

PROBIR DOWNOVA SINDROMA TROSTRUKIM TESTOM U DRUGOM TROMJESEČJU TRUDNOĆE

THE ROLE OF TRIPLE MARKER TEST FOR SCREENING FOR DOWN'S SYNDROME DURING THE IInd TRIMESTER OF PREGNANCY

JOŠKO LEŠIN, SNJEŽANA ŠKRABLIN, KORALJKA ĐURIĆ,
ERNEST SUCHANEK, DUBRAVKA MUŽINIĆ, DRŽISLAV KALAFATIĆ, IVAN KUVAČIĆ,
GORDAN ZLOPAŠA, ANDREA PLAVEC*

Deskriptori: Downov sindrom – dijagnostika; Prenatalna dijagnostika; Probir

Sažetak. Cilj je bio utvrditi osjetljivost i specifičnost biokemijskog probira trisomije 21. kromosoma u trudnoći »dvostrukim testom« – alfa-fetoprotein+humani korionski gonadotropin i »trostrukim testom« – alfa-fetoprotein+humani korionski gonadotropin+nekonjugirani estriol. Temeljem optimalne ravnoteže osjetljivosti i specifičnosti nastojali smo odrediti najpogodniju graničnu vrijednost za prosudbu rezultata probira. U razdoblju od siječnja 1995. do ožujka 2000. godine 2000 trudnica, upućenih u Kliniku za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb na ranu amniocentezu, tijekom drugog tromjesečja, neposredno prije zahvata, ispitano je »dvostrukim« (određivanjem hCG-a, AFP-a) i »trostrukim testom« (određivanjem hCG-a, AFP-a i nE3) u serumu. Koncentracije biljega određivane su kompetitivnim radioimuno-kemijskim postupcima (2nd trimester Amerlax-M, Ortho Clinical diagnostics, SAD). Rizik Downova sindroma u drugom tromjesečju izračunan je u programu Prenata (Ortho Clinical Diagnostics, SAD). Zbog statistički nedovoljnog broja trudnoća sa Downovim sindromom (N=20) u rutinskom su izračunu za tu populaciju upotrebljavani podaci dobiveni u ispitivanju koje je proveo proizvođač reagensa (N=198). Granični medijani MoM-vrijednosti u trudnoćama s Downovim sindromom iznosili su 0,73 (AFP); 2,02 (hCG) i 0,74 (nE3). Izračunani rizik uspoređivan je s vjerojatnošću od 1:300 u prosudbi rezultata probira. Rezultati su provjereni citogenetičkom obradom stanica plodne vode dobivene amniocentezom. Izračunana je klinička osjetljivost i specifičnost pojedinačnih biokemijskih biljega trostrukog testa, kao i kombinacije dvaju biljega u dvostrukom i svih triju biljega u trostrukom testu. Opazili smo snižene vrijednosti AFP-a (0,96±0,09 MoM), nE3 (0,65±0,1 MoM) i povišene vrijednosti hCG-a (1,57±0,27 MoM) u trudnica koje nose djecu s Downovim sindromom u odnosu na euploidne trudnoće iste gestacijske dobi. Kod rizika određenog testom probira od 1:200 osjetljivost je trostrukog testa 80% uz prihvatljiv broj lažno pozitivnih rezultata. Ta se granica pokazala pogodnom za odvajanje pozitivnih od negativnih rezultata. Samo trudnice s pozitivnim testom probira morale bi biti podvrgnute invazivnim zahvatima s ciljem dobivanja uzorka tkiva djeteta za dalju citogenetičku obradu.

Descriptors: Down syndrome – diagnosis; Prenatal diagnosis; Mass screening

Summary. The aim of this study was to check the validity of the biochemical screening of pregnancies with Down's syndrome during the second trimester of pregnancy, in order to reduce the incidence of invasive diagnostic procedures. We used the optimal balance between sensitivity and specificity to determine the »cut off« values to estimate the results of the biochemical screening. Between January 1995 and December 2000, 2000 pregnancies were checked by double (determining hCG and AFP serum levels) and triple test, (determining hCG, AFP and uE3 serum levels). Competitive radioimmunochemical procedures (2nd trimester Amerlax-M, Ortho Clinical Diagnostics, USA) were used. The risk of Down's syndrome was calculated by Prenata program (Ortho Clinical Diagnostics, USA). The »cut off« median MoM values in pregnancies with Down's syndrome were 0.73 (AFP); 2.02 (hCG) and 0.74 (nE3). The calculated risk was compared with possibility 1:300 to estimate the results of biochemical screening. Our results were checked in the cytogenetic laboratory where samples of amniotic fluid, that we also took, were sent. We observed lower AFP levels (0.96±0.09 MoM), uE3 levels (0.65±0.1 MoM) and higher levels of hCG (1.57±0.27 MoM) in pregnancies with Down's syndrome, in comparison with euploid pregnancies of the corresponding gestational age. With 1:200 risk, the sensitivity of triple test is 80%, with acceptable number of false-positive results. This cut-off value showed to be acceptable for separating positive from negative results. Invasive procedures should be performed in pregnancies with positive screening result, with the aim of getting the tissue sample of the fetus for further cytogenetic analysis.

Liječ Vjesn 2003;125:55–60

Oko 3000 bolesti i anomalija čovjeka ima naslijeđe u etiologiji ili patogenezi. Downov sindrom (trisomija 21) najučestaliji je poremećaj u broju kromosoma i jedan od češćih uzroka mentalne retardacije u djece. Smatra se da je jedan od najvažnijih činitelja rizika za pojavu Downova sindroma dob majke, jer je za oko 90% trisomija 21. kromosoma uzrok pogreška tijekom mejozičke diobe jajne stanice.¹⁻³ U žena starijih od 35 godina taj je rizik 1:290, a u deset godina mlađih žena četiri je puta manji i iznosi 1:1200.³ Vjerojatnost pojave Downova sindroma u trudnoći mlađih roditelja manja je, no, zbog češćih porođaja mlađih majki, stvarna je raspodjela trudnoća s Dow-

novim sindromom različita od one očekivane prema činiteljima rizika. Od ukupnog broja živorođene djece s trisomijom

* **Klinika za ženske bolesti i porode KBC-a, Zagreb** (mr. sc. Joško Lešin, dr. med.; prof. dr. sc. Snježana Škrablin, dr. med.; dr. sc. Koraljka Đurić, dr. med.; prof. dr. sc. Ernest Suchanek, dr. med.; mr. sc. Držislav Kalafatić, dr. med.; prof. dr. sc. Ivan Kuvacić, dr. med.; Gordana Zlopaša, dr. med.; Andrea Plavec, dr. med.), **Zavod za genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju, KBC-a Zagreb** (dr. sc. Dubravka Mužinić, prof. biol.)

Adresa za dopisivanje: Mr. sc. J. Lešin, Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za ženske bolesti i porode, Petrova 13, 10000 Zagreb
Primljeno 2. srpnja 2002., prihvaćeno 21. siječnja 2003.

21, čak 50% do 70% rađaju žene mlađe od 35 godina.^{2,3} Zbog toga model otkrivanja Downova sindroma određivanjem fetalnog kariotipa nakon rane amniocenteze u trudnica starijih od 35 godina otkriva najviše 30–50% aneuploidnih trudnoća.²

Prenatalna skrba omogućuje prenatalno probiranje i prenatalnu dijagnostiku bolesti fetusa uzrokovanih abnormalnostima u broju kromosoma. Stanice koje služe za određivanje kariotipa djeteta mogu se dobiti nizom metoda: aspiracijom korijalnih resica u ranoj trudnoći, iz plodne vode, iz fetalne krvi dobivene kordocentezom ili iz stanica posteljice.^{4–8} Kariotipizacija stanica djeteta dobivenih aspiracijom plodne vode 99,9% je točna metoda dijagnostike trisomija u trudnoći. Amniocenteza je invazivan zahvat koji u 0,5–3,0% trudnoća završava spontanom pobačajem zdravog djeteta,^{1,3–5,9–11} a povećana je i učestalost drugih poremetnja trudnoće nakon zahvata, npr. prijevremenog prsnuća vodenjaka, prijevremenog porođaja itd.^{5,12} Iskustvo operatera ne smanjuje učestalost komplikacija, pa i nakon desetljeća iskustva, spontanom pobačajem ili prijevremenim prsnućem vodenjaka unutar samo 60 dana od zahvata još uvijek završava 1,5%⁵ do 4,2% trudnoća.¹² Ostale metode invazivne dijagnostike komplikacije prate još češće.^{16–18} Zato se nastoji smanjiti broj invazivnih zahvata i primijeniti ih samo ciljano, u trudnica s najvećim procijenjenim rizikom fetalne aneuploidije.^{13–16} U tu svrhu danas se rabe razni modeli procjene rizika, koji, uz biometrijske parametre, anamnezu, navike i osobine majke, uzimaju u obzir ultrazvučne i biokemijske biljege.^{17–21}

Prvi biokemijski biljeg trisomije fetusa u majčinu krvotoku otkriven je u trudnice koja je na početku 80-ih bila uključena u probir otvorenih oštećenja neuralne cijevi. Dijete je rođeno s Edwardovim sindromom (trisomija 18), a retrospektivno je utvrđena niža razina alfa-fetoproteina (AFP) u krvi majke. Osim AFP-a,^{18–21} korionski gonadotropin (hCG) i nekonjugirani estriol (nE3), također biljezi funkcije fetoplacentarnog odjeljka u trudnoći, znakovito povećavaju uspješnost probira Downova sindroma.^{22–24}

Ciljevi istraživanja

Utvrđiti kliničku osjetljivost i specifičnost biokemijskog probira trisomije 21. kromosoma u trudnoći koji se sustavno provodi u Klinici za ženske bolesti i porode od 1995. godine dvostrukim (AFP i hCG) i trostrukim testom (AFP+hCG+nE3).

Temeljem optimalne ravnoteže osjetljivosti i specifičnosti odrediti najpogodniju graničnu vrijednost za prosudbu rezultata probira.

Ispitanice i metode rada

Istraživanje je inicijalno obuhvatilo 2000 trudnica koje su bile upućene u Kliniku za ženske bolesti i porode na ranu amniocentezu (rACZ) u razdoblju od siječnja 1995. do ožujka 2000. godine. U svih je trudnica tijekom drugog tromjesečja (navršenih 14 do navršenog 21 tjedna trudnoće) neposredno prije zahvata uzeta krv i učinjena ultrazvučna pretraga. Dob gestacije procijenjena je temeljem izmjerenog biparijetalnog promjera glave djeteta.

Koncentracije biljega dvostrukog i trostrukog testa određivane su kompetitivnim radioimuno-kemijskim postupcima (2nd trimester Amerlax-M, Ortho Clinical Diagnostics, SAD). U svakoj seriji mjerenja određivane su vrijednosti biljega u tri kontrolna seruma (Ortho Clinical Diagnostics, SAD) niske, srednje i visoke koncentracije. Koeficijenti varijacije između serija mjerenja za pojedine serije kontrola i za sva tri biljega bez obzira na razinu nisu bili veći od 10,5%.

Rizik Downova sindroma u drugom tromjesečju trudnoće izračunan je u programu Prenata (Ortho Clinical Diagnostics, SAD). Program sadržava empirijske podatke o riziku Downova sindroma prema dobi trudnice. U onih koje su prethodno imale Downov sindrom u trudnoći, rizik prema dobi korigira se u

programu vjerojatnošću ponovnog pojavljivanja (za žene mlađe od 30 godina rizik ponavljanja iznosi 4,29/1000, a za one od 30 i više godina 2,06/1000).^{25–27} U programu se izmjerene koncentracije biljega korigiraju prema tjelesnoj težini trudnice i dijele medijanima razina u trudnoćama s urednim kariotipom specifičnim za dob gestacije i hrvatsku populaciju. Dobivene MoM-vrijednosti za sva tri biljega uspoređuju se s razdiobom biljega u kontrolnoj populaciji i populaciji trudnica s Downovim sindromom (likelihood ratio) te se dobivenom vjerojatnošću korigira rizik trudnice prema starosti i dobiva stvaran (izračunani, kombinirani) rizik.²⁷ Zbog statistički nedovoljnog broja trudnoća s Downovim sindromom u istraživanju (N=20), u rutinskom izračunu iskoristi se za populaciju s Downovim sindromom podaci dobiveni u ispitivanju koje je proveo proizvođač reagensa (N=198). Granični medijani MoM-vrijednosti (cut-off MoM) u trudnoćama s viškom 21. kromosoma uvršteni u izračun iznosili su 0,73 (AFP); 2,02 (hCG) i 0,74 (nE3). Izračunani rizik inicijalno je uspoređivan s vjerojatnošću od 1:300 u prosudbi rezultata probira, ali su retrospektivno testirane i vjerojatnosti 1:200 i 1:100 kao granične vrijednosti u dvostrukom i trostrukom testu.

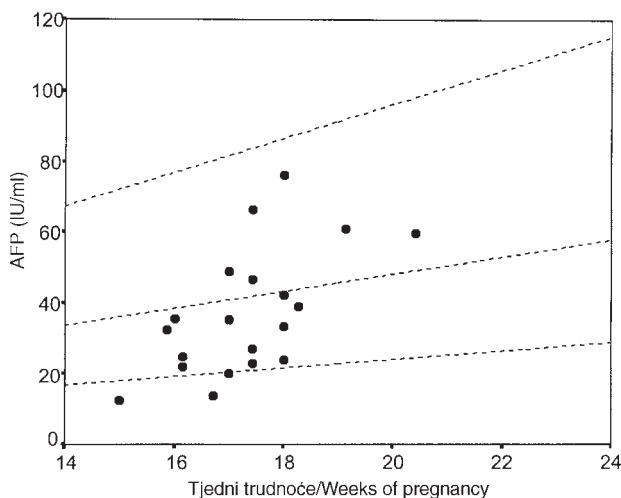
Kariotip fetalnih stanica iz plodne vode određivan je u Citogenetičkom laboratoriju Zavoda za medicinsku genetiku i metabolizam KBC-a Zagreb. Trideset dana nakon uzorkovanja u svih su trudnica prikupljeni rezultati citogenetičke analize. Podaci o porođaju i novorođenčetu dobiveni su iz baze podataka u Klinici ili anketom koju su ispunjavali ginekolozi za žene koje su rodile u drugim rodilištima u Hrvatskoj. Pratila se porođajna težina, duljina, spol, Apgar indeks i komplikacije u trudnoći i porođaju. Nakon prikupljanja rezultata citogenetičke analize, ishoda trudnoće i porođaja, definirane su istraživane skupine: 20 trudnica koje su nosile fetus s trisomijom 21. kromosoma i 1452 trudnice u kojih je gestacija tekla bez komplikacija i završila ročnim rođenjem zdravog i donošenog čeda.

Izračunana je klinička osjetljivost i specifičnost pojedinačnih biokemijskih biljega dvostrukog i trostrukog testa, kao i kombinacije svih triju biljega.

Rezultati

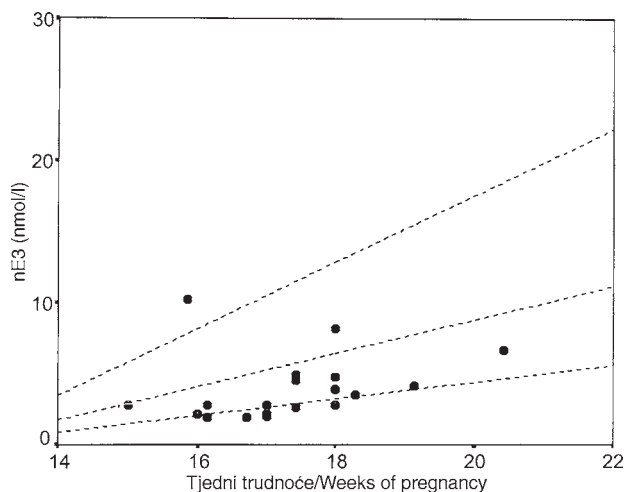
U istraživanje su uključene 1472 trudnice, u 422 trudnice (28,7%) životne dobi <35 godina indikacija za prenatalnu dijagnostiku bila je prethodno rođenje djeteta s anomalijama kromosoma ili želja i strah trudnice. Kod 1050 trudnica (71,3%) indikacija za prenatalnu dijagnostiku bila je dob 35 i više godina. Izmjerene vrijednosti biljega trostrukog testa u trudnoćama s Downovim sindromom u odnosu na regresijske medijane u kontrolnim gestacijama prikazuju slike 1, 2. i 3.

Medijani MoM-vrijednosti svih triju biljega u kontrolnim trudnoćama iznosili su 1,0. U 20 trudnoća s Downovim sindromom medijan MoM-vrijednosti za AFP bio je 0,93; za hCG 1,3; a za nE3 0,49. Od biokemijskih biljega u trostrukom testu nađena je Mann-Whitneyevim testom statistički značajna razlika u razinama hCG ($p<0,05$) i nE3 ($p<0,001$) s obzirom na kariotip fetusa. U 11/20 (55%) trudnoća s Downovim sindromom razina AFP-a bila je niža od medijana u euploidnim trudnoćama (MoM<1,0), a u 7/20 (35%) niža od 0,73 (medijan MoM-vrijednosti u populaciji trudnoća s viškom 21. kromosoma upotrijebljen u izračunu rizika). Korionski gonadotropin bio je u 15/20 (75%) očekivano viši od medijana u neugroženih trudnica (MoM>1,0), dok je u 3/20 (15%) slučajeva značajno pridonio pozitivnosti izračunanog rizika (MoM \geq 2,02). U trudnoćama s viškom kromosoma 21 razina nE3 izražena kao MoM bila je u 18/20 (90%) pojedinačnih slučajeva niža od 1,0 (medijan MoM-vrijednosti u kontrolnim trudnoćama), a u 14/20 (70%) slučajeva niža od 0,74 (medijan MoM-vrijed-



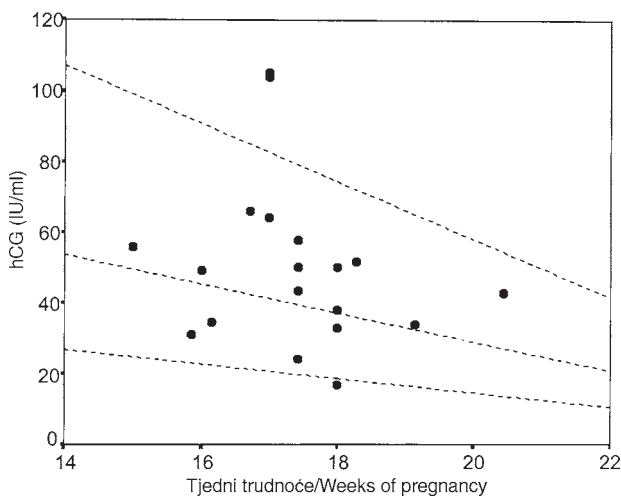
Slika 1. Razina AFP-a u 20 trudnoća s Downovim sindromom (*). Ovisno o gestacijskoj dobi, prikazani su medijani dobiveni regresijom razina AFP-a u 1452 neugrožene trudnoće zajedno s dvostruko nižim i višim granicama

Figure 1. AFP level in 20 Sy Down gestations (*). Maternal serum AFP levels in Sy Down gestations are correlated to normal MOM levels regarding gestational age



Slika 3. Razina nE3 u 20 trudnoća s Downovim sindromom (*). Ovisno o gestacijskoj dobi, prikazani su medijani dobiveni regresijom razina nE3 u 1452 neugrožene trudnoće zajedno s dvostruko nižim i višim granicama

Figure 3. nE3 level in 20 Sy Down gestations (*). Maternal serum nE3 levels in Sy Down gestations are correlated to normal MOM levels regarding gestational age



Slika 2. Razina hCG-a u 20 trudnoća s Downovim sindromom (*). Ovisno o gestacijskoj dobi, prikazani su medijani dobiveni regresijom razina hCG-a u 1452 neugrožene trudnoće zajedno s dvostruko nižim i višim granicama

Figure 2. hCG levels in 20 Sy Down gestations (*). Maternal serum hCG levels in Sy Down gestations are correlated to normal MOM levels regarding gestational age

nosti u trudnoćama s Downovim sindromom upotrijebljen u izračunu rizika).

Koristeći se matematičkim modelom izračuna, ispitali smo može li kombinacija svih triju biljega uz dob, ultrazvučne i anamnestičke podatke biti pouzdaniji pokazatelj rizika od dobi majke ili pojedinog biljega samostalno. Rezultate pokazujemo na tablici 1.

U samo 5 od 20 trudnoća s aneuploidijom izračunani rizik bio je manji od rizika koji daje sama dob majke. U preostalim 75% izračunani rizik veći je nego onaj koji pokazuje dob, od toga u čak 12 žena koje su nosile djecu s trisomijom 21 prikazan izračun pokazuje rizik veći od 1:50. S obzirom na to da je Downov sindrom postojao i u trudnica s izrazito niskim izračunom rizika, pokušali smo ustanoviti graničnu (cut off) vrijed-

nost koja će s dostatnom osjetljivošću indicirati daljnje invazivne dijagnostičke postupke, uz razuman broj lažno pozitivnih testova (tablica 2).

Svojstva dvostrukog i trostrukog testa u detekciji Downova sindroma znakovito su ovisila o odabiru granične vrijednosti u prosudbi rezultata probira. Uspješnost detekcije Downova sindroma trostrukim testom bila je bolja nego u dvostrukom testu: 70–85%, ovisno o odabiru granične vrijednosti. Pri vjerojatnosti 1:100 otkriveno je 14 slučajeva trisomije 21 (70%), pri graničnoj vrijednosti 1:200 detektirano je 16 (80%), a pri riziku 1:300 pozitivno u probiru bilo je 17 (85%) od ukupno 20 slučajeva. Od ukupno 1452 uredne trudnoće, 363 (25%) bilo je lažno pozitivno kod vjerojatnosti 1:100, 494 (34%) kod granične vrijednosti 1:200 i 595 (41%) kod rizika 1:300 u prosudbi rezultata probira.

Rasprava

Za razliku od ostalih aneuploidija u kojih se trudnoća najčešće gubi ranim spontanom pobačajem, prijevremenim porođajem ili djetetu umire u maternici ili ubrzo nakon rođenja, velik se broj djece s Downovim sindromom rađa živo, u dobroj kondiciji i nerijetko preživljava duboko u srednju dob.^{1,3,28–32} Upadljiva je učestalost rađanja djeteta s Downovim sindromom u starijih trudnica. Čini se da je ovisnost u ove poremetnje o dobi izraženija nego u ostalih aneuploidija,^{3,30–32} premda granična dob kada se može govoriti o značajno većoj učestalosti nije jednaka u svim krajevima svijeta; u nas značajan rast incidencije, u usporedbi s mlađim dobnim skupinama, počinje negdje oko 37. godine života trudnice.^{1,3,30} U zemljama razvijenog Zapada ta se granica pomiče na 35 godina života žene.^{31,32} Danas se smatra da očeva dob ne utječe na incidenciju Downova sindroma.³³ Prosječna incidencija u cjelokupnoj populaciji bez obzira na dob majke je 1:650–1000 novorođene djece.^{2,3} Uzmu li se u obzir majke do 30 godina života, incidencija novorođenčadi s Downovim sindromom među njima manja je od 1:2000, dok je među majkama oko 35. godine života 1:300–500, a među roditeljama oko 45. godine rizik da dobiju dijete s Downovim sindromom.^{32,34}

Klinički se Downov sindrom uvijek očituje mentalnom zaostalošću, premda stupanj zaostalosti može varirati od djeteta

Tablica 1. *Trostruki test i matematički model izračuna u trudnoćama s trisomijom 21*
 Table 1. *Triple test and mathematical model in pregnancies with Sy Down*

Slučaj Case	Aneuploidija Aneuploidy	Dob trudnice Maternal age	Tjedni trudnoće Week	Rizik s dobi Age related risk	MoM AFP	MoM hCG	MoM nE3	Trostruki test Rizik prema dobi i vrijednostima biljega Triple test risk
1	Trisomija/Trisomy 21	38	18	1:149	0,92	1,5	0,46	1:18
2	--	36	16	1:280	0,77	6,11	0,56	1:10
3	--	39	19	1:137	1,32	1,16	0,48	1:191
4	--	40	17	1:101	0,53	2,71	0,34	1:18
5	--	43	20	1:41	1,29	1,46	0,77	1:16
6	--	42	16	1:57	0,42	1,59	0,38	1:17
7	--	40	16	1:101	1,09	0,74	2,4	1:688
8	--	44	17	1:30	1,24	1,12	0,8	1:36
9	--	37	18	1:199	1	1,45	0,37	1:22
10	--	46	18	1:22	0,56	0,49	1,1	1:82
11	--	41	18	1:79	1,3	1,65	0,47	1:23
12	--	36	15	1:245	0,42	1,32	0,66	1:17
13	--	36	18	1:320	0,79	1,1	0,62	1:218
14	--	41	17	1:70	0,6	1,29	0,83	1:35
15	--	29	17	1:981	0,72	1,48	0,44	1:103
16	--	38	16	1:155	0,68	0,83	0,38	1:47
17	--	28	17	1:1060	0,94	2,7	0,36	1:38
18	--	28	16	1:1095	1,01	1,18	0,42	1:707
19	--	44	18	1:34	1,8	0,95	0,51	1:80
20	--	42	17	1:62	1,76	0,62	0,76	1:434

Tablica 2. *Pouzdanost izabranih »cut-off« vrijednosti dvostrukog i trostrukog testa s obzirom na pojavu trisomije 21*
 Table 2. *Predictive accuracy of elected »cut-off« levels in double and triple test regarding Sy Down*

Rizik Risk	Dvostruki test/Double test			Trostruki test/Triple test		
	Osjetljivost Sensitivity	Specifičnost Specificity	Lažno pozitivni False positive	Osjetljivost Sensitivity	Specifičnost Specificity	Lažno pozitivni False positive
1:50	0,31	0,88	0,12	0,60	0,84	0,16
1:100	0,50	0,82	0,28	0,70	0,75	0,25
1:150	0,56	0,75	0,25	0,75	0,70	0,29
1:200	0,56	0,70	0,30	0,80	0,66	0,34
1:300	0,69	0,64	0,36	0,85	0,58	0,41
1:400	0,88	0,58	0,42	0,85	0,53	0,47

do djeteta. Oko 40% djece s Downovim sindromom ima prirodnu srčanu manu, česte su stenoze i atrezije probavnog sustava, aganglioza crijeva, akutna leukemija, smanjena otpornost prema infekcijama. U pojedinog djeteta trajanje života u velikoj mjeri ovisi o postojanju malformacija vitalnih organa i uvjeta u kojima dijete živi. Na žalost, djeca nikada ne dosegnu mentalne sposobnosti zdrave djece, a većina ih nije sposobna za normalno školovanje i samostalan život pa ostaju socijalno ovisna cijeloga života. Zakon dopušta prekid trudnoće ako se postavi sigurna dijagnoza. Ne treba, međutim, nikada zaboraviti da mnogi roditelji prihvaćaju takvo dijete i ne odlučuju se ni na pobačaj ni na smještaj djeteta u socijalne ustanove.³⁰ I u nas je jedna trudnica od njih 20 odlučila roditi i odgajati takvo dijete, premda je bila upoznata s dijagnozom i svim tegobama koje će je najvjerojatnije pratiti.

Oko 95% djece s Downovim sindromom ima u svim tjelesnim stanicama trisomiju 21 slobodnog (regularnog) tipa, nastalu nerazdvajanjem homolognih kromosoma u mejotskoj diobi gameta roditelja. Iskustvo je pokazalo da je rizik ponavljanja Downova sindroma ovog tipa oko 1:50 do 1:100 neovisno o dobi majke. U 1–2% djece postoji kromosomski mozaik (miksploidija): jedna loza stanica ima trisomiju 21, druga je euploidna. Izraženost kliničke slike koja je obično blaža ovisi uglavnom o tome koja loza stanica prevladava. U ovim je slučajevima nerazdvajanje kromosoma nastalo mitozama u toku razmnažanja stanica zigote, dakle poslije koncepcije.^{28,29} U 3–4%

djece s Downovim sindromom postoji u stanicama normalni broj kromosoma uz višak kromosomske mase zbog nebalansirane translokacije.^{35,36} Ni u jedne od trudnica u koje je indikacija za probir i amniocentezu bila prethodni porođaj djeteta s Downovim sindromom nije ista dijagnoza potvrđena u istraživanju trudnoći.

Dob majke godinama je bila jedina indikacija za prenatalnu dijagnostiku trisomije 21 u obiteljima unutar kojih ranije nije zabilježeno kromosomskih aberacija. Obuhvat dijagnoza nije prelazio 30%³⁷ do najviše 50%,³ jer, premda je to vrlo rijetko, mlade majke rađaju pretežiti dio djece s anomalijom.³⁷ Ponuditi prenatalnu dijagnostiku invazivnim postupcima svim trudnicama praktički je neizvedivo, sigurno preskupo,³⁷ a medicinski se teško može opravdati. Neovisno o svim razlikama u interpretaciji rezultata i raznolikostima u shvaćanju što su poremetnje koje se izravno vežu uz zahvat, a što ne, nakon, u nas najčešće i najranije primijenjene, rane amniocenteze,³⁸ gubi se spontanim pobačajem 1,4%³⁹ do 3,0% djece urednog kariotipa.^{1,3–5,9,10,30} Ishod je podjednak ili lošiji i nakon drugih oblika prenatalnih invazivnih dijagnostičkih postupaka.^{7,40} Da bismo npr. uspješno dijagnosticirali 51 dijete s trisomijom 21, učinili smo u razdoblju od 20 godina 5814 invazivnih amniocenteza, izgubili spontanim pobačajem dvostruko više zdrave djece i potrošili nepotrebno oko 5 milijuna kuna.³ Uz istodobno 5755 nepotrebnih zahvata u starijih trudnica, dijete s trisomijom 21 rodile su 34 mlade žene u kojih dob nije mogla biti indikacija

za zahvat. Ovi rezultati pokazuju da invazivni dijagnostički postupci više nemaju opravdanje ako prethodno nije pokušano neki drugi alternativni dijagnostički postupak⁶ ili procjena rizika nekim od brojnih ponuđenih alternativnih neinvazivnih dijagnostičkih postupaka.¹³⁻¹⁶ Među do sada analiziranim parametrima hCG, AFP i nE3 najčešće su upotrebljavani biljezi, koji, bilježeni i obrađivani zajedno, u ovisnosti o dobi majke, omogućuju točno prepoznavanje 60–71% trudnoća s trisomijom 21.²³ Premda postoje sumnje u iskoristivost i korisnost uključivanja nE3 u procjenu rizika,²⁰ starije,⁴¹ a i neke najnovije studije⁴²⁻⁴⁴ govore da je porast specifičnosti i osjetljivosti detekcije ovisan upravo o ovom parametru.²⁷ U svom smo istraživanju usporedili apsolutne vrijednosti svih triju biljeza u normalnih trudnoća i u trudnoćama s Downovim sindromom i ustanovili odstupanja u sva tri biljeza, ovisno o statističkoj metodi, značajna uz hCG i nE3. Prikazujući normalne vrijednosti u medijanima za promatrane tjedne trudnoće i za našu populaciju, uočili smo blaga odstupanja u usporedbi s literaturnim izvješćima.²² Naime, medijani normalnih trudnoća ovisni su o rasi, populaciji i etničkim skupinama, i za procjenu pojedinačne konkretne vrijednosti, moraju postojati referalni populacijski podaci za svaku etničku skupinu. Premda u patološkim trudnoćama pretežito grupirani prema ekstremno niskim ili visokim vrijednostima, apsolutne vrijednosti ili medijani, s obzirom na veliku raznolikost i varijabilitet rezultata, ne mogu imati značajniju prediktivnu vrijednost u pojedinim trudnoćama. Svrhu mogu polučiti samo posebno prilagođeni matematički modeli, kojih izračun, osim o vrijednostima uporabljenih biljeza, ovisi i o preciznosti procjene gestacijske dobi i drugih potrebnih parametara. Koristeći se za našu populaciju prilagođenim softwareom Prenata,^{3,27} u preliminarnim istraživanjima objavljenim nakon prvih dviju,³ odnosno tri godine rada,²⁷ bili smo ugodno iznenađeni vrijednošću dobivenih rezultata. Uz rizik 1:100,³ nije bilo lažno negativnih izračuna, a uz rizik 1:200 u prvoj većoj seriji od 12 trisomija 21, neprepoznate su ostale samo 2 trudnoće. Koristeći se referentnim vrijednostima za našu populaciju zdravih trudnoća, unutar skupine od 20 trudnoća s trisomijom 21, uspjeli smo točno prepoznati 85% trudnoća s Downovim sindromom uz graničnu vrijednost izračuna u trostrukom testu 1:300 i njih 80% u trostrukom testu uz graničnu vrijednost 1:200. Uz postavljen rizik 1:200 i 1:300 naš se test pokazao jednim od najosjetljivijih i najtočnijih u svijetu.²⁷

Uporabljujivost testa probira i granična vrijednost koja postavlja indikaciju za invazivne procedure, ne određuje sama osjetljivost testa, već i proporcija lažno pozitivnih izračuna. Ona je određeni kompromis između osjetljivosti i specifičnosti.²⁷ U trostrukom se testu uz 85%-tnu točnost i 1:300 graničnu vrijednost, u usporedbi s onom postavljenom na zadovoljavajuće točnu, 80%-tnu, uz graničnu vrijednost 1:200, udjel lažno pozitivnih povećava s 34% na više od 41%. To znači da uz visoko postavljenu graničnu vrijednost i visoku osjetljivost raste potreba za invazivnim zahvatima u više od 40% trudnica. Previsok kriterij traži zamjetan trošak i gubitak određenog broja normalnih trudnoća.¹³ S obzirom na to da smo ranije na 20-godišnjem materijalu dokazali kako je prenatalna dijagnostika apsolutno indicirana u žena starijih od 39 godina,^{1,3,30} u svih ostalih, prije invazivnih procedura, valja ponuditi test probira, a uz točnost predviđanja 80% trisomija 21 u trostrukom testu, na trećinu ćemo smanjiti gubitak zdrave djece i financijski trošak.

LITERATURA

- Dražančić A, Škrablin S, Latin V, Fudurić I, Kuvačić I, Tadić V, Čorušić A. Pregnancy outcome following amniocentesis in second trimester. *Jugoslav Ginekolog Perinatol* 1991;31:55–60.
- Adams MM, Encleson JD, Layde PM, Oakley GP. Down syndrome: recent trends in the United States. *JAMA* 1981;246:758–60.
- Škrablin S, Kuvačić I, Vukelić V, Juretić E, Elvedi Gašparović V, Grgić F. Spontani pobačaji nakon interventivnih zahvata. *Gynecol Perinatol* 1997;6:55–8.
- Hanson FW, Tennant FR, Zorn EM, Samuels S. Analysis of 2136 genetic amniocenteses: experience of a single physician. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152:436–43.
- Horger EO, Finch H, Vincent VA. A single physician's experience with four thousand six hundred genetic amniocenteses. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(2):279–88.
- Lapierre JM, Cacheux V, Luton D, Collot N, Oury JF, Aurias A, Tachdjian G. Analysis of uncultured amniocytes by comparative genomic hybridization: a prospective prenatal study. *Prenat Diagn* 2000;20:123–31.
- Jenkins TM, Wapner RJ. First trimester prenatal diagnosis: chorionic villus sampling. *Semin Perinatol* 1999;23:403–13.
- Mathieu M. Prenatal diagnosis of genetic diseases in France. *Ann Pharm Fr* 1999;57:380–4.
- Yukobowich E, Anteby EY, Cohen SM, Lavy Y, Granat M, Yagel S. Risk of fetal loss in twin pregnancies undergoing second trimester amniocentesis (1). *Obstet Gynecol* 2001;98:876–7.
- Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hall BD. Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocenteses. *N Engl J Med* 1979;300:157–63.
- Salvador E, Bienstock J, Blakemore KJ, Pressman E. Leiomyomata uteri, genetic amniocentesis, and the risk of second-trimester spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:913–5.
- Ejskjaer KV, Sorensen AU, Johannesen PL, Praest J. Amniocentesis and chorionic villi biopsy. A 10-year material. *Ugeskr Laeger* 2001;163:4750–3.
- Phillips OP, Elias S, Shulman LP, Andersen RN, Morgan CD, Simpson JL. Maternal serum screening for fetal Down's syndrome in women less than 35 years of age using alpha-fetoprotein, hCG and unconjugated estriol: a prospective 2-year study. *Obstet Gynecol* 1992;80:353–8.
- Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ et al. Prenatal screening with Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992;327:588–93.
- Reynolds TM, Nix AB, Dunstan FD, Dawson AJ. Age-specific detection and false-positive rates: an aid to counseling Down syndrome risk screening. *Obstet Gynecol* 1993;81:447–50.
- MacDonald ML, Wagner RM, Slotnick RN. Sensitivity and specificity of screening for Down's syndrome with alpha-fetoprotein, hCG, unconjugated estriol, and maternal age. *Obstet Gynecol* 1991;77:63–8.
- Kubas C. Noninvasive means of identifying fetuses with possible Down syndrome: a review. *J Perinat Neonatal Nurs* 1999;13:27–46.
- Drugan A, Johnson MP, Evans MI. Ultrasound screening for fetal chromosome anomalies. *Am J Med Genet* 2000;90:98–107.
- Vintzileos AM, Guzman ER, Smulian JC, Day-Salvatore DL, Knuppel RA. Indication-specific accuracy of second-trimester genetic ultrasonography for the detection of trisomy 21. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:1045–830.
- Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Sunderji SG, Larsen JW. Maternal serum Down's syndrome screening: unconjugated estriol is not useful. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:672–3.
- Wenstrom KD, Desai R, Owen J, DuBard MB, Boots L. Comparison of multiple marker screening with amniocentesis for the detection of fetal aneuploidy in women >35 years old. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1287–91.
- Hook EB. Rates of chromosome abnormalities at different maternal ages. *Obstet Gynecol* 1981;58:282–5.
- Kellner LH, Weiss RR, Weiner Z et al. The advantages of using triple-marker screening for chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:831–6.
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br Med J* 1988;297:883–7.
- Stene E, Stene J, Stengel-Rutkowski S. A reanalysis of the New York State prenatal diagnosis data on Down's syndrome and paternal age effects. *Hum Genet* 1987;77(4):299–302.
- Stene J, Stene E, Mikkelsen M. Risk for chromosome abnormality at amniocentesis following a child with a non-inherited chromosome aberration. A European Collaborative Study on Prenatal Diagnoses 1981. *Prenat Diagn* 1984;4:81–95.
- Huderer-Duric K, Škrablin S, Kuvačić I i sur. The triple-marker test in predicting fetal aneuploidy: a compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;88:49–55.
- Zergollern Lj. Medicinska genetika, 1. izd., Školska knjiga Zagreb 1991.
- Begović D, Hitres V, Lasan R, Letica L, Barić I, Sarnavka V, Galic S. Partial trisomy 13 in an infant with a mild phenotype: application of fluorescence in situ hybridization in cytogenetic syndromes. *Croat Med J* 1998;39:212–5.
- Škrablin S, Kuvačić I, Fudurić I, Lesin J, Huderer-Duric K, Suchanek E. The consequences of early amniocentesis. *Gynaecol Perinatol* 1996;5:129–32.

31. Hook EB, Cross PK, Regal RR. The frequency of 47, +21, 47, +18 and 47, +13 at the uppermost extremes of maternal ages: results on 56 094 fetuses studied prenatally and comparisons with data on livebirths. *Hum Genet* 1984;68:211–20.
32. Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *JAMA* 1983;249:2034–8.
33. Paulysen KJ, Sherer DM, Christian SL, Lewis KM, Ledbetter DH, Salafia CM, Meck JM. Prenatal diagnosis of an infant with mosaic trisomy 16 of paternal origin. *Prenat Diagn* 1996;16:1021–6.
34. Hook LB, Lindsjo A. A Down syndrome in livebirths by single year maternal age interval in a Swedish study: a comparison with results from a New York State study. *Am J Hum Genet* 1978;30:19–27.
35. Benn PA, Horne D, Briganti S, Greenstein RM. Prenatal diagnosis of diverse chromosome abnormalities in a population of patients identified by triple marker testing as screen-positive for Down's syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:496–501.
36. Benn PA, Horne D, Briganti S, Rodis JF, Clive JM. Elevated second-trimester maternal serum hCG alone or combination with elevated alpha-fetoprotein. *Obstet Gynecol* 1996;87:217–22.
37. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:886–94.
38. Dražančić A, Zergollern Lj, Suchanek E. Rana amniocenteza u dijagnostici fetalnih abnormalnosti. *Lij Vjesn* 1980;102:361–6.
39. Rajhvac B, Kurjak A, Klobučar A et al. Rane amniocenteze pod izravnom kontrolom ultrazvuka. *Medicina* 1986;22:135–8.
40. Bryndorf T, Lundsteen C, Lamb A, Christensen B, Philip J. Rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidies by interphase fluorescence in situ hybridization: a one-year clinical experience with high-risk and urgent fetal and postnatal samples. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79:8–14.
41. Wald NJ, Kennard A, Densem JW et al. Antenatal maternal serum screening for Down's syndrome: results of a demonstrational project. *Br Med J* 1992;305:391–4.
42. Forest JC, Masse J, Rousseau F et al. Screening for Down syndrome during the first and second trimesters: impact of risk estimation parameters. *Clin Biochem* 1995;28:443–9.
43. Kellner LH, Weiner Z, Weiss RR et al. Triple marker (alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, human chorionic gonadotropin) versus alpha-fetoprotein plus free beta subunit in second trimester maternal serum screening for fetal Down syndrome: a prospective comparison study. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1306–9.
44. Benn PA. Preliminary evidence for associations between second trimester human chorionic gonadotropin and unconjugated estriol levels with pregnancy outcome in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn* 1998;18:319–24.
45. Wald NJ, Densem JW, Cheng R, Collishaw S. Maternal serum free alpha and free beta-human chorionic gonadotropin in pregnancies with insulin-dependent diabetes mellitus: implications for screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1994;14:835–7.
46. Cuckle HS, Iles RK, Chard T. Urinary beta-core human chorionic gonadotropin: a new approach to Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1994;14:953–8.
47. Canick JA, Kellner LH, Cole LA, Cuckle. Urinary analyte screening: a noninvasive detection method for Down syndrome? *Mol Med Today* 1999;5:68–73.
48. Cuckle HS, Shahabi S, Sehmi IK, Jones R, Cole LA. Maternal urine hyperglycosylated hCG in pregnancies with Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999;19:918–20.
49. Watt HC, Wald NJ, Huttly WJ. The pattern of maternal serum inhibin-A concentrations in the second trimester of pregnancy. *Prenat Diagn* 1998;18:846–8.
50. Cuckle HS, Sehmi I, Jones R, Evans LW. Maternal serum activin A and follistatin levels in pregnancies with Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999;19:513–657.
51. Cuckle HS. The effect of gestational age on maternal serum alpha-fetoprotein levels in pregnancies with Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:569–70.

MEDITERANSKI NAČIN PREHRANE I UČESTALOST ZLOĆUDNIH TUMORA PROBAVNOG SUSTAVA NA HRVATSKIM OTOCIMA

MEDITERRANEAN DIET AND GASTROINTESTINAL CANCER IN CROATIAN ISLAND ISOLATES

IGOR RUDAN, DRAŽENKA VADLA, MARIJA STRNAD,
ZRINKA BILOGLAV, ARIANA VORKO-JOVIĆ*

Deskriptori: Prehrana; Gastrointestinalni tumori – epidemiologija; Mediteransko područje; Hrvatska – epidemiologija

Sažetak. Cilj ovoga istraživanja bio je izvršiti usporedbu dobnog standardiziranih stopa incidencije raka želuca, debelog crijeva i gušterače između dvije regije Republike Hrvatske: pet otoka srednje Dalmacije (Braća, Hvara, Korčule, Visa i Lastova) s »mediteranskim« načinom prehrane te kontrolne populacije Koprivničko-križevačke županije (KKŽ) s »kontinentalnim« načinom prehrane. Između ispitivanih regija zabilježene su velike razlike u konzumaciji specifičnih sastojaka prehrane. Utvrđivanje broja novooboljelih slučajeva od raka želuca, debelog crijeva i gušterače izvršeno je na temelju podataka Registra za rak Republike Hrvatske u razdoblju između 1986. i 1995. godine. Ukupan broj novooboljelih bio je standardiziran na standardnu svjetsku populaciju metodom izravne standardizacije. Dobno standardizirane stope incidencije na otocima u usporedbi s KKŽ-om na 100.000 stanovnika iznosile su 17,2 prema 39,4 ($p < 0,001$) u muškaraca s rakom želuca, 9,1 prema 16,5 ($p < 0,01$) u žena s rakom želuca, 34,5 prema 31,4 ($p > 0,05$) u muškaraca s rakom debelog crijeva, 18,3 prema 20,3 ($p > 0,05$) u žena s rakom debelog crijeva, 5,5 prema 9,0 ($p < 0,05$) u muškaraca s rakom gušterače i 2,7 prema 5,0 u žena s rakom gušterače ($p < 0,05$). Standardizirane stope incidencije raka želuca i gušterače na otocima bile su znatno niže od standardiziranoga hrvatskog prosjeka. Istraživanje je pokazalo da bi »mediteranski« način prehrane mogao doprinosti smanjenju rizika od raka želuca i gušterače.

* Katedra za medicinsku statistiku, epidemiologiju i medicinsku informatiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (dr. sc. Igor Rudan, dr. med.; Zrinka Biloglav, dr. med.; prof. dr. sc. Ariana Vorko-Jović, dr. med.), Zavod za javno zdravstvo Koprivničko-križevačke županije (mr. sc. Draženka Vadla, dr. med.), Hrvatski zavod za javno zdravstvo (doc. dr. sc. Marija Strnad, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. sc. I. Rudan, Škola narodnog zdravlja »Andrija Štampar«, Rockefellerova 4, 10000 Zagreb

Prilježeno 23. travnja 2002., prihvaćeno 21. siječnja 2003.