

Nieinwazyjne badania prenatalne w diagnostyce aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21 – aspekty teoretyczne i praktyczne

Non-invasive prenatal test in the diagnosis of aneuploidy 13, 18 and 21 – theoretical and practical aspects

Stembalska Agnieszka¹, Łaczmńska Izabela¹, Dudarewicz Lech²

¹ Katedra i Zakład Genetyki, Akademia Medyczna we Wrocławiu, Polska

² Zakład Genetyki Instytutu Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi, Polska

Streszczenie

Częstość występowania liczbowych aberracji chromosomowych wynosi w trakcie trwania całej ciąży ok. 5%, a u żywo urodzonych noworodków około 0,2%. Najczęściej stwierdzane aberracje liczbowe u żywo urodzonych to trisomie chromosomów 13, 18, 21, X i Y oraz monosomia chromosomu X.

Szacuje się, że około 70-80% noworodków z aneuploidiami rodzonych jest przez kobiety, które nie mają wyraźnych czynników ryzyka, dlatego według najnowszych rekomendacji PTG, diagnostyka prenatalna, zwiększająca wykrywalność aneuploidii u płodu, powinna być proponowana całej populacji kobiet. Ze względu na ryzyko powikłań towarzyszące badaniom inwazyjnym i dużą liczbę niepotrzebnie wykonywanych badań tego typu postuluje się, żeby diagnostyka inwazyjna stosowana była w ściśle określonych przypadkach, natomiast diagnostyka nieinwazyjna miała charakter przesiewowy.

Do diagnostyki nieinwazyjnej zalicza się: 1) szczegółowe badania USG wykonywane w 11-13(+6 dni) t.c. oraz w 18-24 t.c.; 2) testy biochemiczne: test PAPP-A (test I trymestru) i test potrójny (test II trymestru) a także rzadziej wykonywane: test podwójny, poczwórny i zintegrowany.

Wysoki wskaźnik wykrywalności aberracji chromosomowych w badaniach nieinwazyjnych (co najmniej 75%, przy nie wyższym niż 5% ryzyku uzyskania wyników fałszywie dodatnich) i brak powikłań po ich wykonaniu stanowią o dużej wartości nieinwazyjnej diagnostyki prenatalnej.

Słowa Kluczowe: **aneuploidie / PAPP-A / testy biochemiczne / prenatalna diagnostyka nieinwazyjna /**

Adres korespondencyjny:

Agnieszka Stembalska
Katedra i Zakład Genetyki, Akademia Medyczna
Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław, Polska
tel.: +48 71 784 12 56, fax: +48 71 784 00 63
e-mail: agnes@gen.am.wroc.pl

Otrzymano: 10.07.2010
Zaakceptowano do druku: 20.01.2011

Abstract

The incidence of numerical chromosome aberrations is about 5% during the entire pregnancy, and about 0.2% in live-born infants. Most commonly observed numerical aberrations in live births are trisomies of chromosomes 13, 18, 21, X and Y and monosomy of the X chromosome.

It is estimated that approximately 70-80% of newborns with aneuploidies are born by women who did not present obvious risk factors, therefore, according to a recent recommendation by PTG, prenatal diagnosis increasing the detection of fetal aneuploidy should be offered to the entire population of women. Due to the risk of complications associated with invasive tests and a large number of unnecessarily performed tests of this type, it is postulated that invasive diagnostics should be used in very specific cases, and a non-invasive diagnostics should have a screening character.

Non-invasive diagnostics include: 1) detailed ultrasonography performed in 11-13(+6 days) hbd and in 18-24 hbd; 2) biochemical tests: PAPP-A (first-trimester test) and the triple test (second-trimester test) and less frequently performed: double, quadruple, and integrated tests.

High detection rate of chromosomal aberrations in non-invasive tests (at least 75%, with no more than 5% risk of obtaining false positive results) and lack of procedure-related pregnancy losses constitute the advantage of non-invasive prenatal diagnosis.

**Key words: aneuploidy / PAPP-A / maternal serum screening /
/ biochemical screening / prenatal diagnosis / non-invasive /**

Wstęp

Częstość występowania liczbowych aberracji chromosomowych (w większości aneuploidii¹) u żywo urodzonych noworodków wynosi około 0,2% [1]. W trakcie trwania całej ciąży częstość ta sięga nawet 5% [2]. Aneuploidie mogą dotyczyć wszystkich chromosomów, jednak u żywo urodzonych dzieci stwierdzane są prawie wyłącznie trisomie chromosomów 13, 18, 21, X, Y oraz monosomia chromosomu X. Średnie ryzyko populacyjne urodzenia dziecka z trisomią 21 wynosi 1:800, trisomią 18 - 1:6000, trisomią 13 - 1:10000, trisomią chromosomów płci 1:500, monosomią chromosomu X 1:2500 dziewczynek [3, 4, 5].

Ryzyko urodzenia dziecka z aneuploidiami chromosomów autosomalnych (13, 18, 21) wzrasta wraz z wiekiem matki (Tabela I) [5, 6]. Wiek ≥ 35 r.ż. stanowi w chwili obecnej w Polsce główne wskazanie do objęcia kobiet w ciąży Programem Badań Prenatalnych i wykonania diagnostyki prenatalnej [7]. Z roku na rok rośnie liczba kobiet decydujących się na późne macierzyństwo, tym samym rośnie liczba kobiet kwalifikujących się do badań prenatalnych [8]. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego średni wiek kobiet rodzących w Polsce już w 2010 roku będzie wynosił 29,13 lat dla miast, 28,49 dla wsi² i wartości te wykazują dalszą tendencję wzrostową [8]. Z jednej strony związane jest to ze świadomymi decyzjami (np. priorytet: kariera), a z drugiej strony ze zwiększonym odsetkiem par z niepowodzeniami rozrodu (około 10-15% par w wieku rozrodczym). W tym ostatnim przypadku pojawienie się dziecka jest często związane z długotrwałym leczeniem jednego lub obojga partnerów [9].

Obniżenie ryzyka urodzenia dziecka z aneuploidią obserwuje się wraz z zaawansowaniem ciąży. Wiąże się to z wysokim

prawdopodobieństwem samoistnych poronień ciąż z aberracją liczbową chromosomów (ok. 70% wszystkich poronionych zarodków/płodów) [1, 5, 10]. Szacuje się, że ryzyko poronienia lub wewnątrzmacicznego obumarcia płodu z trisomią 21 pomiędzy 12 a 40 tygodniem ciąży wynosi około 30%, z trisomią 13 lub 18 oraz z monosomią chromosomu X – ponad 80% [5]. Wraz z wysokością ciąży nie zmienia się natomiast ryzyko wystąpienia trisomii chromosomów płciowych, dla których ryzyko samoistnego zakończenia ciąży nie jest wyższe niż populacyjne [5].

Pełna diagnostyka aberracji chromosomowych w okresie przedurodzeniowym opiera się na badaniach prenatalnych inwazyjnych takich, jak biopsja trofoblastu (11-14 t.c.), amniopunkcja (15-19 t.c., niekiedy później) lub kordocenteza (po 19 t.c.) z następującym po pobraniu materiału płodowego klasycznym badaniem cytogenetycznym (ocena kariotypu) [11]. W zależności od wskazań, diagnostyka poszerzana jest o techniki molekularne, których atutem jest krótki czas oczekiwania na wynik. W przypadku stosowania mikromacierzy można uzyskać również wyższą rozdzielczość i możliwość wykrywania zespołów uwarunkowanych mikroaberracjami i innymi zmianami niewidocznymi w klasycznych badaniach [12]. Dotychczas stosowane wskazania do inwazyjnych badań prenatalnych, związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia aneuploidii u płodu przedstawiono w tabeli II.

Diagnostyka inwazyjna, zważywszy na fakt analizowania bezpośrednio materiału genetycznego (chromosomów) płodu, pozwala niemal³ w 100% potwierdzić lub wykluczyć liczbą aberrację chromosomową. Ze względu jednak na ryzyko powikłań (m.in. poronienie) towarzyszące badaniom inwazyjnym i dużą liczbę niepotrzebnie wykonywanych tego typu badań postuluje się, żeby diagnostyka inwazyjna stosowana była w ściśle określonych przypadkach [7].

1 Aneuploidia – nieprawidłowa liczba chromosomów, niebędąca krotnością podstawowej liczby $n=23$.

2 Wg GUS na 2009 [http://www.stat.gov.pl/cps/rde/xbcr/gus/PUBL_progniza_ludnosci_PI_2008-2035.pdf]

3 Wyjątkiem mogą być postacie mozaikowe danego zespołu (co najmniej 2 linie komórkowe: prawidłowa i nieprawidłowa), w których liczba komórek nieprawidłowych jest niewielka.

Zgodnie z danymi Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTG) np. sam wiek kobiety (>35 r.ż.) wydaje się być słabym czynnikiem prognostycznym dla oceny ryzyka wystąpienia aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21, tym samym nie jest wystarczającym wskazaniem do wykonania inwazyjnych badań prenatalnych [7, 13]. Skoro, jak się szacuje, około 70-80% noworodków z aneuploidiami rodzonych jest przez kobiety, które nie mają wyraźnych czynników ryzyka, diagnostyka prenatalna zwiększająca wykrywalność aneuploidii u płodu powinna być proponowana całej populacji kobiet [14, 15].

Według najnowszych rekomendacji Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego opublikowanych w Ginekologii Polskiej 2009 (PTG 2009) wskazane jest wykonywanie u wszystkich ciężarnych pacjentek nieinwazyjnych badań prenatalnych i dążenie do nadania im charakteru badań przesiewowych [7, 16].

Przesiewowa diagnostyka prenatalna (badania prenatalne nieinwazyjne), stosowana dla oceny ryzyka wystąpienia aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21, polega na analizie określonych parametrów płodu przy użyciu badania USG oraz na oznaczeniu określonych markerów biochemicznych w surowicy kobiety ciężarnej. Jest to diagnostyka, która nie niesie ze sobą żadnego ryzyka powikłań ani dla matki, ani dla płodu. Zgodnie z rekomendacjami PTG 2009, które odpowiadają standardom światowym, badania nieinwazyjne powinny charakteryzować się wysoką wykrywalnością aberracji chromosomowych – co najmniej 75%, przy nie wyższym niż 5% ryzyku uzyskania wyników fałszywie dodatnich [7, 13]. Wykonując badania nieinwazyjne należy zapewnić zarówno wysoką jakość udzielanych porad medycznych, jak i jakość badań (certyfikowane metody oznaczeń biochemicznych, programy komputerowe). Powinno być to osiągnięte dzięki odpowiednim szkoleniom, certyfikatom i corocznym audytom [7]. Komputerowa ocena ryzyka aberracji chromosomowych wiąże się z otrzymaniem statystycznego wyniku badania, np. 1:100, tj. istnieje prawdopodobieństwo, że jedna na 100 kobiet z takimi samymi wynikami urodzi dziecko z aberracją, 99 kobiet urodzi dzieci bez aberracji będącej celem skriningu. Badania przesiewowe nie pozwalają na 100% wykluczenie aneuploidii u płodu, ale też w 100% jej nie potwierdzają. Wynika to zarówno z określonego współczynnika wykrywalności, jak i możliwości uzyskania wyników fałszywie dodatnich i ujemnych. Zgodnie z rekomendacjami PTG 2009 przyjęto, że nieprawidłowe wyniki badań (wynik dodatni - ryzyko równe lub wyższe niż 1:300) mówią o podwyższonym prawdopodobieństwie wystąpienia aneuploidii u płodu i stanowią wskazanie do wykonania inwazyjnej diagnostyki prenatalnej [7]. Wyniki ujemne (ryzyko niższe niż 1:300) mówią o niższym, niż ryzyko powikłań po badaniach inwazyjnych, ryzyku wystąpienia aneuploidii u płodu. Otrzymanie ujemnego wyniku badań przesiewowych, przy braku innych wskazań, pozwala na rezygnację z inwazyjnej diagnostyki prenatalnej [7].

Badanie ultrasonograficzne

Zgodnie z rekomendacjami PTG 2009 pierwsze, szczegółowe badanie ultrasonograficzne powinno być wykonywane rutynowo w 11-13(+6 dni) t.c. Badanie to umożliwia ocenę ryzyka wystąpienia aberracji chromosomowych u płodu poprzez analizę takich parametrów, jak:

- 1) przezierność karkowa (NT – *nuchal translucency*) mierzona w odniesieniu do długości ciemieniowo-

Tabela I. Związek między wiekiem matki a ryzykiem wystąpienia aneuploidii u płodu wg [30, 31].

Wiek matki w chwili porodu	Ryzyko aneuploidii u żywo urodzonego dziecka
30	1 : 385 (0.26%)
35	1 : 192 (0.52%)
38	1 : 102 (0.98%)
40	1 : 66 (1.5%)
45	1 : 21 (4.8%)
49	1 : 8 (12.5%)

- siedzeniowej płodu (CRL – *crown-rump length*),
- obecność lub brak prawidłowego skostnienia kości nosowych (NB – *nasal bone*), czy
- charakterystyka widma przepływu w przewodzie żylnym i na zastawce trójdzielnej,
- pomiar kąta czołowo-szczękowego [5, 16,17].

Nowoczesne aparaty USG na tym etapie zaawansowania ciąży umożliwiają w rękach eksperta również ocenę anatomii płodu i wykrycie np. znacznej części poważnych wad rozwojowych, jak niektóre wady serca. Oprócz wymienionych powyżej markerów ultrasonograficznych, większość strukturalnych anomalii płodu stwierdzanych w obrazie USG wiąże się ze znacznym wzrostem ryzyka aneuploidii, stanowi więc wskazanie do badania kariotypu płodu, nawet jeżeli wady obserwowane są jako izolowane, przy prawidłowym NT i innych markerach aneuploidii. Badanie ultrasonograficzne w 11-13(+6 dni) t.c. musi być połączone z komputerową oceną ryzyka wystąpienia aberracji chromosomowych, uwzględniającą oprócz obrazu USG, również wiek pacjentki oraz ewentualne obciążenia wywiadu położniczego. Rekomendowane przez PTG i zalecane przez Fundację Medycyny Płodowej (FMF – *Fetal Medicine Foundation*) metody oznaczeń biochemicznych oparte powinny być o technologię Delfia lub Kryptor [18, 19].

Zgodnie z rekomendacjami PTG i zasadami FMF, USG powinno być przeprowadzone przez lekarzy posiadających certyfikat PTG i FMF, a wykonywane przez nich badania należy poddawać okresowej kontroli jakości [7, 19].

Kolejne prenatalne badanie USG (szczegółowe, genetyczne), zgodnie z rekomendacjami PTG 2009 zalecane jest w 18-24 tygodniu ciąży [7, 17]. Umożliwia ono dalszą ocenę rozwoju płodu i rozpoznanie/wykluczenie wrodzonych wad, jak wady serca, układu kostnego, o.u.n, przewodu pokarmowego, twarzoczaszki i in. [5, 17].

Niektóre z w/w. wad mogą być składową aberracji chromosomowych. W związku z tym wynik badania USG w 18-24 t.c. może modyfikować ryzyko wystąpienia aneuploidii u płodu obliczone na podstawie wyników badania USG w 11-13(+6 dni) t.c. i badań przesiewowych. Podobnie jak przy badaniu w pierwszym trymestrze ciąży, w przypadku podejrzenia wad u płodu należy rozważyć diagnostykę inwazyjną.

Nieliczne wady rozwojowe nie stanowią wskazania do badania kariotypu płodu, m.in.: wytrzewienie, izomeryzm, izolowana nerka torbielowata dysplastyczna.

Testy biochemiczne

Testy biochemiczne pozwalają na określenie ryzyka wystąpienia u płodu m.in. trisomii 21, 13 i 18, monosomii X a także triploidii i otwartych wad cewy nerwowej, poprzez pomiar w surowicy kobiety ciężarnej stężenia określonych markerów biochemicznych [13]. Otrzymane wyniki przeliczane są na wartości MoM, czyli wielokrotność mediany (MoM – *Multiples of the Median*), która jest wartością względną, umożliwiającą porównywanie otrzymanych stężeń badanych parametrów określanych za pomocą różnych metod analitycznych, w różnych tygodniach ciąży. MoM uzyskuje się dzieląc wartość stężenia badanego parametru przez medianę (wartość środkową) dla danego tygodnia ciąży. Ze względu na różnice populacyjne aby określić mediany dla poszczególnych tygodni ciąży należy przebadać w danym laboratorium, przy użyciu jednej metody oznaczeń biochemicznych, określoną grupę (co najmniej 100) kobiet w danym tygodniu ciąży, z danej populacji. Na stężenia badanych parametrów mogą mieć wpływ np.: stosowana metoda analityczna, masa ciała ciężarnej, palenie papierosów, cukrzyca typu 1, zapłodnienie *in vitro*. Niedokonanie korekcji wyników pod kątem wpływu w/w czynników może powodować wzrost liczby wyników fałszywie dodatnich lub ujemnych [14]. W związku z tym do kalkulacji ryzyka wystąpienia aberracji chromosomów wykorzystywane powinny być wspomniane już specjalistyczne programy komputerowe (standardy FMF i rekomendacje PTG). Błędem w sztuce jest analizowanie osobno każdej ze składowych testów biochemicznych i na tej podstawie określanie ryzyka wystąpienia aneuploidii u płodu.

Należy również pamiętać, że niektóre leki z grupy antybiotyków, leków antywirusowych, antydepresantów, immunosupresantów, leków na astmę, leków hormonalnych też mogą wpływać na wyniki testów biochemicznych zwiększając liczbę wyników fałszywie dodatnich [20].

Do najczęściej zalecanych i wykonywanych testów biochemicznych należą test PAPP-A (test I trymestru) i test potrójny (test II trymestru).

Test PAPP-A polega na ocenie w 11-13(+6 dni) t.c. w surowicy kobiety ciężarnej stężenia ciążowego białka A (*pregnancy-associated plasma protein A*) oraz wolnej podjednostki β -hCG (human chronic gonadotropin) wraz z pomiarem NT w badaniu USG przy CRL pomiędzy 45 a 84mm [16].

Test ten polecany jest wszystkim kobietom w ciąży ze względu na wczesny czas wykonywania oraz wysoką wykrywalność aberracji liczbowych chromosomów 21, 13 i 18. Wykrywalność aberracji chromosomowych w teście PAPP-A określana jest na 90% dla trisomii 21 przy 5% odsetku wyników fałszywie dodatnich [13, 16]. Dla trisomii 18 i 13 wykrywalność wynosi ponad 91% przy 2 do 5% wyników fałszywie dodatnich [21, 22]. Wykrywalność 90% oznacza, że badanie wykrywa 9 na 10 przypadków trisomii. Zastosowanie dodatkowych, wymienionych powyżej ultrasonograficznych markerów aneuploidii dodatkowo zwiększa czułość i swoistość diagnostyki.

- Białko PAPP-A (*pregnancy associated plasma protein A*) ulega ekspresji m.in. w pęcherzyku jajnikowym, płynie pęcherzykowym, komórkach ciała żółtego. Poziom stężenia białka PAPP-A w surowicy kobiety ciężarnej wzrasta eksponencjalnie podczas trwania ciąży. Charakterystyczna zmiana w stężeniu widoczna jest między 10 a 14 tygodniem ciąży i ten czas uznawany jest za naj-

lepszy do przeprowadzenia badań. Niski poziom białka PAPP-A w surowicy ciężarnej w pierwszym trymestrze ciąży (średnio około 0,5 MoM w przypadku trisomii 21 u płodu) jest związany z występowaniem aberracji chromosomowych u płodu (OMIM 176385) [23]. Pomiar stężenia PAPP-A nie jest stosowany jako samodzielny test przesiewowy w kierunku aneuploidii płodu.

- Wolna podjednostka β -hCG –gonadotropiny kosmówkowej (*free beta chronic gonadotropin, beta chain; CGB*). Gonadotropina kosmówkowa jest glikoproteiną, hormonem produkowanym przez komórki trofoblastu począwszy od 10-12 dnia po zapłodnieniu. Hormon ten przyłącza się do ciała żółtego jajnika i stymuluje je do produkcji progesteronu (OMIM 118860) [23]. Stężenie wolnej podjednostki β -hCG po początkowym wzroście, obniża się między 10 a 20 tygodniem ciąży. Podwyższony, lub obniżony poziom wolnej podjednostki β -hCG w surowicy ciężarnej w pierwszym trymestrze ciąży (średnio w trisomii 21 około 2 MoM) jest związany z występowaniem aberracji chromosomowych u płodu [16].

Wysoka czułość testu PAPP-A i wczesny czas wykonywania badania przemawiają za tym, by właśnie to badanie było polecane jako przesiewowe, niezależnie od wieku kobiet w ciąży. Niemniej należy pamiętać, że nieprawidłowe wyniki testu PAPP-A można otrzymać w innych przypadkach niż aneuploidie chromosomów 13, 18 i 21. Na przykład pogrubienie przezierności karkowej może występować w przypadku wielu wad rozwojowych i zespołów uwarunkowanych genetycznie, również spowodowanych innymi przyczynami, niż aberracje chromosomowe. Należą do nich np. zespół Noonan, SMA (rdzeniowy zanik mięśni), inne wrodzone miopatie i inne przyczyny sekwencji akinezji płodu, dysplazje kostne, zwłaszcza letalne, anemia płodu m.in. na tle genetycznym, infekcyjnym, zespół Beckwith-Wiedemana, zespół Smitha-Lemlego-Opitza, wady układu krążenia i klatki piersiowej oraz przepony.

Dodatni wynik testu biochemicznego można uzyskać także w przypadku zaburzeń funkcji łożyska, np. w ciążach powikłanych w późniejszym czasie stanem przedrzucawkowym, cukrzycą ciężarnych czy nadciśnieniem tętniczym [24]. W związku z tym wykluczeniu aberracji liczbowych w badaniach inwazyjnych powinna towarzyszyć bezwzględnie dalsza szczegółowa diagnostyka ultrasonograficzna i położnicza [7].

Testy biochemiczne drugiego trymestru

Test potrójny polega na ocenie stężenia wolnej podjednostki beta gonadotropiny kosmówkowej (choć stosowane są również inne izoformy hCG, np. całkowita hCG), α -fetoproteiny oraz wolnego estriolu uE_3 w surowicy kobiety ciężarnej optymalnie w 15-17 t.c. Na podstawie powyższych danych, uzupełnionych o wiek kobiety ciężarnej i inne parametry modyfikujące (masa ciała, palenie tytoniu itp.) obliczane jest ryzyko trisomii 18, 21 oraz otwartej wady cewy nerwowej płodu. Nieprawidłowe wyniki testu potrójnego stwierdza się oprócz wyżej wymienionych także w przypadkach monosomii chromosomu X, triploidii, wad powłok brzusznych płodu.

Czułość testu potrójnego szacuje się na 60-70 % dla trisomii 21 oraz ok. 80% dla wad cewy nerwowej i wad powłok brzusznych. Otrzymanie dodatniego wyniku badania (zwiększone ryzyko wystąpienia aneuploidii lub w/w wad u płodu) jest wskazaniem

do wykonania inwazyjnych badań prenatalnych lub/i szczegółowych badań ultrasonograficznych, na podstawie których można dokonać dalszej modyfikacji ryzyka choroby płodu.

Test nie jest polecany dla pacjentek z zaawansowanym wiekiem metrykalnym, tj. po 42 r.ż. (wysokie prawdopodobieństwo wyniku fałszywie dodatniego ze względu na wysokie ryzyko *a priori*) [17]:

- α -fetoproteina (AFP) – jest białkiem osocza, wytwarzanym przez płód we wczesnym okresie ciąży. Produkowana jest przez wątrobę i pęcherzyk żółtkowy (OMIM 104150) [24]. Stężenie AFP wzrasta w surowicy kobiety w sposób ciągły w czasie ciąży (w płynie owodniowym rośnie między 10. a 14. tygodniem, a następnie maleje). Obniżone stężenie AFP w surowicy (<0,5 MoM) stwierdzane jest w przypadkach aneuploidii chromosomów. Podwyższone stężenie AFP bez zmiany pozostałych parametrów testu może występować w przypadku: wad cewy nerwowej płodu, wad powłok brzusznych płodu, śmierci płodu, ciąży bliźniaczej.

U ok. 2% zdrowych kobiet ocena poziomu AFP w surowicy wykazuje wartości podwyższone. Podwyższony poziom AFP w surowicy ciężarnej jest wskazaniem do oznaczenia w płynie owodniowym acetylocholinesterazy (AChE), AFP oraz wykonania szczegółowego badania USG w kolejnych tygodniach ciąży [17, 25].

- β -hCG – opis jak wyżej.
- wolny estriol E3 (uE3) - jest to hormon wytwarzany w procesach metabolicznych płodu w wątrobie i nadnerczach a także łożysku. W surowicy kobiety ciężarnej poziom uE3 wzrasta w czasie ciąży [23]. Znamienne obniżenie wolnego estriolu stwierdza się w przypadku jednej z częstszych chorób uwarunkowanych genetycznie w polskiej populacji jaką jest zespół Smitha-Lemlego -Opitza - SLOS (OMIM 270400). Przyczyną tej choroby są mutacje genu DHCR7 (MIM 602858) kodującego reduktazę 7-dehydrocholesterolu, prowadzące do braku lub znaczącego obniżenia aktywności tego enzymu [23].

Brak enzymu powoduje zablokowanie szlaku metabolicznego, obniżenie stężenia cholesterolu, który bierze udział w procesie embriogenezy przez udział w szlaku sygnałowym *Sonic hedgehog*, co w rezultacie prowadzi do wad rozwojowych i zaburzeń rozwoju psychoruchowego. W teście potrójnym stwierdza się znacznie obniżone stężenie niezwiązanego estriolu w surowicy krwi matki (<0,15 MoM), gdyż estriol, jako hormon steroidowy jest produktem przemian cholesterolu i ulega znaczącemu obniżeniu w przypadku zespołu SLO u płodu.

Obniżenie wolnego estriolu w surowicy krwi matki występuje również w przypadku niedoboru sulfatazy steroidowej u płodu, powodującej objawy rybiej łuski u dziecka po urodzeniu. W odróżnieniu od zespołu SLO, nie ma jednak zgodności co do znaczenia prenatalnego stwierdzenia tej choroby u płodu [26].

Opisano kilka innych niedoborów enzymatycznych na drodze przemiany cholesterolu, które mogą prowadzić do wad rozwojowych u płodu i obniżonego stężenia wolnego estriolu w teście potrójnym, ale są to choroby wielokrotnie rzadsze od zespołu SLO i niedoboru sulfatazy steroidowej.

Tabela II. Wskazania do wykonania diagnostyki prenatalnej inwazyjnej – podejrzenie wystąpienia aneuploidii u płodu wg zasad realizacji Programu Badań Prenatalnych 2009 [32].

Wiek matki w terminie porodu >35 r.ż. (Zgodnie z aktualnymi zaleceniami powyżej 40 r.ż.)
Poprzednie dziecko z aneuploidią
Nieprawidłowe wyniki testów przesiewowych
Wady rozwojowe płodu w badaniu USG, które mogą być wywołane aberracjami chromosomów

Rzadziej wykonywane są testy: podwójny, poczwórny i zintegrowany.

Test podwójny polega na ocenie w surowicy krwi ciężarnej stężenia jednej z izoform hCG oraz α -fetoproteiny bez wolnego estriolu. Test wykonywany jest w II trymestrze ciąży, ma nieco niższą czułość niż test potrójny [27].

Test poczwórny polega na ocenie w surowicy ciężarnej stężenia jednej z izoform hCG, α -fetoproteiny, wolnego estriolu E₃ oraz inhibiny A. Test wykonywany jest jako test II trymestru ciąży. Jego współczynnik wykrywalności jest o ok. 3-6% wyższy niż testu potrójnego, dodatkowo liczba wyników fałszywie dodatnich jest niższa o ok. 0,9-2% w porównaniu do testu potrójnego.

- hCG, AFP i uE3 – jak wyżej.
- inhibina A – glikoproteina, hormon wytwarzany w łożysku i gonadach, składa się z dwóch podjednostek (OMIM 147380) [23]. Jej stężenie zwiększa się w przypadkach wystąpienia trisomii 21 u płodu.

Testem łączącym zalety testu I i II trymestru jest test zintegrowany oraz jego modyfikacje.

Test zintegrowany [11-13(+6 dni) t.c.i 15-19 t.c.] polega on na różnoczasowym wykonaniu zarówno pomiaru przezierności karkowej płodu, testu PAPP-A, jak i testu poczwórnego lub potrójnego oraz łącznym opracowaniu obu testów przez odpowiedni program komputerowy. Zwiększa to czułość i swoistość testu, niemniej odwleka w czasie podjęcie ewentualnej decyzji o diagnostyce inwazyjnej, ze względu na dokonywanie kalkulacji ryzyka dopiero w II trymestrze, po pobraniu krwi na test potrójny lub poczwórny [28]. W przypadku pacjentek ze znacznie podwyższonym ryzykiem aneuploidii płodu w oparciu o parametry z pierwszego trymestru (np. pogrubienie NT) wątpliwości etyczne budzi odwlekanie diagnostyki do momentu otrzymania wyników testu biochemicznego drugiego trymestru. Z tego powodu test zintegrowany nie jest już wykonywany. Jego aktualnie stosowaną modyfikacją jest skrining kontyngentowy. Polega ona na wykonaniu testu PAPP-A z pomiarem NT (w zależności od kompetencji ultrasonografisty uzupełnionego ewentualnie o inne markery aneuploidii płodu w I trymestrze ciąży) i określeniu dwóch wartości odcięcia, określających trzy rodzaje wyników:

- niskiego ryzyka, przy którym dalszy skrining nie jest zalecany (typowo ryzyko trisomii 21 poniżej 1:1500),
- wysokiego ryzyka, przy którym zalecana jest diagnostyka

- inwazyjna (typowo ryzyko trisomii 21 powyżej 1:50),
- pośredniego ryzyka, przy którym zalecane jest wykonanie testu poczwórnego lub potrójnego i kalkulacja ryzyka w oparciu łącznie o parametry pierwszego i drugiego trymestru (typowo ryzyko trisomii 21 pomiędzy 1:50 a 1:1500).

Zaletą skriningu kontyngentowego jest możliwość wcześniejszego wykonania badania inwazyjnego w przypadku stwierdzenia wysokiego ryzyka aneuploidii płodu w oparciu o wynik badania w pierwszym trymestrze oraz niższy koszt, związany z brakiem diagnostyki u większości pacjentek w drugim trymestrze ciąży [29].

Alternatywę dla badań biochemicznych w drugim trymestrze ciąży jako metody modyfikacji ryzyka obliczonego w trymestrze pierwszym stanowi badanie USG genetyczne II trymestru ciąży z badaniem echokardiograficznym płodu.

Ograniczenia w wykonywaniu badań nieinwazyjnych

Nieinwazyjne badania prenatalne powinny być proponowane wszystkim kobietom w ciąży i mieć charakter badań przesiewowych. Zgodnie z rekomendacjami PTG 2009 diagnostykę taką można pominąć u kobiet po 40 r.ż., jak i kobiet świadomie rezygnujących z badań nieinwazyjnych oraz kobiet w ciąży mnogiej. W tym ostatnim przypadku wyniki testów biochemicznych mogą być trudne do interpretacji.

W przypadku ciąży bliźniaczej wynik uzyskiwany jest dla obu płodów jednocześnie. Prawidłowe parametry zdrowego płodu mogą maskować odchylenia markerów u płodu chorego.

Dla ciąż bliźniaczych czułość testów spada – np. testy pierwszego trymestru wraz z pomiarem NT pozwalają na wykrycie około 80% przypadków zespołu Downa, a testy biochemiczne II trymestru około 50% przypadków płodów z tą aberracją [4]. Również pomiar NT u bliźniąt monozygotycznych może być obciążony ryzykiem błędu, ponieważ w przypadku zespołu TTS - transfuzji pomiędzy bliźniętami (*twin to twin transfusion syndrome*) rośnie wartość NT u bliźnięcia biocy, co łączy się ze zwiększonym odsetkiem wyników fałszywie dodatnich [16].

Nie zaleca się stosowania testów biochemicznych dla ciąż trojaczych i liczniejszych [16].

Podsumowanie

Prenatalna diagnostyka nieinwazyjna powinna być wykonywana jako przesiewowa w przypadku każdej ciąży. Istotą proponowanych badań jest statystyczna ocena ryzyka wystąpienia określonych nieprawidłowości u płodu, jak najczęstsze w populacji aneuploidie chromosomów 13, 18, 21.

Wysoki wskaźnik wykrywalności aberracji chromosomowych w badaniach nieinwazyjnych i brak powikłań po ich wykonaniu stanowią o dużej wartości nieinwazyjnej diagnostyki prenatalnej. Pozwala ona uniknąć niepotrzebnie wykonywanej diagnostyki inwazyjnej, np. w przypadkach związanych wyłącznie z wiekiem kobiet. Istotnym aspektem badań prenatalnych, w tym nieinwazyjnej diagnostyki, jest poradnictwo. Powinno mieć ono charakter porady niedyrektywnej. Lekarz powinien skupiać się na prawidłowej interpretacji otrzymanych wyników, możliwościach i ograniczeniach stosowanych metod.

Warunkiem prawidłowej interpretacji badań nieinwazyjnych jest ich prawidłowe wykonanie. Dotyczy to zarówno sprzętu, jak i odpowiednio przygotowanego, przeszkolonego personelu (ginekolog, genetyk kliniczny, diagnosta laboratoryjny). Po wykonaniu badań nieinwazyjnych w każdym przypadku indywidualnie należy rozważyć wskazania do dalszej diagnostyki, przede wszystkim do inwazyjnej diagnostyki prenatalnej.

Wskazania do inwazyjnego badania prenatalnego powinny mieć charakter medyczny. Zważywszy na możliwość powikłań po badaniu inwazyjnym wskazania do ich wykonania powinny być związane z większym w tym przypadku ryzykiem wystąpienia aneuploidii u płodu, niż ryzyko powikłań po badaniu.

W rzadkich przypadkach diagnostykę inwazyjną rozważa się z powodu wysokiego niepokoju kobiety w ciąży (np. świadoma rezygnacja z etapu badań przesiewowych). W każdej z powyższych sytuacji kobieta powinna być poinformowana o możliwościach diagnostycznych i ograniczeniach badania prenatalnego.

Ośrodki zajmujące się diagnostyką prenatalną muszą dodatkowo zapewnić pacjentkom kompleksową opiekę medyczną, w tym specjalistyczne poradnictwo, uwzględniającą świadomą wolę pacjentki na każdym z etapów.

Piśmiennictwo

1. Wang JC. Autosomal aneuploidy. in: The principles of clinical cytogenetics. second ed., Eds. Gersen S, Keagle M. New Jersey: Humana Press, Totowa. 2005, 133-164.
2. Hassold T, Hall H, Hunt P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet.* 2007;16, 203-208.
3. Sutton E, McInerney-Leo A, Bondy C, [et al.]. Turner syndrome: four challenges across the lifespan. *Am J Med Genet A.* 2005, 139A, 57-66.
4. Driscoll D, Gross S. Clinical practice. Prenatal screening for aneuploidy. *N Engl J Med.* 2009, 360, 2556-2562.
5. Nicolaidis K, Węgrzyn P. Badanie ultrasonograficzne między 11-13(+6 dni) tygodniem ciąży. 2004. <http://www.fetalmedicine.com/fmi/FMF-polish.pdf>
6. Morton N, Jacobs P, Hassold T, [et al.]. Maternal age in trisomy. *Ann Hum Genet.* 1988, 52, 227-235.
7. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego dotyczące postępowania w zakresie diagnostyki prenatalnej. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 390-393.
8. www.stat.gov.pl (GUS)
9. Milewski R, Jamiótkowski J, Milewska, [i wsp.]. Prognozowanie skuteczności procedury IVF ICSI/ET – wśród pacjentek Kliniki Rozrodczości i Endokrynologii Ginekologicznej – z wykorzystaniem sieci neuronowych. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 900-906.
10. Fritz B, Hallermann C, Olert J, [et al.]. Cytogenetic analyses of culture failures by comparative genomic hybridisation (CGH)-Re-evaluation of chromosome aberration rates in early spontaneous abortions. *Eur J Hum Genet.* 2001, 9, 539-547.
11. Bocian E. Prenatalna diagnostyka cytogenetyczna chorób genetycznych. Klasyfikacja i zasady oceny kariotypu. *Medical Science Review Genetyka.* 2004, 27-33.
12. Constantinou M, Kałużewski B. Kliniczne aplikacje technik cytogenetyki molekularnej w procesie diagnostyki prenatalnej wybranych przypadków aberracji chromosomowych. *Medical Science Review Genetyka.* 2004, 34-43.
13. Eiben B, Glaubitz R. First-trimester screening: an overview. *J Histochem Cytochem.* 2005, 53, 281-283.
14. Perenc M, Kałużewski B. Test potrójny jako badanie przesiewowe w drugim trymestrze ciąży. *Medical Science Review Genetyka.* 2004, 88-94.
15. Mazurczak T. Poradnictwo genetyczne – czym jest i jakim być powinno. *Medical Science Review Genetyka.* 2004, 11-17.
16. Nicolaidis K. First-trimester screening for chromosomal abnormalities. *Semin Perinatol.* 2005, 29, 190-194.
17. Stembalska A, Slezak R, Pesz K, [et al.]. Prenatal diagnosis-principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007, 45, Suppl 1, 11-16.

Nieinwazyjne badania prenatalne w diagnostyce aneuploidii chromosomów 13, 18 i 21...

KOMUNIKAT

18. Qin Q, Christiansen M, Pettersson K. Point-of-care time-resolved immunofluorometric assay for human pregnancy-associated plasma protein A: use in first-trimester screening for Down syndrome. *Clin Chem*. 2002, 48, 473-483.
19. <http://www.fetalmedicine.com/fmf/> (FMF)
20. Pekarek D, Chapman V, Neely C, [et al.]. Medication effects on midtrimester maternal serum screening. *Am J Obstet Gynecol*. 2009, 201, 622 e1-e5.
21. Spencer K, Spencer C, Power M, [et al.]. Screening for chromosomal abnormalities in the first trimester using ultrasound and maternal serum biochemistry in a one-stop clinic: a review of three years prospective experience. *BJOG*. 2003, 110, 281-286.
22. Wapner R, Thom E, Simpson J, [et al.]. First Trimester Maternal Serum Biochemistry and Fetal Nuchal Translucency Screening (BUN) Study Group. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med*. 2003, 349, 1405-1413.
23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> (OMIM)
24. Spencer K, Yu K, Sawidou M, [et al.]. Prediction of pre-eclampsia by uterine artery Doppler ultrasonography and maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A, free beta-human chorionic gonadotropin, activin A and inhibin A at 22 + 0 to 24 + 6 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006, 27, 658-663.
25. Schell D, Drugan A, Brindley B, [et al.]. Combined ultrasonography and amniocentesis for pregnant women with elevated serum alpha-fetoprotein. Revising the risk estimate. *J Reprod Med*. 1990, 35, 543-546.
26. Schoen E, Norem C, O'Keefe J, [et al.]. Maternal serum unconjugated estriol as a predictor for Smith-Lemli-Opitz syndrome and other fetal conditions. *Obstet Gynecol*. 2003, 102, 167-172.
27. Hwa H, Yen M, Lin C, [et al.]. Cost-effectiveness analysis of triple test in second-trimester maternal serum screening for Down's syndrome: an experience from Taiwan with decreasing birth rate but increasing population of old pregnant women. *J Eval Clin Pract*. 2008, 14, 191-197.
28. Wald N, Watt H, Hackshaw A. Integrated screening for Down's syndrome on the basis of tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med*. 1999, 1341, 461-467.
29. Malone F, Canick J, Ball R, [et al.]. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. First- and Second-Trimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. *N Engl J Med*. 2005, 353, 2001-2011.
30. Hook E. Rates of chromosomal abnormalities at different maternal ages. *Obstetrics & Gynecology*. 1981, 58, 282-285.
31. Hook E, Cross P, Schreinemachers D. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *JAMA*. 1983, 249, 2034-2038.
32. Zasady realizacji Programu Badań Prenatalnych. Załącznik nr 5 do Zarządzenia Nr 57/2009/ DSOZ Prezesa Funduszu Zdrowia z dnia 29.10.2009 - www.nfz.gov.pl

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych, UM Poznań

serdecznie zaprasza na
Konferencję:

Badania molekularne w położnictwie i ginekologii – możliwy element strategii klinicznej

08.04.2011, Poznań

Organizatorzy:

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych UM w Poznaniu

Polskie Towarzystwo Ginekologiczne

Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji UM w Poznaniu

Fundacja na Rzecz Rozwoju Biotechnologii i Genetyki
POLBIOGEN

Polskie Towarzystwo Farmakologii Klinicznej i Terapii

Towarzystwo na Rzecz Rozwoju Badań w Perinatologii
i Ginekologii

Miejsce konferencji:

Budynek PAN, ul. Wieniawskiego, Poznań

08.04.2011, godz. 09:00

Zgłoszenia uczestnictwa oraz dalsze informacje:

Klinika Perinatologii i Chorób Kobietych, UM Poznań

ul. Polna 33, 60-535 Poznań

tel. 61-8419-223, 61-8419-613

www.farmakologia-kliniczna.pl

Zgłoszenia prosimy nadsyłać do 15.03.2011