalo je potpuni nedostatak plodove vode (anamnion), 36,7% je imalo smanjenu količinu plodove vode (oligoamnion), a kod 59,1% je nađena povećana količina plodove vode (polihidroamnion).

Fetusi sa izolovanim poremećajima u količini plodove vode imali su patološki kariotip u 6,2% slučajeva. Fetusi kod kojih je nađen izolovani anamnion nisu imali patološki kariotip.

Kod fetusa sa izolovanim oligoamnionom samo u jednom slučaju (1,1%) je nađena strukturna hromozomska aberacija, i to balansirana translokacija 13;14.

U grupi fetusa sa izolovanim polihidroamnionom hromozomske aberacije detektovane su u 9,8% slučajeva, od čega je u 60% slučajeva otkrivena trizomija 21, a u 20% slučajeva trizomija 18. U po jednom slučaju su u ovoj grupi fetusa nađene mozaična monozomija X, XYY sindrom i XXY sindrom.

4.1.5 Učestalost hromozomskih aberacija kod pojedinačnih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera fetusa

Kod fetusa sa ultrazvučno otkrivenim izolovanim anomalijama i izolovanim "soft" markerima, hromozomske aberacije najčešće su detektovane u slučajevima intrauterusnog zastoja u rastu (IUZR) i poremećajima u količini plodove vode, u po 15,5% slučajeva. Zatim su se po učestalosti hromozomske aberacije javljale kod fetusa sa uvećanjem nuhalne translucence (>NT) u 14,5%, cističnim higromom 8,7% i ventrikularnim septalnim defektom (VSD) u 7,7% slučajeva. Sa manjom frekvencom od 5% nađen je patološki kariotip kod fetusa sa hidropsom, hidrocefalusom i skraćenim femurom, u po 3,9%, jednom umbilikalnom arterijom (SUAS) u 2,9%, omfalokelom, hiperehogenim crevima, ventrikulomegalijom i Tetralogijom Fallot u po 1,9% slučajeva. Sa učestalošću od po 1%, hromozomske aberacije nađene su u slučajevima koštane displazije, fokomelije, skraćenih dugih kostiju, spine bifide, agenezije korpusa kalozuma, ciste horoidnog pleksusa, mikrocefalije, kongenitalne cistične adenomatoidne malformacije (CCAM), tumora placente, atrio-ventrikularnog septalnog defekta (AVSD), transpozicije velikih krvnih sudova, atrezije ezofagusa, hepatomegalije, kalcifikata jetre, policističnih bubrega i Poterovog sindroma. Prikaz udruženosti hromozmskih aberacija u pojedinačnim izolovanim anomalijama i izolovanim "soft" markerima fetusa dat je u tabeli 11.

Tabela 11. Udruženost hromozmskih aberacija sa pojedinačnim fetalnim anomalijama i "soft" markerima

IZOLOVANA ANOMALIJA	UČESTALOST HROMOZOMSKIH ABERACIJA
IUZR	15,5%
Patološka količina plodove vode	15,5%
Uvećana NT	14,5%
Cistični higrom	8,7%
VSD	7,7%
Hidrops	3,9%
Hidrocefalus	3,9%
Skraćen femur	3,9%
SUAS	2,9%
Omfalokela	1,9%
Hiperehogena creva	1,9%
Ventrikulomegalija	1,9%
Tetralogio Fallot	1,9%
Ostalo	16,0%

IUZR-intrauterusni zastoj u rastu, NT-nuhalna translucenca, VSD-ventrikularni septalni defekt, SUAS-jedna umbilikalna arterija

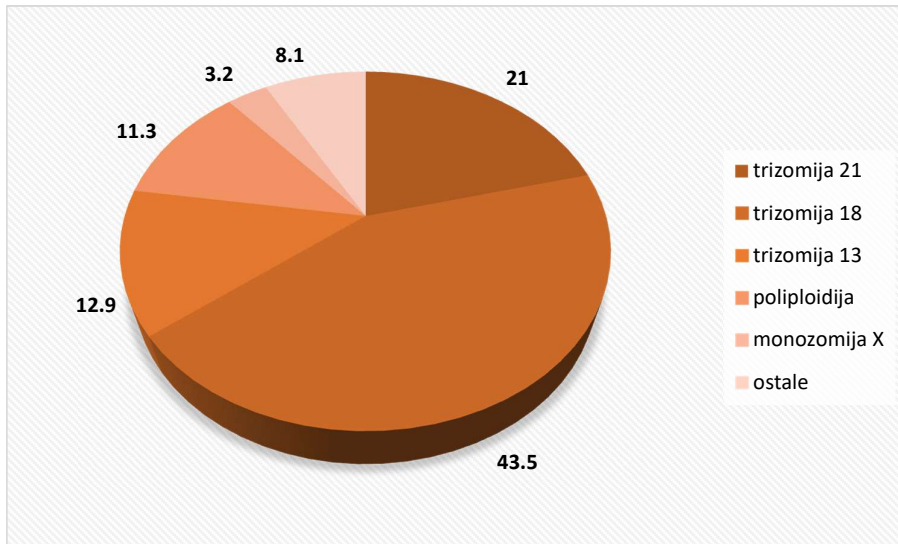
4.1.6 Otkrivene izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri kod fetusa sa najčešćim hromozomskim aberacijama

HROMOZOMSKA ABERACIJA	NAĐENE IZOLOVANE ANOMALIJE
Trizomija 21	polihidroamnion (17,3%); povećana NT (15,4%); VSD (15,4%); cistični higrom (13,5%); IUZR (7,7%); hidrops (5,8%); hidrocefalus; ventrikulomegalija; mikrocefalija; AVSD; atrezija ezofagusa; hiperehogena creva; kalcifikati jetre; skraćen femur; skraćene duge kosti; koštana displazija; fokomelija
Trizomija 18	polihidroamnion (23,1%); IUZR (23,1%); omfalokela (15,4%); skraćen femur (7,7%); hidrocefalus; cista horoidnog pleksusa; povećana NT; Tetralogio Fallot
Trizomija 13	IUZR; hidrocefalus; ventrikulomegalija; povećana NT; CCAM;
Monozomija X	povećana NT; cistični higrom; hidrops; skraćen femur; polihidroamnion
Balansirana translokacija 13;14	IUZR; povećana NT; oligoamnion; spina bifida; transpozicija velikih krvnih sudova

4.1.7 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim anomalijama

Kod 267 fetusa sa multiplim anomalijama zastupljenost patološkog kariotipa bila je 23,6%. Najčešće otkrivene hromozomske aberacije, kod fetusa sa multiplim anomalijama bile su numeričke u 93,5%, i to aneuploidije, koje su činile 87,9% svih numeričkih aberacija. Strukturne aberacije hromozoma kod fetusa sa multiplim anomalijama otkrivene su u 6,5% slučajeva, i to delecije i nebalansirane translokacije

u po 50%. Prikaz nađenih hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim anomalijama dat je u grafikonu 9.



Grafikon 9. Procentualni prikaz nađenih hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim anomalijama

Sa najvećom učestalošću kod fetusa sa multiplim anomalijama i numeričkim aberacijama, nađene su trizomije autozoma u 79,3%, zatim poliploidije u 12,1%, mozaične trizomije u 5,2% i monozomije u 3,4% slučajeva.

Najfrekventnija hromozomska aberacija kod fetusa sa multiplim anomalijama bila je trizomija 18 (43,5%), u 92,6% slučajeva prosta trizomija, u 1 (3,7%) slučaju mozaična forma i u 1 (3,7%) slučaju translokacijska forma čiji je rezultat parcijalna trizomija 18, odnosno trizomija 18q. Zatim su po učestalosti sledile prosta trizomija 21 (21%), trizomija 13 (12,9%) (u jednom slučaju mozaična forma), poliploidije (11,3%) i monozomija X (3,2%). Sa frekvencom manjom od 2% javljale su se trizomija 16, mozaična trizomija 22, delecija 5p, delecija 18q, i derivat 15 (nebalansirana translokacija 9;15).

4.1.8 Učestalost hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim "soft" markerima

Od 72 fetusa kod kojih su ultrazvučnim pregledom otkriveni multipli markeri, patološki kariotip nađen je u 4 (5,6%) slučajaja. Kod fetusa iz ove grupe detektovani su prosta trizomija 13, triploidija, translokacijska forma trizomije 21 i delecija 12p, u po jednom slučaju (po 25%).

4.2 Učestalost izolovanih kongenitalnih anomalija i hromozomskih aberacija kod novorođenčadi

U kabinetu za citogenetiku Klinike za ginekologiju i akušerstvo, Kliničkog centra Srbije, tokom 16 godina, analiziran je kariotip 500 novorođenčadi, od kojih su u 96,8% slučajeva kliničkim pregledom otkrivene kongenitalne anomalije, dok su kod 3,2% anomalije otkrivene prenatalno.

Izolovane kongenitalne anomalije otkrivene su kliničkim pregledom u 37,4%, multiple anomalije u 11,8%, a multipli markeri u 50,8% ispitivane novorođenčadi.

Major izolovane kongenitalne anomalije nađene su u 95%, a minor izolovane kongenitalne anomalije kod 5% ispitivane novorođenčadi.

U grupi novorođenčadi sa izolovanim anomalijama patološki kariotip nađen je u 4,5% slučajeva.

4.2.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa major izolovanim anomalijama

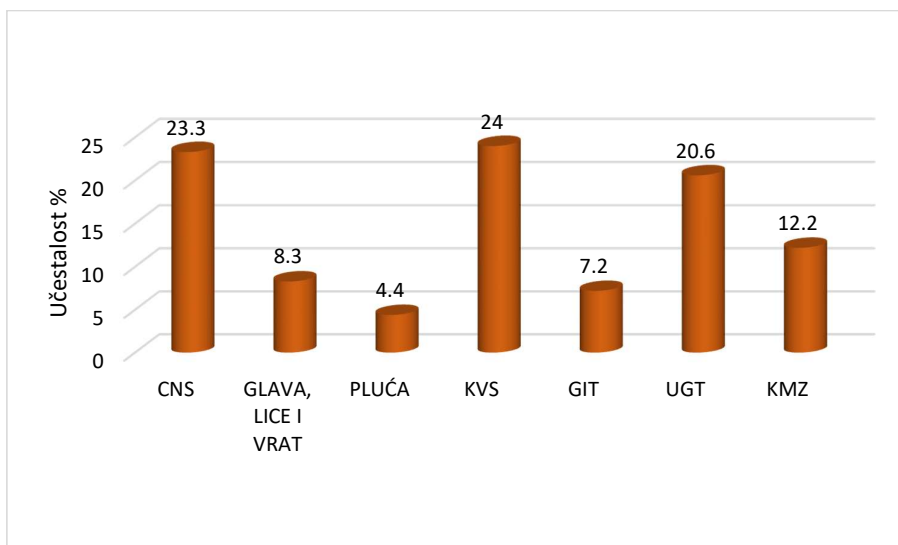
Patološki kariotip imalo je 5,2% novorođenčadi sa major izolovanim anomalijama. U ovoj grupi novorođenčadi numeričke hromozomske aberacije nađene su u 55,6%, koje su u 80% bile trizomije, a u 20% polizomija. Strukturne hromozomske aberacije u ovoj grupi otkrivene su u 44,4% slučajeva, i to balansirana translokacija u 50%, i inverzija i ring hromozom u po 25% slučajeva.

4.2.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa minor izolovanim anomalijama

Minor izolovane anomalije kod novorođenčadi otkrivene su samo na CNS-u (44,4%) i koštano-mišićno-zglobnom sistemu (55,6%), i u svim ovim slučajevima nađen je normalan kariotip.

4.2.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama po organskim sistemima

Distribucija izolovanih anomalija po organskim sistemima, otkrivenih kod novorođenčadi prikazana je u grafikonu 10.



Grafikon 10. Distribucija izolovanih anomalija po organskim sistemima kod novorođenčadi

4.2.3.1 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama CNS-a

Major izolovane anomalije CNS-a novorođenčadi detektovane su u 90,5% svih anomalija CNS-a. U ovoj grupi hromozomske aberacije nađene su sa frekvencom od 13,2%, u 60% strukturne i 40% numeričke. Sa učestalošću od po 20% otkrivene su prosta trizomija 21, XXY sindrom, ring 14, inverzija 1 i Robertsonova translokacija 13;15.

4.2.3.2 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama glave, lica i vrata

Major izolovane anomalije glave lica i vrata imalo je 8,3% ispitivanih novorođenčadi, od čega je kod 13,3% nađena prosta trizomija 21.

4.2.3.3 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama pluća, srca, GIT-a i UGT-a

Kod novorođenčadi sa major izolovanim anomalijama pluća, srca, gastrointestinalnog i urogenitalnog trakta nisu detektovane hromozomske aberacije, odnosno svi su imali normalan kariotip.

4.2.3.4 Učestalost hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama KMZ-a

Major anomalije na koštano-mišićno-zglobnom sistemu imalo je 77,3% novorođenčadi sa anomalijama ovog sistema. Kod njih je u 11,8% slučajeva nađen patološki kariotip, kod 50% prosta trizomija 21, a kod 50% Robertsonova translokacija 13;14.

4.3 Razlike u učestalostima hromozomskih aberacija kod fetusa i novorođenčadi

Razlike u zastupljenosti patološkog kariotipa i razlike u zastupljenosti numeričkih i strukturnih hromozomskih aberacija između fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, fetusa sa multiplim anomalijama, fetusa sa multiplim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim anomalijama, ispitane su χ^2 testom homogenosti.

4.3.1 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima i fetusa sa multiplim anomalijama

Nađena je statistički značajno veća učestalost hromozomskih aberacija u grupi fetusa sa multiplim anomalijama, nego u grupi fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima ($\chi^2= 77,997$; $p<0,05$). Takođe, nađena je statistički značajno veća učestalost numeričkih hromozomskih aberacija kod fetusa sa multiplim,

a strukturnih hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim markerima ($\chi^2= 5,05$; $p<0,05$).

4.3.2 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim major ili minor anomalijama

Nije nađena statistički značajna razlika u učestalosti patološkog kariotipa kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim anomalijama ($\chi^2= 0,684$; $p<0,05$). Takođe, nije nađena značajna razlika ni u učestalostima numeričkih i strukturnih hromozomskih aberacija kod novorođenčadi sa izolovanim anomalijama i fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima ($\chi^2= 0,272$; $p<0,05$).

4.3.3 Poređenje učestalosti hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, fetusa sa multiplim anomalijama, fetusa sa multiplim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim anomalijama

Nađena je statistički značajna razlika u učestalostima hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, fetusa sa multiplim anomalijama, fetusa sa multiplim "soft" markerima i novorođenčadi sa izolovanim anomalijama ($\chi^2= 80,311$; $p<0,05$). Patološki kariotip je sa najvećom frekvencom detektovan kod fetusa sa multiplim anomalijama, a sa najmanjom frekvencom kod fetusa sa multiplim "soft" markerima. Nađena je i statistički značajna razlika u distribuciji numeričkih i strukturnih hromozomskih aberacija u ovim grupama, gde je najveća zatupljenost numeričkih hromozomskih aberacija bila u grupi fetusa sa multiplim anomalijama, a strukturnih hromozomskih aberacija u grupi fetusa sa multiplim "soft" markerima ($\chi^2= 15,623$; $p<0,05$).

4.4 Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija

Merama tačnosti dijagnostičkog testa (ultrazvučnog skrininga) u poređenju sa kariotipizacijom kao zlatnim standardom, u slučajevima izolovanih fetalnih anomalija ili izolovanih "soft" markera, utvrđivane su performanse dijagnostičkog testa, tj. njegova efikasnost za otkrivanje fetusa sa hromozomskom aberacijom, a odnosom šanse (OR-odds ratio) analiziran je prediktivni značaj pojedinih ultrazvučnih nalaza u detekciji hromozomskih aberacija.

U tabeli 12 prikazani su rezultati analize efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima major izolovanih fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera.

Tabela 12. Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima major izolovanih fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera

	SENZITIVNO ST (95%CI)	SPECIFIČNO ST (95%CI)	PPV (95%CI)	NPV (95%CI)	DIJAGNOSTI ČKA TAČNOST (95%CI)	LR+ (95%CI)	LR- (95%CI)
Major	0.675 (0.563- 0.774)	0.168 (0.147- 0.191)	0.055 (0.042- 0.071)	0.877 (0.826- 0.918)	0.202 (0.180- 0.225)	0.811 (0.697- 0.943)	1.940 (1.387- 2.713)
"Soft" marker	0.325 (0.226- 0.437)	0.832 (0.809- 0.853)	0.123 (0.082- 0.174)	0.945 (0.929- 0.958)	0.798 (0.775- 0.820)	1.940 (1.387- 2.713)	0.811 (0.697- 0.943)

PPV-pozitivna prediktivna vrednost; NPV-negativna prediktivna vrednost, LR-likelihood ratio (odnos verodostojnosti)

Ultrasonografija za major izolovane fetalne anomalije imala je umerenu senzitivnost, ali nisku specifičnost i PPV, kao i dijagnostičku tačnost od samo 20%, LR+ 0,8, ali visoku NPV i LR- 1,9 u predikciji fetalnih aberacija, dok je za izolovane "soft" markere pokazala nisku senzitivnost i PPV, a visoku specifičnost i NPV, kao i LR+ 1,9, uz dijagnostičku tačnost od 80%.

U tabeli 13 prikazan je prediktivni značaj izolovanih major fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera u detekciji hromozomskih aberacija.

Tabela 13. Odnos šansi (OR) za detekciju patološkog kariotipa kod fetusa sa izolovanim major anomalijama i izolovanim "soft" markerima

TIP IZOLOVANE ANOMALIJE	OR	95% CI
Major	0,417	0,257-0,678
"Soft" marker	2,393	1,474-3,885

Odds ratio (OR)-odnos šansi; CI (confidence interval)-interval poverenja

Nalaz izolovane major anomalije nije pokazao značajno povećanje rizika za hromozomske aberacije fetusa, dok se nalaz izolovanog "soft" markera pokazao kao statistički značajan prediktor, koji povećava rizik za hromozomske aberacije fetusa više od dva puta (OR 2,4).

U tabeli 14 prikazani su rezultati analize efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima izolovanih fetalnih anomalija ili izolovanih "soft" u odnosu na zahvaćenost organskog sistema.

Tabela 14. Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima izolovanih fetalnih anomalija ili izolovanih "soft" markera u odnosu na zahvaćenost organskog sistema

	SENZITIVNO ST (95%CI)	SPECIFIČNO ST (95%CI)	PPV (95%CI)	NPV (95%CI)	DIJAGNOSTI ČKA TAČNOST (95%CI)	LR+ (95%CI)	LR- (95%CI)
CNS	0.091 (0.042- 0.166)	0.795 (0.773- 0.816)	0.031 (0.014- 0.057)	0.925 (0.908- 0.939)	0.748 (0.725- 0.770)	0.443 (0.236- 0.833)	1.144 (1.069- 1.224)
GLAVA	0.242 (0.162- 0.339)	0.969 (0.959- 0.978)	0.358 (0.245- 0.485)	0.947 (0.935- 0.958)	0.921 (0.906- 0.934)	7.859 (4.982- 12.398)	0.782 (0.699- 0.874)
PLUĆA	0.010 (0.000- 0.055)	0.984 (0.976- 0.990)	0.043 (0.001- 0.219)	0.933 (0.919- 0.946)	0.920 (0.905- 0.933)	0.640 (0.087- 4.699)	1.006 (0.985- 1.027)
KVS	0.121 (0.064- 0.202)	0.918 (0.902- 0.931)	0.094 (0.050- 0.159)	0.936 (0.922- 0.949)	0.865 (0.846- 0.882)	1.469 (0.841- 2.569)	0.958 (0.889- 1.032)
GIT	0.071 (0.029- 0.140)	0.918 (0.902- 0.931)	0.057 (0.023- 0.115)	0.933 (0.918- 0.946)	0.861 (0.843- 0.878)	0.857 (0.411- 1.788)	1.013 (0.957- 1.072)
UGT	0.020 (0.002- 0.071)	0.858 (0.839- 0.876)	0.010 (0.001- 0.036)	0.925 (0.909- 0.939)	0.802 (0.781- 0.822)	0.142 (0.036- 0.564)	1.142 (1.102- 1.183)
KMZ	0.061 (0.023- 0.127)	0.958 (0.947- 0.968)	0.094 (0.035- 0.193)	0.935 (0.921- 0.947)	0.899 (0.882- 0.914)	1.457 (0.644- 3.292)	0.980 (0.931- 1.032)
TUMORI	0.010 (0.000- 0.055)	0.967 (0.956- 0.976)	0.021 (0.001- 0.113)	0.932 (0.918- 0.945)	0.904 (0.887- 0.918)	0.306 (0.043- 2.196)	1.024 (1.001- 1.047)
DRUGE	0.374 (0.279- 0.477)	0.633 (0.608- 0.659)	0.068 (0.048- 0.092)	0.934 (0.917- 0.949)	0.616 (0.591- 0.641)	1.020 (0.783- 1.328)	0.989 (0.845- 1.157)

PPV-pozitivna prediktivna vrednost; NPV-negativna prediktivna vrednost; LR-likelihood ratio (odnos verodostojnosti); CNS-centralni nervni sistem; KVS-kardiovaskularni sistem; GIT-gastrointestinalni trakt; UGT-urogenitalni trakt; KMZ-koštano-mišićno-zglobni sistem

Ultrasonografija izolovanih fetalnih anomalija ili izolovanih "soft" markera posmatranih u sklopu organskih sistema pokazala je nisku senzitivnost, ispod 10%, u predikciji hromozomskih aberacija, kao i nisku PPV i nizak LR+, i visoku specifičnost, NPV i dijagnostičku tačnost. Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri glave, lica i vrata pokazale su nešto veću senzitivnost (24%) i PPV (36%). Veću senzitivnost (37%) ali nižu dijagnostičku tačnost (62%) imale su i anomalije svrstane u grupu drugih anomalija. Značajan LR+ nađen je kod izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera

glave, lica i vrata (7,86), kardiovaskularnog sistema (1,47) i koštano-mišićno-zglobnog sistema (1,46).

Prediktivni značaj izolovanih fetalnih anomalija i izolovanih "soft" markera u detekciji hromozomskih aberacija u odnosu na zahvaćenost organskog sistema prikazan je u tabeli 15.

Tabela 15. Odnos šansi (OR) za detekciju patološkog kariotipa kod fetusa sa izolovanim anomalijama i izolovanim "soft" markerima po sistemima

ORGANSKI SISTEM	OR	95% CI
Centralni nervni sistem	0,387	0,193-0,778
Glava, lice i vrat	10,054	5,796-17,441
Pluća	0,636	0,086-4,771
Kardiovaskularni sistem	1,534	0,815-2,889
Gastrointestinalni trakt	0,864	0,383-1,868
Urogenitalni trakt	0,125	0,030-0,509
Koštano-mišićno-zglobni sistem	1,486	0,625-3,534
Tumori	0,299	0,041-2,191
Druge	1,031	0,677-1,572

Odds ratio (OR)-odnos šansi; CI (confidence interval)-interval poverenja

Najveći rizik za nalaz patološkog kariotipa imali su fetusi kod kojih su otkrivene izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri glave, lica i vrata (OR 10,1). Rizik za hromozomske aberacije nađen je i kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima kardiovaskularnog (OR 1,5) i koštano-mišićno-zglobnog sistema (OR 1,5). Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri na ostalim organskim sistemima nisu se pokazale kao značajan prediktor hromozomskih aberacija fetusa.

U tabeli 16 prikazani su rezultati analize efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima 20 izabranih izolovanih anomalija i "soft" markera fetusa.

Tabela 16. Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima izabranih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera fetusa

ANOMALIJA	SENZITIVNO ST (95%CI)	SPECIFIČNO ST (95%CI)	PPV (95%CI)	NPV (95%CI)	DIJAGNOSTI ČKA TAČNOST (95%CI)	LR+ (95%CI)	LR- (95%CI)
Ventrikulomegalija	0.020 (0.002-0.071)	0.928 (0.913-0.941)	0.020 (0.002-0.069)	0.930 (0.916-0.943)	0.868 (0.850-0.885)	0.282 (0.071-1.125)	1.056 (1.022-1.090)
Hidrocefalus	0.030 (0.006-0.086)	0.954 (0.942-0.964)	0.045 (0.009-0.125)	0.933 (0.918-0.945)	0.893 (0.876-0.908)	0.660 (0.211-2.063)	1.016 (0.980-1.054)
Agenezija korpusa kalozuma	0.010 (0.000-0.055)	0.994 (0.989-0.998)	0.111 (0.003-0.482)	0.934 (0.920-0.946)	0.929 (0.915-0.942)	1.760 (0.222-13.932)	0.996 (0.976-1.016)
Spina bifida	0.010 (0.000-0.055)	0.993 (0.987-0.997)	0.091 (0.002-0.413)	0.934 (0.920-0.946)	0.928 (0.913-0.940)	1.408 (0.182-10.889)	0.997 (0.977-1.018)
Uvećana NT	0.152 (0.087-0.238)	0.989 (0.982-0.994)	0.500 (0.313-0.687)	0.943 (0.929-0.954)	0.934 (0.920-0.946)	14.081 (7.091-27.962)	0.858 (0.789-0.932)
Cistični higrom	0.091 (0.042-0.166)	0.994 (0.988-0.997)	0.500 (0.260-0.740)	0.939 (0.926-0.951)	0.934 (0.920-0.946)	14.081 (5.718-34.674)	0.915 (0.860-0.974)
Dijafragmalna hernija	0.000 (0.000-0.054)	0.992 (0.986-0.996)	0.000 (0.000-0.385)	0.933 (0.919-0.945)	0.926 (0.912-0.939)	0.000 (0.000-NaN)	1.008 (1.003-1.013)
Hiperehogeni fokus u srcu	0.000 (0.000-0.054)	0.989 (0.982-0.994)	0.000 (0.000-0.302)	0.933 (0.919-0.945)	0.924 (0.909-0.937)	0.000 (0.000-NaN)	1.011 (1.005-1.016)
VSD	0.081 (0.036-0.153)	0.990 (0.983-0.994)	0.364 (0.172-0.593)	0.938 (0.925-0.950)	0.930 (0.916-0.942)	8.046 (3.458-18.720)	0.929 (0.876-0.985)
Hipoplazija leve komore	0.000 (0.000-0.054)	0.993 (0.987-0.997)	0.000 (0.000-0.413)	0.933 (0.919-0.945)	0.927 (0.913-0.940)	0.000 (0.000-NaN)	1.007 (1.003-1.012)
Tetralogio Fallot	0.020 (0.002-0.071)	0.997 (0.993-0.999)	0.333 (0.043-0.777)	0.935 (0.921-0.947)	0.932 (0.918-0.945)	7.040 (1.305-37.969)	0.983 (0.955-1.011)
Hiperehogene na creva	0.020 (0.002-0.071)	0.975 (0.965-0.982)	0.054 (0.007-0.182)	0.933 (0.919-0.946)	0.912 (0.896-0.926)	0.805 (0.196-3.297)	1.005 (0.976-1.035)
Omfalokela	0.020 (0.002-0.071)	0.984 (0.976-0.990)	0.083 (0.010-0.270)	0.934 (0.920-0.946)	0.920 (0.905-0.934)	1.280 (0.305-5.366)	0.996 (0.967-1.025)
Gastrošiza	0.000 (0.000-0.054)	0.983 (0.974-0.989)	0.000 (0.000-0.204)	0.933 (0.919-0.945)	0.918 (0.902-0.931)	0.000 (0.000-NaN)	1.018 (1.010-1.025)
Hidronefroz a obostrano	0.000 (0.000-0.054)	0.958 (0.946-0.968)	0.000 (0.000-0.089)	0.931 (0.917-0.944)	0.894 (0.877-0.909)	0.000 (0.000-NaN)	1.044 (1.033-1.056)
Skraćen femur	0.040 (0.011-0.100)	0.981 (0.972-0.987)	0.129 (0.036-0.298)	0.935 (0.921-0.947)	0.918 (0.903-0.932)	2.086 (0.745-5.844)	0.979 (0.939-1.020)
Hidrops	0.040 (0.011-0.100)	0.980 (0.971-0.987)	0.125 (0.035-0.290)	0.935 (0.921-0.947)	0.918 (0.902-0.931)	2.012 (0.720-5.621)	0.979 (0.940-1.020)
SUAS	0.030 (0.006-0.086)	0.994 (0.988-0.997)	0.250 (0.055-0.572)	0.935 (0.921-0.947)	0.930 (0.916-0.942)	4.694 (1.291-17.062)	0.976 (0.942-1.011)
IUZR	0.141 (0.080-0.226)	0.833 (0.812-0.852)	0.057 (0.031-0.093)	0.932 (0.916-0.945)	0.787 (0.765-0.808)	0.846 (0.514-1.394)	1.031 (0.948-1.120)
Neadekvatna količina plodove vode	0.162 (0.095-0.249)	0.827 (0.806-0.847)	0.062 (0.036-0.099)	0.933 (0.917-0.946)	0.783 (0.761-0.804)	0.935 (0.588-1.485)	1.014 (0.927-1.109)

PPV-pozitivna prediktivna vrednost; NPV-negativna prediktivna vrednost; LR-likelihood ratio (odnos verodostojnosti); NT-nuhalna translucenca; VSD-ventrikularni septalni defekt; SUAS-jedna umbilikalna arterija; IUZR-intrauterusni zastoj u rastu

Ultrasonografija za sve izabrane pojedinačne izolovane fetalne anomalije i izolovane "soft" markere imala je nisku senzitivnost, a visoku specifičnost, NPV i dijagnostičku tačnost u predikciji hromozomskih aberacija. Umerena PPV nađena je kod uvećanja NT-a, cističnog higroma, VSD-a i tetralogije Fallot. Najveću verovatnoću u predikciji hromozomskih aberacija imali su uvećanje NT-a (LR+ 14.1), cistični higrom (LR+ 14.1), VSD (LR+ 8.04) i tetralogija Fallot (LR+ 7.04), SUAS (LR+ 4.7), skraćen femur (LR+ 2.1) i fetalni hidrops (LR+ 2.01).

U tabeli 17 prikazan je prediktivni značaj 20 izabranih izolovanih anomalija i izolovanih "soft" markera u otkrivanju fetusa sa hromozomskim aberacijama.

Tabela 17. Odnos šansi (OR) za detekciju patološkog kariotipa kod izabranih izolovanih anomalija i "soft" markera fetusa

ANOMALIJA	ODDS RATIO OR	95% CI
Ventrikulomegalija	0,267	0,065-1,098
Hidrocefalus	0,649	0,200-2,105
Agenezija korpusa kalozuma	1,768	0,219-14,278
Spina bifida	1,412	0,179-11,145
Uvećana nuhalna translucenca	16,417	7,764-34,713
Cistični higrom	15,389	5,960-39,720
Dijafragmalna hernija	/	
Hiperehogeni fokus u srcu	/	
Ventrikularni septalni defekt	8,666	3,544-21,190
Hipoplazija leve komore	/	
Tetralogio Fallot	7,165	1,296-39,607
Hiperehogena creva	0,801	0,190-3,378
Omfalokela	1,286	0,298-5,548
Gastrošiza	/	
Obostrana hidronefroza	/	
Skraćen femur	2,132	0,731-6,218
Hidrops	2,054	0,706-5,977
Jedna umbilikalna arterija	4,809	1,281-18,055
Intrauterusni zastoj u rastu	0,821	0,458-1,470
Patološka količina plodove vode	0,922	0,531-1,603

Odds ratio (OR)-odnos šansi; CI (confidence interval)-interval poverenja

Za izabrane izolovane anomalije i izolovane "soft" markere fetusa računati su odnosi šanse (OR – Odds Ratio) za svaku pojedinačnu major anomaliju ili "soft" marker - da li i koliko može da se koristi kao prediktor postojanja hromozomskih aberacija fetusa. Najveći rizik za hromozomske aberacije fetusa povezan je sa izolovanim uvećanjem nuhalne translucence (OR 16,4) i cističnim higromom (OR 15,4), zatim ventrikularnim septalnim defektom (OR 8,7), tetralogijom Fallot (OR 7,2) i jednom umbilikalnom arterijom (OR 4,8). Za određene parametre, kao što su dijafragmalna hernija, hiperehogeni fokus u srcu, gastrošize i obostrana hidronefroza nije bilo moguće izračunati OR jer kod fetusa kod kojih su nađene ove anomalije nisu otkrivene hromozomske aberacije.

U tabeli 18 prikazani su rezultati analize efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima izolovanih poremećaja u količini plodove vode.

Tabela 18. Efikasnost ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u slučajevima izolovanih poremećaja u količini plodove vode

	SENZITIVNO ST (95%CI)	SPECIFIČNO ST (95%CI)	PPV (95%CI)	NPV (95%CI)	DIJAGNOSTI ČKA TAČNOST (95%CI)	LR+ (95%CI)	LR- (95%CI)
ANAMNION	0.000 (0.000- 0.055)	0.992 (0.986- 0.996)	0.000 (0.000- 0.385)	0.934 (0.920- 0.946)	0.927 (0.913- 0.940)	0.000 (0.000-NaN)	1.008 (1.003- 1.013)
OLIGO AMNION	0.010 (0.000- 0.055)	0.933 (0.919- 0.946)	0.011 (0.000- 0.058)	0.930 (0.915- 0.943)	0.872 (0.854- 0.889)	0.151 (0.021- 1.075)	1.061 (1.035- 1.087)
POLIHIDRO AMNION	0.152 (0.087- 0.238)	0.902 (0.885- 0.917)	0.099 (0.056- 0.158)	0.937 (0.923- 0.950)	0.852 (0.833- 0.870)	1.542 (0.942- 2.523)	0.941 (0.864- 1.024)

PPV-pozitivna prediktivna vrednost; NPV-negativna prediktivna vrednost, LR-likelihood ratio (odnos verodostojnosti)

Ultrasonografija izolovanih poremećaja u količini plodove vode pokazala je nisku senzitivnost i PPV, a visoku specifičnost, NPV i dijagnostičku tačnost. Samo je izolovani polihidroamnion (LR+ 1,54) imao značaja u predikciji fetalnih hromozomskih aberacija.

Prediktivni značaj izolovanih poremećaja u količini plodove vode u otkrivanju fetusa sa hromozomskim aberacijama prikazan je u tabeli 19.

Tabela 19. Odnos šansi (OR) za detekciju patološkog kariotipa kod fetusa sa izolovanim poremećajima u količini plodove vode

PATOLOŠKA KOLIČINA PLODOVE VODE	OR	95% CI
Anamnion	/	
Oligoamnion	0,143	0,020-1,035
Polihidroamnion	1,638	0,920-2,918

Odds ratio (OR)-odnos šansi; CI (confidence interval)-interval poverenja

Samo se izolovana povećana količina plodove vode (polihidroamnion) pokazala kao značajan prediktor (OR 1,6) za postojanje hromozomskih aberacija fetusa.

U ukupnom broju ispitanih trudnoća, rizik od pobačaja nakon invazivnih intervencija, biopsije horionskih resica i kordocenteze, iznosio je 0,5%.

4.5 Analiza hromozomskih mikronizova kod fetusa sa umerenom ventrikulomegalijom

ArrayCGH (CMA-analiza hromozomskih mikronizova) analiza sprovedena je kod 5 fetusa sa ultrazvučno otkrivenom izolovanom umerenom ventrikulomegalijom, uz uredan nalaz kariotipa.

Kod 1 fetusa nisu utvrđene varijante gena (mikrodelecije/mikroduplicacije).

Kod 4 fetusa (80%) utvrđene su varijante (mikrodelecije/mikroduplicacije) koje su upoređene sa podacima u bioinformatičkim bazama podataka NCBI ClinVar (baza kliničkih varijanti), DECIPHER (engl. Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources, <https://decipher.sanger.ac.uk/application>), OMIM (eng. Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim>) i ENSEMBL (http://www.ensembl.org/Homo_sapiens).

Pregled veličine detektovanih varijanti (mikrodelecija/mikroduplicacija), njihove pozicije u genomu, broja slučajeva kod kojih su otkrivene i pregled gena koji su mapirani u zahvaćenim regijama dat je u tabeli 20.

Tabela 20. Pozicija i veličina detektovane varijante i popis gena zahvaćene regije

Region hromozoma	Genomske koordinate	Veličina CNV (kb)		Broj slučajeva (slučaj #)	Geni
		Dup	Del		
1q44	248738898-248785562		47	1 (#4)	OR2T10
2q14.3	127127092-127184948		58	1 (#4)	
3q26.1	162584547-162619141	35		2 (#1 i #2)	
5q13.2	69705562-70388844		683	1 (#4)	GTF2H2B, SMA5, LOC100049076...
6p21.32	32457183-32536802		80	1 (#2)	HLA-DRB5, HLA-DRB6
7p14.1	38323925-38369498		46	1 (#1)	
7p14.1	38323925-38390006		66	1 (#3)	
8p11.22	39237438-39332530	95		1 (#3)	ADAM5P, ADAM3A
8p11.22	39237438-39362887	125		1 (#4)	ADAM5P, ADAM3A
8p11.22	39237438-39362887		125	1 (#1)	ADAM5P, ADAM3A
11q11	55385617-55450788		65	1 (#1)	OR4P4, OR4S2, OR4C6
12p13.31	9637323-9687899	51		1 (#4)	
12p13.31	9637323-9687899		51	2 (#1 i #2)	
14q32.33	106405703-106513022	107		2 (#1, #2 i #4)	ADAM6
14q32.33	106665119-106803307	138		2 (#1 i #2)	NCRNA00226
22q11.22	23056562-23228869	172		2 (#3 i #4)	MIR650
Xq21.1	77121844-77123607	2		2 (#1 #2)	MAGT1
Xq21.1	77121844-77123829		2	1 (#3)	MAGT1

CNV(copy number variation)-varijacije u broju ponovaka; Dup-duplikacija; Del-delecija

5. DISKUSIJA

Efikasnost ultrazvuka u detekciji prenatalnih malformacija limitirana je brojnim faktorima, kao što su starost trudnoće, varijabilnost fetalne morfogeneze, debljina trbušnog zida majke, položaj ploda, iskustvo i veština operatera, kvalitet opreme i mogućnost ponavljanja pregleda (Liu i sar., 2017; McBrien i sar., 2010). Sa druge strane, ultrazvučni pregledi su neinvazivni i bezbedni, zbog čega raste internacionalno interesovanje za razvoj novih metoda za ultrazvučnu detekciju malformacija, posebno što je razvojem novih tehnologija omogućen detaljniji pregled fetusa u prvom trimestru.

Procenat kongenitalnih malformacija u razvijenim zemljama raste, prvenstveno zbog činjenice da je izraženo povećanje trudnoća kod žena starijih od 40 godina. Iako starost majke može komplikovati trudnoću na različite načine, 80-90% fetalnih malformacija otkriva se kod roditelja koji nemaju specifične faktore rizika (Renna i sar., 2013). Ranije studije pokazale su važnost ultrasonografskog skrininga upravo kod trudnica sa nižim rizikom za fetalne hromozomopatije (Schluter i Pritchard, 2005; Malone i sar., 2004).

Prosečna starost trudnica u našoj studiji bila je $28,2 \pm 5,6$ godina, što govori u prilog činjenici da je većina trudnica uključenih u ispitivanje bila mlađa od 35 godina, tj. pripadala populaciji sa niskim rizikom za hromozomske aberacije fetusa. Takođe, skrining hromozomskih aberacija pokazao je povećan rizik za najčešće trizomije samo u 5,6% ispitivanih trudnoća u prvom trimestru i 10,4% u drugom trimestru.

Ovakvi rezultati dobijeni su zahvaljujući činjenici da se u našoj zemlji svim trudnicama starijim od 35 godina, kao i svim trudnicama kod kojih je biohemijskim skriningom dobijen povišen rizik za najčešće aneuploidije, preporučuje invazivna prenatalna dijagnostika nezavisno od ultrazvučnog nalaza fetusa.

Izolovane fetalne anomalije ili izolovani "soft" markeri su u našem istraživanju sa približno jednakom učestalošću otkrivani u drugom (47,2%) i trećem trimestru (46,6%), dok su u prvom trimestru detektovani u znatno nižem procentu (6,2%). Zahvaljujući kasnijem razvoju određenih organa i organskih sistema neke fetalne malformacije nije moguće detektovati u ranim fazama trudnoće (Rossi i Prefumo, 2013). Hildebrand i sar. u svojoj studiji imali su dvostruko veću stopu detekcije fetalnih

anomalija u drugom nego u prvom trimestru trudnoće, 29% prema 13% (Hildebrand i sar., 2010).

Picklesimer i sar. istraživali su efekat gestacijske starosti u vreme ultrazvučnog pregleda na detekciju ultrazvučnih markera aneuploidija, i pokazali da ovi markeri mogu biti otkriveni u svim fazama trudnoće, s tim da se "soft" markeri češće otkrivaju u ranijim, a strukturne anomalije u kasnijim fazama (Picklesimer i sar., 2005) Ultrazvučni pregled u prvom trimestru fokusira se pretežno na merenje nuhalne translucence i procenu rizika za aneuploidije, dok ultrazvučni pregled u drugom trimestru može da identifikuje specifične defekte koji se javljaju u različitim genetičkim poremećajima. Fetalnu anatomiju je lakše vizualizovati u drugom trimestru, tako da ultrazvučni pregled u ovom periodu trudnoće pruža najviše informacija o fetalnim anomalijama (Conner i sar., 2014).

Čak i kada je ultrazvučni fetalni nalaz u drugom trimestru uredan, u do 20% slučajeva moguće je otkriti fetalne anomalije tokom ultrazvučnog pregleda fetusa u trećem trimestru. Ultrazvučni pregled fetusa u trećem trimestru posebno je značajan za detekciju kasno nastalih anomalija urogenitalnog, kardiovaskularnog i gastrointestinalnog sistema (Manegold i sar, 2011; Vijaykumar i sar., 2017).

U ranijim studijama prezentovane su različite incidence fetalnih anomalija i "soft" markera u odnosu na lokalizaciju i zahvaćenost organskih sistema, budući da su u njima pretežno obrađivani nalazi iz jednog ili dva trimestra trudnoće. Babu i Pasula su našli najveći procenat fetalnih anomalija ili "soft" markera CNS-a (46%) i urogenitalnog sistema (22%), a zatim kardiovaskularnog (8,1%) i gastrointestinalnog sistema (8,1%) u drugom i trećem trimestru (Babu i Pasula, 2013). I u našem istraživanju, koje je obuhvatilo sva tri trimestra trudnoće, među fetusima sa izolovanom anomalijom ili izolovanim "soft" markerom sa najvećom frekvencom su otkrivane izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri CNS-a (19,6%), urogenitalnog trakta (13,4%), zatim kardiovaskularnog sistema (8,5%) i gastrointestinalnog trakta (8,2%), dok su sa najmanjom učestalošću otkrivane izolovane anomalije ili izolovani "soft" markeri pluća (1,5). Arfaksad i Wajahat su u svojoj studiji takođe našli najveći procenat fetalnih anomalija CNS-a (51,7%), zatim muskuloskeletnog (18,3%) i gastrointestinalnog sistema (17,2%), a najmanji procenat fetalnih anomalija pluća (1,2%) (Arfaksad i Wajahat, 2016). Liu i sar. su najučestalije detektovali anomalije pluća (83%) i CNS-a

(80%), a sa najmanjom frekvencom anomalije kardiovaskularnog sistema (9,5%) fetusa (Liu i sar., 2017).

Major anomalije nađene su kod 82,3% fetusa, a "soft" markeri kod 17,7% fetusa sa izolovanim ultrazvučnim markerom, u našoj studiji. Takođe u 17,2% otkriveni su poremećaji u količini plodove vode kao izolovan nalaz. U istraživanju Liu i sar., stopa identifikacije krupnih (major) strukturnih anomalija fetusa bila je gotovo duplo veća u poređenju sa "soft" markerima, 54,4% prema 26,5% (Liu i sar., 2017). Rydberg i Tunon našli su major anomalije u 55% fetusa (Rydberg i Tunon, 2017). Izolovani "soft" markeri kod fetusa nađeni su u 5,1% slučajeva u istraživanju Ahman i saradnika (Ahman i sar., 2014)

Učestalost "soft" markera varira u različitim studijama. Sa najvećom učestalošću detektovani su hiperehogeni fokus srca u 1,6%-3,9%, pijeletazije u 0,1%-2,4% i cista horoidnog pleksusa u 1,0%-2,0% (Ahman i sar., 2014; Lamont i sar., 2004; Chen i sar., 2009; Smith-Bindman i sar., 2007; Nyberg i sar., 2001; Coco i Jeanty, 2005;). U našoj studiji najčešće detektovani izolovani "soft" markeri su cista horoidnog pleksusa (20%), hiperehogena creva (17%), uvećana NT (13,8%) i skraćeni femur (13,8).

Rizik za hromozomske aberacije fetusa povećava se sa ukupnim brojem ultrazvučno identifikovanih defekata (Nicolaidis i sar., 1992). Aneuploidije koje se javljaju sa najvećom incidencom, trizomija 21, 18 i 13, monozomija X i poliploidije, imaju svoje specifične ultrasonografske markere, i iz tog razloga se preporučuje da se, ukoliko se na rutinskom ultrazvučnom pregledu otkrije defekt/marker, detaljnim pregledom potraže druge fetalne anomalije za koje se zna da mogu biti udružene sa tim markerom, jer prisustvo dodatnih defekata značajno povećava rizik od hromozomopatija.

Drummond i sar. našli su da je rizik za nalaz hromozomske aberacije značajno veći kod fetusa sa multiplim malformacijama u poređenju sa fetusima sa izolovanim defektom (Drummond i sar. 2003). I u našoj studiji patološki kariotip je sa najvećom frekvencom detektovan kod fetusa sa multiplim anomalijama (23,6%), ali sa najmanjom frekvencom kod fetusa sa multiplim "soft" markerima (5,6%).

Dosadašnje studije bazirale su se uopšteno na otkrivanje ultrazvučnih markera hromozomskih aberacija, i malo je literaturnih podataka o udelu hromozomskih

abercija u etiologiji izolovanih fetalnih defekata. Međutim, dilema o invazivnoj prenatalnoj dijagnostici nastaje upravo kada se ultrazvučnim pregledom otkrije izolovana fetalna anomalija, imajući u vidu da su invazivne procedure povezane sa rizikom od pobačaja od oko 1% (Cicero i sar., 2003).

Simsek i sar. pronašli su patološki kariotip, pretežno aneuploidije, kod 17,1% fetusa sa ultrazvučno otkrivenom izolovanom anomalijom ili izolovanim "soft" markerom (Simsek i sar., 2013).

Zastupljenost hromozomskih aberacija kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima, u našem istraživanju bila je 6,9%. Sa najvećom učestalošću nađene su numeričke hromozomske aberacije (80,6%), i to aneuploidije. Najzastupljenija je bila trizomija 21, sa udelom od 50% u svim detektovanim aberacijama.

Hromozomske aberacije su sa najvećom učestalošću nađene kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima glave, lica i vrata (36%), zatim koštano-mišićno-zglobnog (11%) i kardiovaskularnog sistema (9%). Najmanja frekvencija hromozomskih aberacija nađena je kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima CNS-a (3%), tumorima (2,1%) i izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima urogenitalnog trakta (1,0%).

Neke studije su pokazale da fetusi sa trizomijom 18 imaju bar jednu major anomaliju u 90% slučajeva, fetusi sa trizomijom 13 u 75%-80% slučajeva, dok fetusi sa trizomijom 21 imaju bar jedan major defekt u 50% slučajeva (Cho i sar., 2009; Sepúlveda i sar., 1999).

U našoj studiji patološki kariotip imalo je 5,5% fetusa sa major izolovanom anomalijom. Sa najvećom učestalošću nađene se trizomija 21 u 50%, trizomija 18 u 10,7%, trizomija 13 u 8,9% i Robertsonova translokacija 13;14 u 7,1% slučajeva.

Ultrazvučni nalaz major izolovane fetalne anomalije u našoj studiji pokazao je umerenu senzitivnost, ali nisku specifičnost i nisku PPV, kao i dijagnostičku tačnost od samo 20%, i LR+ 0,8 u predikciji hromozomskih aberacija. Takođe, nalaz izolovane major anomalije nije pokazao značajno povećanje rizika za hromozomske aberacije fetusa (OR 0,4).

U studiji Bottalico i sar., o efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u drugom trimestru nalaz major anomalije imao je umerenu senzitivnost i PPV, ali visoku specifičnost i LR+ 13,4 (Bottalico i sar., 2009).

Imajući u vidu da incidenca hromozomskih aberacija opada sa starošću trudnoće, smatramo da je razlika u rezultatima u ove dve studije proistekla iz činjenice da je naše istraživanje obuhvatilo nalaze iz sva tri trimestra trudnoće, dok su Bottalico i sar. obradili podatke dobijene samo tokom drugog trimestra trudnoće.

Kod fetusa sa izolovanim "soft" markerima u našem istraživanju hromozomske aberacije su otkrivene u 12,4% slučajeva. Numeričke aberacije su nađene u 70,4%, a strukturne u 29,6%, najučestalije su detektovane trizomija 21 u 48,2%, zatim 18 u 11,1%, trizomija 13, monozomija X i Robertsonova translokacija 13;14 u po 7,4% slučajeva.

Ultrazvučni nalaz izolovanog "soft" markera u našoj studiji, pokazao je nisku senzitivnost i PPV, a visoku specifičnost i LR+ 1,9, uz dijagnostičku tačnost od 80%. Nalaz izolovanog "soft" markera pokazao se kao statistički značajan prediktor, koji povećava rizik za hromozomske aberacije fetusa više od dva puta (OR 2,4).

Naši rezultati koreliraju sa nalazima u studiji Bottalico i sar., o efikasnosti ultrazvučnog skrininga hromozomskih aberacija u drugom trimestru, gde je nalaz "soft" markera imao umerenu senzitivnost i nisku PPV, ali visoku specifičnost i LR+ 2,6, zahvaljujući činjenici da je najveći broj markera moguće detektovati upravo u drugom trimestru trudnoće koji su obuhvatile obe studije.

Većina prethodnih istraživanja bazirala se na efikasnosti ultrazvučnog skrininga u detekciji najčešćih aneuploidija, uopšteno ili pojedinačno, sa posebnim akcentom na „soft“ markerima, i objavljeni rezultati su varijabilni. Tako su Ahman i sar. pokazali da ultrazvučno otkriven izolovani „soft“ marker ima LR+ 5.6 (95% CI 0.94-10.3) i RR 23.3 (95%CI 8.9-30.5) za trizomiju 21 (Ahman i sar.,2014). Nasuprot njima Ratanasiri i sar. našli su senzitivnost od 25.6% i LR+ 0.89 (95% CI 0.536-1.493) za trizomiju 21 kod fetusa sa ultrazvučno detektovanim izolovanim „soft“ markerom (Ratanasiri i sar., 2014).

Paradoksalno, naše istraživanje je pokazalo da fetusi sa izolovanim "soft" markerima imaju znatno veći rizik za hromozomske aberacije od fetusa sa izolovanim major

anomalijama. Ovakvi rezultati mogu se objasniti činjenicom da je ova retrospektivna studija obuhvatila period od prethodnih 16 godina, kada nije postajao nacionalni vodič za genetička testiranja, zbog čega su nadležni lekari donosili odluku o fetalnoj dijagnostici po sopstvenoj proceni. Shodno tome, vrlo je verovatno da su tokom ultrazvučnog pregleda fetusa u slučaju nalaza i samo jednog "soft" markera koji bi mogao biti deo genetičkog sindroma donosili odluku o kariotipizaciji fetusa, bez daljeg traganja za dodatnim defektima.

Rizik za hromozomske aberacije fetusa povećava se sa ukupnim brojem ultrazvučno identifikovanih defekata (Nicolaidis i sar.,1992). Iz tog razloga se preporučuje da se, ukoliko se na rutinskom ultrazvučnom pregledu otkrije defekt/marker, detaljnim pregledom potraže druge fetalne anomalije za koje se zna da mogu biti udružene sa tim markerom, jer prisustvo dodatnih defekata značajno povećava rizik od hromozomopatija.

Ranijim studijama pokazano je da postoje dva tipa ultrazvučnih markera koji sugerišu postojanje aneuploidija kod fetusa. Prva grupa uključuje markere koji imaju visoku stopu asocijacije sa hromozomskim aberacijama fetusa, bilo da se nađu kao izolovani ili u sklopu multiplih anomalija. Ovoj grupi markera pripadaju cistični higrom 52% (izolovan) vs 71% (u kombinaciji sa drugim anomalijama), uvećana NT 19% vs 45% i anomalije srca 16% vs 66%. Drugu grupu čine markeri koji su češće u asocijaciji sa aberacijama hromozoma kada se nađu u kombinaciji sa drugim anomalijama. U ovu grupu markera spadaju ventrikulomegalija 2% (izolovana) vs 17% (u kombinaciji sa drugim anomalijama), cista horoidnog pleksusa 1% vs 48%; dijafragmalna hernija 2% vs 49%; hiperehogena creva 7% vs 42%, anomalije bubrega 3% vs 24% i omfalokela 8% vs 46% (Daniel i sar. 2003; Snijders i sar., 1996).

Podaci koje smo dobili u našem istraživanju potkrepljuju prethodne nalaze. Najveću verovatnoću za nalaz patološkog kariotipa imali su fetusi sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima glave, lica i vrata (LR+ 7,9; OR 10,1), zatim kardiovaskularnog (LR+ 1,5; OR 1,5) i koštano-mišićno-zglobnog sistema (LR+ 1,5; OR 1,5). Najmanji rizik za hromozomske aberacije nađen je kod fetusa sa izolovanim anomalijama ili izolovanim "soft" markerima CNS-a (LR+0,44; OR 0,4) i urogenitalnog trakta (LR+ 0,14; OR 0,12).

Ventrikulomegalija je najčešće prenatalno identifikovana anomalija centralnog nervnog sistema (CNS) (Aydin i sar. 2013). Pagani i sar. otkrili su hromozomske aberacije kod 4,7% fetusa sa izolovanom umerenom ventrikulomegalijom (Pagani i sar., 2014). U našoj studiji patološki kariotip imalo je 1,9% fetusa sa izolovanom ventrikulomegalijom, tako da je ovakav ultrazvučni nalaz imao veoma nisku senzitivnost i LR+ 0,3, i nije imao značaja u predikciji hromozomskih aberacija fetusa (OR 0,3). Suprotno našim nalazima Goetzinger i sar. pronašli su značajnu udruženost izolovane fetalne ventrikulomegalije sa trizomijom 21, LR+ 2 (Goetzinger i sar. 2008).

Izolovani nalaz hidrocefalusa kod fetusa u našoj studiji, takođe nije pokazao prediktivni značaj za patološki kariotip (OR 0,6). Prethodne studije su pokazale da je izolovani hidrocefalus fenotipski odraz mutacije specifičnih gena (Zhang i sar., 2006).

D'Antonio i sar. otkrili su hromozomske aberacije kod 4,8% fetusa sa izolovanom agenezijom korpusa kalozuma (D'Antonio i sar., 2016). Nalaz izolovane agenezije korpusa kalozuma u našem istraživanju pokazao je prediktivni značaj OR 1,8 za patološki kariotip fetusa.

Goetzinger i sar. objavili su značajnu udruženost izolovane agenezije korpusa kalozuma (LR+ 3) i izolovane spine bifide (LR+ 3) sa trizomijom 13, LR+ 2 (Goetzinger i sar. 2008). I u našoj studiji nalaz izolovane spine bifide kod fetusa imao je značaj u predikciji hromozomskih aberacija (LR+ 1,4).

Multicentrične studije su pokazale da i do 80% fetusa sa aneuploidijom ima uvećanje nuhalne translucence (NT) (Hixon i sar., 2015). U skorašnjoj velikoj retrospektivnoj studiji rizik za aneuploidije kada je NT 3,5 do 4,4mm bio je 25% i čak 76% ako je NT bila veća od 6.5mm (Ayras i sar., 2013). Kada se koristi kao samostalan test u prvom trimestru trudnoće, merenje nuhalne translucence (NT) ima stopu detekcije 73%–82% za trizomiju 21 (Stefanovic i sar., 2014). Senzitivnost merenja NT u prvom trimestru je oko 80% u predikciji trizomije 21. Uvećanje NT-a povezano je i sa drugim hromozomskim aberacijama i ima senzitivnost 75% za trizomiju 18, 72% za trizomiju 13 i 87% za monozomiju X (Daniilidis i sar., 2015). U našoj studiji izolovani ultrazvučni nalaz uvećanja NT-a imao je senzitivnost od 15% i PPV od 50% u detekciji patološkog kariotipa fetusa. Od izolovanih nalaza fetalnih anomalija, uvećanje NT-a ima najveći LR+ za aneuploidije (Raniga i sar., 2006). U našem istraživanju, od svih nalaza izolovanih defekata, izolovani ultrazvučni nalaz uvećanja NT-a imao je najveći

LR+ 14,1 za hromozomske aberacije fetusa. Cicero i sar. objavili su LR+ 9,8 za patološki kariotip kod fetusa sa izolovanim uvećanjem NT-a (Cicero i ar., 2003). U nekoliko studija primećeno je rano povlačenje nuhalne translucence kod fetusa sa trizomijom 13 i trizomijom 18 (Celentano i sar., 2003; Muller i sar., 2004). U drugom trimestru trudnoće uvećanje nuhalne translucence je snažan prediktor trizomije 21 sa LR+ 17 (Agathokleous i sar., 2013). Fetusi sa uvećanjem NT-a, osim rizika za hromozomopatije, imaju povišen rizik za genske bolesti i anomalije srca (Srebniak i sar., 2016).

Približno 35-50% fetusa sa cističnim higromom ima patološki kariotip (Kharrat i sar., 2006; Tayyar i sar., 2017). Kod fetusa sa cističnim higromom Shimada i sar. našli su visok rizik (OR 4,9), za nalaz patološkog kariotipa (Shimada i sar., 2009). U našem istraživanju ultrazvučni nalaz izolovanog cističnog higroma fetusa imao je veoma visok predikcijski značaj, LR+ 14 i OR 15,4, za hromozomske aberacije. Najčešća hromozomska aberacija povezana sa cističnim higromom fetusa Turner sindrom (u 60% svih fetusa), zatim trizomije 13, 18 i 21, kao i Klinefelter sindrom, koji se takođe često otkriva kod fetusa sa ovim defektom (Sahin i sar., 2006). Malone i sar. u evaluaciji 132 fetusa sa cističnim higromom našli su aneuploidije u 50% slučajeva, i to u 40% trisomiju 21, 30% Turner sindrom, 20% trisomiju 18, i 10% trisomiju 13 ili tiploidiju (Malone i sar. 2005). U studiji Sanhal i sar. aneuploidije su nađene u 40% fetusa sa cističnim higromom, od čega je u 50% slučajeva detektovan Turner sindrom, u 32% trisomija 21, u 10% trisomija 18, u 3.6% trisomija 13 (Sanhal i sar. 2014).

U istraživanju koje smo sprovedi, hromozomske aberacije otkrivene su kod 3,9% fetusa sa izolovanim fetalnim hidropsom. Acevedo-Gallegos i sar., pronašli su patološki kariotip kod jedne trećine fetusa sa hidropsom (Acevedo-Gallegos i sar., 2013). Naša studija pokazala je da je nalaz izolovanog fetalnog hidropsa visoko specifičan prediktor patološkog kariotipa fetusa, sa visokom tačnošću, LR+2 i OR 2,1. I Shimada i sar. našli su povećan rizik (OR 2,7), za hromozomske aberacije kod fetusa sa ultrazvučno detektovanim hidropsom (Shimada i sar., 2009). Fetalni hidrops je najčešći ultrasonografski nalaz kod fetusa sa monozomijom X i trizomijom 21. Može se naći i kod fetusa sa mozaičnom trizomijom hromozoma br. 10, zatim kod fetusa sa trizomijom kratkog kraka hromozoma br. 11, kao i kod fetusa sa trizomijom 13 i 18 (Krings, 2006; Rotmensch i sar., 1997; Smoleniec i sar., 1999; Bianchi i sar., 2000; Ratnam i sar., 1994; Forouzan, 1999).

Urođena srčana mana je najčešća anomalija dece sa Down sindromom. Kod 90% novorođenčadi sa trizomijom 18 i trizomijom 13, 50% novorođenčadi sa trizomijom 21, kao i kod onih sa Turner sindromom, delecijama ili parcijalnim trizomijama različitih hromozoma, dijagnostikuje se kongenitalna srčana mana, i to pretežno ventrikularni septalni defekt (Cicero i sar, 2003). Imajući u vidu tako učestalu pojavu kongenitalnih oboljenja srca kod novorođenčadi sa hromozomskim aberacijama, prenatalna dijagnoza srčanih anomalija povećava rizik za hromozomopatije fetusa. Ukoliko je srčana mana izolovan nalaz incidenca hromozomskih aberacija fetusa je 15% do 20%, a ukoliko je udružena sa drugim anomalijama ta incidenca raste i do 70% (Antsaklis i Theodora, 2008). Shimada i sar. našli su značajan rizik za hromozomske aberacije kod fetusa ka anomalijama KVS-a (OR 3). Naši rezultati koreliraju sa podacima iz literature, obzirom da su izolovane anomalije kardiovaskularnog sistema imale LR+ 1,5 i OR 1,5 u predikciji patološkog kariotipa. Pokazali smo da su ultrazvučni nalazi izolovanog VSD-a (LR+ 8 i OR 8,7) i tetralogije Fallot (LR+ 7 i OR 7,2) značajni prediktori hromozomskih aberacija fetusa. U svim slučajevima izolovanog VSD-a kod fetusa je otkrivena trizomija 21, što je korelaciji sa nalazima Acevedo-Gallegos i sar., koji su našli trizomiju 21 kod 75% fetusa sa izolovanom anomalijom srca (Acevedo-Gallegos i sar., 2013). Suprotno tome Bao i sar. objavili su da su otkrili aneuploidije u samo 16,8% fetusa sa srčanom manom, među kojim je najzastupljenija bila trizomija 18 (Bao i sar., 2013). Takođe, Shen i sar. sugerisali su da izolovani VSD nije udružena sa trizomijom 21, obzirom da od 92 ispitana fetusa sa ovom anomalijom nisu našli trizomiju 21 ni u jednom slučaju (Shen i sar., 2014). U ranijim studijama objavljeno je da je prototip srčane mane kod fetusa sa trizomijom 21 AVSD, a kod Turner sindroma koarktacija aorte, uz zaključak da je ovakva genotip-fenotip korelacija posledica izmenjene doze specifičnih gena (Fahed i sar. 2013). Benacerraf je objavio da su specifične srčane mane udružene sa trizomijom 21, prvenstveno disproporcija ventrikula i VSD (Benacerraf, 2010). U našem istraživanju nisu nađene hromozomske aberacije kod fetusa sa izolovanom hipoplazijom leve komore. Takođe, nismo našli patološki kariotip kod fetusa sa izolovanim hiperehogenim fokusom srca. Time naši rezultati koreliraju sa nalazima ranijih studija koje su utvrdile da nalaz hiperehogenog fokusa srca ne povećava rizik za trizomiju 21 (Shanks i sar., 2009).

Pronašli smo u našem istraživanju da je izolovana omfalokela značajan prognostički faktor za hromozomske aberacije fetusa sa OR 1,3. Shimada i sar. našli su OR 1,9 za nalaz patološkog kariotipa kod fetusa sa omfalokelom (Shimada i sar., 2009). Acevedo-Gallegos i sar. otkrili su patološki kariotip u samo 11,5% fetusa sa izolovanom omfalokelom. Suprotno našim nalazima Blazer i sar. nisu našli aberacije hromozoma kod fetusa sa izolovanom omfalokelom, (Blazer i sar. 2004)

Skraćen femur predstavlja ultrasonografski marker fetalnih aneuploidija, prevashodno trizomije 21 (Ali i sar., 2012). Ipak, u prethodnim studijama nisu otkrivene hromozomske aberacije kod fetusa sa izolovanim skraćenjem femura (Todros i sar., 2004; Chaudhury i Mukherjee, 2016). Morales-Rosello i sar. su objavili da, uzimajući u obzir rizik kod invazivnih procedura, izolovani nalaz skraćenog femura fetusa ne bi trebalo da bude indikacija za kariotipizaciju fetusa (Morales-Rosello i sar., 2012). Rezultati naše studije ukazuju upravo suprotno, da je ultrazvučni nalaz skraćenog femura kod fetusa značajan prediktor patološkog kariotipa (OR 2). Bottalico i sar. takođe su objavili da ultrazvučni nalaz skraćenog femura značajno povećava rizik za hromozomske aberacije, LR+ 5,6 (Bottalico i sar., 2009).

Smatra se da SUA sindrom (SUAS) nije značajno povezan sa fetalnim aneuploidijama i da nalaz jedne umbilikalne arterije zapravo zahteva detaljan ultrazvučni pregled, prvenstveno bubrega i srca fetusa (Geipel i sar., 2000). Međutim naši nalazi ukazuju upravo na suprotno, pošto se SUAS pokazao kao visoko specifičan prediktor hromozomskih aberacija sa LR+ 4.7 i OR 4,8. Interesantna je asocijacija SUAS sa retkim hromozomskim aberacijama, kao što su triple X, del 5p i sSMC nađena u našem istraživanju.

Hromozomski i genski poremećaji odgovorni su za pojavu 5–15% fetusa sa intrauterusnim zastojem u rastu (IUZR) i mnogo se češće sreću kod simetričnog nego kod asimetričnog tipa (Kay, 2001). Aneuploidije su uzročnik pojave 25% teških IUZR u ranim stadijumima gestacije (Carrera, 2004). Prenatalne studije 2. i 3. trimestra pokazale su visoku prevalenciju aneuploidija u teškim slučajevima IUZR. Triploidija i trizomija 18 udružene su sa teškim, a trizomija 13 i monozomija X sa blagim zastojem u rastu. Trizomija 21, u većini slučajeva, ne utiče na rast fetusa (Virmani, 2006). U našem istraživanju ultrazvučni nalaz izolovanog IUZR nije pokazao visok značaj u predikciji patološkog kariotipa fetusa (LR+ 0,8 i OR 0,8).

Patološki kariotip detektovali smo kod 9,8% fetusa sa povećanom količinom plodove vode (polihidramnion), kao izolovanim nalazom. Dashe i sar. otkrili su aneuploidije u samo 1% izolovanog i 10% polihidramniona udruženog sa nekom fetalnom anomalijom (Dashe i sar., 2002). Za razliku od njih, Shimada i sar. otkrili su patološki kariotip u 23,4%, a Zahn i sar. u 22,2% fetusa sa izolovanim polihidramnionom (Shimada i sar., 2009; Zahn i sar., 1993). Brady i sar. su našli incidencu hromozomskih aberacija od 3,2% u slučajevima idiopatskog polihidramniona, i preporučili analizu kariotipa fetusa u svim ovakvim slučajevima (Brady i sar., 1992). I u našoj studiji nađeno je da je izolovani polihidramnion povezan sa povećanim rizikom za aberacije hromozoma fetusa (LR+1,5 i OR 1,6).

Izolovane anomalije i izolovani "soft" marker GIT-a, dijafragmalna hernija, gastrošiza i hiperehogena creva, kao i izolovani "soft" markeri i izolovane anomalije UGT-a, pijeletazije i hidronefroza, zatim izolovani hiperehogeni fokus srca, kao i izolovana cista horoidnog pleksusa, iako učestalo dijagnostikovane ultrazvučnim pregledima fetusa u našem istraživanju, nisu bile udružene sa hromozomskim aberacijama u našoj studiji.

Smatra se da se, ukoliko se ultrazvučnim pregledom otkrije jedna krupna strukturna anomalija, preporučuje kariotipizacija fetusa, iako je to izolovani defekt, dok "soft" markere kao izolovani nalaz uvek treba procenjivati u odnosu na starost trudnice i biohemijski rizik za hromozomske aberacije (Raniga i sar., 2006).

Na osnovu dobijenih rezultata možemo se saglasiti sa ranijim studijama koje su pokazale da neki "soft" markeri samostalno ne predstavljaju značajne faktore rizika, i mogu imati mnogo veći značaj ukoliko se nađu udruženi (Bromley i sar., 2002; Sohl i sar., 1999).

Međutim, naša studija pokazuje da većina izolovanih major defekata nije u korelaciji sa hromozomskim aberacijama, i u takvim slučajevima rizik za pobačaj nakon invazivne intervencije radi uzimanja uzorka za kariotipizaciju, veći je od rizika za nalaz patološkog kariotipa kod fetusa.

Shodno rezultatima našeg istraživanja, mišljenja smo da, u proceni potrebe za kariotipizacijom fetusa, sve izolovane ultrazvučne markere, i major anomalije i "soft" markere, treba posmatrati u sklopu individualnog rizika za hromozomske aberacije u svakoj trudnoći. Procenjeni individualni rizik treba da bude izveden uzimajući u obzir

godine majke, starost trudnoće, prethodne patološke trudnoće, rezultat prethodnog skrininga i LR+ specifičnog markera.

Naši rezultati pokazuju da definisani ultrazvučni markeri, kao što su uvećanje nuhalne translucence, cistični higrom, ventrikularni septalni defekt, tetralogija Fallot, jedna umbilikalna arterija, skraćeni femur, hidrops, agenezija korpusa kalozuma, spina bifida i omfalokela, čak i kao izolovani nalaz, imaju dobru korelaciju sa aberantnim fetalim kariotipom, i treba da budu indikacija za invazivno testiranje, ukoliko je to opcija za roditelje.

Detekcija izolovanih fetalnih anomalija kao što su dijafragmalna hernija, gastrošiza i hidronefroza nije indikacija za kariotipizaciju fetusa. Nema indikacija za kariotipizaciju fetusa ni u slučajevima izolovanih nalaza "soft" markera, kakvi su cista horoidnog pleksusa, hiperehogeni fokus u srcu i pijeletazije, koje u ovim okolnostima treba smatrati varijantom bez kliničkog značaja.

Rezultati naše studije pokazuju da preko 90% fetusa izolovanim anomalijama nema krupne hromozomske aberacije. Mišljenja smo da je u evaluaciji ovih fetusa neophodna dalja genetička dijagnostika, koja bi obuhvatila molekularno-citogenetičke i/ili molekularno genetičke metode.

Pokazano je da analiza hromozomskih mikronizova (CMA) ima veću stopu detekcije hromozomskih aberacija nego konvencionalna kariotipizacija. Trenutno, u prenatalnoj dijagnostici, CMA ima najveću korist u evaluaciji fetusa sa multiplim anomalijama (Leavitt i sar., 2016). Međutim, pokazano je da je CMA dijagnostički korisniji od kariotipizacije i u slučajevima određenih izolovanih fetalnih anomalija. Meta-analiza rezultata CMA u slučajevima izolovanih fetalnih defekata indikuje stopu patoloških varijanti od približno 5%. Najveća stopa pozitivnih rezultata nađena je kod izolovanih anomalija CNS-a (oko 6%), gastrointestinalnog (oko 7%) i muskuloskeletnog sistema (oko 8%) i srca (oko 7%). Visoka stopa detekcije patoloških varijanti uočena je kod individualnih malformacija uključujući holoprocencefaliju, hipoplaziju cerebeluma, hipoplaziju levog srca, rasep usne i/ili nepca i omfalokelu. (Shaffer i sar., 2012; De Wit i sar., 2014; Jansen i sar., 2015). Nasuprot tome, patološki rezultati CMA kod fetusa sa određenim izolovanim anomalijama, kao što su VSD, gastrošiza, agenezija bubrega i opstrukcije donjeg urinarnog trakta, do sada nisu referisani (Armour i sar., 2018).

Skorašnjom meta-analizom pokazana je dodatna dijagnostička korist CMA od 4%, kod fetusa sa izolovanim uvećanjem NT-a i normalnim kariotipom (Grande i sar., 2015). Skorašnji vodiči iz nekoliko internacionalnih i nacionalnih društava preporučili su selektivnu upotrebu CMA u prenatalnom testiranju.

Komititet za genetiku američkog koledža za akušerstvo i ginekologiju (ACOG) and Društvo za maternalno-fetalnu medicinu (SMFM) 2013. godine objavili su zajedničke preporuke za korišćenje mikroereja u prenatalnoj dijagnostici fetusa sa strukturnim anomalijama kao zamenu za kariotipizaciju (ACOG 2013).

Društvo akušera i ginekologa Kanade i Kanadski koledž medicinskih genetičara objavili su u mertu 2018. godine preporuke po kojima treba primeniti CMA u dijagnostici fetusa kod kojih je detektovana izolovana anomalija koja ima visok rizik za hromozomske aberacije, a kod izolovanih anomalija sa nižim rizikom se može primeniti ukoliko to resursi dozvoljavaju (Armour i sar., 2018).

Radna grupa Zajedničkog komiteta za genomiku u medicini Velike Britnije preporučio je 2015. godine CMA testiranje u svim slučajevima prenatalne detekcije jedne ili više anomalija, izolovanog uvećanja NT>3,5mm i kod fetusa sa aneuploidijama sex hromozoma, gde nalaz kariotipa ne može objasniti otkrivenu anomaliju (XXX, XXY ili XYY) (Gardiner i sar., 2015).

Italijansko društvo za humanu genetiku je preporučilo upotrebu CMA kao dopunske metode kariotipizaciji u slučajevima fetalnih strukturnih anomalija, kao i de novo hromozomskih rearanžmana i sSMC u cilju utvrđivanja njihovog porekla i genomske sadržaja (Novelli i sar., 2012).

Poslednjih godina dogodio se znatan napredak u tehnologijama brze i sveobuhvatne analize genoma. Danas je moguće brzo pretražiti varijacije u broju ponovaka (CNV) u celom genomu, uz bitno poboljšane metode otkrivanja mikrolelecija i mikroduplikacija u poređenju sa tehnologijama od pre desetak godina.

Uopšteno, tradicionalne citogenetičke metode su još uvek potrebne za analizu pojedinačnih ćelija, a indikovane su umesto (ili pre) CMA u slučaju prepoznatljivih hromozomskih sindroma kao što su trisomija 21, 13, 18, zatim Turnerov ili Klinefelterov sindrom (Sansović i sar., 2016).

Wapner i sar., u poređenju sa standardnom kariotipizacijom, tehnikom hromozomskih mikronizova identifikovali su klinički relevantne varijacije u broju ponovaka (CNVs) kod 6% fetusa sa anomalijom i normalnim kariotipom (Wapner i sar. 2012). Slično njima, Hilman i sar. pokazali su da se u slučaju patološkog ultrazvučnog nalaza kod fetusa relevantan nalaz mikronizova, koji ne obuhvata aneuploidije, može naći u 10% (95%CI 8-13%) slučajeva (Hillman i sar. 2013).

Analizom rezultata array CGH u programu Agilent CytoGenomics v.2.7., te pretraživanjem baza podataka NCBI ClinVar, DECIPHER, OMIM i ENSEMBL na slične varijante kao kod ispitivanih fetusa u našoj studiji, nisu utvrđene varijante gena koji mogu biti povezani s razvojem ventrikulomegalije. Kod četiri ispitivana fetusa otkrivene su mikrolelecije/mikroduplicacije koje za sada u literaturi nisu opisane i definisane kao sindromi.

Mikrolelecije/mikroduplicacije nađene su u regionima sledećih gena:

OR2T10 (Olfactory Receptor Family 2 Subfamily T Member 10) na hromozomu 1q44 je protein kodirajući gen olfaktornih receptora. Olfaktorni receptori interreaguju sa mirisnim molekulima u nosu i pokreću neuralni odgovor koji dovodi do mirisne percepcije (www.genecards.org).

GTF2H2B (General Transcription Factor IIH Subunit 2B (Pseudogene)) i SMA5 (Glucuronidase Beta Pseudogene) na hromozomu 5q13.2 su pseudogeni (www.genecards.org).

HLA-DRB5 (Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 5) na hromozomu 6p21.32 je protein kodirajući gen, koji ima centralnu ulogu u imunskom odgovoru (www.genecards.org).

HLA-DRB6 (Major Histocompatibility Complex, Class II, DR Beta 6 (Pseudogene)) na hromozomu 6p21.32 je pseudogen (www.genecards.org).

NCRNA00226 na hromozomu 14q32.33 je podkategorija LINC00226 (long intergenic non-protein coding RNA 226) gena i ne kodira proteine (www.genecards.org).

MIR650 (MicroRNA 650) na hromozomu 22q11.22 je mali nekodirajući RNK gen, uključen u posttranskripcijsku regulaciju genske ekspresije. Otkriveno je da ekspresija

MIR650 gena ima ulogu u regulaciji transkripcije tumor supresor gena ING4 uključenog u tumorogenezu karcinoma želuca (Zhang i sar., 2010)

MAGT1 (Magnesium Transporter 1) na hromozomu Xq21.1 je protein kodirajući gen. Ovaj gen kodira ubikvitarno ekspresirani, visoko selektivni protein transporter magnezijum katjona koji je lokalizovan u ćelijskoj membrani i kritični je regulator slobodnog magnezijuma u ćeliji. Mutacije ovog gena odgovorne su za jednu formu X vezanog poremećaja u intelektualnom razvoju. Opisana je X vezana imunodeficijencija sa deficitom magnezijuma, Epštejn-Bar infekcijom i sklonosti neoplazijama (www.omim.org; Li i sar., 2011).

ADAM5P i ADAM3A na hromozomu 8p11.22 i ADAM6 na hromozomu 14q32.33 kod kojih su mikroduplicacije ili mikrodelecije nađene kod sva četiri fetusa, su pseudogeni koji pripadaju familiji ADAM gena (www.genecards.org). Pseudogeni su nefunkcionalne kopije veoma nalik normalnim genima, u odnosu na koje su neznatno izmenjeni, usled čega se ne ekspimiraju. Nekoliko godina su zvani genomskim "fosilima" i tretirani kao "junk DNK" (otpad). Međutim prepoznato je da neki pseudogeni imaju esencijalnu ulogu u regulaciji transkripcione aktivnosti njihovih roditeljskih gena i mnogi pseudogeni se transkribuju u RNK (ribonukleinsku kiselinu) (Tutar, 2012). Produkti ADAM gena uključeni su u raznovrsne biološke procese, uključujući i neurogenezu (Primakoff i Myles, 2000).

Zhang i sar. CMA metodom pronašli su aberacije kod 2 (9.5%) od 21 fetusa sa izolovanom ventrikulomegalijom (Zhang i sar., 2015).

Li i sar. otkrili su potencijalno patogene varijacije u broju ponovaka (CNV) kod 6,7% fetusa sa ventrikulomegalijom, uključujući deleciju 1q21.3q23.1, deleciju 2q37.3, deleciju 3p14.1p13, deleciju 6q25.3, duplikaciju 8q11.23, deleciju 10q21.1, deleciju 15q11.2, duplikaciju 16p13.11p12.3, duplikaciju 22q13.33, duplikaciju 22q11.21 i duplikaciju Xp21.1. Patogene CNV našli su kod 6.1% fetusa sa izolovanom ventrikulomegalijom. Međutim, utvrdili su da ne postoji značajna korelacija između ventrikulomegalije i patogenih CNV (Li i sar., 2017).

Mikroduplicacije/mikrodelecije u našem istraživanju nađene su i u regionima nekih hromozoma u kojima još uvek nisu mapirani geni, uključujući 2q14.3, 3q26.1, 7p14.1 i 12p13.3, i uz čest nalaz varijanti u regionima ADAM pseudogena, naši rezultati postavljaju bazu za neka naredna istraživanja genetičke osnove ventrikulomegalije.

Obzirom na sve veću rezoluciju istraživanja humanog genoma veliki izazov predstavlja validacija i interpretacija detektovanih promena u broju kopija, što se posebno odnosi na varijante klasifikovane kao sporne/nesigurne važnosti. Danas kada je array tehnologija u detekciji varijacija u broju kopija verovatno dosegla svoj maksimum, očekivano je da se broj detektovanih varijanti u budućnosti neće znatno menjati. Međutim klasifikacija detektovanih varijanti znatno se menja. Pregledom literature dolazi se do zapanjujućih podataka da su u sve većem broju CNV-ovi detektovanih array tehnologijom klasifikovani kao patogeni/potencijalno patogeni. Tako je u samo dve godine broj CNV-ova koji su klasifikovani kao patogeni porastao sa 19% na 31%. Ovakav pomak u klasifikaciji posledica je kombinacije različitih faktora među kojima su novi literaturni podaci koji razjašnjavaju fenotipske posledice CNV-ova, što uključuje redefinisavanje najmanje kritične regije mikrodelecijskih/mikroduplicacijskih sindroma, zatim novi dokazi o funkcionalnim učincima CNV-ova, te otkrivanje novih gena kandidata u osnovi razvojnih poremećaja upotrebom array tehnika, sekvenciranjem sledeće generacije i studijama asocijacije, kao i reseqvenciranjem humanog genoma – Hg19 i preciziranjem podataka o patogenosti pojedinih CNV-ov u bioinformatičkim bazama podataka. Uzimajući u obzir sve navedeno, interpretacija array rezultata u nekim slučajevima još uvek predstavlja izazov (Rinčić, 2014).

6. ZAKLJUČCI

1. Hromozomske aberacije mogu se detektovati kod 6% fetusa sa ultrazvučno otkrivenom izolovanom major anomalijom i 12% fetusa sa ultrazvučno otkrivenim izolovanim "soft" markerom.
2. Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri vrata, srca i koštanog sistema fetusa imaju najveći značaj u predikciji patološkog kariotipa fetusa.
3. Izolovane anomalije i izolovani "soft" markeri urogenitalnog trakta i tumori fetusa ne predstavljaju indikaciju za kariotipizaciju, jer se samo koincidentalno mogu naći udruženi sa hromozomskim aberacijama.
4. Detekcija bilo kakvog fetalnog defekta zahteva brzu, detaljnu ultrazvučnu evaluaciju fetusa u cilju otkrivanja mogućih udruženih anomalija.
5. U svim slučajevima nalaza izolovanog ultrazvučnog markera, bilo major anomalije ili "soft" markera, u proceni potrebe za kariotipizacijom fetusa, potrebna je evaluacija individualnog rizika za hromozomopatije, koja uključuje pozitivni odnos verodostojnosti (LR+) za detektovani marker.
6. U evaluaciji fetusa sa izolovanom anomalijom i normalnim kariotipom, neophodna je dalja genetička dijagnostika, koja bi obuhvatila molekularno-citogenetičke i/ili molekularno genetičke metode.
7. U slučajevima umerene fetalne ventrikulomegalije analiza hromozomskih mikronizova nije imala veću informativnost od kariotipizacije, obzirom da su nađene varijante u regionima gena za koje nije utvrđeno da učestvuju u neurogenezi, ali su naši rezultati osnov za dalja istraživanja genetičke osnove ventrikulomegalije.

7. LITERATURA

1. Abu-Rustum RS, Daou L, Abu-Rustum SE. Role of First-Trimester Sonography in the Diagnosis of Aneuploidy and Structural Fetal Anomalies. *Journal of Ultrasound in Medicine* 2010;29:1445–145.
2. Acevado-Gallegos S, Garcia M, Benavides-Serralde A, et al. Association between selected structural defects and chromosomal abnormalities. *Revista de investigacion clinica* 2013;65(3):248-254.
3. Agathokleous M, Chaveeva P, Poon LCY, Kosinski P, Nicolaides KH. Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;41:247–261.
4. Ahman A, Axelsson O, Maras G, Rubertsson C, Sarkadi A, Lindgren P. Ultrasonographic fetal soft markers in a low-risk population: prevalence, association with trisomies and invasive tests. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2014;93:367–373.
5. Akbas E, Altintas ZM, Celik SK, et al. Rare types of turner syndrome: clinical presentation and cytogenetics in five cases. *Laboratory Medicine* 2012;43(5):197–204.
6. Aksglaede L, Link K, Giwercman A, Jørgensen N, Skakkebaek NE, Juul A. 47,XXY Klinefelter syndrome: clinical characteristics and age-specific recommendations for medical management. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2013;163C(1):55-63.
7. Al Alwan I, Khadora M, Amir I, et al. Turner Syndrome Genotype and phenotype and their effect on presenting features and timing of Diagnosis. *International Journal of Health Sciences* 2014;8(2):195-202.
8. Albetty M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn* 2007;27:415-8.
9. Al Hussain M, Al Nuaim L, Abu Talib Z, Zaki OK. Cytogenetic study in cases with recurrent abortions in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2000;20(3-4):233-236.
10. Ali MK, Shazly SA, Ali HA, Abdelbadee ZA, Abbas MA. Ultrasonographic soft markers of aneuploidy in second trimester fetuses. *Middle East Fertility Society Journal* 2012;17(3):145-151.

11. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics: Committee Opinion No. 581: the use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol* 2013;122(6):1374–1377.
12. Antsaklis A, Theodora M. Genetic screening for aneuploidy in the second-trimester. *Donald School Journal of Ultrasound in Obstetrics and gynecology* 2008;2(1):29-36.
13. Arfaksad, A, Wajahat, Y. Frequency of Fetal Congenital Anomalies and Associated Risk Factors Observed in Pregnant Women in a Public Sector Hospital of Karachi. *Annals of Abbasi Shaheed Hospital & Karachi Medical & Dental College* 2016;21(3):139-146.
14. Armour CM, Dougan SD, Brock J, et al. Practice guideline: joint CCMG-SOGC recommendations for the use of chromosomal microarray analysis for prenatal diagnosis and assessment of fetal loss in Canada. *Journal of Medical Genetics* Published Online First: 01 March 2018. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105013
15. Aydın O, Tarhan N, Arinkan SA, et al. Evaluation of fetal ventriculomegaly. *J Clin Exp Invest* 2013;4(2):14-7.
16. Ayras, O, Tikkanen M, Eronen M, Paavonen J, Stefanovic V. Increased nuchal translucency and pregnancy outcome: a retrospective study of 1063 consecutive singleton pregnancies in a single referral institution. *Prenat Diagn* 2013;33:856–862.
17. Baba K, Okai T, Ishii S, Taketani Y. 3-dimensional ultrasound. *International journal of gynecology and obstetrics* 1984;46(3):P34.
18. Babu RS, Pasula S. Frequency of Foetal Anomalies in a Tertiary Care Centre. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR* 2013;7(7):1276-1279.
19. Balić D, Balić A. Antenatalna dijagnostika fetalnih anomalija i hromozomskih abnormalnosti. *Pedijatrija danas* 2008;4(1):42-52.
20. Balk A, Balk D. The role of transvaginal 4D ultrasonography in detection of chromosomal abnormalities at 13-14 weeks. *Book of abstracts of XVII Congress of FIGO, Kuala Lumpur. 2007. p. 98.*

21. Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, et al. Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens. *Am J Med Genet* 2006;140A:2757–2767.
22. Bao B, Wang Y, Hu H, et al. Karyotypic and Molecular Genetic Changes Associated With Fetal Cardiovascular Abnormalities: Results of a Retrospective 4-Year Ultrasonic Diagnosis Study. *International Journal of Biological Sciences* 2013;9(5):463-471.
23. Barišić I. Downov sindrom. *Medicina : glasilo Hrvatskoga liječničkoga zbora, Podružnica Rijeka*, 42 (2005), 41;69-75.
24. Bartholdi D, Stray-Pedersen A, Azzarello-Burri S, et al. A newly recognized 13q12.3 microdeletion syndrome characterized by intellectual disability, microcephaly, and eczema/atopic dermatitis encompassing the HMGB1 and KATNAL1 genes. *Am J Mol Genet* 2014; Forthcoming.
25. Bartnik M, Nowakowska B, Derwińska K, et al. Application of array comparative genomic hybridization in 256 patients with developmental delay or intellectual disability. *J Appl Genet* 2014;55:125–144.
26. Battaglia A, Carey JC, South ST, Wright TJ: Wolf-Hirschhorn Syndrome; in: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, (eds). *GeneReviews* 2010 [Internet]. Seattle, WA: University of Washington, 1993–2002 (updated 17 June 2010).
27. Benacerraf BR. The history of the second-trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice. *Prenat Diagn* 2010;30:644–652.
28. Benn PA, Egan JFX. Second trimester prenatal ultrasound and screening for Down syndrome. *Prenat. Diagn* 2007;27:884.
29. Benn P. Non-Invasive Prenatal Testing Using Cell Free DNA in Maternal Plasma: Recent Developments and Future Prospects. *J Clin Med* 2014;3:537-65.
30. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 2012;119:890-901.
31. Bianchi DW, Crombleholme TM, D'Alton ME. Non-immune hydrops fetalis. In: Bianchi DW, Crombleholme TM, D'Alton ME,

- editors. *Fetology: Diagnosis and management of the fetal patient* New York: McGraw-Hill; 2000. p. 959-965.
32. Bianchi DW, Wilkins-Haug L. Integration of noninvasive DNA testing for aneuploidy into prenatal care: what has happened since the rubber met the road? *Clin Chem* 2014;60:7887.
 33. Blancato JK. Fluorescence in situ hybridization. In: Gersen SL, Keagle MB, eds. *The principles of clinical cytogenetics*. Totowa: Human Press, 1999:443-73.
 34. Blazer Sh, Zlzimmer E, Gover A, et al. Fetal omphalocele detected early in pregnancy: associated anomalies and outcomes. *Radiology* 2004;232:191-5.
 35. Blennow E, Nielsen KB, Telenius H et al. Fifty probands with extra structurally abnormal chromosomes characterized by fluorescence in situ hybridization. *Am J Med Genet* 1995;55(1):85-94.
 36. Borrell A, Robinson JN, Santolaya-Forgas J. Clinical value of the 11- to 13 + 6-week sonogram for detection of congenital malformations: a review. *Am J Perinatol* 2011;28:117–124.
 37. Bottalico JN, Chen X, Tartaglia M, Rosario B, Yarabothu D, Nelson L. Second-trimester genetic sonogram for detection of fetal chromosomal abnormalities in a community-based antenatal testing unit. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:161–168.
 38. Brady K, Polzin WJ, Kopelman JN, Read JA. Risk of chromosomal abnormalities in patients with idiopathic hydramnios. *Obstet Gynecol* 1992;79:234–8.
 39. Bragin E, Chatzimichali EA, Wright CF, et al. DECIPHER: database for the interpretation of phenotype-linked plausibly pathogenic sequence and copy-number variation. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D993–1000.
 40. Brajenović-Milić B, Stipoljev F. Prenatalna dijagnostika. u: Čulić V, Pavelić J, Radman M i sar. *Genetičko informiranje u praksi*. Zagreb, Medicinska naklada; 2016;277-283.
 41. Breathnach FM, Fleming A, Malone FD. The second trimester genetic sonogram. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2007;145C:62–72.

42. Bromley B, Lieberman E, Shipp TD, Benacerraf BR. The genetic sonogram – a method of risk assessment for Down syndrome in the second trimester. *J Ultrasound Med* 2002;21:1087–1096.
43. Burger NB, Bekker MN, de Groot CJ, Christoffels VM, Haak MC. Why increased nuchal translucency is associated with congenital heart disease: a systematic review on genetic mechanisms. *Prenat Diagn* 2015;35(6):517–528.
44. Carpenter NJ. Molecular cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet* 2002;3:769-78.
45. Carrera JM. Ultrasonographic diagnosis of intrauterine growth restriction. In: Kurjak A, Chervenak FA, editors. *Donald school textbook of ultrasound in obstetrics and gynecology*. 1st ed. New Delhi: Jaypee; Medical Publishers; 2004. p. 224–44.
46. Caspersson T, Lomakka G, Zech L. The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes — distinguishing characters and variability. *Hereditas* 1971;67:89–102.
47. Celentano C, Di Donato NG, Prefumo F, Rotmensch S. Early resolution of increased nuchal translucency in a fetus with trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:880-881.
48. Cerrillo Hinojosa M, Yerena de Vega MC, González Panzzi ME, Godoy H, Galicia J, Gutiérrez Nájjar A. Genetic amniocentesis in high-risk populations. Experience in 3081 cases. *Ginecol Obstet Mex* 2009;77:173–182.
49. Chaudhury K, Mukherjee K. Isolated short femur alone in the mid-trimester fetus is not associated with increased risk of aneuploidy: a clinical study in eastern India. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology* 2016;5(4):1207-1210.
50. Chauhan SP, Sanderson M, Hendrix NW, et al. Perinatal outcome and amniotic fluid index in the antepartum and intrapartum periods: A meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:1473.
51. Chen M, Leung TY, Sahota DS, et al. Ultrasound screening for fetal structural abnormalities performed by trained midwives in the second trimester in a low-risk population--an appraisal. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2009;88:713–719.

52. Cheung SW, Shaw CA, Yu W, et al. Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis. *Genetics in Medicine* 2005;7(6):422-32.
53. Chitty LS, Pandya P. Ultrasound screening for fetal abnormalities in the first trimester. *Prenatal Diagnosis* 1997;17:126-8.
54. Chiu RWK, Chan KCA, Gao Y, et al. Noninvasive prenatal diagnosis of fetal chromosomal aneuploidy by massively parallel genomic sequencing of DNA in maternal plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:20458-63.
55. Chiu RWK, Akolekar R, Zheng YWL, et al. Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study. *The BMJ* 2011;342:c7401.
56. Cho RC, Chu Ph, Smith-Bindman R. Second trimester prenatal ultrasound for the detection of pregnancies at increased risk of Trisomy 18 based on serum screening. *Prenatal Diagnosis* 2009;29:129-39.
57. Cicero S, Sacchini C, Rembouskos G, Nicolaides KH. Sonographic Markers of Fetal Aneuploidy—A Review. *Placenta* 2003;24:S88–S98.
58. Conner SN, Longman RE, Cahill AG. The role of ultrasound in the diagnosis of fetal genetic syndromes. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology* 2014;28(3):417-428.
59. Coco C, Jeanty P. Isolated fetal pyelectasis and chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:732–738.
60. Crider KS, Olney RS, Cragan JD. Trisomies 13 and 18: population prevalences, characteristics, and prenatal diagnosis, metropolitan Atlanta, 1994-2003. *Am J Med Genet* 2008;146A:820–826.
61. D’Antonio F, Pagani G, Familiari A, et al. Outcomes Associated With Isolated Agenesis of the Corpus Callosum: A Meta-analysis. *Pediatrics* 2016;138(3):pii: e20160445.
62. Daniilidis A, Balaouras D, Chitzios D, Balaouras G, Capilna M, Asimakopoulos E. Variation of Ultrasound Findings in the First Trimester Examination of Recurrent Cases With Trisomy 21. *Journal of Clinical Medicine Research* 2015;7(6):495-498.
63. Daniel A, Athayde N, Ogle R, et al. Prospective ranking of the sonographic markers for aneuploidy: data of 2143 prenatal cytogenetic diagnoses

- referred for abnormalities on ultrasound. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2003;43:16–26.
64. Dashe JS, McIntire DD, Ramus RM, Santos-Ramos R, Twickler DM. Hydramnios: Anomaly Prevalence and Sonographic Detection. *Obstetrics & Gynecology* 2002;100(1):134–139.
 65. De Wit MC, Srebniak MI, Govaerts LC, VanOpstal D, Galjaard RJ, Go AT. Additional value of prenatal genomic array testing in fetuses with isolated structural ultrasound abnormalities and a normal karyotype: a systematic review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;43:139–46.
 66. Dey M, Sharma S, Aggarwal S. Prenatal Screening Methods for Aneuploidies. *North American Journal of Medical Sciences* 2013;5(3):182-190.
 67. Dimitrijević A, Lazović J. Istorijat tehnološkog razvoja citogenetike. *PONS Med J* 2012;9(2):62-66.
 68. Dimitrijević A, Varjačić M, Davidović G, Lazović J, Novaković T. Incidenca Daunovog sindroma kod novorođene dece na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Kragujevac u periodu 2007–2012. godine. *Med Čas (Krag) / Med J (Krag)* 2013;47(1):12-16.
 69. Dolan M. The role of the Giemsa stain in cytogenetics. *Biotechnic & Histochemistry* 2011;86(2):94-97.
 70. Driscoll AD, Gross S. Prenatal screening for aneuploidy. *N Eng J Med* 2009;360:2556-2562.
 71. Drummond CL, Gomes DM, Senat MV, Audibert F, Dorion A, Ville Y. Fetal karyotyping after 28 weeks of gestation for late ultrasound findings in a low risk population. *Prenat Diagn* 2003;23:1068–1072.
 72. Duncan A, Langlois S, and SOGC Genetics Committee; CCMG Prenatal Diagnosis Committee. Use of array genomic hybridization technology in prenatal diagnosis in Canada. *J Obstet Gynaecol Can* 2011;33:1256–1259.
 73. Espirito Santo LD, Moreira LMA, Riegel M. Cri-duchat syndrome: clinical profile and chromosomal microarray analysis in six patients. *BioMed Research International* 2016; Article ID 5467083, 9 pages.

74. Fahed AC, Gelb BD, Seidman JG, Seidman CE. Genetics of congenital heart disease: The glass half empty. *Circ Res* 2013;112:707-720.
75. 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 USA* 2008;105:16266-71.
76. Fanaroff AA, Martin RJ. Neonatal-perinatal medicine. 5th ed. St. Louis: Mosby-Year Book; 1992.
77. Ferres MA, Hui L, Bianchi DW. Antenatal noninvasive DNA testing: clinical experience and impact. *Am J Perinatol* 2014;3:577-82.
78. Finderle A, Petrović O. Rani gubitak trudnoće nakon procesa potpomognute oplodnje. *Medicina* 2007;43:290-294.
79. Forouzan I. Hydrops fetalis: Recent advances. *Obstet Gynecol Surv* 1999;54(11):49-57.
80. Gardiner C, Wellesley D, Kilby MD, Kerr B on behalf of the Joint Committee on Genomics in Medicine. Recommendations for the use of chromosome microarray in pregnancy. Royal College of Pathologists, June 2015.
81. Geipel A, Germer U, Welp T, Gembruch SE. "Prenatal diagnosis of single umbilical artery: determination of the absent side, associated anomalies, Doppler findings and perinatal outcome". *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(2):114-117.
82. Goetzinger KR, Stamilio DM, Dicke JM, Macones GA, Odibo AO. Evaluating the incidence and likelihood ratios for chromosomal abnormalities in fetuses with common central nervous system malformations. *Am J Obstet Gynecol* 2008;199(3):285.e1-6.
83. Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;46:650-8.
84. Guć-Šćekić M., Radivojević D. Priručnik iz medicinske genetike. Biološki fakultet, Beograd, Alta nova; 2009; str 157.
85. Gutierrez-Mateo C, Wells D, Benet J, et al. Reliability of comparative genomic hybridization to detect chromosome abnormalities in first polar bodies and metaphase II oocytes. *Human Reproduction* 2004;19(9):2118-2125.

86. Guttenbach M, Engel W, Schmid M. Analysis of structural and numerical chromosome abnormalities in sperm of normal men and carriers of constitutional chromosome aberrations. A review. *Hum Genet* 1997;100(1): 1-21.
87. Hassan Toufaily M, Roberts DJ, Westgate MN, Holmes LB. Triploidy: Variation of Phenotype. *American Journal of Clinical Pathology* 2016;145(1):86–95.
88. Hildebrand E, Selbing A, Blomberg M. Comparison of first and second trimester ultrasound screening for fetal anomalies in the southeast region of Sweden. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 2010;89:1412-1419.
89. Hill LM. The sonographic detection of trisomies 13, 18, and 21. *Clin Obstet Gynecol* 1996;39:831-850.
90. Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2013;41(6):610–20.
91. Hixon L, Goel S, Shuber P, et al. An overview on prenatal screening for chromosomal aberrations. *Journal of Laboratory Automation* 2015;20(5):562-573.
92. Hochstenbach R, Page-Christiaensen GCML, van Oppen AC, et al. Unexplained False Negative Results in Noninvasive Prenatal Testing: Two Cases Involving Trisomies 13 and 18. *Case Reports in Genetics Volume* 2015;926545:7.
93. Iliescu D, Tudorache S, Comanescu A, et al. Improved detection rate of structural abnormalities in the first trimester using an extended examination protocol. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013;42:300-309.
94. Irving C, Richmond S, Wren C, Longster C, Embleton ND. Changes in fetal prevalence and outcome for trisomies 13 and 18: a population-based study over 23 years. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011;24:137–141.
95. Izquierdo LA, Kushnir O, Smith JF, et al. Evaluation of Fetal Sonographic Measurements in the First Trimester by Transvaginal Sonography. *Gynecol Obstet Invest* 1991;32:206–209.

96. Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, et al. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015;45:27–35.
97. Jones KL, Jones MC. A Clinical Approach to the Dysmorphic Child. In: *Principles and Practice of Medical Genetics*. Rimoin DL (ed). Churchill, Livingstone Publishers, New York, 1983.
98. Jones KL. *Smith's Recognizable Patterns Of Human Malformation*. Sixth Edition. Philadelphia; Elsevier Saunders, 2006.
99. Kagan KO, Staboulidou I, Syngelaki A, Cruz J, Nicolaides KH. The 11-3-week scan: diagnosis and outcome of holoprosencephaly, exomphalos and megacystis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;36:10-14.
100. Kashyap N, Pradhan M, Singh N, Yadav S. Early Detection of Fetal Malformation, a Long Distance Yet to Cover! Present Status and Potential of First Trimester Ultrasonography in Detection of Fetal Congenital Malformation in a Developing Country: Experience at a Tertiary Care Centre in India. *Journal of Pregnancy* 2015; vol. 2015, Article ID 623059, 9 pages.
101. Kay H. Fetal Intrauterine Growth Restriction (IUGR). GE Healthcare 2001. Available from: <http://www.iame.com/learning/inar/ingr.html>
102. Kearney L. Molecular cytogenetics. *Best Pract Res Clin Haemato* 2001;14:645-68.
103. Kharrat R, Yamamoto M, Roume J, et al. Karyotype and outcome of fetuses diagnosed with cystic hygroma in the first trimester in relation to nuchal translucency thickness. *Prenat Diagn* 2006;26(4):369-72.
104. Kolgeci S, Lulaj S, Azemi M. Reprodukcijski rizici nositelja strukturnih kromosomskih razmještanja. *Gynaecol Perinatol* 2004;13(4):159–164.
105. Komnenić M, Petrović B, Tadić J, Milićević S, Stamenković J, Ljubić A. A liveborn infant with triploidy 69,XXX: Case report. *Facta universitatis - series: Medicine and Biology* 2015;17(1):42-44.
106. Koo FH, Wang PH, Wang HI, et al. Measurement of fetal maxillary and mandibular angles for first-trimester prenatal screening among Taiwanese women. *Journal of the Chinese Medical Association* 2014;77(8):430-432.
107. Krings K. Nonimmune hydrops. *Postgraduate Obstet and Gynecol* 2006;26:1-7.

108. Kumar P, Burton BK. Congenital malformations: evidence-based evaluation and management. McGraw-Hill Professional, New York, 2008.
109. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, Professional Edition E-Book. Elsevier Health Sciences; 2014.
110. Kurjak A, Kos M. Temelji ultrazvučne dijagnostike u ginekologiji i porodništvu. Zagreb: Art studio Azinović;1998; str. 104-8.
111. Lamont RF, Havutcu E, Salgia S, Adinkra P, Nicholl R. The association between isolated echogenic cardiac foci on second trimester ultrasound scan and trisomy 21 in low- risk unselected women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;23(4):346–351.
112. Leavitt K, Goldwasser T, Bhat G, Kalia I, Klugman SD, Dolan SM. Chromosomal microarray in prenatal diagnosis: case studies and clinical challenges. *Personalized Medicine* 2016;13(3):249-255.
113. Leppig KA, Werler MM, Cann CI, Cook CA, Holmes LB. Predictive value of minor anomalies. I. Association with major malformations. *J Pediatr* 1987;110:531-537.
114. Levy B, Dunn TM, Kaffe S, Kardon N, Hirschhorn K. Clinical applications of comparative genomic hybridization. *Genet Med* 1998;1:4–12.
115. Levy B, Kardon N. Prenatal detection of chromosome abnormalities. *Madame Curie Report*. Landes Bioscience. 2006.
116. Li FY, Chaigne-Delalande B, Kanellopoulou C, et al. Second messenger role for Mg(2+) revealed by human T-cell immunodeficiency. *Nature* 2011;475:471-476.
117. Li Z, Fu F, Lei T, et al. Application of chromosome microarray analysis for the delineation of pathogenesis for fetal ventriculomegaly. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. (Chinese journal of medical genetics) 2017;34(4):576-582.
118. Liu S, Wu Q, Chen Z. Fetal anomalies detection in China by screening with ultrasound. *Biomedical Research* 2017;28(11):4891-4896.
119. Locatelli A, Zagarella A, Toso L, et al. Serial assessment of amniotic fluid index in uncomplicated term pregnancies: prognostic value of amniotic fluid reduction. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004;15:233.

120. Lončar D., Lončar S. Prenatalna dijagnostika. *Acta Medica Medianae* 2008;47:58-66.
121. Lončar D, Stojadinović M, Lončar S. Predictive value of fetal nuchal translucency in screening of chromosomal aberrations. *Acta Medica Medianae* 2011,50(1):11-16.
122. Lovrečić L, Vrečar I, Peterlin B. Molekularna kariotipizacija – nov pristup u kliničkoj i laboratorijskoj genetici. *Medicina fluminensis* 2014;50(2):181-187.
123. MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D986–992.
124. Macri JN, Spencer K, Aitken D, et al. First-trimester free beta (hCG) screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1993;13:557–62.
125. Malone F, Nyberg D, Vidaver J, et al. First and second trimester evaluation of risk (FASTER) trial: The role of second trimester genetic sonography: 5. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(Suppl):S3.
126. Malone FD, Ball RH, Nyberg DA, et al.; FASTER Trial Research Consortium. First-trimester septated cystic hygroma: prevalence, natural history, and pediatric outcome. *Obstet Gynecol* 2005;106(2):288–94.
127. Manegold G, Tercanli S, Struben H, Huang D, Kang A. Is a Routine Ultrasound in the Third Trimester Justified? – Additional Fetal Anomalies Diagnosed After Two Previous Unremarkable Ultrasound Examinations. *Ultraschall in Med* 2011;32(4):381-386.
128. Mao J, Wang T, Wang BJ, et al. Confined placental origin of the circulating cell free fetal DNA revealed by a discordant non-invasive prenatal test result in a trisomy 18 pregnancy. *Clin Chim Acta* 2014;433:190-193.
129. Marden PM, Smith DW, McDonald MJ. Congenital anomalies in the newborn infant, including minor variations. A study of 4,412 babies by surface examination for anomalies and buccal smear for sex chromatin. *J Pediatr* 1964;64:357-371.
130. Mardešić D, i suradnici. *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga ; 2003.
131. McAuliffe FM, Hornberger LK, Winsor S, Chitayat D, Chong K, Johnson JA. Fetal cardiac defects and increased nuchal translucency

- thickness: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(4):1486–1490.
132. McBrien A, Sands A, Craig B, Dornan J, Casey F. Impact of a regional training program in fetal echocardiography for sonographers on the antenatal detection of major congenital heart disease. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;36:279–284.
133. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *American Journal of Human Genetics* 2010;86(5):749-764.
134. Mitelman F, editor. *ISCN (1995): An International System for Human Cytogenetics Nomenclature*. S.Karger, Basel. 1995.
135. Morales-Rosello J, Llorens NP. Outcome of Fetuses with Diagnosis of Isolated Short Femur in the Second Half of Pregnancy. *ISRN Obstetrics and Gynecology* 2012:1-5.
136. Morin SJ, Eccles J, Iturriaga A, Zimmerman RS. Translocations, inversions and other chromosome rearrangements. *Fertil Steril* 2017;107(1):19–26.
137. Muller MA, Pajkrt E, Bleker OP, Bonsel GJ, Bilardo CM. Disappearance of enlarged nuchal translucency before 14 weeks' gestation: relationship with chromosomal abnormalities and pregnancy outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;24:169–174.
138. Mueller RF, Young ID. *Emery's Elements of Medical Genetics*. 11th ed. London: Churchill Livingstone; 2001.
139. Nadel AS, Bromley B, Frigoletto FD Jr, Benacerraf BR. Can the presumed risk of autosomal trisomy be decreased in fetuses of older women following a normal sonogram? *J Ultrasound Med* 1995;14:297-302.
140. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ : British Medical Journal* 1992;304(6831):867-869.
141. Nicolaides KH, Snijders RJM, Gosden RJM, Berry C, Campbell S. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 1992;340:704–707.

142. Nicolaides KH. Screening for aneuploidies at 11–13 weeks. *Prenatal Diagn* 2011;31(1):7–15.
143. Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 640. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2015;126:31-37.
144. Novelli A, Grati FR, Ballarati L, et al. Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012;39:384–388.
145. Novotná M, Hašlík L, Svabík K, et al. Detection of fetal major structural anomalies at the 11-14 ultrasound scan in an unselected population. *Ceska Gynekol* 2012;77(4):330-335.
146. Nyberg DA, Luthy DA, Resta RG, Nyberg BC, Williams MA. Age-adjusted ultrasound risk assessment for fetal Down's syndrome during the second trimester: description of the method and analysis of 142 cases. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:8-14.
147. Nyberg DA, Souter VL, El-Bastawissi A, et al. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001;20:1053–1063.
148. O'Connor C. Trisomy 21 causes Down syndrome. *Nature Education* 2008;1(1):42.
149. Orlandi F, Damiani G, Hallahan TW, Krantz DA, Macri JN. First-trimester screening for fetal aneuploidy: Biochemistry and nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997;10:381–386.
150. Ott WJ. Reevaluation of the relationship between amniotic fluid volume and perinatal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1803.
151. Pagani G, Thilaganathan B, Prefumo F. Neurodevelopmental outcome in isolated mild fetal ventriculomegaly: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2014;44:254–260.
152. Palomaki GE, Deciu C, Kloza EM, et al. DNA sequencing of maternal plasma reliably identifies trisomy 18 and trisomy 13 as well as Down syndrome: an international collaborative study. *Genet Med* 2012;14:296-305.

153. Papović R, Luković LJ, Novaković I, i sar. Humana genetika. Medicinski fakultet Beograd, CIBID; 2011.
154. Park S-J, Jung EH, Ryu R-S, et al. Clinical implementation of whole-genome array CGH as a first-tier test in 5080 pre and postnatal cases. *Molecular Cytogenetics*. 2011;4:12.
155. Pereza N, Zergollern-Čupak Lj, Ostojić S. Elektroničke baze podataka humanih genetičkih poremećaja: osnove diferencijalne dijagnostike u kliničkoj genetici. *Medicina* 2009;45:22-37.
156. Pereza N, Ostojić S, Zergoller-Čupar L, Kapović M, Peterlin B. Klinička dismorfologija i razvojne anomalije. *Medicina Fluminensis* 2010;46(1):5-18.
157. Petković I, Barišić I. Application of fluorescence in situ hybridization (FISH) in clinical genetics. *Paediatr Croat* 2001;45:175-178.
158. Picklesimer AH, Moise KJ, Wolfe HM. The impact of gestational age on the sonographic detection of aneuploidy. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:1243–1247.
159. Popić-Paljić F, Krstić A. Genetičko savetovanje. Medicinski fakultet, Novi Sad, Futura; 1995.
160. Primakoff P, Myles DG. The ADAM gene family: surface proteins with adhesion and protease activity. *Trends Genet* 2000; 16(2): 83-7.
161. Purves WK, Orians GH, Heller HCR. *Life: The Science of Biology*. 4th ed. Sinauer Associates; 1994.
162. Radunović N. Prenatalna dijagnostika i fetalna terapija. Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb; 1989; str. 31-46.
163. Raniga S, Desai PD, Parikh H. Ultrasonographic soft markers of aneuploidy in second trimester: are we lost? *Med Gen Med* 2006;8:9.
164. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Increased time-to-pregnancy and first trimester Down's syndrome screening. *Hum Reprod* 2010;25(2):412-417.
165. Ratanasiri T, Ratanasiri T, Komwilaisak R, Saksiriwuttho P. Second trimester genetic ultrasound for Down syndrome screening at Srinagarind Hospital. *J Med Assoc Thai*. 2014; Suppl 10:S89-96.

166. Ratnam SS, Rao KB, Arulkumaran S. Non-immune hydrops foetalis. In: Ratnam SS, Rao KB, Arulkumaran S, eds. *Obstetrics and Gynecology for postgraduates*. Madras: Orient Longman; 1994. p. 176-185.
167. Ray A. First trimester screening. *Internacional journal of gynecology, obstetrics and neonatal care* 2015;2:11-18.
168. Renna MD, Pisani P, Conversano F, et al. Sonographic markers for early diagnosis of fetal malformations. *World Journal of Radiolog.* 2013;5(10):356-371.
169. Riggs ER, Jackson L, Miller DT, Van Vooren S. Phenotypic information in genomic variant databases enhances clinical care and research: the International Standards for Cytogenomic Arrays Consortium experience. *Hum Mutat* 2012;33:787–796.
170. Rinčić M. *Molekularna citogenetika nekih neurorazvojnih poremećaja*. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu. 2014.
171. Robinson DO, Jacobs PA. The Origin of the Extra Y Chromosome in Males with a 47,XYY Karyotype, *Human Molecular Genetics* 1999;8(12):2205–2209.
172. Ross J, Roeltgen D, Zinn A. Cognition and the sex chromosomes: studies in Turner syndrome. *Horm Res* 2006;65:47–56.
173. Rossi AC, Prefumo F. Accuracy of ultrasonography at 11-14 weeks of gestation for detection of fetal structural anomalies: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2013;122:1160-1167.
174. Rotmensch S, Liberari M, Bronshtein M, et al. Prenatal sonographic findings in 187 fetuses with Down syndrome. *Prenatal Diagnosis* 1997;17:1001-07.
175. Rydberg C, Tunón K. Detection of fetal abnormalities by second-trimester ultrasound screening in a non-selected population. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2017;96:176–182.
176. Sahin O, Dogru O, Gursan N, Ikbal M, Albayrak A, Gundogdu C. Turner Syndrome and cystic hygroma. *European Journal of General Medicine* 2006;3(3):136-138.
177. Sanhal CY, Mendilcioglu I, Ozekinci M, et al. Prenatal management, pregnancy and pediatric outcomes in fetuses with septated cystic hygroma. *Braz J Med Biol Res.* 2014;47(9):799-803.

178. Sansović I, Ivankov A, Bobinec A, Barišić I. Kromosomski microarray u kliničkoj dijagnostici. *Paediatr Croat* 2016;60(1):58-64.
179. Schluter PJ, Pritchard G. Mid trimester sonographic findings for the prediction of Down syndrome in a sonographically screened population. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:10–16.
180. Schrock E, Veldman T, Padilla-Nash H, et al. Spectral karyotyping refines cytogenetic diagnostics of constitutional chromosomal abnormalities. *Human genetics*. 1997;101(3):255-262.
181. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971;2(7731):971-972.
182. Sepúlveda W, Be C, Youlton R, et al. Trisomía 18: Diagnóstico citogenético prenatal y hallazgos ultrasonográficos. *Rev Chil Ultrasonog* 1999;2:48-54.
183. Sepúlveda W, Dezerega V, Be C, et al. Trisomía 13: Diagnóstico citogenético prenatal y hallazgos ultrasonográficos. *Rev Chil Ultrasonog* 1999;2:23-28.
184. Shaffer LG, Rosenfeld JA, Dabell MP, et al. Detection rates of clinically significant genomic alterations by microarray analysis for specific anomalies detected by ultrasound. *Prenat Diagn* 2012;32:986–95.
185. Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ, editors. *ISCN (2009): An International System for Human Cytogenetics Nomenclature*. S.Karger, Basel. 2009.
186. Shaffer LG, Tommerup N, editors. *ISCN (2005): An International System for Human Cytogenetics Nomenclature*. S.Karger, Basel. 2005.
187. Shanks AL, Odibo AO, Gray DL. Echogenic intracardiac foci: associated with increased risk for fetal trisomy 21 or not? *J Ultrasound Med* 2009;28:1639–1643.
188. Shen O, Lieberman S, Farber B, Turner D, Lahad A, Levy-Lahad E. Prenatal Isolated Ventricular Septal Defect May Not Be Associated with Trisomy 21. *Journal of Clinical Medicine* 2014;3(2):432-439.
189. Shimada S, Yamada H, Hoshi N, et al. Specific ultrasound findings associated with fetal chromosome abnormalities. *Congenital Anomalies* 2009;49:61–65.

190. Shinawi R and Cheung S. The array CGH and its clinical applications. *Drug Discovery Today* 2008;13:760-770.
191. Simsek S, Turkyilmaz A, Oral D, et al. Genetic Analysis in Pregnancy with Fetal Pathologic Ultrasound Findings. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 2013;27(3):3829-3833.
192. Smith-Bindman R, Chu P, Goldberg JD. Second trimester prenatal ultrasound for the detection of pregnancies at increased risk of Down syndrome. *Prenat. Diagn* 2007;27:535–544.
193. Smoleniec J, Weiner C, James DK. Fetal hydrops. In: DK James, PJ Steer, CP Weiner, B Gonik, editors. *High-risk pregnancy management options*. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders; 1999. p. 327-338.
194. Snijders RJ, Sebire NJ, Nicolaides KH. Assessment of risks. In: Snijders RJM, Nicolaides KH, editors. *Ultrasound Markers for Fetal Chromosomal Defects*. New York: Parthenon; 1996. pp. 62–120.
195. Sohl B, Scioscia A, Budorick NE, Moore TR. Utility of minor ultrasonographic markers in the prediction of abnormal fetal karyotype at a prenatal diagnostic center. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:898-903.
196. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer* 1997;20:399–407.
197. Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, Sonek JD, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency with normal karyotype. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192(4):1005–1021.
198. Speicher MR, Gwyn Ballard S, Ward DC. Karyotyping human chromosomes by combinatorial multi-fluor FISH. *Nat Genet* 1996;12(4):368-75.
199. Srebniak MI, de Wit MC, Diderich KE, et al. Enlarged NT (≥ 3.5 mm) in the first trimester – not all chromosome aberrations can be detected by NIPT. *Mol Cytogenet* 2016;9:69.
200. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17(3):182-92.
201. Stefanovic V, Ayras O, Eronen M, Paavonen J, Tikkanen M. Clinical utility of nuchal translucency screening. *Res Rep Neonatol* 2014;4:169–76.

202. Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth M.P. Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. *Hum Genet* 1993;91:37-41.
203. Syngelaki A, Chelemen T, Daklis E, et al. Challenges in the diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities at 11-13 weeks. *Prenatal Diagnosis* 2011; 31: 90-102.
204. Szabo J, Gellen J. Nuchal fluid accumulation in trisomy-21 detected by vaginosonography in first trimester. *Lancet* 1990;336(8723):1133.
205. Tayyar AT, Tayyar A, Tayyar M. Prenatal management of cystic hygroma and long term outcomes. *Medicine Science* 2017;6(2):375-358.
206. Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education* 2008;1(1):45.
207. Todros T, Massarenti I, Gaglioti P, Biolcati M, Botta G, Felice CD. Fetal short femur length in the second trimester and the outcome of pregnancy. *BJOG*. 2004;111:83-5.
208. Tomić V, Vidović S. Primjena erej komparativne genomske hibridizacije u medicinskoj genetici. Skup, 7(1): Zbornik radova III Simpozijuma biologa i ekologa Republike Srpske (SBERS 2015), Banja Luka, 12-14. novembar 2015. Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, 2016;5-10.
209. Turnpenny P, Ellard S. Emery's elements of medical genetics. 13th ed. Elsevier Limited; 2007.
210. Turnpenny PD, Ellard S. Emery's Elements of Medical Genetics. 14th ed. Elsevier Health Sciences; 2014.
211. Tutar Y. Pseudogenes. *Comparative and Functional Genomics* 2012;2012:424526.
212. Vintzileos AM, Campbell WA, Guzman ER, Smulian JC, McLean DA, Ananth CV. Second-trimester ultrasound markers for detection of trisomy 21: which markers are best? *Obstet Gynecol* 1997;89:941-944.
213. Vijaykumar M, Shailaja M, Nilofar M, Kulkarni N. Detection of structural fetal anomalies in third trimester which usually remains undetected in second trimester. *International Journal of Applied Research* 2017;3(2):158-162.

214. Virmani M. Chromosomal anomalies first and second trimester ultrasound. *Int J Hum Genet* 2006; Suppl 2/2006:6–43.
215. Vissers LE, Veltman JA, van Kessel AG, Brunner HG. Identification of disease genes by whole genome CGH arrays. *Hum Mol Genet* 2005;14:2:R215–23.
216. Vulto-van Silfhout AT, van Ravenswaaij CM, Hehir-Kwa JY, et al. An update on ECARUCA, the European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations. *Eur J Med Genet* 2013;56:471–474.
217. Wagner J. Free DNA-new potential analyte in clinical laboratory diagnostics? *Biochem Med* 2012;22:24-38.
218. Wagner J. Primjena slobodne fetalne DNA iz krvi majke za probir aneuploidija: prednosti i ograničenja. *Paediatr Croat* 2015;59:118-24.
219. Wagner J. Neinvazivno prenatalno testiranje. *Paediatr Croat* 2016;60(1):46-52.
220. Wang T, Chengying Duan C, Shen C, Xiang J, Quanze He Q, Ding J. Detection of complex deletions in chromosomes 13 and 21 in a fetus by noninvasive prenatal testing. *Molecular Cytogenetics* 2016;9:3.
221. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *The New England journal of medicine* 2012;367(23):2175–84.
222. Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints. *American Journal of Human Genetics* 1991;49(5):995-1013.
223. Wax JR, Guilbert J, Mather J, et al. Efficacy of community-based second trimester genetic ultrasonography in detecting the chromosomally abnormal fetus. *Journal of Ultrasound in Medicine* 2000;19:689–694.
224. WHO. Birth defects. Report by the Secretariat. 2009.
225. Williamson RA, Weiner CP, Patil S, Benda J, Varner MW, Abu-Yousef MM. Abnormal pregnancy sonogram: selective indication for fetal karyotype. *Obstet Gynecol* 1987;69:15-20.
226. Wollmann HA. Intrauterine growth restriction: definition and etiology. *Horm Res* 1998;49(2):1–6.

227. World Health Organization [Internet] . Genomic resource centre: Resources for patients and the public. WHO 2017. dostupno na: <http://www.who.int/genomics/public/geneticdiseases/en/index1.html> 9.06.2017.
228. www.genecards.org
229. www.genome.gov
230. www.omim.org
231. www.safegenebalkan.com
232. Yankova M, Stratieva V, Chaveeva P, Hadjidekov G. Detection of Fetal Defects in First Trimester by Ultrasound Examination - Abilities and Limitations. *International Journal of Gynecology, Obstetrics and Neonatal Care* 2016;3:41-46.
233. Zahn CM, Hankins GD, Yeomans ER. Karyotypic abnormalities and hydramnios. Role of amniocentesis. *J Reprod Med* 1993;38:599–602.
234. Zhang J, Williams MA, Rigamonti D. Genetics of human hydrocephalus. *Journal of Neurology* 2006;253(10):1255-1266.
235. Zhang X, Zhu W, Zhang J, et al. MicroRNA-650 targets ING4 to promote gastric cancer tumorigenicity. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;395:275-280.
236. Zhang Z, Xie Y, Wu J, et al. Chromosomal microarray analysis for lateral ventriculomegaly in fetus. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi. (Chinese journal of medical genetics)* 2015;32(6):789-92. [Article in Chinese]
237. Zhong Q, Layman LC. Genetic Considerations in the Patient with Turner Syndrome—45,X with or without Mosaicism. *Fertility and sterility* 2012;98(4):775-779.
238. Zhong Y, Longman R, Bradshaw R, Odibo AO. The Genetic Sonogram: Comparing the use of likelihood ratios versus logistic regression coefficients for Down syndrome screening. *Journal of Ultrasound in Medicine* 2011;30(4):463-469.

BIOGRAFIJA

Dr Bojana Petrović rođena je 1977. godine u Beogradu.

Na Medicinskom fakultetu u Beogradu, koji je upisala 1995. godine, diplomirala je 2001. godine, sa prosečnom ocenom 7,60.

Stručni ispit za doktora medicine položila je 2002. godine.

Magistarske studije iz oblasti Humana genetika upisala je 2001. godine na Medicinskom fakultetu u Beogradu, i položila magistarski ispit sa ocenom 10. Magistarsku tezu pod nazivom "Analiza gubitka heterozigotnosti na hromozomu br. 17 kod karcinoma ovarijuma" odbranila je 2006. godine

Specijalistički staž iz oblasti Imunologija, na Medicinskom fakultetu u Beogradu obavljala je od 2005. do 2008. godine i 2009. godine položila specijalistički ispit.

Stož uže specijalizacije iz oblasti Klinička genetika obavljala je od 2010. do 2011. godine. Ispit uže specijalizacije položila je 2013. godine sa odličnom ocenom. U junu 2013. godine odbranila je rad uže specijalizacije pod nazivom "Ultrasonografska dijagnostika hromozomskih aberacija fetusa u drugom trimestru graviditeta".

Od 2001. do 2003. bila je zaposlena na poslovima lekara opšte prakse u Kliničko-bolničkom centru Zemun, Domu zdravlja "Stari grad" i Domu zdravlja "Voždovac".

Od 2003. godine zaposlena je na poslovima citogenetičara, a od juna 2013. na poslovima Šefa kabineta za citogenetiku u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

Stalni je konsultant Odseka za perinatalnu i reproduktivnu genetiku i endokrinologiju, i stalni član Konzilijuma za fetalne anomalije u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije.

Završila je Letnju školu javnog zdravlja, iz oblasti "Public Health Genetics", 2005. godine., kao najuspešniji polaznik.

Dva meseca provela je na stručnom usavršavanju iz oblasti genetike i vantelesne oplodnje na Semmelweis univerzitetu u Budimpešti, 2006. godine.

Član je Srpskog lekarskog društva i Društva genetičara Srbije.

Autor je ili koautor u 29 publikovanih stručnih i naučnih radova iz oblasti medicinske genetike i humane reprodukcije.

Udata je i majka troje dece.

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisani-a Bojana Petrović

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

ZNAČAJ KARIOTIPIZACIJE FETUSA SA IZOLOVANOM
ANOMALIJOM OTKRIVENOM ULTRAZVUČNIM PREGLEDOM

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da predložena disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 12.03.2018.

Potpis doktoranda

Bojana Petrović

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Bojana Petrović

Naslov rada

ZNAČAJ KARIOTIPIZACIJE FETUSA SA IZOLOVANOM
ANOMALIJOM OTKRIVENOM ULTRAZVUČNIM PREGLEDOM

Mentor Prof. dr Olivera Kontić Vučinić

Potpisani Bojana Petrović

izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 12.03.2018.

Potpis doktoranda



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**ZNAČAJ KARIOTIPIZACIJE FETUSA SA IZOLOVANOM
ANOMALIJOM OTKRIVENOM ULTRAZVUČNIM PREGLEDOM**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

U Beogradu, 12.03.2018.

Potpis doktoranda

Bojana Neupokud