

Rana amniocenteza u KBC Split

Vukorepa, Jelena

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split / Sveučilište u Splitu**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:176:335954>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-02**



Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
SVEUČILIŠTE U SPLITU

Repository / Repozitorij:

[Repository of the University Department for Health Studies, University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA U SPLITU

STUDIJ PRIMALJSTVO

Jelena Vukorepa

RANA AMNIOCENTEZA U KBC SPLIT

Završni rad

Split, 2023.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

Podružnica

SVEUČILIŠNI ODJEL ZDRAVSTVENIH STUDIJA

PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ

STUDIJ PRIMALJSTVO

Jelena Vukorepa

RANA AMNIOCENTEZA U KBC SPLIT

EARLY AMNIOCENTESIS IN THE UNIVERSITY

HOSPITAL CENTER SPLIT

Završni rad/Bachelor's Thesis

Mentor:

prof. prim. dr. sc. Damir Roje, dr. med.

Split, 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Sveučilišni odjel zdravstvenih studija
Primaljstvo

Znanstveno područje: biomedicina i zdravstvo
Znanstveno polje: kliničke medicinske znanosti

Mentor: prof. prim. dr. sc. Damir Roje, dr. med.

RANA AMNIOCENTEZA U KBC SPLIT

Jelena Vukorepa, 211159

Sažetak: Dijagnostika kromosomopatija je važan dio prenatalne zaštite trudnica. Najčešće izvođena metoda antenatalne dijagnostike kromosomopatija ploda je amniocenteza, točnije rana amniocenteza s ciljem kariotipizacije ploda. Analizom cijelog ispitivanog razdoblja većina ranih amniocenteza je napravljena između 16. i 20. tjedna trudnoće. Uvođenje kombiniranog testa i kasnije neinvazivnog prenatalnog testiranja pomaklo je prosječnu dob trudnoće za izvođenje rane amniocenteze tjedan dana: od dominantno navršenih 17 tjedana na 16. Najčešća indikacija za izvođenje rane amniocenteze u ispitivanoj populaciji je životna dob trudnice. Uočeno smanjenje udjela ranih amniocenteza zbog obiteljske i osobne anamneze sa značajnim padom zadnjih godina znak je dobre kliničke prakse i vremenom razvijenih internih postupnika indiciranja metoda invazivne prenatalne dijagnostike. Pojavom neinvazivnog prenatalnog testiranja broj ranih amniocenteza u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split značajno se smanjio, a udio patoloških nalaza kariograma povećao.

Ključne riječi: kromosomopatije; amniocenteza; prenatalni probir

Rad sadrži: 54 stranice, 10 slika, 3 tablice, 30 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
University Department for Health Studies
Midwifery

Scientific area: biomedicine and healthcare
Scientific field: clinical medical sciences

Supervisor: prof. prim. dr. sc. Damir Roje, dr. med

EARLY AMNIOCENTESIS IN THE UNIVERSITY HOSPITAL CENTER SPLIT Jelena Vukorepa, 211159

Summary: Diagnostic of chromosomopathies is an important part of prenatal care for pregnant women. The most commonly performed method of antenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormalities is amniocentesis, more precisely early amniocentesis with the aim of fetal karyotyping. By analyzing the entire examined period, most early amniocentesis were performed between the 16th and 20th weeks of pregnancy. The introduction of the combined test and later non-invasive prenatal testing moved the average gestation age for performing early amniocentesis for one week: from the dominantly completed 17 weeks to 16. The most common indication for performing early amniocentesis in the studied population is the age of the pregnant woman. The observed reduction in the proportion of early amniocentesis due to family and personal history with a significant decrease in recent years is a sign of good clinical practice and developed internal procedures for indicating methods of invasive prenatal diagnostics. With the advent of non-invasive prenatal testing, the number of early amniocentesis in the Clinic has significantly decreased and the share of pathological karyogram findings has increased.

Keywords: chromosomopathies; amniocentesis; prenatal screening

Thesis contains: 54 pages, 10 figures, 3 tables, 30 references

Original in: Croatian

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. KROMOSOMOPATIJE	2
1.1.1. Poremećaj broja kromosoma	3
1.1.2. Poremećaj strukture kromosoma	4
1.2. INDIKACIJE ZA INVAZIVNU PRENATALNU DIJAGNOSTIKU	
KROMOSOMOPATIJA	6
1.2.1. Metode probira u antenatalnoj dijagnostici kromosomopatija	6
1.2.2. Životna dob	8
1.2.3. Obiteljska anamneza	8
1.2.4. Osobna anamneza	9
1.2.5. Probir drugog tromjesečja trudnoće	9
1.2.5.1. Biokemijski testovi probira	9
1.2.5.2. Ultrazvuk u probiru kromosomopatija u drugom tromjesečju	10
1.2.6. Probir prvog tromjesečja trudnoće	10
1.2.6.1. Biokemijski testovi probira u prvom tromjesečju trudnoće	11
1.2.6.2. Ultrazvuk u probiru kromosomopatija u prvom tromjesečju	12
1.2.6.2.1. Nuhalna prozirnost	13
1.2.6.2.2. Nosna kost	14
1.2.6.2.3. Venozni duktus (lat. ductus venosus)	14
1.2.6.3. Kombinirani ultrazvučno biokemijski probir	15

1.3.	METODE INVAZIVNE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE	16
1.3.1.	Rana amniocenteza	16
1.3.2.	Kordocenteza	17
1.3.3.	Biopsija korionskih resica	18
1.3.4.	Placentocenteza	18
1.3.5.	Tehnika otkrivanja fetalnih stanica u majčinoj cirkulaciji	19
1.4.	NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE (NIPT) ANALIZOM SLOBODNE FETALNE DNA U KRVI TRUDNICE	20
1.5.	CITOGENETSKE METODE ANALIZE	21
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE	23
2.1.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA	24
2.2.	HIPOTEZA	24
3.	ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA	25
3.1.	ISPITANICI	26
3.2.	METODE ISTRAŽIVANJA	26
3.3.	STATISTIČKI POSTUPCI	26
4.	REZULTATI	27
5.	RASPRAVA	42
6.	ZAKLJUČAK	48
7.	LITERATURA	50
8.	ŽIVOTOPIS	54

Zahvaljujem svom mentoru prof. prim. dr. sc. Damiru Roji na svakom savjetu, posvećenosti, susretljivosti, usmjeravanju k cilju, prenesenom znanju, uloženom trudu i vremenu, a ponajviše zahvaljujem na riječima potpore koje su bile iznimna motivacija prilikom izrade preddiplomskog rada.

Zahvaljujem svim zaposlenicima KBC-a Split i SOZS-a u Splitu na lijepim godinama studiranja.

Veliko hvala obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj ljubavi i podršci tijekom akademskog putovanja.

1. UVOD

1.1. KROMOSOMOPATIJE

Kariotip definiramo kao skup kromosoma koji pripada jednoj stanici (1). Kromosomi su nosioci genetske osnove svake vrste odnosno jedinke prema kojoj se različite vrste razlikuju jedne od drugih. Euploidija je naziv za normalan broj kromosoma neke biološke vrste. Do 1965. godine se smatralo da ljudska stanica ima 48 kromosoma. Danas je dokazano da u fiziološkim uvjetima tjelesne stanice čovjeka u jezgrama ima 46 kromosoma. Razlikujemo 22 para autosomnih kromosoma koji su jednaki i kod muškaraca i kod žena te jedan par spolnih kromosoma. Diploidan broj kromosoma imaju tjelesne stanice dok spolne stanice imaju haploidan odnosno polovičan broj kromosoma. Svrha spolnih kromosoma je određivanje spola. Kromosom "X" izvorno je nazvan "X" jer mu funkcija nije bila poznata. Spermij je muška gameta, a jajna stanica je ženska gameta. U žena je nositelj X-kromosoma svaka jajna stanica, za razliku od muškaraca kod kojih je spermij nositelj ili X ili Y-kromosoma (2). Kada dođe do spajanja gameta u trenutku oplodnje stvara se novi organizam s diploidnim brojem kromosoma. Pri tome se 23 kromosoma iz spermija kombiniraju s 23 kromosoma iz jajne stanice što tvori zigotu (1). Pojedini kromosom se razlikuje prema položaju centromera i njihovoj ukupnoj duljini. To omogućuje pravilnu identifikaciju svih kromosoma citogenetskim metodama (2).

Kromosomopatije su svako odstupanje u broju i strukturi kromosoma u stanici te bolesti ili anomalije koje nastaju zbog toga. Možemo ih svrstati u brojčane i strukturne. Treća skupina sadrži različite komplete kromosoma u dvije ili više različitih staničnih linija. Većim dijelom doprinose prirođenim anomalijama, mentalnoj retardaciji i drugim stanjima i bolestima, a povezuju se i s nastankom zloćudnih tumora tijekom života. Kromosomopatije se mogu pronaći kod 10% svih spermatozoa i 25% zrelih jajnih stanica (2). Česte su kod spontanih pobačaja (uzrok su do 50% fetalnih smrti do 20. tjedna trudnoće) i kod mrtvorodenčadi (uzrok su šest do 13% fetalnih smrti od 20. tjedna trudnoće). U prosjeku ih možemo pronaći kod jednog od 140 živorođene djece. Da se veliki udio ne gubi spontanim pobačajima, među živorođenom djecom bi im učestalost bila deset puta veća (3).

1.1.1. Poremećaj broja kromosoma

Poremećaj broja kromosoma uključuje dobitak ili gubitak jednog ili više kromosoma što nazivamo aneuploidijama (2). To su ujedno i najčešće kromosopatije (1). Poliploidije podrazumijevaju dodatak jednog ili više haploidnih kompleta kromosoma. Monosomiju definiramo kao gubitak jednog kromosoma (2).

Trisomija podrazumijeva prisutnost jednog dodatnog kromosoma. Downov sindrom je najčešća trisomija. Učestalost Downovog sindroma je oko 1:650 živorođene djece (1). Downov sindrom uzrokovan je dodatkom 21. kromosoma pa se nerijetko naziva trisomijom 21. Trisomiju 21 uglavnom uzrokuje nemogućnost pravilne raspodjele para homolognih kromosoma tijekom anafaze u prvoj mejotskoj diobi kod žena. Moguće je da dođe do trisomije zbog nerazdvajanja kromosoma u drugoj mejotskoj diobi kad sestrinske kromatide nisu pravilno razdvojene (2). Porastom životne dobi majke raste i rizik rođenja djeteta s Downovim sindromom. Još se samo dvije mogu naći kod živorođene djece. To su Patauov sindrom (trisomija 13) i Edwardsov sindrom (trisomija 18). Kod većine ostalih trisomija rezultat je rani prekid trudnoće, od kojih je trisomija 16 najčešća (2). U biološkom materijalu pobačenih plodova dosadašnjim je analizama dokazana mogućnost postojanja trisomija svih vrsta (1).

Mehanizam nastanka monosomija jednak je kao i kod trisomija i vezan uz poremećaje razdvajanja kromatida tijekom mejotske diobe u procesu gametogeneze. U slučaju kada jedna gameta dobije jedan homologni kromosom više (disomija), drugoj gameti će nedostajati taj homologni kromosom (nulisomija). Monosomija može nastati tijekom putovanja kromosoma na pol stanice pri stezanju diobenog vretena u anafazi (2).

Poliploidne stanice imaju nekoliko kopija haploidnih kompleta kromosoma, 69 u triploidiji ili 92 u tetraploidiji. U uzorcima spontanih pobačaja česta je triploidija, no rijetka su preživljenja dulja od polovine trudnoće. Opisano je tek nekoliko triploidnih živorođenih koji su nedugo nakon rođenja umrli. Triploidija je moguća kad dođe do oplodnje jajne stanice s dva spermija (dispermija). Ukoliko je triploidija uzrokovana prisutnošću dodatnog kompleta očevih kromosoma posteljica može biti povećana. Ukoliko je triploidija

uzrokovana dodatnim kompletom majčinog kromosoma, posteljica može biti manja. Triploidija najčešće završava spontanim pobačajem (2).

1.1.2. Poremećaj strukture kromosoma

Poremećaji strukture kromosoma nastaju nakon lomova kromosoma i povezivanja s drugim dijelovima kromosoma u promijenjenoj konfiguraciji (2). Strukturne kromosomske aberacije uzrok su do 6% spontanih pobačaja. Većinom nastaju uslijed izlaganja ionizirajućim zrakama, kemijskim spojevima ili nekim drugim vanjskim noksama koji dovode do dvostrukih lomova na različitim kromosomima (4). Promjene mogu biti uravnotežene i neuravnotežene. Kod uravnotežene preraspodjele ne dolazi do gubitka ili dodatka genetičkog materijala, za razliku od neuravnotežene preraspodjele kod koje dolazi ili do gubitka ili do podvostručenja genetičkog materijala (2).

Poremećaji strukture kromosoma kod kojih je uključen jedan kromosom su: inverzije, delecije, izokromosomi, duplikacije i prstenasti kromosomi (2).

Delecija predstavlja gubitak dijela kromosoma. Kada dođe do delecije velikog dijela kromosoma, iznimno je mala mogućnost preživljenja ploda (1). Smatra se da gubitak ukupnog haploidnog genoma veći od 2% uzrokuje spontani pobačaj. Velike kromosomske delecije vidljive su svjetlosnim mikroskopom i tu spadaju *Wolf-Hirschhornov* i *cri du chat* sindrom. Navedeni sindromi nastaju uslijed delecije kraćeg kraka četvrog, odnosno petog kromosoma. Submikroskopske delecije, poput Prader-Willijeva i Angelmanova sindroma, identificiraju se pomoću citogenetike prometafaznih kromosoma uz FISH-metodu (2).

Duplikacija je udvostručenje dijela nekog kromosoma, što dovodi do viška genskog materijala (1).

Inverzija nastaje uslijed dvostrukog loma istog kromosoma gdje se pri spajanju obrne orijentacija (1).

Kod izokromosoma dolazi do gubitka jednog kraka kromosoma uz duplikaciju drugog kraka. Objašnjenje za nastanak takvih kromosoma jest podjela centromere poprijeko, umjesto uzdužno. Najčešće se izokromosom nalazi na X kromosomu. Ovaj kromosom ima dva kraka, a takva preraspodjela uzrok je 15% slučajeva Turnerova sindroma (1).

Prstenasti kromosom se stvara kad dođe do loma koji se zbiva na dva kraka kromosoma. U ovom slučaju ostaju "ljepljivi" krajevi koji naposljetku tvore prsten (2).

Poremećaji strukture kromosoma koji uključuju dva ili više kromosoma su: translokacije i recipročne translokacije (5).

Translokaciju definiramo kao prijenos genskog materijala s jednog na drugi kromosom. Recipročna translokacija podrazumijeva lom najmanje dvaju kromosoma koji potom zamijene svoje odlomljene dijelove. Posebna vrsta recipročne translokacije je Robertsonova translokacija koja nastaje kad se dogodi lom dvaju akrocentričnih kromosoma (kromosomi 13, 14, 15, 21 i 22) u centromeri ili u blizini centromere. Pritom dolazi do spajanja njihovih duljih krakova. Robertsonova translokacija je poznata pod nazivom "centrično spajanje". Lomovima se gube kratki krakovi svakog kromosoma, ali to nije od kliničke važnosti jer izgubljene kromosomske regije ne sadrže strukturno važne gene. Robertsonovom translokacijom ukupan broj kromosoma smanjuje se na 45. Pojava Robertsonove translokacije u populaciji je 1:1000 slučajeva, a najčešće dolazi do spajanja dugih krakova trinaestog i četrnaestog kromosoma. Najvažnija značajka Robertsonove translokacije je što može prouzročiti rođenje djeteta s Downovim sindromom jer će biti naslijeđena dva normalna 21. kromosoma te dodatni dio kromosoma koji sadržava 21. kromosom (2).

1.2. INDIKACIJE ZA INVAZIVNU PRENATALNU DIJAGNOSTIKU KROMOSOMOPATIJA

Invazivna prenatalna dijagnostika tradicionalno se provodi kod pacijentica u kojih je veći rizik za postojanje određene kromosomopatije fetusa nego rizik od spontanog pobačaja uslijed primjene invazivnih dijagnostičkih metoda (6).

Hrvatsko društvo za perinatalnu medicinu 2010. godine objavilo je smjernice s indikacijama za invazivnu antenatalnu dijagnostiku kromosomopatija ploda, što uključuje: dob majke (≥ 36 godina) u vrijeme oplodnje, visok rizik prema testu probira prvog ili drugog tromjesečja ($< 1:250$), postojanje ultrazvučnih biljega kromosomopatija ploda te pozitivna obiteljska ili osobna anamneza. Trudnica s partnerom donosi konačnu odluku o provođenju predloženog zahvata, nakon što je od strane ginekologa ili kliničkog genetičara informirana o koristi, smislu i mogućim komplikacijama invazivne dijagnostike. Ukoliko trudnica ne bi bila spremna podnijeti zahtjev za prekid trudnoće iz medicinskih razloga, provedba invazivnih dijagnostičkih postupaka ne bi imala smisla. Ključni cilj svake profesionalne osobe je u svakom trenutku poštovati želje trudnice i tome podrediti cijeli dijagnostički postupak. Kod ovako kompleksnih problema predlaže se i uključenje psihologa u tim (1).

1.2.1. Metode probira u antenatalnoj dijagnostici kromosomopatija

Probir (engl. *screening*) u medicini predstavlja postupak koji se provodi u određenoj neselektivnoj populaciji. Svrha probira je detekcija pojedinaca s povišenim rizikom za razvoj određenog poremećaja kako bi se potom uputili na daljnje dijagnostičke postupke. Cilj dijagnostičkih postupaka je dobivanje konačne dijagnoze ili opovrgnuća iste. Da bi određena bolest bila primjerena za provođenje probira, postoje preduvjeti koji moraju biti ispunjeni. Treba biti detektabilna u pretkliničkom stadiju i treba postojati mogućnost liječenja. Preduvjet za provođenje probira je i da ostavlja posljedice ako se na vrijeme ne provede liječenje. Bitno je da test probira ima visoku specifičnost i osjetljivost za traženi

poremećaj. Ne smije štetiti pacijentu, treba imati prihvatljivu cijenu i biti jednostavno provediv (7). Rezultat probira nije konačan rezultat niti dijagnoza, već izračun rizika za obolijevanje od određene bolesti. Nužno je poznavati tijek određenih bolesti iz razloga što se probir treba provesti u vremenski ispravno definiranoj fazi bolesti. Tijekom odabira vrste probirnog testa nužno je donijeti procjenu valjanosti testa na osnovu postotka detekcije stvarno bolesnih u krugu ispitanika (osjetljivost) i postotka lažno pozitivnih rezultata (8).

Kada je riječ o antenatalnom probiru kromosomopatija ploda, prvotno se misli na probirne metode koje se oslanjaju na anamnestičke, biokemijske i ultrazvučne čimbenike. Ove vrste probira su ponuđene svim trudnicama u Republici Hrvatskoj. Probirne metode koje kao biološki uzorak koriste slobodnu frakciju DNK iz periferne krvi trudnice, objedinjuje akronim NIPT (neinvazivni probirni test). Antenatalni probir nam omogućava rano liječenje, kao i terminaciju trudnoće ukoliko je u pitanju poremećaj nespojiv sa životom. Bitan je element provođenja probira i vrijeme koje je potrebno za dobivanje rezultata probira zbog promjene referentnih vrijednosti biomarkera u trudnoći, ali i etičkih pitanja koja su vezana za potencijalni prekid trudnoće (7).

Prvi antenatalni probiri anomalija pojavili su se 70-ih i 80-ih godina prošlog stoljeća. Tada je po prvi put uočena povezanost razine biokemijskih biljega u majčinom serumu s malformacijama fetusa. U istom razdoblju se počela razvijati fetalna ultrasonografija koja pruža uvid u određene anatomske nepravilnosti. U trenutnoj kliničkoj praksi, najzastupljeniji probirni test je kombinirani probir. U njemu su uključeni ultrazvučni čimbenik debljanja nuhalne prozirnosti fetusa i biokemijski parametri u serumu majke: humani korionski gonadotropin (hCG) i PAPP-A (engl. *Pregnancy associated plasma protein A*). Trostruki i četverostruki biokemijski probir provodi se u drugom i trećem tromjesečju. Trostruki probir koristi razine hCG-a, alfa-fetoproteina i nekonjugiranog estriola, dok četverostruki uz sve navedeno koristi i inhibin-A (7).

1.2.2. Životna dob

Što je životna dob majke veća, rizik od kromosomopatija ploda raste. Poodmakla dob majke povećava rizik od rađanja djeteta s nekom od autosomnih aneuploidija, dok za aneuploidije spolnih kromosoma i triploidije rizik nije povećan (9). Poznata je poveznica između dobi majke i rizika za Downov sindrom, kao i drugih sindroma uzrokovanih trisomijama autosoma. U brojnim se centrima savjetuje provedba amniocenteza ili biopsija korionskih resica pacijenticama u dobi od 37 i više godina. U dobi od 35 godina i više razmatra se mogućnost invazivne dijagnostike u razgovoru sa ženama (2). Trudnicama mlađim od 20 godina rizik za rođenje djeteta s trisomijom 21 je manji od 1:1667. U dobi od 35 godina rizik iznosi 1:385. Trudnicama starosne dobi od 40 godina rizik iznosi 1:106, dok u 45. godini života rizik iznosi 1:20 (1).

Prije no što je došlo do uvođenja ultrazvučnih i biokemijskih pretraga u rutinsko prenatalno traganje za kromosomopatijama, jedina dostupna metoda probira se temeljila na životnoj dobi i anamnezi trudnice. Svim trudnicama koje su bile starije od 36 godina nudila se jedna od invazivnih metoda prenatalne dijagnostike. Tom vrstom probira bilo je moguće dijagnosticirati tek 30% slučajeva Downova sindroma, a preostalih neprepoznatih 70% djece s Downovim sindromom rađale su majke mlađe životne dobi (1).

Napredovanjem trudnoće, rizik za rađanje djeteta s kromosomopatijom se smanjuje zbog velikog postotka fetalnih smrti. Čak ih je 30% prije dvanaestog tjedna trudnoće te još 20% nakon 16. tjedna trudnoće (10).

1.2.3. Obiteljska anamneza

Trudnice se upućuju na prenatalnu dijagnostiku zbog pojave kromosomopatije, najčešće Downova sindroma, u obiteljskoj anamnezi. U većini slučajeva pozitivna obiteljska anamneza kromosomopatija nema značajniji utjecaj na vjerojatnost rođenja djeteta s kromosomopatijom. To je zbog toga što je uzrok većine slučajeva trisomija 21 i drugih kromosomopatija nerazdvajanje kromosoma, a ne obiteljska translokacija ili neka druga

promjena. Svaki slučaj je potrebno individualno razmotriti i na taj način utvrditi vrstu kromosomske promjene u zahvaćenog pojedinca. Ukoliko to nije moguće, onda analizom kromosoma periferne krvi relevantnog roditelja. Za tri do četiri dana je moguće dobiti kariotip roditelja. Ako je nalaz uredan, nije potrebno provoditi invazivno dijagnosticiranje jer je u tom slučaju rizik jednak riziku koji važi za opću populaciju (2).

Važnost pozitivne obiteljske anamneze nerijetko je precijenjena. Iz tog razloga, u takvim situacijama je potrebno uputiti roditelje na genetičko savjetovanje (11).

1.2.4. Osobna anamneza

Iako su prisutne neke razlike u procjeni rizika ponavljanja kromosomopatije ploda za roditelje koji su već imali dijete s Downovim sindromom, rizik ponavljanja u sljedećoj trudnoći se uglavnom procjenjuje kao rizik koji je povezan s majčinom starošću plus 1%. Ukoliko je jedan roditelj nosilac balansirane Robinsonove translokacije ili pericentrične inverzije, rizik za ponavljanje iznosi 1-2% u prvom slučaju te 15-20% u drugom slučaju. Određivanje razine rizičnosti ovisi o vrsti aberacije kod roditelja i kromosomskim segmentima koji su uključeni u promjenu (2).

Opisani mogući razlozi ponavljanja Downovog sindroma kod potomstva istih roditelja su: čimbenici rizika za mejotičku grešku u roditelja, gonadalni mozaicizam fenotipski zdravih roditelja, podmakla dob trudnice, balansirane translokacije u obitelji te ponavljanje koje može biti posljedica slučajnosti (12).

1.2.5. Probir drugog tromjesečja trudnoće

1.2.5.1. Biokemijski testovi probira

Koncentracije alfa fetoproteina i beta humanog korionskog gonadotropina iz seruma trudnice u drugom tromjesečju trudnoće osnova je dvostrukog testa, a njime možemo

detektirati 71% kromosomopatija uz stopu od 5% lažno pozitivnih rezultata. Trostruki test osmišljen je s tri hormona, a uključuje dodatak konjugiranog estriola. Trostrukim testom se detektira 77% kromosomopatija. Četverostruki test još uključuje i određivanje vrijednosti inhibina A. Četverostrukim je testom moguće prepoznati 83% kromosomopatija. Uzorak za biokemijski probir drugog tromjesečja trudnoće može se uzeti s navršenih 15 do najkasnije 18. tjedna trudnoće. Granična vrijednost rizika je 1/250 pa svaki rizik koji je viši od granične vrijednosti predstavlja pozitivan nalaz. U slučaju pozitivnog nalaza trudnicama se savjetuje invazivna dijagnostika (13).

1.2.5.2. Ultrazvuk u probiru kromosomopatija u drugom tromjesečju

Probir kromosomopatija ultrazvukom sastavljen je od traženja većeg broja biljega koje ultrasoničari uklapaju u mozaik genetskog sonograma. Kako raste broj biljega u ploda, tako raste i vjerojatnost kromosomopatije (13).

Fenotipske karakteristike fetusa koje upućuju na trisomiju 21, a prepoznate su ultrazvukom su: ravni profil lica, anomalije srca, povećana nuhalna translucencija, kratka nadlaktična i bedrena kost, duodenalna atrezija sa znakom dvostrukog mjehura, hipoplastični članak malog prsta, hidronefroza, klinodaktilija petog prsta, hiperehogeni fokus u fetalnom srcu i mnoge druge (13).

U drugom tromjesečju trudnoće, ultrazvukom je moguće prepoznati 50 do 70% kromosomopatija (13).

1.2.6. Probir prvog tromjesečja trudnoće

Testovi probira prvog tromjesečja trudnoće u današnje vrijeme zlatni su standard prenatalnog traganja za kromosomskim aberacijama, što zbog visoke osjetljivosti, što zbog brzog dobivanja rezultata. Metode probira prvog tromjesečja su razvijene i uvedene u

kliničku praksu kasnije nego metode probira drugog tromjesečja. Od svih biokemijskih biljega, najvrjednijim su se pokazali slobodna beta podjedinica humanog korionskog gonadotropina (β -hCG) i plazmatski protein A (1).

1.2.6.1. Biokemijski testovi probira u prvom tromjesečju trudnoće

Biokemijski testovi probira koji se provode u prvom tromjesečju trudnoće zasnivaju se na biokemijskim biljezima plazmatskog proteina A vezanog uz trudnoću (PAPP-A) i beta humanog korionskog gonadotropina (β -hCG) (14).

hCG (humani korionski gonadotropin) je glikoprotein koji je prisutan u krvi i urinu jedino u trudnoći. Izlučuje ga sinciotrofoblast, a sastoji se od alfa i beta podjedinice. Njegova osnovna funkcija u ranoj trudnoći je podržavanje žutog tijela pri proizvodnji progesterona, sve do trenutka kad funkciju preuzme posteljica. hCG je posrednik u mnogim posteljničnim, majčiniim i fetalnim funkcijama. Koncentracija slobodnog β -hCG-a u serumu trudnice dostiže najvišu vrijednost do dvanaestog tjedna trudnoće, a potom slijedi naglo spuštanje na otprilike 10% maksimalne koncentracije te takva ostaje do poroda (15). Premda na kromosomu 21 hCG nije kodiran, izgleda da je ekspresija gena za alfa i beta podjedinice povezana s njim. Stanice trofoblasta s trisomijom 21 sadrže veću količinu mRNA specifičnih za alfa i beta lance hCG-a u usporedbi s euploidnim trudnoćama. Koncentracija specifičnih β -hCG-a je povišena u trudnoćama s Downovim sindromom. Izmijenjen razvoj posteljice u trudnoćama s Patauovim i Edwardsovim sindromom rezultira smanjenim vrijednostima β -hCG-a. Kod aneuploidija spolnih kromosoma je slučaj da koncentracija β -hCG-a ostaje nepromijenjena. Na osnovu slobodnog β -hCG i starosti trudnice, Downov sindrom ima stopu detekcije od 42%, uz 5% lažno pozitivnih nalaza (1).

PAPP-A je također glikoprotein, a proizvode ga sinciotrofoblasti i decidua tijekom trudnoće. Kako raste dob trudnoće, tako se povećava i koncentracija PAPP-A u serumu majke. Iznimka su sve trudnoće s aneuploidijama jer u tom slučaju koncentracija PAPP- ima sniženu vrijednost. Mjerenjem koncentracije PAPP-A, uzimanjem u obzir dob trudnice,

52% slučajeva Downovog sindroma moguće je detektirati, dok je 5% lažno pozitivnih nalaza. Najveću razinu pouzdanosti PAPP-A doseže u devetom, desetom i jedanaestom tjednu trudnoće. Razlog tome je što je u tom razdoblju najveća razlika u koncentraciji PAPP-A između euploidnih i trisomičnih trudnoća (1).

Uz β -hCG i PAPP-A, postoje i drugi serumski biljezi kromosomskih aberacija primjenjivi su u prvom tromjesečju trudnoće, kao što su disintegrin i metaloproteinaza 12. To je biomarker koji je sintetiziran u posteljici, a njegova koncentracija pada kod češćih aneuploidija. Također su istraženi: alfa fetoprotein (AFP), placentarni čimbenik rasta, placentarni hormon rasta (PGH), ukupni hCG i razni drugi, no pokazalo se da upotreba navedenih biljega ne povećava stopu detekcije kromosomopatija (1).

1.2.6.2. Ultrazvuk u probiru kromosomopatija u prvom tromjesečju

Rutinski ultrazvučni pregled je uhodani dio prenatalne skrbi, ukoliko to dozvoljavaju sredstva i pristupačnost. Ultrazvučni pregled se rutinski sve više upotrebljava u prvom tromjesečju trudnoće. Stalni tehnološki napredak je omogućio da se razlučivost ultrazvučne slike razvije do razine na kojoj se može detaljno procijeniti i pratiti rani razvoj fetusa. Glavni cilj ultrazvučnog skeniranja fetusa je pružiti točne informacije koje će olakšati pružanje optimalne prenatalne skrbi s najboljim mogućim ishodom za majku i fetus. U ranoj trudnoći važno je potvrditi vitalnost, gestacijsku dob, utvrditi broj fetusa te u slučaju višeploidne trudnoće, korionicitet i amnionicitet. Gestacijska dob utvrđuje se mjerenjem udaljenosti između tjemena i trtice (16).

Preporučeno vrijeme pregleda je između jedanaestog i četrnaestog tjedna trudnoće, kada je moguće otkriti veće anomalije poput gastroshize, meningomijelocela, anencefalusa, veće anomalije ekstremiteta, omphalocela i slično. Neki od ultrazvučnih biljega kromosomopatija prvog tromjesečja su nerazvijena nosna kost, zadebljana nuhalna prozirnost, hiperehogeno crijevo, abnormalan protok venoznim duktusom i povećan fronto-

maksilarni kut. Od najvećeg značaja je nuhalna prozirnost. Ostali biljezi se koriste kao pomoćni, ili su tek od akademskog značaja (1).

1.2.6.2.1. Nuhalna prozirnost

Nuhalna prozirnost normalan je sloj tekućine koji se nalazi pod kožom nuhalne regije te se širi različitim opsegom prema glavi i vratu ploda. Ultrazvukom se mjeri, u većini slučajeva transabdominalnom sondom, u sagitalnom presjeku dok je plod u fleksiji i neutralnom položaju (16). 1990.-ih godina je dokazana povezanost zadebljane nuhalne prozirnosti u prvom tromjesečju trudnoće s povišenim rizikom od rađanja djece s Downovim sindromom. Zadebljana nuhalna prozirnost pomaže prilikom detekcije svih autosomnih trisomija, a s urednim nalazom kariograma, učestalije se susreće uz neke genopatije i srčane mane. Nuhalna prozirnost u većini slučajeva nastaje u drugom tromjesečju trudnoće, no u slučaju zadebljane nuhalne prozirnosti tijekom prvog tromjesečja ne umanjuje se rizik od kromosomopatija ploda prilikom nestanka. Čimbenici kao što su rasa, paritet, pušenje, dijabetes, primjena metoda potpomognute reprodukcije, krvarenje tijekom trudnoće i spol ploda nemaju utjecaj na vrijednost nuhalne prozirnosti. Mehanizam nastanka nije u potpunosti poznat, ali postoji nekoliko pretpostavki. Mogući uzroci su: abnormalnosti vezivnog tkiva, kardiovaskularnog sustava i limfatičnog sustava, porast intratorakalnog tlaka, fetalna hipoproteinemija, fetalna anemija te infekcije. S obzirom da je nuhalna prozirnost najmoćniji biljeg u probiru kromosomskih aberacija, nerijetko je uključen u probirne testove prvog tromjesečja trudnoće. Kada uzmemo u obzir starost trudnice i debljinu nuhalne prozirnosti, Downov sindrom se detektira u 7% slučajeva, uz 5% lažno pozitivnih rezultata. Normalne vrijednosti nuhalne prozirnosti rastu s dobi trudnice pa je nužno poznavati taj čimbenik. U trenutku mjerenja udaljenosti tjeme-trtica ploda minimalno bi trebala iznositi 45 milimetara, a maksimalno 84 milimetra. Mogućnost postojanja kromosomopatija povezana je s debljinom nuhalnog prostora, ali ne i s njezinim postojanjem. Nuhalna prozirnost ima ključnu ulogu u otkrivanju kromosomopatija kod višeplođnih trudnoća jer je moguće izmjeriti kod svakog ploda posebno (1).

1.2.6.2.2. Nosna kost

Studije antropometrije opisale su kratki korijen nosa kod 50% pacijenata s Downovim sindromom. Od jedanaestog do četrnaestog tjedna trudnoće ultrazvukom nije vidljiva nosna kost kod 60 do 70% plodova s trisomijom 21 te kod 2% plodova urednog kariograma (9). Nije moguće vizualizirati nosnu kost u 55% plodova s trisomijom 18, u 34% plodova s trisomijom 13 te kod 11% plodova s Turnerovim sindromom. Primarni zadatak ultrazvučnog pregleda nosne kosti u prvom tromjesečju je određivanje njezine prisutnosti ili odsutnosti. Također je potrebno uzeti u obzir rasu trudnice s obzirom da je češća odsutnost nosne kosti u ljudi crne rase i Azijata nego kod ljudi bijele rase (1).

1.2.6.2.3. Venozni duktus (lat. ductus venosus)

Pupčana vena prenosi oksigeniranu krv iz posteljice u plod. Više od dvije trećine krvi ulazi u fetalnu jetru, dok ostatak krvi skreće u donju šuplju venu kroz venozni duktus (lat. *ductus venosus*) i nastavlja u desnu pretkljetku ploda. Obojenim doplerom moguće je prikazati protok kroz venozni duktus (1). Najbolje je vidljiv u poprečnom presjeku abdomena fetusa, u razini želuca. Širina venoznog duktusa je 0,5 - 2 milimetra (13). Protok ima krivulju s tri faze. Prva je odraz sistole desne klijetke, druga slijedi njenu dijastolu, a treću određuje kontrakcija desne pretkljetke (SDA val). „S“ i „D“ u fiziološkim uvjetima imaju jednaku visinu. Snižavanje visine „D“ vala u odnosu na „S“ val, izostanak protoka u vrijeme „A“ vala ili njegov inverzni tijek bilježi su značajnog odstupanja od normale što može biti znak prevelikog opterećenja desne strane srca. Abnormalnosti protoka kroz venozni duktus pronalazi se u 80% plodova s Downovim sindromom, ali i u 5% kromosomski normalnih plodova. Abnormalan protok kroz venozni duktus povezuje se s trisomijama 13, 18 i s Turnerovim sindromom. Osim s kromosopatijama, abnormalni protok kroz venozni duktus povezuje se i s izoliranim fetalnim srčanim greškama (17).

1.2.6.3. Kombinirani ultrazvučno biokemijski probir

Kombinirani probir u prvom tromjesečju za fetalne kromosomopatije do danas je zlatni standard probira na kromosomopatije ploda. Probir se temelji na kombinaciji rizika povezanog s dobi majke, ultrazvuka (nuhalna prozirnost) i dva biokemijska markera u serumu majke, slobodnog beta humanog korionskog gonadotropina (β -hCG) i proteina A plazme povezanog s trudnoćom (PAPP-A) (18). Kao dodatni čimbenici koriste se: majčina dob, anamnestički podaci, osnovne bolesti majke (IDDM), korištenje lijekova (prije svega hormona) u trudnoći i vaginalno krvarenje. Kombiniranjem ultrazvučnog i biokemijskog probira mogućnost otkrivanja kromosomopatija raste do 85% uz 5% lažno pozitivnih rezultata. Ova stopa otkrivanja premašuje učinkovitost metoda probira drugog tromjesečja koje su trenutno dostupne (13).

1.3. METODE INVAZIVNE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

1.3.1. Rana amniocenteza

ACZ (amniocenteza) je invazivni zahvat prenatalne dijagnostike kojim se amnijska tekućina aspirira transabdominalnom punkcijom. Provođenje ovog zahvata moguće je od trenutka kad je maternica opipljiva preko trbušne stijenke (22). Obzirom na dob trudnoće amniocenteza se kao zahvat dijeli na: vrlo rane amniocenteze (prvo tromjesečje), rane amniocenteze (drugo tromjesečje) i kasne amniocenteze (treće tromjesečje) koje se provode zbog provjere fetalne zrelosti (13).

RACZ (rana amniocenteza) primarno se provodi u svrhu kariotipizacije ploda. Najčešće indikacije za provođenje rane amniocenteze su: rezultat kombiniranog testa ili NIPT-a, ultrazvučni nalaz s anomalijama ploda, biokemijski testovi drugog tromjesečja. Obzirom da su probirni testovi prilično pouzdani, RACZ isključivo zbog starije dobi ili anamnestičkih razloga danas se provodi iznimno rijetko (23).

Zahvat amniocenteze provodi se između 15. i 19. tjedna trudnoće, a izvodi se uz nadzor ultrazvukom. Provođenje zahvata moguće je do 22. tjedna trudnoće. U ovom razdoblju najveća je stopa uspješnih kultura jer postoji odgovarajuća količina plodove vode (oko 150 mililitara). Također je jednostavnije izvođenje zbog veličine uterusa. Pri odabiru mjesta punkcije u obzir se uzima lokalizacija placente, smještaj ploda i veličina džepa plodove vode. Prije izvođenja zahvata isprazni se mokraćni mjehur, antiseptikom se očisti trbuh, na ultrazvučnu sondu stavi se gel i potom stavi u sterilnu vrećicu. Nakon navedenog procesa igla se uvodi u maternicu tehnikom slobodnih ruku ili pod kontrolom vodilice. Punkcija se uglavnom provodi u predjelu fundusa maternice ili lateralno prema bridovima. Vrh igle usmjerava se prema praznom amnijskom džepu. Moguće je izbjeći kontaminaciju majčinim stanicama ukoliko se prvi mililitri plodove vode uzmu posebnom špricom. Po završetku zahvata kontrolira se srčana akcija. Najčešću prepreku predstavlja prednje sjelo posteljice te pretilost. Ukoliko dođe do neuspjelog uzimanja uzorka opet se provjerava položaj fetusa i

placente pomoću ultrazvučnog pregleda, a potom se ponavlja zahvat na nekom drugom mjestu. (13).

Stanice fetusa dobijene iz uzorka plodove vode izdvajaju se i umnažaju kulturama stanica, a zatim analiziraju pomoću mikroskopa. Postupak traje tri tjedna s obzirom da je broj stanica fetusa nizak pa je potrebno duže vremensko razdoblje za umnažanje istih. U manje od 1% slučajeva kultura stanica ne uspije, najčešće baš kod kromosopatija. Tada postupak uzorkovanja treba ponoviti (13).

Amniocentezom se dobivaju interfazne stanice koje se koriste u analiziranju kromosoma ploda. Ukoliko se želi brzi rezultat, analiza se radi metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije (FISH). Upotrebljavaju se kromosom-specifični reagensi. Fluorescentnom bojom se selektivno boji određeni dio kromosoma ili cijeli kromosom. Nalaz je gotov za jedan do dva dana. Za konačnu dijagnozu cijelog kariograma je potrebna kultura stanica i analiza pruganjem, jer FISH metoda nudi podatke samo o kromosomu ili njegovom dijelu (24).

1.3.2. Kordocenteza

Kordocenteza ili perkutano uzimanje uzoraka krvi iz pupkovine je prenatalni dijagnostički postupak kojim se izravno pristupa vaskulaturi pupkovine, čime se fetalna krv može analizirati antenatalno (25). Zahvat se izvodi transabdominalnim putem, a tehnike izvođenja su tzv. tehnika slobodne ruke i tehnika navođenja igle. Kordocenteza izvodi se najranije između 18. i 20. tjedna trudnoće. Uzorak krvi ploda najčešće se uzima uz inserciju pupkovine uz placentu. Kako bi izbjegli kretnje fetusa i dislokaciju igle prilikom zahvata fetus se u nekim slučajevima može umiriti pomoću neuromuskularnih blokatora (13).

Postoje razne indikacije za provođenje kordocenteze, kao što su: brza kariotipizacija u slučaju abnormalnog ultrazvučnog nalaza, sporiji rast fetusa, provjera mozaicizma nakon biopsije kroionskih resica i amniocenteze, genske bolesti, Rh imunizacija, prirodene

infekcije, neiumuni fetalni hidrops, koagulopatije i hemoglobinopatije. Potrebno vrijeme za dobivanje rezultata je 48 do 72 sata (13).

Komplikacije se javljaju kod 0,6-2,8% slučajeva, a najčešće su krvarenje iz mjesta punkcije i bradikardija (13).

1.3.3. Biopsija korionskih resica

Biopsija korionskih resica odnosno rana placentocenteza postupak je prilikom kojeg se uz ultrazvučno navođenje, transcervikalnim ili transabdominalnim putem, uzima uzorak korionskih resica. Navedeni pristupi imaju jednaku učinkovitost, no preferira se transabdominalni put iz razloga što je učenje tehnike zahvata brže, a broj komplikacija i mogućih infekcija manji. Ovim postupkom omogućena je veoma rana kariotipizacija, između devetog i dvanaestog tjedna trudnoće, dok analiza traje tek nekoliko dana. Na ovaj način je eventualno prekidanje trudnoće omogućeno već u prvom tromjesečju trudnoće (13).

Indikacije za biopsiju korionskih resica, osim kariotipizacije, su DNA i enzimske analize. Kod 40% trudnica po završetku zahvata dođe do krvarenja koje se češće pojavljuje nakon zahvata transcervikalnim putem. Veoma rijetko se pojavljuju lokalni peritonitis i intrauterina infekcija. Rizik od spontanog pobačaja jednak je riziku nakon izvođenja rane amniocenteze (13).

1.3.4. Placentocenteza

Placentocenteza, drugim imenom biopsija posteljice ili kasna biopsija korionskih resica metoda je antenatalne dijagnostike pomoću koje dobivamo tkivo posteljice nakon dvanaestog do 40. Tjedna trudnoće. Cilj je kariotipizacija fetusa te enzimske i druge analize. Kod 99,5% slučajeva kultura posteljičnog tkiva bude uspješna, a nalaz se dobije nakon tri do sedam dana, ovisno o tehnikama kultiviranja. Komplikacije koje se mogu pojaviti su

povišena temperatura kod 0,3% te placentarni hematomi kod 0,4% trudnica. Rizik nakon zahvata za spontani pobačaj iznosi 0,3 do 3,2%. Placentocenteza se izvodi tek u nekoliko ustanova u svijetu. Ovaj zahvat je metoda izbora za rizične trudnoće kod kojih postoji oligohidramnija. Mozaicizam predstavlja problem, a nalazi se kod 2% kariotipova, stoga se tada kao kontrolna pretraga radi kordocenteza (13).

1.3.5. Tehnika otkrivanja fetalnih stanica u majčinoj cirkulaciji

U posljednje vrijeme intenzivno se istražuje mogućnost neinvazivne antenatalne dijagnostike kromosopatija analiziranjem slobodnih fetalnih stanica u krvi majke. Za vrijeme trudnoće u krvotok majke prelaze fetalne stanice, no njihova koncentracija je niska (jedna stanica/ml majčine krvi) što ograničava upotrebu u svrhe dijagnostike. Znanstveno je dokazano da je zbog narušene placentarne barijere broj fetalnih stanica u majčinoj krvi znatno veći kod trudnoća s kromosopatijama, posebice s trisomijom 21 (1).

Iz krvi majke je moguće izolirati eritroblaste, stanice trofoblasta i leukocite. Od najveće važnosti su eritroblasti s obzirom da se stvaraju samo u plodu, a također ne postoji vjerojatnost da potječu iz prethodnih trudnoća jer imaju kratak poluživot. Za razliku od eritroblasta, leukociti imaju sposobnost opstanka godinama, pa postoji mogućnost da potječu iz prethodnih trudnoća, što je nedostatak njihove upotrebe (1).

Najkorištenije metode odvajanja fetalnih stanica iz krvi majke jesu fluorescentno i magnetsko aktivirano razvrstavanje (FACS i MACS). Ono što ograničava širu upotrebu ove metode su složenost, cijena, realna mogućnost kontaminacije uzorka majčinim stanicama te velika stopa neuspjelih obrada uzoraka (1).

1.4. NEINVAZIVNO PRENATALNO TESTIRANJE (NIPT) ANALIZOM SLOBODNE FETALNE DNA U KRVI TRUDNICE

Neinvazivno prenatalno testiranje (NIPT) za aneuploidije analizom slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi unaprjeđuje prenatalni probir i dijagnostiku. Ekonomska cijena ovakve metodologije je visoka, a analize dugotrajne, no napretkom tehnologije i provođenjem velikih kliničkih studija postignut je razvoj NIPT-a (19).

Prvi klinički neinvazivni prenatalni test bio je dostupan u listopadu 2011. godine te se do danas proširio po cijelom svijetu (20). Postoje tri varijante NIPT-a na tržištu. Prva varijanta je masivno paralelno sekvenciranje cijelog genoma. Razvijene metode molekularne dijagnostike za ovu svrhu su sekvenciranje i brojanje DNA fragmenata iz plazme koji se pridružuju kromosomu kojem pripadaju. Druga varijanta je ciljano sekvenciranje kromosoma pri kojem je manji broj očitavanja zbog čega je jeftiniji i brži, ali i pruža manju količinu informacija o genomu. Treća varijanta je sekvenciranje SNP lokusa na željenim kromosomima. Ova metoda ne zahtijeva referentnu vrijednost i omogućuje utvrđivanje triploidije (19).

Trenutna ograničenja NIPT-a su visok udio neuspjelih analiza (od 2,6% do 5,4%) i najčešća usmjerenost na trisomije. Dosadašnja iskustva pokazala su da stopa detekcije Downova sindroma iznosi 99,5%, Edwardsova sindroma 99% te Patau sindroma 79 do 92% uz samo 1% lažno pozitivnih nalaza (21,19).

1.5. CITOGENETSKE METODE ANALIZE

Danas najčešće primjenjivanja metoda pruganja u kliničkoj dijagnostici je GTG-pruganje. Jedino u mitozu i djelomično u metafazi moguće je mikroskopski identificirati kromosome. U mnogim slučajevima klasična tehnika oprugavanja nedostatna je u identifikaciji svih kromosomskih abnormalnosti koje su prisutne u metafazi (26).

FISH (engl. *fluorescentna in situ hibridizacija*) je metoda pri kojoj se koriste neradioaktivne fluorescentne boje za obilježavanje slijeda baza u DNA-sondi. DNA-molekula, koja služi kao sonda, direktno se obilježava pomoću fluorescentnih boja, ili indirektno pomoću haptena koji su najčešće vezani za deoksiuraciltrifosfate koji se inkorporiraju u DNA-molekulu enzimatskim reakcijama (27). FISH ima visoku osjetljivost i specifičnost prilikom detekcije strukturnih i numeričkih promjena u genomu, identifikaciji nepoznatog kromosoma ili jednog dijela kromosoma koji nije moguće prepoznati morfološki. FISH omogućuje analiziranje stanica koje nisu podložne dijeljenju te je znatno proširena mogućnost dijagnosticiranja abnormalnosti kromosoma, detekcije gubitka ili dupliciranja pojedine regije kromosoma i identifikacije marker kromosoma (26).

Kromosomski mikročipovi spadaju u metode molekularne citogenetike nove generacije. Ove metode omogućuju nadilaženje ograničenja klasične citogenetske analize. Zasnovane su na hibridizaciji DNA uzorka i kontrolne DNA na pločicama, mikročipovima. S obzirom da su DNA uzorak i kontrolna DNA obilježeni različitim fluorescentnim bojama, prisutnost određenog segmenta DNA uzorka određuje se mjerenjem razlike intenziteta signala nakon hibridizacije. Najkorištenije metode su a-CGH i SNP-mikročip (4).

Nužno je naglasiti trudnicama da NIPT nije zamjena za invazivne dijagnostičke testove, kao i činjenicu da se ne analiziraju svi kromosomi NIPT analizom. Trudnicama treba naglasiti da uredan NIPT nalaz nije garancija da je trudnoća 100% uredna (19).

Ključne prednosti NIPT-a su neinvazivnost odnosno neškodljivost za majku i plod te mogućnost provođenja testa u bilo kojem stadiju trudnoće. Kako raste stupanj trudnoće tako raste i udio slobodne fetalne DNA u krvi majke (19).

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I HIPOTEZE

2.1. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja je cjelovita retrospektivna analiza podataka vezanih uz postupak i rezultate rane amniocenteze u cilju kariotipizacije ploda u KBC Split od uvođenja metode 2005. do konca 2022. godine.

2.2. HIPOTEZA

Promjene i razvoj prenatalnih testova probira, a time i indikacija za ranu amniocentezu, su smanjili učestalost RACZ i smanjili udio lažno pozitivnih nalaza testova probira odnosno povećali udio patoloških nalaza nakon invazivne pretrage.

3. ISPITANICI I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. ISPITANICI

Ispitanice su bile žene kojima je rađen zahvat rane amniocenteze u Klinici za ženske bolesti i porode splitskog KBC-a (Klinika) od uvođenja u rutinski rad 2005. godine do konca 2022. godine.

3.2. METODE ISTRAŽIVANJA

Presječno retrospektivno istraživanje provedeno je u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split. Podaci su prikupljeni popisnom metodom iz Protokola za ranu amniocentezu i ostale medicinske dokumentacije Klinike te upisani u računalnu bazu podataka uz pomoć programa Excel (Microsoft Office 2010). Analizirane su dobivene frekvencije promatranih varijabli u svakoj godini i u tri razdoblja: 1) od uvođenja RACZ do uvođenja kombiniranog testa u redoviti rad Klinike (2005.-2009.), 2) od uvođenja kombiniranog testa do pojave NIPT probirnih testova (2010.-2015.), 3) nakon pojave NIPT probirnih testova (2016.-2022.). Prvo razdoblje objedinjuje pet, drugi šest, a treći sedam godina. Promatrane vrijednosti su: broj i udio RACZ po pojedinim godinama odnosno tri ispitivana razdoblja, tjedni izvođenja zahvata, indikacije za RACZ, broj RACZ prema liječnicima koji su uključeni u prenatalnu invazivnu dijagnostiku, incidencija patoloških nalaza kariograma.

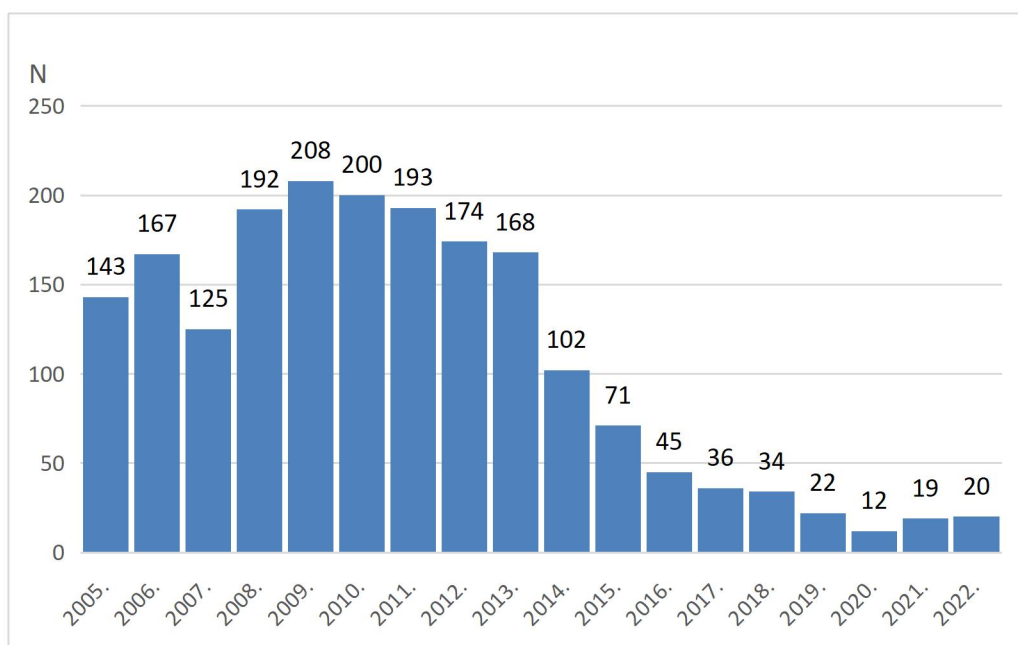
Istraživanje je odobreno od strane etičkog povjerenstva KBC-a Split (Ur. broj: 2181-147/01/06/LJ.Z.-23-02; Klasa: 500-03/23-01/143).

3.3. STATISTIČKI POSTUPCI

Analiza podataka je provedena uz pomoć računalnih programa Excel (Microsoft Office 2010) i Statistica 8.0 (StatSoft Inc.). Dobiveni rezultati su prikazani tablicama i grafički.

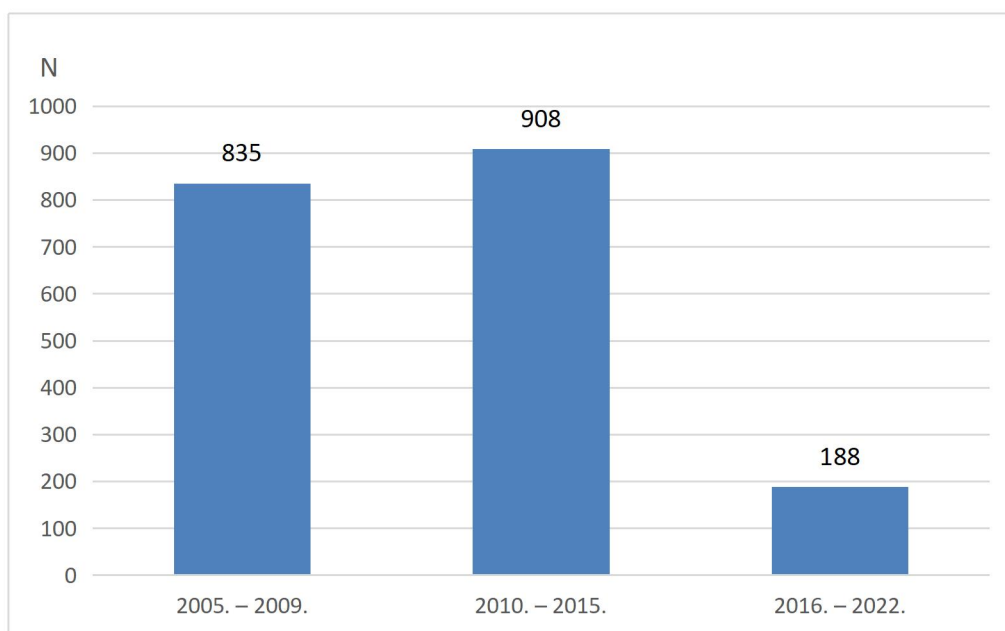
4. REZULTATI

U Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split je u promatranom vremenskom razdoblju od 2005. do 2022. godine bilo 79192 poroda. ACZ je napravljena u 1931 trudnice (2,44%). Broj zahvata u pojedinoj godini grafički je prikazan na Slici 1. Najveći broj RACZ, ukupno 208, napravljen je 2009. godine, a potom se broj izvršenih RACZ svake godine smanjivao. Najmanji broj izvršenih RACZ, ukupno 12, bio je 2020. godine.



Slika 1. Raspodjela broja ranih amniocenteza (RACZ) u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split prema godini izvođenja

Na Slici 2. grafički je prikazan broj RACZ u tri razdoblja: 2005.-2009., 2010.-2015., i 2016.-2022. godine. Broj izvršenih RACZ 2005.-2009. godine je 835, 2010.-2015. godine je broj izvršenih RACZ 908 i 2016.-2022. godine je broj izvršenih RACZ 188 što je 22,51% od ukupnog broja izvršenih RACZ u razdoblju 2005.-2009. godine i 20,70 % od ukupnog broja izvršenih RACZ u razdoblju 2010.-2015. godine. Udio RACZ u odnosu na broj porođaja u prvom razdoblju od 2005. do 2009. godine iznosi 3,78% (835/22054), od 2010. do 2015. je 3,31% (908/27405), a od 2016. do 2022. 0,63% (188/29733). Smanjenje učestalosti RACZ između prvog i drugog razdoblja (3,78% vs. 3,31%) je granične statističke značajnosti ($\chi^2 = 7,49$; $p=0,06$). Postoji statistički značajna razlika smanjenja učestalosti RACZ u usporedbi drugog i trećeg (3,31% vs. 0,63%, $\chi^2 = 523,8$; $p=0,000$) odnosno prvog i trećeg (3,78% vs. 0,63%, $\chi^2 = 622,5$; $p=0,000$) ispitivana razdoblja.



Slika 2. Raspodjela broja ranih amniocenteza (RACZ) u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split prema godini izvođenja u tri razdoblja: 2005.-2009., 2010.-2015. i 2016.-2022. godine

Tablica 1. Raspodjela broja ranih amniocenteza (RACZ) po tjednima izvođenja u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split u tri razdoblja

Tjedni trudnoće	Ispitivana razdoblja			
	2005. – 2009. N (%)	2010. – 2015. N (%)	2016. – 2022. N (%)	Ukupno
13.	1 (0.12)	1 (0.11)	0 (0.00)	2 (0.10)
14.	0 (0.00)	2 (0.23)	0 (0.00)	2 (0.10)
15.	2 (0.24)	1 (0.11)	2 (1.10)	5 (0.26)
16.	187 (22.40)	324 (35.70)	83 (44.60)	594 (30.82)
17.	409 (48.98)	456 (50.23)	76 (40.80)	941 (48.84)
18.	176 (21.07)	70 (7.80)	7 (3.73)	253 (13.13)
19.	44 (5.27)	19 (2.10)	4 (2.15)	67 (3.49)
20.	5 (0.60)	16 (1.80)	2 (1.10)	23 (1.19)
21.	3 (0.36)	3 (0.34)	1 (0.53)	7 (0.36)
22.	1 (0.12)	3 (0.34)	1 (0.53)	5 (0.26)
23.	0 (0.00)	1 (0.11)	2 (1.10)	3 (0.16)
24.	3 (0.36)	1 (0.11)	1 (0.53)	5 (0.26)
25.	2 (0.24)	0 (0.00)	1 (0.53)	3 (0.16)
26.	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.10)	2 (0.10)
27.	1 (0.12)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.05)
28.	1 (0.12)	2 (0.23)	0 (0.00)	3 (0.16)
29.	0 (0.00)	3 (0.34)	2 (1.10)	5 (0.26)
30.	0 (0.00)	2 (0.23)	0 (0.00)	2 (0.10)
32.	0 (0.00)	1 (0.11)	0 (0.00)	1 (0.05)
33.	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.10)	2 (0.10)
34.	0 (0.00)	1 (0.11)	0 (0.00)	1 (0.05)
Ukupno	835 (100)	906 (100)	186 (100)	1927 (100)

U Tablici 1. prikazan je broj izvršenih RACZ po tjednu trudnoće provedbe ukupno i u tri promatrana razdoblja. Najveći broj RACZ napravljen je kod trudnica u 17. tjednu trudnoće, (N=941; 48,84%). Dok je u prvom (48,98%) i drugom (50,23%) najveći broj zahvata napravljan u 17. tjednu, u trećem je razdoblju najveći broj RACZ napravljen u 16. tjednu (44,60%). Evidentno je da se tijekom vremena RACZ sve češće radi u ranijoj dobi trudnoće (16. i 17. tjedan) u usporedbi s početcima kada su dominirali zahvati u 17. i 18. tjednu.

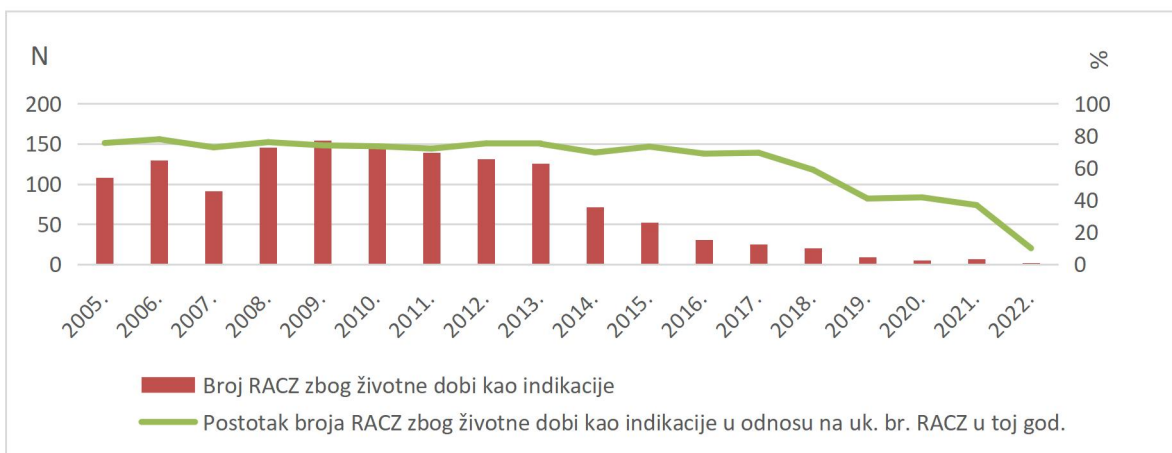
Tablica 2.. Raspodjela ranih amniocenteza (RACZ) u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split prema indikacijama u tri promatrana razdoblja

Indikacije	Razdoblja			
	2005. – 2009.	2010. – 2015.	2016. – 2022.	Ukupno
Ascites	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.53)	1 (0.05)
Cistični higrom	0 (0.00)	3 (0.33)	3 (1.60)	6 (0.31)
Dob partnera	1 (0.12)	1 (0.11)	0 (0.00)	2 (0.11)
Double test	3 (0.36)	3 (0.33)	1 (0.53)	7 (0.36)
Hidrops fetusa	0 (0.00)	3 (0.33)	2 (1.11)	5 (0.26)
Inzistiranje trudnice	1 (0.12)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.05)
Kariogram roditelja	1 (0.12)	3 (0.33)	0 (0.00)	4 (0.21)
Kombinirani test	1 (0.12)	68 (7.49)	31 (16.44)	100 (5.20)
Malformacije	23 (2.76)	38 (4.19)	13 (6.91)	74 (3.84)
NIPT	0 (0.00)	0 (0.00)	10 (5.32)	10 (0.53)
Nuhalna prozirnost	7 (0.84)	13 (1.43)	0 (0.00)	20 (1.04)
Obiteljska anamneza	70 (8.38)	45 (4.96)	15 (7.98)	130 (6.73)
Osobna anamneza	24 (2.87)	20 (2.20)	8 (4.26)	52 (2.70)
Ponovljeni zahvat na traženje genetičara	1 (0.12)	3 (0.33)	0 (0.00)	4 (0.21)
Status post reductionem gem II ppt TTTS	0 (0.00)	1 (0.11)	0 (0.00)	1 (0.05)
Triple test	74 (8.86)	41 (4.51)	4 (2.13)	119 (6.20)
UZV	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.53)	1 (0.05)
Životna dob	629 (75.33)	666 (73.35)	99 (52.66)	1394 (72.10)
Ukupno	835 (100)	908 (100)	188 (100)	1931 (100)

NIPT- neinvazivni probirni test temeljem slobodne DNK fetusa u serumu trudnice

U Tablici 2. prikazana je raspodjela RACZ prema indikacijama. Najčešća indikacija za izvršavanje zahvata RACZ je životna dob trudnice zbog koje su izvršene ukupno 1394 RACZ (72,10%). U prvom razdoblju (2005.-2009.) izvršeno je 835 RACZ zbog životne dobi majke, u drugom razdoblju (2010.-2015.) izvršeno je 908 RACZ i u trećem razdoblju (2016.-2022.) 188 RACZ. Postoji statistički značajna razlika smanjenja udjela RACZ zbog životne dobi kao primarne indikacije između prvog (75,33% vs. 52,66%, $\chi^2 = 156,17$; $p=0,000$) odnosno drugog (73,35% vs. 52,66%, $\chi^2 = 152,79$; $p=0,000$) u usporedbi s trećim ispitivanim razdobljem.

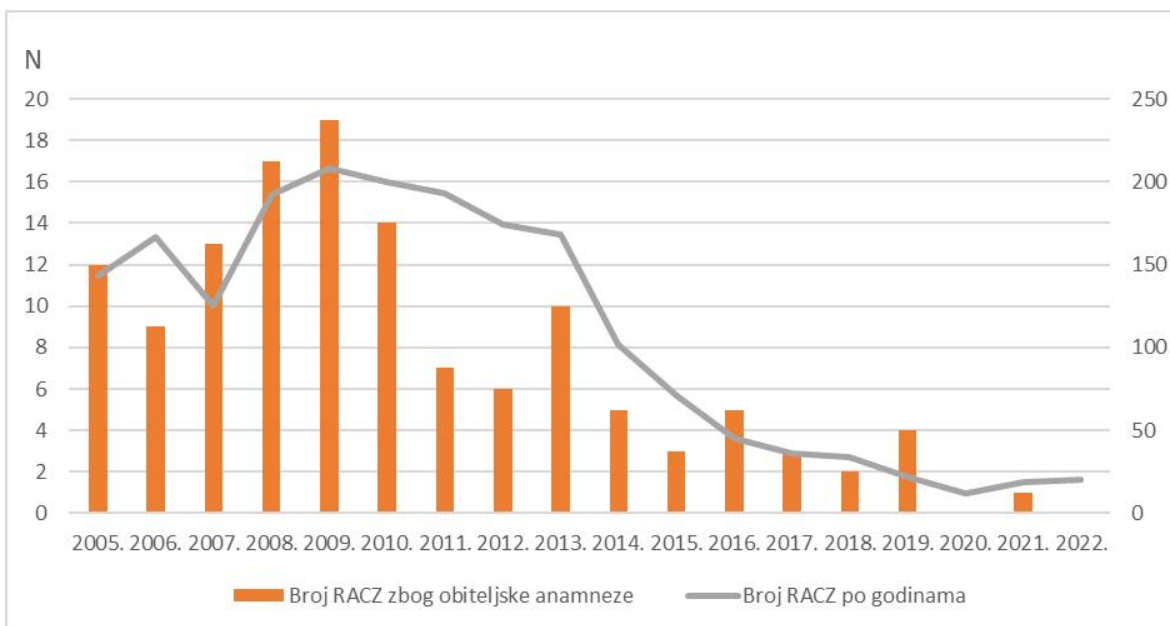
Na slici 3. Prikazan je broj izvršenih RACZ zbog životne dobi trudnice kao indikacije za postupak prema pojedinoj godini izvođenja. Najveći broj RACZ izvršenih zbog životne dobi trudnice bio je 2008. godine, ukupno 154. Od 2014. godine broj zahvata s ovom indikacijom značajno opada do najmanjeg broja od samo dvije RACZ 2022. godine.



Slika 3. Životna dob kao indikacija za ranu amniocentezu (RACZ) u usporedbi s ukupnim brojem zahvata po godinama izvođenja u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

Slika 4. prikazuje broj izvršenih RACZ zbog obiteljske anamneze kao indikacije za postupak. Najveći broj izvršenih RACZ zbog obiteljske anamneze bio je 2009.godine, 2009.

godine izvršeno je 19 RACZ, a 2008. godine 17. U posljednje tri godine samo je jedna RACZ napravljena zbog obiteljske anamneze.



Slika 4. Obiteljska anamneza kao indikacija za ranu amniocentezu (RACZ) po godinama izvođenja u odnosu na ukupan broj zahvata u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

Na Šlici 5. prikazan je broj RACZ koje su izvršene zbog osobne anamneze kao indikacije za provođenje postupka. Najviše zahvata zbog ove je indikacije napravljeno 2006. godine kada je zabilježeno sedam RACZ, jednako koliko od 2017. do 2022. godine ukupno.



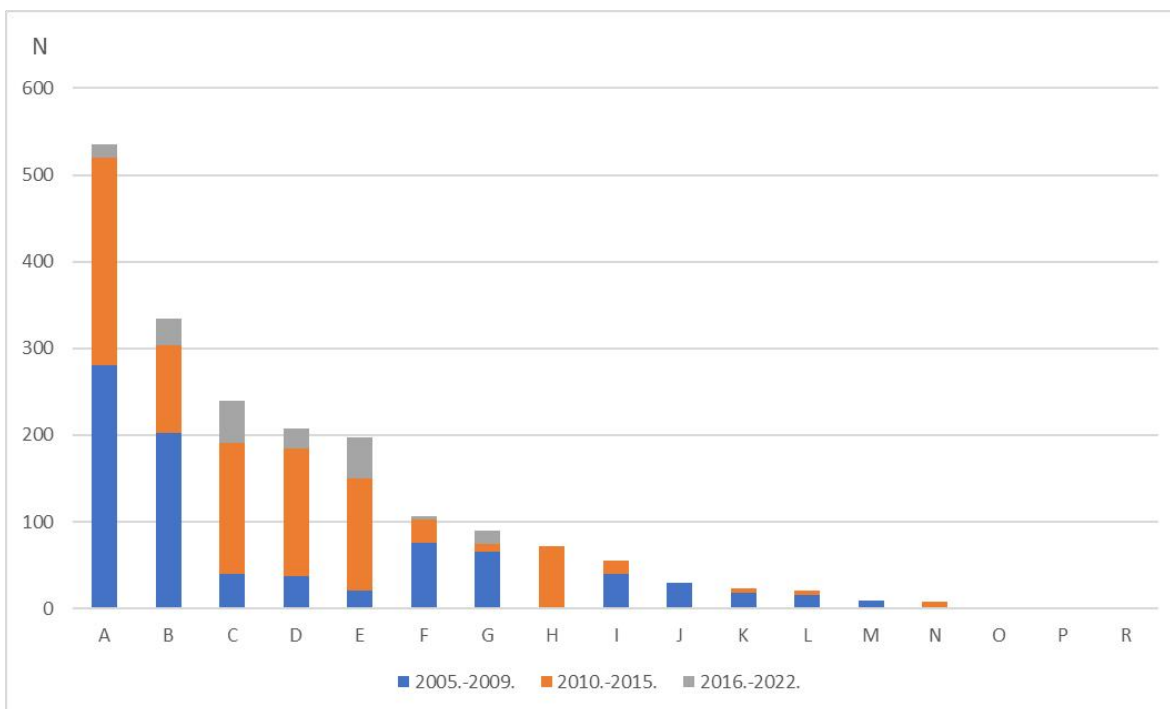
Slika 5. Osobna anamneza kao indikacija za ranu amniocentezu (RACZ) po godinama izvođenja u odnosu na ukupan broj zahvata u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

Tablica 3. Raspodjela broja ranih amniocenteza (RACZ) prema specijalistima Klinike za ženske bolesti i porode KBC Split uključenih u invazivnu prenatalnu dijagnostiku kromosomopatija

Liječnik	2005.-2009. N (%)	2010.-2015. N (%)	2016.-2022. N (%)	Ukupno po liječniku N (%)
A	280 (33.53)	240 (26.43)	15 (7.98)	535 (27.71)
B	203 (24.31)	101 (11.12)	30 (15.96)	334 (17.29)
C	40 (4.40)	151 (16.64)	48 (25.55)	239 (12.38)
D	37 (4.44)	147 (16.19)	24 (12.77)	208 (10.77)
E	21 (2.51)	129 (14.21)	47 (25.00)	197 (10.20)
F	76 (9.10)	26 (2.86)	4 (2.13)	106 (5.49)
G	66 (7.90)	8 (0.88)	16 (8.51)	90 (4.67)
I	0 (0.00)	72 (7.93)	0 (0.00)	72 (3.73)
J	40 (4.79)	15 (1.65)	0 (0.00)	55 (2.85)
K	29 (3.47)	0 (0.00)	0 (0.00)	29 (1.50)
L	18 (2.2)	5 (0.55)	0 (0.00)	23 (1.19)
LJ	16 (1,92)	5 (0.55)	0 (0.00)	21 (1.09)
M	9 (1.08)	0 (0.00)	0 (0.00)	9 (0.47)
N	0 (0.00)	8 (0.88)	0 (0.00)	8 (0.41)
O	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.06)	2 (0.10)
P	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (1.06)	2 (0.10)
R	0 (0.00)	1 (0.11)	0 (0.00)	1 (0.05)
Ukupno po razdoblju	835 (100)	908 (100)	188 (100)	1931(100)

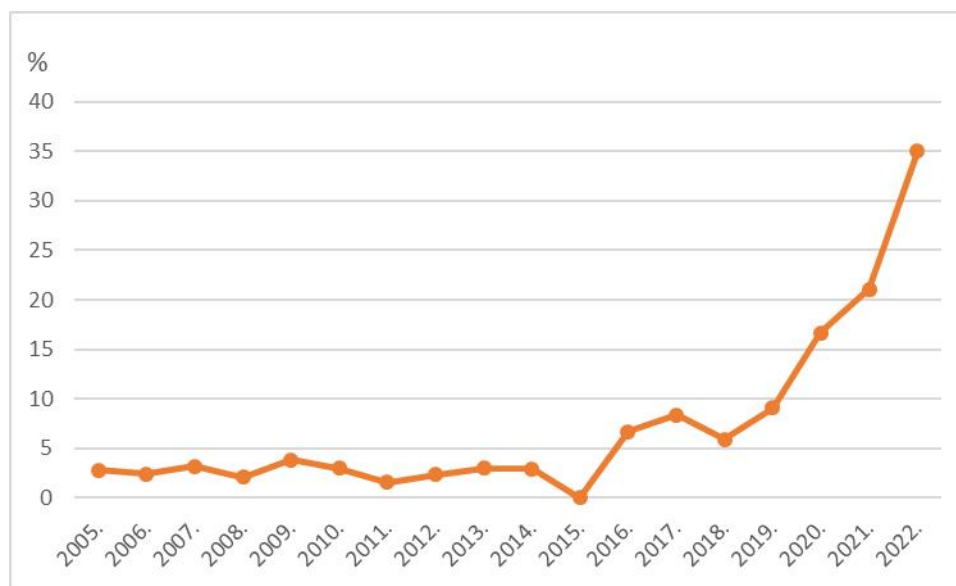
U tablici 3. prikazano je koliko je zahvata RACZ izveo svaki pojedini liječnik. Jedan je liječnik sam (u tablici označen slovom A) napravio više od četvrtine (535; 27,71%) svih zahvata, a prvih pet liječnika (u tablici označeni slovima: A, B, C, D, E) više od tri četvrtine (1513; 78,35%). Preostalih 12 liječnika izvršilo je 418 RACZ, što je 21,65% od ukupnog broja RACZ.

Na Slici 6. grafički je prikaz liječnika po broju zahvata u tri razdoblja (2005.-2009., 2010.-2015., 2016.-2022. godine).



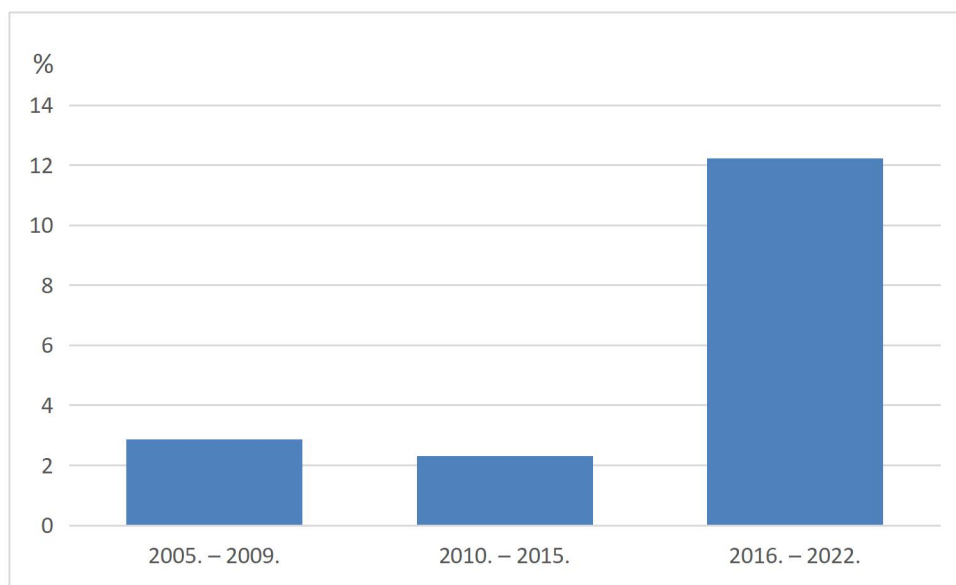
Slika 6. Raspodjela broja ranih amniocenteza (RACZ) prema specijalistima Klinike za ženske bolesti i porode KBC Split uključenih u invazivnu prenatalnu dijagnostiku kromosomopatija prema tri ispitivana razdoblja

Patološki nalaz kariograma ploda (indikacija za prekid trudnoće) u razdoblju od 2005. do 2022. godine dobiven je nakon 68 RACZ (3,52%). Na slici 7. prikazan je broj patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na ukupan broj izvršenih RACZ u pojedinoj godini. 2005.-2015. godine broj patoloških nalaza u odnosu na ukupan broj izvršenih RACZ bio je ispod 5%, a potom je postotak patoloških nalaza u odnosu na broj izvršenih RACZ rastao. 2022. godine broj patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na broj izvršenih RACZ iznosi 35% što čini veliku razliku u odnosu na prethodne godine.



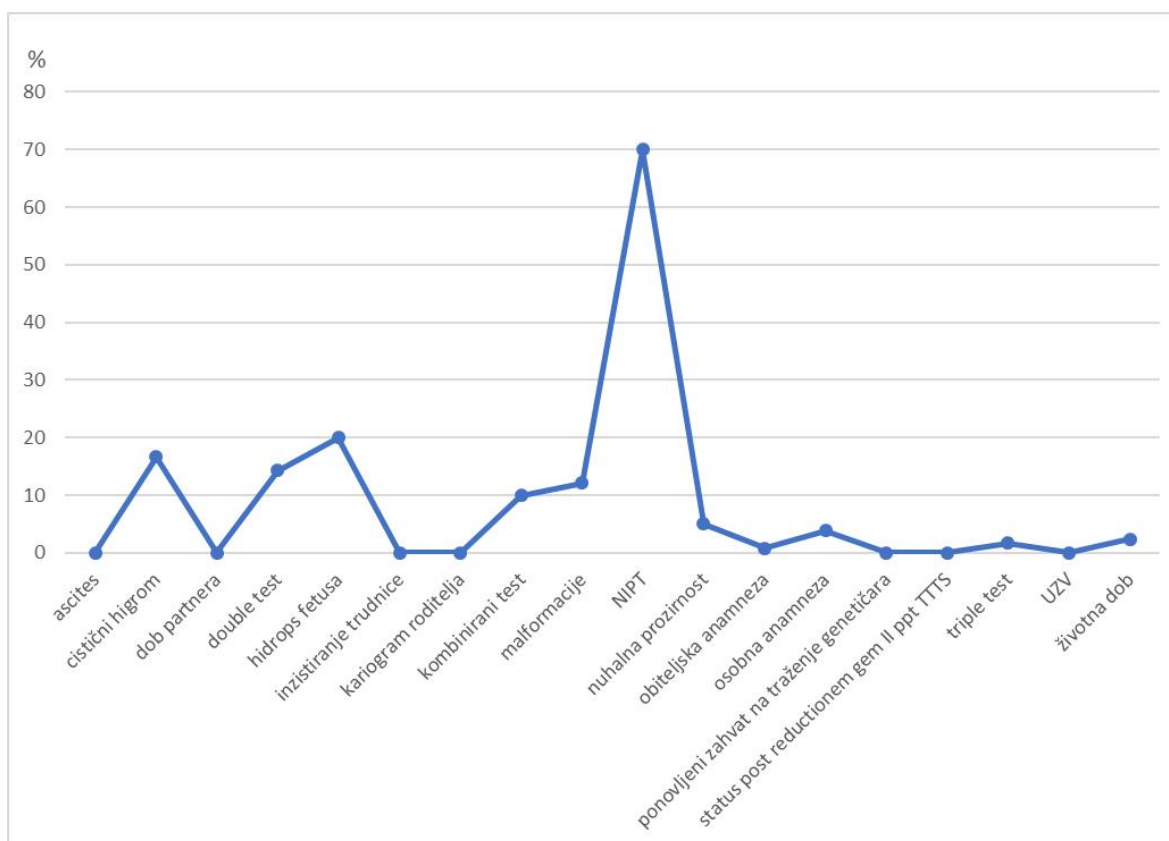
Slika 7. Udio patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na ukupan broj ranih amniocenteza (RACZ) po godinama izvođenja zahvata u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

Na slici 8. prikazan je udio patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na ukupan broj izvršenih RACZ u tri vremenska razdoblja (2005.-2009., 2010.-2015., 2016.-2022. godine). U razdoblju 2005.-2009. godine postotak patoloških nalaza kariograma u odnosu na ukupan broj izvršenih RACZ iznosi 2,87%, u razdoblju 2009.-2015. godine 2,31%, a od 2016.-2022. godine 12,23%. Postoji statistički značajna razlika povećanja učestalosti patološkog nalaza kariograma ploda nakon RACZ usporedbom prvog i trećeg ($\chi^2 = 30,63$; $p=0,000$) odnosno drugog i trećeg ($\chi^2=39,65$; $p=0,000$) razdoblja. Ne postoji statistički značajna razlika po tom čimbeniku između prvog i drugog ispitivanog razdoblja ($\chi^2=0,54$; $p=0,46$).



Slika 8. Udio patoloških nalaza kariograma ploda prema nalazu rane amniocenteze u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

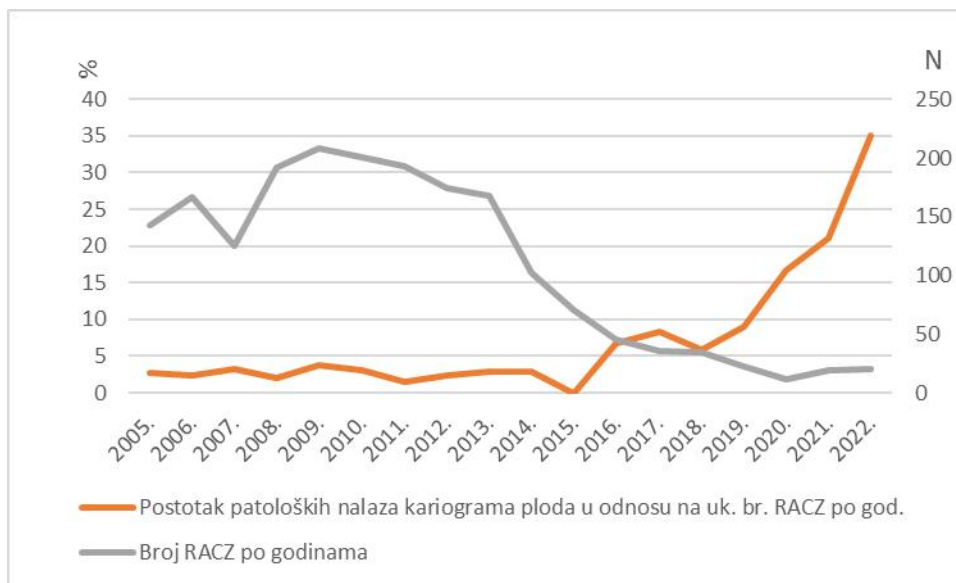
Na slici 9. prikazan je postotak patoloških nalaza kariograma ploda prema broju izvršenih RACZ zbog svake pojedine indikacije. Niti jedan patološki nalaz kariograma ploda nije dobiven ukoliko je indikacija bila: fetalni ascites, dob partnera, inzistiranje trudnice, kariogram roditelja, ponovljeni zahvat na traženje genetičara i isključivo ultrazvukom viđeni biljezi kromosopatija. Najveći udio od 70% patoloških nalaza kariograma ploda je zabilježen ukoliko je prethodio NIPT kao probirni test visokog rizika.



UZV- ultrazvuk, NIPT- neinvazivni probirni test temeljem slobodne DNK fetusa u serumu trudnice, TTTS- transfuzijski sindrom blizanaca

Slika 9. Postotak patoloških nalaza kariograma ploda prema indikacijama za ranu amniocentezu u Klinici za ženske bolesti i porode KBC Split

Na slici 10. prikazan je udio patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na ukupan broj RACZ po godinama. Iz ovog grafikona uočljiv je početak pada broja izvršenih RACZ u razdoblju upotrebe NIPT-a.



Slika 10. Postotak patoloških nalaza kariograma ploda u odnosu na ukupan broj ranih amniocenteza po godinama

5. RASPRAVA

Dijagnostika kromosomopatija ploda važan je dio prenatalne zaštite trudnica. Najčešće izvođena metoda antenatalne dijagnostike kromosomopatija ploda je amniocenteza, točnije RACZ s ciljem kariotipizacije ploda (28). RACZ kao metodu dijagnosticiranja kromosomopatija ploda dosadašnje su studije procijenile kao visoko sigurnu za trudnicu i fetus s učestalosti komplikacija u smislu krvarenja ili prsnuća vodenjaka odnosno gubitkom trudnoće manjom od 0,5% (29).

Prva prenatalna dijagnoza abnormalnog kariotipa je opisana 1967. godine. Četiri godine kasnije (1971.) odobrena je rutinska primjena amniocenteze u Hrvatskoj, a središte u kojem se zahvat RACZ obavljao bio je Zagreb. U travnju 2005. godine metoda RACZ uvedena je i u Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Split (13). Od 2005. do 2022. godine u Klinici je bilo 79192 porođaja. Postupak rane amniocenteze napravljen je u 1931 (2,44%) trudnice.

Broj zahvata u Klinici se značajno mijenjao tijekom ispitivanog razdoblja. Nakon blagog povećanja učestalosti izvođenja RACZ u drugoj godini (2006.) u odnosu na prvu godinu (2005.) kad je uvedena RACZ u rutinsku praksu KBC-a Split, 2007. godine broj izvršenih RACZ postaje manji, nakon čega raste. Ovaj fenomen se može objasniti činjenicom da se citogenetska analiza do konca siječnja 2007. godine radila u Citogenetskom laboratoriju Klinike za ginekologiju i porodništvo Opće bolnice „Sveti Duh“ u Zagrebu gdje su dogovorno liječnici iz Klinike tjedno slali do pet uzoraka plodove vodena na analizu. Potom su se uzorci s naših područja analizirali u Laboratoriju za citogenetiku KBC-a Rijeka i na Zavodu za genetiku i bolesti metabolizma KBC-a Zagreb. Od 10. srpnja 2007. godine Laboratorij za humanu genetiku KBC-a Split započeo je s redovnom analizom plodovih voda. Zbog veće dostupnosti biokemijskih testova probira drugog tromjesečja, trostrukih testova probira, bolje informiranosti trudnica i nepostojanja ograničenja broja uzoraka dolazi do povećanja izvedenih RACZ u narednom razdoblju. Rekordan broj od 208 RACZ u jednoj godini zabilježen je 2009. godine. Od 2010. do 2014. godine broj izvršenih RACZ postepeno pada, a od 2015. do 2022. godine se smanjuje do dvoznamenkaste vrijednosti. Do značajnog dodatnog pada broja izvršenih RACZ dolazi u razdoblju pojave NIPT-a. U Republici Hrvatskoj ne postoje registri NIPT testiranih trudnica, a metoda se još uvijek koristi isključivo u privatnim ustanovama pa se ne zna broj

provedenih testova po regijama niti godinama. Procjenjuje se da u kliničku praksu u našoj zemlji u širu primjenu ulazi nakon 2016. godine. Komparativna prednost NIPT-a pred ostalim metodama probira na kromosomopatije ploda je značajno veća osjetljivost (99%) uz samo 1% lažno pozitivnih nalaza. Ostali probirni testovi imaju osjetljivost 70-90% uz dogovorno 5% lažno pozitivnih. Prevedeno na jednostavan jezik, NIPT postiže nešto bolji rezultat od npr. kombiniranog testa u prepoznavanju stvarno bolesnih (90% vs. 99%), ali uz pet puta manje nepotrebnih RACZ. Dodatna prednost je što jednake rezultate postiže neovisno o životnoj dobi trudnice, ili nekim drugim čimbenicima rizika (20). Stoga je logično da je uvođenjem NIPT-a kao metode probira na kromosomopatije ploda došlo do smanjenja broja RACZ u ispitivanoj populaciji trudnica u Splitu, cijeloj Republici Hrvatskoj i svugdje gdje se počeo primjenjivati. Nedostatak metode je ekonomska cijena što je čini nedostupnom određenom dijelu građana. Nesporno je da se dostupnost i promišljeno korištenje testova probira direktno odražava na broj invazivnih zahvata, a time i na medicinsku cijenu cjelokupnog programa prenatalne dijagnostike kromosomopatija.

Analizom cijelog ispitivanog razdoblja većina RACZ je napravljena između 16. i 20. tjedna trudnoće (97,4%). S navršenih 17. tjedana trudnoće napravljen je 941 zahvat (48,84%) , a u prethodnom tjednu 594 zahvata (30,82%). Drugačija slika se dobije podjelom na tri razdoblja. Prvo razdoblje (2005. – 2009.) u KBC Split obilježava početak i uhođavanje metode koja se oslanja na probir životnom dobi i biokemijske testove drugog tromjesečja (trostruki test). Uvođenje kombiniranog testa probira obilježava početak drugog ispitivanog razdoblja (2010.), a dolazak NIPT-a na hrvatsko tržište u različitim izvedenicama ovisno o proizvođaču treće razdoblje (od 2016.) U razdobljima 2005.-2009. i 2010.-2015. godine najveći broj RACZ napravljen je s navršenih 17. tjedana trudnoće, dok je u razdoblju 2016.-2022. najveći broj RACZ, (83; 44,60%) izveden s navršenih 16. tjedana. Pomak prosječnog tjedna provedbe RACZ za tjedan do dva u odnosu na početno razdoblje može se protumačiti većim iskustvom operatera i porastom samopouzdanja, kao i pomakom dominantno korištenih probirnih testova iz drugog u prvo tromjesečje. Poznato je da je uspješnost kultura stanica iz uzorka plodove vode u razdoblju od 16. do 19. tjedna najveća te da je veličina uterusa najpogodnija za izvođenje zahvata pa su podaci očekivani

(30). S obzirom da je broj epitelnih stanica fetusa dobiven iz uzorka plodove vode mali, za uzgoj dovoljne količine stanica potrebnih za citogenetsku analizu potrebna su dva do tri tjedna (13). Provedbom zahvata RACZ u spomenutom razdoblju, trudnici se pruža mogućnost pravovremene odluke za prekid trudnoće temeljem patološkog citogenetskog nalaza.

Najčešća indikacija za izvođenje RACZ u ispitivanoj populaciji je životna dob trudnice. Zbog ove indikacije je napravljeno ukupno 72,10% svih RACZ. U svjetlu dostupnih probirnih metoda teško je opravdati ovaj podatak. Nesporno je da starija životna dob predstavlja čimbenik rizika. Bez obzira što je korekcija dobnog rizika biokemijskim testovima drugog tromjesečja lošija nego kombiniranim testom, još uvijek je procjena rizika tim putem bolja i preciznija od godina života samih za sebe. Kombinirani test kao današnji zlatni standard svugdje u razvijenom svijetu po tom je pitanju napravio iskorak više. NIPT je potpuno neovisan o životnoj dobi, što mu u starijoj populaciji trudnica donosi prednost više. Dobro je što je udio RACZ zbog životne dobi zadnjih godina u Klinici značajno smanjen, vjerojatno upravo zbog korištenja prethodnog probira NIPT-om. Jedna je opcija da je korišten kao probirni test prvog izbora. Druga mogućnost je da se zbog visoke ekonomske cijene koristio u visokorizičnoj skupini trudnica prema kombiniranom testu - kao „međukorak“ ili probirni test drugog reda prije odluke o odlasku na RACZ.

U cijelom ispitivanom razdoblju (2005.-2022.) temeljem kombiniranog testa napravljeno je 100 RACZ (5,20%), zbog ultrazvukom uočenih malformacija 74 (3,84%), obiteljske anamneze 130 (6,73%), osobne anamneze 52 (2,70%), a zbog trostrukog testa probira 119 (6,20%). Prva RACZ zbog visokog rizika izračunatog NIPT-om u Klinici je napravljena 2016. godine, i nakon toga još samo devet invazivnih zahvata (ukupno 10; 0,53%). Za tako mali udio postoje tri razloga. Prvi je relativno kasno uvođenje u kliničku praksu čime sudjeluje u sedam od 18 godina koliko istraživanje obuhvaća (38,89%). Drugi je što zbog cijene nije široko dostupan. Treći je odraz njegovih performansi sa specifičnosti od 99% i visokom pozitivnom prediktivnom vrijednosti koja ovisno o testu iznosi više od 50%.

Uočeno smanjenje udjela RACZ zbog obiteljske ili osobne anamneze sa značajnim padom zadnjih godina znak je dobre kliničke prakse i vremenom razvijenih internih postupnika indiciranja metoda invazivne prenatalne dijagnostike.

Raspodjela izvedenih RACZ prema specijalistima Klinike jasno potvrđuje ozbiljnost pristupa ovoj subspecijalističkoj pretrazi. Liječnik s najvećim brojem zahvata sam je napravio više od četvrtine svih RACZ (27,71%), a prvih pet po broju punkcija više od tri četvrtine (78,35%). Oni su ujedno nadzirali i educirali preostalih dvanaest kolega koji su zajedno odradili petinu svih zahvata (21,65%). Dvoje od njih su bili liječnici na subspecijalizaciji iz OB Šibenik i OB Zadar i koji su nakon edukacije u Klinici započeli s izvođenjem RACZ u matičnim kućama.

U usporedbi s prva dva ispitivana razdoblja kada je po trinaest liječnika radilo RACZ, u trećem se taj broj smanjio na devet. Razlog je smanjenje ukupnog broja zahvata, ali i odraz stava Klinike da se diferentnim pretragama bave isključivo subspecijalisti određene grane ginekologije.

Broj patoloških nalaza kariograma ploda u razdoblju od 2005. do 2022. godine koji predstavljaju indikaciju za medicinski opravdan prekid trudnoće je 68 (3,52%). Takav se nalaz odnosi na trisomije autosoma i triploidiju. Od uvođenja metode 2005. godine do 2015. godišnji udio patoloških kariograma fetusa je bio manji od 5%. Vrijednosti od 5% do 10% su izračunate za pojedine godine u razdoblju 2016. – 2019. Značajan porast je zabilježen 2020. godine, kada udio patoloških nalaza raste na 16,67%, čemu slijede 2021. s 21% i konačno 2022. godina s izrazito visokih 35,00%. Slična je dinamika izračunata usporedbom tri zadana razdoblja; od 2,87% u prvom, preko 2,31% u drugom do 12,23 %. Nismo dokazali statistički značaj razlike u prva dva razdoblja pa možemo zaključiti da je od 2005. do 2015. godine prosječna vrijednost patološkog kariograma nakon RACZ bila 2,58% (45/1743). Uvođenje NIPT-a u klinički rad, neovisno o relativnoj nedostupnosti, rezultiralo je porastom udjela patoloških nalaza za gotovo pet puta (12,23% vs. 2,58%), što znači i pet puta manje nepotrebnih RACZ sa svim komplikacijama koje zahvat nosi.

Prema pojedinačnim indikacijama najveću osjetljivost probirnog testa je pokazao NIPT gdje je udio patoloških nalaza iznosio 70,00%. Slijede fetalni hidrops s 20,00%, cistični higrom s 16,67%, ultrazvučno evidentirane velike anomalije s 12,16%, kombinirani test s 10,00%, osobna anamneza s 3,85% i životna dob s 2,37%. Obzirom da je granica značajnosti izračunatog rizika koja predstavlja indikaciju za invazivni zahvat dogovorno postavljena na 1:200, što u prijevodu znači 0,5%, svi gore nabrojeni probirni testovi odnosno indikacije za RACZ u našem su se uzorku pokazali statistički opravdanim. Incidenciju patološkog nalaza ispod 0,5% našli smo ukoliko je razlog za RACZ bila dob partnera, inzistiranje trudnice, kariogram roditelja ili obiteljska anamneza. Ovakav rezultat može biti upozorenje za daljnji rad u kojem ne bi trebalo raditi RACZ iz navedenih razloga bez prethodne provjere nekim od standardnih probirnih testova.

6. ZAKLJUČAK

- Najčešća indikacija za RACZ u Klinici je životna dob trudnice
- Uvođenje kombiniranog testa i kasnije NIPT-a pomaklo je prosječnu dob trudnoće za izvođenje RACZ tjedan dana: od dominantno navršenih 17 tjedana na 16
- Pojavom NIPT-a broj RACZ u Klinici značajno se smanjio, a udio patoloških nalaza kariograma povećao
- Najveći postotak patoloških nalaza kariograma slijedi NIPT kao probirni test
- Matematičko opravdanje korištenja u smislu probira za RACZ osim NIPT-a pokazali su i: fetalni hidrops, cistični higrom, ultrazvučno evidentirane velike anomalije, kombinirani test, biokemijski testovi drugog tromjesečja, osobna anamneza i životna dob trudnice

7. LITERATURA

1. Jakus, D. Kombinirani test probira na kromosomopatije ploda u KBC Split. Diplomski rad. Split: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2018.
2. Turnpenny P, Ellard S. Emeryjeve osnove medicinske genetike. 14. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
3. Hsu LYF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. U: Milunsky A. Genetic disorders and the fetus, 4th edition. Baltimore: The Johns Hopkins University Press; 1998. str. 179.
4. Kauf, L. (2021.) Primjena mikročipova u otkrivanju genetskih uzroka spontanih gubitaka trudnoća. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
5. Singer Z, Podobnik M. Nasljedne bolesti i trudnoća (genetika reprodukcije). U: Đelmiš J, Orešković S i sur. Fetalna medicina i opstetricija. Zagreb: Medicinska naklada; 2014. str. 85- 95.
6. Norton ME, Rink BD. Changing indications for invasive testing in an era of improved screening. *Semin Perinatol.* 2016; 40(1): 56-66.
7. Zaninović, L., Katušić Bojanac, A. i Bašković, M. Metode molekularne dijagnostike u prenatalnoj medicini. *Medicina Fluminensis.* 2022; 58(3): 224-237.
8. MacRae AR, Canick JA. Maternal Prenatal Screening for Fetal Defects. U: Gronowski AM. *Handbook of Clinical Laboratory Testing During Pregnancy.* Totowa: Humana Press Inc; 2004. str. 71-139.
9. Nicolaides KH. First trimester diagnosis of chromosomal defects. U: Nicolaides KH. *The 11–13+6 weeks scan.* London: Fetal Medicine Foundation; 2004. str. 7-45.
10. Sifakis S, Papantoniou N, Kappou D, Antsaklis A. Noninvasive prenatal diagnosis of Down syndrome: current knowledge and novel insights. *J Perinat Med.* 2012; 40(4): 319-27.
11. Robinson WP, Mcfadden DE, Stephenson MD. The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. *Am J Hum Genet.* 2001;69(6):1245-54.
12. Warburton D, Dallaire L, Thangavelu M, Ross L, Levin B, Kline J. Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data. *Am J Hum Genet.* 2004;75(3):376-85.

13. Kavelj, M. Invazivna antenatalna dijagnostika kromosomopatija u Splitskom rodilištu. Diplomski rad. Split: Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet; 2010.
14. Cokmez H, Yozgat ST. The effect of fetal gender on the biochemical markers of the first-trimester screening. *Saudi Med J.* 2022; 43(4): 348-352.
15. Shiefa S, Amargandhi M, Bhupendra J, Moulali S, Kristine T. First Trimester Maternal Serum Screening Using Biochemical Markers PAPP-A and Free β -Hcg for Down Syndrome, Patau Syndrome and Edward Syndrome. *Indian J Clin Biochem.* 2013;28(1): 3-12.
16. Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM, Chalouhi GE, Ghi T, Kagan KO, i sur. ISUOG practice guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):102-13.
17. Sonek J, Nicolaides K. Additional first-trimester ultrasound markers. *Clin Lab Med.* 2010;30(3):573-92.
18. Tørring N. First trimester combined screening – focus on early biochemistry. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016; 76(6):435-47.
19. Wagner, J. Neinvazivna prenatalna dijagnostika genskih bolesti. Osijek: Sveučilište u Osijeku, Medicinski fakultet; 2014.
20. Buchanan A, Sachs A, Toler T, Tsipis J. NIPT: current utilization and implications for the future of prenatal genetic counseling. *Prenat Diagn.* 2014; 34(9):850-7.
21. Benn P, Cuckle H, Pergament E. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013; 42(1): 15-33.
22. Mathai M. Amniocentesis. *Natl Med J. India.* 1992; 5(1):30-2.
23. Mišković B, Kos M. Amniocenteza U: Kurjak A i sur. Prenatalna dijagnostika i terapija. Varaždinske toplice: Tonimir; 2000, str. 121-48.
24. Barišić I. Genetika i genetsko informiranje. U: Čulić V i sur. Sindrom Down. Split: Naklada Bošković; 2009, str. 61-73.
25. Tongprasert F, Srisupundit K, Luewan S, Phadungkiatwattana P, Pranpanus S, Tongsong T. Midpregnancy cordocentesis training of maternal-fetal medicine fellows. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010; 36(1):65-8.

26. Trčić Lasan R. Klinička citogenetika u eri genomike. Paediatr Croat. 2016 . str. 65-69 .
27. Vraneković J. Primjena tehnika molekularne citogenetike u detekciji kromosomskih promjena. Medicina. 2004; 42(40): 247-55.
28. Papantoniou EN, Daskalakis JG, Tziotis JG i sur. Risk factors predisposing to fetal loss following a second trimester amniocentesis. British Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2001; 108: 1053–6.
29. Canadian Early and Mid – Trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group: Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. Lancet. 1998;351: 242.
30. Karelović D. Prenatalna dijagnostika. U: Čulić V i sur. Sindrom Down. Split: Naklada Bošković; 2009, str. 221–42.

8. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Ime: Jelena
Prezime: Vukorepa
Adresa: Ulica svetog Roka 25, Gornje Sitno
E-mail: jelena.vukorepa19@gmail.com
Datum rođenja: 29. studenog 2000. godine
Mjesto rođenja: Split
Država rođenja: Hrvatska

Obrazovanje

2007.-2011.: PŠ „Gornje Sitno“
2011.-2015.: OŠ „Žrnovnica“
2016.-2020.: Zdravstvena škola Split, Sanitarni tehničar/tehničarka
2020.-2023.: Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Preddiplomski studij
Primaljstva, Split

Stručno usavršavanje

2023. Tečaj reanimacije

Dodatne informacije

Poznavanje rada na računalu u MS Office
Položena B2 razina engleskog jezika u školi stranih jezika
Stečena početna kvalifikacija vozača vozila za autotaksi prijevoz i prijevoz putnika