

Magzati aneuploidiák szabadnukleinsav-alapú, nem invazív diagnosztikája

Lázár Levente dr. ■ Nagy Gyula Richárd dr.
Rigó János jr. dr. ■ Nagy Bálint dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

A magzati aneuploidiák kizárása a korszerű prae-natalis diagnosztika egyik legfontosabb kihívása. Az elmúlt évtizedekben, köszönhetően az ultrahangos vizsgálóberendezések, valamint a molekuláris biológiai módszerek fejlődésének, a magzati kromoszóma-rendellenességek szűrése jelentős fejlődésen ment keresztül. Pozitív szűrővizsgálati eredmények esetében azonban a várandósoknak továbbra is szembe kell nézniük az invazív diagnosztika által jelentett vetélés kockázatával. Az invazív mintavételi módszerek vetélés-kockázatát figyelembe véve érthető, hogy egyre nagyobb igény van olyan vizsgálómódszerek fejlesztésére, amelyek során úgy juthatunk magzati eredetű mintához, hogy a vetélés-kockázatot kiküszöböljük, ugyanakkor a vizsgálómódszer érzékenysége és specificitása megközelíti vagy eléri az invazív mintavétel során nyert minták vizsgálati eredményeinek megbízhatóságát. Az anyai vérben keringő, magzati eredetű szabad nukleinsavak vizsgálata reális esélyt jelent a cél elérésére, lehetőséget teremtve az invazív mintavételek számának ésszerű/megalapozott csökkentésére. Jelen közleményünkben röviden összefoglaljuk a magzati aneuploidiák nem invazív diagnosztikájának hátterét és lehetőségeit.

Orv. Hetil., 2012, 153, 1687–1691.

Kulcsszavak: prae-natalis diagnosztika, szabad magzati nukleinsavak, digitális PCR

Cell-free nucleic acid based non-invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies

Prenatal detection of fetal aneuploidies is one of the main goals of the prenatal diagnostic approach. As a benefit of the development of advanced ultrasound equipment and advances in molecular biology in the last decade, there is a significant progress in screening methods for fetal aneuploidies, although invasive methods remain the gold standard for aneuploidy detection. Non-invasive prenatal diagnosis has substantial medical impact as it targets the development of safer and more effective methods to avoid the risk of fetal loss associated with currently used invasive methods. Identification of fetal-specific messenger ribonucleic acids, digital polymerase chain reaction and next-generation sequencing give the real chance for non-invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies. Although all these methods have both advantages and limitations, some of them are moving closer to clinical implementation. In this review the authors highlight the most recent advances in methods for non-invasive prenatal diagnosis of aneuploidies.

Orv. Hetil., 2012, 153, 1687–1691.

Keywords: prenatal diagnosis, cell-free fetal nucleic acids, digital PCR

(Beérkezett: 2012. szeptember 3.; elfogadva: 2012. szeptember 27.)

Rövidítések

AFP = alfa-fötöprotein; b-HCG = humán béta-koriogonadotropin; CGH = komparatív genomális hibridizációs array; CVS-mintavétel = lepényboholy-mintavétel; GAC-mintavétel = magzatvíz-mintavétel; GE = genomekvivalens; FISH = fluoreszcens in situ hibridizáció; fluoreszcens PCR = fluoreszcens polimeráz láncreakció; NT = nyaki redő; SNP = single nucleotide polimorfizmus

A terhesség során végzett szűrő- és diagnosztikus vizsgálatok célja a várandós, illetve a magzat egészségi állapotának vizsgálata, az anyai veszélyállapotok időben történő felismerése, a magzati veszélyállapotok kialakulásának megelőzése, valamint fejlődési rendellenességek és genetikai rendellenességek diagnosztizálása. A várandósság során végzett szűrő- és diagnosztikai jellegű vizs-

gálatokat invazív és nem invazív csoportba sorolhatjuk. A nem invazív szűrő/diagnosztikus vizsgálatok csoportjába a terhesség során végzett ultrahangos szűrővizsgálatok, valamint az anyai vérből elvégzett biokémiai vizsgálatok tartoznak. Az invazív vizsgálatok a magzat kromoszóma-, illetve genetikai betegségeinek vizsgálatához szükséges mintavételi módszereket (lepényboholy-, magzatvíz-, magzati szövet-, köldökzsinórvér-mintavétel) és a hozzá kapcsolódó cito-, molekuláris genetikai vizsgálatokat jelentik.

Magzati aneuploidia szűrővizsgálatok terhességben

A magyar terhességrendelői gyakorlatban a várandósság kilenc hónapja alatt négy ultrahangos szűrővizsgálat elvégzése kötelező: a terhesség 11–13., 18–19., 30–31., valamint 36–37. hetében [1]. Az első trimeszteri (11–13. terhességi hét) és a második ultrahangszűrés (18–19. terhességi hét) kiemelkedő fontosságú a magzati kromoszóma-rendellenességek szűrésében. A 11–12. terhességi héten az első trimeszteri magzati anatómia részletes vizsgálata magába foglalja a magzati tarkóredő, orrcsont, ductus venosus, valamint tricuspidalis áramlás, illetve arcszög részletes vizsgálatát [2]. A második ultrahangszűrés során, a terhesség 18–19. hetében, a magzati anatómia részletes vizsgálata során olyan minor ultrahangeltérések mutatkozhatnak meg, amelyek önmagukban nem számítanak fejlődési rendellenességnek, de emelik a magzati kromoszóma-rendellenesség előfordulásának valószínűségét. A magzat esetleges kromoszóma-rendellenességeit szűrő nem invazív vizsgálatok másik csoportja a szérumbiokémiai markerek vizsgálata a terhesség első és második trimeszterében. A terhesség 11–13. hetében végzett biokémiai vizsgálatok (PAPP-A, humán béta-koriogonadotropin, b-HCG) meghatározása, ezen értékeknek az első ultrahangvizsgálat során mért nyakredő- (NT-) értékkel történő kombinálása (kombinált teszt), illetve a második trimeszterben mért alfa-fetoprotein (AFP), vizelet-ösztadiol (uE3), szabad b-hCG és inhibin-A (négyes teszt) és a kettő kombinációja (integrált teszt) alkalmazsak arra, hogy a magzati kromoszóma-rendellenesség előfordulási valószínűségét, megfelelő szoftverek segítségével, számszerűleg megbecsüljék. Az egyes szűrővizsgálati módszerek, a biokémiai vizsgálatok különböző kombinációi az első trimeszteri ultrahangvizsgálat eredményeivel együttesen különböző érzékenységgel: első trimeszteri komplex ultrahangszűrés: $\approx 85\%$, kombinált teszt: $\approx 85\text{--}90\%$, integrált teszt esetében: $\approx 90\text{--}93\%$, mindezek mellett pozitív prediktív értékük igen alacsony [3, 4].

Fontos azonban leszögezni, hogy sem az ultrahangvizsgálatok, sem a biokémiai szűrővizsgálatok a magzati kromoszóma-rendellenesség diagnosztizálására nem alkalmasak, csupán szűrővizsgálatként alkalmazhatóak.

Invazív mintavételi/diagnosztikai módszerek

A magzat kromoszóma-rendellenességének diagnosztikája valamely mintavétel során nyert magzati minta citogenetikai és/vagy molekuláris genetikai vizsgálatán alapszik. Ezek a mintavételi módszerek: a magzati lepényboholy- (CVS), magzatvíz- (GAC), magzati köldökzsinórvér-, magzati szövetmintavétel különböző mértékű vetélskockázattal járnak. A vetélskockázat egyaránt érinti a beteg és egészséges magzatokat. A vetélskockázat a különböző mintavételi módszerek esetében a mintavevő jártasságának megfelelően átlagosan $0,5\text{--}2\%$ [5, 6].

Az invazív mintavételi módszerek során nyert magzati minta feldolgozása a minta milyenségétől és a vizsgált betegségtől függően eltérő. A magzatvízmintából nyert magzati sejtek hagyományos karyotypizálásához a sejtek tenyésztése szükséges. A chorionboholy-mintavétel során nyert sejtek tenyésztése nem feltétlenül szükséges. A klasszikus karyotypizálásokon kívül fluoreszcens polimeráz láncreakció (fluoreszcens PCR), fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) és komparatív genomiális hibridizációs array (CGH) is alkalmazható a magzati aneuploidiák diagnosztizálására [7, 8].

Szabadnukleinsav-alapú prae-natalis diagnosztika

Az invazív mintavételi módszerek által jelentett vetélskockázatot figyelembe véve érthető, hogy egyre nagyobb igény van olyan vizsgálati módszerek fejlesztésére, amelyek során úgy juthatunk magzati eredetű mintához, hogy a vetélskockázatot kiküszöböljük, ugyanakkor a vizsgálati módszer érzékenysége, specificitása megközelíti vagy eléri az invazív mintavétel során nyert minták vizsgálati eredményeinek megbízhatóságát.

Az anyai vérben fellelhető szabad magzati DNS

A humán placenta szerkezetét tekintve a haemochorioendothelialis típusú méhlepények közé sorolandó. Az uteroplacentaris ereken az intervillusos térbe jutó anyai vér a chorionlemeznek ütközve visszafordul és az uteroplacentaris vénákon és széli sinusokon keresztül áramlik vissza az anyai keringésbe.

A méhlepénynek a gázcserében, a magzat táplálásában, valamint a kóros anyagcseretermékek kiválasztásában betöltött szerepét az anyai és a magzati keringést elválasztó „membrán” tulajdonságai határozzák meg. A transzplacentaris transzport, jelenlegi tudásunk szerint, négyféle módon zajlik: egyszerű diffúzióval, facilitált diffúzióval, aktív transzporttal, illetve pinocytosis útján. A lepény mikroszkopikus szerkezete nem teszi lehetővé a DNS-molekulák „hagyományos” transzportját

a fetomaternalis barrieren keresztül. A szabad DNS anyai keringésbe történő bejutása ezért vélhetően nem a „szokásos” transzportmechanizmusokkal történik. Az anyai vérben fellelhető szabad magzati nukleinsavak fő forrása a lepény trophoblastsejtjeinek apoptózisa [9].

Mennyiségét tekintve kora terhességben a szabad magzati DNS mennyisége az összes szabad plazma-DNS mintegy 3,4%-a [10]. A későbbiekben a szabad magzati DNS mennyiségének növekedését 4,2 genomekvivalens (GE)/hét-re becsülték [11]. Terminusközelségben a szabad magzati DNS mintegy 6,2%-át teszi ki a plazmában fellelhető összes szabad DNS mennyiségének [10]. A terhesség megszűnését követően a szabad magzati DNS gyorsan eliminálódik a vérből. Átlagos felezési ideje 16,3 GE/perc, aminek következtében két órával a szülést követően a szabad magzati DNS-t nem lehet a megszült nő vérplazmájából kimutatni [12]. A szabad magzati DNS eliminálásáért főként az anyai vese és máj a felelős [13].

Az anyai vérben keringő szabad magzati DNS kimutatására és a kutatások eredményének közlésére elsőként 1997-ben került sor. A szabad magzati DNS meghatározása Y-kromoszóma-specifikus DYS14-próba felhasználásával történt *Lo és munkacsoportja* által, 43 terhes esetében a terhesség 12. és 40. hete között. Az elvégzett vizsgálatok 70%-ában igazolták a magzati DNS jelenlétét (Y-kromoszóma) az anyai szérumban [14].

A magzati aneuploidiák nem invazív vizsgálata

Az anyai keringésben fellelhető magzati nukleinsavak diagnosztikai célra történő felhasználásának kardinális problémája az anyai és magzati fragmentumok elkülönítése. Azokban az esetekben, ahol az anyai és magzati eredetű fragmentumok között különbség van, például fiú magzat vagy RhD-negatív anya RhD-pozitív magzata, a plazmában keringő szabad DNS megbízhatóan használható nem invazív diagnosztikai céllal [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Az esetek más részében egy adott génre nézve az anyai és magzati, valamint apai allélok nem feltétlenül különböznek. A kezdeti kutatások a szabad magzati DNS kvantitatív meghatározásában keresték a megoldást. Kromoszóma-rendellenességek, aneuploidiák esetén a szabad DNS mennyiségi eltérései ellentmondásosak [21]. A kromoszóma-rendellenességek és a szabad DNS összefüggésének hátterében a kromoszóma-rendellenességek esetében talált számos, a lepényt érintő szövettani eltérés feltételezhető. A 21-es triszómia esetén három tanulmány számol be a szabad magzati DNS koncentrációjának emelkedéséről, míg másik négy tanulmány tanulsága szerint nincs különbség a normál karyotipusú magzatot viselő, illetve a Down-szindrómás magzatot viselő várandósok vérében fellelhető szabad magzati DNS-koncentráció között. 13-as triszómia esetén csökkent, a 18-as triszómia esetén nem változott szignifikánsan a szabad DNS mennyisége [22,

23]. Az ellentmondásos eredmények azt sugallják, hogy a szabad magzati DNS kvantitatív meghatározása nem mutat egyértelmű összefüggést a magzati aneuploidiákkal. Megállapítható, hogy a szabad DNS kvantitatív meghatározása nem alkalmas a magzati aneuploidiák, a klasszikus chorionboholy- vagy magzatvízminta, karyotypizálás, fluoreszcens in situ hibridizáció, illetve fluoreszcens PCR útján történő diagnosztizálásának kiváltására.

Az elmúlt évek során arra kerestük/keresték a választ, miképpen mutatható ki egy euploid és egy aneuploid magzatot viselő várandós plazmájában keringő DNS-fragmentumok közti különbség, ami nagyságrendileg 0,05-szoros.

A mRNS single nucleotide polimorfizmus (SNP) vizsgálata

Minden magvas sejt az emberi szervezetben körülbelül 25 000 gént tartalmaz, azonban a sejt nem minden génye van bekapcsolt állapotban (expresszálódik). Az aktív gének esetében, a DNS-ről mRNS szintetizálódik, így minden emberi szövet egyedi mRNS-profilal rendelkezik. A lepényszövetből izolált mRNS és a nem terhes nő perifériás vérének mRNS-profilját összevetve olyan mRNS-molekulákat találhatunk, amelyek a magzat tekintetében egyediek. A módszer további előnye, hogy minden aktív génről számos mRNS-molekula íródik át, ezáltal „amplifikálódik” a mRNS-molekula. Az elmúlt tíz évben microarray-technológiával számos olyan placentaspecifikus marker került meghatározásra, amelyek alkalmasak lehetnek a magzati aneuploidiák meghatározására [24, 25].

Amennyiben a magzat homozigóta, a két 21 kromoszóma kiválasztott mRNS-SNP tekintetében az allélok SNP aránya 1:1, amennyiben a magzat heterozigóta, az arány 1:2 vagy 2:1-nek adódik. *Lo és munkacsoportja* által végzett vizsgálat a módszer érzékenységét 96,5%-ra becsülte [26]. A módszer hátránya, hogy az apai és anyai allél esetében SNP-nek kell fennállnia. Természetesen minél több marker áll a rendelkezésünkre, annál nagyobb a valószínűsége az SNP-nek, ezzel arányosan növekszik a módszer megbízhatósága. A lepényspecifikus mRNS-ek számának emelése, valamint a módszer technikai részletei (cDNS írása) pillanatnyilag nehézkessé teszik a módszert, mindamellett diagnosztikai megbízhatósága nem haladja meg lényegesen a kombinált biokémiai/ultrahang szűrések pontosságát, elmaradva az invazív vizsgálatok megbízhatóságától.

Digitális PCR

A bevezetőben említetteknek megfelelően a magzati DNS kismértékben hozzájárul a terhes vérplazmájában keringő szabad DNS mennyiségéhez. Euploid magzat esetén kromoszómaspecifikus szekvenciánként 50 GE/ml

összes szabad DNS-re 5 GE/ml szabad magzati DNS jut, azaz 10% magzati DNS. 100 DNS-kópiából milliliterenként 90 anyai, 10 magzati eredetű.

21-es kromoszóma triszómiája esetén milliliterenkénti 105 kópiából 90 anyai, 15 magzati eredetű. Ezt alapul véve a kópiaszám aneuploid magzat esetében 1,05-szoros az euploid magzat esetén számolt értéknek. Klaszikus real time PCR esetén egy ciklusban mérhető koncentrációkülönb (Ct) 1,5-szeres koncentrációkülönbséget képes kimutatni.

A digitális PCR, nagy számú PCR-reakció segítségével, lehetővé teszi a DNS molekulánkénti azonosítását nagy hígítású nukleinsavminták esetén is. A módszer során reakciócellánként egy DNS-szekvenciát tudunk azonosítani, attól függően, hogy a reakciócellában jelen van-e a megfelelő DNS-szekvencia, pozitív vagy negatív jelet kapunk, így a jelen lévő szekvenciák száma pontosan meghatározható. Aneuploid magzatot viselő várandós vérplazmájából nyert DNS-szekvenciák digitális PCR (high throughput sequencing, massive parallel sequencing) vizsgálata lehetőséget biztosít az egyes kromoszómákra specifikus szekvenciák „darabszám”-meghatározására. A szekvenciák könyvtárba sorolását követően a vizsgálat kromoszómaszekvenciáinak darabszáma, megfelelő matematikai formula segítségével, összevethető egy referenciakromoszóma szekvenciáinak számával [27, 28]. A módszer hátránya időigényességéből és magas költségéből adódik, azonban a biotechnológia fejlődésével mindkét szempont alkalmassá teszi a klinikai gyakorlatban történő alkalmazásra. Az elmúlt években végzett összefoglaló, nagy esetszámú vizsgálatok a módszer érzékenységét 100%-osnak, specifikitását 98%-osnak találták [29, 30].

Következtetések

Összefoglalásként elmondható, hogy a plazmában keringő szabad magzati eredetű nukleinsavak vizsgálata, a molekuláris biológiai módszerek fejlődésének köszönhetően, a jövő prae-natalis diagnosztikájának egyik legfontosabb eszköze. A magzati aneuploidiak nem invazív diagnosztikájában játszott szerepe elvitathatatlan, ugyanakkor fontos a diagnosztikai „piramisban” megfelelően elhelyezni. Az ultrahangvizsgálat, valamint az első trimeszteri biokémiai szűrés érzékenysége, kivitelezhetősége, továbbá ár-érték aránya miatt mindenképpen elsőként választandó vizsgálatnak számít. A pozitív szűrővizsgálati eredménnyel rendelkező várandósok esetén a szabad DNS-alapú diagnosztika tovább csökkentheti az invazív vizsgálatok javallatának és a vetélskockázatnak kitett magzatok számát. Pozitív vizsgálati eredmény esetén azonban az invazív mintavétel és klasszikus diagnosztika elkerülhetetlen.

Irodalom

[1] Német, J.: Ultrasound in pregnancy In: Tóth, P., Papp, Z. (eds.). Diagnostic use of ultrasound in obstetrics and gynecology. [Ul-

trahangvizsgálatok terhességben. In: Tóth, P., Papp, Z. (szerk.). Szülészet-nőgyógyászati ultrahang-diagnosztika.] Akadémiai Kiadó, Budapest, 1996, 385–395. [Hungarian]

- [2] Nikolaidis, K. H.: Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenat. Diagn.*, 2011, 31, 7–15.
- [3] Spencer, K.: Aneuploidy screening in the first trimester. *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.*, 2007, 145C (1), 18–32.
- [4] Canick, J. A., Kellner, L. H.: First trimester screening for aneuploidy: serum biochemical markers. *Semin. Perinatol.*, 1999, 23, 359–368.
- [5] Papp, Cs., Papp, Z.: Chorionic villus sampling and amniocentesis: what are the risks in current practice? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2003, 15, 159–165.
- [6] Jackson, L. G., Wapner, R. J.: Risks of chorion villus sampling. *Baillieres Clin. Obstet. Gynecol.*, 1987, 1, 513–531.
- [7] Chen, C. P., Huang, H. K., Su, Y. N., et al.: Trisomy 7 mosaicism at amniocentesis: interphase FISH, QF-PCR, and aCGH analyses on uncultured amniocytes for rapid distinguishing of true mosaicism from pseudomosaicism. *Taiwan J. Obstet. Gynecol.*, 2012, 51, 77–82.
- [8] Hsu, L. Y., Dubin, E. C., Kerenyi, T., et al.: Results and pitfalls in prenatal cytogenetic diagnosis. *J. Med. Genet.*, 1973, 10, 112–119.
- [9] Sekizawa, A., Yokokawa, K., Sugito, Y., et al.: Evaluation of bidirectional transfer of plasma DNA through placenta. *Hum. Genet.*, 2003, 113, 307–310.
- [10] Lo, Y. M., Tein, M. S., Lau, T. K., et al.: Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, 62, 768–775.
- [11] Wataganara, T., Chen, A. Y., LeShane, E. S., et al.: Cell-free fetal DNA levels in maternal plasma after elective first trimester termination of pregnancy. *Fertil. Steril.*, 2004, 81, 638–644.
- [12] Lo, Y. M., Zhang, J., Leung, T. N., et al.: Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma. *Am. J. Hum. Genet.*, 1999, 64, 218–224.
- [13] Tsumita, T., Iwanaga, M.: Fate of injected deoxyribonucleic acid in mice. *Nature*, 1963, 198, 1088–1089.
- [14] Lo, Y. M., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., et al.: Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*, 1997, 350, 485–487.
- [15] Finning, K. M., Martin, P. G., Soothill, P. W., et al.: Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. *Transfusion*, 2002, 42, 1079–1085.
- [16] Lázár, L., Bán, Z., Szakács, O., et al.: Fetal sex determination with real time PCR of fetal DNA in maternal plasma. [Szabad magzati DNS kimutatása a magzati Y-kromoszóma igazolásával anyai vérplazmából.] *Orv. Hetil.*, 2003, 144, 2405–2409. [Hungarian]
- [17] Lázár, L., Bán, Z., Nagy, B., et al.: Sex determination by the detection of SRY region with real-time PCR in maternal plasma. In: Charles, R., Papp, Z. (eds.). Recent advances in prenatal genetic diagnosis. Medimond, Bologna, 2004, 51–54.
- [18] Lázár, L., Nagy, B., Bán, Z., et al.: Non-invasive prenatal genetic diagnostics. [Noninvazív prae-natalis genetikai diagnosztika.] *Háziorvosi Továbbképző Szemle*, 2006, 11 (3), 12–15. [Hungarian]
- [19] Lázár, L., Nagy, B., Bán, Z., et al.: Non invasive detection of fetal Rh using real-time PCR method. [Noninvazív magzati Rh-meghatározás real-time PCR-módszerrel.] *Orv. Hetil.*, 2007, 148, 497–500. [Hungarian]
- [20] Lo, Y. M. D., Wainscoat, J. S., Gillmer, M. G. D., et al.: Prenatal sex determination by DNA amplification from maternal peripheral blood. *Lancet*, 1989, 2 (8676), 1363–1365.
- [21] Lo, Y. M., Tein, M. S., Lau, T. K., et al.: Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma and serum: implications for non-

- invasive prenatal diagnosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 1998, 62, 768–775.
- [22] *Lee, T., LeShane, E. S., Messerlian, G. M., et al.*: Down syndrome and cell-free fetal DNA in archived maternal serum. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002, 187, 1217–1221.
- [23] *Lo, Y. M., Lau, T. K., Zhang, J., et al.*: Increased fetal DNA concentrations in the plasma of pregnant women carrying fetuses with trisomy 21. *Clin. Chem.*, 1999, 45, 1747–1751.
- [24] *Tsui, N. B., Wong, B. C., Leung, T. Y., et al.*: Non-invasive prenatal detection of fetal trisomy 18 by RNA-SNP allelic ratio analysis using maternal plasma SERPINB2 mRNA: a feasibility study. *Prenat Diagn.*, 2009, 29, 1031–1037.
- [25] *Go, A. T., van Vugt, J. M., Oudejans, C. B.*: Non-invasive aneuploidy detection using free fetal DNA and RNA in maternal plasma: recent progress and future possibilities. *Hum. Reprod. Update*, 2011, 17, 372–382.
- [26] *Lo, Y. M., Tsui, N. B., Chiu, R. W., et al.*: Plasma placental RNA allelic ratio permits noninvasive prenatal chromosomal aneuploidy detection. *Nat. Med.*, 2007, 13, 218–223.
- [27] *Papageorgiou, E. A., Patsalis, P. C.*: Non-invasive prenatal diagnosis of aneuploidies: new technologies and clinical applications. *Genome Med.*, 2012, 28. [Epub ahead of print]
- [28] *Faas, B. H., de Ligt, J., Janssen, I., et al.*: Non-invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidies using massively parallel sequencing-by-ligation and evidence that cell-free fetal DNA in the maternal plasma originates from cytotrophoblastic cells. *Expert Opin Biol. Ther.*, 2012, 12 (Suppl 1), S19–S26.
- [29] *Bianchi, D. W., Platt, L. D., Goldberg, J. D., et al., Maternal Blood IS Source to Accurately diagnose fetal aneuploidy (MELISSA) Study Group*: Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet. Gynecol.*, 2012, 119, 890–901.
- [30] *Palomaki, G. E., Kloza, E. M., Lambert-Messerlian, G. M., et al.*: DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation. *Genet. Med.*, 2012, 14, 296–305.

(Lázár Levente dr.,
Budapest, Baross u. 27., 1088
e-mail: lazar_levente@hotmail.com)

**Az Akadémiai Kiadó
AZ ELME KEREKEI sorozata**

AKADÉMIAI KIADÓ Zrt. 1117 Budapest, Prielle K. u. 19.
Telefon: (06 1) 464 8200 • email: ak@akrt.hu • www.akademiaikiado.hu