

# Probir na kromosomopatije u prvom tromjesečju

---

**Marković, Maja**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:534593>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2020-12-05**



*Repository / Repozitorij:*

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Maja Marković**

**Probir na kromosomopatije u prvom  
tromjesečju**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2018.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Maja Marković**

**Probir na kromosomopatije u prvom  
tromjesečju**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2018.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za ginekologiju i porodništvo KB „Sveti Duh“ pod vodstvom prim.dr.sc. Ivanke Bekavac Vlatković, dr. med i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017./2018.

## POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

$\beta$ -hCG – beta podjedinica humanog korionskog gonadotropina

AFP – alfa-fetoprotein

cfDNA - slobodna deoksiribonukleinska kiselina

BKR – biopsija korionskih resica

DNA - deoksiribonukleinska kiselina

IGFBP - protein koji se veže na inzulinu slične čimbenike rasta

hCG - humani korionski gonadotropin

MoM - višekratnik medijana u neugroženim trudnoćama

NIPT - neinvazivni prenatalni test

NT – nuhalna (vratna) prozirnost

PAPP-A – plazmatski protein trudnoće A

PIGF – placentarni čimbenik rasta

RACZ – rana amniocenteza

RPR – brzi plazma reaginski

SŽS – središnji živčani sustav

uE3 - nekonjugirani estriol

UZV – ultrazvuk

VCE – vaginalni, cervikalni, endocervikalni

VDRL – Laboratorij za istraživanje spolnih bolesti

## SADRŽAJ

Sažetak .....	i
Summary .....	ii
1. Uvod .....	1
1.1. Kromosomski poremećaji .....	1
1.2. Probir.....	4
2. Probir u opstetriciji .....	9
3. Probir u prvom tromjesečju .....	17
4. Istraživanje .....	21
5. Rasprava .....	28
6. Zaključak .....	36
7. Zahvale .....	37
8. Literatura .....	38
9. Životopis.....	41

## **SAŽETAK**

### **Probir na kromosomopatije u prvom tromjesečju**

**Maja Marković**

Kromosomopatije su poremećaji broja ili strukture jednog ili više kromosoma. S obzirom na to da predstavljaju značajan uzrok spontanih pobačaja, perinatalne i dojenačke smrtnosti, kao i invaliditeta u slučaju djetetova preživljenja, njihova je rana detekciju jedan od najvažnijih ciljeva prenatalne skrbi. S obzirom na to da invazivni dijagnostički zahvati poput biopsije korionskih resica i amniocenteze sa sobom nose rizik od gubitka trudnoće uzrokovanog samim zahvatom, njihova se primjena ograničila samo na visokorizične pacijentice, a osmišljeni su različiti probirni testovi kako bi se poboljšalo određivanje rizika od fetalnih aneuploidija. Većina ovih testova kombinira dob majke, ultrazvučne markere ili biokemijske testove kako bi se utvrdio rizik od prisutnosti kromosomskih abnormalnosti u drugom tromjesečju. Kombinirani probir, koji se provodi u prvom tromjesečju, utvrđuje rizik od fetalnih aneuploidija temeljem ultrazvučnog nalaza nuhalne prozirnosti i razine slobodnog  $\beta$ -hCG-a i PAPP-A u majčinu serumu. Zbog veće osjetljivosti u odnosu na probirne testove drugog tromjesečja postao je jedan od najkorisnijih probirnih testova danas. Njegove prednosti uključuju i mogućnost ranijeg dobivanja rezultata, više vremena za provođenje genetskog savjetovanja i raniji i sigurniji prekid trudnoće u odabranim slučajevima.

Retrospektivno je istraživanje provedeno u Kliničkoj bolnici „Sveti Duh“ uključilo 1672 invazivna dijagnostička zahvata izvedena između 2012. i 2017. godine. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi udio nalaza probira prvog tromjesečja (ultrazvuk i kombinirani probir) u ukupnom broju indikacija za izvođenje dijagnostičkih procedura, kao i odabir procedure temeljem nalaza probira prvog tromjesečja. Također, analizirane su i dob majke i gestacijska dob u vrijeme izvođenja zahvata.

Rezultati pokazuju da je broj izvedenih zahvata u posljednjih šest godina pao za 40% i da je, iako je dob majke i dalje najčešća indikacija za izvođenje amniocenteze, udio ultrazvuka i kombiniranog probira u prvom tromjesečju kao indikacije za izvođenje biopsije korionskih resica bio 77,8%, a za amniocentezu 21,7%, kao i da taj postotak kontinuirano raste.

**KLJUČNE RIJEČI:** kromosomopatije, prenatalni probir, probir u prvom tromjesečju

## **SUMMARY**

### **Screening for chromosomopathies in the first trimester**

**Maja Marković**

Chromosomopathies are disorders of the number or structure of one or several chromosomes. Since they represent a significant cause of miscarriage, perinatal and infant mortality, as well as long-term disability in the case of survival, their early detection is one of the most important goals of prenatal care. Since invasive genetic tests such as chorionic villus sampling and amniocentesis carry a risk of procedure-related fetal loss, their use has been limited to high-risk patients only and different screening tests were developed to help determine the risk of fetal aneuploidies. Most of these tests combine maternal age, ultrasonographic markers and maternal serum screening tests to determine the risk of chromosomal abnormalities during the second trimester. The combined test, performed in the first trimester, determines the risk of fetal aneuploidies based on the ultrasonographic findings of nuchal translucency and maternal serum levels of free  $\beta$ -hCG and PAPP-A. Because of its increased sensitivity compared to the second trimester screening tests it has become one of the most useful screening tests nowadays. Its benefits also include earlier results, more time available for genetic counseling and earlier and safer termination of pregnancy in selected cases.

A retrospective study was conducted at the Clinical Hospital 'Sveti Duh' that included 1672 invasive diagnostic procedures performed between 2012 and 2017. The aim of this study was to determine the proportion of first trimester screening test results (ultrasound and the combined test) in the total number of indications for performing diagnostic procedures, as well as the procedure that was chosen based on the result of first trimester screening. Also, maternal and gestational age at the time of performing the procedure were evaluated.

The results show that the number of performed procedures has decreased by 40 percent in the last six years and that while the most common indication for performing amniocentesis is still maternal age, first trimester ultrasound and combined test make up 77,8% of all indications for performing chorionic villus sampling and 21,7% for amniocentesis and the percentage is continuously increasing.

**KEY WORDS:** chromosomopathies, prenatal screening, first trimester screening



## 1. UVOD

### 1.1 Kromosomski poremećaji

Kromosomopatije su poremećaji koji nastaju uslijed abnormalnog broja ili građe kromosoma. Zahvaćeni širokim spektrom abnormalnosti mogu biti i autosomni i spolni kromosomi, a može se raditi o poremećaju koji zahvaća samo dio jednog kromosoma, čitav kromosom ili više njih.

S obzirom na postojanje ovako velikog broja i vrsta kromosomopatija, za očekivati je da neke od njih u kliničkoj praksi neće imati velik značaj, pogotovo ako se radi o dijelu poremećaja spolnih kromosoma ili o mozaičnim kariotipovima. Ipak, u većini su slučajeva kromosomopatije značajni, klinički prepoznatljivi i teški malformacijski sindromi udruženi s razvojnim i mentalnim zaostajanjem i visokim mortalitetom (1,2).

Kromosomske aberacije koje se rijetko viđaju u živorođenčadi - potpune trisomije većine autosomnih kromosoma, autosomne monosomije te poliploidije - imaju pretežno akademsko značenje te nisu u središtu prenatalnog testiranja i skrbi. Za razliku od njih, i za kliničare i roditelje od velikog su značaja poremećaji kod kojih u djeteta postoji mogućnost preživljenja trudnoće, poroda, pa i dojenačkog doba. Najčešći su takvi poremećaji koji zahvaćaju autosomne kromosome trisomija 21 (sindrom Down), trisomija 18 (sindrom Edwards) i trisomija 13 (sindrom Patau).

Od poremećaja spolnih kromosoma značajni su monosomija X (Turnerov sindrom) i sindrom trostrukog X kromosoma u žena te Klinefelterov sindrom (XXY) i sindrom dvostrukog Y kromosoma u muškaraca (1). S iznimkom monosomije X - koja u većini slučajeva uzrokuje smrt ploda in utero, a i često je prepoznatljiva još od prvog tromjesečja – za osobe s poremećajima spolnih kromosoma uobičajeno je da godinama ostanu neprepoznate zbog najčešće urednog tijeka trudnoće i relativno blagih znakova i simptoma kasnije u životu. Životni vijek im je normalne duljine, a kao posljedica kromosomskog poremećaja javljaju se najčešće smanjena plodnost uz moguće poremećaje u ponašanju ili različite stupnjeve intelektualnih poteškoća (3-5).

Strukturni kromosomski poremećaji rjeđi su od numeričkih i predstavljaju 20-30% perinatalne patologije kromosomopatija (1). Dijagnoza se može postaviti invazivnom prenatalnom dijagnostikom ili genetičkim testiranjem djeteta nakon poroda, a klinička je slika vrlo varijabilna, od neznatnih smetnji do visoke smrtnosti ili invaliditeta.

Prenatalna dijagnostika kromosomopatija prisutna je desetljećima, u od posljednjih tridesetak godina težište je stavljeno na otkrivanje i primjenu što točnijih, minimalno invazivnih i potencijalno štetnih testova kojima bi se poboljšalo rano otkrivanje fetalnih kromosomskih aberacija.

Zbog čega dijagnostika fetalnih kromosomopatija predstavlja toliko važan zadatak prenatalne skrbi? Istraživanja su pokazala da je u ranim spontanim pobačajima čak oko 50-60% plodova zahvaćeno nekom od kromosomopatija (1,2,6,7). Analiza tkiva takvih plodova kao najčešće je poremećaje dokazala autosomne trisomije (najčešće kromosoma 16, 22, 15, 21, 13 i 18), poliploidije, monosomiju X i različite strukturne kromosomopatije (2,6,7). Kod perinatalnog mortaliteta uzrokovanog kongenitalnim malformacijama kromosomopatija je dokazana u podlozi oko 25% slučajeva, kao i u 15% djece kojima su kongenitalne malformacije dijagnosticirane prije prve godine života. U općoj populaciji njihova se učestalost procjenjuje na 0,4-0,5% (1).

S obzirom na tako veliku učestalost kromosomskih poremećaja i njihov znatan utjecaj na stopu spontanih pobačaja i mortaliteta u perinatalnom, neonatalnom i dojenačkom razdoblju, one predstavljaju i zdravstveni, ali i ekonomski i sociološki problem čitavog društva. Osim traume koju gubitak djeteta može uzrokovati u roditelja i šire obitelji, u slučaju djetetova preživljenja čitavo društvo postaje opterećeno organizacijskim i financijskim teškoćama vezanima uz djetetovu rehabilitaciju, integraciju u društvo i cjeloživotnu zdravstvenu skrb. U skladu s tim, javila se potreba za pronalaskom metode probira koja bi što ranije i sa što većom točnošću ukazala na povećan rizik od prisutnosti kromosomopatije u djeteta. Cilj tog postupka bilo bi upućivanje parova za čije dijete se sumnja ili zna da je zahvaćeno kromosomopatijom na genetsko savjetovanje te pravovremeno odlučivanje o daljnjem tijeku trudnoće.

Osim u slučajevima u kojima se na temelju anamneze može postaviti sumnja na prisutnost nasljedne komponente u nastanku kromosomske aberacije u djeteta, nastanak kromosomopatije slučajaj je i teško predvidiv događaj. Ta činjenica otežavala je odabir žena

kojima se preporučivala invazivna prenatalna dijagnostika prije otkrića i primjene probirnih testova. Osim abnormalnog kariotipa roditelja, jedini rizični čimbenik koji se u praksi sa sigurnošću povezuje s povećanom učestalošću kromosomskih poremećaja majčina je dob. Već dugo je poznato da s porastom majčine dobi učestalost svih autosomnih trisomija raste, dok je učestalost poremećaja spolnih kromosoma i poliploidija približno jednaka u svim dobnim skupinama (1,6).

U 12. tjednu trudnoće učestalost trisomije 21, 18 i 13 iznosi 1/1000, 1/2500 i 1/8000 u žena starih 20 godina i 1/250, 1/600 i 1/1800 s 35 godina života, s tim da se ona dodatno smanjuje trajanjem trudnoće. Učestalost trisomije 21, primjerice, s 1/1000 u 12. tjednu prema terminu pada na 1/1500 u žena starih 20 godina i s 1/250 na 1/350 u žena starih 35 godina (1). Ti su izgledi od velike važnosti za određivanje *a priori* rizika od postojanja kromosomopatije. U slučajevima kada želimo odrediti rizik prije provođenja složenijih probirnih testova, ali i kada zbog različitih razloga probir uopće ne provodimo, na temelju dobnog rizika možemo prosuđivati o odnosu koristi i štete koju bi invazivne dijagnostičke metode u određenom trenutku i situaciji donijele. S obzirom na to da je jedan od potencijalnih negativnih ishoda nakon izvođenja invazivnih dijagnostičkih metoda gubitak trudnoće, bilo bi nelogično i besmisleno izvesti zahvat ako je predviđeni rizik od postojanja kromosomske abnormalnosti ploda manji od rizika od smrti zdravog ploda uzrokovane invazivnom dijagnostikom. Iako novija istraživanja sugeriraju da se rizik od gubitka trudnoće isključivo kao posljedice invazivne dijagnostike precjenjuje, on se tradicionalno navodi kao 0,5-1% nakon amniocenteze i 1-2% nakon biopsije korionskih resica, te se u skladu s tim izgledima i postupa pri procjeni potrebe za njihovim izvođenjem (9).

Temeljna korist probira upravo je u tome da se na temelju više parametara, a ne samo majčine dobi utvrđuje teoretski rizik od postojanja kromosomopatije i tako se omogućuje da liječnici s više sigurnosti ponude, a roditelji odaberu svoje daljnje postupke – korištenje sekundarnog probirnog testa, invazivne dijagnostike ili ničega od navedenog. Na taj se način omogućuje maksimalna detekcija kromosomopatija uz minimalno korištenje invazivne dijagnostike i izlaganje pacijentica mogućim posljedicama istih.

## 1.2 Probir

Probir (eng. *screening*) označava prepoznavanje prisutnosti bolesti dok je ona još u pretkliničkoj, asimptomatskoj fazi (10,11). Radi se o mjeri sekundarne prevencije kojoj je cilj osigurati što ranije postavljanje dijagnoze i pravovremen početak liječenja kako bi se smanjio morbiditet i mortalitet u populaciji (12).

Počeci organiziranog probira u medicini javili su se u prvim desetljećima 20. stoljeća, vezani uglavnom za procjenu zdravstvenog stanja i borbene sposobnosti vojnika koji su sudjelovali u Prvom svjetskom ratu. U desetljećima koja su slijedila broj probirnih testova rapidno je porastao. Neki od najranijih probirnih testova koji su pronašli masovnu primjenu u medicini bili su oni za određivanje rizika od oboljenja od šećerne bolesti putem detekcije glikozurije, sifilisa pomoću seroloških testova (Wassermannov test, kasnije VDRL i RPR), karcinoma cerviksa korištenjem VCE razmaza i karcinoma dojke uz pomoć mamografije (10). Većina se probirnih testova danas temelji na korištenju markera iz krvi, urina ili drugih tjelesnih izlučevina, uzimanju obrisaka lako dostupnih dijelova tijela, kao i na upotrebi radioloških pretraga.

S obzirom na to da je cilj probira djelovanje na razini populacije te se njime želi obuhvatiti velik broj osoba u kratkom vremenu, probirni testovi zamišljeni su kao brzi i jednostavni za provođenje, što znači da u pravilu nisu ni tako invazivni ni precizni kao dijagnostičke metode. U skladu s tim, njihov je najveći nedostatak manja točnost i pouzdanost od one dijagnostičkih testova, a svrha probirnih testova isključivo je ukazivanje na postojanje povećanog rizika od prisutnosti bolesti za kojom tragamo, a ne definitivno postavljanje dijagnoze. Osobe s pozitivnim rezultatima probirnog testa moraju biti upućene na daljnje dijagnostičke testove, a prema potrebi i na liječenje (10, 12).

Provođenje probira u medicini proces je koji je vrlo složen i s tehničke i s etičke strane. Da bi se uopće mogao sustavno provoditi u određenoj indikaciji, treba biti ispunjeno više kriterija, čije su temelje postavili Wilson i Jungner svojim načelima iz 1968. godine. Prema navedenim načelima, probir bi se trebao provoditi samo u svrhu detekcije stanja koje predstavlja važan zdravstveni problem u populaciji, bolest mora imati prepoznatljivu latentnu ili ranu fazu i poznat prirodni tijek, a mora postojati i njeno adekvatno liječenje i jasan konsenzus koje je

pojedince uopće potrebno liječiti. Također, za otkrivanje bolesti mora postojati primjeren dijagnostički test koji je prihvatljiv populaciji, ustanove za dijagnostiku i liječenje moraju biti svima dostupne, cijena čitavog procesa mora biti prihvatljiva, a probir se treba vršiti kontinuirano. (13, 14)

Pojednostavljeno, danas su osnovni kriteriji za uvođenje probira u određenoj indikaciji postojanje jednostavnog i valjanog probirnog testa, mogućnost liječenja bolesti, utemeljena teorija probira i širok pristup populacije zdravstvenoj skrbi (10).

S obzirom na to da do nedavno nije ni postojala mogućnost ispunjenja svih navedenih kriterija, probir predstavlja relativno nov pristup otkrivanju bolesti. Kao što je slučaj i sa svim drugim novostima u medicini, od samog početka njegova provođenja temeljito se ispituju njegova korist, učinkovitost, sigurnost i efekt koji ima na zdravstvenu skrb, ali i na ostale aspekte života ljudi. U skladu sa zaključcima tih ispitivanja mijenjaju se i stavovi i preporuke stručnjaka o opsegu i metodama probira koji se provodi .

S obzirom na to da prilikom probira asimptomatskim, naizgled zdravim osobama priopćavamo sumnju na prisutnost određene bolesti te ih podvrgavamo invazivnim dijagnostičkim postupcima i svemu što oni nose, kao i psihičkom stresu zbog pozitivnog rezultata testa, probir se smatra etičnim i korisnim samo ako omogućuje ranije otkrivanje i liječenje bolesti i poboljšava njezinu prognozu. Ukoliko ti uvjeti nisu ispunjeni, ne bi se trebao provoditi jer njegove negativne posljedice tada mogu nadmašiti njegove prednosti. Također, u svakom trenutku i pacijenti i zdravstveni djelatnici koji provode probir moraju biti svjesni mogućnosti dobivanja rezultata testa koji ne odgovara stvarnom zdravstvenom stanju pojedinca, kao i svih mogućih posljedica takvog rezultata. U slučaju osoba koje su netočno prepoznate kao visokorizične dolazi do nepotrebnog daljnjeg testiranja koje sa sobom nosi rizik od pojave medicinskih komplikacija. Uz to što sam invazivni zahvat pacijentu može uzrokovati neugodnost i bol, osoba osjeća anksioznost ili strah zbog uvjerenja da je bolesna, a u zdravstvenom se sustavu stvaraju i nepotrebni troškovi. U suprotnom su slučaju bolesne osobe prepoznate kao niskorizične i lažno su uvjerenе u svoje zdravlje te im mogu biti uskraćeni daljnji dijagnostički i terapijski postupci koji su im potrebni (12, 13). Bolest se tada često prepozna tek nakon razvoja simptoma, što joj uglavnom pogoršava prognozu.

Osim pogrešnih rezultata koji se mogu dobiti, problem predstavlja i relativno visoka cijena organizacije i provođenja probira. Posljedično tome, on se pokušava ograničiti na populaciju

koja se smatra najrizičnijom za razvoj određene bolesti zbog faktora kao što su dob, spol, etnička pripadnost ili tjelesne karakteristike. Iako je prihvatljiva cijena probira bitna radi dugoročne održivosti programa, kao kriterij ne bi smjela nadvladati ostale (13).

Programi probira socijalne su intervencije u jednakoj mjeri u kojoj su i medicinske te se uz njih, osim etičkih, mogu vezati i pravne i društvene dileme. Zbog toga se u raspravu oko probira uglavnom ne uključuju samo medicinski stručnjaci, već i dio šire društvene zajednice koja najčešće ne razumije teškoće vezane uz pronalazak optimalnog probirnog testa. To dovodi do povećanog pritiska na stručnjake da uvedu nove ili proširene programe probira, iako bi korisnost takvih programa bila upitna (13).

Kvaliteta programa probira, uz značajke same bolesti koju nastojimo detektirati, ovisi ponajprije o kvaliteti probirnog testa. Valjanost probirnog testa ocjenjuje se njegovom osjetljivošću i specifičnošću, a svaki test uz te vrijednosti ima i svoju pozitivnu i negativnu prediktivnu vrijednost.

**Tablica 1. Odnos stvarnog stanja i nalaza probirnog testa**

	<b>BOLESNI</b>	<b>ZDRAVI</b>
<b>POZITIVAN TEST</b>	stvarno bolesni (a)	lažno pozitivni (b)
<b>NEGATIVAN TEST</b>	lažno negativni (c)	stvarno zdravi (d)

Osjetljivost testa predstavlja sposobnost testa da točno prepozna one pojedince koji su bolesni ( $a/a+c$ ), dok je specifičnost testa njegova sposobnost da točno prepozna zdrave pojedince ( $d/b+d$ ) (11,12).

Pozitivna prediktivna vrijednost testa predstavlja udio pojedinaca koji su stvarno bolesni među svima koji su imali pozitivan nalaz probirnog testa ( $a/a+b$ ), a negativna prediktivna vrijednost testa udio pojedinaca koji su stvarno zdravi među svima onima koji su imali negativan nalaz probirnog testa ( $d/c+d$ ) (11,12). Prediktivne vrijednosti ovise o prevalenciji

bolesti u populaciji (11), tako da će od dva testa jednake osjetljivosti i specifičnosti višu pozitivnu i nižu negativnu prediktivnu vrijednost imati onaj koji se koristi u probiru na češću bolest. Osjetljivost i specifičnost testa nisu povezane s prevalencijom bolesti (11).

Test koji je visoko osjetljiv u većini će slučajeva uspješno identificirati bolesne pojedince u testiranoj populaciji i dati pozitivan nalaz, a samo malen dio bolesnih osoba dobit će lažno negativan nalaz, odnosno ostati neprepoznat. Sposobnost prepoznavanja većine bolesnih osoba takve testove čini vrlo dobrima za korištenje u probiru (12).

Testovi koji su visoko specifični u većini slučajeva uspješno prepoznaju zdrave pojedince i daju negativan nalaz. Malo je lažno pozitivnih rezultata, odnosno pojedinaca koji su pogrešno prepoznati kao bolesni, što sa sobom nosi i manje upućivanje takvih osoba na dodatnu dijagnostičku obradu i smanjene stope komplikacija uzrokovanih takvom obradom, kao i smanjenje troškova. Visoka specifičnost primarno je karakteristika dijagnostičkih testova, no poželjna je i u probiru (12).

U skladu s navedenim, idealan probirni test trebao bi biti povoljan, neinvazivan i imati i visoku osjetljivost i specifičnost. U praksi to može biti teško postići pa se postojeće testove nekad može prilagoditi kako bi im se poboljšale karakteristike. Kriteriji za pozitivnost i negativnost testa mogu se podesiti kako bi se promijenila ravnoteža između osjetljivosti i specifičnosti testa, ovisno o stanju čija je detekcija cilj probira i značenju koje lažno negativni i pozitivni nalazi imaju za populaciju (12). U pravilu je kod težih oboljenja lažno pozitivni nalaz testa prihvatljiviji od lažno negativnog pa se kriteriji najčešće mijenjaju u svrhu povećanja osjetljivosti testa na račun njegove specifičnosti. Ipak, s obzirom na prethodno navedene komplikacije i troškove dijagnostičkog testiranja, i stopu je lažno pozitivnih nalaza potrebno svesti na minimum, pogotovo ako je dijagnostički test koji je potrebno provesti skup ili invazivan (11). Također, da bi se održale visoke prediktivne vrijednosti testova, probir je potrebno vršiti u populaciji kod koje je prevalencija bolesti visoka, što znači da je potrebno ispravno odabrati skupinu ljudi najrizičniju za razvoj bolesti i probir ograničiti samo na njih (12).

Jasno je da svi ovi faktori koje treba uzeti u obzir dodatno otežavaju planiranje i provođenje probirnih programa i predstavljaju zapreku u širenju uporabe probira u medicini. Usprkos tome što broj potencijalnih probirnih testova raste, većina se njih nakon temeljitih istraživanja i analiza neće utemeljiti u svakodnevnoj praksi zbog nezadovoljavajućeg odnosa koristi i

nepoželjnih karakteristika, bilo da se radi o visokoj cijeni, organizacijskim teškoćama, prevelikom udjelu pogrešnih rezultata, nedovoljnom utjecaju na smanjenje morbiditeta i mortaliteta i dr. (12).

Cilj ovog rada napraviti je kratki pregled trenutno dostupnih testova za probir na kromosomopatije i prikazati njihovo funkcioniranje u praksi, pogotovo kroz prikaz udjela ultrazvučnih, biokemijskih i drugih probirnih testova u indikacijama za provođenje invazivne dijagnostike.



## 2. PROBIR U OPSTETRICIJI

Probir na kromosomopatije razlikuje se od ostatka probira u medicini jer ne ispunjava jedan od ključnih kriterija koji su preduvjet za uvođenje probira u određenoj indikaciji – mogućnost liječenja stanja koje pokušavamo detektirati. Prema osnovnim načelima probira, on se vrši da bi se otkrila prisutnost bolesti čije je liječenje uspješnije u slučaju njenog ranijeg otkrivanja. Stanja koja se pokušavaju detektirati prenatalnim probirom u ovom su trenutku neizlječiva, bez obzira na to u kojoj se gestacijskoj dobi otkriju, tako da samo provođenje probira i ranije postavljanje dijagnoze ne utječe na preživljenje pogođenog djeteta. Iako takav probir za sobom povlači brojna etička pitanja i dileme, u svakodnevnom je radu od iznimne važnosti za buduće roditelje i svaki opstetričar trebao bi posjedovati iscrpno znanje o njemu kako bi s maksimalnom profesionalnošću i sigurnošću mogao komunicirati s pacijentima, savjetovati ih i pomoći im da odaberu onakve postupke i prenatalnu skrb kakve žele i očekuju.

Iako je amniocenteza kao metoda u dijagnostici kromosomskih aberacija u uporabi još od 1960-ih godina i pokazala se uspješnom u više od 99% slučajeva (15), s obzirom na tehničku zahtjevnost, invazivnost, cijenu i moguće komplikacije postupka ona je neprimjerena za korištenje u svakoj trudnoći, pogotovo kada na temelju majčine dobi, anamneze i drugih čimbenika procijenimo da je riječ o niskorizičnoj trudnoći. Posljedično tome, javila se potreba za pronalaskom i primjenom sigurnijih, ali i što osjetljivijih metoda koje bi mogle utvrditi koje su žene pod povećanim rizikom da nose fetus s kromosomopatijom.

Te su metode danas utemeljene na mjerenju koncentracija biokemijskih markera u majčinoj krvi, određivanju prisutnosti fetalnih anomalija i drugih ultrazvučnih markera kromosomopatija, kao i na analizi slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi.

Prije otkrića prvih biokemijskih markera majčina dob bila je jedini kriterij na temelju kojeg se određivao rizik za postojanje kromosomopatije. Kao što je već spomenuto, učestalost autosomnih trisomija – klinički najbitnijih kromosomopatija - raste s dobi majke (1,6), a nakon 35. godine života rizik od spontanog pobačaja kao posljedice invazivne dijagnostike postaje manji od rizika rađanja djeteta s kromosomopatijom (15, 16). U skladu s tim, samo su žene starije od 35 godina pozivane na dijagnostičku amniocentezu te je nakon određenog vremena došlo do smanjenja broja novorođenčadi s kromosomopatijama u tih žena i pojave

biološko-statističkog paradoksa u kojem su većinu djece s kromosomskim poremećajima rađale mlađe žene (1). Pošto se procjenjuje da se oko 70% djece s trisomijom 21 (15) rađa u majki koje su mlađe od 35 godina, amniocenteza koja se izvodi samo na temelju kriterija majčine dobi pokazala se nedostatnom zbog mogućnosti detekcije samo manjeg dijela fetusa s kromosomopatijom te se uvidjela potreba pronalaska novih metoda kako bi se čitavoj populaciji trudnica omogućila prenatalna detekcija najčešćih kromosomskih poremećaja.

Prvi biokemijski marker za koji se utvrdila povezanost s povećanim rizikom od fetalnih aneuploidija bio je alfa-fetoprotein (AFP) u kasnim 1970-im godinama. Dijete majke koja je sudjelovala u probiru na otvorena oštećenja neuralne cijevi rođeno je s trisomijom 18, a retrospektivno je utvrđena snižena vrijednost alfa-fetoproteina u majčinom serumu (1). Ubrzo nakon toga ženama svih dobnih skupina postalo je dostupno određivanje razine alfa-fetoproteina u krvi, a kasnije su mu dodani i drugi markeri (15).

Alfa-fetoprotein je fetalni serumski glikoprotein koji se većim dijelom sintetizira u jetri i žumanjčanoj vreći. Poput albumina, sposoban je na sebe vezati steroide, masne kiseline, bilirubin i druge endogene i egzogene tvari i vrši važnu funkciju u njihovu transportu. Utjecaj koji ima na razvoj ploda još se istražuje. AFP iz fetalne cirkulacije prelazi u majčinu gdje se može detektirati u krvi ili urinu, a njegove povišene vrijednosti u majčinoj cirkulaciji povezane su s većim rizikom od prisutnosti defekata neuralne cijevi i abdominalne stijenke fetusa, dok su snižene vrijednosti prisutne uz trisomiju 21, 18, monosomiju X i druge kromosomopatije (17, 18).

Otkriće da je u krvi majke koja je nosila fetus s aneuploidijom došlo do promjene razine biokemijskog markera predstavilo je početak revolucije u prenatalnoj dijagnostici kromosomopatija. Bogart i suradnici su 1987. godine pretpostavili da abnormalni kariotip u stanicama posteljice u trisomiji 21 uzrokuje i promjenu njene funkcije, dovodeći i do promjene u razinama biokemijskih markera ploda u majčinu krvotoku. Ta pretpostavka omogućila je potencijalno korištenje svih tvari koje se sintetiziraju ili metaboliziraju u posteljici kao markera kromosomopatija (1) i tako pokrenula velik broj istraživanja o učinkovitosti primjene različitih tvari u prenatalnom probiru .

U ovom se trenutku u svrhu redovnog probira od biokemijskih markera osim alfa-fetoproteina koriste i humani korionski gonadotropin (hCG), nekonjugirani estriol (uE3), inhibin A i

plazmatski protein trudnoće A (eng. *pregnancy-associated plasma protein A*, PAPP-A). Kako je PAPP-A dio kombiniranog probira, testa prvog tromjesečja, o njemu će više riječi biti kasnije.

Humani korionski gonadotropin glikoprotein je koji se sintetizira u stanicama sinciciotrofoblasta već od vremena implantacije. Građen je od dvije nekovalentno vezane podjedinice, alfa i beta lanca, na koje su dodane po dvije ugljikohidratne jedinice. Iz stanica posteljice otpušta se intaktni hCG, kao i njegove slobodne podjedinice, a u praksi se danas koriste ili ukupni hCG ili njegova slobodna beta podjedinica (1). Humani korionski gonadotropin je široku uporabu stekao u dokazivanju i praćenju tijekom rane trudnoće, kao i u probirnim testovima prvoga i drugog tromjesečja. Njegove su razine u pravilu povišene u trisomiji 21 i paternalnoj triploidiji, a snižene u trisomiji 13, 18 i maternalnoj triploidiji (18). Estriol je ženski spolni hormon koji u visokim koncentracijama luči posteljica, a većina čestih kromosomopatija povezana je sa sniženom razinom njegovog nekonjugiranog oblika u majčinoj krvi (18). Inhibin A luče žuto tijelo i fetoplacentarna jedinica, a radi se o dimernom glikoproteinskom hormonu čija funkcija u trudnoći nije u potpunosti poznata. Probir na trisomiju 21 u drugom tromjesečju – kada su njegove razine više od prosjeka - predstavlja njegovu prvu kliničku primjenu, ali ispituje se i njegova povezanost s preeklampsijom, intrauterinim zastojem u rastu, prijevremenim porodom i drugim komplikacijama trudnoće (18, 19).

Određivanje rizika korištenjem biokemijskih markera vrši se dijeljenjem koncentracije pojedinog markera u majčinu krvotoku medijanom vrijednosti u neugroženim trudnoćama, a dobivena vrijednost predstavlja višekratnik medijana u neugroženim trudnoćama (eng. *multiple of unaffected median*, MoM) koji za svaki marker podliježe normalnoj raspodjeli i uvrštava se u formulu koja sadrži populacijske parametre razine markera i njegove koeficijente korelacije. S obzirom na to da na serumsku koncentraciju ovih markera tkiva utječu i obilježja majke kao što su tjelesna masa, etnička pripadnost, pušenje i način zanošenja, moraju se uključiti u izračun rizika kako bi se moglo ispravno definirati višekratnike medijana i uspoređivati zdrave i aneuploidne trudnoće (1).

Prethodno navedeni markeri međusobno se kombiniraju u nekoliko testova koji se provode u drugom tromjesečju trudnoće, po mogućnosti između 15. i 18. tjedna, ali i sve do 22. tjedna (20).

Dvostruki probir (eng. *double test*) mjeri AFP i ukupni hCG ili njegovu slobodnu beta podjedinicu, u trostrukom probiru (eng. *triple test*) prethodnom se testu dodaje i nekonjugirani estriol, a u četverostrukom (eng. *quadruple test*) i inhibin A (1, 15).

Uz stopu od 5% lažno pozitivnih nalaza, kombinacija ovih biokemijskih markera s majčinom dobi nosi osjetljivost od oko 55-65% dvostrukog probira, 61-70% trostrukog i 65-81% četverostrukog (1, 15).

Navedeni testovi kroz godine su u različitim zemljama i ustanovama bili i različito zastupljeni, a danas je njihova primjena znatno rjeđa zbog češćeg korištenja probirnih testova prvog tromjesečja, kao i analize slobodne fetalne DNA. Najčešće se koriste u slučajevima kada se žene jave prekasno da bi se učinio probir prvog tromjesečja ili kada im testovi prvog tromjesečja i analiza slobodne fetalne DNA iz različitih razloga nisu dostupni.

Osim biokemijskih markera, u postavljanju sumnje na postojanje kromosomske abnormalnosti od velike su važnosti i fetalne anomalije i drugi markeri koji se mogu uočiti na ultrazvučnim pregledima kroz čitavu trudnoću. Broj je ultrazvučnih markera koji pobuđuju sumnju na povećan rizik od postojanja kromosomopatije velik, a ovisno o vrsti i broju markera može se postaviti indikacija za primjenu invazivne dijagnostike ili ne.

U slučaju prisutnosti izolirane anomalije daljnji postupak ovisi o njenoj vrsti, iako su izgledi da je kromosomopatija prisutna manji nego u slučaju prisutnosti višestrukih anomalija. Ženama kod kojih je na ultrazvučnim pregledima u drugom ili trećem tromjesečju pronađena izolirana značajna fetalna anomalija može se preporučiti dijagnostička amniocenteza kako bi se utvrdilo postojanje kromosomopatije u podlozi (15). To je pogotovo važno u slučaju teških ili smrtonosnih anomalija kako bi se procijenila mogućnost njihova ponavljanja u idućim trudnoćama, ali i kako bi se u slučaju anomalija koje se mogu operativno korigirati dokazala ili isključila prisutnost kromosomopatije - pogotovo trisomije 18 ili 13 – koja značajno pogoršala prognozu i dovodi u pitanje opravdanost samog operativnog zahvata (3). Ipak, postoje i stavovi da bi u većini trudnoća koje se smatraju niskorizičnima poželjno bilo pronaći više od jednog ultrazvučnog markera kromosomopatija da bi se odlučilo na invazivnu dijagnostiku. Konačna odluka, naravno, ovisi o stavovima i motivaciji roditelja.

Već nekoliko desetljeća poznato je i da se ultrazvučna detekcija aneuploidija povećava i pronalaskom markera, tzv. *softsigns*, koji ne predstavljaju malformacije već normalne

varijante, ali čiji veći broj prisutan u fetusu višestruko povećava rizik od postojanja kromosomopatije. Najznačajniji su od njih povećana debljina nuhalnog nabora, proširenje bubrežnih čašica, hiperehogeno crijevo, hiperehogeni fokusi u srcu i kratki femur i humerus. Dok je prisutnost više navedenih markera poželjno temeljitije istražiti, nalaz samo jednog od njih može biti prisutan u čak 10% zdravih trudnoća što ih čini nepraktičnim za potrebe probira u općoj populaciji, a na temelju jednog markera ne bi se trebalo ni pristupati invazivnoj dijagnostici (3, 15). Danas se preporučuje pristup u kojem se dotad izračunati rizik modificira na temelju povećanja rizika koje prisutnost pojedinog markera nosi, odnosno smanjenja rizika kod njegove odsutnosti (3).

Kod većine poremećaja koji nose visoku smrtnost *in utero*, kao što su trisomija 13 ili 18 i triploidija, u drugom se tromjesečju ultrazvučnim pregledom može detektirati barem jedna anomalija. U trisomiji 21 učestalost je takvih nalaza mnogo manja. (15)

Najčešći nalazi koji ukazuju na postojanje trisomije 21 u fetusa su različite srčane anomalije, hidronefroza, duodenalna atrezija, ventrikulomegalija, skraćenje humerusa i femura i dr. Uz trisomiju 18 vežu se nalazi srčanih anomalija, omfalokele, postojanja samo jedne umbilikalne arterije, ciste koroidnog pleksusa, preklapajućih prstiju na rukama, anomalija stopala (tzv. *rocker bottom feet*) i dr. U trisomiji 13 prisutni mogu biti holoprocencefalija, ventrikulomegalija, druge anomalije mozga, lica, srca, bubrega, omfalokela i polidaktilija. U monosomiji X najčešći su nalazi cistični higrom, abnormalnosti srca i potkovasti bubrezi, a u triploidiji abnormalnosti građe ili veličine posteljice, sindaktilija, abnormalnosti srca, mozga i drugih organa (3, 15).

Osim navedenih testova, čije je provođenje brzo i vremenski ograničeno na kraće razdoblje u trudnoći, na tržištu je dostupan i integrirani probirni test koji kombinira ultrazvučne i biokemijske markere prvog tromjesečja s četverostrukim probirom u drugom tromjesečju, a modifikacijom rizika nakon svakog provedenog testa izračunava se zajednički rizik. Integrirani probir omogućuje vrlo visoku stopu detekcije kromosomopatija, s osjetljivošću od oko 85% kada je stopa lažno pozitivnih nalaza 1% pa sve do 95% uz stopu lažno pozitivnih od 5% (18).

Njegove su prednosti prvenstveno visoka osjetljivost, niža stopa lažno pozitivnih nalaza na isti broj otkrivenih slučajeva u usporedbi s drugim testovima, posljedično manji broj provedenih invazivnih dijagnostičkih zahvata i komplikacija koje one nose te manja

anksioznost pacijentica zbog lažno pozitivnih nalaza koja u idućim trudnoćama može dovesti i do odbijanje sudjelovanja u probirnim programima (18). Najveći nedostatak integriranog probira kasno je dobivanje rezultata s obzirom na to da se u klasičnom pristupu pacijentici rizik priopćava tek nakon provedenih svih testova. No, taj je nedostatak djelomično ispravljen pojavom sekvencijskog pristupa integriranom probiru, kod kojeg se ženama s utvrđenim vrlo visokim rizikom u prvom tromjesečju priopćava njihov rizik i omogućuje im se rana invazivna dijagnostika ako je žele. Ženama koje nisu u skupini najrizičnijih rizik se ne priopćava do kraja testa jer je velika vjerojatnost da će probirni test u drugom tromjesečju smanjiti dotad izračunati rizik i svrstati pacijentice u skupinu niskorizičnih, a tako i smanjiti stopu lažno pozitivnih nalaza i nepotrebnih invazivnih postupaka (18).

Osim integriranog probira, test koji je pokazao najvišu stopu detekcije trisomije 21 uz najmanji broj lažno pozitivnih nalaza analiza je slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi (eng. *cell-free DNA*, cfDNA). Poznata je i kao neinvazivni prenatalni test (eng. *non-invasive prenatal test*, NIPT), a radi se o metodi probira na fetalne kromosopatije koja se temelji na izolaciji, sekvenciranju i analizi slobodne fetalne DNA koja se u majčinom krvotoku može detektirati gotovo od početka trudnoće .

Izolacija i analiza fetalne DNA iz majčine krvi znanstvenike je zanimala još od 60-ih godina prošlog stoljeća, a do fetalnog genskog materijala prvo se pokušavalo doći koristeći čitave fetalne stanice u majčinu krvotoku. No, zbog njihovog vrlo malog broja u majčinoj krvi i prisutnosti godinama nakon trudnoće nisu se pokazale pouzdanim izvorom fetalne DNA (1, 15).

Slobodna DNA u krvotoku čovjeka otkrivena je polovicom prošlog stoljeća, no dugo vremena njena analiza nije našla svoje mjesto u svakodnevnoj kliničkoj praksi. U 1970-im godinama opisala se moguća primjena slobodne DNA u dijagnostici i praćenju učinka terapije u onkologiji, a dvadeset godina kasnije približilo se i njoj upotrebi u opstetriciji. Lo i suradnici su, naime, 1997. godine otkrili prisutnost slobodne fetalne DNA u krvotoku trudnica pronašavši genske sljedove specifične za Y kromosom u krvi žena koje su nosile mušku djecu i time su postavili temelje novog pristupa prenatalnom probiru (1, 15).

Slobodna DNA oslobađa se u krvotok dijelom iz živih stanica, a dijelom nakon stanične smrti i lize. U pravilu se u krvi zdravih ljudi nalaze niske vrijednosti slobodne DNA zbog uspješnog uklanjanja mrtvih stanica fagocitozom, a njezina je povišena razina prisutna ili zbog njenog pojačanog stvaranja ili smanjenog uklanjanja iz krvi. Osim kod prisutnosti tumorske bolesti, pogotovo metastatskog procesa, povišene vrijednosti slobodne DNA u krvi su prisutne kod

različitih upalnih procesa, nakon jake traume, infarkta miokarda, cerebrovaskularnog infarkta i dr. Fetalna slobodna DNA pretežno sastoji od kratkih fragmenata koji se oslobađaju iz raspadnutih stanica ploda ili trofoblasta te prelaze u majčinu cirkulaciju, gdje im vrijeme poluraspada iznosi samo 16 minuta. Iako fetalna slobodna DNA čini samo oko 5-10% ukupne slobodne DNA u majčinom krvotoku, suvremenim metodama moguće ju je prepoznati, odvojiti od majčine DNA i analizirati (1). S obzirom na mogućnost izolacije u većine pacijentica i nezadržavanje u majčinoj krvi, slobodna fetalna DNA predstavlja obećavajući izvor fetalnog genetskog materijala za neinvazivnu prenatalnu dijagnostiku.

Iako je fetalna DNA u majčinu krvotoku prisutna i puno ranije, ne preporučuje se njeno analiziranje prije 10. tjedna trudnoće zbog većih izgleda za nemogućnost dobivanja rezultata uslijed snižene fetalne frakcije. Niska fetalna frakcija (obično ispod 4%) jedna je od najčešćih poteškoća koja se javlja prilikom korištenja cfDNA i koja može dovesti do nemogućnosti dobivanja rezultata. Posebno je značajna češća pojava niske fetalne frakcije u trudnoćama s nižom razinom PAPP-A i slobodnog  $\beta$ -hCG-a u krvi, većom tjelesnom mase majke i prisutnosti trisomije 18 i 13 u ploda. Osim niske fetalne frakcije, uzroci nemogućnosti dobivanja rezultata mogu biti i neprikladno prikupljanje i dostavljanje uzorka krvi u laboratorij ili neuspješna ekstrakcija, amplifikacija ili sekvenciranje DNA (21).

Analiza slobodne fetalne DNA može se koristiti kao primarni probirni test u općoj populaciji ili kao sekundarni test koji se provodi nakon dobivenog visokorizičnog nalaza drugog probirnog testa u bilo kojoj gestaciji, kao i nakon detekcije fetalnih anomalija. Kao primarni test omogućuje visoku stopu detekcije kromosomopatija, pogotovo trisomije 21, uz malen broj lažno pozitivnih nalaza i tako uvelike smanjuje korištenje invazivne dijagnostike, ali po visokoj cijeni. Zbog cijene testa i nemogućnosti dobivanja rezultata u određenim slučajevima, njegovo se korištenje danas ipak ne preporučuje u početnom probiru. Iako im je osjetljivost za detekciju trisomije 21 niža od one NIPT-a, biokemijski markeri koji se koriste u probiru u prvom i drugom tromjesečju imaju i mogućnost ukazivanja na moguće postojanje defekata neuralne cijevi, patologiju posteljice ili povišen rizik od razvoja komplikacija trudnoće (zastoj u rastu, preeklampsija i dr.) što analiza cfDNA ne može učiniti. Kada se koristi uz standardne biokemijske testove, kao sekundarni probirni test, donosi veću korist nego u primarnom probiru tako što uz prihvatljiviju cijenu omogućuje visoku stopu otkrivanja kromosomopatija uz smanjenje stope izvođenja invazivnih dijagnostičkih zahvata i komplikacija koje ih prate (21).

Prednosti su korištenja cfDNA i mogućnost ciljane detekcije abnormalnosti spolnih kromosoma, što kod drugih probirnih testova nije slučaj. Takve su se abnormalnosti dotada dokazivale isključivo invazivnom dijagnostikom ili kao slučajan nalaz kod pretraga koje su vršene u svrhu detekcije autosomnih trisomija ili nakon patološkog ultrazvučnog nalaza, najčešće cističnog higroma ili fetalnog hidropsa. Zbog najčešće blage kliničke slike takvih poremećaja, testiranje na njih trudnicama se obično niti ne preporučuje, a i osjetljivost testa u detekciji poremećaja spolnih kromosoma pokazala se znatno lošijom od one autosomnih kromosoma, uz visoku stopu lažno pozitivnih nalaza i velik broj otkrivenih mozaičnih kariotipova (21).

Osjetljivost analize slobodne fetalne DNA u detekciji trisomije 21, 18 i 13 u literaturi se navodi kao 99%, 96% i 91% uz stopu lažno pozitivnih nalaza od 0,35% (21), što čini osjetljivost i specifičnost NIPT-a za detekciju trisomije 21 u jednoplodnim trudnoćama višom od bilo kojeg drugog dostupnog probirnog testa. Osjetljivost kod detekcije trisomija 18 i 13 je, pak, niža od one kombiniranog probira ako se uračunaju i oni uzorci koje nije bilo moguće analizirati, a kada je učestalost ovih trisomija dokazano veća nego u analiziranih uzoraka. Posebice je nepovoljan porast broja lažno pozitivnih nalaza ako se žele detektirati i trisomija 18 i 13 u odnosu na manji porast broja lažno pozitivnih nalaza kombiniranog probira u istom slučaju (21).

Na kraju valja naglasiti da je usprkos vrlo visokoj osjetljivosti nekoliko od navedenih testova rana amniocenteza (RACZ) - koja se izvodi od 15. do 18. tjedna trudnoće (1) - najtočniji test za potvrdu dijagnoze kromosomskog poremećaja i njeno je korištenje poželjno u slučaju dobivanja visokorizičnog nalaza bilo kojeg testa drugog tromjesečja, pogotovo ako je dobiveni nalaz probira roditelje usmjerio prema prekidu trudnoće.



### 3. PROBIR U PRVOM TROMJESEČJU

Prebacivanje probira na kromosopatije iz drugog u prvo tromjesečje u posljednjih se godina u razvijenim državama postavilo kao standard prenatalne skrbi.

Princip provođenja probira u prvom tromjesečju sličan je onome u ostatku trudnoće te se mogu koristiti majčina dob, ultrazvučni markeri ili tvari iz krvotoka majke u različitim kombinacijama. Uz ove metode, kao primarni ili sekundarni probirni test može se koristiti i analiza slobodne fetalne DNA iz majčine krvi.

Kao što je prethodno navedeno, korištenje majčine dobi kao jedinog kriterija za procjenu rizika i upućivanje trudnice na invazivnu dijagnostiku može biti korisno u nedostatku drugih metoda, ali je zbog niske stope detekcije poremećaja danas u razvijenim zemljama u potpunosti zamijenjeno složenijim metodama izračunavanja rizika od prisutnosti najčešćih kromosomskih poremećaja. Ipak, majčina dob i danas se koristi kao jedini kriterij za određivanje rizika od kromosopatija u slučajevima kada su žene zbog prethodnih loših iskustava s probirnim testovima ili zbog drugih osobnih razloga nevoljne podvrgnuti se bilo kakvom probiru.

Dodavanjem samo jednog ultrazvučnog markera majčinoj dobi - mjerenje nuhalne prozirnosti fetusa - osjetljivost probira u prvom tromjesečju može se povećati s manje od 50% na oko 75-80% uz stopu invazivnog testiranja od oko 5% (1,3). Nuhalna prozirnost (eng. *nuchal translucency*, NT) predstavlja ultrazvučni prikaz potkožne tekućine na stražnjoj strani fetalnog vrata u prvom tromjesečju trudnoće (3) i u probiru na kromosopatije u prvom tromjesečju ona predstavlja osnovni ultrazvučni marker koji može ukazati na postojanje kromosomske abnormalnosti ploda.

Osim trisomije 21, povećana nuhalna prozirnost udružena je i s monosomijom X, trisomijom 18 i 13, kao i drugim kromosopatijama, fetalnim malformacijama i genskim bolestima. Na njenu veličinu ne utječu spol fetusa, začće metodama potpomognute oplodnje, majčine bolesti, pušenje, etnička pripadnost, komplikacije u trudnoći i slično (3).

Ultrazvučni markeri koji se uz veličinu nuhalne prozirnosti u svakodnevnom radu mogu ispitati kako bi se povećala osjetljivost probira prisutnost su nosne kosti, protok kroz duktus

venozus i postojanje trikuspidalne regurgitacije (1, 3, 15). Ovi se markeri pretežno analiziraju u slučajevima kada je na ultrazvučnom pregledu prvog tromjesečja pronađen značajniji patološki nalaz – povećanje nuhalne prozirnosti, cistični higrom, fetalni hidrops i dr. – kako bi se dodatno modificirao izračunati rizik od prisutnosti kromosomopatije i odlučilo o potrebi izvođenja invazivnih dijagnostičkih zahvata ili ne.

Od drugih ultrazvučnih markera, u procjeni rizika u ranom probiru mogu se koristiti i smanjena duljina maksile, prisutnost ciste koroidnog pleksusa, molarnih promjena posteljice, postojanje samo jedne umbilikalne arterije i dr (3). Znakovi koji mogu ukazivati na prisutnost kromosomopatija su i zastoj u rastu ploda i fetalna bradikardija ili tahikardija. Trisomija 18 i triploidija mogu biti udružene sa znatnim zastojem u rastu i fetalnom bradikardijom, dok je kod trisomije 13 i monosomije X češći blagi zastoj u rastu i fetalna tahikardija (3).

Osim ultrazvučnih markera, u redovni probir u prvom tromjesečju uključene su i koncentracije biokemijskih markera iz majčine krvi, najčešće slobodnog  $\beta$ -hCG-a i PAPP-A.

PAPP-A je glikoprotein koji se stvara u posteljici i decidui, a vrši funkciju enzima proteinaze za proteine koji se vežu na inzulinu slične čimbenike rasta (eng. *insulin-like growth factor binding protein*, IGFBP) (1, 22). Svojim djelovanjem regulira razinu čimbenika rasta sličnih inzulinu, čije su funkcije među ostalima i regulacija rasta i diferencijacije fetalnih stanica i invazija trofoblasta (1). Koncentracija PAPP-A u majčinoj krvi povećava se trajanjem trudnoće, a njegove snižene vrijednosti između 11 i 13 tjedana gestacije povezuju se s kromosomskim i genskim bolestima ploda, ali i s povišenim rizikom od razvoja preeklampsije, intrauterinog zastoja u rastu, nastupa prijevremenog poroda i fetalne smrti (1, 22). Kao marker za kromosomopatije veću vrijednost ima u ranijoj gestaciji, već od 9. tjedna, a prema 13. tjednu njegova učinkovitost pada (18). Za razliku od njega, učinkovitost ukupnog hCGa ili njegove slobodne beta podjedinice veća je u kasnijoj gestaciji unutar navedenog vremenskog intervala (18).

Probirni test koji se temelji na majčinoj dobi i mjerenju serumske koncentracije slobodnog  $\beta$ -hCG-a i PAPP-A, bez određivanja ultrazvučnih markera, ima osjetljivost u detekciji trisomije 21 od 65% uz udio lažno pozitivnih od 5% (1). Kako između koncentracija slobodnog  $\beta$ -hCG-a i PAPP-A i mjere NT nema značajne povezanosti, navedeni markeri mogu se kombinirati kako bi se povećala osjetljivost testa u odnosu na one koje bi svaki od njih imao pojedinačno. (3) Određivanje rizika uz pomoć majčine dobi, mjerenja nuhalne prozirnosti i

razina  $\beta$ -hCG-a i PAPP-A predstavlja kombinirani test, najčešće izvođen probirni test prvog tromjesečja.

Kombinirani je probir pokazao osjetljivost višu od one biokemijskih testova drugog tromjesečja, a uz to je i praktičan zbog brzog i ranog dobivanja rezultata te zato što se u slučaju visokorizičnog nalaza odmah može nastaviti s provođenjem sekundarnog probira analizom slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi ili invazivnih dijagnostičkih metoda, tj. biopsije korionskih resica (1).

Provodi se tako da se, najčešće u isto vrijeme, između 11 i 13+6 tjedana ispravno datirane trudnoće izvrši mjerenje nihalne prozirnosti i uzimanje uzorka majčine krvi. Krv se može izvaditi i ranije, nakon navršenih 9 tjedana trudnoće, kako bi rezultati bili dostupni odmah nakon obavljenog ultrazvučnog pregleda (18).

U slučaju trisomije 21, razina slobodnog  $\beta$ -hCG-a u majčinoj je krvi otprilike dvaput viša, a razina PAPP-A upola niža od prosjeka u kromosomski normalnih fetusa (1, 3, 18). U trisomijama 18 i 13 i maternalnoj triploidiji razine oba markera su snižene, kod abnormalnosti spolnih kromosoma samo je razina PAPP-A snižena, a kod paternalne triploidije razina  $\beta$ -hCG-a je povišena, a PAPP-A snižena (16).

Osjetljivost je kombiniranog probira oko 85% za trisomiju 21 uz oko 5% lažno pozitivnih nalaza (3, 18), a detekcija ostalih kromosomopatija prema različitim studijama kreće se od 78% sa 6% lažno pozitivnih nalaza do iznad 90% sa samo 3,1% lažno pozitivnih (18).

Dodavanjem prikaza nosne kosti, trikuspidalne regurgitacije ili analize protoka kroz duktus venozus kombiniranom probiru osjetljivost mu se može povećati na čak 93-96% uz smanjenje stope lažno pozitivnih rezultata na 2,5% (1).

Osim samostalnog korištenja kombiniranog probira, on može biti i prvi korak u opsežnijem, integriranom probiru, o kojem je već bilo riječi.

Od drugih biokemijskih markera koji se mogu koristiti u probiru u prvom tromjesečju u istraživanjima su se upotrebljavali i placentarni čimbenik rasta (eng. *placental growth factor*, PIGF) i alfa-fetoprotein. Njihova je razina u trisomiji 21 uglavnom niža od prosjeka euploidnih trudnoća (18, 23), a u kombinaciji sa slobodnim  $\beta$ -hCG-om i PAPP-A po nekim studijama može se detektirati čak 90% trisomije 21, ali uz visoku stopu lažno pozitivnih nalaza od 20%.

Njihovim dodavanjem standardnom kombiniranom probiru njegova bi se osjetljivost mogla povećati na oko 89,1% uz smanjenje lažno pozitivnih nalaza s 5 na 1,9% (23). Primjena ovih markera zasad nije dio standardnog probira, no mogla bi biti korisna u situacijama kada se NT ne može izmjeriti zbog nedostupnosti, nepouzdanosti ili skupoće mjerenja. Sve pozitivne rezultate ovih testove trebalo bi potvrditi analizom slobodne fetalne DNA. Inhibin A je u pravilu u trisomiji 21 između 11 i 13+6 tjedana povišen, ali rijetko se koristi u prvom tromjesečju (18).

Naposljetku, kao primarni ili sekundarni probirni test u prvom tromjesečju može se koristiti i analiza slobodne fetalne DNA u majčinoj krvi. Iako se radi o testu koji znatan dio populacije doživljava kao preskup i nedostižan, zbog visoke razine detekcije najčešćih kromosomopatija, smanjene stope invazivnih dijagnostičkih pretraga i mogućnosti dobivanja nalaza u ranoj trudnoći i u kratkom vremenskom razdoblju nakon inicijalnog testiranja, testiranje slobodne fetalne DNA u posljednjim godinama postalo je sve zastupljenije. Uz daljnje povećanje osjetljivosti i specifičnosti testa za detekciju trisomije 18 i 13, širi spektar poremećaja koji se mogu tražiti i postupno sniženje cijene, ovaj probirni test u budućnosti bi se mogao pokazati i mnogo važnijim no što je to bio dosad.

#### 4. ISTRAŽIVANJE

Svrha je ovog rada prikazati utjecaj probira na prenatalnu skrb danas, a da bi se njegov učinak uočio, najvažnije je promotriti promjene u broju i indikacijama za izvođenje invazivnih dijagnostičkih zahvata do kojih je njegova primjena dovela.

U skladu s tim, provedeno je retrospektivno istraživanje u kojem su se analizirale indikacije za invazivne zahvate za dijagnostiku kromosomopatija u razdoblju od 1. siječnja 2012. do 31. prosinca 2017. godine na Klinici za ginekologiju i porodništvo Kliničke bolnice „Sveti Duh“.

Cilj istraživanja bio je utvrditi učestalost probira prvog tromjesečja (ultrazvuk i kombinirani probir) u ukupnom broju indikacija za invazivne zahvate, kao i odabir invazivnog zahvata (biopsija korionskih resica ili rana amniocenteza) temeljem rezultata probira prvog tromjesečja.

Podaci o invazivnim zahvatima i njihovim indikacijama dobiveni su iz medicinske dokumentacije pohranjene u Ambulanti za visokorizičnu trudnoću poliklinike Klinike za ginekologiju i porodništvo KB "Sveti Duh".

Osim indikacija za izvođenje invazivnih dijagnostičkih zahvata, analizirani su i podaci o broju zahvata po godinama i vrsti, kao i o dobi majke i gestacijskoj dobi u vrijeme izvođenja zahvata.

Rezultati istraživanja pokazali su da su u razdoblju od 2012. do 2017. godine provedena 1672 invazivna zahvata s ciljem dijagnostike kromosomopatija.

Njihov je godišnji broj u tom razdoblju kontinuirano padao, od 349 zahvata 2012. godine do 208 zahvata 2017. godine. Najveći broj zahvata činile su amniocenteze (79,8%), zatim biopsije korionskih resica (19,3%), dok su ostale metode bile zanemarivo malo zastupljene.

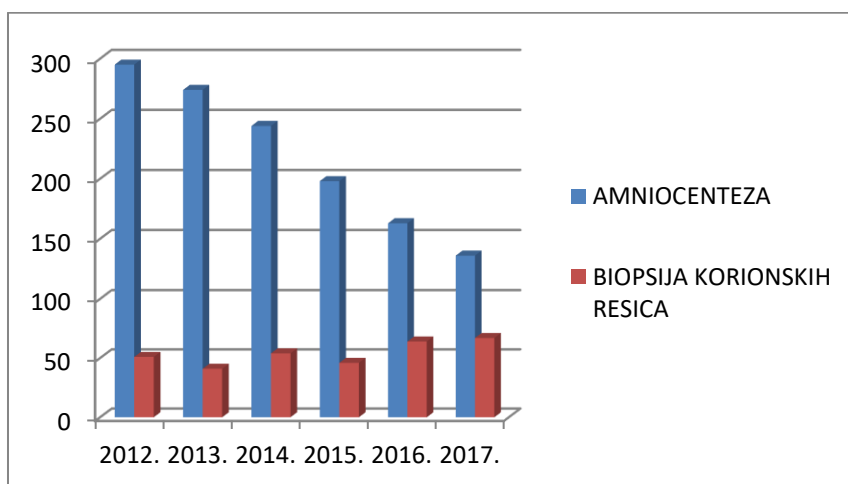
**Tablica 2. Prikaz izvedenih invazivnih dijagnostičkih zahvata kroz godine**

	<b>2012.</b>	<b>2013.</b>	<b>2014.</b>	<b>2015.</b>	<b>2016.</b>	<b>2017.</b>	<b>UKUPNO</b>
<b>BROJ ZAHVATA</b>	<b>349</b>	<b>324</b>	<b>308</b>	<b>252</b>	<b>231</b>	<b>208</b>	<b>1672</b>
amniocenteza	296	281	251	202	166	138	<b>1334</b>
biopsija korionskih resica	51	41	54	46	64	67	<b>323</b>
kordocenteza	1	1	0	2	1	2	<b>7</b>
placentocenteza	1	1	3	2	0	1	<b>8</b>

Iz dobivenih podataka za potrebe su daljnje analize izdvojene biopsije korionskih resica i sve amniocenteze izvršene prije 22. tjedna trudnoće. Takvih je zahvata od 2012. do 2017. godine bilo 1633, od čega je bilo 1310 amniocenteza i 323 biopsije korionskih resica.

Pad broja invazivnih zahvata nastupio je prvenstveno zbog velikog pada u broju izvršenih ranih amniocenteza (s 295 zahvata 2012. godine na 136 zahvata 2017. godine, pad za 53,9%), dok je apsolutni broj biopsija korionskih resica nakon 2015. godine doživio porast, a porastao je i njihov udio u ukupnom broju izvršenih zahvata.

Ta se promjena međusobnog odnosa broja amniocenteza i biopsija korionskih resica bolje može vidjeti na slici 1.



**Slika 1. Prikaz promjene odnosa broja ranih amniocenteza i biopsija korionskih resica kroz godine**

Određivanje gestacijske dobi vršeno je ultrazvučnim mjerenjem, a prikazan je raspon gestacijskih dobi prilikom izvođenja pojedine vrste zahvata, kao i prosječna gestacijska dob u kojoj se on izvršio. Prilikom izvođenja biopsije korionskih resica prosječna je gestacijska dob iznosila 13,2 tjedna, a kod amniocenteze 16,8 tjedana.

**Tablica 3. Prikaz raspona i prosjeka gestacijske dobi pri izvođenju invazivnih dijagnostičkih zahvata**

	Raspon gestacijske dobi (tjedni)	Prosječna gestacijska dob (tjedni)
<b>Amniocenteza</b>	12 – 21	16,8
<b>Biopsija korionskih resica</b>	11 - 17	13,2

Na isti je način prikazana i dob majke, čiji je raspon bio vrlo širok za obje vrste zahvata, a prosjek je iznosio 33,1 godinu za biopsiju korionskih resica i 36,8 godina za amniocentezu. S

obzirom na veliku učestalost majčine dobi iznad 35 godina kao indikacije za izvođenje amniocenteze, postojanje razlike u prosječnoj dobi među zahvatima bilo je očekivano.

**Tablica 4. Prikaz raspona i prosjeka dobi majki pri izvođenju invazivnih dijagnostičkih zahvata**

	<b>Raspon dobi majki</b>	<b>Prosječna dob majke</b>
<b>Amniocenteza</b>	17 – 48	36,8
<b>Biopsija korionskih resica</b>	17 – 44	33,1

Najvažniji dio istraživanja, indikacije za izvođenje invazivnih zahvata, analizirane su tako da su se promatrale za svaku vrstu zahvata posebno, a same indikacije bile su podijeljene u sedam skupina.

Prva indikacija bila je dob majke od 35 godina ili više.

Drugu skupinu indikacija činili su ultrazvučni nalazi prvog tromjesečja - povećanje nuhalne prozirnosti, prisutnost cističnog higroma vrata, fetalnog hidropsa, anasarke, omfalocele i dr.

Treću su skupinu činili ultrazvučni nalazi drugog tromjesečja - sve anomalije i *soft* markeri koji su detektirani na ultrazvučnim pregledima u drugom tromjesečju, primjerice anomalije srca, SŽS-a, gastrointestinalnog ili urogenitalnog sustava, defekti trbušne stijenke, rascjepi usne ili nepca, hiperehogeno crijevo i sl.

Četvrtu je indikaciju činio visokorizični nalaz kombiniranog probira.

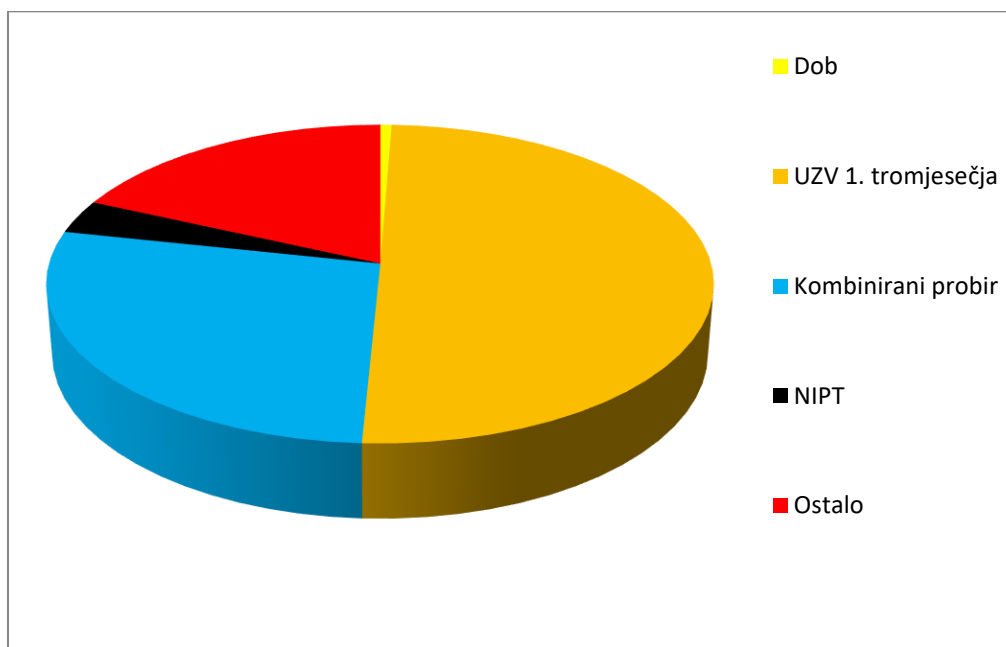
Petu je skupinu činio probir drugog tromjesečja, odnosno visokorizični nalazi dvostrukog i trostrukog testa.

Šesta je indikacija bila analiza slobodne fetalne DNA (NIPT).

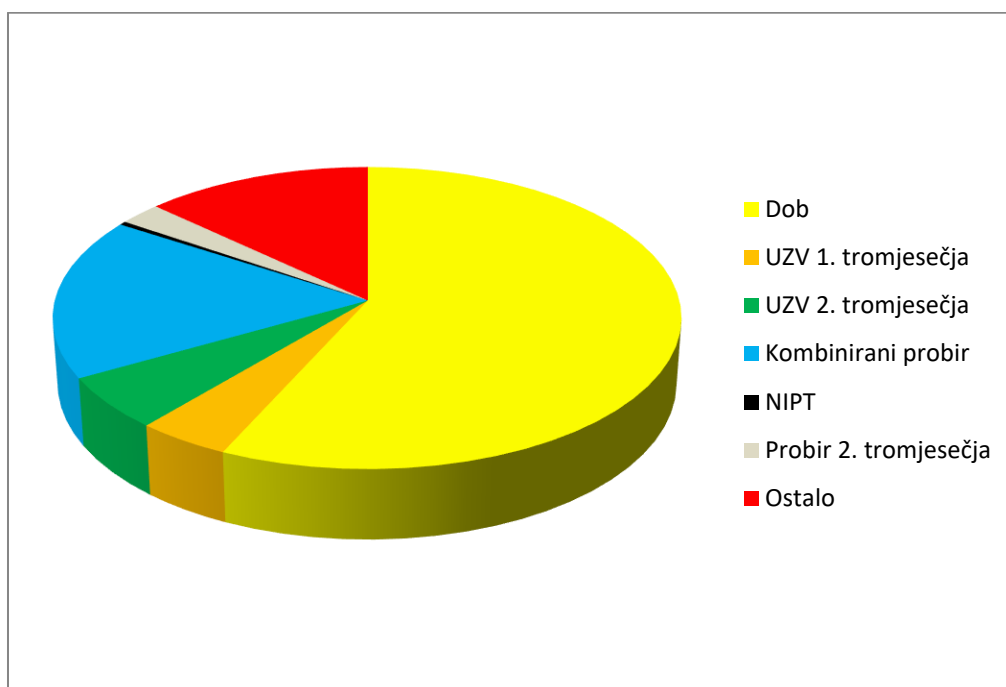


Posljednju su skupinu činile sve ostale indikacije - prethodna trudnoća zahvaćena kromosomopatijom, fetalnim anomalijama ili drugim bolestima djeteta, opterećena obiteljska anamneza, roditelj nositelj balansirane translokacije, izvođenje zahvata bez medicinske indikacije i dr.

Rezultati analize udjela pojedine skupine indikacija u ukupnom broju amniocenteza i biopsija korionskih resica prikazani su na slikama 2 i 3.



**Slika 2. Udio pojedinih indikacija u ukupnom broju izvedenih biopsija korionskih resica**



**Slika 3. Udio pojedinih indikacija u ukupnom broju izvedenih ranih amniocenteza**

Dobiveni rezultati pokazuju da je najčešća indikacija za izvođenje biopsije korionskih resica bio patološki ili suspektan ultrazvučni nalaz u prvom tromjesečju (50,2%). Slijedili su nalazi kombiniranog probira (27,6%) i skupina ostalih indikacija (18,3%), dok je najmanje zahvata bilo posljedica nalaza analize slobodne fetalne DNA (3,4%) i majčine dobi iznad 35 godina (0,6%).

Najčešća je indikacija za izvođenje rane amniocenteze, usprkos primjeni probirnih testova, i dalje bila majčina dob (56,8%), a nakon nje slijedili su nalazi kombiniranog probira (17,3%), ostale indikacije (13,1%), ultrazvučni nalazi drugog tromjesečja (5,6%), ultrazvučni nalazi prvog tromjesečja (4,4%), nalazi probira drugog tromjesečja (2,4%) i nalazi analize slobodne fetalne DNA (0,4%).

Ako se zbroje rezultati ultrazvučnih i biokemijskih probirnih testova prvog tromjesečja, može se uočiti da su bili ključni u postavljanju indikacije za 77,8% biopsija korionskih resica i 21,7%

ranih amniocenteza. Dodatkom nalaza analize slobodne fetalne DNA ti su udjeli 81,2% za biopsiju korionskih resica i 22,1% za amniocentezu.

**Tablica 5. Odabir vrste zahvata prema rezultatima probira prvog tromjesečja**

	<b>Ukupan indikacija</b>	<b>broj Amniocenteza</b>	<b>Biopsija korionskih resica</b>
<b>UZV 1. tromjesečja</b>	219	57	162
<b>Kombinirani probir</b>	316	227	89
<b>NIPT</b>	16	5	11

U tablici 5 prikazan je broj slučajeva u kojima je rezultat probira prvog tromjesečja bio indikacija za izvođenje invazivnih zahvata, kao i vrsta zahvata koja je odabrana.

Nakon dobivenog patološkog ili suspektog ultrazvučnog nalaza u prvom tromjesečju u 74,0% slučajeva odabrani je zahvat bila biopsija korionskih resica, a u 26,0% rana amniocenteza.

Kod visokorizičnog nalaza kombiniranog probira, pak, u 71,8% slučajeva izvedena je amniocenteza, a u 28,2% slučajeva biopsija korionskih resica.

Nakon visokorizičnog nalaza analize slobodne fetalne DNA, za biopsiju korionskih resica odlučilo se u 68,8% slučajeva, a za amniocentezu u 31,2%.

## 5. RASPRAVA

Provođenje probira u prvom tromjesečju sa sobom nosi brojne prednosti, a najvažnija je za roditelje ranije dobivanje rezultata, što pozitivno djeluje na njihovo psihičko stanje i skraćuje razdoblje neizvjesnosti i anksioznosti koju mogu osjećati čekajući nalaze probirnih testova. I istraživanja (24) i iskustva iz svakodnevne prakse pokazuju da se većina trudnica radije odlučuje za onaj test koji će omogućiti što ranije dobivanje rezultata, bilo da se radi o niskorizičnom ili visokorizičnom nalazu. Također, visokorizičan nalaz ranog probira roditeljima omogućuje i određivanje kariotipa ploda već od 11. do 14. tjedna trudnoće uz pomoć biopsije korionskih resica, više vremena za provođenje genetskog savjetovanja, pripremu za rođenje djeteta s kromosomopatijom ili sigurniji, diskretniji i manje traumatičan prekid trudnoće. Nedostatak ranog probira bi, pak, mogla predstavljati činjenica da bi u mnogim slučajevima u kojima je plod zahvaćen kromosomskim poremećajem ionako u jednom trenutku došlo do spontanog pobačaja, a identifikacija takvih plodova povećana je pomicanjem probira u raniju gestaciju (3).

Zbog navedenih pozitivnih karakteristika ranog probira, ali i prethodno spomenute veće osjetljivosti kombiniranog probirnog testa u odnosu na sve biokemijske testove drugog tromjesečja, zastupljenost je probira u prvom tromjesečju danas znatno porasla u odnosu na njegovu zastupljenost samo nekoliko godina ranije. Utvrđeni porast u apsolutnom broju biopsija korionskih resica izvedenih u posljednje dvije godine, kao i porast udjela biopsija korionskih resica u ukupnom broju izvedenih zahvata najbolji je pokazatelj da je došlo do premještanja velikog dijela probira iz drugog u prvo tromjesečje.

Usprkos porastu apsolutnog broja biopsija korionskih resica, u promatranom razdoblju došlo je do naglog pada ukupnog broja izvedenih invazivnih zahvata, što je rezultat pada broja amniocenteza od gotovo 54%. Radi se o dodatnoj potvrdi sve veće ukorijenjenosti probira u svakodnevnoj praksi, kao i povjerenja koje žene imaju u njega, s obzirom na to da je majčina dob u cjelokupnom razdoblju činila čak 56,8% svih indikacija za provođenje amniocenteze, a u početnim promatranim godinama i mnogo više od tog broja. Upravo je broj takvih zahvata smanjen jer je odazivanje žena starijih od 35 godina na probir kod mnogih od njih zasigurno rezultiralo dobivanjem niskorizičnog nalaza bez obzira na njihov povišen dobni rizik, što ih je uvjerilo u neopravdanost izvođenja invazivnih dijagnostičkih zahvata.

Prosječna je gestacijska dob mjerena ultrazvukom u trenutku izvođenja biopsije korionskih resica iznosila 13,2 tjedana, a za ranu amniocentezu 16,8 tjedana uz tendenciju postupnog pomaka prema ranijoj gestaciji, što govori o dobroj educiranosti, sigurnosti i stručnosti osoba koje takve zahvate vrše zbog čega su i pacijentice voljne pristupiti im u ranijoj gestacijskoj dobi s minimalnim strahom za daljnji tijek trudnoće.

Utvrđeni široki raspon dobi žena koje su se podvrgnule invazivnoj dijagnostici još je jedan od dobrih pokazatelja proširenosti uporabe ultrazvučnog i biokemijskog probira. S obzirom na to da je već opisana pojava učestalog rađanja djece s kromosomopatijama u mlađih žena u vrijeme kad se probir nije koristio i majčina je dob bila jedini kriterij za provođenje invazivne dijagnostike, ovako širok dobni raspon pokazuje da su primjenom probira i mlađe žene dobile priliku otkriti kromosomopatiju ploda u ranijoj gestacijskoj dobi bez obzira na statistički manji rizik od rađanja djeteta s aneuploidijom. Analiza podataka pokazala je i postojanje značajnog broja mladih žena čija je indikacija za invazivnu dijagnostiku bila jedna ili više prethodnih trudnoća zahvaćenih kromosomopatijom, što ukazuje na činjenicu da bez uporabe probira ili invazivnih dijagnostičkih zahvata nijedna žena, bez obzira na dob, ne može biti u potpunosti sigurna da će roditi kromosomski zdravo dijete.

Utvrđena je prosječna dob majke iznosila 33,1 godinu za biopsiju korionskih resica i 36,8 godina za amniocentezu. Kao što je već spomenuto, s obzirom na veliku učestalost majčine dobi iznad 35 godina kao indikacije za izvođenje amniocenteze, postojanje razlike u prosječnoj dobi među zahvatima bilo je očekivano. Ipak, ta bi se razlika u budućnosti mogla i dodatno smanjiti kako se uporaba probira bude širila, a osjetljivost i specifičnost probirnih testova postanu još veće.

Dobiveni rezultati koji opisuju najčešće indikacije za izvođenje biopsije korionskih resica zanimljivi su jer prikazuju da je i pored postojanja i primjene složenih probirnih testova, analize slobodne DNA i sl. nalaz povećane nuhalne prozirnosti i dalje najvrjedniji marker povišenog rizika od prisutnosti kromosomopatija koji se može detektirati u prvom tromjesečju i utjecati na žene da se podvrgnu invazivnim dijagnostičkim zahvatima.

Oko polovine je pacijentica upućeno na biopsiju korionskih resica samo na temelju povećane nuhalne prozirnosti kao izoliranog markera. Ostale indikacije - poput biokemijskih markera, opterećene obiteljske anamneze, dobi iznad 35 godina ili analize slobodne fetalne DNA – imale su tek manji udio u ukupnom broju indikacija.

Mjerenje se nihalne prozirnosti vrši transabdominalnim ili transvaginalnim ultrazvukom između 11 i 13+6 tjedana trudnoće, odnosno kod udaljenosti tjeme-trtica između 45 i 84 mm (1,3). Veličina NT povećava se trajanjem trudnoće i povećanjem duljine ploda, što treba uzeti u obzir prilikom određivanja rizika. Svaka trudnoća u kojoj se nihalna prozirnost mjeri mora biti ispravno datirana uz pravilno izmjerenu udaljenost tjeme-trtica. S obzirom na to da je medijan veličine nihalne prozirnosti samo 1,2 mm kod udaljenosti tjeme-trtica od 45 mm i 1,9 mm kod udaljenosti od 84 mm, a vrijednosti iznad 95. centile za navedene duljine ploda su 2,1 i 2,7 mm, potrebna je velika preciznost u mjerenju jer i vrlo malena pogreška sa sobom nosi rizik od znatnog precjenjivanja ili podcjenjivanja veličine prozirnosti, a time i pogrešno određivanje rizika (3).

Mjerenje bi se trebalo vršiti uređajem visoke rezolucije, a na zaslonu bi uz najveće povećanje trebali biti prikazani samo glava i gornji dio toraksa fetusa. Fetus bi trebao biti u neutralnom položaju, bez hiperekstenzije ili fleksije vrata koje mogu dovesti do pogrešnog očitavanja veličine prozirnosti i značajno promijeniti izračunati rizik. Također, da bi se izbjeglo pogrešno mjerenje, potrebno je i moći razlikovati kožu vrata od amnijske membrane te ih pokušati prikazati razdvojene. Mjerenje treba ponoviti više puta i odabrati najvišu dobivenu vrijednost, a u slučaju pupkovine omotane oko fetalnog vrata mjerenje se vrši s njezine obje strane te se izračunava prosječnu vrijednost nihalne prozirnosti koja će se koristiti za izračun rizika (3).

Za svaku udaljenost tjeme-trtica istraživanjima je utvrđen odgovarajući raspon veličine nihalne prozirnosti, a svaka mjera nihalne prozirnosti koja odstupa od medijana za određenu gestacijsku dob predstavlja odgovarajuće povećanje ili smanjenje prethodno izračunatog rizika od postojanja abnormalnosti ploda, s tim da je rizik to veći što je prozirnost veća. Izmjerena nihalna prozirnost uvrštava se u ukupni rizik tako da se prethodno utvrđeni rizik (majčina dob i gestacija) množi koeficijentom koji ovisi o razlici izmjerene nihalne prozirnosti i medijana za istu udaljenost tjeme-trtica (delta vrijednost izražena u milimetrima) (3).

Vršenje mjerenja prije navršenih 11 tjedana trudnoće nije pogodno zbog nemogućnosti sigurnog izvođenja biopsije korionskih resica radi potvrde ili isključivanja dijagnoze, a i gestacija je prekratka da bi se mogle prikazati sve velike fetalne anomalije koje se mogu vidjeti nakon navršenih 11 tjedana, što i drugi cilj tog ultrazvučnog pregleda. U nekima od istraženih slučajeva indikacija je, uz povećanu nihalnu prozirnost, bila upravo i prisutnost značajne fetalne anomalije utvrđene na istom ultrazvučnom pregledu, što dodatno potvrđuje

potrebu neizvođenja ovog pregleda u preranoj gestaciji zbog mogućnosti propuštanja dodatnih anomalija koje mogu doprinijeti utvrđivanju visokog rizika od prisutnosti aneuploidije i postojanja indikacije za izvođenje biopsije korionskih resica kao definitivne dijagnostičke metode.

Također, mjerenje se ne vrši nakon kraja prvog tromjesečja zbog postupnog nestajanja nuhalne prozirnosti, vertikalizacije fetusa koja onemogućava kvalitetno mjerenje, ali i jer je jedan od ciljeva ranog probira omogućavanje što ranijeg i sigurnijeg prekida trudnoće parovima koji to žele, a nakon 14. tjedna to je teže postići (1,3).

Nuhalna prozirnost nestaje u drugom tromjesečju, ali može progredirati u nuhalni edem ili cistični higrom sa ili bez fetalnog hidropsa. Cistični higrom je u oko 75% slučajeva udružen s kromosomskim aberacijama, najčešće s monosomijom X, dok se nuhalni edem povezuje s trisomijom 21 i 18, različitim fetalnim malformacijama, kongenitalnim infekcijama, metaboličkim i hematološkim bolestima, kao i s drugim stanjima. Iako se preporučuje veličinu nuhalne prozirnosti interpretirati s biokemijskim markerima, a ne zasebno, nalaz znatno povećane nuhalne prozirnosti (iznad 3 ili 4 mm) ili cističnog higroma zbog vrlo visokog rizika od postojanja kromosomopatije predstavlja iznimku i postoji jasna indikacija za izvođenje invazivnog dijagnostičkog zahvata (3, 15, 18).

Postojanje cističnog higroma sa ili bez fetalnog hidropsa bilo je vrlo česta indikacija i za izvođenje biopsije korionskih resica i amniocenteze. Odabir zahvata ovisio je o gestacijskoj dobi kad su cistični higrom ili hidrops otkriveni, kao i o željama roditelja. U slučajevima povećane nuhalne prozirnosti, postojanja cističnog higroma ili fetalnog hidropsa prije izvođenja invazivnog zahvata analizirani su i dodatni ultrazvučni markeri s ciljem modifikacije utvrđenog rizika – prisutnost nosne kosti, trikuspidalne regurgitacije i analiza protoka kroz duktus venozus.

Otkako je 2001. godine otkriveno da u trenutku ultrazvučnog pregleda između 11 i 13+6 tjedana trudnoće 60–70% fetusa s trisomijom 21 nema vidljivu nosnu kost, više je studija pokazalo povezanost između odsustva nosne kosti i trisomije 21, ali i drugih kromosomopatija (3). Prema podacima koje su prikupili Nicolaidis i suradnici, u mjerenjima provedenima na više od 15 tisuća ultrazvučno pregledanih fetusa nosna kost nije bila prisutna u 1.4% zdravih i 69% onih zahvaćenih trisomijom 21. U trisomiji 18 nosna kost nije vidljiva u oko 50% fetusa, a u trisomiji 13 u oko 30%. Pokazalo se da se učestalost odsustva nosne kosti smanjuje s porastom udaljenosti tjeme-trtica, da se povećava s povećanjem

veliĉine nuhalne prozirnosti i da je ovisna o rasnoj pripadnosti. Utvrđivanje prisutnosti nosne kosti vrše educirani ultrasoniĉari kod jednake gestacije, prikaza fetalnog profila i povećanja slike kao i kod mjerenja nuhalne prozirnosti, a na slici bi se jasno trebale prikazati tri linije koje odgovaraju koži, nosnoj kosti i vršku nosa (3).

Duktus venozus usmjerava dio oksigenirane krvi iz umbilikalne vene direktno prema fetalnom srcu, zaobilazeći tako jetru, kako bi se omogućila bolja oksigenacija u koronarnoj i cerebralnoj cirkulaciji (3, 25). Normalan protok kroz njega oznaĉava postojanje većih brzina u ventrikulskoj sistoli (S-val) i diastoli (D-val), kao i pozitivan, ali sporiji protok za vrijeme atrijske kontrakcije (a-val) (3). U sluĉaju nedostatka protoka ili postojanja povratnog protoka u duktusu za vrijeme kontrakcije atrija, nalaz je patološki, a on je između 10 i 13+6 tjedana povezan s kromosomskim i srĉanim poremećajima te lošim ishodom trudnoće (1). Studije su pokazale da se abnormalni protok između 10 i 13+6 tjedana može uoĉiti u oko 5% kromosomski normalnih fetusa i oko 80% fetusa s trisomijom 21 (3). Ovaj marker može se koristiti za dodatno povećanje osjetljivosti uobiĉajenog ranog probira, kao i za bolju detekciju srĉanih anomalija pa bi bilo korisno analizirati ga u svih pacijentica koje pristupe ranom probiru. Ipak, zbog ograniĉenja uzrokovanih manjkom vremena i educiranog osoblja to se u pravilu ne čini. Preporuke su da se procjena protoka izvrši barem u onih pacijentica ĉiji je rizik između 1/51 i 1/1 000, kao i u fetusa s mjerom NT iznad 95. centile, pošto u toj skupini ne bi trebalo biti više od petine pacijentica, a otkrio bi se približno jednak broj poremećaja kao i nakon mjerenja protoka u svih trudnica (25). Nije dokazana korist mjerenja protoka u drugim fetalnim krvnim žilama u povećanju stope detekcije kromosomski abnormalnih fetusa (3).

Trikuspidalna regurgitacija ĉest je ultrazvuĉni nalaz u prvom tromjeseĉju, a može biti udružena s razliĉitim kromosomskim poremećajima, ali i s malformacijama srca i drugih organa. Ipak, istraŹivanja pokazuju da se može pronaći i u 7% zdravih fetusa, što oteŹava interpretaciju samog nalaza u praksi. Kagan i suradnici su 2009. godine izvršili ispitivanje na 19 800 trudnica i utvrdili prisutnost trikuspidalne regurgitacije u 0,9% euploidnih trudnoća, 55,7% fetusa s trisomijom 21, 33% s trisomijom 18, 30% s trisomijom 13 i 30,5% s monosomijom X. Wiechec i suradnici su, pak, pokazali da rizik od prisutnosti srĉanih anomalija raste oko 9,89 puta, a od ostalih anomalija 5,72 puta ukoliko je trikuspidalna regurgitacija prisutna. Na temelju rezultata studija pokazalo se da je trikuspidalna regurgitacija dobar prediktor za postojanje aneuploidija u prisustvu drugih markera, ali je kao izoliran nalaz nedovoljno pouzdana i u detekciji kromosomopatija i fetalnih malformacija (26).



Iako su ovi ultrazvučni markeri pojedinačno nedovoljno osjetljivi i specifični za postavljanje sumnje na postojanje kromosomopatije u fetusa te kao izoliran marker nisu bili zastupljeni kao indikacija ni u jednom slučaju iz istraživanja, učestalo su se koristili kao dodatni markeri u slučajevima kada je povećana nugalna prozirnost bila osnovna indikacija za izvođenje zahvata te je njihova korisnost neosporiva.

Kao što je već spomenuto, najčešća je utvrđena indikacija za izvođenje rane amniocenteze i dalje bila majčina dob, što nam govori da još ima mjesta za poboljšanje primjene probira u žena starijih od 35 godina kako bi se broj ranih amniocenteza dodatno smanjio. Nakon dobi, slijedili su nalazi kombiniranog probira, ostale indikacije, ultrazvučni nalazi drugog pa prvog tromjesečja, nalazi probira drugog tromjesečja i nalazi analize slobodne fetalne DNA.

Kombinirani probir bio je glavna indikacija u sedam puta više slučajeva od probira drugog tromjesečja. Učestalost je korištenja probira drugog tromjesečja smanjena prema kraju ispitivanog perioda kada je kombinirani probir preuzeo ulogu najzastupljenijeg probirnog testa, a dolaskom i analize slobodne fetalne DNA na tržište broj se indikacija za invazivnu dijagnostiku na temelju nalaza dvostrukog ili trostrukog testa i praktički sveo na nulu.

Rezultati istraživanja pokazali su i da je biopsija korionskih resica odabrana kao dijagnostička metoda nakon gotovo tri četvrtine dobivenih patoloških ili suspektnih ultrazvučnih nalaza u prvom tromjesečju, dok je to u ostalim slučajevima bila amniocenteza. Za amniocentezu se češće odlučivalo na temelju visokorizičnog nalaza kombiniranog probira, u gotovo 72% slučajeva.

Većina anomalija unutarnjih organa fetusa može se uočiti tek u drugom tromjesečju te se u tim slučajevima pristupa izvođenju amniocenteze, iako je u provedenom istraživanju samo 5,6% ranih amniocenteza provedeno zbog fetalnih anomalija detektiranih u drugom tromjesečju. U određenim se slučajevima velike anomalije mogu otkriti i u prvom tromjesečju, a tada je odabir invazivnog zahvata stvar dogovora liječnika i roditelja. Fetalne anomalije dokazane u prvom tromjesečju činile su 4,4% indikacija za provođenje rane amniocenteze.

Ultrazvučni nalazi koji su - osim patološkog nakupljanja tekućine u fetusu i zastoja u rastu - najčešće uočeni u prvom tromjesečju velike su anomalije SŽS-a, omfalokela, velike srčane greške i megacista (mokraćni mjehur promjera od 7 mm ili više).

Istraživanje koje su Syngelaki i suradnici (27) proveli na više od sto tisuća jednoplodnih trudnoća imalo je za cilj utvrditi značaj holoprozencefalije, omfalokele i megaciste pronađenih

na ultrazvučnim pregledima između 11. i 14. tjedna trudnoće. Kao što je prethodno spomenuto, ove su anomalije važni markeri koji mogu ukazati na postojanje kromosomopatije u fetusa. Prevalencija omfalokele u navedenom istraživanju bila je 1/419, megaciste 1/1345, a alobarne holoprozencefalije 1/2945. Od toga, kromosomopatije su zabilježene u 78,4% slučajeva holoprozencefalije, 40,8% omfalokele i 18,5% slučajeva megaciste. Uz holoprozencefaliju najčešće se vezala trisomija 13, uz omfalokelu trisomija 18, a uz povećan megacistu trisomija 21. Zbog tako visoke učestalosti kromosomopatija kod ovih anomalija, pronalazak bilo koje od njih treba gledati i kao nalaz koji zaslužuje detaljniji ultrazvučni pregled u potrazi za drugim abnormalnostima, kao i daljnju dijagnostičku obradu i isključivanje ili potvrdu dijagnoze, ponajprije kako bi se bolje definirala prognoza bolesti i moguće pojavljivanje u idućim trudnoćama. Pogotovo su značajne prisutnost jetre u omfalokeli ili veličina mokraćnog mjehura iznad 15 mm jer je tada prognoza lošija - češća je prisutnost kromosomskog ili genskog poremećaja i stopa perinatalne smrtnosti je veća. Ako je u omfalokeli prisutno samo crijevo ili je mjehur veličine od 7 do 15 mm, prognoza je bolja i invazivna dijagnostika može se primijeniti ovisno o rezultatima probirnih testova, bilo da se radi o biokemijskim testovima ili analizi slobodne fetalne DNA (27).

Prisutnost svih navedenih anomalija dokazana je u provedenom istraživanju, a predstavljale su ili glavnu indikaciju ili jednu od indikacija za izvođenje invazivnih zahvata u više slučajeva od 2012. godine. Kako cilj istraživanja nije bila analiza kariotipova dobivenih nakon izvršenih zahvata, u ovom trenutku ne može se sa sigurnošću reći koja je bila učestalost kromosomopatija u fetusa sa spomenutim anomalijama, kao ni u slučaju povećane nuhalne prozirnosti ili prisutnih drugih markera kromosomopatija. Dostupnost bi tih podataka bila korisna radi mogućnosti usporedbe hrvatskih pacijenata s pacijentima u spomenutim studijama, kao i u procjeni opravdanosti izvođenja invazivnih dijagnostičkih zahvata, ocjeni izvedbe prenatalnog probira i daljnjem poboljšanju same prenatalne skrbi.

## 6. ZAKLJUČAK

Postavljanje dijagnoze kromosomopatije u ranoj trudnoći od iznimne je važnosti kako bi se pravodobno moglo provesti prikladno genetsko savjetovanje i pružiti roditeljima sve potrebne informacije o mogućim zdravstvenim problemima njihova nerođenog djeteta. Rano dijagnosticiranje poremećaja i informiranje roditelja daje im mogućnost ranijeg i sigurnijeg prekida trudnoće ukoliko se za njega odluče, ali im i omogućuje pristup kvalitetnijoj prenatalnoj skrbi te više vremena da se pripreme na sve poteškoće koje njihovo dijete može imati neposredno nakon rođenja ili u kasnijem životu.

Kombinirani probir, najčešće korišteni probirni test prvog tromjesečja, osim gore navedenih prednosti posjeduje i osjetljivost veću od testova drugog tromjesečja, što je od njegovog uvođenja u uporabu dovelo do porasta broja žena koje se odazivaju probiru.

Primjena kombiniranog probira uz ultrazvučni probir prvog tromjesečja dovela je i do znatnog pada u broju izvedenih invazivnih dijagnostičkih zahvata, a time i do manjeg broja komplikacija koje se nakon invazivnih zahvata mogu javiti, uključujući i gubitak trudnoće uzrokovan samim zahvatom.

Nalazi ultrazvučnih i biokemijskih probirnih testova prvog tromjesečja prema rezultatima su istraživanja bili ključni u postavljanju indikacije za 77,8% biopsija korionskih resica i 21,7% ranih amniocenteza, a dodatkom nalaza analize slobodne fetalne DNA ti se udjeli penju na 81,2% i 22,1%. Iako se radi o značajnom broju indikacija i vidljivom napretku u relativno kratkom vremenskom periodu, prostora za napredak još ima zbog i dalje prisutnog velikog broja amniocenteza izvršenih isključivo zbog dobi majke.

Također, s obzirom na dostupnost medicinske dokumentacije o velikom broju izvršenih zahvata, korisno bi bilo provesti i analizu kariotipova dobivenih nakon svih provedenih zahvata kako bi se utvrdio postotak kromosomski abnormalnih fetusa, a time i korisnost izvođenja invazivnih zahvata, točnost probirnih testova, a po potrebi i kako bi se provela modifikacija preporuka za izvođenje invazivnih zahvata ovisno o pojedinoj indikaciji.

## 7. ZAHVALE

Zahvaljujem svojoj mentorici prim.dr. sc. Ivanki Bekavac Vlatković, dr.med na beskrajnoj pomoći koju mi je pružila prilikom izrade ovoga rada.

Hvala i prof. dr sc. Berivoju Miškoviću, prof. dr. sc. Feodori Stipoljev i gospođi Biserki Milić s Klinike za ginekologiju i porodništvo KB „Sveti duh“, bez kojih ovaj rad nikad ne bi ugledao svjetlo dana.

Na kraju, veliko hvala mojoj obitelji i prijateljima što su bili uz mene na putu do ostvarenja ovog dugogodišnjeg sna.

## 8. LITERATURA

1. Bekavac Vlatković I. Značaj ukupne i fetalne slobodne DNA iz majčine krvi u neinvazivnom otkrivanju fetalnih aneuploidija [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2015.
2. Weremowicz S. Congenital cytogenetic abnormalities. U: UpToDate, TePas E ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2018 [pristupljeno 22.3.2018.] Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/congenital-cytogenetic-abnormalities>
3. Nicolaidis KH. The 11-13+6 weeks scan [Internet]. London: Fetal Medicine Foundation; 2004 - [pristupljeno 05.01.2018.].  
Dostupno na: <https://www.fetalmedicine.com/synced/fmf/FMF-English.pdf>
4. Li X. Sex chromosomes and sex chromosome abnormalities. Clin. Lab. Med. 2011; 31 (4): 463-479. doi:10.1016/j.cl.2011.08.013
5. Visootsak J, Graham JM Jr. Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. Orphanet J Rare Dis. 2006;1(1):42. doi:10.1186/1750-1172-1-42
6. Van den Berg MMJ, Van Maarle MC, Van Wely M, Goddijn M. Genetics of early miscarriage. Biochim Biophys Acta. 2012; 1822(12): 1951-1959. doi:10.1016/j.bbdis.2012.07.001
7. Soler A, Morales C, Mademont-Soler I, Margarit E, Borrell A, Borobio V, i sur. Overview of chromosome abnormalities in first trimester miscarriages: a series of 1,011 consecutive chorionic villi sample karyotypes. Cytogenet Genome Res. 2017; 152:81-89. doi:10.1159/000477707
8. Bettio D, Venci A, Levi Setti PE. Chromosomal abnormalities in miscarriages after different assisted reproduction procedures. Placenta. 2008; 29 (Suppl 2): 126–128.
9. Ogilvie C, Akolekar R. Pregnancy loss following amniocentesis or CVS sampling —time for a reassessment of risk. J. Clin. Med. 2014; 3 (3): 741-746. doi:10.3390/jcm3030741
10. Morabia A, Zhang FF. History of medical screening: from concepts to action. Postgrad Med J. 2004; 80:463-469. doi:10.1136/pgmj.2004.018226

11. Kanchanaraksa S. Evaluation of diagnostic and screening Tests validity and reliability. University John Hopkins Bloomberg School of Public Health. 2008[pristupljeno 22.04.2018.]. Dostupno na: <http://ocw.jhsph.edu/courses/fundepi/PDFs/Lecture11.pdf>
12. Maxim LD, Niebo R, Utell MJ. Screening tests: a review with examples. *Inhalation Toxicology*. 2014; 26:13, 811-828. doi: 10.3109/08958378.2014.955932
13. Armstrong N, Eborall H. The sociology of medical screening: past, present and future. *Sociology of Health & Illness*. 2012. 34 (2); 161-176. doi: 10.1111/j.1467-9566.2011.01441.x
14. Harris R, Sawaya GF, Moyer VG, Calonge N. Reconsidering the criteria for evaluating proposed screening programs: reflections from 4 current and former members of the U.S. Preventive Services Task Force. *Epidemiologic Reviews*. 2011; 33 (1): 20–35. doi:10.1093/epirev/mxr005
15. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Spong CY, Dashe JS, Hoffman BL i sur., ur. *Williams Obstetrics*. 24. izd. New York: McGraw-Hill Education; 2014.
16. Messerlian GM, Palomaki GE. Down syndrome: Overview of prenatal screening. U: UpToDate, Barss VA ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2017 [pristupljeno 15.12.2017.] Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/down-syndrome-overview-of-prenatal-screening>
17. Gabant P, Lesley Forrester L, Nichols J, Van Reeth T, De Mees C, Pajack B i sur. Alpha-fetoprotein, the major fetal serum protein, is not essential for embryonic development but is required for female fertility. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002; 99(20): 12865-70. doi:10.1073/pnas.202215399
18. Messerlian GM, Farina A, Palomaki GE. First-trimester combined test and integrated tests for screening for Down syndrome and trisomy 18. U: UpToDate, Barss VA ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2017 [pristupljeno 15.12.2017.] Dostupno na: <https://www.uptodate.com/contents/first-trimester-combined-test-and-integrated-tests-for-screening-for-down-syndrome-and-trisomy-18>
19. Lambert-Messerlian GM, Canick JA. Clinical application of inhibin a measurement: prenatal serum screening for Down syndrome. *Semin Reprod Med*. 2004; 22:235-242

20. Lao MR, Calhoun BC, Bracero LA, Wang Y, Seybold DJ, Broce M i sur. The ability of the quadruple test to predict adverse perinatal outcomes in a high-risk obstetric population. *J Med Screen*. 2009; 16: 55–59. doi:10.1258/jms.2009.009017
21. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015; 45: 249–266
22. Patil M, Panchanadikar TM, Wagh G. Variation of PAPP-A level in the first trimester of pregnancy and its clinical outcome. *J obstet gynaecol India*. 2014; 64(2):116-9.
23. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomies 21, 18 and 13 by ultrasound and biochemical testing. *Fetal Diagn Ther*. 2013. DOI: 10.1159/000357430
24. Neiger R. First trimester ultrasound in prenatal diagnosis - part of the turning pyramid of prenatal care. *J. Clin. Med*. 2014, 3, 986-996. doi:10.3390/jcm3030986
25. Maiz N, Nicolaides KH. Ductus venosus in the first trimester: contribution to screening of chromosomal, cardiac defects and monozygotic twin complications. *Fetal Diagn Ther*. 2010; 28:65–71. doi: 10.1159/000314036
26. Wiechec M, Nocun A, Wiercinska E, Beithon J, Knafel A. First trimester tricuspid regurgitation and fetal abnormalities. *J. Perinat. Med*. 2014; 43(5):597-603. doi: 10.1515/jpm-2014-0058
27. Syngelaki A, Guerra L, Ceccacci I, Efeturk T, Nicolaides KH. Impact of holoprosencephaly, exomphalos, megacystis and increased nuchal translucency on first-trimester screening for chromosomal abnormalities. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017; 50(1): 45-48. doi: 10.1002/uog.17286

## **9. ŽIVOTOPIS**

### **Osobni podaci**

---

- ime i prezime - Maja Marković
- datum i mjesto rođenja - 7. 11. 1993., Zadar
- e-mail - mmarkovic711@gmail.com

### **Obrazovanje**

---

- 2012. – 2018. - Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- 2008. – 2012. - Gimnazija Jurja Barakovića, Zadar; opći smjer
- 2000. – 2008. – Osnovna škola Stanovi, Zadar

### **Znanja i vještine**

---

- engleski jezik: napredni korisnik u govoru, pisanju, razumijevanju
- talijanski jezik: temeljni korisnik u govoru, pisanju, razumijevanju
- MS Office paket: napredni korisnik

### **Nagrade**

---

- Dekanova nagrade za uspjeh u akademskoj godini 2016./2017.