

Klinika za ženske bolesti i porođaje, Kliničkog bolničkog centra Zagreb  
Medicinski fakultet, Sveučilišta u Zagrebu

## REGISTAR BLIZANACA I BIOBANKA

*Marina Ivanišević, Josip Đelmiš, Mislav Herman, Marina Horvatiček,  
Vesna Sokol Karadžole, Ksenija Tuškan*

*Pregled*

*Ključne riječi:* blizanačka trudnoća, registar, biobanka

**SAŽETAK.** U ovom preglednom članku autori prikazuju važnost osnivanja registra i biobanke za blizanačku trudnoću. Blizanačka trudnoća i blizanci su jedinstvena prilika za proučavanje fetalne fiziologije i patologije, majčine prilagodbe na dvoplodnu/višeploidnu trudnoću, razvoja komplikacija u trudnoći, porođaju i nakon njega, neonatalnog ishoda a kasnije blizanci predstavljaju jedinstvenu priliku za istraživanje uzročno-posljedičnih veza u promjenama ljudskog ponašanja, varijacijama u razvoju tijekom djetinjstva, adolescencije i odrasle dobi kao i u razvoju određenih bolesti.

Blizanci su uvijek budili interes cijelog društva što je vidljivo od davne povijesti, od Apolona i Diane u grčkoj mitologiji, do Jakova i Esaua u Bibliji, Alexander Heliosa i Kleopatre Selene (djeca Marcusa Antonija i Cleopatre), te Mary Kate i Ashley Olsen, poznatih filmskih zvijezda. Spojeni blizanci su izazivali još više senzacija, a najpoznatiji par su Chang i Eng Bunker, koji su rođeni u Tajlandu 1811. godine bili su inspiracija za naziv Sijamski blizanci.

Prvi empirijski podatci o porođajima i o blizancima sustavno su obrađeni i publicirani 1848. godine u Njemačkoj, a kasnije u Švedskoj pa Engleskoj (1,2,3). Godine 1896. opisan rijedak slučaj majke Mary Austin koja je u 33 godine bračnog života rodila 44 djece, tri naest pari blizanaca i 6 pari trojaka i pored svega toga bila uspješna liječnica, a ni njezine sestre nisu zaostajale po broju rođene djece, jedna je rodila 26, a druga 41 dijete.

Za izdvojiti je i slučaj gospođe H.F. koja je rodila 6 pari blizanaca u Putmanu, država Connecticut, SAD. Liječnici koji su se brinuli o porođajima ove majke vriedno su zabilježili podatke o porođajima, s podacima o majci, ocu, spolovima djece i uveli podatke u bazu vitalne statistike država Massachusetts i Connecticut, smatra se pionirskim važnim korakom u osnivanju registra o blizancima. Drugi kuriozitet ovog slučaja je svakako longitudinalno praćenje blizanaca. Blizanačka trudnoća i blizanci su jedinstvena prilika za proučavanje fetalne fiziologije i patologije, majčine prilagodbe na dvoploidnu/višeploidnu trudnoću, razvoja komplikacija u trudnoći, porođaju i neonatalnog ishoda, a u kasnijem životu blizanci predstavljaju jedinstvenu priliku za istraživanje uzročno posljedičnih veza u promjenama ljudskog ponašanja, varijacijama u razvoju tijekom djetinjstva, adolescencije i odrasle dobi kao i u razvoju određenih bolesti. Tijekom posljednjih 15 godina broj registra o blizancima brzo se povećavao, veliki broj zemalja ih tek uvodi iako postoje i one zemlje koje blizance prate preko 150 godina (4).

Napredak u istraživanju genoma obogatio je biheviorističku, socijalnu i medicinsku znanost. Društvene znanosti i istraživanja o ponašanju blizanaca pokazuju

da smo duboko srasli s promjenjivim društvenim okruženjem. Utjecaj gena se nekada smatrao da je neovisan o socijalnom okruženju tijekom života čovjeka. Danas je ova teza dovedena u pitanje jer je sve više dokaza koji govore o neposrednoj regulaciji gena od strane društvenog okruženja kao i međusobnog utjecaja genoma i okoliša odnosno epigenetskog utjecaja. Istraživanje genoma preplavilo je vrhunsku znanstvenu literaturu, a personalizacija prevencije, liječenja i zdravstvena skrb glavna je tema u predloženim inovacijama zdravstvenih sustava u Europi i diljem svijeta.

Rodoslovlje, istraživanja o blizancima i obitelji najvažnija su za razumijevanje genetske arhitekture složenih ljudskih osobina u bihevioralnom, društvenom i medicinskom području. Podatci prikupljeni u longitudinalnim studijama o blizancima gotovo su neprimjetno prenesena u molekularno genetsko doba, koje otvara daljnje mogućnosti za istraživanja. Sljedeće generacije sekvencioniranja i „omics-a“ zajedno s jedinstvenim i detaljnim podacima o blizancima i njihovim obiteljima, predstavljaju gotovo savršenu platformu za prikaz uzroka koji su u podlozi složenih bihevioralnih i zdravstvenih osobina, uključujući i uobičajene mentalne poremećaje i kronične bolesti. Testiranje promjena na genomu blizanaca unutar specifičnog okoliša predstavljaju neophodni preduvjet za buduću primjenu personalizirane medicine. Ovakva vizija medicine u bliskoj budućnosti donosi obvezu osnivanja registra o blizanačkim trudnoćama i njihovim ishodima, a kasnije i samim blizancima u longitudinalnom praćenju. Registri blizanaca dijele se u nekoliko vrsta prema svrsi i vrsti studija za koje se koriste njihovi podatci.

1. Ukoliko registar održava kontakt s blizancima, tada su moguće prospektivne longitudinalne studije, promatranje pojedinca unutar blizanaca, promatranje blizanaca od rođenja preko adolescentne i odrasle dobi, kvalitativno promatranje npr. početka pušenja kod parova sa suprotnim navikama, stvaranje krivulje rasta blizanaca i povezivanje stope rasta s nekim od ishoda kod blizanaca.

2. Posebno se stvaraju registri za intervencijske studije koje su dizajnirane na način da se u studiju uvr-

štavaju nasumični blizanci unutar para ili kao cijeli par, a koji odgovaraju dobi, spolu i genetskoj osjetljivosti. Istraživanje je aktivno prema ispitanicima: promatraju se učinci liječenja (terapija lijekovima) ili drugog postupka koji mijenja istraživano obilježje (npr. tjelovježba, dijeta), zatim blizanci su podijeljeni na način da jedan prima lijek, a drugi placebo i drugo. Svakako vrijedi naglasiti da za ovakva istraživanja blizanci ne bi trebali komunicirati jedan s drugim glede tijekom praćenja, jer je to jedan od glavnih čimbenika za uspjeh studije. Snaga ovakvog istraživanja i registra koji se u tu svrhu vode je u tome da se može postići kritična podudarnost u genima, da je za sudjelovanje u paru uvijek lakše dobiti pristanak blizanaca i da su vrlo motivirana skupina.

3. Za istraživanja unutar samog para blizanaca nazvanog „*co-twin*”, registar blizanaca mora sa sigurnošću imati podatak o zigotnosti jer se *co-twin* istraživanja temelje na blizancima koji su međusobno potpuno različiti (diskordinantni) za određeni okolišni čimbenik ili su različito izloženi nekom okolišnom čimbeniku, ili su diskordinantni po pitanju razvoja određene bolesti. Najčešće se u ovakvom istraživanju biraju monozigotni blizanci. Dizigotni par je u *co-twin* istraživanju vezan na ispitivanje gena kod izloženosti različitim okolišnim čimbenicima. Snaga ovih istraživanja se nalazi u mogućnosti donošenja zaključaka o uzrocima određenih promjena/bolesti i rijetkih okolišnih čimbenika kojima su izloženi.

4. Istraživanje parova (*case-control study*) zahtijeva da registar blizanaca sadrži sve podatke o dobi, genetskim čimbenicima, negenetskim čimbenicima u obitelji, podacima o majci, ocu, maternici, posteljici, spolu blizanaca, datumu i godini rođenja.

5. Klasično istraživanje blizanaca ima za cilj istražiti ulogu genetskih i okolišnih čimbenika u pojavi nekih bolesti. Podatci se dobivaju iz registra blizanaca. Za istraživanje je neophodno imati evidenciju radi li se o monozigotnim ili dizigotnim blizancima.

Nekoliko je primjera u Europi i svijetu o dobro osmišljenih registara blizanaca. Procjenjuje se da je u 30 godina oko 25% svih blizanaca i djece višeplođnih trudnoća u Nizozemskoj sudjelovalo u istraživačkim projektima Nizozemskog registra blizanaca. U mnogim istraživanjima su sudjelovali članovi obitelji i nastavnici blizanaca. U tim istraživanjima je bilo više od 150.000 sudionika. Longitudinalne studije su analizirale podatke o genotipu, fenotipu, o funkcioniranju autonomnog i središnjeg živčanog sustava, o biomarkerima i ekspresiji gena. Nizozemski registar blizanaca je uspostavljen kao nacionalni istraživački sustav s održivom infrastrukturom i pohranom podataka koji omogućuje nastavak i obogaćivanje longitudinalnog prikupljanja podataka za idućih 25 godina. Plan je, da registar blizanaca poveća znanstveno istraživanje u Nizozemskoj i svijetu (5,6,7).

Drugi primjer Švedski registar blizanaca i biobanka, zemlje koja je jedna od najnaprednijih po praćenju svih

pokazatelja vezanih uz vitalnu statistiku i epidemiologiju. Registar blizanaca je osnovan kasnih 1950-tih godina kada su zabilježeni dostupni podatci o blizancima rođenim 1886–1925. godine pa sve do danas. Danas se u registar upisuju svi blizanci nakon porođaja, a provjeravaju se prije navršene devete godine života. Registar raspolaže podacima o duljini života blizanaca, o DNK iz bukalne sluznice, o muzičkom iskustvu, o psihološkim problemima, kreativnim postignućima, kognitivnim i motoričkim funkcijama. Registar ima podatke i od blizanaca u dobi od 50–67 godina. Od 2004 – 2008. godine u registar je uključeno više od 12.000 blizanaca u „*Twin Gene Project*“ u kojem su osim podataka prikupljenih o najučestalijim bolestima, a uzimani su uzorci krvi za DNK analizu, odnosno osnovali su biobanku za blizance. Učinjena su različita istraživanja npr.: na autizam, i kronične bolesti. Švedska biobanka ima dovoljno DNK, RNK, uzoraka, različitih metabolita, proteina dobivenih od blizanaca koji su bili eksponirani u različitim okolišnim uvjetima (8, 9).

Dobar primjer je i Australija koja je organizirala registar blizanaca adolescentne i odrasle dobi i biobanku blizanaca, a uspješnost prikupljanja bioloških uzoraka iznosi 75% (10).

Talijanski registar blizanaca je osnovan 2001. godine (11). Od osnutka registra kontinuirano se ažuriraju podatci o blizancima i skupljaju uzorci za biobanku. Demografski podatci za više od 140.000 blizanaca se upotunjuju s podacima općinskih registara. Talijanski dvostruki registar provodi kontinuirano istraživanja na temelju podataka registra blizanaca. Zahvaljujući registru za blizance istraživači su 2012. godine započeli sa studijom pod nazivom „*Multiple Births Cohort Study*“. Analiziraju se podatci o trudnoći i načinu dovršenja porođaja, o rastu i razvoju blizanaca. Istraživanja vezana na pojave koje se javljaju u ovisnosti sa starenjem, zatim otkrivanje ranih biomarkera kod kognitivnog poremećaja, te odnos između životnih navika i mutagene osjetljivosti. Talijanska „*Twin Register Biobank*“ je zaživjela kao velika biobanka, s vlastitim razvojnim procesima i implementacijom vlastitih etičkih normi. Danas je u punom zamahu ispitivanje stavova prema istraživanjima vezanim na biobanku, kao i ispitivanje spremnosti i motiviranosti za doniranje biološkog materijala. Talijanski „*Twin Register*“ je važan izvor podataka kojem je dodana vrijednost mogućnost povezivanja s registrom bolesti. Taj pristup u istraživanju je već polučio rezultate, a najvrjednije koje je talijanski zdravstveni sustav dobio su rezultati studije o nasljeđivanju tipa I šećerne bolesti.

## Zaključak

Iz svega navedenog može se zaključiti koliko je zdravstvenom sustavu jedne zemlje važno da vodi pre- i postnatalne podatke o blizancima, o njihovim roditeljima, a kasnije, u adolescentnoj i odrasloj dobi kako bi se iz različitih pristupa istraživanja blizanaca došlo do zaključka o genetski vezanim bolestima kao i onim epi-

genetski uzrokovanim. Biološki materijal koji se čuva u biobanci blizanačkih trudnoća je od neprocjenjive vrijednosti za buduća istraživanja.

## Literatura

1. Spengler, L. Statistische Uebersicht der seit 71 Jahren in den Mecklenburg-Schwerin'schen Landen vorgekommenen Geburten und der Sterblichkeit im Wochenbette. *Neue Zeitschrift für Geburtskunde* 1848;25:439–446.
2. Geissler, A. Nachtrag zu dem Artikel „Das Geschlechterverhältniss bei der Kindern gleichen Stammes“ *Zeitschrift des Königlichen Sächsischen Statistischen Bureaus* 1889;35:56.
3. Geissler, A. Zur Kenntnis der Geschlechtsverhältnisse bei Mehrlingsgeburten. *Allgemeines Statistisches Archiv* 1896;III: 537–544.
4. Nilsen T, Magnus P, Ørstavik R. Historical twinning rates in Norway. *Norsk Epidemiologi* 2015;25(Suppl)1:139.
5. Boomsma D I, Vink J M, van Beijsterveldt T C, et al. Netherlands Twin Register: A focus on longitudinal research. *Twin Research* 2002;5:401–406.
6. Boomsma D I, Willemsen G, Sullivan P F, et al. Genome-wide association of major depression: Description of samples for the GAIN Major Depressive Disorder Study: NTR and NES-DA biobank projects. *European Journal of Human Genetics* 2008;16:335–342.
7. Boomsma D I, Willemsen G, Vink J M, et al. Design and implementation of a twin-family database for behavior genetics and genomics studies. *Twin Research and Human Genetics* 2008;11:342–348.
8. Statistics-Sweden. Multi-generation register 2010: A description of contents and quality. Background facts on population and welfare statistics. Stockholm, Sweden:Author, 2011.
9. Larson, T, Anckarsater H, Gillberg C, Stahlberg O, Carlstrom E, Kadesjo B, Lichtenstein P. The Autism — Tics, AD/HD and Other Comorbidities Inventory (A-TAC): Further validation of a telephone intervju for epidemiological research. *BMC Psychiatry* 2010;10(1):1–11.
10. Saffery R, Morley R, Carlin J B, et al. Cohort Profile: The Peri/postnatal epigenetic twins study, *Int J Epidemiol* 2012; 41:55–61.
11. Brescianini S, Fagnani C, Toccaceli V, et al. An update on the Italian Twin Register: advances in cohort recruitment, project building and network development. *Twin Res Hum Genet* 2013;16(1):190–6.

*Adresa autora:* Marina Ivanišević, Klinika za ženske bolesti i porođaje, Petrova 13, 100000 Zagreb, e-pošta: marina.ivanisevic@pronatal.hr

Department of Obstetrics and Gynecology, Clinical Hospital Center Zagreb,  
School of Medicine, University of Zagreb

## TWIN PREGNANCIES REGISTRY AND BIOBANK

*Marina Ivanišević, Josip Đelmiš, Mislav Herman, Marina Horvatiček,  
Vesna Sokol Karadjole, Ksenija Tuškan*

*Review*

*Key words:* twin pregnancy, registry, biobank

**SUMMARY.** In this review article, the authors point out the importance of establishing a registry and a biobank for twin pregnancy. Twins pregnancy and twins are a unique opportunity to study fetal physiology and pathology, maternal adaptation to double / multiple pregnancy, complications in pregnancy, postpartum and postnatal development, neonatal outcomes and later twins represent a unique opportunity to explore causal relationships in behavioral change, variations in development during childhood, adolescence and adult age as well as development of certain diseases.