

Kliničke smjernice  
Clinical guidelines

Medicina 2004;42(41):295-300  
UDK: 618.2-082-072.5  
616.899.6:618.33

## INVAZIVNE I NEINVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

### INVASIVE AND NON-INVASIVE METHODS OF PRENATAL DIAGNOSTICS

*Bojana Brajenović-Milić*

#### SAŽETAK

Brojne invazivne i neinvazivne metode danas su sastavni dio svake moderno organizirane prenatalne skrbi. Invazivni, dijagnostički testovi kao što su biopsija korion frondoza i amniocenteza, primjenjuju se u visokorizičnih trudnoća, a neinvazivni, biokemijski i/ili ultrazvučni, testovi probira predviđeni su za sve trudnice, bez obzira na dob i bez osobnog ili obiteljskoga genetičkog opterećenja. Svrha je probira utvrđivanje trudnica s povećanim rizikom za određeni poremećaj, što indicira daljnju dijagnostiku. Danas je u širokoj primjeni biokemijski test probira za trisomiju 21 (Downov sindrom), najčešću autosomnu aberaciju u ljudi. Probir se najčešće izvodi između 15. i 18. tjedna trudnoće, a procjena rizika temelji se na riziku za trisomiju 21 ovisnom o godinama trudnoće i riziku vezanom uz razinu serumskih biljega kao što su alfa-fetoprotein, humani korionski gonadotropin ili njegova slobodna  $\beta$ -podjedinica i nekonjugirani estriol. Stopa detekcije Downova sindroma u drugom tromjesečju trudnoće kreće se od 60% do 75%, uz 5% lažnopolozitivnih nalaza. Test probira može se izvoditi i u prvom tromjesečju i kombinacija je ultrazvučnog mjerenja nuhalnog nabora i mjerenja razine slobodnog  $\beta$ -hCG-a i uz trudnoću vezanog plazma proteina-A (PAPP-A) u serumu trudnice. Stopa detekcije je viša nego u drugom tromjesečju i iznosi 75%–90%, uz stopu od 5% lažnopolozitivnih nalaza. Uz Downov sindrom, biokemijskim testovima probira mogu se detektirati i neki drugi poremećaji kao što su oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stijenke (drugo tromjesečje), trisomija 18 (Edwardsov sindrom), Turnerov sindrom, Smith-Lemli-Opitzov sindrom i deficijencija steroidne sulfataze.

*KLJUČNE RIJEČI:* Downov sindrom; prenatalni test probira

#### UVOD

Kongenitalne anomalije uzrok su perinatalne smrti u 20–25% slučajeva, a čak 3% djece rodi se s većom ili ma-

#### ABSTRACT

A variety of invasive and non-invasive tests have been included in the modern prenatal care. Invasive and diagnostic tests (chorionic villus sampling and amniocentesis) are performed in "high risk" pregnancies, while non-invasive, biochemical or/and ultrasonographical screening tests are available to all pregnant women regardless of their age, in particular to those women who do not have any personal or family history of genetic disorder. The purpose of a prenatal screening test is to identify individuals at a sufficient risk of a specific disorder to benefit from a further diagnostic investigation. Nowadays, the second trimester serum screening for one of the most common autosomal aberrations, trisomy 21 (Down syndrome), has been gaining a wide acceptance. Generally, it is carried out between 15 to 18 weeks of gestational age and the risk evaluation is based on the combination of the maternal age-specific risk for an affected pregnancy together with the risk associated with the concentrations of maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin or its free  $\beta$ -subunit and unconjugated estriol. The second trimester detection rate for Down syndrome is 60–75% at a 5% false positive rate. The first trimester screening for trisomy 21 can be performed using combined measuring of the fetal nuchal translucency thickness and the maternal serum free  $\beta$ -hCG as well as the pregnancy associated plasma protein-A. In this case, a detection rate of 75–90% at a 5% false positive rate can be achieved. In addition to Down syndrome, serum-screening tests are also effective in the detection of neural tube defects, abdominal wall defects, trisomy 18 (Edward's syndrome), Turner syndrome, Smith-Lemli-Opitz syndrome and steroid sulfatase deficiency.

*KEY WORDS:* Down syndrome, prenatal screening test

njom malformacijom. Mnoge od njih mogu biti detektirane već prije rođenja primjenom različitih metoda prenatalne dijagnostike. Današnja, moderno koncipirana prenatalna skrb nudi brojne invazivne i neinvazivne testove. Invazivni testovi kao što su amniocenteza i biopsija korion frondoza, dijagnostički su i primjenjuju se u slučajevima visokorizičnih trudnoća. Razlozi njihove primjene su brojni, a najčešće se radi o slučajevima osobnog ili obiteljskoga genetičkog opterećenja, o već rođenoj bolesnom djetetu, poznoj dobi trudnice te

Ustanova: Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Prispjelo: 27. 8. 2004.

Prihvaćeno: 22. 9. 2004.

Adresa za dopisivanje: Prof. dr. sc. Bojana Brajenović-Milić, Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 22, 51000 Rijeka. Tel. 051 651-128. e-mail: [bojana@mamed.medri.hr](mailto:bojana@mamed.medri.hr)

povećanom riziku utvrđenim biokemijskim ili ultrazvučnim testom probira. No prije bilo kakve intervencije ili primjene invazivnih metoda, valja uvažavati pravilo *sine qua non* prenatalne dijagnostike, što u prvom redu podrazumijeva mogućnost utvrđivanja ili isključivanja bolesti analizom fetalnog tkiva. U slučajevima utvrđenog poremećaja u fetusa, prenatalna dijagnoza omogućuje roditeljima da u razgovoru sa svojim liječnikom donesu odluku o daljnjem tijeku trudnoće.

Za razliku od invazivnih metoda, neinvazivni testovi probira, biokemijski i ultrazvučni, predviđeni su za sve trudnice bez obzira na dob, odnosno one koje nemaju niti jedan od prije navedenih problema. Općenito, pojam probira podrazumijeva sistemsku primjenu testa poradi otkrivanja osoba s povećanim rizikom za određen poremećaj.<sup>1</sup> Određen program probira mora zadovoljiti ove kriterije: medicinski dobro opisan poremećaj s poznatom prevalencijom, financijski opravdan, siguran i pristupačan test s dobro definiranim mogućnostima.<sup>2</sup> Valjanost testa probira procjenjuje se na osnovi njegove stope detekcije (senzitivnost), lažnopolozitivne stope (specifičnost) i o mogućnosti da se stvarno radi o bolesti u slučaju pozitivnog rezultata.

Prenatalni biokemijski test probira poradi identifikacije trudnica s povećanim rizikom za Downov sindrom (DS), u skladu je s navedenim kriterijima i potpuno opravdava svoju primjenu.

#### *Klinički aspekt Downova sindroma*

Downov sindrom najčešći je uzrok mentalne retardacije u čovjeka i uz karakterističnu kraniofacijalnu dismorfiju, često se javljaju teške abnormalnosti srca, bubrega i crijeva, što nerijetko zahtijeva kiruršku intervenciju u prvih nekoliko godina života. Često boluju i od akutne leukemije, a ako dožive dob od 40–50 godina, većina ih pati od presenilne demencije tipa Alzheimer.<sup>3</sup>

Incidencija Downova sindroma iznosi 1 na 650 do 1000 živorođene djece<sup>4</sup>. U Hrvatskoj je učestalost Downova sindroma 13.0 na 10.000 živorođenih godišnje.<sup>5,6</sup>

Downov sindrom je posljedica trisomije 21. kromosoma<sup>7</sup>. U gotovo 95% slučajeva radi se o slobodnoj trisomiji (regularni tip) koja je najčešće posljedica nerazdvajanja kromosoma tijekom oogeneze<sup>8</sup>. U 4% slučajeva radi se o translokacijskom tipu trisomije 21 koja nastaje kao posljedica Robertsonove translokacije, a u svega 1% slučajeva Downov sindrom može biti posljedica prisutnosti dviju staničnih linija, od koje je jedna trisomična za 21. kromosom (mozaicizam).<sup>9</sup>

Još je davne 1933. godine Penrose uočio vezu između prevalencije Downova sindroma i godina majke.<sup>10</sup> Tako, npr., vjerojatnost da će žena s 30 godina roditi dijete s Downovim sindromom je 1:910, s 35 godina 1:350, a u dobi od 40 godina ta je vjerojatnost

značajno veća i iznosi 1:100<sup>11</sup>. Važno je istaknuti da u 10–24% trudnoća s trisomijom 21 dolazi do spontanog pobačaja tijekom drugog tromjesečja pa je stvarna incidencija DS-a viša i rizik u drugom tromjesečju za tridesetpetogodišnju trudnicu iznosi 1:270.<sup>12</sup>

Prije uvođenja biokemijskog testa probira za DS, provodio se probir na osnovi godina majke, uvažavajući 35 godina kao graničnu vrijednost. To, drugim riječima, znači da je u trudnica starih 35 i više godina bila indicirana neka od invazivnih metoda prenatalne dijagnoze poradi utvrđivanja kariotipa ploda. Ovakvim se probirom može, teoretski, ustanoviti 30% slučajeva DS-a, a u stvarnosti taj je postotak iznosio najviše do 20%.<sup>12</sup> Nije čudno stoga što je u proteklih petnaestak godina učinjen velik napor kako bi se uveli novi testovi probira koji su morali biti, u prvom redu, bezopasni za trudnicu i plod, a učinkovitiji od postojećih.

#### BIOKEMIJSKI TEST PROBIRA ZA DOWNOV SINDROM

Još su davne 1984. godine Merkatz, Macri i suradnici ustanovili smanjenu razinu alfa-fetoproteina u serumu trudnice (MSAFP) koja nosi plod s trisomijom 21.<sup>13</sup> Godine 1988. Canick i suradnici upozoravaju na sniženu razinu nekonjugiranog estriola (nE),<sup>14</sup> a 1987. Bogart i suradnici iznose podatak o povišenoj razini humanog korionskoga gonadotropina (hCG) kod trudnoća s trisomijom 21.<sup>15</sup> Kasne 1990. i rane 1991. godine Macri sa suradnicima i Spencer, neovisno jedan o drugome, objavljuju radove koji govore o povišenoj razini slobodne  $\beta$ -podjedinice hCG.<sup>16,17</sup> Tim ranim radovima započinje era uvođenja i primjene biokemijskih testova probira za Downov sindrom.

#### *Biokemijski test probira za Downov sindrom u drugomu tromjesečju*

Wald i suradnici su 1988. godine preporučili mjerenje tri serumska biljega (MSAFP, hCG i nE) poradi detekcije Downova sindroma.<sup>18</sup> Taj je test vrlo brzo prihvaćen kao rutinski dio prenatalne skrbi pa je provedenim ispitivanjem 1995. godine ustanovljeno da čak 63% trudnica u Sjedinjenim Američkim Državama pristaje biti testirano.<sup>19</sup> Uz navedene kombinacije serumskih biljega, danas su u uporabi i druge kombinacije kao što su, npr., MSAFP i slobodna  $\beta$ -podjedinica hCG;<sup>20,21</sup> MSAFP, slobodna  $\beta$ -podjedinica hCG i nE<sup>22</sup> te MSAFP, hCG, nE i Inhibin-A.<sup>23</sup> Procjena rizika temelji se na riziku za trisomiju 21 ovisnom o godinama trudnice i riziku vezanom uz razinu serumskih biljega, a upotrebljava se matematički model za multivarijantnu analizu normalno distribuiranih varijabli (Gauss).<sup>24</sup> Izmjerene koncentracije biljega izražene su kao količnici njihovih medijana razine (MoM, od engl. Multiple of the Median) u

neugroženim trudnoćama u određenom tjednu gestacije i korigirane prema težini trudnoće.

Bez obzira na kombinaciju serumskih biljega, biokemijski test probira za DS drugog tromjesečja izvodi se između 15. i 18. tjedna trudnoće prema protokolu prikazanom na slici 1. Kao granična vrijednost najčešće se smatra rizik od 1:250, što znači da će svaki rizik veći od graničnog biti pozitivan nalaz. Na uspješnost probira bitno utječe određivanje tjedna gestacije te se stoga preporučuje ultrazvučno određivanje prema mjerama trtica-tjeme ili biparijentalnog promjera glavice fetusa. U tablici 1. prikazana je važnost točnog određivanja gestacije. O procijenjenom riziku ovisi daljnje vođenje i praćenje trudnoće te sam ishod trudnoće. Razina serumskih biljega ovisi o tjelesnoj težini trudnoće, rasi i inzulinskoj ovisnoj šećernoj bolesti pa programi za proračun individualnog rizika imaju mogućnost korekcije u odnosu na spomenute parametre.<sup>25-27</sup> Postoje i drugi čimbenici koji utječu na razinu biljega, a to su cigaretni dim (pušenje), paritet, graviditet, in vitro fertilizacija te spol fetusa.<sup>28-30</sup> Iako se čini da neki od navedenih čimbenika imaju dokazan značajan utjecaj, kao što je to primjer s uživanjem cigaretnog dima, korekcija za njih nije u široj i obveznoj primjeni.

Stopa detekcije Downova sindroma primjenom biokemijskog testa probira u drugom tromjesečju kreće se od 60 do 75%, uz 5% lažnopolozitivnih rezultata.<sup>18,19,23,31</sup> Međutim, uspješnost detekcije ovisi, u manjoj mjeri, o kombinaciji serumskih biljega, a više o graničnoj vrijednosti rizika te o starosti testiranih trudnica. Što se tiče dobi testiranih trudnica, bolja detekcija je svakako u grupi žena starijih od 35 godina (90%), a manja u mlađih trudnica (40%). Kao posljedica toga, broj lažnopolozitivnih nalaza veći je u grupi starijih žena, a manji u grupi mlađih trudnica. Isto tako, uz manji granični rizik (npr. 1:350), očekuje se i veća stopa detekcije, ali i veći broj lažnopolozitivnih nalaza.<sup>39,40</sup>

*Tablica 1.* Primjer važnosti točnog određivanja tjedna gestacije na procjenu rizika za Downov sindrom u trudnoći stare 26,4 godina

Table 1 *Precise determination of gestation weeks important in the risk evaluation of Down syndrome – a case of a 26,4 year-old pregnant woman*

Gestacija		Koncentracija serumskih biljega		DS rizik 1:n
tjedan	dan	MS-AFP MoM	slobodni $\beta$ -hCG MoM	
15	1	1,19	3,49	309
15	5	1,05	4,10	159
16	1	0,96	4,58	101

### *Mogućnost detekcije ostalih poremećaja*

Biokemijskim testovima probira mogu se, osim Downova sindroma, detektirati i neke druge kromosomopatije i poremećaji. To se, u prvom redu, odnosi na oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stijenke. Odavno je poznata veza između visoke razine AFP-a, kako u plodovoj vodi tako i u serumu majke, i spomenutih poremećaja.<sup>32</sup> Iako osjetljivost MSAFP-a kao pojedinačnog biljega u probiru trisomije 21 nije viša od 30-ak posto, njegova uloga kao visokoosjetljivog pokazatelja oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stijenke čini ga neizostavnim dijelom svakoga biokemijskog probira drugog tromjesečja. Osim trisomije 21, biokemijski test probira primjenjuje se i za probir trisomije 18 (Edwardsov sindrom). Takve trudnoće karakterizirane su niskom razinom MSAFP-a, nE, hCG/slobodnim  $\beta$ -hCG i Inhibin-A glikoproteinom.<sup>33</sup> Mogućnost detekcije trisomije 13, Patau sindrom, mala je, osim u slučajevima kada je prisutno oštećenje neuralne cijevi otvorenog tipa, vezano uz povećanu razinu MSAFP-a.<sup>34</sup> Monosomiju X-kromosoma, Turnerov sindrom, udruženom s fetalnim hidropsom često odlikuje niska razina MSAFP-a i nE i visoka razina HCG-a i Inhibina-A.<sup>35</sup> U slučajevima bez hidropsa, razina je sva četiri markera niska. Genetički poremećaji vezani uz nepravilnu sintezu nE, kao što su deficijencija steroidne sulfataze i Smith-Lemli-Opitzov sindrom, mogu također biti detektirani u okviru biokemijskog testa probira.<sup>36,37</sup>

Veza između visoke razine MS-AFP-a i intrauterinog zastoja rasta, prijevremenog porođaja i smrti fetusa/novorođenčeta poznata je još od ranih sedamdesetih godina prošloga stoljeća. Iskustva stečena širokom primjenom biokemijskog testa probira za trisomiju 21 pokazuju da, osim visoke razine MS-AFP-a, i visoka razina hCG-a, bilo totalnog ili slobodnog  $\beta$ -hCG-a, može biti pokazatelj ugroženosti ploda i lošeg ishoda same trudnoće.<sup>38</sup> Čini se stoga razumnim da se trudnoće s lažnopolozitivnim nalazom za DS pomnije prate u tom smislu.

### KOMBINIRANI, ULTRAZVUČNI I BIOKEMIJSKI, TEST PROBIRA ZA DOWNOV SINDROM U DRUGOM TROMJESEČJU

Ultrazvučni pregled trudnoće obvezno je uključen u protokol biokemijskog testa probira za DS jer se njime, u prvom redu, utvrđuje tjedan gestacije. Međutim, ultrazvukom se mogu tijekom drugog tromjesečja trudnoće ustanoviti specifične anatomske anomalije fetusa i/ili biljezi karakteristični za DS. To se, u prvom redu, odnosi na povećan nuchalni nabor (engl. – nuchal fold), kratki femur i humerus, pijeletaziju, hiperehogeno crijevo i ciste koroidnog pleksusa.<sup>39</sup> U slučaju pozitivnog nalaza biokemijskog testa probira, utvrđen jedan ili više ultra-

zvučnih biljega, povećava rizik za DS. No valja imati na umu da se, u slučaju kada se ultrazvučni biljezi ne utvrde, rizik utvrđen biokemijskom analizom ne isključuje, iako je reduciran za oko 50%.<sup>40</sup>

Budući da su mjere nuhalnog nabora i humerusa kontinuirane varijable, mogu se kombinirati s vrijednostima razina serumskih biljega koje su uključene u osnovni multivarijantni Gausssov model. Prema podacima iz literature, stopa detekcije DS-a iznosi čak 90% uz 5% lažnopoziitivnih nalaza.<sup>41</sup> U ovom trenutku, primjena ultrazvuka u svrhu matematičke korekcije rizika utvrđenog na osnovi biokemijske analize, nije u široj primjeni i još je predmet rasprava.

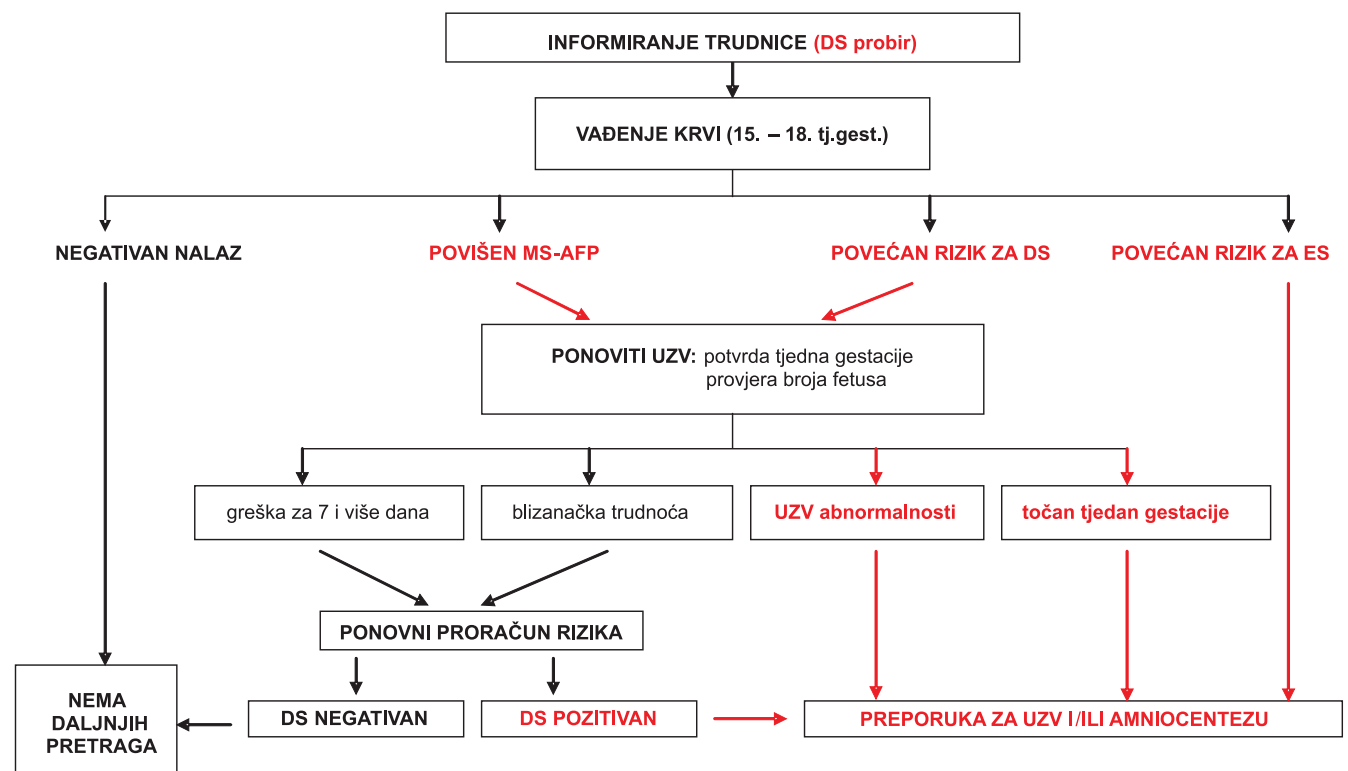
**PRENATALNI TEST PROBIRA ZA DOWNOV SINDROM U PRVOM TROMJESEČJU**

Brojni radovi potvrdili su vezu između niske razine uz trudnoću vezanog plazma proteina-A (engl. – pregnancy-associated plasma protein-A; PAPP-A) i trisomije 21 tijekom prvog tromjesečja.<sup>42</sup> Kod urednih trudnoća, razina PAPP-A naglo raste i od 15. tjedna dalje njegova vrijednost kao biljega za DS prestaje. Mjerenjem ovog pro-

teina i uz uvažavanje godina trudnice, može se detektirati 52% slučajeva DS-a, uz 5% lažnopoziitivnih rezultata.<sup>42</sup> U trudnoća s trisomijom 21, razina slobodnog  $\beta$ -hCG-a stalno je povišena između 8. i 14. tjedna gestacije. Na osnovi slobodnog  $\beta$ -hCG-a i godina, stopa detekcije DS-a iznosi 42%, uz 5% lažnopoziitivnih nalaza.<sup>43</sup> Još je 1990. godine prepoznata važnost mjerenja nuhalnog nabora u probiru DS-a tijekom prvog tromjesečja. Uz graničnu vrijednost od 3 mm debljine nuhalnog nabora, stopa detekcije DS-a iznosi 64%.<sup>44</sup>

Kombiniranjem vrijednosti PAPP-A i slobodnog  $\beta$ -hCG-a u serumu te nuhalnog nabora, mogućnost detekcije DS penje se do zavidnih 90%, uz 5% lažnopoziitivnih nalaza.<sup>45</sup> Testiranje se provodi između 10. i 14. tjedna gestacije. U slučaju pozitivnog nalaza, trudnica može pristupiti biopsiji korion frondozuma (10.–12. tjedan) ili amniocentezi (15.–18. tjedan), ovisno o tome kada je završeno testiranje.

Kao što je već rečeno, stopa detekcije Downova sindroma u drugom tromjesečju trudnoće umnogome se razlikuje, ovisno o dobi trudnica. Taj je efekt, međutim, bitno manje izražen pri testiranju u prvom tromjesečju pa je stopa detekcije za starost od 15 godina 77%



Slika 1. Protokol biokemijskog testa probira za Downov sindrom u drugom tromjesečju trudnoće  
 Figure 1 Protocol of the biochemical screening test for Down syndrome in the second trimester of pregnancy

(1,9% lažno pozitivnih), u 30-godišnjakinja 84% (4% lažno pozitivnih), a s 49 godina 100%, uz 67% lažno pozitivnih nalaza.<sup>45</sup>

## INFORMIRANJE TRUDNICA

U svakom programu probira, pa tako i u ovom, iznimno je važno pravilno informiranje trudnica o svrsi testa, njegovim mogućnostima, odnosno prednostima i nedostacima. Brojni radovi posvećeni ovom problemu, govore o nedovoljnom i neprimjerenom informiranju trudnica, što je nerijetko izazivalo ili izaziva strepnju i nemir.<sup>46</sup> Poseban je problem interpretacija nalaza odnosno rezultata testa pa je, prema našim podacima objavljenim 1999. godine, čak 32% testiranih trudnica odgovorilo da ne zna što znači pojam "visoki rizik".<sup>47</sup> U to su doba informiranje provodili jedino ginekolozi. Ovaj nas je podatak naveo na ciljanu edukaciju laboratorijsko-zdravstvenog osoblja Zavoda (Zavod za biologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci) poradi osposobljavanja za ispravno i detaljno informiranje trudnica. Od početka 2000. godine sa svakom se trudnicom vodi razgovor nakon kojega se, davanjem tzv. informiranog pristanka (engl. – informed consent), trudnice podvrgavaju testiranju. Uz to, u svim ginekološkim ambulantama trudnicama su dostupni i leci u kojima je opisana svrha testa. Leci su tiskani u sklopu projekta *Rijeka zdrav grad*. Taj je tekst dostupan je i na webstranicama riječkoga Zavoda za biologiju ([www.medri.hr/katedre/biologija](http://www.medri.hr/katedre/biologija)).

Ponovnim anketiranjem trudnica, provedenim 2003. godine, ustanovljeno je da svega 11% žena ni nakon detaljnog informiranja ne razumije svrhu testa (Brajenović-Milić B. i sur. *in press*). Zanimljiv je i podatak o spremnosti žena za daljnju dijagnostiku u slučaju pozitivnog nalaza. Naime, dok je u prvom ispitivanju svega 46% trudnica bilo spremno pristupiti amniocentezi, u drugom ispitivanju čak 91% žena smatra amniocentezu logičnim slijedom pretraga u slučajevima utvrđenog povećanog rizika za Downov sindrom. Ti podaci jasno upućuju na važnost i obvezu zdravstvenog osoblja da nađe dovoljno vremena i, jezikom razumljivim svakoj trudnici, objasni svrhu i mogućnosti testa probira.

## LITERATURA

1. Wald NJ. Guidance on terminology. *J Med Screen* 1994; 1:76
2. Cuckle HS, Wald Nj. Principles of screening. U: Wald NJ, ur. Antenatal and neonatal screening. Oxford: Oxford University Press. 1984; 1-22
3. Tofts Cp, Christianson RE. Anomalies in Down syndrome individuals in a large populations-based registry. *Am J Med Genet* 1998; 77:431-8
4. Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *JAMA* 1983; 249:2034-8
5. Eurocat Working Group: EUROCAT Report 6. Surveillance of congenital anomalies in Europe 1980-1992. Brussels, Institute of Hygiene and Epidemiology, 1995.
6. Brajenović-Milić B, Ristić S, Kapović M, Mojsović A, Medica I, Modrušan-Mozetić Z. Incidence of Down's syndrome in the municipality of Rijeka and Istrian region. *Coll Antropol* 1996; 20 suppl:1-5
7. Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *c R Acad Sci* 1959; 248:602-3
8. Antonarakis SE, Lewis JG, Adelsberger PA. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 using DNA polymorphism analysis. *New Eng J Med* 1991; 324:872-6
9. Nevin NC. Trends in the prevalence of congenital abnormalities. U: Drife JO, Donnai D, ur. Antenatal Diagnosis of Fetal Anomalies. London: Springer-Verlag; 1991:8
10. Penrose LS. The relative effects of paternal and maternal age in mongolism. *J Genet* 1933; 27:219-24
11. Cuckle HS. Effect of maternal age curve of predicted detection rate in maternal serum screening for Down syndrome *Prenat Diagn* 1998;18:1127-30
12. Cuckle HS. Down syndrome fetal loss rate in early pregnancy. *Prenat Diagn* 1999;19:1177-9
13. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148:886-94
14. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second unconjugated oestriol in pregnancies with Down syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95:330-3
15. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987;7:623-30
16. Macri JN, Krantz DA, Kasturi RV i sur. Maternal serum Down syndrome screening: Free-β protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:1248
17. Spencer K. Evaluation of an assay of free beta subunit of choriogonadotropin and its potential value in screening for Down syndrome. *Clin Chem* 1991;37:809
18. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW i sur. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988 297:883-7
19. Palomaki GE, Knight GJ, McCarthy J, Haddow JE, Donohue JM. Maternal serum screening for Down syndrome in the United States: a 1995 survey. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176:1046-51
20. Spencer K. Second trimester prenatal screening for Down's syndrome using alpha-fetoprotein and free beta hCG: A seven year review. *Br J Obste Gynaecol* 1999; 106:1287-93
21. Brajenović-Milić B, Tišlarić D, Bačić J. i sur. Screening for Down's syndrome and neural tube defect in Croatia: A

- regional prospective study. *Fetal Diagn Ther* 1998; 13:367-71
22. Verloes A, Gillerot Y, Van Maldergem L i sur. Major decrease in the incidence of trisomy 21 at birth in south Belgium: mass impact of triple test? *Eur J Hum Genet*. 2001;9:1-4.
  23. Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 1996;16:143-52
  24. Reynolds TM, Penny MD. The mathematical basis of multivariate risk screening: with special reference to screening for Down syndrome associated pregnancy. *Ann Clin Biochem* 1989; 27:452-8
  25. Neveux LM, Palomaki GE, Larrivee DA, Knight GJ, Haddow JE. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. *Prenat Diagn* 1996; 16:1115-9
  26. Benn PA, Clive JM, Collins R. Medians for second trimester maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol; differences between races or ethnic groups. *Clin Chem* 1997; 43:333-7
  27. Kramer RL, Yaron Y, O'Brien JE i sur. Effect of adjustment of maternal serum alpha-fetoprotein levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Med Genet* 1998; 75:176-8
  28. Bernstein L, Pike MC, Lobo RA, Depue RH, Ross RK, Henderson BE. Cigarette smoking in pregnancy results in marked decrease in maternal hCG and oestradiol levels. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96:92-6
  29. Tišlarić D, Brajenović-Milić B, Ristić S i sur. The influence of smoking and parity on serum markers for Down's syndrome screening. *Fetal Diagn Ther* 2002; 17:21
  30. Wald NJ, White N, Morris JK, Huttly WJ, Canick JA. Serum markers for Down's syndrome in women who have had in vitro fertilisation: implications for antenatal screening. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106:1304-6
  31. Huderer-Đurić K, Škrablin S, Kuvačić I, Rubala D, Suchanek E. The triple marker test in predicting fetal aneuploidy: A compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynaecol Biol* 2000;88:49-55
  32. Ferguson-Smith MA. The reduction of anencephalic and spina bifida births by serum alpha-fetoprotein screening. *Br Med Bull* 1983;39:365
  33. Canick JA, Palomaki GE, Osthonondh R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenat Diagn* 1990; 10:546-8
  34. Saller Jr DN, Canick JA, Blitzer MG i sur. Second-trimester maternal serum analyte levels associated with fetal trisomy 13. *Prenat Diagn* 1999; 19:813-6
  35. Saller Jr DN, Canick JA, Schwartz S, Blitzner MG. Multiple-marker screening in pregnancies with hydroptic and non-hydroptic Turner syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 67:1021-4
  36. Bradley LA, Palomaki GE, Knight GJ i sur. Levels of unconjugated estriol and other maternal serum markers in pregnancies with Smith-Lemli-Opitz (RSH) syndrome fetus. *Am J Med Genet* 1999;82:355-8
  37. Bradley LA, Canick JA, Palomaki GE, Haddow JE. Undetectable maternal serum unconjugated estriol levels in the second trimester: risk of perinatal complications associated with placental sulfatase deficiency. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176:531-5
  38. Pergament E, Stein AK, Fiddler M, Cho NH, Kupfermine MJ. Adverse pregnancy outcome after a false positive screen for Down syndrome using multiple markers. *Obstet Gynecol* 1995; 86:255-8
  39. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein VA, Deeks JJ, Goldberg JD. Second- trimester ultrasound to detect fetus with Down syndrome: a meta-analysis. *JAMA* 2001; 285:1044-55
  40. Nyberg Da, Souter VL, El-Bastawissi A, Young S, Luthardt F, Luthy DA. Isolated sonographic markers for detection fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001; 20:1053-63
  41. Kaminsky L, Egan J, Ying J, Borgida A, DeRoche M, Benn P. Combined second trimester biochemical and ultrasound screening for Down syndrome is highly effective. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:78
  42. Wald Nj, Kennard A, Hacckshaw A, McGuire A. Antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997; 4:181-246
  43. Hallahan T, Krantz D, Orlandi F i sur. First trimester biochemical screening for Down syndrome: free beta hCG versus intact hCG. *Prenatal Diagn* 2000;20:785-9
  44. Szabo J, Gellen J. Nuchal fluid accumulation in trisomy-21 detected by vaginosonography in first trimester. *Lancet* 1990; 1:336
  45. Spencer K. Age related detection and false positive rates when screening for Down's syndrome in the first trimester using fetal nuchal translucency and maternal serum  $\beta$ -hCG and PAPP-A. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:1043-46
  46. Gekas J, Gondry J, Mazur S, Cesbron P, Thepot F. Informed consent to serum screening for Down syndrome: Are women given adequate information? *Prenat Diagn* 1999; 19:1-7
  47. Paravić J, Brajenović-Milić B, Tišlarić D i sur. Maternal serum screening for Down syndrome: A survey of pregnant women's views. *Community Genetics* 1999; 2:109-12

Članak je preuzet uz dopuštenje iz *Paediatr Croat* 2004; Supl 19: 175-179.

## POREMEĆAJI PLODNOСТИ UZROKOVANI KROMOSOMSKIM ABERACIJAMA

### DEFECTIVE REPRODUCTIVE SUCCESS CAUSED BY CHROMOSOME ABERRATIONS

*Anđelka Radojčić Badovinac*

#### SAŽETAK

Učestalost *major*-kromosomskih aberacija u osoba s poremećajima plodnosti iznosi 13%, što upućuje na to da su promjene fertiliteta i sterilitet glavni rizici za kromosomsku aberaciju. Učestalost aberacija u općoj populaciji iznosi 1%. Kromosomopatija je uzrokom i učestalih spontanijeh pobačaja i/ili rađanja malformiranog potomka i neplodnosti u 18% analiziranih parova. Za parove koji su uključeni u liječenje neplodnosti metodama potpomognute reprodukcije, taj se postotak penje i na 22,2%. Sa stajališta genetike, smanjenje plodnosti ili neplodnost najveći je rizik za kromosomsku aberaciju. Učestalost aberacija povećana je i u grupi muškaraca s poremećajima fertiliteta (17,7%) i u analiziranoj grupi žena (26,4%). U kromosomske aberacije najčešće su uključeni spolni kromosomi. Može se zaključiti da se *major*-kromosomske aberacije češće nađu kao uzroci poremećaja plodnosti i neplodnosti nego što se to očekivalo. Čini se i da učestalost aberacija s vremenom raste. Detaljna citogenetska analiza i muškaraca i žena promijenjene reproduktivne sposobnosti osnova je za planiranje i određivanje uspjeha reprodukcije.

**KLJUČNE RIJEČI:** kromosomske aberacije, fertilitet, metode potpomognute reprodukcije, sterilitet

#### UVOD

U suvremenome svijetu sve je više neplodnih brakova. Razlozi su tomu mnogobrojni – od socijalnih i ekonomskih, do odluka žena da u kasnijoj dobi planiraju obitelj i potomstvo. Važni su u tome i genetski čimbenici koji,

#### ABSTRACT

Overall frequency of major chromosomal aberration in patients with defective reproductive success is 13.1%, which suggests that fertility or sterility problems are one of the most certain symptoms for the chromosomal aberration. The reported frequency of chromosomal aberration in general population was less than 1%. A cause for the repeated spontaneous abortion and/or malformed child and sterility problems in 18.0% of couples is also chromosome abnormality. Chromosomal disorder in couples seeking IVF and ICSI is considerable (22.2%). From the genetic point of view, infertility patients seeking assisted reproduction have to be classified as a high-risk group. The incidence of chromosome abnormalities in the group of infertile men is also increased -17.7%, and within the subfertile female group it is 26.4%. The most commonly involved chromosomal aberrations in subfertile and sterile males and females are sex chromosomes. We conclude that major chromosomal disorders are the underlying basis of infertility and sterility in a higher proportion of cases than had previously been expected. It seems that the prevalence of aberrations is slightly increasing with time. A detailed cytogenetic analysis of both males and females with the decreased reproductive fitness is essential for predicting the success of reproduction.

**KEY WORDS:** chromosomal aberrations, fertility, assisted reproduction techniques, sterility

prema nekim autorima, predstavljaju glavninu uzroka neplodnosti. Otkriveno je da više od 150 gena miša utječe na plodnost,<sup>1</sup> a za dobar dio njih već se zna da postoje i u čovjeka. S druge strane, *major*-kromosomalne aberacije mogu remetiti formiranje i sazrijevanje gameta i normalan embrionalni razvitak. Osim aneuploidnih gameta uzrokovanih roditeljskim aberacijama kromosoma, i postzigotni čimbenici koji utječu na segregaciju kromosoma, mogu djelovati na razvoj mozaicizma i uzrokovati spontane pobačaje ili rađanje malformiranog ploda. Sa stajališta genetike, smanjenje plod-

Ustanova: Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Prispjelo: 8. 9. 2004.

Prihvaćeno: 22. 9. 2004.

Adresa za dopisivanje: Anđelka Radojčić Badovinac, Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

nosti ili neplodnost najveći je rizik za kromosomsku aberaciju. Više od 13% pacijenata ima promjene kromosoma<sup>2</sup>, za razliku od opće populacije gdje je učestalost aberacija manja od 1%.<sup>3</sup> Uz razvoj metoda potpomognute reprodukcije, koju upravo koriste pacijenti smanjene plodnosti ili neplodni, reskiramo poremećaj prenijeti na potomstvo ili pak neuspješno ponavljamo skup i zahtjevan postupak.<sup>4</sup> Stoga bi citogenetička analiza bračnih parova koji su upućeni na korištenje metoda potpomognute reprodukcije trebala biti obvezna, jednako kao i genetsko savjetovanje i informiranje.

Zahvaljujući naizgled jednostavnoj tehnici analize kariotipa limfocita periferne krvi nakon kratkotrajne kulture i GTG-bojenja,<sup>5</sup> dobiva se jasna podjela kromosoma na pruge. Zahvaljujući specifičnim prugama, kromosomi su svrstani u parove, a moguće je ustanoviti ne samo brojčanu promjenu već i premještaje ili translokacije, gubitak, pa i višak pojedinog dijela kromosoma. Oba se supružnika analiziraju u slučajevima spontanijeh pobačaja i neobjašnjeg steriliteta, a pojedinačno muškarci, u slučaju oligospermije (smanjenje broja spolnih stanica ispod 10 mil u ml), azospermije, asthenozoospermije, kombinacije tih poremećaja, hipogonadizma te amenoreje ili oligomenoreje u žena.

Spolni kromosomi najčešće su uključeni u humane kromosomske aberacije.<sup>3</sup> Manje ili više, njihove strukturne promjene ili promjene u broju, uvijek uzrokuju poremećaje u reproduktivnoj sposobnosti. Učestalost brojčanih kromosomskih aberacija u općoj populaciji je 0,85%, a strukturnih 0,1%.<sup>3</sup>

Strukturne kromosomske promjene autosoma, posebno recipročne translokacije, kao što je Robertsonova translokacija ili centrična fuzija akrocentričnih kromosoma, gdje se dva kromosoma slijepe u jedan, mogu u spermatogenezi poremetiti broj i pokretljivost spermija. Zbog nepravilne segregacije kromosoma stvaranjem trivalenata umjesto bivalenata, mogu rezultirati pobačajem, mrtvorodenim ili malformiranim potomstvom.

Posebnu grupu citogenetički analiziranih osoba čine osobe koje se doslovno ne mogu svrstati ni u grupu strukturnih niti u grupu onih s brojčanim aberacijama. Njihov citogenetički spol ne odgovara fenotipu. To su muškarci s kariotipom 46,XX i žene kariotipa 46,XY. U grupi 782 analizirane osobe s poremećajima plodnosti, pronađeno je šest pacijenata tako aberantnog kariotipa.<sup>2</sup> Iako ti pacijenti čine grupu manju od 1%, ne smiju se zanemariti jer aberacija iziskuje operativnu ginekološku terapiju i odstranjenje gonada u žena kariotipa 46,XY (4/782) zbog velikog rizika razvoja malignoma.

Poseban su problem varijante kromosoma 1, 9, 16 i Y. Duplikacije blokova heterokromatina oduvijek izazivaju pozornost, ali ostaje upitno djeluju li na fenotip i kliničku manifestaciju. Mjerenja pokazuju da se sta-

tistički značajno povećana količina heterokromatina kromosoma 16 nađe u bračnim parovima s mrtvorodenim i mrtvorodenim malformiranim potomstvom.<sup>6</sup>

#### UDIO KROMOSOMSKIH ABERACIJA U BRAČNIH PAROVA S POREMEĆAJEM PLODNOSTI

Uspješnost reprodukcije u čovjeka teško je mjerljiva kategorija, osobito ako je treba izraziti u postocima. Postoji heterogenost u dijagnozama neplodnosti i grupiranju parova poslanih na citogenetičku analizu. Dijelom zbog različite selekcije, učestalost kromosopatije je 2,4–18%<sup>2, 7-11</sup> i čini se da je u porastu. S obzirom na kliničke uputne dijagnoze i očekivan genetički rizik, najčešće se dijele u grupe onih s normalnim i malformiranim potomstvom, s dva ili manje spontanijeh pobačaja, s tri i više spontanijeh i u neplodne. Tako najveći rizik za aberaciju ima grupa s tri i više spontanijeh pobačaja, i glavnina genetičara smatra da parovi s ponovljenim spontanijeh pobačajem moraju biti citogenetički analizirani. S druge strane, normalno potomstvo u reprodukcijskoj anamnezi osiguravajući je čimbenik.

Učestalost aberacija kromosoma u parova koji su upućeni na metode potpomognute oplodnje u svim je radovima veća nego u bilo kojoj istraživanoj grupi, i iznosi 18–22,2%.<sup>2,12</sup> Mozaični kariotip nađe se u 25–40% aberacija.<sup>2,11</sup> Dok će udio niskog postotka mozaicizma ovisiti o broju analiziranih mitozu po osobi u laboratoriju, opće povećanje broja aberacija zadnjih petnaestak godina ne može se potpuno obrazložiti razlikom u tehnici. Povećanje učestalosti aberacija implicira da postoje postzigotni čimbenici koji dovode do mozaicizma u ranom embrionalnom razvoju i uzrokuju aberacije.

Udio strukturnih aberacija u analiziranih bračnim parovima je 3,5%.<sup>2</sup> Najčešća je strukturna aberacija inverzija kromosoma 9. Taj kromosom katkad sadrži veliku količinu heterokromatina smještenu pericentrično, čija razlika u količini predstavlja varijantu normalnoga humanog kariotipa. Duplikacije izazivaju nestabilnost čitave kromosomske regije pa ako dođe do inverzije i okolnog eukromatina, a ne samo heterokromatinskog dijela, posljedice za reprodukciju mogu biti velike. Inverzija kromosoma 9 češće je pronađena u bračnim parovima s učestalim spontanijeh pobačajima. Najčešće se radi o familijarnoj kromosopatiji, a u većini slučajeva nosilac je otac. Ako uzmemo u obzir tip inverzije, veličinu kromosoma i mogućnost krossing-overa, slijedi da se zbog jedne ili nijedne sinapse, u otprilike 50% gameta očekuje nebalansirani genetski sadržaj s duplikacijom i delecijom dijela kromosoma 9, a preostali dio gameta ima šansu za normalan sadržaj genetskog materijala kromosoma 9. Uz to, ako daje nebalansiranu gametu, genetski defekt je velik i gotovo nije spojiv sa životom. Drugim riječima, gamete imaju podjednaku