



*UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
"CAROL DAVILA" din BUCUREȘTI*



**UNIVERSITATEA DE MEDICINA SI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
MEDICINA GENERALĂ**

**IMPORTANTA SECVENTIERII INTREGULUI
EXOM (WES) IN DIAGNOSTICUL PRENATAL IN
POPULATIA DIN ROMANIA**

CONDUCATOR DE DOCTORAT:

Prof. Dr. Hab. Iuliana Ceașu

DOCTORAND:

Drd. ILEANA-DELIA SĂBĂU

2025

Cuprins

<u>Lista articolelor științifice publicate</u>	3
<u>Introducere</u>	7
<u>I. Partea generală</u>	11
<u>1. Genetică</u>	11
<u>1.1. Istoria geneticii medicale</u>	12
<u>2. Imaginea actuală a geneticii medicale</u>	24
<u>II. Contribuții personale</u>	31
<u>3. Obiective generale și ipoteze</u>	31
<u>4. Evoluția secvențierii întregului exom prenatal: De la citogenetică la medicina de precizie</u>	40
<u>4.1. Introducere</u>	40
<u>4.2. Materiale și metode</u>	41
<u>4.3. Rezultate</u>	42
<u>4.4 Aplicații clinice ale WES prenatal</u>	52
<u>4.5. Provocări în WES prenatal</u>	55
<u>4.5.1. Variante cu semnificație incertă (VUS - Variants of Uncertain Significance)</u>	55
<u>4.5. 2. Implicații etice și psihologice</u>	56
<u>4.5.3. Cost și accesibilitate</u>	57
<u>4.5.4. Interpretarea datelor și bioinformatică</u>	58
<u>4.6. Direcții viitoare WES</u>	59
<u>4.6.1. WES prenatal non-invaziv (NIPT WES)</u>	60
<u>4.6.2. Medicina de precizie și îngrijirea personalizată</u>	62
<u>4.6.3. Bioinformatică și interpretarea datelor</u>	62
<u>4.7. Discuții</u>	63
<u>4.8. Concluzii</u>	67
<u>5. Analiză genetică prenatală cuprinzătoare: De la testarea prenatală non-invazivă la secvențierea întregului exom într-o sarcină cu risc crescut de boala Gaucher - un raport de caz și un review de literatură</u>	71
<u>5.1. Introducere</u>	71
<u>5.2. Materiale și metode</u>	76
<u>5.3. Prezentarea cazului</u>	77
<u>5.4. Discuții</u>	82
<u>5.5. Concluzii</u>	87

<u>6.Importanța testării prenatale prin secvențierea întregului exom în populația României</u>	88
<u>6.1. Introducere</u>	88
<u>6.2. Materiale și metode</u>	89
<u>6.3. Rezultate</u>	91
<u>6.4. Discuții</u>	102
<u>6.4.1. Domeniul de aplicare al analizei</u>	102
<u>6.4.2. Tipul de mutație</u>	102
<u>6.4.3. Rezoluție</u>	102
<u>6.4.4. Limitări ale proiectării rețelelor</u>	103
<u>6.4.5. Analiza datelor</u>	103
<u>6.5. Concluzii</u>	106
<u>7. Concluzii și contribuții personale</u>	107
<u>Referințe</u>	112

Introducere

Genetica medicală a devenit o specialitate crucială cu un mare impact la nivel mondial, care este legată atât de sănătatea individuală, cât și de sistemele de sănătate publică. Unele dintre cele mai importante avantaje includ: detectarea și intervenția timpurie prin teste de predispoziție genetică, diagnosticarea precisă, medicina personalizată, ceea ce înseamnă o abordare adaptată fiecărui pacient în parte, gestionarea vieții și îngrijirea pacienților cu afecțiuni rare; de asemenea, poate oferi cercetătorilor posibilitatea de a urmări descendența străveche și de a învăța despre evoluția populațiilor. La scară largă, impactul asupra sistemelor de sănătate publică începe să se facă simțit în țările dezvoltate care au ales să pună în aplicare teste genetice pentru screening și/sau diagnostic.

1. Istoria geneticii medicale

Gregor Mendel a fost un călugăr, profesor și biolog, născut în Republica Cehă de astăzi, pe atunci Imperiul Austriac, care a descoperit principiile de bază ale eredității. A trăit între 1822 și 1884 și este considerat a fi "părintele" geneticii moderne sau mendeliene. Prin binecunoscutele sale experimente cu mazăre, el a postulat bazele eredității și a numit "factori" ceea ce noi numim acum "gene" pentru a explica ce determină formarea trăsăturilor într-un organism. Cele trei legi ale eredității publicate în lucrarea sa "Experimente în hibridizarea plantelor" din 1856, legea segregării, legea asortării independente și legea dominanței și uniformității, rămân incontestabile până în zilele noastre. Munca lui Mendel a rămas nevalorificată până în 1900, când trei biologi europeni i-au descoperit munca simultan, Hugo DeVries, Carl Correns și Erich von Tschermak. Aceștia au sensibilizat publicul cu privire la munca sa, făcând-o cunoscută oamenilor de știință și publicului larg [1-10].

2. Imaginea actuală a geneticii medicale

În secolul XXI, observăm expansiunea medicinei personalizate și genomice, care a determinat oamenii de știință să își propună să producă terapii genice prin editarea genelor sau tehnica CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats).

În domeniul terapiei genice, există două grupuri principale. Prin procesul de terapie genică ex vivo, celulele sunt extrase de la pacient, se introduce material genetic nou, iar celulele sunt apoi returnate pacientului după ce au fost asamblate într-un vehicul de livrare cunoscut sub numele de vector. Această abordare este utilizată pentru tratamentul unei varietăți de afecțiuni, inclusiv anemia falciformă, adrenoleucodistrofia, boala granulomatoasă cronică și altele. În timpul terapiei genice in vivo, vectorul este fie injectat într-un organ țintă precum ochiul, fie infuzat direct în circulație prin administrare intravenoasă (IV). Terapia genică in vivo poate trata o varietate de afecțiuni, inclusiv hemofilia și deficitul de ornitin-transcarbamilază, printre altele.

Cele două cercetătoare care au inventat metoda CRISPR sunt Emmanuelle Charpentier și Jennifer Doudna, care au primit Premiul Nobel pentru Chimie în 2020, "pentru dezvoltarea unei metode de editare a genomului".

CRISPR este o metodă utilizată de cercetători pentru editarea selectivă a ADN-ului organismelor. CRISPR a fost reconfigurat pentru aplicații de laborator pornind de la mecanismele naturale de editare a genomului identificate la bacterii.

Terapia genică este o metodă care utilizează genele pentru a trata, preveni sau vindeca boli sau tulburări medicale. Terapia genică funcționează adesea prin introducerea de copii normale ale unei gene defecte sau mutante, sau prin înlocuirea unei gene defecte sau absente din celulele unui pacient cu o versiune funcțională. Terapia genică a fost utilizată pentru tratarea atât a bolilor genetice moștenite (de exemplu, hemofilia și siclemia), cât și a bolilor dobândite (de exemplu, leucemia) [5-10].

3. Obiective generale și ipoteze

Partea codantă a ADN-ului se numește exom. O genă este formată din literele A, T, C, G, iar ADN-ul, este alcătuit din introni și exoni. Toate procesele celulare care au loc în organism sunt reglate de ADN. Cu toate acestea, nu toate tipurile de ADN fac acest lucru. Se știe că doar 1-2% din toate genele codifică sau conțin instrucțiuni pentru proteine, care sunt componentele de bază ale celulelor și stau la baza tuturor proceselor organismelor vii. Chiar dacă cercetătorii credeau că vor descoperi mult mai multe gene la om, aproximativ 20 000-25 000 de gene sunt conținute în genomul uman. Unul dintre cele mai importante aspecte ale complexității umane este modul în care aceste gene sunt controlate de restul de 99% din ADN-ul nostru, care este denumit "necunoscutul" genomului.

Deși secvențierea întregului genom al unei persoane este posibilă, acest proces este costisitor și necesită o cantitate semnificativă de spațiu de stocare pentru datele bioinformatică obținute. Secvențierea întregului exom este mai frecvent utilizată și mai rentabilă, deoarece se estimează că 85% din toate variantele genetice care provoacă boli pot fi găsite în exom.

Mai mult de aproximativ 6% din toate sarcinile cu malformații sunt diagnosticate prin utilizarea cariotipului molecular, în timp ce testul standard, care este cariotipul clasic din lichidul amniotic, detectează între 8 și 10% din toate sarcinile anormale. Pe de altă parte, un număr semnificativ de sarcini rămân nediagnosticate. Conform cercetărilor efectuate la nivel mondial, WES prenatal este responsabil pentru aducerea la lumină a unui diagnostic în 20-80% la sută din cazuri, iar în anumite situații selecționate, chiar mai mult de 90%.

Scopul acestui studiu este de a demonstra semnificația testării genetice prenatale prin WES în

populația din România, în special la gravidele care prezintă la ecografie fetuși malformați sau RCIU. Studiul își propune să determine diagnosticul cu certitudine absolută și procentul exact din populație pentru care testarea pune diagnosticul. Acest lucru va permite o decizie informată cu privire la sarcină, precum și un management semnificativ îmbunătățit al cazului, inclusiv posibilitatea administrării tratamentului în utero sau imediat după naștere în anumite circumstanțe.

Studiul își propune astfel să elaboreze un ghid pentru medicii din România și nu numai, bazat pe dovezi, în funcție de variantele descoperite în populația noastră privind diagnosticul prenatal și etapele de realizare a acestuia, atunci când este necesar, la pacientele selectate.

WES este o tehnică de secvențiere ADN de nouă generație care poate obține toate regiunile codificatoare ale genomului uman (exoni) - peste 22 000 de gene. Această tehnologie modernă și eficientă permite identificarea rapidă și rentabilă a polimorfismelor/variantelor cu un singur nucleotid (SNP/SNV), a variațiilor numărului de copii (CNV) și a inserțiilor sau delețiilor mici (indels), precum și a mutațiilor rare de novo. Această bibliotecă de date brute astfel obținute poate fi reinterpretată și reclasificată în timp, în funcție de dezvoltarea bazelor de date și a cunoștințelor în domeniu, fără a fi nevoie de o nouă recoltare de sânge sau de alt material biologic de la pacient.

La nivel internațional, nu există o reglementare strictă privind recomandarea acestor teste personalizate, deoarece acestea au fost efectuate doar recent pentru diagnostic și nu pentru cercetare.

Diverse țări europene utilizează deja această tehnologie, cu o mare incertitudine în ceea ce privește alegerea testării Solo sau Trio - adică testarea numai a fătului prin analiza lichidului amniotic sau testarea părinților din prima etapă, care se numește WES Trio. O altă întrebare care apare este dacă panelurile specifice, cum ar fi cele cardiologice sau neurogenetice, sunt mai rentabile decât secvențierea exomului.

Motivația subiectului ales

Existența unui număr tot mai mare de sarcini cu malformații sau restricții de creștere fetală care nu sunt diagnosticate prin metodele existente.

Nevoia de a ști dacă malformația detectată prin ecografie a fătului este unică sau face parte dintr-un sindrom genetic complex.

Prevalența anomaliilor congenitale în populația generală este de aproximativ 3%-5%. De la prima raportare a utilizării ecografiei în obstetrică, aceasta a devenit un instrument important pentru detectarea defectelor structurale fetale, depistând prezența lor în 2-3% din cazuri. Evaluarea

translucenței nucale în primul trimestru reprezintă, de asemenea, un instrument de screening pentru anomaliile structurale fetale. Există o asociere între translucența nucală crescută și anomaliile cromozomiale, în special trisomia 21 sau monosomia X, precum și cu prezența diferitelor anomalii structurale fetale cardiace, gastrointestinale sau ale sistemului limfatic. Peste 75-80% din anomaliile fetale apar în primele 3 luni de gestație. Prin urmare, o bună vizualizare a fătului în acest stadiu permite detectarea precoce a anomaliilor structurale. Ratele de detectare prin examinare ecografică a anomaliilor structurale majore în primul și al doilea trimestru variază de la 12,0% -44% și, respectiv, de la 20% la 87%.

Întrebarea de cercetare

Câte cazuri de fetuși malformați cu cariotip molecular negativ au rezultate pozitive la testul WES în populația României?

Aflarea procentului de cazuri pentru care WES pune diagnosticul, comparativ cu cariotipul molecular (diagnostic prenatal actual) în populația din țara noastră.

Obiective și ipoteze

Testarea WES prenatală pune diagnosticul în până la 80% din cazurile selectate la nivel internațional (malformații sau IUGR), ajutând medicul și familia să ia o decizie informată și să aibă o viziune de ansamblu asupra sarcinii.

Primul obiectiv este de a cunoaște procentul pentru care în România se găsește diagnosticul cert. Celălalt obiectiv este urmărirea deciziilor familiilor informate și a modului în care acestea aleg să continue sau nu sarcina în funcție de aflarea diagnosticului cert de sindrom genetic.

Se recomandă consultul genetic pre și post-test. Consultația pre-test are scopul de a alege testarea ținută și personalizată pentru fiecare caz în parte și de a analiza utilitatea și beneficiul posibil al testării genetice specifice. Consultația post-test se realizează cu scopul de a interpreta rezultatele și de a consilia familia cu privire la modul de transmitere, recurența și posibilele complicații ale patologiei genetice descoperite.

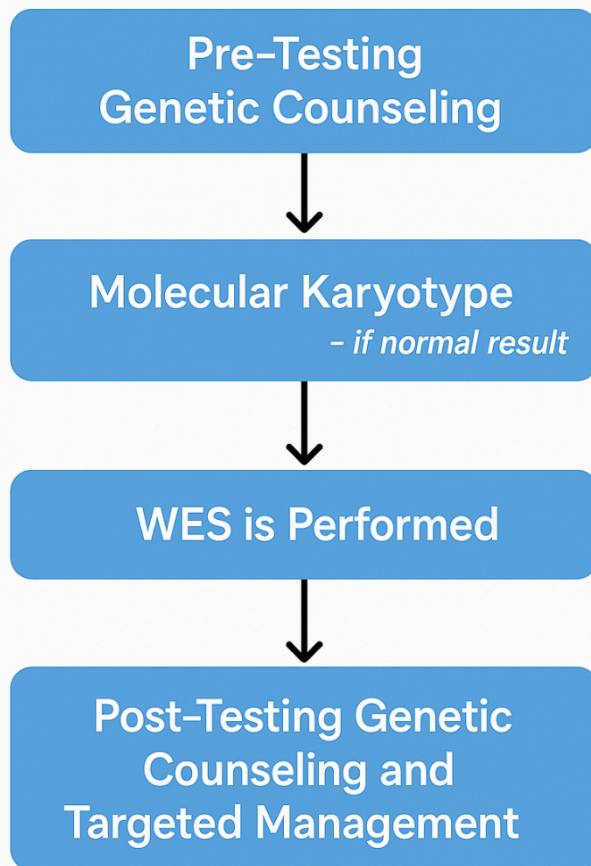
Completarea algoritmului de testare gold standard existent cu această metodă de testare de nouă generație ar trebui să devină noul gold standard la pacienții selectați, făcând diagnosticul sigur în până la 80-92% din cazuri.

Algoritmul pentru testarea fetoșilor cu malformații nespecifice este prezentat și în **figura 7**. Etapele sunt:

1. consiliere genetică pre-testare
2. cariotip molecular - dacă rezultatul este normal
3. Se efectuează WES
4. consiliere genetică post-test și management direcționat

Figura 7: Algoritmul de testare pentru fetoși cu malformații nespecifice

Algorithm for Unspecific Malformed Fetuses



4. Evoluția secvențierii întregului exom prenatal: De la citogenetică la medicina de precizie

În trecut, testele genetice prenatale se limitau la identificarea anomaliilor cromozomiale. Deși revoluționare, aceste metode nu au putut detecta variații genetice mai subtile care ar putea afecta profund dezvoltarea fetală.

În anii 1960, introducerea cariotipării a marcat un progres esențial în diagnosticul genetic prenatal. Această tehnică a permis vizualizarea cromozomilor fetalii, obținuți prin amniocenteză sau prin prelevarea de vilozități corionice (CVS), permițând medicilor să detecteze anomalii cromozomiale majore, cum ar fi sindromul Down (trisomia 21), trisomia 18, trisomia 13 și aneuploidii ale cromozomilor sexuali [11-13].

John William Ballantyne, un obstetrician scoțian, a fost primul care, la începutul secolului al XX-lea, a pledat pentru tratamentul femeilor însărcinate pentru a îmbunătăți sănătatea copiilor lor. Ballantyne a dezvoltat un interes pentru malformațiile nou-născuților și ale fătului, denumite "nașteri monstruoase". El a concluzionat că o îngrijire medicală adecvată pentru femeile însărcinate diminuează incidența anomaliilor la copii [5,6,7].

În anii 1990, FISH a apărut ca un progres puternic în diagnosticul genetic prenatal. Această tehnică utilizează sonde marcate fluorescent care se leagă de secvențe ADN specifice de pe cromozomi, permițând detectarea anomaliilor cromozomiale vizate cu o precizie mai mare decât cariotiparea tradițională. Cu toate acestea, deși FISH a îmbunătățit diagnosticul anomaliilor cromozomiale specifice, nu a avut acoperirea genomică completă necesară pentru detectarea mutațiilor punctuale sau a rearanjamentelor structurale complexe.

Secvențierea întregului exom (WES) a apărut la începutul anilor 2010 ca un progres revoluționar în diagnosticul genetic prenatal. Spre deosebire de analiza cromozomială microarray (CMA), care detectează în principal variațiile numărului de copii (CNV), WES secvențiază întreaga regiune a genomului care codifică proteine - exomul - unde se găsesc majoritatea variantelor patogene asociate cu bolile genetice. Deși exomul reprezintă doar 1-2% din genom, acesta conține majoritatea variantelor care cauzează boli, făcând din WES un instrument extrem de eficient pentru detectarea mutațiilor punctuale, a inserțiilor și delețiilor mici (indels) și a anumitor variante structurale legate de afecțiunile monogenice și sindromice. Oferind o rezoluție și un randament de diagnostic mai mari în comparație cu tehnicile anterioare, WES a extins semnificativ capacitățile de testare genetică prenatală, permițând identificarea timpurie a afecțiunilor nedetectabile anterior [19-28].

În studiul de cohortă efectuat de Wang și colaboratorii în 2024, un total de 60 de sarcini cu anomalii ecografice au fost incluse pentru investigații extinse, inclusiv analiza cariotipului, CMA și WES. Rezultatele au arătat că doisprezece (20%, 12/60) fetuși au fost identificați cu anomalii cromozomiale prin cariotipare sau CMA. Din cele 48 de cazuri rămase care au fost supuse WES, variante P/LP au fost găsite în 14 cazuri (29,2%), ceea ce a dus la o creștere a randamentului de diagnostic de 23,3% (14/60) din fetușii testați cu anomalii congenitale, inclusiv o serie de afecțiuni fetale, cum ar fi anomalii scheletale, defecte cardiace și alte anomalii congenitale s-au dovedit a avea cauze genetice. Studiul a demonstrat că WES ar putea diagnostica o serie de anomalii congenitale, cum ar fi defecte cardiace și anomalii scheletice, care au fost nediagnosticate prin tehnicile tradiționale de diagnostic prenatal, cum ar fi cariotiparea și analiza microarray – cariotip molecular (CMA). Studiul a evidențiat, de asemenea, modul în care WES ar putea identifica cauzele

genetice ale acestor afecțiuni, îmbunătățind astfel diagnosticul prenatal și influențând luarea deciziilor clinice [26].

5. Analiză genetică prenatală complexă: De la testarea prenatală non-invazivă la secvențierea întregului exom într-o sarcină cu risc ridicat cu boala Gaucher - un raport de caz și un review de literatură

În acest studiu, prezentăm cazul unei paciente caucaziene în vârstă de 35 de ani care a efectuat un test prenatal non-invaziv (NIPT), Veragene.

NIPT reprezintă un progres revoluționar în screeningul prenatal, utilizând secvențierea de generație următoare (NGS) sau alte tehnologii de mare capacitate pentru a analiza ADN-ul placentar care circulă în sângele matern. Această abordare oferă o alternativă mai sigură la procedurile invazive tradiționale, cum ar fi prelevarea de vilozități corionice (CVS) sau amniocenteza, deoarece nu prezintă niciun risc direct pentru făt.

În ciuda promovării și comercializării sale pe scară largă, este esențial să se evalueze în mod critic beneficiile, limitările și riscurile NIPT în comparație cu metodele de testare invazive. Deși NIPT este foarte eficient pentru depistarea aneuploidiei comune, cum ar fi trisomia 21 (sindromul Down), trisomia 18 (sindromul Edwards) și trisomia 13 (sindromul Patau), utilitatea sa clinică este limitată de incapacitatea sa de a furniza un diagnostic definitiv. În plus, pot apărea rezultate fals-pozitive și fals-negative din cauza unor factori precum mozaicismul placentar, starea de sănătate a mamei sau variabile specifice fetale.

Testul NIPT utilizat a fost testul Veragene, un test dezvoltat în laborator validat de Medicover Genetics Ltd. pentru screening prenatal. Acesta poate testa aneuploidii cromozomiale comune, cum ar fi trisomiile 13, 21, 18, X și microdeleții selectate prin analiza paralelă multiplexată a regiunilor specifice de interes. De asemenea, poate detecta 100 de tulburări monogenice, cum ar fi GD.

Veragene este creat pe baza tehnologiei Target Capture Sequences (TACSs), care constă în sonde ADN sintetice lungi care se leagă de regiuni ADN specifice ale genomului și utilizează apoi tehnologia NGS. Această metodologie specială este concepută pentru a reduce limitările descrise în prezent ale NIPT bazat pe secvențierea întregului genom [51-59]. Îmbogățirea TACS a fost utilizată cu succes pentru depistarea riscului fetal de afecțiuni monogenice pe baza rezultatelor screeningului părinților purtători.

WES prenatal a fost realizat prin tehnologia NGS pe platforma NovaSeq de la Illumina. Analiza bioinformatică utilizată a fost Illumina Dragen Bio-IT, iar interpretarea rezultatelor a fost realizată

cu ajutorul software-ului VarSeq versiunea 2.3.0 de la GoldenHelix. Datele au fost aliniate la genomul uman de referință hg38 (NCBI GRCh38).

Clasificarea și interpretarea variantelor au fost efectuate în conformitate cu standardele ACMG (Colegiul American de Genetică Medicală) și ale Asociației pentru Știința Genomică Clinică (ACGS) [60,61].

Acest caz subliniază necesitatea înțelegerii atât a avantajelor, cât și a limitelor testelor prenatale non-invazive (NIPT) în îngrijirea prenatală, în special importanța testelor de diagnosticare de confirmare atunci când sunt identificate anomalii.

6. Importanța testării prenatale prin secvențierea întregului eșafodaj în populația României

Descriem 10 cazuri de testare WES prenatală pentru paciente însărcinate din populația României, între anii 2022 și 2023, dintr-un laborator privat din București, România.

Caz ul nr.	Fenotip	Vâr sta gest ațio nală	Motivul trimiterii pentru testarea WES	WES fetal	Rezultatu l sarcinii	Constatări incidentale/secund are
1	Bradycardie fetală sinusală, extrasistole supraventriculare	22 săptămâni	SNP-array negativ	Negativ	Nașterea unui copil mort	PALB2:c.93dupA (p.Leu32thrfsTer11)- moștenit de la mamă
2	Arteră subclaviculară dreaptă aberantă, picioare cu fund de	20 de săptămâni	SNP-array negativ	LMX1B:c.718G > A (p.Val240Ile) Glomeruloscleroză segmentată focală 10 Sindromul unghie-rotula	Născut, afirmativ fără simptome la vârsta de 1 an.	-

Caz ul nr.	Fenotip	Vârsta gestațională	Motivul trimiterii pentru testarea WES	WES fetal	Rezultatul sarcinii	Constatări incidentale/secundare
	rocker, hidrops fetal, ascită fetală					
3	Arc aortic drept, hidronefroz severă, sindrom de regresie caudală, polidactilie mezoaxială a mâinii	18 săptămâni	SNP-array negativ Suspiciune clinică sindrom VACTERL	HOXD13:c.820C > T (p.Arg274Ter) Sindromul brahidactilie-sindactilie Brahidactilie, tip D Brahidactilie, tip E Sindactilie, tip V Sinpolidactilie 1	Cuplul a decis întrerupere a sarcinii	-
4	Mega Cisterna Magna, ventriculomegalie	22 săptămâni	SNP-array negativ	ADNP:c.1612G > A (p.Glu538Lys) Helsmoortel-Van der Aa sindrom De novo	Sarcina în curs	-
5	Clubfeet, microretrognatie,	24 săptămâni	SNP-array negativ	TGFBR1:c.734A > C	Născut, afirmativ fără	HBB: c.-151C > T Beta-talasemie-

Caz ul nr.	Fenotip	Vâr sta gest a țio nală	Motivul trimiterii pentru testarea WES	WES fetal	Rezultatu l sarcinii	Constatări incidentale/secund are
	arahnodactilie, agenezia a corpului calos, restricție de creștere intrauterină	ămâ ni		(p.Glu245Ala) Sindromul Loeys Dietz	simptome la vârsta de 1 an.	moștenită de la mamă
6	Agenezia corpus callosum Oligohidra mnios	23 săpt ămâ ni	Consangvinitate SNP-array negativ	Negativ	Născut, afirmativ fără simptome la vârsta de 2 ani.	BRCA2: c.793 + 1G > A Susceptibilitate la cancer mamar-ovarian, cancer pancreatic, cancer de prostată - moștenită de la mamă
7	Focar ecogenic intracardiac, pielectazie. Sindrom QT lung al tatălui, istoric familiar de moarte subită	19 săpt ămâ ni	SNP-array negativ	KCNQ1:c.605-28A > G Sindromul QT lung 1 Susceptibilitate la Sindromul QT scurt 2 Fibrilație atrială, familiară, 3 Moștenită de la tată	Născut, afirmativ fără simptome la vârsta de 1 an.	-

Caz ul nr.	Fenotip	Vârsta gestațională	Motivul trimiterii pentru testarea WES	WES fetal	Rezultatul sarcinii	Constatări incidentale/secundare
	cardiacă, aritmii -tatăl afectat (fără diagnostic genetic)					
8	Arcul aortic drept	17 săpt ămâ ni	SNP-array negativ	Negativ	Născut, afirmativ fără simptome la vârsta de 1 an.	-
9	Ambiguitate sexuală la morfologie. Restricție de creștere intrauterină, hipospadias, polihidramn ios.	20 de săpt ămâ ni	SNP array: arr [GRCh38]12p13 .33p11.22(14876 9_30138756)x2 hmz, 12q21.31q24.22(84757938_1176 85540)x2 hmz	Negativ	Cuplul a decis întrerupere a sarcinii	-
10	Ventriculomegalie bilaterală marginală, suspiciune de hidrocefalie	19 săpt ămâ ni	SNP-array negativ	Negativ LAMB1:c.3499C > T (p.Arg1167Ter) Lissencefalia 5 (AR) PTPN23:c.2248C > A (p.Pro750Thr) Tulburare de	Sarcina în curs	

Caz ul nr.	Fenotip	Vârsta gestațională	Motivul trimiterii pentru testarea WES	WES fetal	Rezultatul sarcinii	Constatări incidentale/secundare
	cu stenoză silviană			neurodezvoltare și anomalii structurale ale creierului cu sau fără convulsii și spasticitate (AR)		

Procentul de diagnostic al testului WES în rândul pacienților noștri a fost de 50%, similar cu alte studii publicate recent în literatura de specialitate.

În acest articol, prezentăm 10 cazuri care au fost testate prin WES prenatal, arătând randamentul mare al diagnosticului în comparație cu testarea SNP-array în cazurile noastre selectate. Ca o remarcă finală, dorim să subliniem beneficiile testării WES în cazurile prenatale. Nu numai că am descoperit etiologia anomaliilor structurale fetale, dar am evidențiat și unele descoperiri incidentale și secundare care au diagnosticat părinții sau au avertizat echipa medicală multidisciplinară cu privire la unele riscuri ridicate pentru părinți și familiile lor.

Declarația lui de Jong și de Wert lansează o dezbatere cu privire la modul în care testele prenatale ar trebui să fie asigurate de stat, astfel încât cuplurile să aibă opțiunea de a întrerupe o anumită sarcină în cazul în care viitorul copil se va naște cu afecțiuni grave care ar putea duce la decesul copilului sau la invaliditatea pe viață a copilului. Serviciile de sănătate de stat ar trebui să rămână imparțiale în ceea ce privește opțiunile cuplurilor, înainte și după testare, cu privire la menținerea sau întreruperea sarcinii, oferind în același timp cel mai bun sprijin pentru respectarea dorinței lor. De exemplu, în cazul în care cuplul dorește să păstreze o sarcină în care nou-născutul ar avea afecțiuni congenitale sau diverse alte patologii, serviciile de stat ar putea asigura o consultație prenatală în specialitatea chirurgie sau ar putea organiza o echipă multidisciplinară pentru a trata și a răspunde mai bine nevoilor pacientului. Pe de altă parte, în cazul în care cuplul alege să întrerupă sarcina, serviciile de stat ar putea oferi o varietate de specialiști obstetricieni care le-ar putea oferi cele mai bune îngrijiri înainte și după întreruperea sarcinii [91,92].

O etapă crucială în testarea genetică este completarea consimțământului informat din partea pacienților testați sau a cuplului. Formularul de consimțământ informat ar trebui să cuprindă opțiunile pre- și post-test, lipsa unei constrângeri legale, un plan de gestionare a patologiei specializate, asigurarea unei îngrijiri perinatale optime sau, în alte cazuri, până la îngrijirea paliativă, limitele testării genetice și limitele cunoștințelor actuale la nivel mondial.

Randamentul diagnostic pentru această tehnică variază de la 8 la 80%, în funcție de caracteristicile cohorței, cum ar fi dimensiunea, istoricul familial, etnia și selecția pacienților.

7. Concluzii și contribuții personale

Genetica medicală este în prezent recunoscută ca o componentă fundamentală a medicinei moderne, facilitând progrese substanțiale în diagnosticarea, tratarea și prevenirea bolilor prin descoperirea determinantilor genetici ai diverselor patologii. Descoperirile recente în domeniul tehnologiilor de secvențiere a genomului, al biologiei moleculare și al analizei permit practicienilor din domeniul geneticii medicale să detecteze variantele genetice și biomarkerii legați de numeroase boli ereditare și dobândite. Aceste progrese au facilitat identificarea timpurie și precizia sporită în diagnosticarea unor boli precum cancerul, tulburările cardiovasculare și sindroamele genetice rare, îmbunătățind astfel rezultatele și calitatea vieții pacienților.

Apariția farmacogenomicii facilitează terapia medicamentoasă personalizată în funcție de profilul genetic al unui individ, îmbunătățind eficacitatea tratamentului și reducând efectele adverse nedorite. Tehnologia genetică reproductivă și prenatală facilitează planificarea familială informată și diminuează prevalența tulburărilor ereditare.

Încorporarea geneticii medicale în asistența medicală prezintă obstacole etice, juridice, ce diferă de la o societate la alta, ce necesită o analiză meticuloasă, inclusiv detalii legate de confidențialitate, permisiune și acces echitabil la tratamentele genetice. În consecință, sunt necesare investiții susținute în cercetare, educație și infrastructura de asistență medicală pentru a valorifica pe deplin avantajele geneticii medicale.

Guvernele, organizațiile și sistemele de sănătate din întreaga lume sunt încurajate să pună în aplicare norme care să susțină utilizarea etică și adecvată a informațiilor genetice, facilitând în același timp colaborarea dintre oamenii de știință, clinicieni și profesioniști din domeniul sănătății publice pentru a garanta că aceste progrese sunt în beneficiul diferitelor comunități din întreaga lume.

Genetica prenatală a transformat asistența medicală în domeniul reproducerii, oferind informații esențiale cu privire la sănătatea genetică a fătului înainte de naștere, facilitând luarea deciziilor în

cunoștință de cauză și opțiunile de intervenție precoce. Progresele înregistrate în domeniul screeningului genetic și al tehnologiilor de diagnostic, inclusiv testarea prenatală non-invazivă (NIPT), prelevarea de vilozități coriale (CVS) și amniocenteza, permit furnizorilor de asistență medicală să identifice anomalii cromozomiale, afecțiuni monogenice și alte afecțiuni ereditare cu o precizie și o siguranță sporite. Aceste progrese facilitează detectarea precoce a unor afecțiuni precum sindromul Down, fibroza chistică, talasemia și anomaliiile tubului neural, adesea înainte de manifestarea simptomelor clinice.

Includerea consilierii genetice în îngrijirea prenatală garantează că viitorii părinți obțin informații complete și asistență pentru a lua decizii informate cu privire la gestionarea sarcinii, alternativele reproductive și posibilele terapii.

În plus, medicina genetică prenatală facilitează dezvoltarea de noi abordări terapeutice, cum ar fi tratamentele in utero și metodele de editare genetică care ar putea corecta sau atenua anomaliiile genetice înainte de naștere. Pe măsură ce aceste tehnologii devin din ce în ce mai disponibile și mai avansate, ele prezintă probleme etice și sociale semnificative, inclusiv consimțământul informat și aspectele psihologice ale descoperirilor genetice. În consecință, este imperativ ca serviciile de genetică prenatală să fie furnizate cu empatie, echitate și în conformitate cu normele etice, pentru a garanta că toate persoanele și familiile pot utiliza în mod responsabil și favorabil aceste progrese medicale.

În concluzie, WES prenatal este metoda preferată pentru un diagnostic genetic precis și cuprinzător, identificând cauzele genetice ale anomaliilor structurale care nu sunt explicate de standardul de aur actual, cum ar fi cariotiparea sau microarray-ul. Este deosebit de utilă în diagnosticarea tulburărilor genetice rare și, de asemenea, pentru a evalua dacă boala a apărut de novo sau dacă a fost moștenită de la un părinte. Este, fără îndoială, cel mai eficient și mai elocvent pentru familiile care au antecedente de pierderi recurente de sarcină nediagnosticate sau anomalii ale fetoșilor. Poate ajuta familia și medicii curanți cu privire la riscul de recurență al sindroamelor rare și poate contribui la elaborarea unui plan personal de gestionare pentru familie.

WES prenatal este testul de diagnostic electiv atunci când NIPT nu oferă un răspuns, fiind incert, fără rezultat sau negativ și atunci când cariotipul și/sau microarray-ul nu explică descoperirile ecografice.

Familiile solicită de obicei un diagnostic exact atunci când vine vorba de fetoși malformați și, de asemenea, echipa multidisciplinară care le asistă trebuie să știe dacă o tulburare genetică este cauza anomaliilor fetale. Numai cunoscând cauza putem oferi abordarea corectă și, de asemenea, putem sfătui pacienții să urmeze proceduri sau tratamente in utero specifice, intervenții chirurgicale in

utero, sau să aleagă tipul de spital și, de asemenea, tipul de metode de naștere recomandate. Terapiile genice in utero pot fi, de asemenea, o opțiune și se vor dezvolta din ce în ce mai mult în următorii ani. Alte terapii in utero posibile sunt transplantul de celule stem și terapia de substituție enzimatică.

Este posibil ca viitorii părinți să se confrunte cu mai puțină tensiune psihologică dacă primesc un diagnostic concludent, care elimină incertitudinea asociată anomaliilor prenatale. Datorită acestei clarități, familiile pot căuta sprijinul adecvat, se pot conecta la rețelele care sunt relevante pentru situația lor și se pot pregăti emoțional și practic pentru anii următori.

Cunoașterea fundamentelor genetice ale anomaliilor fetale prin WES prenatal permite, de asemenea, consilierea precisă a riscurilor de recurență în sarcinile ulterioare. Identificarea tulburărilor autosomale recesive informează părinții cu privire la o probabilitate de recurență de 25%, orientând deciziile privind diagnosticul genetic preimplantațional (PGD) sau testarea prenatală precocă în sarcinile viitoare. Pe de altă parte, tulburările care apar de novo nu au, de obicei, o rată de recurență.

Concluzia mea este că, la fel ca alte țări europene, și statul român ar trebui să ramburseze testele, deoarece este mai eficientă diagnosticarea precocă a afecțiunilor genetice, astfel încât cuplurile să aibă posibilitatea de a întrerupe sau păstra sarcina pe baza unui diagnostic precis.

În România, la fel ca în alte țări europene, ne confruntăm cu lipsa infrastructurii, a personalului calificat pentru efectuarea și interpretarea rezultatelor, precum și pentru asigurarea consultului genetic pre și post test. În țara noastră, situația actuală este că se formează un număr bun de medici geneticieni care de obicei nu își găsesc locuri de muncă în spitalele de stat, oferta de angajare la spitalele de stat fiind foarte redusă. Acestora li se oferă apoi locuri de muncă în sectorul privat, un loc în care toate tehnologiile și platformele de testare sunt disponibile.

Vreau să subliniez necesitatea unei infrastructuri publice mai bune care să poată crea întregul flux de lucru, atât cu testele actuale de referință, cât și cu teste mai complexe, cum ar fi WES prenatal.

Testul, ca orice alt test genetic, are propriile sale limitări, pe care un medic specialist în genetică medicală trebuie să le cunoască și să informeze familia și ceilalți medici care fac parte din echipa multidisciplinară. Prin urmare, acesta ar trebui să fie recomandat numai de un medic genetician, numai după o consiliere genetică amănunțită pre-testare.

În concluzie, acest test ar trebui să facă parte, de asemenea, dintr-un nou panel gold standard, alături de testele existente și să fie utilizat numai în situații specifice, cazuri selectate cu fetuși malformați fără diagnostic genetic.

Genetica medicală din România a înregistrat progrese semnificative în ultimii ani, determinate de creșterea gradului de conștientizare a tulburărilor genetice, de îmbunătățirea infrastructurii de sănătate și de integrarea tot mai mare a serviciilor genetice în practica clinică. Instituțiile medicale românești, în special în orașe mari precum București, Craiova, Iași, Cluj-Napoca și Timișoara, au dezvoltat centre specializate pentru diagnostic genetic, consiliere și cercetare, oferind servicii precum screeningul purtătorilor, diagnosticul prenatal și testarea moleculară pentru afecțiunile moștenite. Cu toate acestea, în ciuda acestor progrese, domeniul se confruntă încă cu provocări notabile, inclusiv discrepanțe regionale în ceea ce privește accesul la îngrijire, finanțare limitată și un deficit de geneticieni în spitalele de stat, în special în zonele rurale.

Sunt în curs de desfășurare eforturi de extindere a programelor de educație și formare în domeniul geneticii, cu scopul de a crea o forță de muncă mai solidă, capabilă să satisfacă cererea tot mai mare de servicii genetice. Campaniile de conștientizare a publicului și a profesioniștilor au jucat, de asemenea, un rol în reducerea stigmatizării legate de bolile genetice și în promovarea diagnosticării și intervenției mai timpurii. În plus, participarea României la colaborări și proiecte de cercetare internaționale, în special în cadrul Uniunii Europene, a contribuit la accelerarea adoptării de tehnologii și standarde genomice moderne.

Cu toate acestea, preocupările etice, cum ar fi confidențialitatea pacienților, consimțământul informat și accesul echitabil la testele genetice, rămân domenii critice care necesită supraveghere și dezvoltare continuă. Pe măsură ce țara continuă să integreze genetica medicală în sistemul său național de sănătate, investițiile susținute în infrastructură, educație, elaborarea de politici și colaborarea interdisciplinară vor fi esențiale pentru a se asigura că beneficiile medicinei genetice sunt accesibile tuturor cetățenilor români.

Bibliografie selectiva

1. Han J., Yang Y.D., He Y., Liu W.J., Zhen L., Pan M., Yang X., Zhang V.W., Liao C., Li D.Z. Rapid prenatal diagnosis of skeletal dysplasia using medical trio exome sequencing: Benefit for prenatal counseling and pregnancy management. *Prenat. Diagn.* 2020;40:577–584. doi: 10.1002/pd.5653.
2. Guadagnolo D, Mastromoro G, Di Palma F, Pizzuti A, Marchionni E. Prenatal Exome Sequencing: Background, Current Practice and Future Perspectives-A Systematic Review.

Diagnostics (Basel). 2021 Feb 2;11(2):224. doi: 10.3390/diagnostics11020224. PMID: 33540854; PMCID: PMC7913004.

3. Wei W, Jiang W, Yang R, Cui W, Zhang L, Li Z. Analyzing the Trends and Causes of Birth Defects - Jinan City, Shandong Province, China, 2005-2022. *China CDC Wkly.* 2023 Nov 3;5(44):978-983. doi: 10.46234/ccdcw2023.184. PMID: 38023392; PMCID: PMC10652091.
4. Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010;686:349-64. doi: 10.1007/978-90-481-9485-8_20. PMID: 20824455.
5. Bergman, J. E. H., Perraud, A., Barišić, I., Kinsner-Ovaskainen, A., Morris, J. K., Tucker, D., Wellesley, D., & Garne, E. (2024). Updated EUROCAT guidelines for classification of cases with congenital anomalies. *Birth Defects Research*, 116(2), e2314. <https://doi.org/10.1002/bdr2.2314>
6. Passarge, E. Origins of human genetics. A personal perspective. *Eur J Hum Genet* 29, 1038–1044 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41431-020-00785-7>
7. Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. *Lancet.* 1966 Feb 19;1(7434):383-5. doi: 10.1016/s0140-6736(66)91387-0. PMID: 4159775.
8. Available online: <https://www.genome.gov/human-genome-project/timeline> (accessed on 29.04.2025)
9. Hashizume R, Wakita S, Sawada H, Takebayashi SI, Kitabatake Y, Miyagawa Y, Hirokawa YS, Imai H, Kurahashi H. Trisomic rescue via allele-specific multiple chromosome cleavage using CRISPR-Cas9 in trisomy 21 cells. *PNAS Nexus.* 2025 Feb 18;4(2):pgaf022. doi: 10.1093/pnasnexus/pgaf022. PMID: 39967679; PMCID: PMC11832276.
10. Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics.* 2010 Nov;11(7):537-61. doi: 10.2174/138920210793175895. PMID: 21532838; PMCID: PMC3048316.
11. **Sabau ID**, Bohiltea LC, Varlas V, et al. The evolution of prenatal Whole Exome Sequencing: from cytogenetics to precision medicine. *Arch Clin Cases.* 2025;12(2):80-89. doi: 10.22551/2025.47.1202.10318
12. Gregory M, Burton V, Shapiro B. Developmental disabilities and metabolic disorders. In: Zigmond MJ, Rowland LP, Coyle JT, editors. *Neurobiology of brain disorders*. San Diego: Academic Press; 2015
13. Löwy I. How genetics came to the unborn: 1960-2000. *Stud Hist Philos Biol Biomed Sci.* 2014 Sep;47 Pt A:154-62. PMID: 24968964. doi:10.1016/j.shpsc.2014.05.015.
14. Brock DJ, Sutcliffe RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet.* 1972 Jul 29;2(7770):197-9. PMID: 4114207. doi: 10.1016/S0140-6736(72)91634-0.
15. Lorber J, Stewart CR, Ward AM. Alpha-fetoprotein in antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet.* 1973 May 26;1(7813):1187. PMID: 4123575. doi: 10.1016/S0140-6736(73)91190-2.
16. Press N, Browner CH. Why women say yes to prenatal diagnosis. *Soc Sci Med.* 1997 Oct;45(7):979-89. PMID: 9257391. doi: 10.1016/S0277-9536(97)00011-7

17. Levy B, Wapner R. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis. *Fertil Steril*. 2018 Feb;109(2):201-12. PMID: 29447663; PMCID: PMC5856154. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.01.005.
18. 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 May;41(6):610-20. doi: 10.1002/uog.12464.
19. Bilgüvar K, Oztürk AK, Louvi A, et al. Whole-exome sequencing identifies recessive WDR62 mutations in severe brain malformations. *Nature*. 2010 Sep 9;467(7312):207-10. doi: 10.1038/nature09327
20. Goh G, Choi M. Application of whole exome sequencing to identify disease-causing variants in inherited human diseases. *Genomics Inform*. 2012 Dec;10(4):214-9. PMID: 23346032; PMCID: PMC3543920. doi: 10.5808/GI.2012.10.4.214.
21. Best S, Wou K, Vora N, et al. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing. *Prenat Diagn*. 2018 Jan;38(1):10-9. PMID: 28654730; PMCID: PMC5745303. doi: 10.1002/pd.5102
22. Talkowski ME, Rehm HL. Introduction of genomics into prenatal diagnostics. *Lancet*. 2019 Feb 23;393(10173):719-21. PMID: 26826164; PMCID: PMC4847612. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30193-X.
23. Qiao Y, Wen J, Tang F, et al. Whole exome sequencing in recurrent early pregnancy loss. *Mol Hum Reprod*. 2016 May;22(5):364-72. PMID: 9257391. doi: 10.1093/molehr/gaw008.
24. Carss KJ, Hillman SC, Parthiban V, et al. Exome sequencing improves genetic diagnosis of structural fetal abnormalities revealed by ultrasound. *Hum Mol Genet*. 2014 Jun 15;23(12):3269-77. doi:10.1093/hmg/ddu038.
25. Pereira R, Oliveira J, Sousa M. Bioinformatics and computational tools for next-generation sequencing analysis in clinical genetics. *J Clin Med*. 2020 Jan 3;9(1):132. PMID: 31947757; PMCID: PMC7019349. doi: 10.3390/jcm9010132.
26. Wang Y, Yin F, Chai Y, et al. Prenatal diagnosis of fetuses with ultrasound anomalies by whole-exome sequencing in Luoyang city, China. *Front Genet*. 2024 Jan 22;14:1301439. PMID: 38318287; PMCID: PMC10838985. doi: 10.3389/fgene.2023.1301439.
27. Qin Y, Yao Y, Liu N, et al. Prenatal whole-exome sequencing for fetal structural anomalies: a retrospective analysis of 145 Chinese cases. *BMC Med Genomics*. 2023 Oct 25;16(1):262. PMID: 37880672; PMCID: PMC10601195. doi: 10.1186/s12920-023-01697-3.
28. Lei L, Zhou L, Xiong JJ. Whole-exome sequencing increases the diagnostic rate for prenatal fetal structural anomalies. *Eur J Med Genet*. 2021 Sep;64(9):104288. doi: 10.1016/j.ejmg.2021.104288.
29. Stanley KE, Giordano J, Thorsten V, et al. Causal genetic variants in stillbirth. *N Engl J Med*. 2020 Sep 17;383(12):1107-16. PMID: 32786180; PMCID: PMC7604888. doi: 10.1056/NEJMoa1908753.
30. Diderich KEM, Klapwijk JE, van der Schoot V, et al. Challenges and pragmatic solutions in pre-test and post-test genetic counseling for prenatal exome sequencing. *Appl Clin Genet*. 2023 May 15;16:89-97. PMID: 37216148; PMCID: PMC10198275. doi: 10.2147/TACG.S411185.

31. Van Der Merwe N, Ramesar R, De Vries J. Whole exome sequencing in South Africa: stakeholder views on return of individual research results and incidental findings. *Front Genet.* 2022 Jun 8;13:864822. PMID: 35754817; PMCID: PMC9216214. doi: 10.3389/fgene.2022.864822.
32. Liu S, Yang F, Chang Q, et al. Positive predictive value estimates for noninvasive prenatal testing from data of a prenatal diagnosis laboratory and literature review. *Mol Cytogenet.* 2022 Jul 6;15(1):29. PMID: 35794576; PMCID: PMC9261060. doi: 10.1186/s13039-022-00607-z.
33. Radoi VE, Bohiltea CL, Bohiltea RE, et al. Cell free fetal DNA testing in maternal blood of Romanian pregnant women. *Iran J Reprod Med.* 2015 Oct;13(10):623-6. PMID: 26644790; PMCID: PMC4668349.
34. Drury S, Hill M, Chitty LS. Cell-free fetal DNA testing for prenatal diagnosis. *Adv Clin Chem.* 2016;76:1-35. doi: 10.1016/bs.acc.2016.05.004
35. Brand H, Whelan CW, Duyzend M, et al. High-resolution and non-invasive fetal exome screening. *N Engl J Med.* 2023 Nov 23;389(21):2014-6. PMID: 37991862; PMCID: PMC10711678. doi: 10.1056/NEJMc2216144
36. Setty ST, Scott-Boyer MP, Cuppens T, et al. New developments and possibilities in reanalysis and reinterpretation of whole exome sequencing datasets for unsolved rare diseases using machine learning approaches. *IntJ MolSci.* 2022 Jun 18;23(12):6792. PMID: 35743235; PMCID: PMC9224427. doi: 10.3390/ijms23126792
37. Ji X, Li Q, Qi Y, et al. When NIPT meets WES, prenatal diagnosticians face the dilemma: genetic etiological analysis of 2,328 cases of NT thickening and follow-up of pregnancy outcomes. *Front Genet.* 2023 Aug 2;14:1227724. PMID: 37600658; PMCID: PMC10433188. doi:10.3389/fgene.2023.1227724
38. Qi Q, Jiang Y, Zhou X, et al. Simultaneous detection of CNVs and SNVs improves the diagnostic yield of fetuses with ultrasound anomalies and normal karyotypes. *Genes (Basel).* 2020 Nov 25;11(12):1397. doi: 10.3390/genes11121397
39. Dempsey E, Haworth A, Ive L, et al. A report on the impact of rapid prenatal exome sequencing on the clinical management of 52 ongoing pregnancies: a retrospective review. *BJOG.* 2021 May;128(6):1012-9. doi: 10.1111/1471-0528.16546
40. Chen M, Chen J, Wang C, et al. Clinical application of medical exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2020 Mar;251:119-24. doi:10.1016/j.ejogrb.2020.04.033
41. Becher N, Andreasen L, Sandager P, et al. Implementation of exome sequencing in fetal diagnostics: data and experiences from a tertiary center in Denmark. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Jul;99(6):783-90. doi: 10.1111/aogs.13871
42. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet.* 2019 Feb 23;393(10173):758-67. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32042-7
43. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet.* 2019 Feb 23;393(10173):747-57. doi:10.1016/S0140-6736(18)31940-8

44. Smith EJ, Hill M, Peter M, et al. Implementation of a national prenatal exome sequencing service in England: cost-effectiveness analysis. *BJOG*. 2025 Mar;132(4):483-91. PMID: 39572407; PMCID:PMC11794059. doi: 10.1111/1471-0528.18020
45. Deden C, Neveling K, Zafeiropoulou D, et al. Rapid whole exome sequencing in pregnancies to identify the underlying genetic cause in fetuses with congenital anomalies detected by ultrasound imaging. *Prenat Diagn*. 2020 Jul;40(8):972-83. PMID: 32333414; PMCID:PMC7497059. doi: 10.1002/pd.5717
46. PFMG 2025–Plan France Médecine Génomique. Accessed online at:<https://pfmg2025.fr/> (accessed 14.05.2025)
47. **Săbău, I.-D.**; Bohiltea, L.-C.; Turcan, M., Comprehensive Prenatal Genetic Analysis: From Non-Invasive Prenatal Testing to Whole-Exome Sequencing in a High-Risk Pregnancy with Gaucher Disease—A Case Report and Literature Review. *J. Mind Med. Sci.* **2025**, *12*, 25. <https://doi.org/10.3390/jmms12010025>
48. Dardis, A.; Michelakakis, H.; Rozenfeld, P.; Fumic, K.; Wagner, J.; Pavan, E.; Fuller, M.; Revel-Vilk, S.; Hughes, D.; Cox, T.; et al. Patient centered guidelines for the laboratory diagnosis of Gaucher disease type 1. *Orphanet J. Rare Dis.* **2022**, *17*, 442
49. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448080/> (accessed on 10 April 2025).
50. Rossi, C.; Ferrante, R.; Valentinuzzi, S.; Zucchelli, M.; Buccolini, C.; Di Rado, S.; Trotta, D.; Stuppia, L.; Federici, L.; Aricò, M. Noninvasive DBS-Based Approaches to Assist Clinical Diagnosis and Treatment Monitoring of Gaucher Disease. *Biomedicines* **2023**, *11*, 2672
51. Koumbaris, G.; Kypri, E.; Tsangaras, K.; Achilleos, A.; Mina, P.; Neofytou, M.; Velissariou, V.; Christopoulou, G.; Kallikas, I.; González-Liñán, A.; et al. Cell-free DNA analysis of targeted genomic regions in maternal plasma for non-invasive prenatal testing of trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13, and fetal sex. *Clin. Chem.* **2016**, *62*, 848–855.
52. Stokowski, R.; Wang, E.; White, K.; Batey, A.; Jacobsson, B.; Brar, H.; Balanarasimha, M.; Hollemon, D.; Sparks, A.; Nicolaides, K.; et al. Clinical performance of non-invasive prenatal testing (NIPT) using targeted cell-free DNA analysis in maternal plasma with microarrays or next generation sequencing (NGS) is consistent across multiple controlled clinical studies. *Prenat. Diagn.* **2015**, *35*, 1243–1246
53. Struble, C.A.; Syngelaki, A.; Oliphant, A.; Song, K.; Nicolaides, K.H. Fetal fraction estimate in twin pregnancies using directed cell-free DNA analysis. *Fetal Diagn. Ther.* **2014**, *35*, 199–203
54. Kypri, E.; Ioannides, M.; Touvana, E.; Neophytou, I.; Mina, P.; Velissariou, V.; Vittas, S.; Santana, A.; Alexidis, F.; Tsangaras, K.; et al. Non-invasive prenatal testing of fetal chromosomal aneuploidies: Validation and clinical performance of the veracity test. *Mol. Cytogenet.* **2019**, *12*, 34
55. Koumbaris, G.; Achilleos, A.; Nicolaou, M.; Loizides, C.; Tsangaras, K.; Kypri, E.; Mina, P.; Sismani, C.; Velissariou, V.; Christopoulou, G.; et al. Targeted capture enrichment followed by NGS: Development and validation of a single comprehensive NIPT for chromosomal aneuploidies, microdeletion syndromes and monogenic diseases. *Mol. Cytogenet.* **2019**, *12*, 48

56. Kypri, E.; Ioannides, M.; Achilleos, A.; Koumbaris, G.; Patsalis, P.; Stumm, M. Non-invasive prenatal screening tests—Update 2022. *J. Lab. Med.* **2022**, *46*, 311–320
57. Neofytou, M.C.; Tsangaras, K.; Kypri, E.; Loizides, C.; Ioannides, M.; Achilleos, A.; Mina, P.; Keravnou, A.; Sismani, C.; Koumbaris, G.; et al. Targeted capture enrichment assay for non-invasive prenatal testing of large and small size sub-chromosomal deletions and duplications. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0171319
58. Wang, E.; Batey, A.; Struble, C.; Musci, T.; Song, K.; Oliphant, A. Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenat. Diagn.* **2013**, *33*, 662–666
59. Palomaki, G.E.; Kloza, E.M. Prenatal cell-free DNA Screening Test Failures: A Systematic Review of Failure Rates, Risks of Down Syndrome, and Impact of Repeat Testing. *Anesthesia Analg.* **2018**, *20*, 1312–1323. Available online: <http://www.nature.com/doi/10.1038/gim.2018.22> (accessed on 27 May 2024).
60. Richards, S.; Aziz, N.; Bale, S.; Bick, D.; Das, S.; Gastier-Foster, J.; Grody, W.W.; Hegde, M.; Lyon, E.; Spector, E.; 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
61. Karczewski, K.; Francioli, L.; Tiao, G. ACGS Best Practice Guidelines for Variant Classification in Rare Disease 2020. *bioRxiv* **2019**, 531210.
62. Liehr, T.; Lauten, A.; Schneider, U.; Schleussner, E.; Weise, A. Noninvasive Prenatal Testing—When Is It Advantageous to Apply. *Biomed. Hub* **2017**, *2*, 1–11
63. Jayashankar, S.S.; Nasaruddin, M.L.; Hassan, M.F.; Dasrilsyah, R.A.; Shafiee, M.N.; Ismail, N.A.; Alias, E. Non-invasive prenatal testing (NIPT): Reliability, challenges, and future directions. *Diagnostics* **2023**, *13*, 2570
64. Eltabbakh, N.; Mohasin, Y.; Jeddy, R. Advancements of non-invasive prenatal testing: The role of obstetricians. *Front. Med.* **2024**
65. Satam, H.; Joshi, K.; Mangrolia, U.; Waghoo, S.; Zaidi, G.; Rawool, S.; Thakare, R.P.; Bhanday, S.; Mishra, A.K.; Das, G.; et al. Next-generation sequencing technology: Current trends and advancements. *Biology* **2023**, *12*, 997
66. Gullo, G.; Scaglione, M.; Buzzaccarini, G.; Laganà, A.S.; Basile, G.; Chiantera, V.; Cucinella, G.; Zaami, S. Cell-Free Fetal DNA and Non-Invasive Prenatal Diagnosis of Chromosomopathies and Pediatric Monogenic Diseases: A Critical Appraisal and Medicolegal Remarks. *J. Pers. Med.* **2022**, *13*, 1
67. Spinillo, S.L.; Farina, A.; Sotiriadis, A.; Pozzoni, M.; Giglio, S.; Papale, M.; Candiani, M.; Cavarotto, P.I. Pregnancy outcome of confined placental mosaicism: Meta-analysis of cohort studies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2022**, *227*, 714–727.e1
68. Grati, F.R.; Bajaj, K.; Zanatta, V.; Malvestiti, F.; Malvestiti, B.; Marcato, L.; Grimi, B.; Maggi, F.; Simoni, G.; Gross, S.J.; et al. Implications of fetoplacental mosaicism on cell-free DNA testing for sex chromosome aneuploidies. *Prenat. Diagn.* **2017**, *37*, 1017–1027
69. Snyder, M.W.; Simmons, L.E.; Kitzman, J.O.; Coe, B.P.; Henson, J.M.; Daza, R.M.; Eichler, E.E.; Shendure, J.; Gammill, H.S. Copy-Number Variation and False Positive Prenatal

Aneuploidy Screening Results. *N. Engl. J. Med.* **2015**, 372, 1639–1645. Available online: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1408408> (accessed on 10 April 2025)

70. Grati, F. Chromosomal Mosaicism in Human Feto-Placental Development: Implications for Prenatal Diagnosis. *J. Clin. Med.* **2014**, 3, 809–837
71. Gil, M.M.; Quezada, M.S.; Revello, R.; Akolekar, R.; Nicolaides, K.H.; To, C. analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: Updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2015**, 45, 249–266
72. Brisset, S.; Aboura, A.; Audibert, F.; Costa, J.M.; L’Herminé, A.C.; Gautier, V.; Frydman, R.; Tachdjian, G. Discordant prenatal diagnosis of trisomy 21 due to mosaic structural rearrangements of chromosome 21. *Prenat. Diagn.* **2003**, 23, 461–469
73. Gregg, A.R.; Skotko, B.G.; Benkendorf, J.L.; Monaghan, K.G.; Bajaj, K.; Best, R.G.; Klugman, S.; Watson, M.S. Noninvasive prenatal Screening for Fetal Aneuploidy, 2016 Update: A Position Statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet. Med.* **2016**, 18, 1056–1065. Available online: <http://www.nature.com/doi/10.1038/gim.2016.97>
74. Guo, Y.; Charoenkwan, P.; Traisrisilp, K.; Piyamongkol, W.; Tongprasert, F. Application of Digital Polymerase Chain Reaction (dPCR) in Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT). *Biomolecules* **2025**, 15, 360.
75. Yang, Y.; Muzny, D.M.; Xia, F.; Niu, Z.; Person, R.; Ding, Y.; Ward, P.; Braxton, A.; Wang, M.; Buhay, C.; et al. Molecular findings among patients referred for clinical whole-exome sequencing. *JAMA* **2014**, 312, 1870–1879.
76. Rabinowitz, T.; Shomron, N. Genome-wide noninvasive prenatal diagnosis of monogenic disorders: Current and future trends. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **2020**, 18, 2463–2470
77. Snyder, M.W.; Simmons, L.E.; Kitzman, J.O.; Santillan, D.A.; Santillan, M.K.; Gammill, H.S.; Shendure, J. Noninvasive fetal genome sequencing: A primer. *Prenat. Diagn.* **2013**, 33, 547–554.
78. ACOG. Cell-Free DNA Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet. Gynecol.* **2015**, 126, e31–e37.
79. Schmitz, D.; Henn, W. The fetus in the age of the genome. *Hum. Genet.* **2022**, 141, 1017–1026
80. Palanki, R.; Peranteau, W.H.; Mitchell, M.J. Delivery technologies for in utero gene therapy. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2021**, 169, 51–62
81. Săbău, I.-D.; Bohîltea, L.-C.; Rădoi, V.E.; The Importance of Prenatal Whole-Exome Sequencing Testing in the Romanian Population. *J. Mind Med. Sci.* **2025**, 12, 7. <https://doi.org/10.3390/jmms12010007>
82. Syngelaki, A.; Hammami, A.; Bower, S.; Zidere, V.; Akolekar, R.; Nicolaides, K.H. Diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities on routine ultrasound examination at 11–13 weeks’ gestation. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* **2019**, 54, 468–476

83. Wapner, R.J.; Martin, C.L.; Levy, B.; Ballif, B.C.; Eng, C.M.; Zachary, J.M.; Savage, M.; Platt, L.D.; Saltzman, D.; Grobman, W.A.; et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N. Engl. J. Med.* 2012, 367, 2175–2184
84. Callaway, J.L.A.; Shaffer, L.G.; Chitty, L.S.; Rosenfeld, J.A.; Crolla, J.A. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: A review of the literature. *Prenat. Diagn.* 2013, 33, 1119–1123
85. Srivastava, S.; Love-Nichols, J.A.; Dies, K.A.; Ledbetter, D.H.; Martin, C.L.; Chung, W.K.; Firth, H.V.; Frazier, T.; Hansen, R.L.; Prock, L. Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: Exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genet. Med.* 2019, 21, 2413–2421
86. Clark, M.M.; Stark, Z.; Farnaes, L.; Tan, T.Y.; White, S.M.; Dimmock, D.; Kingsmore, S.F. Meta-analysis of the diagnostic and clinical utility of genome and exome sequencing and chromosomal microarray in children with suspected genetic diseases. *NPJ Genom. Med.* 2018, 3, 16
87. Chandler, N.; Best, S.; Hayward, J.; Faravelli, F.; Mansour, S.; Kivuva, E.; Tapon, D.; Male, A.; DeVile, C.; Chitty, L.S. Rapid prenatal diagnosis using targeted exome sequencing: A cohort study to assess feasibility and potential impact on prenatal counseling and pregnancy management. *Genet. Med.* 2018, 20, 1430–1437
88. Normand, E.A.; Braxton, A.; Nassef, S.; Ward, P.A.; Vetrini, F.; He, W.; Patel, V.; Qu, C.; Westerfield, L.E.; Stover, S.; et al. Clinical exome sequencing for fetuses with ultrasound abnormalities and a suspected Mendelian disorder. *Genome Med.* 2018, 10, 74.
89. Mone, F.; McMullan, D.J.; Williams, D.; Chitty, L.S.; Maher, E.R.; Kilby, M.D. Fetal Genomics Steering Group of the British Society for Genetic Medicine and Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Evidence to support the clinical utility of prenatal exome sequencing in evaluation of the fetus with congenital anomalies. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* 2021, 128, e39–e50
90. ISPD; SMFM; PQF. Joint Position Statement from the International Society of Prenatal Diagnosis (ISPD), the Society of Maternal Fetal Medicine (SMFM) and the Perinatal Quality Foundation (PQF) on the use of genome-wide sequencing for fetal diagnosis. *Prenat. Diagn.* 2018, 38, 6–9
91. Monaghan, K.G.; Leach, N.T.; Pekarek, D.; Prasad, P.; Rose, N.C. ACMG Professional Practice and Guidelines Committee The use of fetal exome sequencing in prenatal diagnosis: A points to consider document of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet. Med.* 2020, 22, 675–680
92. AlDubayan, S.H.; Conway, J.R.; Camp, S.Y.; Witkowski, L.; Kofman, E.; Reardon, B.; Han, S.; Moore, N.; Elmarakeby, H.; Salari, K.; et al. Detection of Pathogenic Variants With Germline Genetic Testing Using Deep Learning vs Standard Methods in Patients With Prostate Cancer and Melanoma. *JAMA* 2020, 324, 1957–1969
93. Mellis, R.; Oprych, K.; Scotchman, E.; Hill, M.; Chitty, L.S. Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Prenat. Diagn.* 2022, 42, 662–685

94. Miceikaite, I.; Fagerberg, C.; Brasch-Andersen, C.; Torring, P.M.; Kristiansen, B.S.; Hao, Q.; Sperling, L.; Ibsen, M.H.; Löser, K.; Bendtsen, E.A.; et al. Comprehensive prenatal diagnostics: Exome versus genome sequencing. *Prenat. Diagn.* 2023, 43, 1132–1141.

Lista lucrarilor stiintifice publicate

1. **Sabau ID**, Bohiltea LC, Varlas V, et al. The evolution of prenatal Whole Exome Sequencing: from cytogenetics to precision medicine. *Arch Clin Cases.* 2025;12(2):80-89. doi: 10.22551/2025.47.1202.10318
<https://www.clinicalcases.eu/index.php/acc/article/view/1175/352>
(Acest articol se regaseste in Capitolul 4, paginile 30-60)

2. **Săbău, I.-D.**; Bohîltea, L.-C.; Țurcan, M., Comprehensive Prenatal Genetic Analysis: From Non-Invasive Prenatal Testing to Whole-Exome Sequencing in a High-Risk Pregnancy with Gaucher Disease—A Case Report and Literature Review. *J. Mind Med. Sci.* **2025**, *12*, 25.
<https://doi.org/10.3390/jmms12010025>
<https://www.mdpi.com/2392-7674/12/1/25>

(Acest articol se regaseste in Capitolul 5, paginile 61-77)

3. **Săbău, I.-D.**; Bohîltea, L.-C.; Rădoi, V.E.; The Importance of Prenatal Whole-Exome Sequencing Testing in the Romanian Population. *J. Mind Med. Sci.* **2025**, *12*, 7.
<https://doi.org/10.3390/jmms12010007>
<https://www.mdpi.com/2392-7674/12/1/7>

(Acest articol se regaseste in Capitolul 6, paginile 78-96)