

Ishod trudnoća s povišenim rizikom za kromosomopatije ploda prema biokemijskom trostrukom testu probira i s urednim kariogramom

High risk triple antenatal screening test and pregnancy outcome in normal karyotype fetuses based on a triple biochemical screening test and regular cardiogram

Sonja Petričević, Damir Roje, Katarina Čepić, Leida Tandara*

Sažetak

Cilj rada: Retrospektivnim istraživanjem analizirati perinatalni ishod u trudnica s povišenim rizikom za trisomiju 21., 18. i 13. kromosoma, prema trostrukom biokemijskom testu probira u kojih je nakon rane amniocenteze dobiven uredan kariogram ploda.

Ispitanici: Sve trudnice kod kojih je trostruki biokemijski test probira na kromosomopatije ploda pokazao visoki rizik (<1 : 250) na autosomalne aneuploidije, a s urednim kariogramom prema citogenetskom nalazu kasnije provedene rane amniocenteze (RACZ), u razdoblju od 4. veljače 2005. do 6. travnja 2011. godine u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split. Kontrolnu skupinu čini po dvije trudnice niskog rizika (>1 : 250) upisane u Protokol trostrukog biokemijskog testa probira za kromosomopatije ploda neposredno nakon pojedine ispitanice.

Rezultati: U ispitivanom razdoblju napravljeno je 2933 trostrukih testova. Nakon svih 2666 (90,9%) niskorizičnih testova uslijedio je porođaj zdravih plodova. Od 267 (9,1%) visokorizičnih testova, RACZ je provedena u 188 trudnica (71,2%). Ostalih 79 (29,5%) se usprkos izračunatom povišenom riziku nije odlučilo na invazivnu dijagnostiku. Patološki kariogram dokazan je u tri trudnice (1,6%), dok je 185 (98,4%) s urednim nalazom predstavljalo osnovu za formiranje ispitivane skupine. Kompletne i podudarne podatke smo našli u 60 (32,4%) ispitanica. Trudnice u ispitivanoj skupini su prosječno ranije pristupale biokemijskom trostrukom testu (15,7 +/- 1,02 vs. 16,1 +/- 0,88 tjedana $p < 0,001$). Usporedbom vrijednosti pojedinih hormona ispitivane i kontrolne skupine, pronađena je statistička značajnost i razlika svih sastavnica trostrukog testa prema koncentracijama, kao i vrijednostima iskazanim kroz MoM. Nije dokazana statistički značajna razlika prema učestalosti gestacijskog dijabetesa, preeklampsije i prijevremenog porođaja. Kod ispitanica je carski rez bio češći način dovršenja porođaja s graničnom statističkom značajnošću. Udio hospitalizirane novorođenčadi u ispitivanoj skupini bio je značajno veći (55% vs. 40,5%; $p < 0,036$), a prosječno trajanje boravka dulje (10 (1-48) vs. 7 (4-24) dana; $p < 0,006$).

Zaključak: Nismo dokazali povezanost visokorizičnog nalaza trostrukog biokemijskog testa drugog tromjesečja u trudnica s urednim kariogramom ploda s kasnijom pojavom poremećaja trudnoće. Učestalost carskog reza u ispitivanoj skupini bila je gotovo dvostruko veća, ali granične statističke značajnosti. Novorođenčad majki visokorizičnog nalaza trostrukog biokemijskog testa drugog tromjesečja i urednog kariograma, značajno su češće hospitalizirana u jedinici intenzivnog liječenja, uz prosječno dulji boravak.

Ključne riječi: Biokemijski trostruki test probira, kromosomopatija, perinatalni ishod

Summary

Aim: In our study, we analyzed the perinatal outcomes in pregnant women with an increased risk of trisomy 21, 18 and 13 by using a retrospective research based on a triple biochemical screening test and an early amniocentesis result.

* **Klinički bolnički centar Split**, Klinika za ženske bolesti i porode (Sonja Petričević, mag. med. techn.; prof. prim. dr. sc. Damir Roje, dr. med.); Zavod za medicinsko-laboratorijsku dijagnostiku (Katarina Čepić, dipl. ing. med. biokemije; doc. dr. sc. Leida Tandara, dipl. ing. med. biokemije)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* Sonja Petričević, magistra sestrištva, KBC Split, Klinika za ženske bolesti i porode, Spinčićeva 1, 21 000 Split. E-mail: sonjajepkovic1@gmail.com

Primljeno/*Received* 2020-01-21; Ispravljeno/*Revised* 2020-07-08; Prihvaćeno/*Accepted* 2020-07-10

Subjects: Our study group included pregnant women with a high risk ($< 1 : 250$) of autosomal aneuploidies shown by the triple biochemical screening test that had normal fetus karyotype in the cytogenetic finding of a subsequently performed early amniocentesis (EA). The control group consisted of two pregnant women with a low-risk ($> 1 : 250$) per one high-risk women from the study group, registered in the Protocol for triple biochemical screening tests. The study included women treated in the period from 4th February 2005 to 6th April 2011 in the Clinic for Obstetrics and Gynaecology of Clinical Hospital Centre Split.

Results: In the examined period, 2933 triple biochemical tests were performed. All 2666 (90.9%) of the low-risk tests were followed by the delivery of a healthy newborn. Out of 267 (9.1%) high-risk tests, EA was performed in 188 women (71.2%). The remaining 79 (29.5%) did not opt for invasive diagnostics despite the calculated increased risk. Fetus karyotype in 185 (98.4%) cytological finding obtained by EA was normal, while 3 (1.6%) women had pathological results. Complete and matching data were found in 60 (32.4%) of the women with normal karyotype results and they were included in our study group. The pregnant women in the examined group, on average, had taken the biochemical triple test earlier (15.7 ± 1.02 vs. 16.1 ± 0.88 weeks $p < 0.001$). We found a statistically significant difference in the concentrations of all certain hormones of the triple test between the groups, as well as values shown via MoM. No statistically significant difference in the frequency of gestational diabetes, preeclampsia and premature birth was proven between the groups. The caesarean section was more frequently performed in the study group, but with borderline statistical significance. Newborns from the study group were more often hospitalized (55% vs. 40.5%; $p < 0.036$) and the length of their average hospital stay was longer (10 (1-48) vs. 7 (4-24) days; $p < 0.006$).

Conclusion: No connection between the high-risk result of the second-trimester triple biochemical test in pregnant women with normal fetus karyotype and later complications in pregnancy was proven. The frequency of caesarean section in the study group was nearly twice as high, but of borderline statistical significance. The newborns in the study group were significantly more often hospitalized in intensive care units and, on average, stayed in hospital longer.

Key words: Biochemical triple test screening, trisomy, adverse perinatal outcome

Med Jad 2020;50(4):321-328

Uvod

Prenatalni biokemijski probir fetalnih aneuploidija u drugom tromjesečju trudnoće pomoću vrijednosti alfa-fetoproteina (AFP), nekonjugiranog estriola (nE3) i slobodnog ili ukupnog beta humanog korionskog gonadotropina (β hCG) iz seruma trudnica, naziva se trostrukim testom (engl. *triple test*). U Republici Hrvatskoj u rutinskoj primjeni je od 1996. godine. Služi za individualni izračun (procjenu) rizika i nema snagu dijagnostičkog testa. U usporedbi s kombiniranim testom prvog tromjesečja, koji se danas smatra zlatnim standardom, trostruki test ima manju pouzdanost, dok mu je prednost u detekciji rizika anomalija neuralne cijevi i/ili prednje trbušne stjenke.¹ Pojedina istraživanja pokazala su da se odstupanja vrijednosti pojedinih sastavnica trostrukog biokemijskog testa probira na kromosomopatije ploda (trostruki test), od očekivanih vrijednosti mogu povezati s kasnijim nastupom komplikacija trudnoće. Izolirano povećane vrijednosti AFP-a povećava rizik prijevremenog porođaja, ali značaj ima isključivo uz dodatne kliničke biljege.² Neočekivano visoke vrijednosti nE3-a i AFP-a povezuju se s većom vjerojatnosti kasnijeg razvoja oligohidramnija, gestacijskog dijabetes melitusa (GDM) i makrosomije, a β hCG-a, uz intrauterini zastoje rasta i preeklampsiju.³

Cilj ove studije je istražiti povezanost izračunatog povišenog rizika za kromosomopatije ploda trostrukim

testom u plodova urednog kariograma s kasnijim komplikacijama trudnoće na populaciji trudnica regije grada Splita.

Ispitanice i metode

Retrospektivno presječno istraživanje provedeno je u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split (Klinika) u sedmogodišnjem razdoblju (2005. – 2011). Analizirani su podaci jednododivih trudnoća s povišenim rizikom za kromosomopatije ploda prema trostrukom testu (više od $1 : 250$), kod kojih je ranom amniocentezom (RACZ) provedenoj prema rezultatima testa, dobiven uredan nalaz fetalnog kariograma. Ultrazvučna komponenta trostrukog testa provedena je u Klinici, a biokemijski dio u Zavodu za medicinsko-biokemijsku dijagnostiku KBC-a Split, korištenjem računalnog programa Zentech, T21 Software Version 3.1. Uzorkovanje plodove vode u sklopu RACZ realizirano je u Klinici, a obrada je provedena u Citogenetskom laboratoriju Klinike za ženske bolesti i porodništvo KB-a "Sveti Duh" u Zagrebu. Kontrolna skupina sastavljena je od po dvije trudnice niskog rizika, prema trostrukom testu (manje od $1 : 250$) upisanih u Protokol biokemijskog trostrukog testa probira Klinike neposredno iza pojedine s povišenim rizikom, a za koje su bili dostupni podaci o tijeku trudnoće i porođaju.

Istraživani hormoni (AFP, β hCG i nE3) prikazani su medijanom, uz interkvartilni raspon njihovih

koncentracija, i MoM (engl. *multiple of the median*) vrijednostima. Ocjena fetalnoga rasta provedena je prema percentilnim krivuljama prethodno razvijenim u istoj Instituciji.^{4,5}

Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane su Studentovim t testom, a u slučaju odstupanja od normalne raspodjele Mann Whitneyevim U testom. Razlike kategorijskih varijabli testirane su hi-kvadrat testom. Podaci su analizirani pomoću statističkog paketa za računalo IBM SPSS Statistics 23. Statistički parametri procijenjeni su na razini značajnosti od 95% ($p < 0,05$).

Rezultati

U Klinici je u ispitivanom razdoblju napravljeno 2933 trostrukih testova. Nakon svih 2666 (90,9%) niskorizičnih testova uslijedio je porođaj zdravih plodova. Od 267 (9,1%) visokorizičnih testova, RACZ je u Klinici napravljena u 188 trudnica (70,5%). Ostalih 79 (29,5%) se nije odlučilo na invazivnu dijagnostiku, usprkos izračunatom povišenom riziku. Patološki kariogram je dokazan u tri trudnice (1,6%), dok je njih 185 (98,4%) s urednim nalazom predstavljalo osnovu za formiranje ispitivane skupine. Usporedbom Protokola trostrukog testa, Protokola RACZ i Protokola rađaonice Klinike, kompletne i podudarne podatke našli smo u 60 (32,4%) trudnica koje su predstavljale ispitivanu skupinu.

Ispitanice su prosječno bile pet godina starije ($t = 8,85$; $p < 0,001$) i češće višerotkinje ($\chi^2 = 5,78$; $p <$

$0,016$). Nije uočena statistički značajna razlika prema gestacijskoj dobi porođaja. Novorođenčad ispitivane skupine su češće bila muškoga spola ($\chi^2 = 4,87$; $p < 0,027$), veće porođajne mase ($t = 2,78$; $p < 0,005$), ali uz ujednačeni udio hipotrofije (3,4% vs. 2,46%) i hipertrofije (3,4% vs. 3,01%). Iako je prosječni ponderalni indeks novorođenčadi (PI) među skupinama bio izjednačen, uočeno je dvostruko više fetalne pretilosti (PI > 90. centile) u ispitivanoj skupini ($\chi^2 = 5,79$; $p < 0,010$), bez razlike učestalosti fetalne pothranjenosti (PI < 10. centile). Trudnice u ispitivanoj skupini su prosječno ranije pristupale trostrukom testu ($t = 3,44$; $p < 0,001$). Nije dokazana razlika u tjelesnoj masi trudnica, ni udjelu pušačica u trenutku provedbe probira (Tablica 1)

Usporedbom vrijednosti pojedinih hormona ispitivane i kontrolne skupine, dokazana je statistička značajnost razlika svih sastavnica prema koncentracijama (AFP, $z = 5,31$, $p < 0,001$; β hCG, $z = 7,97$, $p < 0,001$; E3, $z = 7,47$, $p < 0,001$), kao i njihovim vrijednostima iskazanim kroz MoM (AFP, $z = 9,88$, $p < 0,001$; β hCG, $z = 4,54$, $p < 0,001$; E3, $z = 7,37$, $p < 0,001$) (Tablica 2)

Nije dokazana statistički značajna razlika prema učestalosti GDM ($\chi^2 = 0,29$; $p < 0,580$), preeklampsije (PE) ($\chi^2 = 0,07$; $p < 0,790$) i prijevremenog porođaja (PP) ($\chi^2 = 0,024$; $p < 0,879$). Kod ispitanica je carski rez bio češći način dovršenja porođaja ($\chi^2 = 3,35$; $p < 0,067$) s graničnom statističkom značajnosti (Tablica 3). Udio hospitalizirane novorođenčadi u ispitivanoj skupini bio je značajno veći ($\chi^2 = 4,40$; $p < 0,036$), a prosječno trajanje boravka dulje ($z = 2,75$; $p < 0,006$).

Tablica 1. Osnovne karakteristike skupina

Table 1 Basic group characteristics

	Ispitanice <i>Examinees</i> (N = 60)	Kontrola <i>Control</i> (N = 360)	Vrijednost testa <i>Test value</i>	p
Životna dob (godine) / <i>Age</i>	36,5 (26,3-44,7)	32,0 (21,4-42,7)	8,85 ^	0,001 ^
Paritet (prvorotke:višerotke) <i>Parity (primiparae: multiparous)</i>	10 : 50	109 : 256	5,78 ‡	0,016 ‡
Dob trudnoće kod testiranja (tjedni) <i>Pregnancy period at testing (weeks)</i>	15,7 +/- 1,02	16,1 +/- 0,88	3,44*	0,006*
Tjelesna masa kod testiranja (kg) <i>Body mass at testing (kg)</i>	73,9 +/- 12,1	71,7 +/- 15,7	0,64 *	0,710 *
Pušenje (N, %) <i>Smoking (N %)</i>	10 : 50 (16,6%)	74 : 291 (20,2%)	0,42 ‡	0,515 ‡
Tjedan porođaja <i>Week of birth</i>	39,11 +/- 1,62	39,14 +/- 1,26	0,38 *	0,870 *
Spol ploda (muško:žensko) <i>Child gender (male:female)</i>	24 : 36	202 : 163	4,87 ‡	0,027 ‡
Porođajna masa (g) <i>Birth weight (g)</i>	3698 +/- 624,2	3508 +/- 463,9	1,44 *	0,005 *

Porodajna duljina (cm) <i>Birth length (cm)</i>	50,83 +/- 2,24	50,59 +/- 2,85	2,78 *	0,440 *
Fetalna hipotrofija <i>Fetal hypothyrophy</i>	2 (3,4%)	9 (2,46%)	0,14 ‡	0,690 ‡
Fetalna hipertrofija <i>Fetal hipertrophy</i>	2 (3,4%)	11 (3,01%)	4,21 ‡	0,390 ‡
Ponderalni indeks (PI) (g/cm ³) <i>Ponderal indeks (PI) (g/cm³)</i>	2,79 +/- 0,28	2,71 +/- 0,34	1,21 *	0,070 *
Novorođenačka pothranjenost (PI <10.centile) <i>Neonatal malnutrition (PI <10.centile)</i>	4 (6,4%)	31 (8,5%)	0,06 ‡	0,840 ‡
Novorođenačka pretilost (PI >90.centile) <i>Neonatal obesity (PI >90.centile)</i>	11 (18,3%)	30 (8,2%)	5,79 ‡	0,010 ‡

^Mann-Whitney U test ‡ χ^2 test * t-test za nezavisne uzorke * *t-test for independent samples*

Tablica 2. Koncentracije hormona sastavnica trostrukog probirnog testa na kromosomopatije ploda iz krvi trudnica i izračunati rizici

Table 2 Hormone concentrations of components of the triple screening test for fetal chromosomopathy from the blood of pregnant women and calculated risks

	Ispitanice (N = 60) <i>Examinees</i>	Kontrola (N = 360) <i>Control</i>	Vrijednost testa <i>Test value</i>	P
AFP (IU/mL)	8,86 (0,16 – 30,5)	12,92 (1,63 – 62,11)	5,31*	0,001 *
AFP (MoM)	0,57 (0,18 – 2,19)	1,0 (0,19 – 3,65)	9,88*	0,001 *
β HCG (ng/mL)	27,37 (3,47 – 119,17)	9,36 (0,10 – 80,86)	7397*	0,001 *
β HCG (MoM)	2,39 (0,49 – 7,03)	0,93 (0,06 – 7,51)	4,54*	0,001 *
nE3 (ng/mL)	2,85 (0,77 – 7,68)	4,19 (0,86 – 37,0)	7,46*	0,001 *
nE3 (MoM)	0,81 (0,32 – 1,84)	1,01 (0,33 – 6,21)	7,37*	0,001 *
Povišen dobni rizik za trisomiju 21 (> 1:250) <i>Increased age risk for trisomy</i>	28 (46%)	31 (8,5%) ‡	61,69	0,001 ‡
Prosječni dobni rizik za trisomiju 21 <i>Mean age risk for trisomy 21</i>	266 (31-1263)	679 (56-1496)	8,51*	0,001 *
Prosječni rizik za trisomiju 21 prema trostrukom testu <i>Mean risk for trisomy according to triple test</i>	129 (20-245)	2659 (135-41.067)	12,35*	0,001 *
Prosječni rizik za trisomiju 18 prema trostrukom testu <i>Mean risk for trisomy 18 according to triple test</i>	12.590 (269-99.999)	10.760 (295-99.999)	0,46*	0,640 *
Prosječni rizik za defekte neuralne cijevi prema trostrukom testu <i>Mean risk for defects of neural tube according to triple test</i>	12.132 (42-99.999)	66.782 (531-99.999)	5,91*	0,001 *

*Mann-Whitney U test; ‡ χ^2 test; AFP (alfa fetoprotein); β HCG (β podjedinica humanog korionskog gonadotropina / β subunit of human corion gonadotropin); nE3 (nekonjugirani estriol) / *unconjugated estriol*

Tablica 3. Čimbenici vezani uz komplikacije trudnoće i način porođaja
 Table 3 Factors related to pregnancy complications and mode of delivery

	Ispitanice <i>Examinees</i> (N = 60)	Kontrola <i>Control</i> (N = 360)	Vrijednost testa <i>Value test</i>	p
Gestacijski dijabetes <i>Gestational diabetes</i>	2 (3,42%)	8 (2,22%)	0,29*	0,580*
Preeklampsija <i>Preclampsia</i>	1 (1,69%)	8 (2,22%)	0,02*	0,790*
Prijevreteni porod <i>Premature birth</i>	3 (5%)	20 (5,55%)	0,07*	0,879*
Carski rez <i>Caesarian section</i>	12 (20%)	42 (11,6%)	3,35*	0,067*

* χ^2 test

Rasprava

Istraživanjem (2005. – 2011.) su obuhvaćeni rezultati svih trostrukih testova (2933) koji su provedeni u Klinici. Prije tog razdoblja, probir na kromosomopatije ploda se nije sustavno provodio, a 2011. godine trostruki test zamijenjen je kombiniranim koji je od tada temeljni probirni test za kromosomopatije ploda u Klinici. Od 267 trudnica s povišenim rizikom za kromosomopatije ploda, RACZ je napravljena u 188 (70,5%). U tri (1,6%) je slučaja dokazan Downov sindrom. Preostalih 185 (98,4%) je imalo uredan kariogram i predstavljalo osnovu za strukturiranje ispitivane skupine. U službenim protokolima Klinike podatke o porođaju i tijeku trudnoće našli smo u 60 (32,5%) ispitanica. Vjerojatno je dio žena tijekom trudnoće promijenio prezime ili rodio u drugim rodilištima. Na taj se način ipak ne može objasniti isključenje gotovo dvije trećine trudnica, što predstavlja objektivan nedostatak ovoga istraživanja. Iznenadujuće je velik udio trudnica (29,5%) koje su nakon provedenog trostrukog testa probira na kromosomopatije ploda odustale od daljnje dijagnostike, usprkos povišenom riziku. Postavlja se pitanje jesu li u trenutku pristupa testa bile adekvatno informirane o samom postupku, mogućnostima i cilju probira. Teško je vjerovati da je gotovo trećina od trenutka izvođenja testa do konačne odluke promijenila mišljenje i stav prema daljnjem protokolu, tim više što se test provodi u drugom tromjesečju i *de facto* tjedan ili dva prije eventualne RACZ.⁶

Rezultati ovoga istraživanja pokazuju značajne razlike u pojedinačnoj prosječnoj vrijednosti sve tri sastavnice trostrukog testa probira. Vrijednost MoM AFP je u ispitivanoj skupini bio dvostruko manji, β HCG 2,5 puta veći, a nE3 za 20% niži, što je već ranije opisano u trudnica s povišenim rizikom za

kromosomopatije ploda.^{3,7} Ponekad se u literaturi koristi kategorijsko ocjenjivanje odstupanja izolirane vrijednosti hormona uz različite granične (engl. *cut point*) vrijednosti. Većina autora povećanje AFP iznad dva, ili 2,5 MoM smatra značajnim. Za β HCG je uobičajena granična vrijednost između dva i tri MoM, a za nE3 ispod 0,75 ili 0,5 MoM.⁷⁻¹⁸ Rezultati se tada prikazuju kroz relativni rizik u odnosu na opću populaciju. U studijama se znatno češće uspoređuju prosječne vrijednosti, pa smo se za takav model opredijelili i u ovom istraživanju.^{2,3,15,19,20}

Biokemijskim testovima probira osnovu izračunavanja individualnog rizika za kromosomopatije ploda predstavlja *a priori* rizik prema životnoj dobi. Zbog toga ne iznenađuje prosječno pet godina starija populacija ispitivane skupine, što prati i veći udio višerotkinja.^{1,6} U trudnica s većim rizikom za kromosomopatije ploda prema trostrukom testu i urednim kariogramom nismo dokazali statistički značajno veći udio GDM, PE, fetalne hipotrofije ni PP. Jedine uočene razlike u perinatalnom ishodu su veća prosječna porođajna masa, uz dvostruko veći udio pretilih novorođenčadi (ponderalni indeks veći od 90. centile). Vjerojatno bi povećanjem uzorka, ili udjela trudnica s povišenim rizikom i urednim kariogramom u našoj populaciji ispitivane skupine, čak 60% više GDM u ispitivanoj skupini dobilo statistički značaj. Višestruko veća vrijednost β HCG se možda kao izolirani čimbenik može povezati s ovakvim rezultatom, obzirom na to da su povišene vrijednosti ovoga hormona dokazane u serumu trudnica, uz makrosomiju ploda sa ili bez gestacijskog dijabetesa.⁸

Dosadašnja istraživanja su uglavnom povezivala izolirano povećane vrijednosti AFP-a u serumu trudnica s pojavnošću defekata neuralne cijevi (NTD) i prednjeg trbušnog zida ploda (*gastroshisis*, *omphalocele*), cističnim higromom, virusnim infekcijama, placentom

previjom, patološkom placentacijom i intrauterinom smrti. U ispitivanoj populaciji je prosječna vrijednost AFP-a bila 40% viša. AFP je protein koji sintetizira fetalna jetra i nosilac je koloidno osmotskog tlaka fetalne plazme. Logično je očekivati povišene vrijednosti u svim stanjima s mogućnošću njegovog većeg prelaska u krvotok trudnice. Obzirom na to da stanja ili prirođenih anomalija koje bi se mogle povezati s povišenjem vrijednosti AFP-a u našem istraživanju nije bilo, na temelju dostupne literature i postojećih znanja ne znamo na koji način objasniti dobiveni rezultat.^{7,8-10,20-22}

U literaturi je opisana povezanost povišenih vrijednosti koncentracije β hCG-a i blizanačkih trudnoća, kromosopatija, PE sa ili bez intrauterinog usporenja rasta ploda (IUZR) i intrauterine smrti ploda.⁷⁻¹⁰ U našem istraživanju pokazana je oko tri puta veća koncentracija β -hCG-a u ispitivanoj skupini u odnosu na normalu. Povezanost se uobičajeno tumači morfološkim i (dis)funkcijskim posteljničnim razlozima. Svaka hipoperfuzija i/ili hipoksija trofoblastnog stabla rezultira poremećajem njegove fiziološke apoptotske obnove i pojačanom regeneracijskom aktivnošću, u čemu je β HCG samo biokemijski biljeg. Prateće otpuštanje biološki viabilnog trofoblata u krvotok majke može dovesti do komplikacija trudnoće posredovanih posteljnicom, što uključuje PE, HELLP sindrom, IUZR i/ili koagulacijske poremećaje.^{7,8,9,23} Zbog toga noviji probirni testovi za preeklampsiju redovito uključuju β HCG u izračun pojedinačnog rizika.²⁴

Konačna sinteza nE3 odvija se u posteljici iz prekursora fetalne i majčine nadbubrežne žlijezde. Povijesno je poznato da disfunkcija posteljice rezultira smanjenim vrijednostima nE3 u serumu majki, što je svojevremeno korišteno kao dijagnostički alat posteljicne insuficijencije, u predikciji IUZR, PE i oligohidramnija.^{8,9,12} Od sva tri ispitivana hormona, prosječno odstupanje nE3 je u našem istraživanju bilo najmanje izraženo.

Klinička primjena biokemijskih probira kromosopatija ploda drugog tromjesečja po prvi je put povezala više navedenih hormona u jedinstven test. Najranije je osmišljen dvostruki (engl. *double test*; AFP, β HCG), potom trostruki, i konačno četverostruki (engl. *quadruple test*, AFP, β HCG, nE3, inhibin A). Značajna odstupanja pojedinačnih, ili skupnih vrijednosti određivanih hormona u plodova s naknadno utvrđenim urednim kariogramom, nedugo su nakon početka primjene zainteresirala istraživače. Retrospektivnim je studijama na velikim populacijama utvrđena povezanost s pojavnošću PE, IUZR, oligohidramnija, abrupcije posteljice, PP sa ili bez prijevremenog prsnuća plodovih ovoja prije termina

(PPROM) i naknadne intrauterine smrti ploda.^{7,11,13-17,19,25,26} Kombinacija povišenih vrijednosti AFP-a i β hCG-a, uz sniženu nE3, pokazala je najveću povezanost s lošim perinatalnim ishodom.^{3,8} Navedene relacije nismo potvrdili u ovom istraživanju, pri čemu su veličina uzorka i prethodno navedena ograničenja studije, vjerojatni razlog.

Uvođenje probirnih testova prvog tromjesečja u istu je relaciju prema komplikacijama trudnoće postavilo PAPP-a (engl. *pregnancy associated protein A*). Kao proteaza IGF binding globulina, taj je protein (ne)izravno uključen u fetalni rast i razvoj posteljice. Snižene vrijednosti povezane su s kasnijim nastupom IUZR-a, a tek granično i PE.^{11,21,22,27-29} Usporedna meta-analiza značaja biomerker probirnih testova prvog i drugog tromjesečja na komplikacije trudnoće, pokazala je najveći utjecaj β HCG i PAPP-a u prvom, te sve tri sastavnice trostrukog testa u drugom tromjesečju.²⁰ Olsen RN i sur. dokazali su povezanost veličine odstupanja koncentracija hormona trudnoće s vjerojatnošću kasnijih kliničkih komplikacija.¹⁵ Zanimljivo je da u žena postoji sklonost ponavljanju obrasca odstupanja za sva tri hormona u narednim trudnoćama.¹⁴

Interpretacija pojedinog biokemijskog probiranog testa visokog rizika nakon utvrđenja urednog kariograma, predstavlja izazov za kliničara i struku u cjelini. Nažalost, uočene korelacije vrijede isključivo za velike populacije i nisu jednostavno primjenjive na individualnoj razini. Do sada nisu osmišljene formule izračuna pojedinačnih rizika kasnijih komplikacija. U danim bi okolnostima optimalno bilo objasniti trudnici značaj i ograničenja pojedinog nalaza, te prilagoditi daljnje praćenje trudnoće sveukupnim okolnostima svakog konkretnog slučaja.^{7,10,15,18,20,25,26} Zadnjih se godina prenatalni probir kromosopatija odmiče od hormonskih analiza i sve više oslanja na slobodnu fetalnu DNK u krvi majke. Promijenjene vrijednosti, uz uredan kariogram ploda, predstavljaju novi izazov u mogućoj predikciji kasnijih komplikacija trudnoće na modelu sličnom ranijim hormonskim analizama s istim inicijalnim ciljem.^{30,31,32} Iskustvo s trostrukim testom nije ponudilo konkretne protokole i osiguralo kliničku primjenu, ali može koristiti u planiranju istraživanja, vezano uz slobodnu fetalnu DNK. Nije isključeno da će postojeće ili buduće metode molekularne biologije komplementarno osigurati bolje perspektive rane dijagnostike i/ili prevencije, uz poboljšanje perinatalnog ishoda. U tom kontekstu, i usprkos relativnoj „zastarjelosti“ trostrukog testa kao metode probira kromosopatija ploda, ovakva istraživanja imaju opravdanje i značaj.

Zaključak

Nismo dokazali povezanost visokorizičnog nalaza trostrukog testa u trudnica s urednim kariogramom ploda s kasnijom pojavom poremećaja trudnoće. Učestalost carskoga reza u ispitivanoj skupini bila je gotovo dvostruko veća, ali granične statističke značajnosti. Novorođenčad majki visokorizičnog nalaza trostrukog testa i urednog kariograma, značajno su češće hospitalizirana u jedinici intenzivnog liječenja, uz prosječno dulji boravak.

Literatura

1. Ramy A. Screening for Down Syndrome. *Ain Shams Journal of Obstetrics and Gynecology* 2005;2:327-331.
2. Yuan W, Chen L, Bernal AL. Is elevated maternal serum alpha-fetoprotein in the second trimester of pregnancy associated with increased preterm birth risk? A systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;145:57-64.
3. Sayin NC, Canda MT, Ahmet N, Arda S, Süt N, Varol FG. The association of triple-marker test results with adverse pregnancy outcomes in low-risk pregnancies with healthy newborns. *Arch Gynecol Obstet* 2008; 277:47-53.
4. Roje D, Tadin I, Marušić J, et al. Porodne težine i duljine novorođenčadi u Splitu. Opravdanost razvijanja vlastitih referentnih vrijednosti za ocjenjivanje fetalnog rasta. *Gynecol Perinatol* 2005;14:66-74.
5. Roje D, Banovic I, Tadin I, et al. Gestational age-the most important factor of neonatal ponderal indeks. *Yonsei Med J* 2004;45:273-80.
6. Dev M, Sharma S, Aggarwal S. Prenatal Screening Methods for Aneuploidies. *N Am Med Sci* 2013;5: 182-90.
7. Karsidag AY, Buyukbayrak EE, Kars B, Suyugul U, Unal O, Turan MC. The relationship between unexplained elevated serum markers in triple test, uterine artery Doppler measurements and adverse pregnancy outcome. *J Pak Med Assoc* 2010;60:181-6.
8. Wenstrom KD, Owen J, Boots LR, DuBard MB. Elevated second-trimester human chorionic gonadotropin levels in association with poor pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1038-41.
9. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, et al. Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-fetoprotein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:968-74.
10. Bartkute K, Balsyte D, Wisser J, Kurmanavicius J. Pregnancy outcomes regarding maternal serum AFP value in second trimester screening. *J Perinat Med* 2017;45:817-820.
11. Cohen JL, Smilen KL, Bianco AT, Moshier EL, Ferrara LA, Stone JL. Predictive value of combined serum biomarkers for adverse pregnancy outcomes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014;181:89-94.
12. Kowalczyk TD, Cabaniss ML, Cusmano L. Association of low unconjugated estriol in the second trimester and adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 1998;91:396-400.
13. Benn PA, Horne D, Briganti S, Rodis JF, Clive JM. Elevated second trimester maternal serum hCG alone or in combination with elevated alpha-fetoprotein. *Obstet Gynaecol* 1996;87:217-22.
14. Wax JR, Lopes AM, Benn PA, Lerrer T, Steinfeld JD, Ingardia CJ. Unexplained elevated midtrimester maternal serum levels of alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, or low unconjugated estriol: recurrence risk and association with adverse perinatal outcome. *J Matern Fetal Med* 2000;9:161-4.
15. Olsen RN, Woelkers D, Dunsmoor-Su R, Lacoursiere DY. Abnormal second-trimester serum analytes are more predictive of preterm preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:228.e1-7.
16. Lepage N, Chitayat D, Kingdom J, Huang T. Association between second-trimester isolated high maternal serum human chorionic gonadotropin levels and obstetric complications in singleton and twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:1354-9.
17. Bašbuđ D, Bašbuđ A, Gülerman C. Is unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein still an important predictor for adverse pregnancy outcome? *Ginekol Pol* 2017;88:325-330.
18. Xia YP, Zhu MW, Li XT, et al. Chromosomal abnormalities and adverse pregnancy outcome with maternal serum second trimester triple screening test for fetal Down syndrome in 4,860 Chinese women. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2006;18:38:49-52.
19. Wenstrom KD, Owen J, Boots LR, DuBard MB. Elevated second trimester human chorionic gonadotropin levels in association with poor pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:1038-41.
20. Gagnon A, Wilson RD. Obstetrical complications associated with abnormal maternal serum markers analytes. *J Obstet Gynaecol Can* 2008;30:918-932.
21. Goetzinger KR, Singla A, Gerkowicz S, Dicke JM, Gray DL, Odibo AO. Predicting the risk of preeclampsia between 11 and 13 weeks' gestation by combining maternal characteristics and serum analytes, PAPP-A and free β -hCG. *Prenat Diagn* 2010; 30:1138-42.
22. Hourrier S, Salomon LJ, Dreux S, Muller F. Screening for adverse pregnancy outcome at early gestational age. *Clin Chim Acta* 2010;411:1547-52.
23. Chamley LW, Holland OJ, Chen Q, Viall CA, Stone PR, Abumaree M. Review: Where is the maternofetal interface? *Placenta* 2014;25 Suppl. :74-80.
24. Long W, Zhou Q, Wang H, et al. Second-trimester Maternal Serum Screening Biomarkers in the Risk Assessment for Preeclampsia. *Ann Clin Lab Sci* 2018; 48:308-13.

25. Huerta-Enochian G, Katz V, Erfurth S. The association of abnormal alpha-fetoprotein and adverse pregnancy outcome: does increased fetal surveillance affect pregnancy outcome? *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1549-53.
26. Öztürk H, Erkaya S, Altınbaş S, Karadağ B, Vanlı Tonyalı N, Özkan D. The role of unexplained high serum alpha-fetoprotein (AFP) and human chorionic gonadotropin (hCG) levels in the second trimester to determine poor obstetric outcomes. *Turk J Obstet Gynecol* 2014;11:142-147.
27. Agarwal R, Kumari R, Mehndiratta M, Radhakrishnan G, Faridi MMA, Chandra N. Pregnancy-Associated Plasma Protein A Levels in Late First Trimester Pregnancies with Small-for-Gestational Age Neonates: A Prospective Case-Control Study. *J Obstet Gynaecol India* 2017;67:247-252.
28. Birdir C, Droste L, Fox L, et al. Predictive value of sFlt-1, PlGF, sFlt-1/PlGF ratio and PAPP-A for late-onset preeclampsia and IUGR between 32 and 37 weeks of pregnancy. *Pregnancy Hypertens* 2018; 12:124-128.
29. Ranta JK, Raatikainen K, Romppanen J, Pulkki K, Heinonen S. Decreased PAPP-A is associated with preeclampsia, premature delivery and small for gestational age infants but not with placental abruption. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2011; 157:48-52.
30. Sifakis S, Koukou Z, Spandidos DA. Cell-free fetal DNA and pregnancy-related complications (review). *Mol Med Rep* 2015;11:2367-72.
31. Sozomuri N, Sekizawa A, Ebara T, et al. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018;224:165-9.
32. Van Boeckel SR, Davidson DJ, Norman JE, Stock SJ. Cell-free fetal DNA and spontaneous preterm birth. *Reproduction* 2018;155:137-45.