

# Kombinirani ultrazvučno-biokemijski probir fetalnih aneuploidija od 10. - 14. tjedna trudnoće: prvi rezultati primjene testa u Hrvatskoj

---

Tišlarić-Medenjak, Dubravka; Košec, Vesna; Kos, Milan; Latin, Višnja; Harni, Vesna; Lovrić, Boris; Tučkar, Neven; Sabolović-Rudman, Senka; Herman, Radoslav; Končar, Mišo; ...

*Source / Izvornik:* **Gynaecologia et perinatologia : journal for gynaecology, perinatology, reproductive medicine and ultrasonic diagnostics, 2008, 17, 195 - 200**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:220:463888>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Sestre milosrdnice University Hospital Center - KBCSM Repository](#)

Endokrinološki laboratorij, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«, Zagreb;<sup>1</sup>  
 Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«, Zagreb;<sup>2</sup>  
 Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Vili«, Zagreb;<sup>3</sup> Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Dr. Harni«, Zagreb;<sup>4</sup>  
 Ginekološki odjel, Opća bolnica, Nova Gradiška;<sup>5</sup> Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Dr. Bates«, Zagreb;<sup>6</sup>  
 Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinička bolnica »Mercur«, Zagreb;<sup>7</sup> Ginekološka ordinacija,  
 »Rodilište&Poliklinika Podobnik«, Zagreb;<sup>8</sup> Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Ginoderma«, Zagreb;<sup>9</sup>  
 Zavod za genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju, KBC »Rebro«, Zagreb;<sup>10</sup>  
 Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Dr. Marton«, Zagreb;<sup>11</sup> Ginekološka ordinacija »Dr. Milorad Lončar«, Karlovac;<sup>12</sup>  
 Ginekološka ordinacija »Supernova«, Zagreb;<sup>13</sup> Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Pronatal«, Zagreb;<sup>14</sup>  
 Klinika za ginekologiju i porodništvo, Opća bolnica »Sveti Duh«, Zagreb;<sup>15</sup> Ginekološka ordinacija, Dom zdravlja, Gospić;<sup>16</sup>  
 Endokrinološki laboratorij, Klinika za ženske bolesti, Zagreb;<sup>17</sup> Ginekološka ordinacija »Dr. Ljiljana Kovačević«, Zagreb;<sup>18</sup>  
 Ginekološka ordinacija »Dr. Frano Franičević«, Zagreb;<sup>19</sup> Ginekološka ordinacija, Dom zdravlja, Velika Gorica;<sup>20</sup>  
 Odjek za patologiju, citologiju i citodijagnostiku, Opća bolnica »Sveti Duh«, Zagreb<sup>21</sup>

## **KOMBINIRANI ULTRAZVUČNO-BIOKEMIJSKI PROBIR FETALNIH ANEUPLOIDIJA OD 10. – 14. TJEDNA TRUDNOĆE: PRVI REZULTATI PRIMJENE TESTA U HRVATSKOJ**

### **COMBINED ULTRASOUND AND BIOCHEMICAL SCREENING FOR FETAL ANEUPLOIDY AT 10 – 14 WEEKS OF PREGNANCY: FIRST RESULTS OF TEST PERFORMANCE IN CROATIA**

*Dubravka Tišlarić-Medenjak,<sup>1</sup> Vesna Košec,<sup>2</sup> Milan Kos,<sup>3</sup> Višnja Latin,<sup>3</sup> Vesna Harni,<sup>4</sup>  
 Boris Lovrić,<sup>5</sup> Neven Tučkar,<sup>2</sup> Senka Sabolović-Rudman,<sup>2</sup> Radoslav Herman,<sup>2</sup> Mišo Končar,<sup>6</sup>  
 Željko Duić,<sup>7</sup> Mario Podobnik,<sup>8</sup> Dragana Ljubojević-Grgec,<sup>9</sup> Hrvojka Soljačić-Vraneš,<sup>2</sup>  
 Ivana Tonković-Đurišević,<sup>10</sup> Maja Gudelj,<sup>4</sup> Ulla Marton,<sup>11</sup> Milorad Lončar,<sup>12</sup> Branko Rajhvajn,<sup>13</sup>  
 Dario Majnarić,<sup>14</sup> Tomislav Hafner,<sup>15</sup> Zrinka Komadina-Estatiev,<sup>16</sup> Saša Kralik-Oguit,<sup>17</sup>  
 Ljiljana Kovačević,<sup>18</sup> Frano Franičević,<sup>19</sup> Walid El-Kawam,<sup>20</sup> Feodora Stipoljev<sup>21</sup>*

*Izvorni članak*

*Ključne riječi:* Downov sindrom, probir u prvom tromjesečju, PAPP-A, slobodni β-hCG, nuchalni nabor

**SAŽETAK.** *Cilj rada.* Retrospektivna studija nakon primjene kombiniranog ultrazvučno-biokemijskog testa probira trisomija u prvom tromjesečju trudnoće. *Metode.* Od veljače 2006. do srpnja 2008. godine probir je učinjen u 1112 trudnica između 10. i 14. tjedna trudnoće. Individualni rizik trisomije 21, 18 i 13 izračunavali smo kombinacijom dobnog rizika trudnice, ultrazvučnih biljega u ploda (debljina nuchalnog nabora – NT, udaljenosti tjeme-trtica – CRL) te biokemijskih biljega u serumu trudnice (slobodni β-hCG i PAPP-A), pomoću licenciranog računalnog programa (Typolog). Koncentracije biokemijskih biljega smo određivali imunometrijskom kemiluminiscentnom metodom (IMMULITE). Biokemijske biljege, kao i NT u odnosu na CRL, izrazili smo u obliku višekratnika MoM, u odnosu na dnevne regresijske medijane za odgovarajuću gestaciju u neugroženim trudnoćama. *Rezultate* smo obradili nakon dovršenih svih ispitanih trudnoća. Ukupno su 62 testirane trudnice imale povećani kombinirani rizik trisomije 21, od kojih je 10 trudnica imalo i povećani rizik trisomije 18/13. Četiri trisomije 21 i jedna trisomija 18 otkrivene su prenatalnom dijagnozom; stopa detekcije bila je 100% (5/5). U trudnica s povećanim rizikom u probiru učinjeno je 7 biopsija koriona i 38 ranih amniocenteza. Udio lažno-pozitivnih rezultata bio je 5.1%. *Zaključak.* Prvi rezultati provođenja kombiniranog probirnog testa u Hrvatskoj potvrdili su visoku osjetljivost i veću specifičnost, u poredbi s biokemijskim probirnim testom u drugom tromjesečju trudnoće.

*Original paper*

*Key words:* Syndrome Down, first-trimester screening, PAPP-A, free β-hCG, nuchal translucency

**SUMMARY.** *Objective.* Retrospective study of the results of the first-trimester combined screening for fetal trisomies with ultrasound and biochemical markers. *Methods.* In the period from February 2006 to July 2008, a total of 1112 pregnant-women underwent screening between the 10<sup>th</sup> and 14<sup>th</sup> gestational week. Individual risk for trisomies 21, 18 and 13, combining maternal age, ultrasonography (nuchal translucency, crown-rump length) and serum biochemical analytes (free β-hCG, PAPP-A) was computed by means of licensed *Typolog* software. Concentrations of biochemical markers were determined by chemiluminiscent immunometric assay (IMMULITE). Both biochemical markers, as well as NT, were expressed as Multiples of the Median (MoM), based on the regressed medians of the corresponding gestational age in unaffected pregnancies. *Results.* All studied pregnancies were followed up to term. A total of 62 pregnant women were categorized as high-risk for trisomy 21, and 10 of them had also an elevated risk for trisomies 18/13, respectively. Four trisomies 21 and one trisomy 18 were detected through combined test and confirmed with prenatal diagnostic pro-

cedure. Detection rate was 100%. In those with high risk, 7 chorionic villi sampling and 38 amniocenteses were performed. False-positive rate was 5.1%. **Conclusion.** The results of the first-trimester screening in Croatia confirmed high sensitivity and better specificity of the combined ultrasonic and biochemical markers, in relation with the second-trimester biochemical screening test.

## Uvod

Prenatalni probir fetalnih aneuploidija u drugom tromjesečju trudnoće pomoću biokemijskih biljega, alfa-fetoproteina i slobodnog  $\beta$ -hCG (dvostruki test), odnosno alfa-fetoproteina, nekonjugiranog estriola, u kombinaciji sa slobodnim ili ukupnim  $\beta$ -hCG (trostruki test) u rutinskoj je primjeni u Hrvatskoj od 1996. godine.<sup>1,2</sup> Posljednjih godina, suvremeni je pristup organizaciji prenatalne skrbi i u našoj zemlji usmjerio zanimanje na raniju trudnoću te značajno utjecao na zahtjeve liječnika, a i trudnica, za uvođenjem neinvazivnih metoda u prvom tromjesečju trudnoće.

U svijetu, nakon prvih spoznaja o ultrazvučnim biljegovima aneuploidija u ranoj trudnoći, objavljenih 90-tih godina, uslijedio je zavidni niz prospektivnih, retrospektivnih i multicentričnih istraživanja o njihovoj osjetljivosti i specifičnosti u otkrivanju kromosomskih poremećaja u ploda.<sup>3–5</sup> Od prvih rezultata, pa do najnovijih studija, dokazano je da je povećana debljina nuhalnog nabora (nuhalne prozirnosti, *Nuchal Translucency*, NT) u ploda, od 11.–14. tjedna trudnoće, najosjetljiviji i najspecifičniji biljeg trisomije 21 i trisomije 18.<sup>6,7</sup> U kombinaciji s ranim biokemijskim biljevima, slobodnom  $\beta$ -podjedinicom humanog korionskog gonadotropina (slobodni  $\beta$ -hCG) i plazma proteinom-A pridruženim trudnoći (*Pregnancy Associated Plasma Protein-A*, PAPP-A), uspješnost otkrivanja ugroženih trudnoća je 85–90%, uz prosječno 5% lažno-pozitivnih rezultata.<sup>8</sup> Biokemijski su biljezi najraniji pokazatelji posteljice biosinteze koja je karakteristično promijenjena u najvećem broju trudnoća s fetalnim trisomijama 21, 18 i 13. U serumu trudnica koncentracije slobodnog  $\beta$ -hCG normalno opadaju nakon 10-tog tjedna trudnoće prema kraju prvog tromjesečja, dok koncentracije PAPP-A postupno rastu od 8.–14. tjedna. U trudnoćama s trisomijom 21, biokemijska funkcija posteljice zaostaje za oko dva tjedna u odnosu na normalnu trudnoću, što ima za posljedicu značajno više koncentracije slobodnog  $\beta$ -hCG, a niže koncentracije PAPP-A u serumu trudnica, u usporedbi s neugroženim trudnoćama.<sup>9</sup> U trudnoćama s trisomijama 18 i 13, koncentracije posteljičnih biljega u majčinom krvotoku značajno su snižene u odnosu na trudnoće s normalnim fetalnim kariotipom.<sup>10</sup>

U siječnju 2007. godine, Europska temeljna organizacija za fetalnu medicinu (*The Fetal Medicine Foundation*, FMF; [www.fetalmedicine.com/f-downs.com](http://www.fetalmedicine.com/f-downs.com)), kao i Američko društvo za ginekologiju i opstetrijicu (*American College of Obstetrics and Gynecology*, ACOG), objavili su detaljno osmišljeni program ranog probira, uz definirane smjernice za njegovu primjenu.<sup>11</sup> Od 1999. godine, na inicijativu FMF-a, potaknut je program OS-CAR (*One Step Clinic for Assessment of Risk*). Ovaj dobro organizirani postupnik probira fetalnih aneuploidija

u prvom tromjesečju trudnoće u mnogim je zemljama Europe do sada prihvaćen kao standardizirani model.<sup>12</sup>

U Hrvatskoj je 2006. godine, u Kliničkoj bolnici »Sestre milosrdnice« u Zagrebu, započela sustavna primjena kombiniranog ultrazvučno-biokemijskog probira. Osmišljena je kao komplementarna metoda već postojećem programu ultrazvučnog probira fetalnih aneuploidija koji se provodi od 10.–14. tjedna trudnoće, u svim centrima i ustanovama s dobro organiziranom antenatalnom skrbi.<sup>13</sup>

U ovom ćemo radu prikazati rezultate prve retrospektivne analize, tijekom primjene kombiniranog testa u neselektiranoj populaciji trudnica u Hrvatskoj.

## Ispitanice i metode

U travnju 2006. godine, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice« registrirana je kao FMF-centar (FMF ID 7148), a Endokrinološki je laboratorij od rujna 2007. godine uključen u proces akreditacije pri navedenoj organizaciji. U skladu s time, naša je Ustanova stekla pravo korištenja licenciranog računalnog programa za izračunavanje individualnog rizika pojave trisomije 21, 18 i 13, pomoću biokemijskih biljega slobodnog  $\beta$ -hCG i PAPP-A i ultrazvukom izmjerene debljine nuhalnog nabora (NT) u odnosu na razmak tjeme-trtica (CRL) u ploda. U programu probira sudjelovalo je 56 liječnika-specijalista ginekologije i opstetrijice, od kojih 16 posjeduje FMF-certifikat o nadležnosti za obavljanje ultrazvučnog pregleda, a dvoje liječnika i službeni FMF-akreditaciju za genetički ultrazvuk u prvom tromjesečju ([www.fetalmedicine.com/f-downs.htm](http://www.fetalmedicine.com/f-downs.htm)). Preostali su stekli licencije o specijalizaciji za ultrazvučne preglede, kroz specijalističku i poslijediplomsku izobrazbu, u Hrvatskoj i/ili u inozemstvu. Jedino liječnici i centri s akreditacijom imaju licenciju za korištenje specijalne verzije FMF-ovog računalnog programa koji, osim navedenih biokemijskih i ultrazvučnih biljega, omogućava izračunavanje rizika aneuploidija uvrštavanjem i ostalih parametara fetalnog razvoja te dodatnih ultrazvučnih biljega: nosne kosti, protoka kroz *ductus venosus*, trikuspidalne regurgitacije, fronto-maksilarnog i mandibulo-maksilarnog ličnog kuta.<sup>14–17</sup>

Od veljače 2006. do kraja siječnja 2008. godine kombiniranom testu je pristupilo 2066 trudnica. U svih je ispitanica učinjen ultrazvučni pregled te uzet uzorak seruma za analizu biokemijskih biljega, od 73.–97. dana trudnoće (10<sup>+3</sup> do 13<sup>+6</sup> tjedana). Način i uvjete provođenja testiranja u našoj ustanovi odobrilo je etičko povjerenstvo, u čijem su sastavu bili liječnici-specijalisti, pravnici i teolog. Prije vađenja krvi svakoj su trudnici, u nadležnoj ordinaciji, detaljno objašnjene karakteristike i svrha testa. Učinjeno je to usmeno i pisanim obrascem koji je ujedno korišten i kao obvezni informirani pristanak na pretragu.

Uzorci krvi skupljani su svakodnevno u Endokrinološkom laboratoriju bolnice. Serum je odmah podvrgnut analizi biokemijskih biljega i rezultati testa dovršavani su unutar 3 sata po primitku uzorka. Obrazac s kliničkim i ultrazvučnim parametrima ispunjen je i ovjeren od liječnika-ultrasoničara, s obveznim osobnim podacima o trudnici, tjelesnoj težini, broju ranijih trudnoća i poroda, pušenju u trudnoći i etničkoj pripadnosti. Dodatno su zabilježeni podaci o načinu začeća (spontana ili potpomognuta oplodnja), blizanačkoj trudnoći, inzulin-ovisnoj šećernoj bolesti trudnice te eventualnim ranijim trisomijama i abnormalnostima u ploda. Ultrazvučno izmjereni NT i CRL prihvaćeni su ukoliko je pregled obavljen unutar 48 sati u odnosu na vađenje krvi.<sup>18</sup> Dob trudnoće je definirana prema izmjerenoj vrijednosti CRL-a (od 38 mm do 84 mm) standardiziranim postupkom.<sup>19</sup> Način mjerenja debljine nuhalnog nabora strogo je definiran postojećim preporukama FMF-a.<sup>20</sup>

Koncentracije slobodnog  $\beta$ -hCG i PAPP-A određivane su imunometrijski, metodom encimski kontrolirane kemiluminiscencije, uz visoko-specifična monoklonska antitijela na analizirane biljege (IMMULITE, Siemens Medical Solutions Diagnostics). Kalibratori za analizu standardizirani su prema referentnim pripravcima: za PAPP-A prema WHO IRP 78/610, odnosno, za slobodni  $\beta$ -hCG prema WHO IRP 75/551.

Vrijednosti NT izražene su u obliku MoM (Multiple of the Median) prema regresijskoj krivulji medijane za neugroženu trudnoću, u razdoblju trudnoće od 73.–97. dana i u odnosu na izmjereni CRL. Koncentracije biokemijskih biljega preračunate su u MoM vrijednosti, prema dnevnim regresijskim medijanama za neugrožene trudnoće u intervalu od 56–97 dana. Vrijednosti MoM korigirali smo prema tjelesnoj težini trudnice i pušenju cigareta u trudnoći. Primjenjivali smo vlastitu krivulju regresije medijane za hrvatsku populaciju nakon što smo testirali dovoljni broj normalnih trudnoća po gestacijskom tjednu ( $N \geq 100$ ). Rizici pojave trisomije 21, 18 i 13 izraženi su prema dobi trudnice na dan vađenja krvi, u obliku biokemijskog, kao i u obliku kombiniranog rizika. Omjer 1:300 uzet je kao granični rizik trisomije 21, a 1:100 za trisomije 18 i 13. Trudnice s povećanim rizikom pojave aneuploidije u kombiniranom testu upućene su na daljnje probirne testove, odnosno dijagnostičke postupke, ovisno o vlastitom izboru. Trudnice s rizikom većim od 1:300, u kojih je detaljnim ultrazvučnim pregledom (*mini-anomaly scan*) potvrđeno postojanje jednog ili više dodatnih biljega kromosopatija, upućene su u genetsko savjetništvo. Dio trudnica učinio je biokemijski probir u drugom tromjesečju te im je, ako je i nakon toga ustanovljen povećani rizik, savjetovana rana amniocenteza. Podatci o kariotipu ploda prikupljeni su iz dvaju laboratorija za citogenetske analize u Zagrebu, a podatci o ishodu trudnoća od nadležnih liječnika.

Za statističku obradu podataka korištene su metode deskriptivne statističke analize, pomoću Microsoft Excel 7.0. Tip razdiobe podataka testiran je Kolgomorov-

Smirnovljevim testom na  $\log_{10}$  MoM vrijednostima (MedCalc for Windows).

## Rezultati

Od ukupno 2066 trudnica u probiru, ovo istraživanje je provedeno u skupini od njih 1112, kojih su trudnoće do kraja siječnja 2008. godine završile prema izračunatom terminu poroda. U tih je trudnica prosječna starosna dob u vrijeme testa bila 31,5 godina (raspon 17,2–46,3 godina). Njih 249 bile su u dobi od 35 do 37 godina (22,4%), odnosno, 120 trudnica (10,8%) u dobi od 37 ili više godina. Prosječna dob trudnoće na dan ultrazvučnog pregleda bila je 84,8 dana, pri čemu je srednja vrijednost izmjenjenog CRL bila 57,9 mm. Na dan vađenja krvi, prosječna dob je bila 86,4 dana. Među ispitanicama bilo ih je 11 s blizanačkom trudnoćom i njih 21 s trudnoćama nakon *in vitro* postupaka. Prema vlastitom priznanju, njih 125 je pušilo cigarete u trudnoći (11,2%).

Kolgomorov-Smirnovljevi test je potvrdio normalnu Gauss-ovu razdiobu za oba biokemijska biljega, uz standardne devijacije 0,2584 za  $\log_{10}$  MoM slobodni  $\beta$ -hCG, odnosno 0,2432 za  $\log_{10}$  MoM PAPP-A. Logaritmirane MoMNT vrijednosti nisu odgovarale tipu normalne distribucije, a standardna je devijacija iznosila 0,1855. Endokrinološki laboratorij je uključen u sustav vanjske analitičke kontrole kvalitete, pridružen FMF-u (UK NEQAS For Screening for Down Syndrome in the First Trimester). Rezultati analize biokemijskih biljega i izračunati rizici u nepoznatim, kontrolnim uzorcima dokazali su visoku preciznost i minimalna odstupanja od referentne metode, unutar dopuštenog intervala od  $\pm 10\%$ .

Prema rezultatima kombiniranog ultrazvučno-biokemijskog probira, ukupno su 62 trudnice imale rizik za trisomiju 21 veći od 1:300, od njih je 10 imalo istodobno i rizik trisomije 18 i 13 veći od 1:100. U skupini trudnica s povećanim kombiniranim rizikom aneuploidija, u njih 7 učinjena je do 14. tjedna biopsija korionskih resica (CVS) te u 38 amniocenteza od 16.–20. tjedna. Dakle, na invazivni zahvat se nakon povećanog rizika u kombiniranom probiru odlučilo 72,5% trudnica (45/62). Ostale indikacije za invazivni zahvat bile su: u 297 trudnica *a priori* dobní rizik trisomije 21 veći od 1:300 (u 12 od njih rizik trisomije 18 veći od 1:100), u tri trudnice ultrazvučni nalaz razvojnih anomalija ploda, te u dvije trudnice opterećena anamneza. Na osnovi tih kriterija učinjeno je 47 ranih amniocenteza. Proizlazi da je 14,9% trudnica, svrstanih prema dobnom riziku i ostalim indikacijama, prihvatilo amniocentezu. Citogenetskom analizom dijagnosticirane su 4 trisomije 21 i 1 trisomija 18, a slučajevi su prikazani u *tablici 1*. Sve trisomije otkrivene su prenatalnom dijagnozom; stopa detekcije bila je 100% (5/5). Kod četiri trudnice je nakon dijagnoze bio indiciran pobačaj na vlastiti zahtjev, a jedna je trudnica (br. 2 u tablici) spontano pobacila nakon kombiniranog testa pa je kariotip ustanovljen na pobačenom plodu. Iz konačnih podataka proizlazi da je nakon kombiniranog probirnog testa u istraživanoj populaciji bilo 5,1% lažno-pozitivnih rezultata.

Tablica 1. Otkrivene trisomije u istraživanoj populaciji trudnica  
Table 1. Detected trisomic pregnancies in study population

	Godine trudnice Years of age	CRL (mm)	Dob trudnoće (dani) Gestation (days)	β-hCG MoM	PAPP-A MoM	NT MoM	Kombinirani T21-rizik Combined T21-risk	Kombinirani T18-rizik Combined T18-risk	Kariotip Karyotype
1	42.7	67.4	90	2.09	0.67	2.63	1:2	1:61	47,XY+21
2	28.1	65.4	89	1.79	0.35	2.70	1:40	1:39	47,XY+21
3	33.4	45.0	78	1.84	0.42	1.61	1:27	<1:10000	47,XX+21
4	37.4	68.8	91	2.27	0.30	1.50	1:8	<1:10000	47,XY+21
5	42.1	61.0	87	0.16	0.09	3.79	1:22	1:2	47,XY+18

CRL: crown rump length – razmak tjeme-trtica; β-hCG: free β-subunit of human chorionic gonadotropin – slobodna β-podjedinica humanog korionskog gonadotropina; PAPP-A: pregnancy associated plasma protein-A – plazma protein-A pridružen trudnoći; NT: nuchal translucency – nuhalni nabor; MoM: multiple of median – višekratnik medijane vrijednosti.

Tablica 2. Razdioba trudnica po dobnim skupinama, broj rizičnih, ukupni broj dijagnostičkih postupaka i udjel lažno-pozitivnih slučajeva u kombiniranom testu.

Table 2. Distribution of screening-positive pregnancies, total number of diagnostic procedures and false-positive results in combined test, by age bands of pregnant women.

Dobne skupine (godine) Age bands (years)	Broj trudnica Number of women	T21-rizik T21-risk >1:300 (N)	Ukupni broj Total number CVS+AC	Kariotip (patološki/ normalni) Karyotype (pathological/ normal)	LP FPR (%)
< 20	7	0	0	–	–
20 do < 25	86	2	0+1	0/1	2.3
25 do < 30	328	12	1+8	1/8	3.3
30 do < 35	441	18	1+21	1/21	3.8
35 do < 40	217	23	3+43	1/45	10.1
> 40	33	7	2+12	2/12	15.1
Ukupno	1112	62	92	5/87	

CVS: chorionic villus sampling – biopsija korionskih resica; AC: amniocentesis – amniocenteza; FPR: false-positive results – LP – lažno-pozitivni rezultati.

Izračunali smo da bi, prema dobi trudnica, očekivani broj trisomija 21 u vrijeme primjene ultrazvučno-biokemijskog probira bio 3,63, a u terminu poroda, očekivani broj rođenih s trisomijom 21 bio bi 2,18. Iz rezultata proizlazi da su, na osnovi kombiniranog testa (biokemijski biljezi+NT), u prvom tromjesečju dijagnosticirane sve trudnoće s trisomijom 21 u istraživanoj populaciji.

U tablici 2. prikazan je broj trudnica s povećanim rizikom trisomije 21 u kombiniranom testu, ukupni broj izvršenih invazivnih zahvata, stopa detekcije te s obzirom na broj ispitanica u pojedinim dobnim skupinama udjeli lažno-pozitivnih rezultata.

U skupini od 57 trudnica s lažno-povećanim rizikom u kombiniranom testu dogodio se jedan spontani pobačaj u 13. tjednu, pri čemu dijagnostički postupak nije proveden zbog maceracije ploda. Jedno je dijete mrtвороđeno, ali patohistološka dijagnoza nije poznata. U dvije trudnoće indiciran je pobačaj zbog ultrazvučnog nalaza anomalija ploda (anomalije bubrega, odnosno, cistični higrom). U preostalim 1040 trudnica, koje su kombiniranim probirom svrstane u nisko-rizične, bilo je osam spontanih pobačaja do 19. tjedna i dva slučaja intrauterine smrti nakon 24. tjedna; kariotip ploda nije

ustanovljen. U dvije trudnoće s niskorizičnim rezultatom probira preporučeno je prekid trudnoće (Sy. Potter, odnosno multiple fetalne anomalije).

## Rasprava

Rezultati našeg istraživanja potvrdili su učinkovitost probirnog testa fetalnih trisomija, kombinacijom dobi trudnice, biokemijskih biljega u serumu trudnice te ultrazvukom izmjerene nuhalnog nabora u ploda tijekom prvog tromjesečja trudnoće. U studiranoj populaciji otkrili smo pet trudnoća s trisomijama (4 trisomije 21 i 1 trisomija 18) obzirom na osnovi izračunatog kombiniranog rizika i ispravno postavljene indikacije za dijagnostički postupak. Brojne su objavljene studije istaknule nadmoćnu osjetljivost kombiniranog probirnog testa u usporedbi s biokemijskim probirnim testom u drugom tromjesečju trudnoće. Svjetska istraživanja dokazuju uspjeh detekcije trisomije 21 u rasponu od 82–87%, uz fiksnih 5% lažno-pozitivnih rezultata.<sup>21–24</sup> Međutim, valja naglasiti da je osjetljivost i specifičnost testa značajno veća u trudnica starije životne dobi, jer je vjerojatnost za pozitivni rezultat probira u funkciji dobnog rizika trudnice.<sup>25</sup> U našoj studiranoj populaciji, od ukupno pet trudnoća s trisomijama njih tri smo otkrili u trudnica starijih od 37 godina. Nadalje, udjel trudnica starijih 35 godina ili više, u istraživanoj je populaciji bio 22,4%. Srednja dob trudnica koje su sudjelovale u probirnom testu bila je 31,5 godina (u terminu 32,0 godina), što je u skladu s rezultatima posljednjeg izvješća Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo o dobi roditelja u Hrvatskoj ([www.hzjz.hr/publikacije.htm](http://www.hzjz.hr/publikacije.htm)), ali je dob u prosjeku za oko dvije godine viša nego što pokazuju rezultati provođenja kombiniranog probira u zemljama Europe.<sup>21–24</sup> Naše ranije istraživanje o biokemijskom probiru u drugom tromjesečju pokazalo je da je srednja dob ispitanica bila 32,3 godine u terminu poroda, što je slično dobnim karakteristikama trudnica prikazanim u tom radu.<sup>26</sup> Stoga smatramo da prenatalna detekcija svih fetalnih trisomija u našem istraživanju nije neočekivana. Sukladno tome, i udjel od 5,1% lažno-pozitivnih rezultata u trudnica koje su sudjelovale u ranom kombiniranom testu odgovara demografskim obilježjima istraživane populacije te ispravno postavljenoj graničnoj vrijednosti od 1:300 pri izračunu rizika kromosomopatija.

Također se vidi da je udjel lažno-pozitivnih rezultata u kombiniranom probirnom testu bio dvostruko manji, nego u trudnica koje su bile podvrgnute testovima drugog tromjesečja, u kojih je uspjeh detekcije trisomije 21 bio 70%, uz 10.1% lažno-pozitivnih rezultata.<sup>26</sup>

Najbolje organizirani model kombiniranog probirnog testa, kao što je OSCAR, postavio je vrlo visoke standarde prema FMF smjernicama.<sup>23</sup> No, realizacija probirnog testa – od ultrazvučnog pregleda, rezultata biokemijske analize, do savjetovanja trudnice u istom danu – moguća je samo u centrima s vrhunski organiziranom, multidisciplinarnom antenatalnom skrbi. To podrazumijeva blisku povezanost savjetova lišta za trudnice, ambulante za kliničko-opstetričku obradu, laboratorijske službe i tima u citogenetskoj dijagnostici. Nedvojbeno je da takav pristup donosi najveću dobrobit za pacijentice te je razumljiva visoka stopa prihvaćanja mogućnosti ranog probira od 98% u zemljama s višegodišnjim iskustvom u programu OSCAR.<sup>23</sup>

U našoj istraživanoj populaciji, 72,5% trudnica s povećanim kombiniranim rizikom aneuploidija odlučilo se za dijagnostički postupak. Taj je podatak u skladu s rezultatima Nicolaidesa i sur. koji pokazuju da prosječno 77,6% na testu rizičnih trudnica prihvaća invazivni zahvat.<sup>27</sup> Raniji rezultati iz naše zemlje, koje su objavili Brajenović-Milić i sur.<sup>28</sup> pokazuju da u Primorsko-goranskoj županiji prosječna stopa prihvaćanja amniocenteze ne prelazi 10% od ukupnog broja poroda. U toj se regiji, u prosjeku, 30–40% trudnica odlučuje za biokemijski probir u drugom tromjesečju trudnoće. Naše je istraživanje pokazalo da je samo 14,9% trudnica prihvatilo invazivni zahvat, ukoliko je povećani dobni rizik uzet kao izborni kriterij.

U rezultatima ovog rada pokazali smo da je srednja gestacijska dob na dan ultrazvučnog pregleda bila 84,8 dana, odnosno 86,4 dana kod vađenja krvi. To potvrđuje da smo uspjeli uskladiti vrijeme vađenja krvi s preporučenim optimalnim intervalom od 11.–13. tjedna te se donekle približiti modelu obavljanja probira u, za naše okolnosti, najkraćem mogućem vremenu. Iako su spoznaje o uspješnosti kombiniranog probirnog testa u Hrvatskoj izvedene iz relativno kratkog iskustva, rezultati podupiru naše opažanje o sve većem broju trudnica koje se odlučuju za probir u ranijoj trudnoći. U našoj se ustanovi također provodi i dvostruki biokemijski test (double test) u drugom tromjesečju trudnoće.

Tijekom posljednjih 27 mjeseci, od kada se primjenjuje i kombinirani probir u prvom tromjesečju, broj trudnica koje su pristupile probirnim testovima podijelili smo na 9-mjesečne intervale. U prvom razdoblju ukupno 361 trudnica učinila je kombinirani test, u drugom njih 1280, dok je u trećem 1607 trudnica pristupilo testu probira u prvom tromjesečju. U istim je razdobljima provedeno 1310, zatim 1402, odnosno 1379 double testova u drugom tromjesečju trudnoće. Nemamo namjeru pristrano tumačiti rezultate, ali smatramo da je povećano zanimanje trudnica za kombinirani probir, s jedne strane, odraz njihovih osobnih sklonosti, a s druge činjenice da se, prema izvješću Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo iz 2007. godine, oko 73% trudnica ja-

vlja na prvi ultrazvučni pregled prije 14. tjedna ([www.hzjz.hr/publikacije.htm](http://www.hzjz.hr/publikacije.htm)). To su ujedno pokazatelji da postoje vrlo dobre pretpostavke za modernu organizaciju antenatalne skrbi u nas, sukladno preporukama struke i programu mjera zdravstvene zaštite (EURO-CAT working group. Survey of prenatal screening policies in Europe, [www.blacwell-synergy.com](http://www.blacwell-synergy.com)).

Uloga i važnost unutarnje i vanjske kontrole kvalitete na svim razinama provođenja kombiniranog probira postala je nezaobilazna i u našoj zemlji. Uvjete pod kojima se odvija analiza biokemijskih biljega uspjeli smo maksimalno približiti zahtjevima FMF-a. To potvrđuju visoka analitička preciznost i dopuštena odstupanja u mjerenjima koncentracija biokemijskih biljega prema referentnoj metodi. Nadalje, standardne devijacije logaritmiranih MoM vrijednosti slobodnog  $\beta$ -hCG i PAPP-A potpuno su sukladne rezultatima u FMF-kontroliranim studijama.

Najteže je ujednačiti postupak mjerenja ultrazvučnih biljega.<sup>24</sup> Postupnik FMF-a zahtijeva mjerenje fetusa u sagitalnom presjeku, uvećanje prikaza glave i toraksa na 75% ekrana, tako da je pomak kursora za 0,1 mm, položaj kalipera »in to in« za hipoehogenu nuhalnu zonu, precizno razlikovanje kože od amnionske membrane, kao i preporučena tri neovisna mjerenja u vremenu od barem 20 minuta. Preporučeni optimalno vrijeme za mjerenje nuhalnog nabora je pri udaljenosti tjemertica od 45 mm do 84 mm.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da je standardna devijacija logaritmiranih MoM NT vrijednosti, u neugroženim trudnoćama, bila 0,1855, što je veće od 0,1179, prosječne standardne devijacije koju su ustanovili ugledni FMF-centri za ultrazvučni pregled u prvom tromjesečju.<sup>20,21,23</sup>

Na kraju, zaključujemo da su dosadašnji rezultati potvrdili zadovoljavajuće osnove za provođenje kombiniranog ultrazvučnog i biokemijskog probira fetalnih aneuploidija u našoj zemlji. Premda broj trudnica u ovom retrospektivnom istraživanju predstavlja relativno mali uzorak u usporedbi s rezultatima u ostalim europskim centrima, pokazali smo da je, s obzirom na demografska obilježja, sukladan obilježjima prosječne trudičke populacije u Hrvatskoj. Također, vidljiv je kontinuirani porast broja trudnica koje se odlučuju na neinvazivne metode u trudnoći. Iako probir u prvom tromjesečju trudnoće u našoj zemlji nije obavezan te, zasad, nije organiziran na razini nacionalnog programa, ovakav pristup nedvojbeno daje veće mogućnosti roditeljima da se ranije odluče za postupke tijekom trudnoće, u skladu s njihovim osobnim izborom i sklonostima. S druge strane, prvi rezultati nas obvezuju da poštujemo i slijedimo visoke standarde i zahtjeve struke te u svim oblicima multidisciplinarnе suradnje radimo na optimizaciji započetog programa.

## Literatura

1. Brajenović-Milić B, Tišlarić D, Bačić J et al. Screening for Down's syndrome and neural tube defect in Croatia: A regional prospective study. *Fetal Diag Ther* 1998;13:367–71.

2. Huderer-Đurić K, Škrablin S, Kuvačić I et al. The triple marker test in predicting fetal aneuploidy: A compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 2000;88:49–55.
3. Nicolaides KH, Snijders RJ, Gosden CM et al. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities. *Lancet* 1992;340:704–7.
4. Snijders RJ, Noble P, Sebire N et al. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10–14 weeks of gestation. *Lancet* 1998;351:343–6.
5. Nicolaides KH, Spencer K, Avigdon K et al. Multicenter study in first trimester screening for trisomy 21 in 75.821 pregnancies: Results and estimation of the potential impact of individual risk-oriented two stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:221–6.
6. Nicolaides KH, Heath V, Cicero S. Increased fetal translucency at 11–14 weeks. *Prenat Diagn* 2002;22:308–15.
7. Tul N, Spencer K, Noble P et al. Screening for trisomy 18 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta hCG, PAPP-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 1999;19:1035–42.
8. Spencer K, Souter V, Tul N et al. A screening program for trisomy 21 at 10–14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:231–7.
9. Avigdon K, Papageorghiou A, Bindra R et al. Prospective first-trimester screening for trisomy 21 in 30.564 pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2005;192:1761–7.
10. Spencer K, Nicolaides KH. A first trimester trisomy 13/trisomy 18 algorithm combining fetal translucency thickness, maternal serum free  $\beta$ -hCG and PAPP-A. *Prenat Diagn* 2003;22:877–9.
11. Barclay L, Lie D. New guidelines recommend universal prenatal screening for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2007;109:217–28.
12. Spencer K, Spencer CE, Power M et al. One stop clinic for assessment for fetal anomalies: A report of the first year of prospective screening for chromosomal anomalies in the first trimester. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:1271–5.
13. Kos M, Kurjak A, Hafner T. Postupnik ultrazvučnog nadzora u trudnoći. U: Kurjak A i Kupešić S (ur.), *Ginekologija i perinatologija II*. Varaždinske Toplice: Tonimir, 2003:199–204.
14. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G et al. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal translucency, absent fetal nasal bone, free  $\beta$ -hCG and PAPP-A at 11 to 14 weeks. *Prenat Diagn* 2003;23:306–10.
15. Borrel A, Gonce A, Martinez JM et al. First trimester screening for Down syndrome with Ductus venosus Doppler studies in addition to nuchal translucency and serum markers. *Prenat Diagn* 2005;25:901–5.
16. Huggon IC, De Figuereido DB, Allan LD. Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11–14 weeks of gestation. *Heart* 2003;89:1071–3.
17. Borenstein M, Persico N, Strobl I, Sonek J, Nicolaides KH. Frontomaxillary and mandibulomaxillary facial angles at 11<sup>+0</sup> to 13<sup>+6</sup> weeks in fetuses with trisomy 18. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;3:928–33.
18. Spencer K, Crossley JA, Aitken DA et al. The effect of temporal variations of biochemical markers of trisomy 21 across the first and second trimester of pregnancy on the estimation of individual patient-specific risks and detection rates for Down's syndrome. *Ann Clin Biochem* 2003;40:219–31.
19. Robinson HP, Fleming JEE. A critical evaluation of sonar crown-rump length measurement by ultrasound in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1975;82:702–10.
20. Nicolaides KH, Snijders RJ, Cukle RS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening. *Prenat Diagn* 1998;18:519–23.
21. Schuster K, Hafner E, Stengl G et al. The first trimester 'combined test' for the detection of Down syndrome pregnancies in 4939 unselected pregnancies. *Prenat Diagn* 2002;22:211–5.
22. Muller F, Benattar C, Audibert F et al. First-trimester screening for Down syndrome in France combining fetal translucency measurement and biochemical markers. *Prenat Diagn* 2003;23:833–6.
23. Spencer K, Nicolaides KH. Screening for chromosome abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in one-stop clinic: a review of three years prospective experience. *Br J Obstet Gynaecol* 2003;110:281–6.
24. Valinen Y, Rapukko K, Kokkonen H et al. Clinical first-trimester routine screening for Down syndrome in singleton pregnancies in Northern Finland. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:278e1–278e5.
25. Spencer K. Age related detection and false positive rates when screening for Down's syndrome in the first trimester using fetal nuchal translucency and maternal serum free  $\beta$ -hCG and PAPP-A. *Br J Obstet Gynaecol* 2001;108:1043–6.
26. Tišlarić-Medenjak D. Probir dvostrukim biokemijskim testom. *Gynaecol Perinatol* 2003;12(suppl.1):68–71.
27. Nicolaides KH, Chervenak FA, McCullough LB et al. Evidence-based obstetric ethics and informed decision-making by pregnant women about invasive diagnosis after first-trimester assessment of risk for trisomy 21. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:322–6.
28. Brajenović-Milić B, Prpić I, Petrović O et al. The prevalence of live birth Down syndrome in the region of Primorsko-goranska County in Croatia, 1996–2005: The impact of screening and amniocentesis. *Maternal and Child Health Journal* (u tisku).

Članak primljen: 03. 07. 2008.; prihvaćen: 24. 09. 2008.

Adresa autora: Dr. sc. Dubravka Tišlarić-Medenjak, Endokrinološki laboratorij, Klinika za nuklearnu medicinu i onkologiju KB »Sestre milosrdnice«, Vinogradska 29, 10000 Zagreb