

A microarray-komparatív genomhibridizálás (arrayCGH) praenatalis alkalmazása

Javaslat a hazai bevezetésre

Tidrenczel Zsolt dr.¹ ■ P. Tardy Erika dr.² ■ Pikó Henriett dr.³
Sarkadi Edina dr.² ■ Böjtös Ildikó² ■ Demeter János dr.¹
Kósa P. János dr.³ ■ Beke Artúr dr.⁴

¹Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Szülészeti-Nőgyógyászati Osztály, Genetikai Centrum, Budapest

²Magyar Honvédség Egészségügyi Központ, Központi Laboratóriumi Diagnosztikai Osztály, Budapest

³Pentacore Laboratóriumok és Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar,
I. Belgyógyászati Klinika, Budapest

⁴Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

Az invazív mintavétel kapcsán elvégzett hagyományos magzati kromoszómavizsgálat a mai napig a praenatalis diagnosztika alapvető vizsgálómódszere. Felhasználásának a fénymikroszkópos vizsgálat felbontási képessége szab határt. A kariotipizálással nem felismerhető, szubmikroszkópos kromoszóma-rendellenességek, microdeletiók és microduplikációk, kópiaszám-variációk (CNV-k) vizsgálatára a nagy felbontású molekuláris vizsgálóeljárások biztosítanak lehetőséget. A kromoszómális összehasonlító microarray-vizsgálat (array-komparatív genomhibridizálás – arrayCGH) alkalmas az anyai életkortól függetlenül előforduló kópiaszám-variációk prae- és postnatalis kimutatására. A módszer a fejlett országok orvosi gyakorlatában rutinszerűen alkalmazott eljárás a magzati diagnosztikában. Az elmúlt egy évtized külföldi eredményei alapján alkalmazása ultrahangeltérést nem mutató magzatok esetén körülbelül 1–2%, strukturális ultrahangeltérést mutató magzatoknál körülbelül 5–7% többlet genetikai információval szolgál a hagyományos kromoszómavizsgálattal szemben. Közleményünkben áttekintjük az arrayCGH módszert, praenatalis alkalmazásának nemzetközi gyakorlatát, s javaslatokat és indikációs kört fogalmazunk meg a módszer praenatalis használatának magyarországi bevezetésére. *Orv Hetil.* 2019; 160(13): 484–493.

Kulcsszavak: arrayCGH, praenatalis diagnosztika, strukturális ultrahangeltérés, kópiaszám-variációk

Chromosomal microarray comparative genome hybridization (arrayCGH) in prenatal settings

Proposal for Hungarian application in clinical practice

Invasive prenatal testing and conventional G-banding chromosome analysis have been considered to be the gold standard of fetal cytogenetic diagnosis. Standard karyotyping is, however, constrained by the limits of the resolution of using a microscope. The advantage of molecular karyotyping, array based methods is the evaluation of sub-microscopic copy number changes across the whole genome in a single analysis. The application of array comparative genome hybridization has greatly increased the detection of pathogenic chromosomal abnormalities in prenatal settings. Based on available data in the international literature of the last decade, the clinical utility of arrayCGH is the recognition of some 1–2% and 5–7% additional genetical information compared to metaphase karyotype alone in fetuses without ultrasound anomaly and in fetuses with ultrasonographically detected malformations, respectively. Thus arrayCGH improves the prenatal diagnosis of genetic abnormalities mainly in fetuses with structural sonographic findings. In the present paper we review the literature of chromosomal microarray and make a proposal for the application of the method in Hungarian prenatal genetical practice.

Keywords: arrayCGH, prenatal diagnostic, structural malformation, copy number variations

Tidrenczel Zs, P Tardy E, Pikó H, Sarkadi E, Böjtös I, Demeter J, Kósa P J, Beke A. [Chromosomal microarray comparative genome hybridization (arrayCGH) in prenatal settings. Proposal for Hungarian application in clinical practice]. *Orv Hetil.* 2019; 160(13): 484–493.

(Beérkezett: 2018. október 8.; elfogadva: 2018. november 4.)

Rövidítések

aCGH = (microarray comparative genome hybridization) microarray-komparatív genomhibridizálás; ACMG = (American College of Medical Genetics and Genomics) Az Orvosi Genetika és Genomika Amerikai Kollégiuma; ACOG = (American College of Obstetricians and Gynecologists) Amerikai Szülész és Nőgyógyászok Szakmai Kollégiuma; arrayCGH = (chromosomal microarray comparative genome hybridization) kromoszomális microarray-komparatív genomhibridizálás; AVSD = (atrioventricular septal defect) pitvar-kamrai septumdefektus; cffDNA = (cell-free fetal DNA) szabad magzati DNS; CGH = (comparative genomic hybridization) komparatív genomális hibridizáció; CHD = (congenital heart disease) veleszületett szívfejlődési rendellenesség; CNS = (central nervous system) központi idegrendszer; CNV = (copy number variation) kópiaszám-variáció; DNS = dezoxiribonukleinsav; FISH = fluoreszcens *in situ* hibridizáció; IUGR = (intrauterine growth restriction) méhen belüli növekedési elmaradás; LOH = (loss of heterozygosity) heterozigotáság elvesztése; Mb = megabázis; NIPT = (noninvasive prenatal testing) nem invazív praenatalis szűrőteszt; NT = (nuchal translucency) magzati tarkódó-vastagság; OEP = Országos Egészségbiztosítási Pénztár; PCR = (polymerase chain reaction) polimeráz-lánreakció; PGD = (preimplantation genetic diagnosis) preimplantációs genetikai diagnosztika; PPV = (positive predictive value) pozitív prediktív érték; qfPCR = (quantitative fluorescent polymerase chain reaction) kvantitatív fluoreszcens polimeráz-lánreakció; RÁT = (rare autosomal trisomies) ritka autoszomális trisomiák; SMFM = (Society for Maternal-Fetal Medicine) Anyai-Magzati Orvostudományi Társaság; SNP = (single nucleotide polymorphism) egyszeres nukleotidpolimorfizmus; UPD = uniparenterális disómia; VOUS = (variant of uncertain significance) bizonytalan jelentőségű variáns; VSD = (ventricular septal defect) kamrai septumdefektus

A praenatalis magzati diagnosztika arany standard módszere napjainkig az invazív méhüregi beavatkozások kapcsán (lepénybiopszia, magzatvíz-mintavétel, magzati vérvétel) alkalmazott hagyományos kromoszómavizsgálat [1]. A klasszikus G-sávós kromoszómafestési technikák a magzati kromoszómák fénymikroszkópos elemzése során biztosítják a számbeli és durva szerkezeti rendellenességek vizsgálatát és diagnosztikáját [2, 3]. A magzati rendellenességek praenatalis felismerését nagymértékben segíti az ultrahangtechnológia gyors fejlődése és az ultrahangberendezések felbontóképességének jelentős növekedése, így lehetővé vált egyes magzati szerkezeti kromoszóma-rendellenességek és a gyakori aneuploidiák

korai, első trimeszteri szűrése és diagnosztikája, a magzati és anyai terhességi komplikációk előrejelzése [4]. Az 1990-es évek közepétől a nagyobb felbontású molekuláris citogenetikai módszerek rutinszerű használata is bevezetésre került a hazai genetikai laboratóriumokban. A fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) [5] és a kvantitatív fluoreszcens polimeráz-lánreakció (qfPCR) alkalmazása a praenatalis diagnosztikában a 21-es, a 18-as, a 13-as és a nemi kromoszómák célzott és gyors vizsgálatára alkalmas lepényi, magzatvíz- vagy magzati vérmin-tából [6]. Használatuk révén a hagyományos kromoszómavizsgálathoz szükséges 2–3 hetes tenyésztési periódussal szemben lehetőség nyílik a gyakori aneuploidiák gyors, 2–3 napra rövidült diagnózisára, így korai döntési lehetőség biztosítható a szülők számára akár az első trimeszter végén. Ugyanakkor az elmúlt 10 év elképesztő technológiai fejlődése a genetikai vizsgálatok terén a DNS nagy felbontású elemzését is lehetővé teszi, a magzati genom akár teljes fokú vizsgálata és a DNS-bázis sorrendjének meghatározása is kivitelezhető. A szülők, a társadalom és az orvosi szakma részéről is felmerült az igény, hogy a gyakori aneuploidiák és kromoszómahibák mellett a hagyományos fénymikroszkópos kromoszómavizsgálattal nem kimutatható, úgynevezett szubmikroszkópos DNS-eltérések (például microdeletiók, microduplicatiók, kópiaszám-variációk) megbízható és gyors vizsgálata is elérhetővé váljon a praenatalis diagnosztikában. Az elmúlt évtizedben a fejlett országokban az új típusú, nagy felbontású, a teljes genom vizsgálatára alkalmas módszerek közül a microarray-komparatív genomhibridizálás (arrayCGH) használata a praenatalis diagnosztika alapvető és megkerülhetetlen részévé vált. Közleményünkben áttekintjük az arrayCGH módszert, praenatalis alkalmazásának nemzetközi gyakorlatát, és javaslatokat fogalmazunk meg a módszer praenatalis használatának magyarországi bevezetésére.

Megbeszélés

A hagyományos kromoszómavizsgálat, kariotipizálás lassan 50 éve a szomatomentálisan retardált és craniofacialis dysmorfhiás betegek vizsgálatának alapját képezi, az 1970-es évektől kezdve a méhen belüli magzati diagnosztika arany standardja is egyben. A javuló sejtenyésztési technikák és a G-sáv-festési módszer bevezetése lehetővé tette a kromoszómák számbeli (teljes és részleges

aneuploidia) és bizonyos szerkezeti rendellenességeinek (deletiók, duplicatiók, inverziók, transzlokációk) vizsgálatát. A kariotipizálás módszerét a fénymikroszkópos vizsgálat felbontási képessége határozza be, a kromoszómahibák a DNS mintegy 10 millió bázis (Mb) mérete alatt nem detektálhatók. A FISH bevezetése fluoreszcens festékekkel jelölt DNS-próbákkal azt biztosította, hogy a genetikai minta célzottan vizsgálhatóvá vált az 1–5 Mb méret közötti tartományban is. A szubmikroszkópos DNS-hiányok és -többletek (microdeletiók, microduplicatiók, CNV-k – copy number variation, kópiaszám-variáció) nagy része célzott módon diagnosztizálható magzati és postnatalis mintákban is. A szubtelomerikus próbákat ismeretlen eredetű mentális retardációban szenvedő betegek vizsgálatára hazánkban is használják több genetikai központban. Az összes kromoszóma egyidejű FISH-analízisét a többféle, akár 24 színt generáló fluorokrómkombinációjú próbákkal lehet elérni (multicolour FISH), vagy csak három fluorokrómcatornán többféle kombinációjú próbákkal végigléptetni a mintát (multiprobe rendszerek). A praenatalis gyakorlatban ezek a metodikák elengedhetetlenek a ritka genetikai szindrómák felismerésében [7]. A FISH-módszer hazai elterjedése mellett a Semmelweis Egyetem I. Szülészeti Klinikájának munkacsoportja úttörő munkát végzett a qPCR-technika magyarországi bevezetésében. A munkacsoport nemzetközi szinten is az elsők között használta a módszert a gyakori magzati aneuploidiák gyors praenatalis kimutatására [8], 1997-ben pedig elsőként közzétették a qPCR megbízható alkalmazhatóságát CAG ismétlődő egységek kimutatásában Huntington-choreában [9].

A FISH-technika felhasználásával 2 különböző fluoreszcens festékek alkalmazva *Kallioniemi és munkacsoportja* volt az első, akik különböző daganatos sejtvonalakat vizsgálva a teljes genomra kiterjedő összehasonlító molekuláris citogenetikai hibridizációs (CGH) vizsgálatokat végeztek [10]. Ez a vizsgálat tekinthető a microarrayCGH elődjének. Az 1990-es évek végén *Solinas-Toldo és mtsai*, illetve *Pinkel és mtsai* fejlesztették ki az array-komparatív genomhibridizálás módszerét, és ezzel megteremtették a molekuláris kariotipizálás alapjait [11, 12]. A DNS microarray-felületén (tárgylemez méretű és formájú szilárd fázis) különböző eljárással rögzítettek több millió rövid, 50–80 nukleotidból álló DNS-molekulát (oligonukleotidot), melyeket DNS-próbáknak neveztek. A DNS-próbák egy adott gén egy adott szakaszának felelnek meg, és így a DNS microarray-felületén több ezer próba alkalmazásával a teljes genom detektálhatóvá vált. Első lépésként a vizsgált mintával és a referencia-DNS-sel úgynevezett teljesgenom-amplifikálást (felsokszorosítást) végeztek úgy, hogy a minta-DNS-t Cy3 fluoreszcens festékekkel, míg a referencia-DNS-t Cy5 fluoreszcens festékekkel jelölték. Referencia-DNS-ként több száz egészséges férfitől és nőtől származó, gyárilag előállított DNS-keveréket alkalmaztak. A hibridizálás során, a szilárd felületen lévő egyszálú oligonukleotidpróbákhoz hibri-

dizáltatták a jelölt mintát és a referencia-DNS-t. Az egyszálú oligonukleotidpróbákhoz azok a minta- és referencia-DNS-darabok kapcsolódnak és alkotnak kettős szálakat, amelyek komplementerei a próbáknak. A kiértékelés során lézerrel gerjesztették a minta- és a referencia-DNS-darabokba beépült fluoreszcens festéket; ennek hatására a Cy3 festék 532 nm-en zöld, a Cy5 festék 635 nm-en vörös, a hibridizációval arányos fluoreszcens emissziót adott, amelyet a készülék detektált. Minden egyes próbánál megmérték a fluoreszcens emisszió mértékét, és meghatározták a minta és a referencia fluoreszcens jelintenzitásának hányadosát. A minta és a referencia, ha az adott szakaszon azonos kópiaszámban voltak jelen, az oligonukleotidpróbákhoz azonos mennyiségben kötődtek, a két fluoreszcens jelintenzitása azonos volt. A hiány és a többlet kimutatása a próbákhoz hibridizált minta- és referencia-DNS fluoreszcens jelintenzitása közötti különbség detektálásán alapult. A diagnosztikában két típusú aCGH-analízist fejlesztettek ki:

- A komparatív genomális hibridizálással a kópiaszám-eltérések detektálhatók. Az analízis során az alkalmazott próba számától függően különböző méretű hiány és többlet detektálható a teljes genomban.
- Az SNP- (single nucleotide polymorphism) alapú analízissel az allélok azonosíthatók, és ezzel is azonosítható a hiány és a többlet a teljes genomban. Az SNP-analízissel megerősíthetjük a CGH-analízissel kapott eredményeket, valamint a LOH (loss of heterozygosity) és az UPD (uniparenteralis disomia) kimutatására is alkalmas az allél azonosítása alapján.

Az array-módszer két típusba sorolható a vizsgálat célja szempontjából. Célzott array esetén (targeted array) a vizsgálati minta adott génekre, géncsoportokra vagy egy betegség célzott specifikus vizsgálatára szolgál, teljesgenom-analízis (whole genome array) esetén pedig a vizsgálati módszer a genom teljes vizsgálatát és széles lefedettségét teszi lehetővé. A felbontási képesség a felhasznált oligonukleotidok vagy a vizsgált SNP-ok számától függ. A módszer alkalmas a DNS-töréspont pontos meghatározására és a genotípus-fenotípus összefüggések vizsgálatára is. Az arrayCGH a klinikai gyakorlatban a mentális retardáció és a testi dysmorphia, a tumordiagnosztika, a praenatalis és preembrionális genetikai diagnosztika területén alkalmazható [13]. A gyermekgyógyászatban külföldön a módszert elsődleges vizsgálóeljárás-ként alkalmazzák mentális retardációval járó betegségek, idegrendszeri fejlődési elmaradással járó kórképek, autizmus-spektrumzavar és multiplex veleszületett fejlődési rendellenességek esetén [14]. Szellemi fogyatékoságban szenvedő, normál karyotipusú betegek array-vizsgálata során körülbelül 15%-ban mutatható ki a hagyományos kromoszómavizsgálattal nem igazolható patogén kópiaszám-variáció (CNV) [15]. Sajnos a vizsgálat jelenleg Magyarországon OEP által finanszírozott formában nem érhető el. Egyes hazai centrumok ugyanakkor ritka genetikai betegségek vizsgálatában

postnatalis esetekben beszámoltak az arrayCGH alkalmazásáról [16].

Számos tanulmány foglalkozik az arrayCGH és a hagyományos kariotipizálás összehasonlításával, a módszer előnyeinek és hátrányainak pontos meghatározásával. Az ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics) több ajánlást fogalmazott meg a témában [17].

– Az array egyértelmű előnye a kromoszóma vizsgálatával szemben a nagyobb felbontóképessége (kópiaszám-variációk vizsgálata), az objektív használhatósága, a leírt DNS-elváltozások pontos leírhatósága (töréspont, méret, érintett gének), a vizsgálat céljának megfelelő platform és próbák adott „személyre” szabhatósága, automatizálhatósága. A vizsgálathoz szélesebb körben választható a szövetminta (lepény, magzatvíz-sejt, magzati sejtek, vér, tárolt minták, paraffinblokkok), és nem szükséges a sejtenyésztes, így jóval rövidebb a vizsgálati idő. Az időfaktor különösen nagy jelentőséggel bír a praenatalis diagnosztikában. Az SNP-alapú array-k lehetővé teszik az uniparenterális disomia vizsgálatát is. Az eredmények jól interpretálhatók, és a világhálón ingyenesen hozzáférhető genomikus adatbázisokkal összevethetők, a felismert új kópiaszám-variációk az adatbázisba feltölthetők, más szerzők eseteivel összehasonlíthatók. Az adatbázisok dinamikus bővülése az elmúlt egy évtizedben igazán szembetűnő volt. Az ACMG ajánlást fogalmazott meg a leletezés vonatkozásában is [18], amely szerint 5 lépésű interpretációt javasolnak az array eredményének közlésére: patogén, valószínűleg patogén, bizonytalan jelentőségű, valószínűleg benignus és benignus (pathogen, likely pathogen, uncertain significance, likely benign, benign) kópiaszám-variációk. Az eredmény közlése során a pontos citogenetikai elhelyezkedés, a kópiaszám-variáció típusa, mérete és helye, bizonyítékokon alapuló valószínű következményei, az érintett gének és a hozzájuk kapcsolódó genetikai szindrómák (bizonytalan esetben a kapcsolódó, úgynevezett RefSeq-gének) közlendők, és a további teendőkre vonatkozó klinikai javaslat is a leletezés része kell, hogy legyen.

– Az arrayCGH-módszer egyértelmű hátrányai között az alábbiakat említhetjük: a hagyományos kromoszóma vizsgálatával szemben nem észleli a kiegyensúlyozott kromoszómaátrendeződéseket, az alacsony fokú mozaikosságot (a detektálás határa körülbelül 20%-os mozaikosság a perifériás vérben) [19] és az oligonukleotidarray a triploidiát, ezért nem hagyható el a konvencionális citogenetikai kiértékelés. Nem képes kimutatni a felbontási határ alatti méretű kópiaszám-variációkat, a pontmutációkat, de ezekre a hagyományos kariotipizálás sem képes. A genetikai tanácsadás és a klinikai teendők szempontjából is jelentős nehézséget okozhat a bizonytalan jelentőségű (VOUS – variant of uncertain significance) kópiaszám-variációk értékelése, bár a technológia fejlődésével és a genomikus adatbázisok bővülésével a bizonytalan variációk

száma egyértelműen csökkent [20]. Ugyanakkor különösen nagy nehézséget jelenthet az ilyen eredmények interpretálása a praenatalis klinikai genetikai gyakorlatban, hiszen a klinikai genetikus a magzat 12–24 hetes korában próbál tanácsot adni arra vonatkozóan, hogy az észlelt szubmikroszkópos kromoszómaeltérés és a kapcsolódó genetikai szindróma várhatóan milyen következményekkel fog járni a megszületést követően (1. táblázat).

Pozitív magzati kromoszómális microarray-eredmény esetében feltétlenül szükséges a szülők vizsgálata is perifériás vérből annak eldöntésére, hogy az észlelt magzati eltérés a szülőkben is előfordul, familiáris vagy pedig újonnan kialakult, *de novo* jellegű-e.

A praenatalis diagnózis tekintetében, az arrayCGH első felhasználására 2004-ben került sor [21], melyet követően a nemzetközi irodalomban jelentős számban jelentek meg közlemények a témában. A praenatalis klinikai vizsgálatok egyfelől arra irányultak, hogy azon terheseknél, akiknél az invazív beavatkozás (lepénybiopszia, magzatvíz-mintavétel) úgy történt, hogy a magzattal nem volt kimutatható ultrahangeltérés (például anyai

1. táblázat | Hagományos kromoszóma vizsgálat és arrayCGH. A két vizsgálómódszer összehasonlítása, előnyei és hátrányai a genetikai diagnosztika során

Az arrayCGH előnyei a hagyományos kariotipizálással szemben	<ul style="list-style-type: none"> – Nagyobb felbontóképesség (5 Mb alatti tartományban is) – Kópiaszám-variációk detektálása – Széles körben választható szövetminta – Sejt- és szövetnyésztes nem szükséges a vizsgálathoz – A vizsgálati célhoz alakítható platformok és próbák – Pontos DNS-töréspont-meghatározás, genotípus-fenotípus vizsgálatok – Automatizált rendszerek, objektív értékelés – Jól interpretálható eredmények, nemzetközi adatbázisok – Rövid vizsgálati idő, gyors eredmény – LOH és UPD vizsgálata (SNP-alapú platform)
Az arrayCGH hátrányai a hagyományos kariotipizálással szemben	<ul style="list-style-type: none"> – Nem észleli a kiegyensúlyozott kromoszómaátrendeződéseket – Nem észleli az alacsony fokú mozaicizmust (kb. 20% alatt) – Nem észleli a triploidiát (oligonukleotidarray) – Bizonytalan jelentőségű kópiaszám-variációk (VOUS), genetikai tanácsadási nehézségek – Nem nyújt információt a kópiaszám-variáció kialakulási mechanizmusáról (például marker kromoszóma)

arrayCGH = microarray-komparatív genomhibridizálás; DNS = deoxiribonukleinsav; LOH = heterozigotitás elvesztése; SNP = egyszeres nukleotidpolimorfizmus; UPD = uniparenterális disomia; VOUS = bizonytalan jelentőségű kópiaszám-variációk értékelése

életkor, anyai biokémiai eltérések, szülői aggodalom miatt), és a karyotipus eltérést nem mutatott, milyen többletinformációt szolgáltatott az arrayCGH elvégzése. Az első ilyen tanulmány 2012-ben az esetek 1,7%-ában írt le klinikailag szignifikáns kópiaszám-variációt negatív karyotipus esetén [22]. A további tanulmányok hasonló témában 0,4–2,0% közötti prevalenciát mutattak. 2017-ben jelent meg egy metaanalízis, mely a korábban e témában publikált 10 tanulmány összehasonlító vizsgálatát végezte el több mint 10 ezer praenatalis mintavétel kapcsán a szubmikroszkópos patogén kromoszómaaberrációk tekintetében. A tanulmány szerint a nagyszámú magzati minta alapján a magzatok 0,84%-ában igazoltak klinikailag szignifikáns szubmikroszkópos kromoszóma-eltérést praenatalisan, amennyiben a magzaton nem volt kimutatható ultrahangeltérés. A fentiek alapján úgy kalkulálják, hogy az úgynevezett korai kezdetű genetikai szindrómák prevalenciája, melyek ezekre a patogén, fénymikroszkóppal nem látható eltérésekre vezethetők vissza, körülbelül 1 : 270. A fenti kópiaszám-eltérések (CNV-k) az anyai életkortól függetlenek. Amennyiben a fénymikroszkóppal nem észlelhető, szubmikroszkópos eltérésekhez hozzáadjuk a mikroszkópos kromoszóma-eltéréseket, minden várandósnak életkortól függetlenül körülbelül 1 : 180 a matematikai valószínűsége arra, hogy a magzatánál klinikailag jelentős kromoszómaaberráció áll fenn, azokban az esetekben, amikor a magzat ultrahangvizsgálata során nem látható malformáció vagy kromoszóma-rendellenességre utaló gyanújel [23]. Az eddig közölt eredmények alapján tehát ultrahangeltérés nélküli esetekben az arrayCGH körülbelül 1–2%-ban adhat klinikailag releváns addicionális genetikai információt a hagyományos kariotipizáláshoz képest.

A tanulmányok másik része azt vizsgálta, hogy milyen többletinformációt jelent az arrayCGH praenatalis alkalmazása ultrahangeltérést mutató magzatok esetén. Jól ismert tény, hogy a major, strukturális eltérések és a halmozottan előforduló minor anomáliák esetén emelkedett a gyakori aneuploidia, a CNV-k és a ritka genetikai szindrómák előfordulása, mely esetekben számos nemzetközi szervezet javasolja a kiterjesztett diagnosztikus vizsgálatok elvégzését [24]. Egy 2013-ban publikált közlemény szerint több mint 1000 magzatnál elvégzett, SNP-alapú array-vizsgálat esetén 5,5%-ban [25], egy 2012-es tanulmány szerint 6%-ban észlelhető fénymikroszkóposan nem látható kromoszómaeltérés, amennyiben strukturális magzati ultrahangeltérés detektálható [22]. *Hillman és mtsai* egy prospektív kohorszvizsgálat során 4,1%-ban írtak le array során addicionális genetikai információt, míg irodalmi metaanalízisükben 10%-nak találták a többlet kromoszomális információt strukturális ultrahangeltérésnél [26]. A magzati tarkóredő (NT, nuchal translucency) a gyakori aneuploidia, elsődlegesen a 21-es trisomia ultrahangszűrésének leggyakrabban használt vizsgálati paramétere, ugyanakkor kóros tarkóredő (3 mm fölött) legalább 100 genetikai szindróma esetén írtak már le. Egy 2017-ben megjelent tanulmány kóros

tarkóredő esetén vizsgálta az arrayCGH hatékonyságát, és azt találta, hogy a 3 mm fölötti tarkóredőt mutató magzatoknál normál karyotipus esetén 9,1%-ban igazolható szubmikroszkópos kromoszómaeltérés [27]. Az arrayCGH során detektálható, klinikailag szignifikáns genetikai információ az ultrahangvizsgálattal észlelt strukturális eltéréstől és az eltérés halmozódásától is függ. A leggyakrabban a magzati szív, a központi idegrendszer, a skeletalis és az urogenitalis rendszer érintettsége esetén várható patogén CNV, míg több szervrendszer érintettsége, multiplex eltérés esetén magasabb a várható arány (13%), szemben az izolált szervi eltérésekkel (5,1%) [28]. *Shaffer és mtsai* átlagosan 6,5%-ban észleltek szignifikáns kópiaszám-variációt, mely 10%-nak bizonyult multiplex, több szervrendszeri érintettségben. Közleményükben részletesen elemezték az egyes szervek és szervrendszerek ultrahangeltéréseit; a leggyakoribb kópiaszám-eltérést központi idegrendszeri malformáció és facialis dysmorphismus esetén mutatták ki, míg a minor jelek közül a hiányzó magzati orrcsont társult a leginkább patogén CNV-val [29]. A magzati szívfejlődési rendellenesség (CHD) a leggyakoribb magzati fejlődési rendellenesség, amelynek prevalenciája megközelítőleg 1%. Postnatalis vizsgálatok szerint izolált szívrendellenességben körülbelül 4%-ban, szindrómás esetben 17%-ban mutattak ki szubmikroszkópos kromoszómaeltérést újszülöttekben [30], míg praenatalis vizsgálatok során egy kanadai munkacsoport 13%-ban talált DNS-kópiaszám-eltérést magzati echokardiográfiával igazolt magzati CHD-ben [31]. A nemzetközi adatok alapján tehát a hagyományos kromoszómavizsgálathoz képest 4–13% közötti arányban, átlagosan 5–7%-ban várható többlet genetikai információ arrayCGH alkalmazása során strukturális magzati ultrahangeltéréssel társulva. Amennyiben az arrayCGH és a hagyományos kromoszómavizsgálat diagnosztikus hatékonyságát hasonlították össze, hasonló specificitási adatokat észleltek, de az arrayCGH szignifikánsan magasabb szenzitivitással volt jellemezhető a kromoszomális eltérések kimutatásának vonatkozásában [32]. A 2. táblázat azokat a 2010. évet követően publikált, nagy esetszámú tanulmányokat foglalja össze, amelyekben a hagyományos kariotipizáláshoz képest az arrayCGH által biztosított többlet kromoszomális információt vizsgálták ultrahangeltérést mutató, illetve nem mutató magzatoknál.

A mikroszkópos és szubmikroszkópos kromoszóma-rendellenességek gyakori okai lehetnek az embrió beágyazódási problémáinak, a korai vetélésnek és a multiplex magzati fejlődési rendellenességeknek. Az asszisztált reprodukciós eljárások során a preembrionális genetikai diagnosztika módszere (PGD) a blastocystabiopszia révén biztosíthatja a számbeli és szerkezeti kromoszóma-rendellenességek, kópiaszám-variációk, monogénes betegségek célzott molekuláris genetikai vizsgálatát és a megfelelő genetikai állományú előébrény kiválasztását. A széles körben elfogadott és alkalmazott FISH-módszer mellett az arrayCGH a preembrionális genetikai di-

2. táblázat | A 2010 után közölt, nagyobb esetszámú vizsgálatok alapján készült összefoglaló táblázat az arrayCGH praenatalis alkalmazásával nyerhető többletinformációról olyan esetekben, amikor a praenatalis ultrahangvizsgálat mutat, és amikor nem mutat eltérést, továbbá multiplex rendellenességek esetén (a többletinformáció százalékban megadva)

Szerző, a közlés éve, folyóirat	Esetszám	Többlet kromoszomális információ (%-ban)	
		Ultrahangeltérés nélkül	Ultrahangeltéréssel
Hillman et al., 2011; Ultrasound Obstet Gynecol.			
Park et al., 2011; Mol Cytogenet.	359	–	5,2%
	4073	1,8%	–
Shaffner et al., 2012; Prenat Diagn.	518	0,96%	–
Shaffner et al., 2012; Prenat Diagn.	2534	–	6,5%
			10% (multiplex)
Wapner et al., 2012; N Engl J Med.	2695	1,7%	–
Hillman et al., 2013; Ultrasound Obstet Gynecol.	243	–	4,1%
	metaanalízis	–	10%
Saura et al., 2013; Eur J Med Genet.	213	–	12%
Scott et al., 2013; Ultrasound Obstet Gynecol.	1049	1,2%	–
Donnelly et al., 2014; Obstet Gynecol.	1966	3,6%	–
	752	–	8,1%
			13% (multiplex)
			3,1–7,9%
DeWit et al., 2014; Ultrasound Obstet Gynecol.	2220	–	9,1% (multiplex)
Van Opstal et al., 2015; Hum Mutat.	1330	20%	–
Srebniak et al., 2016; Eur J Hum Genet.	1033	–	5,5%
Bornstein et al., 2017; Am J Perinatol.	931	0,4%	–
Yang et al., 2017; J Mat Fet Neonat Med.	296	–	9,1%
	(kóros NT)		
Srebniak et al., 2018; Hum Mutat.	10 055	1,9%	3,6%

arrayCGH = microarray-komparatív genomhibridizálás

agnosztikában is elterjedt, és a blastocysták gyors és nagy felbontású genetikai vizsgálatát teszi lehetővé [33].

A kromoszomális microarray-vizsgálatok praenatalis felhasználásának nincsen egységes nemzetközi szabályozása. Az Egyesült Államokban a szakmai szervezetek (ACOG, SMFM) állásfoglalást fogalmaztak meg arra vonatkozóan, hogy kariotipizálás és az array is megfelelő praenatalis vizsgálómódszer ultrahangeltérést nem mutató magzatoknál, illetve javasolták, hogy az arrayCGH major strukturális eltérést mutató magzatok esetén kiegészítheti vagy akár helyettesítheti a hagyományos kromoszómavizsgálatot. Továbbá kijelentették, hogy mivel a kópiaszám-variációk életkortól függetlenek, az array használata nem csak a 35 év feletti életkorú várandósoknak javasolt [34]. Az Egyesült Királyságban több brit szakmai szervezet közös állásfoglalást bocsátott ki 2015-ben, amelyben a microarray praenatalis alkalmazását azokban az esetekben javasolják, amikor az ultrahangvizsgálat a magzat legalább egy strukturális eltérést igazolja (beleértve a 3,5 mm fölötti tarkóredőt), és a PCR-vizsgálat vagy a karyotypus eltérést nem mutat. A fejlett ipari országokban a praenatalis centrumokban a CGH-t ma már rutinszerűen alkalmazzák, a felhasználást országos vagy helyi intézeti protokollok szabályozzák. Egyes országokban a microarray felváltotta a hagyományos fénymikroszkópos kromoszómavizsgálatot úgy, hogy a gyakori aneuploidiák gyors vizsgálatát qfPCR-val végzik el [35].

A genetikában zajló technikai forradalom időszakában feltétlenül érdemes foglalkozni az anyai vérben szabadon keringő, sejtmentes magzati DNS alapú (cell-free fetal DNA, cffDNA, NIPT) noninvazív vizsgálómódszereknek a magzati szűrés és diagnosztika területén történő alkalmazásával. Az új generációs szekvenálás elvén alapuló vizsgálóeljárások magas specificitási és szenzitivitási mutatók mellett alkalmasak a gyakori aneuploidiák (21-es, 18-as, 13-as trisómia) nem invazív és gyors szűrésére alacsony fals pozitív és negatív ráta mellett [36]. A vizsgálóeljárást világszerte kiterjedten használják az aneuploidiákra magas kockázatú terhesek között (például anyai életkor) elsődleges szűrővizsgálatként, de felmerül az alacsony kockázatú terhesek vagy a teljes terhespopuláció univerzális, nem invazív szűrés módszereként történő alkalmazása is. Az alacsonyabb rizikójú csoportban a vizsgálati tesztek pozitív prediktív értéke (PPV) alacsonyabb, mint a magas kockázatú terhesek esetében, ezt a körülményt az alkalmazás javaslata kapcsán feltétlenül mérlegelni kell. Az elmúlt 2 évben olyan közlemények is jelentek meg a nemzetközi szakirodalomban, amelyek szerint a magzati DNS-fragmentumok szekvenálása az anyai vérben alkalmas lehet a ritkább magzati trisómiáknak (RAT), akár az összes kromoszóma számbeli vagy szerkezeti rendellenességeinek a kimutatására, s újabban a pontmutációk vizsgálatában is biztatóak az eredmények [37]. Fontos kérdés, hogy a szekvenálás alapú NIPT-ek mennyire használhatók a microdeletiók/mic-

roduplicatiók, kópiaszám-variációk nem invazív vizsgálataiban. A CNV-k előfordulása életkortól függetlenül körülbelül 1 : 4000-re becsülhető, közöttük a leggyakoribb kórkép a DiGeorge-szindróma (22qDS-, 22q-deletiós szindróma), melyet a 22-es kromoszóma hosszú karjának microdeletiója, microduplicatiója, ritkán pontmutációja okoz. Egyes szerzők szerint a kórkép prevalenciája postnatalisan microarray- vagy új generációs szekvenálással vizsgálva ennél jóval nagyobb, akár az 1 : 1000 gyakoriságot is elérheti, amely megmutatja a kórkép manifesztációjában a változó expresszivitás és penetrancia jelentőségét [38]. A postnatalis vizsgálatok alapján az érintett betegek nagy részében igazolható a szív fejlődési rendellenessége, gyakori a thymushypoplasia vagy -hiány, körülbelül 10%-ukban szájpadhasadék mutatható ki, és a jobb oldali aortaív háttérében mintegy 8–10%-ban ez a kórkép áll [39]. A fenti eltérések praenatalis ultrahangvizsgálat során felismerhetők, a jellemző magzati conotruncalis szívrendellenesség, az aortaív eltérései és a thymushypoplasia vagy -aplasia célzottan észlelhető, a kórkép gyanúja magzati korban így ultrahangvizsgálat alapján felmerülhet [40, 41]. A diagnózist invazív vizsgálat kapcsán elvégzett célzott FISH, MLPA vagy arrayCGH biztosíthatja. A cfDNA új generációs szekvenálási módszere elméletben alkalmas a microdeletiók vizsgálatára, számos szolgáltató kínál lehetőséget a gyakori aneuploidiak mellett a kópiaszám-variációk szűrésére is a várandósok számára. Az újabban publikált tanulmányok szerint az SNP-alapú szekvenálás az anyai vérből a DiGeorge-szindrómát magas szenzitivitási és specificitási mutatókkal képes felismerni [42]. A pozitív prediktív érték (PPV) – amely azt mutatja, hogy pozitív szűrési eredmény esetén ténylegesen milyen valószínűséggel beteg a magzat – azonban továbbra is alacsony, kevesebb, mint 50%. Ez a technikai okok mellett valószínűleg annak is köszönhető, hogy a DiGeorge-szindróma prevalenciája alacsony, és egy szűrőteszt szűrési paraméterei fordítottan arányosak a gyakorisággal. Különösen igaz ez a ritkább microdeletiókra (például 1p36-deletio, 'cri du chat' szindróma, Wolf–Hirschhorn-szindróma, Jacobsen-szindróma, Langer–Giedion-szindróma), és ez a kérdés megfontolást igényel azoknak a NIPT-szűréseknek az ajánlását megelőzően, amelyek a leggyakoribb kópiaszám-variációk, a DiGeorge-szindrómán túl ezeknek a ritkább microdeletióknak a szűrését célozzák. Ezen kórképek populációs gyakorisága ugyanis alacsony, a PPV nem haladja meg az 5–10%-ot, tehát 100 ilyen irányban pozitív szűrőteszt esetén 5–10 esetben lesz a magzat valójában érintett a kromoszómahibával. A fals pozitív szűrőtesztet így főlegesen elvégzett, vetelési kockázattal járó invazív beavatkozásokat generálhatnak a betegségekre egyébként alacsony kockázatú terhespopulációban. Tekintettel a nem megfelelő esetszámon alapuló és ellentmondásos klinikai eredményekre, a microdeletiók és -duplicatiók rutinszerű nem invazív szűrővizsgálatát jelenleg semelyik nemzetközi szakmai szervezet sem javasolja [43], ennek arany standardja továbbra is az ar-

rayCGH. Az új generációs szekvenáláson alapuló szabad nukleinsavak vizsgálata ugyanakkor rapidan terjed, és a technológia fejlődésével az várható, hogy a gyakori magzati aneuploidiak szűrésén kívül a genetikai betegségek egyre szélesebb körében elérhető lesz mint az anyai vérből végezhető nem invazív, nem diagnosztikus szűrőteszt.

Az elmúlt több mint 10 év nemzetközi praenatalis adatai alapján így kijelenthető, hogy a microarray-komparatív genomhibridizálás olyan megbízható és jól interpretálható módszer, mely alkalmas a magzati kromoszóma-rendellenességek nagy felbontású vizsgálatára [44]. Alkalmazása elsődlegesen akkor indokolt, amikor a praenatalis ultrahangvizsgálat a magzat olyan strukturális eltérést mutatja, amely gyakran társul magzati kromoszóma-rendellenességgel. Ezen eltérések praenatalis észlelése invazív magzati diagnosztikai beavatkozást tesz szükségessé. Az ilyen strukturális magzati eltérések esetén az anyai vérből végezhető úgynevezett noninvazív szűrővizsgálatok (biokémiai szűrés, NIPT) nem javasoltak, mert nem diagnosztikusak, és hatékonyságuk elmarad az invazív genetikai vizsgálatmódszerektől [45]. Az invazív mintavétel kapcsán nyert mintából elvégzett hagyományos kromoszómavizsgálat során, amennyiben normál magzati karyotypus igazolható, az arrayCGH kiegészítő használata egyértelmű előnyt jelenthet a magzati diagnosztikában. Az arrayCGH alkalmazása fejlett egészségügyi rendszerekben az elmúlt években rutinszerűvé vált a praenatalis diagnosztikában. Véleményünk szerint elkerülhetetlen és feltétlenül javasolt, hogy a módszer a magyarországi praenatalis genetikai diagnosztika részévé váljon OEP-finanszírozott formában. Ehhez szükséges lenne a szakmai szervezetek részéről az egységes ajánlások kidolgozása és szigorú indikációs terület meghatározása. A nemzetközi ajánlások nem tartalmazzák azt, hogy pontosan milyen esetben javasolt az arrayCGH-vizsgálat praenatalis használata. Munkacsoportunk a 3. táblázatban ajánlást fogalmaz meg arra vonatkozóan, hogy mely ultrahangeltérés esetén lenne feltétlenül javasolt az arrayCGH alkalmazása negatív eredményű kariotipizálást követően. A táblázatban látható, hogy az arrayCGH indikációs területe nagymértékben megegyezik az eddigi magyarországi gyakorlatban alkalmazott hagyományos kariotipizálási indokokkal. Az array alkalmazása a praenatalis diagnosztikában így nem jelentené az invazív beavatkozások számának növekedését, ugyanakkor azon strukturális eltérést mutató magzatoknál, akiknél az invazív diagnosztikai eljárás amúgy is indokolt lenne, biztosítaná az eddig nem detektált szubmikroszkópos kromoszómaeltérések felismerését. Az arrayCGH felhasználása a hazai asszisztált reprodukciós centrumok gyakorlatába is beleilleszhető, hiszen az array a PGD gyors és hatékony vizsgálatmódszere. Az arrayCGH bevezetése mind az egyén, mind a családok, mind a társadalom szintjén egyértelmű előnnyel járna. Nehéz megítélni, hogy az egyébként relatíve költséges módszer alkalmazása pontosan milyen többletkiadással

3. táblázat | Az arrayCGH elsődleges indikációi. Strukturális magzati ultrahangeltérések, amelyek szabályos magzati karyotipus esetén indokolják az array alkalmazását. A táblázat a leggyakoribb kópiaszám-variáció, a DiGeorge-szindróma praenatalisan felismerhető ultrahangeltéréseit is tartalmazza, a társuló rendellenesség százalékban megadva

Terhességi kor	Ultrahang-malformáció
I. Trimeszteri UH-vizsgálat (11–13 ⁺⁶ hét)	Kóros tarkóredő (NT>3,5 mm) Cysticus hygroma, hydrops fetalis Ductus venosus agenesia (Noonan-szindróma – célzott vizsgálat javasolt) Megacystis (7–15 mm között)
I. és II. Trimeszteri UH-vizsgálat (11–20 hét) Strukturális eltérések	Facialis dysmorphismus (micro-, retrognathia, hypo-, hypertelorismus, mélyen ülő fülek) Kétoldali ajak/szájpad hasadék Hátsó scala eltérések (Dandy–Walker-malformatio, cerebellaris eltérések) CNS-eltérések (holoprosencephalia, hydrocephalus spina bifida nélkül) Korai magzati IUGR CHD (például VSD, AVSD, Fallot-tetralógia, bal kamra hypoplasia, pulmonalis atresia, situs inversus) Diaphragmahernia, Esophagus atresia, Duodenum atresia (double bubble), Omphalocele Urogenitalis malformációk (kétoldali cystás vese, patkóvese, bizonytalan genitáliák) Musculosceletalis malformációk (kétoldali dongakéz, ízületi contracturák, deformitások, scoliosis) Multiplex, több szervi malformációk
DiGeorge-szindróma [40, 41] (22q11DS)	CHD: Aortaív interruptio type B (legspecifikusabb) ~40–50%, Absent pulm valve sy~ 40%, Truncus arteriosus communis ~30%, Pulmonaris atresia + VSD ~20%, Fallot-tetralógia (leggyakoribb) ~15–20%, Kettős kiáramlású jobb kamra (DORV) ~5% Jobb oldali aortaív (RAA) ~8–10%-ában Szájpadhasadék ~10–12%

arrayCGH = microarray-komparatív genomhibridizálás; AVSD = pitvar-kamrai septumdefektus; CHD = veleszületett szívfejlődési rendellenesség; CNS = központi idegrendszer; DORV = kettős kiáramlású jobb kamra; IUGR = méhen belüli növekedési elmaradás; UH = ultrahang; VSD = kamrai septumdefektus

járna a társadalombiztosítás számára, ugyanakkor saját genetikai centrumunk, a Magyar Honvédség Egészségügyi Centrum Praenatalis Központjában – az elmúlt néhány év adatait elemezve, évi körülbelül 400-as invazív esetszámmal kalkulálva – körülbelül évi 30–40 esetben lett volna indokolt az arrayCGH alkalmazása. Ezek az arányok valószínűleg alkalmasak az országos esetszámok megbecsülésére. Munkacsoportunk 2017 óta végez praenatalis és újszülött-arrayCGH-vizsgálatokat, amelyeket az OEP-finanszírozás hiánya határol be. A módszer olyan ritka genetikai szindrómák igazolásában segí-

tette munkánkat, mint a 4q-deletiós szindróma vagy egyéb ritka autoszomális trisomiák (RAT, például 9-es trisomia) [46].

Az arrayCGH hazai bevezetése bizonyos új szakmai irányelvek meghatározásán kívül a praenatalis genetikai centrumok megfelelő technikai felszerelését, a szakemberek speciális képzését is indokolná, és szükségszerűen vezetne a rutin klinikai genetikai gyakorlat megváltoztatásához. A bevezetéshez az egységes hazai protokoll kialakítása elkerülhetetlen mind a laboratóriumi gyakorlat, mind a genetikai tanácsadás szempontjából; ehhez a szakmai testületek multidiszciplináris (labordiagnosztika, genetika, szülészet-nőgyógyászat) konszenzusa szükséges. Array használata esetén a módszer alkalmazása előtt és után is prae- és posttest genetikai tanácsadás is szükséges, amelyek során a házaspárt részletesen tájékoztatjuk az arrayCGH módszer előnyeiről és korlátairól. A fentiek az amúgy is kisszámú és leterhelt labordiagnosztikai és genetikus szakemberek számára mindenképpen kihívást jelenthetnek. Az eredményről készült leletben pontosan meg kell határozni az alkalmazott aCGH-technikának a vizsgált eltérésekre vonatkozó (DNS-hiány, -többlet, UPD) detektálási minimális határértékét.

Következtetések

A kromoszómák összehasonlító microarray-vizsgálata tehát megbízhatóan képes a hagyományos kromoszóma-vizsgálattal nem észlelhető szubmikroszkópos DNS-eltérések kimutatására. A kromoszóma-rendellenességek és a kópiaszám-variációk az újabb kutatások szerint együttesen a terhességek közel 1%-ában fordulhatnak elő, a CNV-k nem függenek az édesanya életkorától. Azokban a terhességekben, amelyekben az ultrahangvizsgálat a magzat strukturális eltérését igazolja, az arrayvizsgálat használata szignifikáns előnyt jelent a kromoszómaeltérések felismerésében a hagyományos kariotipizáláshoz képest. Egyéb okból elvégzett invazív mintavétel kapcsán (anyai életkor, szülői aggodalom, biokémiai eltérés) a módszer elvégzésének lehetősége a szülők számára felajánlható. Az arrayCGH bevezetése a hazai klinikai gyakorlatban szükséges lenne, amelyre a megfelelő társszakmák alapos és átgondolt megegyezését és szigorú szakmai protokollját követően kerülhetne sor.

Anyagi támogatás: A szerzők anyagi támogatásban nem részesültek.

Szerzői munkamegosztás: T. Zs., P. T. E., P. H.: A közlemény megírása. S. E., B. I., D. J., K. P. J., B. A.: A közlemény véleményezése, javítása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Irodalom

- [1] Papp Z. Culturing of amniocytes for karyotyping. In: Papp Z. (ed.) Clinical genetics. (Magzatvízsejtek tenyésztése karyotipizálás céljából. In: Papp Z. (szerk.) Klinikai genetika.) Golden Book, Budapest, 1995; pp. 182–188. [Hungarian]
- [2] Papp C, Papp Z. Chorionic villus sampling and amniocentesis: what are the risks in current practice? *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2003; 15: 159–165.
- [3] Bakker M, Birnie E, Robles de Medina P, et al. Total pregnancy loss after chorionic villus sampling and amniocentesis: a cohort study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017; 49: 599–606.
- [4] Nicolaides KH. Turning the pyramid of prenatal care. *Fetal Diagn Ther.* 2011; 29: 183–196.
- [5] P Tardy E, Tóth A, Hajdu K, et al. Fluorescence *in situ* hybridization in prenatal diagnosis. First experiences. [A fluoreszcens *in situ* hibridizáció alkalmazása a praenatalis diagnosztikában. Első tapasztalatok.] *Orv Hetil.* 1996; 137: 523–526. [Hungarian]
- [6] Findlay I, Tóth T, Matthews P, et al. Rapid determination of trisomy 18 parental origin using fluorescent PCR and small tandem repeat markers: case reports. *Clin Genet.* 1998; 53: 92–95.
- [7] Tidrenczel Z, P Tardy E, Sarkadi E, et al. Prenatally diagnosed case of Pallister–Killian syndrome. [Praenatalisan felismert Pallister–Killian-szindróma esete.] *Orv Hetil.* 2018; 159: 847–852. [Hungarian]
- [8] Findlay I, Tóth T, Matthews P, et al. Rapid trisomy diagnosis (21, 18, and 13) using fluorescent PCR and short tandem repeats: applications for prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis. *J Assist Reprod Genet.* 1998; 15: 266–275.
- [9] Tóth T, Findlay I, Nagy B, et al. Accurate sizing of (CAG)_n repeats causing Huntington disease by fluorescent PCR. *Clin Chem.* 1997; 43: 2422–2423.
- [10] Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258: 818–821.
- [11] 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.
- [12] Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet.* 1998; 20: 207–211.
- [13] de Ravel TJ, Devriendt K, Fryns JP, et al. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridization (CGH). *Eur J Pediatr.* 2007; 166: 637–643.
- [14] 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. *Am J Hum Genet.* 2010; 86: 749–764.
- [15] Fan YS, Jayakar P, Zhu H, et al. Detection of pathogenic gene copy number variations in patients with mental retardation by genomewide oligonucleotide array comparative genomic hybridization. *Hum Mutat.* 2007; 28: 1124–1132.
- [16] Duga B, Czako M, Hadzsiev K, et al. Identifying rare genomic disorders with array comparative genomic hybridization in Hungary. [Ritka genomikai betegségek azonosítása array komparatív genomhibridizációs módszerrel – elsőként Magyarországon.] *Orv Hetil.* 2014; 155: 358–361. [Hungarian]
- [17] South ST, Lee C, Lamb AN, et al. ACMG standards and guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genet Med.* 2013; 15: 901–909.
- [18] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17: 405–424.
- [19] 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.
- [20] Oral Abstracts of the ISPD 19th International Conference on Prenatal Diagnosis and Therapy, Washington, DC, 12–15 July 2015. *Prenat Diagn.* 2015; 35(Suppl 1): 1–26.
- [21] Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K, et al. Comparative genomic hybridization–array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet.* 2004; 74: 1168–1174.
- [22] Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. Chromosomal microarray *versus* karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012; 367: 2175–2184.
- [23] Srebniak MI, Joosten M, Knapen MF, et al. Frequency of submicroscopic chromosomal aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosomal aberrations: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018; 51: 445–452.
- [24] Microarrays and next-generation sequencing technology: the use of advanced genetic diagnostic tools in obstetrics and gynecology. Committee Opinion No. 682. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2016; 128: 1462–1463.
- [25] Srebniak MI, Diderich KE, Joosten M, et al. Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet.* 2016; 24: 645–651.
- [26] Hillman SC, McMullan DJ, Hall G, et al. Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013; 41: 610–620.
- [27] Yang X, Li R, Fu F, et al. Submicroscopic chromosomal abnormalities in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017; 30: 194–198.
- [28] Donnelly JC, Platt LD, Rebarber A, et al. Association of copy number variants with specific ultrasonographically detected fetal anomalies. *Obstet Gynecol.* 2014; 124: 83–90.
- [29] 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: 986–995.
- [30] Breckpot J, Thienpont B, Peeters H, et al. Array comparative genomic hybridization as a diagnostic tool for syndromic heart defects. *J Pediatr.* 2010; 156: 810–817.e4.
- [31] Lazier J, Fruitman D, Lauzon J, et al. Prenatal array comparative genomic hybridization in fetuses with structural cardiac anomalies. *J Obstet Gynaecol Can.* 2016; 38: 619–626.
- [32] Saldarriaga W, García-Perdomo HA, Arango-Pineda J, et al. Karyotype *versus* genomic hybridization for the prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 212: 330.e1–330.e10.
- [33] Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, et al. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod.* 2011; 26: 480–490.
- [34] 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: 1374–1377.
- [35] Kan AS, Lau ET, Tang WF, et al. Whole-genome array CGH evaluation for replacing prenatal karyotyping in Hong Kong. *PLoS ONE* 2014; 9: e87988.
- [36] Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* 2016; 6: e010002.
- [37] Pertile MD, Halks-Miller M, Flowers N, et al. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest

- increased risk of fetoplacental disease. *Sci Transl Med.* 2017; 9: eaan 1240.
- [38] Grati FR, Molina Gomes D, Ferreira JC, et al. Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9500 pregnancies. *Prenat Diagn.* 2015; 35: 801–809.
- [39] Burnside RD. 22q11.21 deletion syndromes: a review of proximal, central, and distal deletions and their associated features. *Cytogenet Genome Res.* 2015; 146: 89–99.
- [40] Chaoui R, Kalache KD, Heling KS, et al. Absent or hypoplastic thymus on ultrasound: a marker for deletion 22q11.2 in fetal cardiac defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002; 20: 546–552.
- [41] Boudjemline Y, Fermont L, Le Bidois J, et al. Prevalence of 22q11 deletion in fetuses with conotruncal cardiac defects: a 6-year prospective study. *J Pediatr.* 2001; 138: 520–524.
- [42] Ravi H, McNeill G, Goel S, et al. Validation of a SNP-based non-invasive prenatal test to detect the fetal 22q11.2 deletion in maternal plasma samples. *PLoS ONE* 2018; 13: e0193476.
- [43] Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015; 23: 1592. Correction to: *Eur J Hum Genet.* 2015; 23: 1438–1450.
- [44] Stosic M, Brynn B, Wapner R. The use of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Obstet Gynecol Clin N Am.* 2018; 45: 55–68.
- [45] Beulen L, Faas BH, Feenstra I, et al. Clinical utility of non-invasive prenatal testing in pregnancies with ultrasound anomalies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017; 49: 721–728.
- [46] Tidrenczel Zs, Tardy EP, Piko H, et al. Prenatal diagnosis of 4q terminal deletion and review of the literature. *Cytogenet Genome Res.* 2019 (accepted for publication).

(Tidrenczel Zsolt dr.,
Budapest, Podmaniczky u. 111., 1062
e-mail: tidrenc@hotmail.com)

PÁLYÁZATI FELHÍVÁS

Dr. Fehér Jánosnak, a Semmelweis Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika volt igazgatójának és az Orvosi Hetilap volt főszerkesztőjének emlékére létrehozott **Dr. Fehér János Emlékére Alapítvány** minden évben pályázatot ír ki egyetemi hallgatók, fiatal egyetemi oktatók és PhD-hallgatók részére, akik a belgyógyászatban, különösen a hepatológiában végzett kutatási eredményeiket az Orvosi Hetilapban publikálják.

A kéziratot „Dr. Fehér János pályázat” megjelöléssel 2019. április 15-ig kell feltölteni az Orvosi Hetilap Editorial Manager rendszerébe.

A pályázathoz mellékelni kell a pályázó önéletrajzát.

A díj odaítéléséről az Alapítvány kuratóriuma dönt. A díj átadására a Markusovszky Lajos-ünnepségen, 2019. májusában kerül sor, ahol a nyertes pályázó rövid előadásban ismertetheti eredményeit.