



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



НЕИНВАЗИВНИ ПРЕНАТАЛНИ СКРИНИНГ У ДЕТЕКЦИЈИ РЕТКИХ ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА

- ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА -

Ментори:

Проф. др Мирјана Богавац

Проф. др Ивана Кавечан

Кандидат:

Др Хелена Хрњак Илић

Нови Сад, 2021. године

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Хелена Хрњак Илић
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Проф. др Мирјана Богавац, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду Проф. др Ивана Кавечан, ванредни професор, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Неинвазивни пренатални скрининг у детекцији ретких хромозомских аномалија
Језик публикације (писмо):	Српски (ћирилица)
Физички опис рада:	Унети број: Страница - 136 Поглавља - 8 Референци - 149 Табела - 52 Слика - 6 Графикона - 20 Прилога - 0
Научна област:	Медицина
Ужа научна област (научна дисциплина):	Гинекологија и Акушерство, Перинатологија
Кључне речи / предметна одредница:	хромозомске аномалије; пренатална дијагностика; биохемијски маркери; пренатална ултрасонографија; амниоцентеза; кордоцентеза; цитогенетска анализа; кариотип
Резиме на језику рада:	Пренатална дијагностика се спроводи са сврхом рађања здравог и жељеног потомства. Овом дијагностиком се утврђује или искључује постојање одређене генетске болести, генетски условљене аномалије или ретке болести код ембриона или фетуса. Последњих година највећи напредак у пренаталној дијагностици је постигнут за трудноће које су захваћене најчешћим хромозомским аномалијама као што су тризомија хромозома 21, 13 и 18 које представљају приоритетни проблем пренаталне дијагностике, јер су код живорођених најчешће заступљене наведене хромозомске аномалије. Међутим, познато је да осим наведених најчешћих хромозомских аномалија, у мањем, али такође значајном проценту постоји захваћеност фетуса и новорођенчади, другим, ретким хромозомским аномалијама као што су: делеције, дупликације, ринг хромозоми, тризомије осталих аутозомних хромозома, маркер хромозоми, полиплоидије, небалансирани хромозомски реаранжмани, мозаичне форме патолошких кариотипова и друге.

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штапаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

	<p>Како и фетуси захваћени ретким хромозомским аномалијама носе ризик леталног исхода и хендикепа, постоји потреба да се детектују трудноће у којима је фетус захваћен ретким хромозомским аномалијама.</p> <p>Циљеви овог истраживања су били да се унапреде сазнања о примени неинвазивног пренаталног скрининга у детекцији ретких хромозомских аномалија са посебним освртом на учесталост и врсту пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса. Током истраживања се настојало утврдити да ли постоји разлика у постављеним индикацијама због којих је рађена инвазивна пренатална дијагностика између испитиваних група, као и да ли између група постоји разлика у просечним вредностима биохемијских маркера и детектованим ултрасонографским налазима.</p> <p>Истраживање је ретроспективно-проспективног карактера. Ретроспективни део је рађен за период од 01.01.2009. до 31.12.2018. године, а проспективни део за период од 01.01.2019. године до 21.12.2019. године. Прву групу је чинило 100 трудница код који је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода, другу групу је чинило 100 трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 код плода док је трећу групу чинило 100 трудница са нормалним кариотипом плода.</p> <p>За све наведене трудноће су прикупљени подаци о старосној доби трудница, индикацијама за спровођење кариотипизације, удружености са одступањем од нормалног налаза ултрасонографског прегледа фетуса, удруженост са одступањем од нормалног налаза биохемијског скрининга фетуса и исход трудноће.</p> <p>Обрада података је обухватала методе описне (дескриптивне) и аналитичке (инференцијалне) статистике. Израчунате су вредности: просечне вредности, минималне вредности, максималне вредности, стандардне девијације, квантила, перцентила, опсега и интерквантилног опсега. За тестирање одступања узорка од нормалне расподеле кориштени су Колмогоров-Смирновљев (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Вилков (Shapiro-Wilk) тест који пореде вредности узорка са скупом нормално распоређених података који има исту просечну вредност и стандардну девијацију. Статистичка значајност тестова ($p < 0.05$) указује на то да постоји значајна разлика између посматраног узорка и нормалне дистрибуције. За тестирање статистичке значајности разлика коришћени су непараметријски тестови: Крускал-Валисов (Kruskal-Wallis) тест и Ман-Витнијев (Mann-Whitney) тест.</p> <p>Поред познатих сазнања о значају примене стандардних ултрасонографских и биохемијских маркера у процени ризика од класичне тризомије хромозома 21, 13 и 18 резултати дисертације указују да и код трудноћа које су захваћене ретким хромозомским аномалијама постоји удруженост са конгениталним аномалијама и одступањима од нормалних вредности биохемијског скрининга у првом и другом триместру трудноће. У дисертацији је истражена разлика између резултата неинвазивног пренаталног скрининга код трудница код којих је плод захваћен ретким хромозомским аномалијама у односу на труднице код којих је плод захваћен тризомијама хромозома 21, 13 и 18, као и у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода.</p> <p>Резултатима истраживања је доказан значај стандардних ултрасонографских маркера првог и другог триместра и вредности РАРРА и алфа фето протеина као значајног индикатора у детекцији ретких хромозомских аномалија. У овој дисертацији се посебно разматране индикације за спровођење инвазивне пренаталне дијагностике између група испитаница. Према резултатима истраживања, у свим групама испитаница најчешћа индикација за</p>
--	---

	<p>спровођење инвазивне пренаталне дијагностике је била одступање вредности биохемијског маркера првог триместра од референтог опсега вредности, доб труднице и затим детекција ултразвучних маркера хромозомских аномалија.</p> <p>Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија првог триместра трудноће у све три испитиване групе трудница најчешће је детектовано задебљање нухалне транслуценције, затим цистични хигром и одсуство носне кости. Доказана је статистички значајна разлика ($p < 0,017$) у вредностима нухалне транслуценције у првом триместру трудноће у групи трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу трудница са нормалним кариотипом, Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија другог триместра трудноће у групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода најчешће су детектоване аномалије централног нервног система, затим аномалије гастроинтестиналног тракта. У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 фетуса најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије и аномалије кардиоваскуларног система. Код трудница са нормалним кариотипом плода најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије. Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија другог триместра трудноће у групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода најчешће су детектовани у подгрупи ретких хромозомских аномалија- монозомија. Нађена је статистички значајна разлика ($p < 0,017$) вредности биохемијског маркера PAPP-A (са трудноћом повезаног плазма протеина) и алфа фетопротеина у групи трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса при чему се значајно најмање вредности PAPP-A и алфа фетопротеина налазе у групи трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса. Ретке хромозомске аномалије чине значајан удео пренатално детектованих хромозомских аномалија фетуса. Најчешће се детектују због одступања вредности биохемијског маркера првог триместра од референтог опсега вредности, доби труднице и затим због детекције ултразвучних маркера хромозомских аномалија.</p>
<p>Датум прихватања теме од стране надлежног већа:</p>	<p>26. 11. 2019.</p>
<p>Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)</p>	
<p>Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)</p>	<p>Председник: Проф. др Тихомир Вејновић редовни професор, Медицински факултет, Нови Сад Члан: Проф. др Жељко Миковић редовни професор, Медицински факултет Београд Члан: Доц. др Татјана Рецек Мудринић, доцент, Медицински факултет, Нови Сад. Члан: Проф. др Ђорђе Илић, ванредни професор Медицински факултет, Нови Сад. Члан: др Александар Ђурчић, редовни професор, Медицински факултет, Нови Сад</p>
<p>Напомена:</p>	

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Helena Hrnjak Ilić
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Prof. Mirjana Bogavac, MD, PhD, fulltime professor, Faculty of Medicine, Novi Sad Prof. dr Ivana Kavečan, MD, PhD, associate professor, Faculty of Medicine, Novi Sad
Thesis title:	Noninvasive prenatal screening in the detection of rare chromosomal abnormalities
Language of text (script):	Serbian language (cyrillic)
Physical description:	Number of: Pages - 136 Chapters - 8 References - 149 Tables - 52 Illustrations - 6 Graphs - 20 Appendices - 0
Scientific field:	Medicine
Scientific subfield (scientific discipline):	Gynecology and Obstetrics, Perinatology
Subject, Key words:	Chromosome Aberrations; Prenatal Diagnosis; Biomarkers; Ultrasonography, Prenatal; Amniocentesis; Cordocentesis; Cytogenetic Analysis; Karyotype
Abstract in English language:	Prenatal diagnosis is performed with the purpose of giving birth to healthy and desired offspring. This diagnosis determines or excludes the existence of a certain genetic disease, genetically determined anomaly or a rare disease in the embryo or fetus. In recent years, the greatest progress in prenatal diagnosis has been achieved for pregnancies affected by the most common chromosomal abnormalities, such as trisomy chromosomes 21, 13 and 18, which are a priority problem of prenatal diagnosis, because these chromosomal abnormalities are most common in live births. However, it is known that in addition to the most common chromosomal abnormalities, in a smaller but also significant percentage fetuses and newborns are affected by other, rare chromosomal abnormalities such as: deletions, duplications, ring chromosomes, trisomies of other autosomal chromosomes, chromosome markers, polyploidies, unbalanced chromosomal rearrangements, mosaic forms of pathological karyotypes and others.

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

5б – Statement on the authority,

5в – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5г – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

	<p>As fetuses affected by rare chromosomal abnormalities carry a risk of death and disability, there is a need to detect pregnancies in which the fetus is affected by rare chromosomal abnormalities.</p> <p>The objectives of this study were to improve knowledge on the application of noninvasive prenatal screening in the detection of rare chromosomal abnormalities with special reference to the frequency and type of prenatally detected rare chromosomal abnormalities of the fetus. During the research, we tried to determine whether there is a difference in the set indications for invasive prenatal diagnosis between the examined groups, as well as whether there is a difference between the groups in the average values of biochemical markers and detected ultrasonographic findings.</p> <p>It is a retrospective-prospective type of the study. The retrospective part was done for the period from January 1st, 2009 until December 31st, 2018, and the prospective part for the period from January 1st, 2019 until December 21st 2019. The first group consisted of 100 pregnant women diagnosed with a rare fetal chromosomal abnormality, the second group consisted of 100 pregnant women with the most commonly diagnosed fetal chromosome trisomy 21, 13 and 18, while the third group consisted of 100 pregnant women with normal fetal karyotype.</p> <p>For all mentioned pregnancies, data were collected on the age of pregnant women, indications for karyotyping, association with deviation from the normal findings of ultrasonographic examination of the fetus, association with deviation from the normal findings of fetal biochemical screening and pregnancy outcome.</p> <p>Data processing included methods of descriptive and analytical (inferential) statistics. Values that were calculated includes: average values, minimum values, maximum values, standard deviations, quartile, percentile, range and interquartile range. To test the deviation of the sample from the normal distribution, the Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk tests were used, which compared the sample values with a set of normally distributed data that has the same average value and standard deviation. Statistical significance of the tests ($p < 0.05$) indicates that there is a significant difference between the observed sample and the normal distribution. Non-parametric tests (the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney test) were used to test the statistical significance of the differences.</p> <p>In addition to the known knowledge about the importance of using standard ultrasonographic and biochemical markers in assessing the risk of classical trisomy of chromosomes 21, 13 and 18, the dissertation results indicate that in pregnancies affected by rare chromosomal abnormalities there is an association with congenital anomalies and deviations from normal biochemical values. and the second trimester of pregnancy. The research investigated the difference between the results of non - invasive prenatal screening in pregnant women in whom the fetus is affected by rare chromosomal abnormalities in relation to pregnant women in whom the fetus is affected by trisomy 21, 13 and 18, as well as in the group of pregnant women with normal fetal karyotype. The results of the research proved the importance of standard ultrasonographic markers of the first and second trimester and the values of PAPP-A and alpha fetoproteins as a significant indicator in the detection of rare chromosomal anomalies. In this research, the indications for conducting invasive prenatal diagnostics between groups of examinees are especially considered. According to the results of the research, in all groups of examinees the most common indication for conducting invasive prenatal diagnostics was the deviation of the values of the biochemical marker of the first trimester from the reference range, the age of the pregnant woman and then the detection of ultrasound markers of chromosomal abnormalities.</p>
--	---

	<p>Most often detected ultrasound markers of chromosomal anomalies of the first trimester of pregnancy in all three examined groups of pregnant women were thickening of nuchal translucency, followed by cystic hygroma and absence of nasal bone. There was a statistically significant difference ($p < 0.017$) between the values of nuchal translucency in the first trimester of pregnancy in the group of pregnant women diagnosed with a rare chromosomal abnormality of the fetus compared to the group of pregnant women with normal karyotype.</p> <p>diagnosed with a rare chromosomal anomaly of the fetus, the most commonly detected are anomalies of the central nervous system, followed by anomalies of the gastrointestinal tract. In the group of pregnant women with diagnosed the most common trisomies 21, 13 and 18, musculoskeletal anomalies and anomalies of the cardiovascular system were most often detected.</p> <p>Musculoskeletal anomalies are most often detected in pregnant women with a normal fetal karyotype. Most often the ultrasound markers of chromosomal anomalies of the second trimester of pregnancy in the group of pregnant women diagnosed with a rare chromosomal anomaly of the fetus, were detected in the subgroup of rare chromosomal anomalies – monosomy. A statistically significant difference ($p < 0.017$) was found between the values of the biochemical marker PAPP-A (pregnancy-related plasma protein) and alpha fetoprotein in the group of pregnant women diagnosed with a rare fetal chromosomal abnormality compared to the group of pregnant women with the most commonly diagnosed trisomy 21, 13 and 18, with significantly lower values of PAPP-A and alpha fetoproteins in the group of pregnant women with the most frequently diagnosed trisomy 21, 13 and 18.</p> <p>Rare chromosomal abnormalities account for a significant proportion of prenatally detected fetal chromosomal abnormalities. They are most often detected due to the deviation of the values of the biochemical marker of the first trimester from the reference range of values, the age of the pregnant woman and then due to the detection of ultrasound markers of chromosomal anomalies.</p>
Accepted on Scientific Board on:	November 26 th , 2019
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: Prof. Tihomir Vejnović, MD, PhD, fulltime professor, Faculty of Medicine, Novi Sad</p> <p>Member: Prof. Željko Miković MD, PhD, fulltime professor, Faculty of Medicine, Belgrade</p> <p>Member: Prof. Đorđe Ilić, MD, PhD, professor, Faculty of Medicine, Novi Sad</p> <p>Member: Doc. Tatjana Redžek Mudrinić, MD, PhD, assistant professor, Faculty of Medicine, Novi Sad</p> <p>Member: Prof. Aleksandar Ćurčić, MD, PhD, fulltime professor, Faculty of Medicine, Novi Sad</p>
Note:	

САДРЖАЈ

САДРЖАЈ	i
1 УВОД.....	1
1.1 ДЕФИНИЦИЈА ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА	1
1.2 УЗРОЦИ ХРОМОЗОМСКИ АБНОРМАЛНИХ КОНЦЕПТУСА	8
1.2.1 ГРЕШКЕ У МЕЈОЗИ.....	9
1.2.2 ГРЕШКЕ У МИТОЗИ	14
1.2.3 ГРЕШКЕ У ФЕРТИЛИЗАЦИЈИ.....	18
1.2.4 СТРУКТУРНИ РЕАРАНЖМАНИ ХРОМОЗОМА.....	19
1.3 ФАКТОРИ РИЗИКА ЗА ПОЈАВУ ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА ...	20
1.3.1 СУПРУЖНИЦИ СА БАЛАНСИРАНОМ ХРОМОЗОМСКОМ АБЕРАЦИЈОМ; СУПРУЖНИЦИ СА ОПТЕРЕЂЕНОМ АНАМНЕЗОМ У ПРАВЦУ ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА	21
1.3.2 СУПРУЖНИЦИ СА НЕУСПЕШНИМ ИСХОДИМА ПРЕТХОДНИХ ТРУДНОЋА (Анамнеза рекурентних спонтаних побачаја или мртворођење у претходној трудноћи)	26
1.3.3 СУПРУЖНИЦИ У РИЗИЧНОЈ ДОБИ ЗА РАЂАЊЕ	27
1.3.4 ПРЕНАТАЛНИ СКРИНИНГ	32
1.3.5 ОДСТУПАЊЕ У НАЛАЗУ УЛТРАСОНОГРАФСКОГ ПРЕГЛЕДА ФЕТУСА	38
1.3.6 МОГУЋНОСТИ ПРЕНАТАЛНОГ СКРИНИНГА.....	39
1.4 ЦИЉАНИ ПРЕКИД ТРУДНОЋЕ.....	44
1.5 РЕТКЕ ХРОМОЗОМСКЕ АНОМАЛИЈЕ	46
2 ЦИЉЕВИ РАДА	52
3 РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ	53
4 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА	54
4.1 НАЧИН ИЗБОРА, ВЕЛИЧИНА И КОНСТРУКЦИЈА УЗОРКА.....	54
4.2 МЕТОДЕ ПРИКУПЉАЊА ПОДАТАКА.....	55
4.3 МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	56
4.3.1 ЦИТОГЕНЕТИЧКА АНАЛИЗА ХРОМОЗОМА ФЕТУСА.....	58
4.3.2 ПРИПРЕМА ПРЕПАРАТА КЛАСИЧНУ КАРИОТИПИЗАЦИЈУ	59
4.3.3 Г-БЕНДИНГ ТЕХНИКА.....	59
4.4 МЕТОДЕ СТАТИСТИЧКЕ ОБРАДЕ ПОДАТАКА.....	60
5 РЕЗУЛТАТИ	67
5.1 ДЕМОГРАФСКИ ПОДАЦИ	68
5.1.1 СТАРОСНА СТРУКТУРА ТРУДНИЦА	68
5.1.2 СТРУКТУРА ТРУДНОЋА ПРЕМА ГЕСТАЦИЈСКОЈ СТАРОСТИ.....	72
5.1.3 СТРУКТУРА ТРУДНИЦА ПРЕМА БРОЈУ ПРЕТХОДНИХ ТРУДНОЋА ..	76
5.1 УЛТРАЗВУЧНИ НАЛАЗИ ПРВОГ ТРИМЕСТРА.....	78
5.1.1 НУХАЛНА ТРАНСЛУЦЕНЦИЈА.....	79

5.2 УЛТРАЗВУЧНИ НАЛАЗИ ДРУГОГ ТРИМЕСТРА	83
5.3 БИОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ СКРИНИНГА НА ХРОМОЗОМОПАТИЈЕ У ПРВОМ ТРИМЕСТРУ	85
5.3.1 β -hCG.....	85
5.3.2 PAPP-A	89
5.4 БИОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ СКРИНИНГА НА ХРОМОЗОМОПАТИЈЕ У ДРУГОМ ТРИМЕСТРУ	92
5.4.1 f β -hCG.....	92
5.4.2 АЛФА ФЕТОПРОТЕИН.....	94
5.4.3 НЕКОНЈУГОВАНИ ЕСТРИОЛ.....	97
5.5 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА ИЗВОЂЕЊЕ ИНВАЗИВНЕ ПРЕНАТАЛНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ	100
5.5.1 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА ИЗВОЂЕЊЕ АМНИОЦЕНТЕЗЕ	102
5.5.2 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА КАРИОТИПИЗАЦИЈУ ПЛОДА ПОСТУПКОМ КОРДОЦЕНТЕЗЕ	103
5.6 КАРИОТИПОВИ ФЕТУСА КОД ДИЈАГНОЗА РЕТКЕ ХРОМОЗОМСКЕ АНОМАЛИЈЕ	104
6 ДИСКУСИЈА	111
7 ЗАКЉУЧАК	125
8 ЛИТЕРАТУРА	128

1 УВОД

У нашој земљи, посебно у Аутономној Покрајини Војводини, постоји негативна стопа природног прираштаја у већини региона што има озбиљне реперкусије на опште стање и обнављање популације. У време када постоји пораст броја брачних парова који због стерилитета отежано остварују могућност добијања потомства, чак и применама мера биомедицински потпомогнуте оплодње, веома је важно да се свим супружницима у репродуктивном периоду обезбеде могућности за добијање здравог потомства.

1.1 ДЕФИНИЦИЈА ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА

Хромозомске аномалије представљају одступање од нормалног броја или нормалне структуре хромозома. Учесталост хромозомских аномалија живорођених у општој популацији износи око 0,40% (1:250) – 0,65% (1:154). (1,2)

Слика 1-1: Приказ апроксимативних пропорција исхода трудноћа



Сматра се да око 70 – 78% свих зачетих концептуса не достигне термин порођаја. Постимплантациона стопа губитака трудноће износи око 42% за трудноће које су установљене одређивањем вредности хуманог хорионског

гонадотропина (*hCG*). Губитак трудноћа *in vivo* највећи је у првих 14 дана након оплодње. Ова висока стопа раних губитака трудноће може настати услед грешака у гаметогенези, дефеката у процесу оплодње, развојних абнормалности након оплодње или услед одлагања имплантације због продуженог времена транспорта кроз јајоводе.(3)

Већина трудноћа се заврши пре клиничког препознавања. Од укупног броја клинички препознатих трудноћа већина спонтаних побачаја се догоди пре краја првог триместра.

Истраживања су вршена на ооцима жена које су подвргнуте *in vitro* фертилизацији. Од 100 ооцита које су подвргнуте фертилизацији (Табела 1-1) до термина порођаја постигне се само око 30% успешних трудноћа. Иако се већина побачаја јавља у веома раној гестацији, губици трудноћа се настављају и у другом и трећем триместру трудноће, са благим порастом у очекиваном термину порођаја. (4,5)

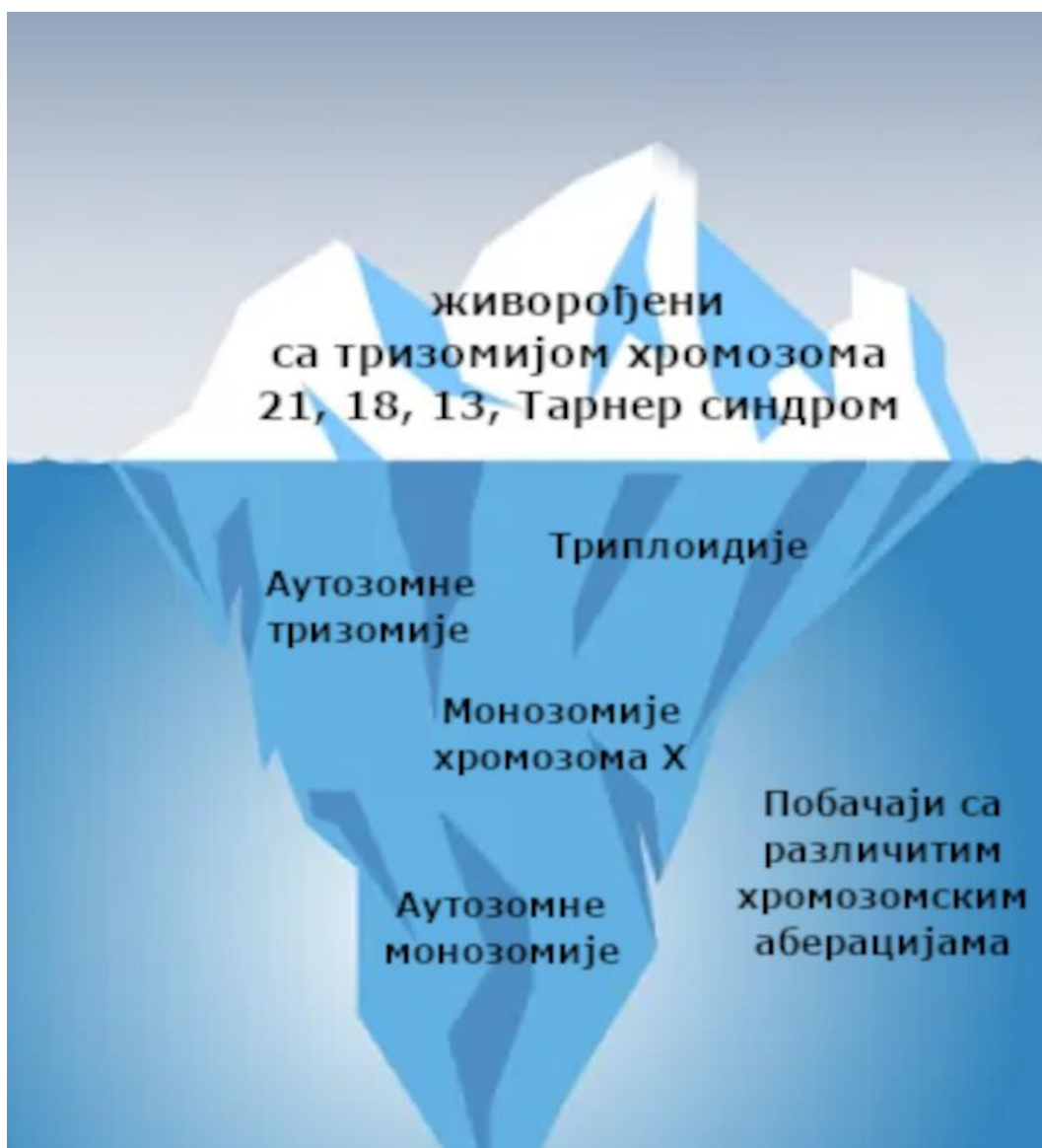
Табела 1-1 Учесталост интраутериног пропадања концептуса на 100 јајних ћелија подвргнутих *in vitro* фертилизацији

Гестацијске недеље након овулације	Пропадање ембриона (%)	Учесталост преживелих концептуса (%)
-	16 ооцита није оплођено	100
0	15	84
1	27	69
2	5	42
6	2,9	37
10	1,7	34,1
14	0,5	32,4
18	0,3	31,9
22	0,1	31,6
26	0,1	31,5
30	0,1	31,4
34	0,1	31,3
38	0,2	31,2
укупно	Природни губитак 69%	Живорођених 31%

Поређењем учесталости хромозомских аномалија које се детектују код спонтаних побачаја и мртворођења са хромозомским аномалијама код живорођених стандардном кариотипизацијом (Г-бендинг техником) са

уобичајеним нивоом бендирања од 400 бендова (Табела 1-2), утврђено је да и до 50% спонтаних побачаја има хромозомске аберације. Код мртворођења учесталост небалансираних кариотипова са нумеричким или структурним абнормалностима износи око 5% (1:20) до 7% (1:14) са највећим ризиком код мацерисаних мртворођења, нарочито у случају удружености са конгениталним аномалијама. За разлику од тога око 0,4% – 0,65% живорођених има анеуплоидни кариотип. Небалансиране структурне хромозомске абнормалности има 0,06% (1:1640) живорођене новорођенчади, а балансиране хромозомске реаранжмане има 0,52% (1:190) живорођене новорођенчади.(6,7,2)

Слика 1-2: „Врх леденог брега” хромозомски условљених губитака трудноћа



Табела 1-2: Упоредни приказ хромозомских аномалија код живорођених, мртворођења и спонтаних побачаја

Облик хромозомске аномалије	Живорођени	Мртворођени	Спонтани побачаји
Аутозомне тризомије хромозома 9	0%	0,1% (1:1000)	0,7% (1:140)
Аутозомне тризомије хромозома 13	0,005%–0,01% (1:10,000–1:15,000)	0,3% (1:300)	1,10% (1:90)
Аутозомне тризомије хромозома 16	0%	0%	5,58%–7,5% (1:13–1:17)
Аутозомне тризомије хромозома 18	0,01%–0,02% (1:5000–1:6600)	1,2% (1:80)	0,84%–1,1% (1:90–1:119)
Аутозомне тризомије хромозома 21	0,11%–0,12% (1:700 – 1:900)	1,1% (1:90)	2,00%–2,3% (1:43–1:50)
Аутозомне тризомије хромозома 22	0%	0,1% (1:1000)	2,7% (1:37)
Мозаик тризомије	0,02% (1:500)	0,5% (1:200)	1,1% (1:90)
Друге	0%	0%	11,81% (1:8)
Укупно тризомије	0,14%–0,17% (1:590–1:700)	3,3% (1:30)	25,83%–28,3% (1:3–1:5)
Монозомија хромозома X	0,01% (1:10000)	0,25% (1:400)	8,35%–8,6% (1:11–1:12)
Тризомије полних хромозома	0,36% (1:660)	0,7% (1:140)	0,3% (1:300)
XXY	0,14% (1:700)	0,4% (1:250)	0,2% (1:500)
XXX	0,10% (1:1000)	0,3% (1:330)	0,1% (1:1000)
XYY	0,12% (1:800)	0%	0%
Триплоидије	0%–0,002% (0–1:50,000)	0,6% (1:160)	5,79%–7,3% (1:13–1:17)
Тетраплоидије	0%	0%	2,5% (1:40)
Укупне аномалије	~ 0,5% (1:150–1:250)	~ 5% (1:20)	~ 50% (1:2)

Потенцијал преживљавања фетуса који је захваћен хромозомском аномалијом зависи од присуства одређене цитогенетичке абнормалности. Велика пропорција свих концептуса је хромозомски абнормална, али се такве трудноће најчешће окончају губитком трудноће у раним гестацијама. Преко 99% новорођенчади у термину рођења хромозомски је нормално и мање од 1% новорођенчади у очекиваном термину рођења има небалансиране хромозомске аномалије. Рођења хромозомски абнормалне новорођенчади представљају само „врх леденог брега” и јављају се само изузетно у односу на стваран број концептуса са хромозомским аномалијама (*Слика 1-2*).

Вероватноћа преживљавања концептуса за трудноће са абнормалним кариотипом концептуса одраз је одређене цитогенетичке абнормалности укључујући и ретке хромозомске аномалије и степена штетног утицаја абнормалног кариотипа на раст и развој концептуса. Дависон и сарадници испитивали су учесталост губитака концептуса са различитим хромозомским абнормалностима (*Табела 1-3*), те су установили 100% губитака за концептусе који су имали монозомије аутозомних хромозома и тетраплоидије, а 99,9% за триплоидије. Аутозомне тризомије (генерално посматрано) показују стопу губитака од око 96,5%. Вероватноћа преживљавање плода до момента рођења за тризомију хромозома 13 износи 2,8%, за тризомију хромозома 18 износи 5,4%, за тризомију хромозома 21 износи око 22 – 30%. Стопа спонтаних побачаја за тризомију хромозома 21 износи око 70%, за тризомију 18. хромозома 94,6%, и тризомију 13. хромозома 97,2%. Тризомија хромозома 13 је највећи аутозомни дисбаланс са којим ембрион може да опстане и да код одређеног процента случајева дозвољава преживљавање таквог ембриона до термина рођења. Што се тиче потенцијала преживљавања концептуса са анеуплоидијом полних хромозома, око 99% трудноћа са монозомијом хромозома X бива спонтано побачено, док концептуси са тризомијом полних хромозома (47,XXX; 47,XXY; 47,XYY) бивају спонтано побачени код само 11 – 25% случајева. Стопа преживљавања до термина порођаја за XXY износи око 55%, за тризомију XXX око 70%, за тризомију XYY 100%. Мозаични кариотипови и структурни реаранжмани показују интермедијарну стопу губитака од 68,8% и 53,4%.

Иако је објављено неколико случајева преживљавања тетраплоидних концептуса и скоро-комплетних аутозомних монозомија до трећег триместра,

оне спадају у изузетно ретке случајеве хромозомских аномалија које преживљавају до трећег триместра.

Табела 1-3: Пренатални губитак хромозомски абнормалних фетуса

Гестацијске недеље након овулације	Учесталост преживелих концептуса (%)
Аутозомне монозомије	100%
Тетраплоидије	100%
Триплоидије	99.9%
Монозомија хромозома X	99.8%
Аутозомне тризомије	96.5%
- тризомија хромозома 16	100%
- тризомија хромозома 22	100%
- тризомија хромозома 18	94.6%
- тризомија хромозома 13	97.2%
- тризомија хромозома 21	70%
Мозаицизам	68.8%
Структурни хромозомски реаранжмани	53.4%
Тризомије полних хромозома	11.0% – 25%
47,XXX	30%
47,XXY	55%
47,XYY	0%

Концептуси са тризомијом аутозомних хромозома који бивају спонтано побачени најчешће имају тризомију хромозома 16 (31%), тризомију хромозома 22 (11,4%) и тризомију хромозома 21 (10,5%), а затим следе тризомија хромозома 18 (4,6%), тризомија хромозома 13 (4,1%) и ређе остале.

Пренаталном дијагностиком се утврђује или искључује постојање одређене генетичке болести, генетички условљене аномалије или ретке болести код ембриона или фетуса. (4,5,8) Сврха пренаталне дијагностике је рађање здравог и жељеног потомства. Методе пренаталне дијагностике укључују неинвазивне и инвазивне методе дијагностике. Неинвазивни биохемијски пренатални скрининг првог и другог триместра трудноће као и ултрасонографски прегледи првог, другог и трећег триместра су највише усмерени ка детекцији најчешћих хромозомских аномалија као што су тризомија хромозома 21, 13 и 18. Међутим, осим наведених, у мањем али такође значајном проценту постоји захваћеност фетуса и новорођенчади, другим

ретким хромозомским аномалијама као што су: делеције, дупликације, ринг хромозоми, тризомије осталих аутозомних хромозома, маркер хромозоми, полиплоидије, небалансирани хромозомски реаранжмани, мозаичне форме патолошких кариотипова и друге на које се мање обраћа пажња јер се ретко детектују. При томе, ова учесталост варира и у зависности од старосне доби труднице креће се између 1:40 и 1:2000. Тако нпр. трудница старосне доби 31 године има ризик да фетус буде захваћен тризомијом хромозома 21 са учесталошћу од око 1:800, а трудница старосне доби 35 година има ризик рођења детета са тризомијом хромозома 21 око 1:400 (Табела 1-4). Код тризомије хромозома 18 ризик износи 1:5000, а код тризомије хромозома 13 ризик износи 1:10.000 – 1:15.000 живорођених. Укупан ризик да се роди дете са хромозомском абнормалношћу у општој популацији износи 0,65%, што се односи на све хромозомске аберације. Инциденција детекције ретких хромозомских аберација зависи од технике која се примењује у детекцији, као и од испитиване популације. Појединачно посматрано поједине хромозомске аберације се ретко јављају, али када се све ретке хромозомске аномалије посматрају као једна група, оне такође представљају значајан удео пренаталне патологије и имају медицински значај. (9,10,11,12,13,14)

Табела 1-4: Ризик за тризомију 21 и остале хромозомске абнормалности у зависности од матерналне доби

Матернална доб у време очекиваног порођаја	Тризомија 21	Остале хромозомске абнормалности*
20 година	1/1480	1/525
25 година	1/1350	1/475
30 година	1/940	1/384
35 година	1/353	1/178
40 година	1/85	1/62
45 година	1/30	1/18

* Остале хромозомске абнормалности укључују: тризомију хромозома 18; тризомију хромозома 13, абнормалности полних хромозома осим 47,XXX, и остале клинички значајне хромозомске абнормалности

Потреба за истраживањем феталних хромозомских аномалија у популацији човека постоји да би се предупредиле будуће трудноће захваћене хромозомским аномалијама и омогућило рађање здравог потомства, али се тешко може постићи пуно сазнање о ретким феталним хромозомским

аномалијама, јер у природи нема модела на ком се може добити тражени узорак. Могућности добијања података о ретким хромозомским аномалијама на анималним моделима су ограничене с обзиром на то да је број хромозома код различитих животињских врста другачији у односу на број хромозома човека, те је истраживање у вези са хромозомским аберацијама непоновљиво на анималним моделима. (15,16)

Како су тризомија хромозома 21, 13 и 18 само „врх леденог брега“ у трудноћама које су захваћене хромозомским абнормалностима, није у потпуности познато и мање је података у литератури везаних за детекцију ретких хромозомских аберација. Како и фетуси захваћени ретким хромозомским аберацијама носе ризик леталног исхода и хендикеп, постоји потреба да се детектују трудноће у којима је фетус захваћен ретким хромозомским аберацијама. (14,15,16)

Већина досадашњих студија односи се на анализу трудноћа захваћених најчешћим хромозомским аберацијама. Анализа трудноћа захваћених ретким хромозомским аберацијама и повезаност са налазима неинвазивног пренаталног скрининга није у довољној мери заступљена у литератури. У Европи се формирају регистри ретких хромозомских аберација ради увида у могуће очекиване проблеме код таквих пренатално детектованих фетуса.

Рођење детета са ретком хромозомском аберацијом је у значајној мери удружено са хендикепом, повећаном стопом морталитета, удруженим конгениталним малформацијама и психомоторном ретардацијом. (4,5)

С друге стране, породица и све групе друштвене заједнице које учествују у додатној нези, бризи и помоћи око хендикепираног детета, излажу се повећаним материјалним издацима. (17,18)

1.2 УЗРОЦИ ХРОМОЗОМСКИ АБНОРМАЛНИХ КОНЦЕПТУСА

Ризик да фетус буде захваћен хромозомском аберацијом расте са старосном доби труднице.

Најважнији фактор ризика за настанак тризомије фетуса је старија

животна доб труднице.

Сматра се да је смањен укупан број фоликула у јајницима женске особе повезан са повећаним ризиком за тризомију плода. (19,20)

Измењен ризик за тризомије концептуса може бити последица постојања различитих варијанти у протеинима који утичу на метилацију ДНК или сегрегацију хромозома током мејозе. Нпр. полиморфизам гена који су укључени у метаболизам фолне киселине, као и разлике у узимању фолне киселине међу женама, могући су фактори ризика повезани са ризиком за Даунов синдром. Спољњи фактори, као што је унос кофеина, доприносе повећању ризика за вијабилност концептуса са тризомијом 21. хромозома. Уочена је мања вијабилност концептуса са тризомијом 21. хромозома код мајки које су уносиле четири и више шољица кафе дневно. Конзумирање алкохола и изложеност никотину није повезана са већим ризиком од појаве концептуса са тризомијом 21. хромозома. (4,5,21,22,23,24)

Гонадни мозаицизам може да допринесе појави хромозомских абнормалности код фенотипски нормалних особа.

Генерално посматрајући, већина абнормалности кариотипова настаје услед грешке која припада једној од четири групе:

- грешке у мејози (гаметогенези);
- грешке у митози које доводе до мозаицизма;
- грешке фертилизације и
- структурне абнормалности и реаранжмани.

1.2.1 ГРЕШКЕ У МЕЈОЗИ

Током мејозе, парентални диплоидни комплемент од 46 хромозома се редукује на хаплоидни број од 23 хромозома. Нераздвајања током прве и друге мејотичке деобе, током оогенезе или сперматогенезе, могу довести до монозомичних или тризомичних концептуса као резултат стварања гамета са мањим или већим бројем хромозома. Осим изузетка монозомије хромозома X, немозаичне монозомије аутозомних хромозома су увек леталне у веома раној гестацији и обично нису идентификоване у клинички препознатим трудноћама. Високом леталитету ембриона са аутозомним монозомијама вероватно

доприноси ефекат дозе деловања гена и грешке импринтинга. Тризомије су, са друге стране, релативно честе и представљају најчешћу групу хромозомских аномалија које се откривају код фетуса. У литератури су објављене аутозомне тризомије свих хромозома осим аутозомне тризомије хромозома 1, за коју се сматра да је летална пре имплантације и стога концептус не преживи довољно дуго да би се хромозомска аномалија утврдила стандардном анализом кариотипа у првом, другом или трећем триместру трудноће. Већина ретких тризомичних концептуса има ниску вијабилност, те се код таквих трудноћа најчешће догађа спонтани побачај. (24,25)

1.2.1.1 Тризомије аутозомних хромозома

У време порођаја, најчешће се детектује тризомија хромозома 21 (Даунов синдром), са учесталашћу од 1:700 живорођених, док су тризомија хромозома 18 (Едвардс синдром) и тризомија хромозома 13 (Патау синдром) присутни код 1:6000 – 8000 и 1:12.000 живорођених. Тризомија хромозома 8 се јавља много ређе и већина случајева има мозаичан кариотип. Иако појединачни објављени прикази случајева указују на то да се повремено код новорођенчади јављају и друге ретке аутозомне тризомије и ретке монозомије хромозома, ове анеуплоидије се најчешће детектују у мозаичном статусу и леталне су када је одсутна нормална ћелијска линија. (26,27) Дистрибуција тризомија у спонтаним побачајима прилично је различита од оних које се виђају код новорођенчади рођених у термину. Најчешће тризомије које се виђају у спонтаним побачајима су тризомија хромозома 16, са око 31% тризомичних концептуса и 7,27% код свих спонтаних побачаја, затим следи тризомија хромозома 22 која се среће код 11,4% тризомија и 2,26% спонтаних побачаја. Тризомија хромозома 21 је на трећем месту по учесталости у односу на све тризомије и чини 10,5% свих тризомија и 2,11% спонтаних побачаја. (28,29,30,31,32)

Већина тризомија аутозомних хромозома је матерналног порекла и у око 90% случајева настаје услед грешке у првој мејотичкој деоби, иако постоје варијабилности у зависности од хромозома који је захваћен тризомијом. Релативне пропорције матерналних према патерналним мејотичким грешкама варирају међу различитим хромозомима. Тризомије код око 93% случајева су матерналног порекла. Сви случајеви тризомије хромозома 16 и 22 су

матерналног порекла, 19% тризомија које захватају хромозоме 2 – 12 су патерналног порекла, и 27% тризомија хромозома 13 – 15 су патерналног порекла. Патернално нераздвајање такође је повезано са анеуплоидијама полних хромозома, и то код 44 – 50% концептуса са кариотипом 47,XXY и 6% са кариотипом 47,XXX, док је мање од 10% осталих тризомија пореклом патерналне мејотичке грешке. (33)

Испитивања ооцита показала су значајан проценат цитогенетичких абнормалности. Најчешће су утврђене анеуплоидије. Анализом 1550 случајева хромозомских абнормалности код 25% зрелих ооцита, утврђено је да је већина хромозомских аномалија била типа анеуплоидија (22.8%), а мање их је имало структурне хромозомске аберације (1.2%). Нису сви хромозоми једнако склони нераздвајању. Одређени хромозоми који су били заступљени показивали су неједнаку дистрибуцију са већом заступљеношћу анеуплоидија хромозома из Д и Г групе, а мање него што се очекивало анеуплоидијама из А и Ц групе хромозома. (34,35)

Ризик тризомије акроцентричних хромозома 21 и 22 је низак у млађој и средњој доби женске особе, али ризик расте експоненцијално према крају репродуктивне доби жене, што указује да је више од једног механизма одговоран за повезаност анеуплоидија у оогенези са старењем жене.

Разлика у дистрибуцији инциденције одређене тризомије хромозома указује на то да одређена мејотичка грешка утиче на различиту постмејотичку вијабилност концептуса.

Цитогенетичке студије сперматозоида мушких особа такође откривају абнормалности патерналне гаметогенезе. Објављене студије су примењивале неколико различитих метода препарације кариотипа.

Стопа детекције хромозомских аномалија зависи и од примењене технике за детекцију хромозомских поремећаја. Стандардним цитогенетским техникама (са резолуцијом од око 400 бендова) могуће је детектовати нумеричке и веће структурне поремећаје, али овом техником не могу бити детектоване субмикроскопске промене. Такође, и примена *FISH* технике има одређена ограничења која су условљена применом специфичних хромозомских проба те тако могу бити детектоване само специфичне анеуплоидије за које се

користе унапред припремљене хромозом-специфичне пробе.

Доб мајки је најпознатији предиктор ризика за нераздвајање хромозома, нарочито за оне које су настале услед грешке у првој мејотичкој деоби. Осим повезаности матерналне доби и ризика за Даунов синдром, такође постоји и повећан ризик за остале тризомије концептуса са узрапредовалим годинама жене (Табела 1-5). (36)

Табела 1-5: Ефекат матерналних година и учесталост абнормалних кариотипова

Матернална доб (године)	% абнормалних кариотипова	% тризомичних кариотипова	% нетризомичних кариотипова
20	18.3	4.8	13.5
20 – 24	28.5	12.1	16.4
25 – 29	26.3	10.6	15.7
30 – 34	32.3	19.3	13.0
35 – 39	34.3	25.3	9.0
40+	65.6	50.0	15.6

Сматра се да нису све тризомије хромозома повезане на исти начин са матерналном доби. Уарбуртон и сарадници утврдили су да нераздвајање хромозома повезано са годинама мајке има већи утицај на хромозоме мањих димензија, што значи да је старија доб мајке повезана са ризиком од тризомије хромозома мањих димензија. Склоност ка нераздвајању не мора бити иста за све хромозоме, а рекурентни ризик зависи од одређеног хромозома који је укључен у тризомију. (37,38)

1.2.1.2 Анеуплоидије полних хромозома

Монозомија хромозома X се јавља код око 1 – 2% свих клинички препознатих трудноћа. Обично је узрокована губитком очевог полног хромозома, те на инциденцију монозомије хромозома X фетуса нема утицаја доб мајке. Велика већина трудноћа са монозомијом хромозома X заврши се спонтаним побачајем, а мање од 1% захваћених трудноћа се настави до термина порођаја. Нису објављени случајеви са кариотипом 45,Y, што не изненађује, јер је X хромозом неопходан за адекватан развој и вијабилност ћелије а ембрион без X хромозома не може да преживи. (39,40,41)

Новорођенчад са тризомијом полних хромозома обично нису упадљиво

дизморфична и често се не дијагностикују све док се кариотипизација не уради из неког другог разлога. Често се не препознају све до адолесценције и одрасле доби када могу имати промене у понашању или инфертилитет. Блага фенотипска експресија на рођењу указује на одсуство значајног штетног ефекта током ембриогенезе. Већина фетуса са монозомијом X хромозома показује рани застој интраутериног раста и присуство празног гестацијског мешка. Мањи број преживи до другог триместра трудноће, када често може фенотипски да се прикаже као хидропс фетуса или масивни цистични хигром на експертном ултрасонографском прегледу, а такође се често детектују и аномалије бубрега и срца. Током трећег триместра, изглед може бити сличан оном који се виђа у другом триместру, са цистичним хигромом или едемом дорзума шака и стопала, као класичан фенотип Гарнеровог синдрома. Иако већина $45,X$ концептуса која преживи до термина има матернални хромозом X , патернално порекло хромозома X изгледа да нема утицаја на захваћеност фенотипа или вијабилност. Сматра се да већи утицај може имати присуство другог хромозома X или Y у неким ткивима. Немозаични $45,X$ концептуси имају малу вероватноћу да ће преживети, док мозаичне гестације са другим хромозомом било да је у питању хромозом X или Y , имају веће шансе да испоље мање одступање у морфогенези и да преживе до термина. Друга ћелијска линија у многим ткивима може бити одсутна и често ју је тешко детектовати применом рутинске цитогенетичке анализе. (39,40,41,42)

За монозомију хромозома X матерналне године су или исте или мање од просечне женске популације репродуктивне доби.

1.2.1.3 Узроци нераздвајања хромозома

Анеуплодије најчешће настају услед нераздвајања током оогенезе. Изразита вулнерабилност мејозе мајке постоји због постепене деградације појединих фактора који омогућавају адхезију хомологних хроматида бивалената. Изразита нестабилност мејозе постоји и у случајевима када је присутна само једна хијазма. Стабилност хромозома зависи и од позиције хијазми, тј. да ли се хијазме налазе на средини или су померене према једном крају хромозома. На таквој појединачној хијазми парови хроматида међусобно само лабаво припоје и функционишу као независни униваленти у првој

мејотичкој деоби. За вулнерабилност мејозе одговорни тзв. моторни протеини јер су повезани са центромерама. Тзв. „провера квалитета гамета”, која се обавезно догађа код мушких особа, код жена је слабије ефикасна, те тако није спречено сазревање анеуплоидне ооците.

Код жена млађе доби уочен је симетрично и складно сврстан комплекс нити деобног вретена, док се код старијих жена уочавају неправилно позиционирана деобна вретена. Структурна дезорганизација деобног вретена (или немогућност да се одржи стабилност), односно „неуспешан скуп” (43), слаби у ооцитама способност хромозома да прођу кроз редовну сегрегацију. Постепена детериорација интегритета мејотичког апарата са повећањем старости женске особе главни је предиспонирајући фактор за нераздвајање хромозома у мејози гаметогенезе женске особе. Појединачне варијације могу да подразумевају да су неке жене склоније овим ефектима од других. Фактор који доприноси појави грешака у мејози женске особе може се односити на резерве ооцита које преостају у гонадама, у односу на стопу исцрпљивања са повећањем старости. То је концепт „оваријалне резерве”, где се максималан број ооцита са око 7.000.000 у петом месецу интраутериног живота, смањује на 300.000 у време менархе, са убрзавањем стопе губитака 10 година пре менопаузе, када се налази до 1000 ооцита. Општи знак смањене резерве ооцита је поремећај инактивације X хромозома. Бивер и сарадници су утврдили да постоји повезаност између тризомичних побачаја и преране менопаузе, као и са уклањањем или конгениталним недостатком јајника. Појава грешака у мејози може да настане и услед акумулације мутација митохондријалне ДНК у ћелијама које окружују ооците унутар фоликула (гранулоза ћелије) током живота женске особе.

1.2.2 ГРЕШКЕ У МИТОЗИ

Малсегрегација у првој митотској деоби може довести до тетраплоидије. Такви концептуси се обично спонтано побаци релативно рано у трудноћи, иако постоје ретки појединачни изузеци. Митотско нераздвајање често доводи до мозаицизма – присуства две или више ћелијске линије са различитим ћелијским клоном.

Рано нераздвајање хромозома након формирања концептуса може

довести до генерализованог мозаицизма, док дивергенција у каснијој гестацији може водити ка мозаицизму који се ограничава само на фетус или само на плаценту. Мозаицизам ограничен само на амнион може представљати дилему у интерпретацији кариотипа плодове воде, али не мора да представља проблем за развој плода. Нормалан кариотип фетуса не искључује цитогенетичку абнормалност плаценте. Мозаицизам тризомија аутозомних хромозома може настати било због грешке у мејози, са последичним губитком једног хромозома који даље води ка стварању еуплоидне ћелијске линије или услед постзиготне дупликације једног од хромозома из првобитно еуплоидне ћелијске линије. Вероватноћа појаве једног или другог механизма варира у зависности од тога који је хромозом укључен у нераздвајање. (44,45) Мозаичне тризомије у које су укључени хромозоми 13, 18, 21 и хромозом X чешће настају услед губитка прекобројног хромозома који је настао услед нераздвајања током мејозе. С друге стране, мозаична тризомија хромозома 8 – ретке хромозомске аномалије, може имати веће шансе да преживи када је анеуплоидна линија настала касније, као резултат грешке у постзиготној митози концептуса који је првобитно био нормалан. Мозаицизам плаценте може бити сигнификантан детерминишући фактор у преживљавању тризомичних концептуса. Присуство еуплоидне ћелијске линије фетуса не подразумева обавезно и генетски нормалан фетус. Ако је мозаицизам настао као последица „спашавања“ концептуса од тризомичне ћелијске линије, постоји могућност да оба преостала хромозома из пара хомологих хромозома потичу од једног родитеља. Овакво стање тј. унипарентална дизомија, често може имати тешке последице за преживљавање фетуса због потенцијалног губитка хетерозиготности са експресијом рецесивних карактеристика од само једног родитеља или због ефекта неадекватног импринтинга. (46,47,48) Нераздвајање у митози може се догодити на више начина:

- након формирања нормалног зигота;
- након формирања анеуплоидног зигота;
- као постзиготна „корекција“ анеуплоидије и унипаренталне дизомије;
- химере.

1.2.2.1 Нераздвајање у митози након формирања нормалног зигота

Митотско (соматско, постзиготно) нераздвајање хромозома је главни узрок мозаицизма. Нераздвајања се могу јавити у иницијално хромозомски нормалног зигота, са стварањем линије мозаицизма за тризомичне и пратеће монозомичне ћелијске линије, као и нормалне ћелијске линије. У нераздвајању аутозомних хромозома, угрожен је раст монозомичне ћелијске линије, те бива уклоњен, остављајући само нормалне и тризомичне ћелијске линије. Класичан пример је мозаик Дауновог синдрома, са кариотипом $46,XX / 47,XX,+21$. Код мозаицизма тризомије хромозома 8 велику већину случајева чини соматско нераздвајање. Сматра се да заправо, око 5% немозаичних тризомија $47,XX,+21$ такође постоји због поремећаја митозе, са трећим хромозомом 21 било да је пореклом од мајке или оца. У 3% очигледно немозаичних $47,XXY$ и 9% $47,XXX$ случајева, грешка је настала постзиготно, вероватно пре формирања унутрашње ћелијске масе. Ако постоји нераздвајање хромозома X у каснијем ембрионалном животу, могу преостати и абнормалне ћелијске линије као што су нпр. мозаицизам $45,X / 46,XX / 47,XXX$, па се може претпоставити да потиче од првобитног зигота са нормалним бројем хромозома $46,XX$. Може се догодити и више од једне митотске грешке које су одвојене у времену и месту, на пример, ДеБраси и сарадници су анализирали случај женске особе са кариотипом $45,X$ и $47,XX,+8$ (и $46,X,+8$) са клиничким карактеристикама тризомије хромозома 8 и Гарнеровог синдрома, у коме су молекуларне студије подржале хипотезу првобитног $46,XX$ зачећа.

Првих неколико митоза стадијума зигота је највулнерабилније за настанак мозаицизма.

1.2.2.2 Нераздвајање у митози након формирања анеуплоидног зигота

Нераздвајање се може догодити у постзиготној митози концептуса који је иницијално био тризомичан за аутозомни хромозом (нпр. хромозом 21). Након што се изгуби једна копија хомологног хромозома таква ћелија постаје еуплоидна. Већина мозаичних тризомија/дизомија хромозома 13, 18, 21 и X настаје на овај начин.

1.2.2.3 Постзиготна „корекција“ анеуплоидије и унипарентална дизомија

Постоји могућност да се код првобитно анеуплоидног ембриона догоди конверзија од тризомије ка дизомији, механизмом који се назива „исправка” или „спашавање“ и која се јавља пре формирања ембриона, тако што се један хромозом изгуби и тада је присутна линија 46,XX у немозаичној форми. У односу на то који је од три хромозома изгубљен, могао би да се „спаси“ ембрион са нормалном бипаренталном дизомијом, али би могла да настане и унипарентална дизомија.

У случају пренаталне дијагнозе, типично је да се овакав механизам „спашавања“ детектује када се у узорку аспирационе биопсије чупица нађе тризомија, а у узорку плодове воде добијене амниоцентезом која се спроведе након аспирационе биопсије чупица се нађе дизомија. Хромозом 15 је од посебне важности, и у литератури су објављене трудноће са кариотипом: 47,XX,+15 добијеним анализом узорка хорионских ресица (аспирационом биопсијом чупица), и потом са кариотипом: 46,XX добијеним анализом узорка плодове воде (амниоцентезом) чиме је доказана конверзија, а да фетус заправо има УПД(15)мат са фенотипом *Prader-Willi* синдрома. Постзиготна „корекција“ такође може да се догоди и на другачији начин, тј. конверзијом првобитног монозомичног зигота у дизомичан. (46,47,48)

1.2.2.4 Химеризам

Код човека и других сисара постзиготном фузијом зигота дизиготних близанаца могу настати ћелије које воде порекло од две одвојене оплођене ооците, те да тако настану химерични концептуси. Химеризам представља присуство две ћелијске линије код концептуса са кариотипом: 46,XX / 46,XY као и са кариотипом: 45,X / 69,XXY. Објављени су бројни случајеви диплоидно / триплоидних мозаицизама концептуса. Неки од њих су вероватно химере, мада су могући и други механизми настанка, као што је диспермија где је један матернални хаплоидни пронуклеус оплођен хаплоидним сперматозоидом на уобичајени начин, што доводи до стварања нормалне диплоидне линије, а други догађај оплодње се затим јавља у једној од ћелија ћерке, након прве ћелијске деобе, што доводи до стварања триплоидне ћелијске линије. (49)

1.2.3 ГРЕШКЕ У ФЕРТИЛИЗАЦИЈИ

Грешке у фертилизацији могу довести до трудноћа са комплетним вишком свих хромозома (триплоидија) и абнормалних диплоидних трудноћа у којима оба сета хромозома потичу од једног родитеља (хидатиформна или комплетна моларна трудноћа), а код таквих трудноћа постоје промене плаценте, малформисани фетуси и интраутерина ретардација раста.

Полиплоидија (углавном триплоидија), која се налази код око 1% свих концепција, није резултат нераздвајања хромозома пореклом мајке и није настала услед матерналне доби, већ је најчешће последица или диспермије или грешке екструзије секундарног поларног тела. Хаплоидни додатни скуп хромозома пореклом од мајке (дигинија) или од оца (диандрија) може довести до стварања триплоидног концептуса.

Иако је резултат диандрије или дигиније концептус са 69 хромозома, фенотип концептуса настао услед патерналног нераздвајања потпуно се разликује од концептуса насталог услед триплоидије матерналног порекла. Триплоидни концептус патерналног порекла често показује мале, хидропсно измењене хорионске ресице, а фенотип се назива и “парцијална мола”. Најчешће је присутан као празан гестацијски мешак у првом триместру трудноће. Концептуси који преживе до другог триместра имају велике хидропсне хорионске ресице. Концептуси са триплоидијом матерналног порекла карактеришу се интраутерином ретардацијом раста фетуса са диспропорционално великим кранијумом фетуса. Постељица је мањих димензија и фиброзног је изгледа, без хидропсне дегенерације која се виђа код триплоидних концептуса патерналног порекла. Млађе труднице чешће имају присуство патерналних триплоидних концептуса, док су матерналне триплоидије чешће присутне код старијих трудница.

Комплетна мола представља трудноћу која се карактерише прекомерним растом плаценте са великим, хидропсно-цистично измењеним хорионским ресицама. Фетус је одсутан а хорионске ресице не показују феталну васкуларизацију. Трофобласт на површини ресица показује различит степен пролиферације, труднице обично имају изразито повишен ниво *hCG*, а осим назначено абнормалног фенотипа, моларне трудноће обично показују

диплоидан кариотип са 46,XX код око 90% случајева и 46,XY код 6 – 10% случајева. Механизми настанка су слични триплоидијама патерналног порекла, али са фертилизацијом "празног" овуа. Често се појављује дупликација хромозома хаплоидног сперматозоида што може објаснити већи број 46,XX кариотипова, док фертилизација ооците са диплоидним сперматозоидом може довести до појаве и 46,XY и 46,XX кариотипа. Кариотип 46,YY није вијабилан. Хидатиформне моле имају ризик од малигне трансформације и развоја хориокарцинома, те је дијагнозу важно поставити што раније ради даљег третмана пацијенткиња. Триплоидни концептуси не показују исти малигни потенцијал.

Малигна трансформација у комплетним молама настаје услед механизма слабљења ефекта импринтинга са експресијом гена који би у нормалној ситуацији били потиснути. Импринтинг се намеће и као објашњење за разлику у фенотипу између концептуса матерналног и патерналног порекла.

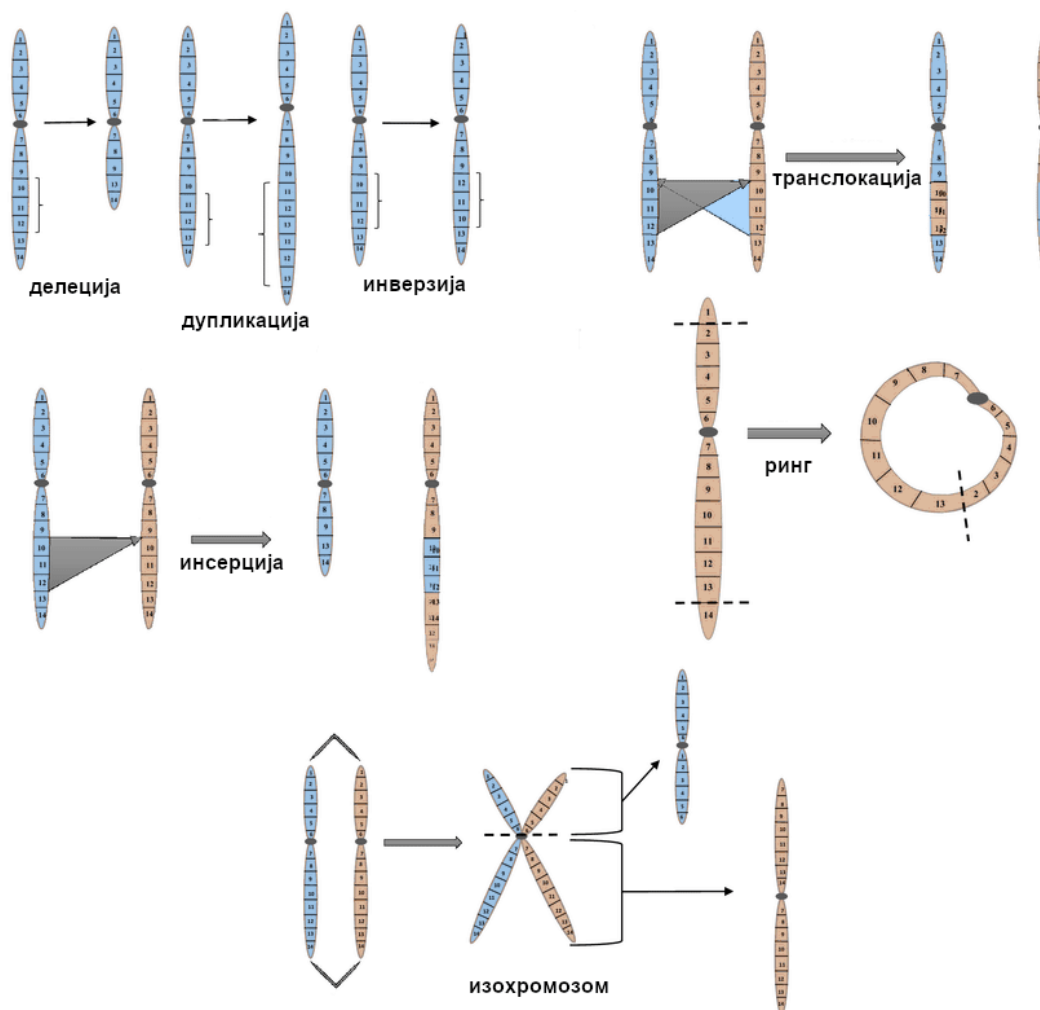
И комплетна хидатиформна мола и већина триплоидија највероватније представљају случајне грешке у време фертилизације и као такве немају повећан рекурентни ризик, тј. у наредним трудноћама се не понављају.

1.2.4 СТРУКТУРНИ РЕАРАНЖМАНИ ХРОМОЗОМА

Балансирани хромозомски реаранжмани укључују Робертсонову транслокацију, реципрочне транслокације и инверзије. Најчешћи небалансирани хромозомски реаранжмани настају услед Робертсонове транслокације, која може настати де ново или може бити паренталног порекла. Инциденција небалансираних Робертсонових транслокација је много већа у спонтаним побачајима него код живорођених. (50)

Други небалансирани структурни реаранжмани хромозома који се виђају у спонтаним побачајима укључују абнормалне хромозоме са вишком или недостатком хромозомског материјала, ринг хромозоме и мале прекобројне хромозоме. *De novo* реаранжмани су много чешће патерналног порекла. Повећана склоност сперматозоида ка оштећењу хромозома може објаснити порекло већине хромозомских реаранжмана. Иако су многи структурни хромозомских реаранжмани настали *de novo*, већина је породичног порекла.

Слика 1-3: Приказ различитих типова структурних хромозомских аномалија(51)



Цитогенетичке анализе искључују структурне реаранжмане, а генетичко саветовање је индикувано за женске особе које су имале два и више спонтана побачаја. Већина носиоца балансираних реаранжмана може имати и балансиране и набалансиране гамете.

1.3 ФАКТОРИ РИЗИКА ЗА ПОЈАВУ ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА

Супружници који су у повећаном ризику за концептсе са хромозомском аномалијом су: упружници који су носиоци балансиране хромозомске аберације; -супружници код којих се већ родило дете са патолошким кариотипом или имају члана породице са патолошким кариотипом; - супружници/ партнери са неуспешним исходима претходних трудноћа (анамнеза рекурентних спонтаних побачаја или мртворођење у претходној

трудноћи); -супружници у ризичној доби за рађање; -одступање у налазу биохемијског скрининга и -одступање налаза ултрасонографског прегледа плода у актуелној трудноћи.

1.3.1 СУПРУЖНИЦИ СА БАЛАНСИРАНОМ ХРОМОЗОМСКОМ АБЕРАЦИЈОМ; СУПРУЖНИЦИ СА ОПТЕРЕЂЕНОМ АНАМНЕЗОМ У ПРАВЦУ ХРОМОЗОМСКИХ АНОМАЛИЈА

Особе које су носиоци „мирне“ балансиране хромозомске абериације, често не знају да је имају и не знају да су у ризику да потомство има небалансирану хромозомску аномалију. Постављање сумње да су особе евентуални носиоци балансиране транслокације постоји након рекурентних побачаја, дијагностике хромозомске аномалије код фетуса у актуелној трудноћи, рођења детета са хромозомском аномалијом или уколико у породичној анамнези постоји податак о раном леталитету, полилеталитету, особама са дисморфолошким изгледом, особама са хромозомском абериацијом или особама са проблемима у интелектуалној сфери.(52,53)

Структурни хромозомски реаранжмани могу настати, теоретски гледано, на неограничен број начина и уколико при настајању таквог реаранжмана није настао губитак или вишак хромозомског материјала, такви реаранжмани обично не праве проблеме особама које их имају, осим у случају репродукције, јер су такве особе у већем репродуктивном ризику да добију потомство са небалансираном хромозомском абериацијом.

Размена генетског материјала између сестринских хроматида и хомологних хромозома нормално се догађа у соматским и герминативним ћелијама. Овакав тип измене генетског материјала обезбеђује размену генетског материјала и јавља се у свакој нормалној ћелијској деоби. Структурни хромозомски реаранжмани настају услед измене генетског материјала између неалелних хромозомских региона. Како хромозом може да се прекине на било ком месту у оквиру генома и да у тај процес буде укључен један или више хромозома, потенцијално могу настати рекомбинације хромозома на неограничен број начина. Већина таквих хромозомских аномалија се јавља веома ретко. (54,55) У геному постоје одређене области које су подложније преломима и реаранжманима. Присуство репетитивних ДНК секвенци, фрагилна места,

и/или посебне секундарне ДНК структуре могу да утичу на већу вероватноћу да ће одређени хромозомски региони бити више укључени у реаранжмане.

Сматра се да су структурни хромозомски реаранжмани у око 75% случајева патерналног порекла, за разлику од нумеричких хромозомских аномалија које су најчешће матерналног порекла. Тачно објашњење патерналног порекла де ново структурног хромозомског реаранжмана није у потпуности разјашњено. Претпоставка је, међутим, да доживотна митотска пролиферација сперматогонија, у поређењу са коначним бројем митотских деоба може изазвати акумулацију мутација. Сперматогенеза је много осетљивија на мутагене у односу на оогенезу. Иако су структурне хромозомске аберације чешће патерналног порекла постоје и неки изузеци. Нпр. око 90% новонасталих „нехомологних Робертсонових транслокација“ и 80% делеција терминалних делова кратког крака хромозома 1 су матерналног порекла. Поједини прекобројни изохромозоми и инверзне дупликације хромозома такође могу настати првенствено током матерналне гаметогенезе. (49)

Преломи (ломови) хромозома, реаранжмани, и поновна спајања могу да се јаве током мејозе или митозе. У свакој герминативној ћелији која потенцијално може да се оплоди може постојати грешка настала у мејози. Постконцепцијске митотичке грешке, доводе до настанка мозаичних трудноћа које садрже и нормалне и патолошке ћелије. Митотски нестабилни хромозоми, као што су ринг хромозоми, дицентрични хромозоми, структурни хромозомски реаранжмани ретко се срећу у мозаичној форми, те се сматра да је већина структурних реаранжмана формирана током мејозе. Особе које су носиоци мозаичног кариотипа имају обично блаже фенотипске карактеристике у односу на особе које нису мозаици и мања је стопа клиничке детекције. Претходно нарочито важи за особе који су носиоци балансираних реаранжмана. Мозаицизам се тешко детектује, нарочито када је мозаичан кариотип лимитиран на специфичну групу ткива, и ако је присутан у малом броју, и/или су укључене суптилне структуралне промене. (47,56,57)

Ризик за абнормалан фенотип је увек већи код новонасталих реаранжмана него код наследних балансираних реаранжмана хромозома.

Новонастали балансирани реаранжмани хромозома који се детектују

пренатално поступком амниоцентезе су двоструко или троструко чешће удружени са ризиком од конгениталних аномалија него у општој популацији.

Структурни хромозомски реаранжмани који се појављују као балансирани на класичном цитогенетском нивоу могу да садрже „велике“ дупликације и/или делеције на молекуларном нивоу. (53)

1.3.1.1 Репродуктивни ризик код породичних реаранжмана

Балансирани хромозомски реаранжмани могу да се наслеђују кроз више генерација једне породице, а да нису детектовани.

Код мањег хромозомског дисбаланса, мање је захваћен фенотип него код већег дисбаланса и веће су могућности преживљавања. Вишак хромозомског материјала мање је штетан него одсуство генетског материјала. Поједини хромозоми као што су хромозом 16 и 19 су ретко укључени у небалансиране структурне реаранжмане, највероватније због важности одржавања критичне дозе гена или групе гена на овим хромозомима. Насупрот томе, дисбаланси који укључују друге хромозоме, као што су хромозоми 13, 18, 21, X и Y изгледа да се лакше „толеришу“, па тако фетус са комплетном тризомијом који укључује било који од ових хромозома може бити вијабилан. (53)

1.3.1.2 Репродуктивни ризик код носиоца „бенигних“ делеција (делеција без утицаја на фенотип)

Супружници који су носиоци „бенигних“ делеција могу имати репродуктивни ризик. У случају делеције, губитак кратког крака акроцентричних хромозома током стварања Робертсонове транслокације нема утицаја на фенотип. Описују се ретки случајеви тзв. „бенигних“ делеција у регијама које су традиционално сматране еухроматинским. Гарднеров каталог делеција овог типа описује делеције у бендовима 5p14; 11p12; 11q14; 13q21 и 16q21. (58,59)

1.3.1.3 Репродуктивни ризик код носиоца инверзија

У студијама у којима је рађен кариотип родитеља због потомка са утврђеном инверзијом, нађено је да родитељи у 85 – 90% случајева такође имају инверзију. Поједине рекурентне инверзије сматрају се нормалним варијантама. Такве инверзије се описују код хромозома 1, 9, 16. Друга група бенигних

рекурентних инверзија, које имају тачке прелома врло близу центростре и на дугом и на кратком краку хромозома налазе се на хромозомима 2, 3, 10 и на Y хромозому. Ове варијанте се налазе у великом броју породица и сегрегирају без штетних ефеката по потомка.

1.3.1.4 Репродуктивни ризик код носиоца дупликација

Супружници који су носиоци дупликација имају репродуктивни ризик. Дупликација хромозома подразумева абнормалност хромозома са присуством екстра копије сегмента генома који доводи до парцијалне тризомије. Дупликације могу имати више форми. Може бити присутна код индивидуе као комплетна дупликација, некомплетна са другим дисбалансом или комбинована са делецијом или неким другим реаранжманом. Примери таквих реаранжмана који укључују дупликацију су изохромозоми, дицентрични хромозоми, деривати, рекомбинације и маркери.

1.3.1.5 Репродуктивни ризик код носиоца прекобројног маркер хромозома

Учесталост маркер хромозома је око 0,7 на 1000 новорођенчади и 0,8 – 1.5 на 1000 класичних пренаталних кариотипизација поступком амниоцентезе. Прекобројни маркер хромозоми се често класификују као сателитни или несателитни и често су присутни у облику мозаика. Они представљају хетерогену групу ретких хромозомских аномалија и клинички значај зависи од порекла и карактеристика маркер хромозома. Маркер хромозоми који садрже само хетерохроматин и/или кратке краке акроцентричних хромозома обично нису удружени са патолошким фенотипом. Маркер хромозоми који садрже еухроматин могу довести до фенотипских абнормалности. (60,61)

Око 75% случајева са новонасталих маркер хромозома нема утицаја на фенотип, 16% је матерналног порекла, а 7% је патерналног порекла.

Маркер хромозоми се могу састојати од генетички релевантног или ирелевантног материјала.

Уколико се маркер хромозом детектује пренатално често није могуће дати јасан одговор да ли ће такав налаз утицати на здравље детета. Клинички исход и прогноза могу бити варијабилни од нормалне трудноће и нормалног

фетуса до умерено и тешко захваћеног фенотипа. Уколико један од родитеља има присуство идентичног маркер хромозома и уколико нема здравствених проблема, највероватније да ће и новорођенче бити здраво. (62)

1.3.1.6 Репродуктивни ризик носиоца Робертсонове транслокације

Особе које су носиоци Робертсонове транслокације имају ризик од рекурентних побачаја и трудноћа у којима концептуси имају конгениталне аномалије удружене са анеуплоидијама. (63)

1.3.1.7 Репродуктивни ризик код носиоца дицентричних хромозома

Супружници који су носиоци дицентричних хромозома су у повећаном репродуктивном ризику. Најчешћи дицентрични хромозоми су они који потичу од Робертсонове транслокације. Рекомбинације унутар парацентричне инверзионе петље такође могу довести до формирања дицентричних хромозома. Присуство две активне центромере на једном хромозому може довести до стварања грешке током ћелијске деобе.

1.3.1.8 Репродуктивни ризик код носиоца балансираних реципрочних транслокација

Балансиране реципрочне транслокације представљају једну од најчешћих структурних реаранжмана хромозома. Реципрочна транслокација настаје када два различита хромозома размене сегменте. Особе које су носиоци балансираних транслокација су клинички нормалне. Овакви реаранжмани се детектују обично случајно, када се пренатално индикује кариотипизација због доби трудноће. Иако су особе носиоци балансираних транслокација клинички нормалне, имају повећан ризик за зачеће потомства са небалансираним кариотипом секундарно због мејотичке малсегрегације хромозома који су захваћени транслокацијом. (64)

Осим што могу бити наследне, балансиране транслокације се могу такође јавити и као новонастале мутације.

1.3.1.9 Репродуктивни ризик код носиоца ринг хромозома

Сматра се да је око 1% ринг хромозома наслеђено од родитеља. Око 50% особа које су наследиле ринг хромозом од родитеља имају фенотип који је

сличан родитељу носиоцу ринг хромозома, док једна трећина има тешко захваћен фенотип. У преко 90% случајева наслеђених ринг хромозома, носилац је мајка. Носиоци ринг хромозома, имају ризик услед нестабилности формације ринг хромозома, и поред тога такође могу имати ризик да им потомство има друге абнормалности које захватају хромозом од ког потиче ринг хромозом. Постоје објављени случајеви о носиоцима ринг хромозома 21 који су имали концептуса са тризомијом хромозома 21, секундарно због транслокације или дупликације хромозома 21. (65,66)

1.3.2 СУПРУЖНИЦИ СА НЕУСПЕШНИМ ИСХОДИМА ПРЕТХОДНИХ ТРУДНОЋА (Анамнеза рекурентних спонтаних побачаја или мртворођење у претходној трудноћи)

Анамнеза претходних тризомичних побачаја код супружника са уредним кариотипом не повећава у значајној мери рекурентни ризик за понављање исте хромозомске аномалије концептуса. Женске особе млађе од 30 година са анамнезом претходне тризомичне трудноће имају рекурентни ризик од трудноће са тризомичним концептусом око осам пута већи него што је процењен ризик за доб. Код жена старијих од 35 година, са претходном трудноћом са тризомијом рекурентни ризик је већи. Ако се разматрају резултати анализе кариотипа преимплантационим генетичким тестирањима са личном анамнезом рекурентних побачаја много је већа инциденција анеуплоидних ембриона него код женских особа које нису имале анализе кариотипа концептуса преимплантационом генетичким тестирањем.

Рекурентни репродуктивни ризик за супружнике са претходном тризомичном трудноћом износи око 1%. Код трудница које су у претходној трудноћи имале спонтани побачај услед тризомије фетуса, индиковано је да у свакој наредној трудноћи уради каротипизацију фетуса поступом амниоцентезе, кордоцентезе или аспирациону биопсију чупица јер су у већем репродуктивном ризику од тризомичних концептуса.

Ризик за овакве женске особе је не само склоност ка одређеној тризомији већ генерална склоност ка нераздвајању хромозома. Код појединих женских особа постоји склоност ка узастопним тризомијама услед нераздвајања хромозома (три или више консекутивних тризомија) а да свака укључује

различите хромозоме тј. имају рекурентност нераздвајања хромозома.

Особе са рекурентним спонтаним побачајима имају ризик да су и сами носиоци хромозомске аномалије у 2 – 5% случајева, те тада ризик за наредне трудноће зависи од тога који је хромозом захваћен.

1.3.3 СУПРУЖНИЦИ У РИЗИЧНОЈ ДОБИ ЗА РАЂАЊЕ

Ооците су нарочито склоне грешкама у мејози, а инциденција ових грешака је у великој мери зависна од животне доби. Истраживањем ооцита из нестимулисаних јајника и посматрањем ефекта на процесе у мејози ооцита из селектованих антралних фоликула, утврђено је да у ооцима које су добијене од жена донора које су имале преко 35 година, већина ооцита којима је екструдирано прво поларно тело у култури и заустављена у другој мејотичкој деоби имало је деобно вретено које је одступало по изгледу од нормалног и имале су аберацију постављања хромозома у екваторијалну раван. Мејотичка компетентност ооцита из нестимулисаних оваријума опада спрам доби жене. Развојни капацитет ооците опада са годинама жене. Смањење репродуктивне способности током животне доби женске особе настаје услед смањеног квалитета ооцита. Код жена старије животне доби се повећава учесталост мејотичког нераздвајања хромозома. (67,68)

Процес оогенезе је дугачак и траје од трећег месеца интраутериног живота када се формирају ооците до овулације што чини ооциту вулнерабилнијом ка нераздвајању хромозома у односу на сперматозоиде. Старењем жене, постоји рапидна деградација целуларних протеина укључујући и деобно вретено, кохезију сестринских хроматида или раздвајање сестринских хроматида у ооцима током анафазе што утиче на повећан ризик од нераздвајања хромозома и у првој и у другој мејотичкој деоби.

Старењем опада репродуктивна способност током четврте и пете деценије живота жене и смањује се способност ооците да успешно сегрегира хромозоме током довршења мејозе. Учесталост хромозомских абнормалности фетуса настаје најчешће услед грешака током мејозе женске особе и у директној је корелацији са доби. Процењено је да до пете деценије живота чак 50% свих овулираних ооцита може имати различите хромозомске аномалије. Најчешћи узрок је грешка у првој мејотичкој деоби женске особе, јер ооците започињу

мејозу током феталног периода око 11 – 12 гестацијске недеље и тада остају заустављене у профазу прве мејотичке деобе у диплотену све до овулације. У време овулације, ооцита комплетира другу мејотичку деобу и уколико је оплођена, завршава мејотички процес. Као резултат тога, комплетан завршетак прве мејотичке деобе може трајати 40 и више година. Дакле, прва деобна подела је дуготрајна, подразумевајући 15 година и чак 45 до 50 година за потпун завршетак. Дужина трајања мејотичке деобе указује на то да је старење основа настанка тризомије због догађаја који су се догодили пренатално у време уласка ооците у прву мејотичку деобу или за време интервала између мејотичког застоја и поновног уласка у мејозу, односно током периовулаторног периода у време поновног уласка у прву мејотичку деобу.

Табела 1-6: Ризик од хромозомских аномалија у односу на старост трудница

Доб женске особе(године)	Тризомија 21	Тризомија 18	Тризомија 13
15 – 19	1:1.250	1:17.000	1:33.000
20 – 24	1:1.400	1:14.000	1:25.000
25 – 29	1:1.100	1:11.000	1:20.000
30 – 34	1:700	1:7.100	1:14.000
35 – 39	1:200	1:2.400	1:4.800
40 – 44	1:60	1:700	1:1.600

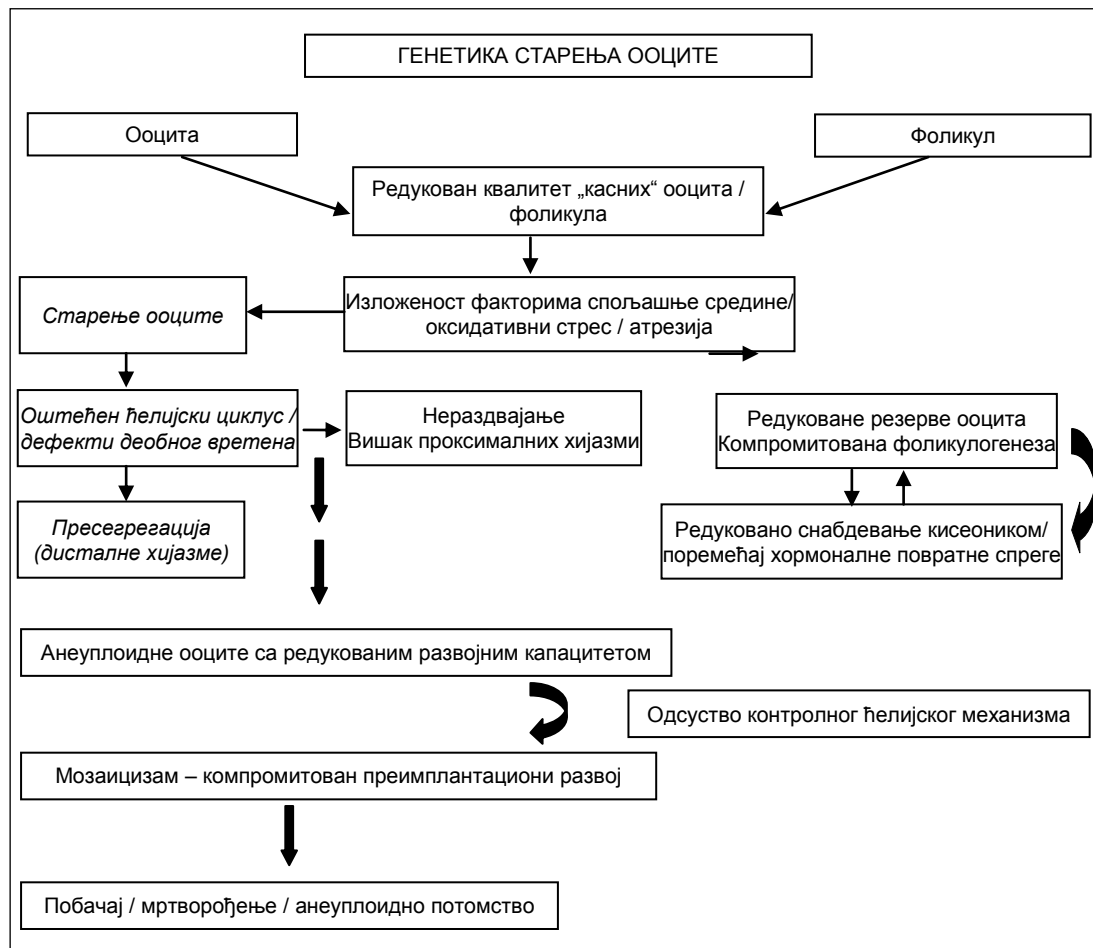
За разлику од развоја ооците, сперматогенеза мушких особа почиње у пубертету када ћелије улазе у мејозу и завршавају је без паузе.

Пролонгирано мировање ооците у профазу прве мејотичке деобе је стога удружено са повећаном преваленцом матерналног нераздвајања хромозома.

Рекомбинација је започета у феталном јајнику. Хијазме имају функцију да стабилизују спарене хомологне хромозоме (тетраде) заједно са сестринским хроматидама и кохезијом центромере што осигурава правилну сегрегацију хроматида ка супротним половима деобног вретена. Такође, функција хијазми је да помажу правилном усмеравању хромозома на нити деобног вретена. Пропорција нераздвајања је повезана са инсуфицијенцијом хомологног пара хромозома или рекомбинације, што води ка повећаном ризику од хомологне малсегрегације током друге мејотичке деобе. Ахијазматичне мејозе су ризичне за нераздвајања хромозома и тај ризик расте с доби женске особе. Дистално постављене хијазме усмеравају хомологне хромозоме мање ефикасно на нити

деобног вретена и непрецизно усмеравају кинетохоре ка супротним половима деобног вретена.

Слика 1-4: Етиолошки фактори и механизми за развој анеуплоидија који су зависни од доби



Фертилитет жене је релативно стабилан током првих тридесет година живота. Са 45 година, стопа фертилитета износи само 100 од 1000 женских особа које покушавају за зачну природним зачећем.

Иако је повезаност између животне доби и тризомија одавно позната, други предиспонирајући чиниоци нису у потпуности разјашњени.

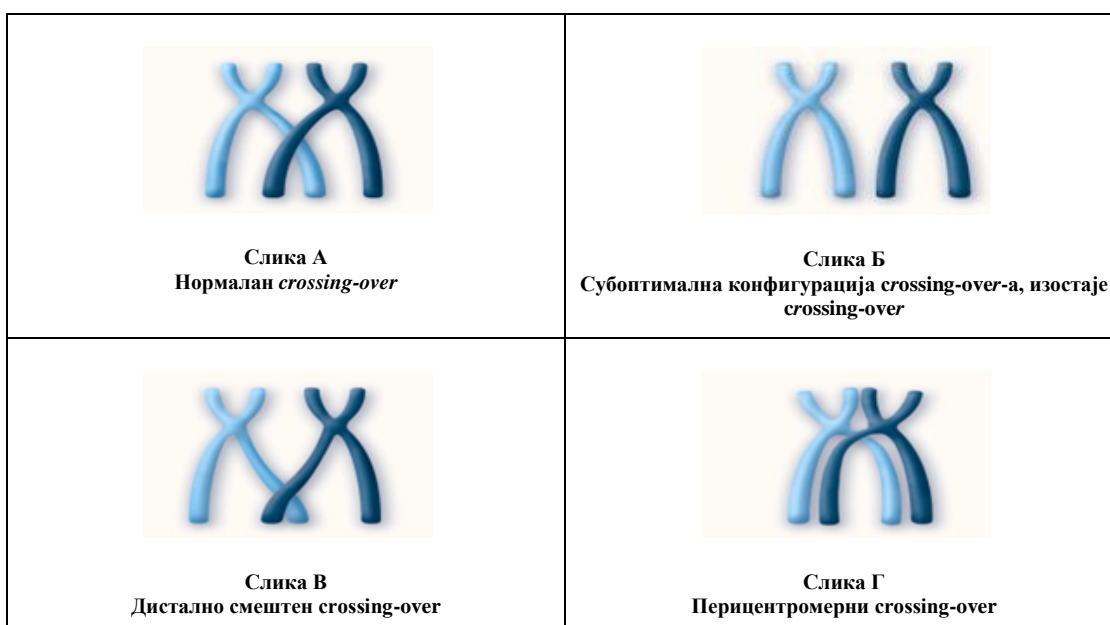
Фактори који доводе до нераздвајања хромозома су:

1. Оштећена рекомбинација или губитак (смањење, редукција) рекомбинације као есенцијални предиспонирајући фактор за нераздвајање хромозома. Већина анеуплоидија је матерналног порекла и углавном се јављају током прве мејотичке деобе као раздвајање хомологних хромозома. Међутим, постоји значајна варијабилност између хромозома у погледу стадијума мејотичког нераздвајања. Случајеви тризомије хромозома 16 настају искључиво

због грешке нераздвајања у првој мејотичкој деоби, код тризомије хромозома 15, 21 и 22 доминирају грешке у првој мејотичкој деоби, а већина тризомија хромозома 18 последица је нераздвајања у другој мејотичкој деоби. Распоред и локализација хијазми су важан предиспонирајући фактор мејотичког нераздвајања. Осим броја хијазми, важна је и локализација рекомбинација дуж хромозома. Веза између рекомбинације и нераздвајања хромозома је специфична за сваки хромозом. Код женских особа старије животне доби долази до редукције рекомбинација, што је фактор ризика за нераздвајање хромозома.

2. Измењен *crossing-over* (позиција хијазми, дистално померање хијазми, ахијазматичне рекомбинације) – превремено раздвајање сестринских хроматида. Код 48% жена млађе репродуктивне доби, детектован је *crossing-over* у теломерним крајевима хромозома 21, са додатним рекомбинацијама у перичентромерном региону. Насупрот томе, само 20% рекомбинација се догађа код жена старије животне доби унутар перителомерног региона и ниједан у теломерама. Дистално положене хијазме чине хромозоме склонијим нераздвајању, независно од доби. У случају друге мејотичке деобе, 71% рекомбинација жена старије животне доби догађа се унутар региона проксимално од центромере, насупрот 19% код мајки средње животне доби и ниједне код мајки млађе животне доби. Хијазме које су врло близу центромере узрокују превремено раздвајање сестринских хроматида у првој мејотичкој деоби што води ка нераздвајању током друге мејотичке деобе.

Слика 1-5: Оптимална и субоптимална конфигурација *crossing-over*-а.



3. Модел „два догађаја“ – Нераздвајање хромозома може настати као резултат два догађаја „*two-hits*“. Према том моделу, први догађај се појављује током феталног развоја ооцита, појавом перицентромерног или дисталног *crossing-over*-а или одсуством било каквог *crossing-over*-а између хомологних хромозома. Други догађај се јавља много година касније у време овулације, када ооците настављају мејозу. Ооците млађих жена имају већу могућности да исправно спроведу рекомбинацију, док како године жене одмичу, деградацијом протеина који учествују у мејози долази до повећања склоности ка нераздвајању хромозома.

4. Хормонални дисбаланс - повишене вредности фоликулостимулишућег хормона код жена старије животне доби могу утицати на сазревање ооците, брзину процеса мејозе и интегритет деобног вретена. Базални ниво фоликулостимулишућег хормона код женских особа које имају анеуплоидни фетус је повишен у односу на жене опште популације. Изражено и пролонгирано излагање фоликулостимулишућем хормону може узроковати хаотичан и неконтролисан раст фоликула који може индуковати грешке у репликацији ДНК и аберацију процеса мејозе.

5. Смањена резерва ооцита – убрзано биолошко старење оваријума. Код жена са смањеном резервом ооцита, у односу на жене исте доби постоје снижене вредности Антимилеровог хормона, те се могу очекивати и промене у развоју фоликула и већи ризик за анеуплоидни концептус.

6. Компромитована перифоликуарна микроциркулација, редукује снабдевање кисеоником. Она узима у обзир две чињенице: 95% деце са Дауновим синдромом добијају додатни хромозом од мајке, а 80% или више од тих нераздвајања догодило се у првој мејотичкој деоби, која је завршена у јајнику; фоликули јајника који садрже примарне јајне ћелије немају унутрашњу циркулацију. Хипотеза сугерише да анеуплоидне ооците настају из сплета догађаја. Почиње хормонском неравнотежом која узрокује поремећај микроваскуларизације што доводи до смањеног сазревања до зрелог фоликула. Резултат смањења величине перифоликуларног капиларног сплета смањује волумен протока крви кроз ово подручје, што доводи до дефицита кисеоника, а последица тога је накупљање унутар фоликула угљендиоксида и анаеробних производа, као што је лактат. Смањење интраћелијског *pH* ооците доводи до смањења величине деобног вретена, с последичним премештањем и

нераздвајањем хромозома. Настанак анеуплоидија у примарној и секундарној ооцити може се објаснити компромитованом микроциркулацијом. То такође објашњава зашто жене свих добних репродуктивних група могу имати дете са Дауновим синдромом.

7. Дефицит одржавања кохезије сестринских хроматида – (нормална сегрегација хомологних хромозома у првој мејотичкој деоби захтева координацију сестринских хроматида сваког хомологног хромозома). Инсуфицијенција кооперације сестринских кинетохора у првој мејотичкој деоби и/или превремена сегрегација сестринских хроматида, сматра се главним доприносећим фактором нераздвајању хромозома код човека.

8. Добоно – зависна детериорација

Сви ови модели подржавају концепт добно-зависне детериорације појединих ћелијских фактора који су потребни за функцију добног вретена и прогресију хромозома током мејозе. Способност ооцита да формирају нормално добно вретено смањује се са узрастом доби жене. Оштећене нити добног вретена су склоније малсегрегацији ахијазматичних и дистално хијазматичних хомологних хромозома и последичном превременом одвајању сестринских хроматида. Потврда овој претпоставци је добијена из неколико студија које описују повећање аномалија у формацији добног вретена и одступање хромозома или превремено раздвајање сестринских хроматида у ооцитима добијеним од старијих мајки.

Добоно зависни ефекат жене је мултифакторски и оба фактора и спољашњи и унутрашњи фактори могу захватати мејотичку сегрегацију хромозома. (69,70,71,72)

1.3.4 ПРЕНАТАЛНИ СКРИНИНГ

Последњих година забележен је напредак у примени неинвазивних тестова за детекцију трудница које имају повећан ризик за фетусе са анеуплоидијом. Скрининг тестови смањују потребу за примену инвазивних дијагностичких метода. Они имају своја ограничења јер не могу детектовати све анеуплоидне фетусе. Амниоцентеза и аспирациона биопсија чупица (*CVS - Chorionic Villus Sampling*) су сигуран и тачан дијагностички поступак. (73,74,75)

Препоруке *ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists)*,

CCMG (*Canadian College of Medical Geneticist*), SOGC (*Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada*) и MFM (*Maternal Fetal Medicine*) указују на то да:

Примењују се алгоритми у детекцији Дауновог синдрома, као и других анеуплоидија, који комбинују ултразвучне маркере и маркере серума труднице у првом и другом триместру трудноће. Последњих година примена *cut-off* скрининга само према матерналној доби углавном је у већини земаља замењена алгоритмима који осим доби укључују биохемијске и ултрасонографске маркере.(76,77,78)

У ранијем периоду, матернална доб од 35 и више година у време порођаја користила се у идентификацији жена које су у највећем ризику да имају дете са Дауновим синдромом као најједноставнији скрининг метод, те се овим женама нудила могућност генетског саветовања и амниоцентезе или аспирационе биопсије чупица. Од 1984. године, примењује се биохемијски скрининг за жене млађе од 35 година које имају низак α -фетопротеин (*AFP*). Од 1990. године користе се хумани хорионски гонадотропин (*hCG*) и неконјуговани естриол (*uE3*) у комбинацији са *AFP* мајчиног серума да би се побољшала детекциона стопа за Даунов синдром и остале анеуплоидије. Просечан ниво *AFP* у трудноћама са Дауновим синдромом је нижи од 0,74 мултипле медијане (*MoM*) у односу на нормалне трудноће. Слободни *hCG* је повећан у захваћеним трудноћама са Дауновим синдромом, са просечним нивоом од 2,06 *MoMa*, док је неконјуговани естриол просечно 0,75 *MoMa*. Када се користе сва три маркера (*triple* тест) за модификацију ризика доби, детекциона стопа за Дауновим синдромом износи око 70%, а око 5% свих трудноћа ће имати позитиван скрининг резултат. Вредности сва три маркера су смањене када је плод захваћен тризомијом хромозома 18. Увођењем тј. додавањем инхибина А троструком тесту (*quadruple* - четвороструки скрининг) побољшава се детекциона стопа на око 80%. Вредност медијане матерналног инхибина А је повећана преко 1,77 *MoMa* у трудноћама са Дауновим синдромом, али се инхибин А не користи у калкулацији ризика за тризомију хромозома 18. Скрининг са биохемијским маркерима, ултразвуком или са оба нуди се популацији трудница да би се обезбедила поузданија процена индивидуалног ризика за Даунов синдром. Већа сензитивност или стопа детекције (дефинисана као проценат трудноћа са Дауновим синдромом са позитивним резултатима теста са ниском лажно

позитивном стопом) води ка повећаној употреби скрининга и смањењу броја амниоцентеза које треба урадити. (79,80,81)

Студије које су рађене током деведесетих година показале су асоцијацију између величине накупине течности на задњој страни врата у првом триместру, означеног као „*nuchal translucency*” (енг.) и ризик за Даунов синдром. Повећана нухална транслуценција (*NT*) се у данашње време широко примењује као присутна карактеристика широког ранга феталних хромозомских, генетских и структурних абнормалности. Водич за систематско мерење је стандардизован. (82)

Значајан напредак скрининга за Даунов синдром у првом триместру постигнут је када су велике студије у Сједињеним Америчким Државама и Великој Британији показале да се мерењем нухалне транслуценце и изражавањем вредности нухалне транслуценце у *MoM*, уз комбинацију са биохемијским маркерима (слободног β -*hCG* и *PAPP-A*) у првом триместру побољшава поузданост скрининга. (83,84) Просечна вредност слободног β -*hCG* у првом триместру у трудноћама са Дауновим синдромом износи преко 1,98 *MoM*, а просечан ниво *PAPP-A*, гликопротеина који, као што *hCG*, производи се од стране трофобласта, смањује на око 0,43 *MoM*. Анализа *PAPP-A* и *hCG* или слободног β -*hCG* у серуму мајке примењује се у првом триместру, док се *AFP*, неконјуговани естриол, те инхибин А користе само у другом триместру трудноће. Постоје неколико приступа скринингу. (85,86)

Скрининг тестови за идентификацију жена у ризику од анеуплоидних фетуса су еволуирали од оних који користе само матерналну доб, до много других опција које су тренутно на располагању и чине минимални стандард пренаталног скрининга који би требао да буде доступан свим женама. (87)

Скрининг је процес истраживања популације који примењује специфичне маркере и дефинише *cut-off* ниво детекције, како би се идентификовала популација која је у највећем ризику за одређено обољење. Скрининг се примењује на популацију, док се дијагноза примењује на индивидуалном нивоу. (87,88,89)

Скрининг је позитиван када су вредности за једну или више болести за које се спроводи скрининг ниже од одређене граничне вредности (*cut-off* пресека). Када је скрининг позитиван нуди се генетско саветовање и даље

опције тестирања.

Опција инвазивне пренаталне дијагностике ради кариотипизације фетуса се у највећем броју земаља препоручује када је ризик да жена има трудноћу са хромозомском аномалијом већи од ризика рутинских инвазивних процедура (амниоцентеза, кордоцентеза, аспирациона биопсија чупица).

Применом ултразвучног и биохемијског скрининга може се поставити индикација за кариотипизацију фетуса за најчешће тризомије хромозома 21, 18, 13 или X. Употреба скрининга омогућава детекцију трудноћа у довољно високом ризику да би се индиковало инвазивно дијагностичко тестирање (уз писану сагласност труднице) које има ризик који је сличан ризику од спонтаног побачаја. (48,90)

Раније је постојала процедура да се примењује изолован *cut-off* матерналних година од 35 и више година у време порођаја како би се идентификовале трудноће у ризику од хромозомске аномалије фетуса. Ризик везан за матерналну доб треба модификовати са додатним маркерима који подразумевају матерналне серум биохемијске маркере и ултразвучну процену. Скрининг на основу матерналне доби је лимитиран само за жене са 40 и више година у време порођаја. (91,92,93)

Матернални скрининг само на основу матерналних година је инфериоран у односу на новије скрининг приступе који примењују мултипле серум маркере и ултрасонографску процену нухалне транслуценције и присуство/одсуство носне кости. (94)

Предности скрининга спрам трудничине животне доби је тај што се инвазивном хромозомском анализом могу детектовати и друге анеуплоидије везане за матерналну доб као што су: тризомија хромозома 13, 47,XXX и 47,XXY као и друге хромозомске аберације. Хромозомске аномалије полних хромозома 47,XXX и 47,XXY није могуће детектовати само ултрасонографски нити скринингом матерналног серума, а ризик њиховог јављања је 1:200 али само за жене преко 44 година. На основу ових чињеница, скрининг који користи само матерналну доб требало би лимитирати само за жене са 40 и преко 40 година. Свим трудницама, независно од доби, требало би понудити пренатални неинвазивни скрининг тест за модификацију ризика од Дауновог синдрома и

тризомију хромозома 18 и треба им понудити инвазивни тест само ако је ризик хромозомских аномалија већи од ризика *cut-off* вредности за одређени скрининг тест. Женама преко 40 година у време порођаја требало би спровести саветовање спрам неинвазивног скрининга да би се модификовао ризик пре доношења одлуке за инвазивну пренаталну дијагностику и свакако треба да буду информисане за опцију инвазивног тестирања само спрам доби. (95,96)

Препоруке АСОГ (77):

1. Свим трудницама без обзира на доб, требало би понудити пренатално тестирање за најчешће феталне анеуплоидије уз информативни пристанак.

2. Скрининг протокол само спрам матерналне доби сматра се минималним стандардом за пренатални одабир трудница које су у ризику од анеуплоидија и препорука је да се допуни другим скрининг протоколима. Само жене које ће у време порођаја имати 40 и више година треба упутити на инвазивну пренаталну дијагностику само због доби, али и њима треба омогућити мултипли маркер скрининг.

Табела 1-7: Неинвазивни пренатални скрининг

Скрининг могућности	Маркери	Прво и друго тромесечје	Cut-off	Стопа детекције (%)	Лажно позитиван резултат (%)	Учесталост захваћених плодова у случају позитивног резултата
Опције које не задовољавају минималан стандард						
Скрининг првог триместра	<i>NT</i> , слободни β - <i>hCG</i> , <i>PAPP-A</i> , МД	Прво	1:325	83	5.0	1:27
Четвороструки скрининг	<i>AFP</i> , <i>uE3</i> , слободни β - <i>hCG</i> , инхибин А, МД	Друго	1:385	77	5.2	1:50
ИПС	<i>NT</i> , <i>PAPP-A</i> , <i>AFP</i> , <i>uE3</i> , слободни β - <i>hCG</i> /укупни <i>hCG</i> , инхибин А, МД	Прво и друго	1:200	87	1.9	1:10
ИПС без инхибина А	<i>NT</i> , <i>PAPP-A</i> , <i>AFP</i> , <i>uE3</i> , укупни β - <i>hCG</i> , МД	Прво и друго	1:200	88	3.0	1:20
Серумски ИПС	<i>PAPP-A</i> , <i>AFP</i> , <i>uE3</i> , слободни β - <i>hCG</i> / укупни <i>hCG</i> , инхибин А	Прво и друго	1:200	85	4.4	1:26
Опције које не задовољавају минималан стандард						
Матернална доб	Матернална доб	Прво и друго	1:385	44	16	1:218
Троструки (triple) скрининг	<i>AFP</i> , <i>uE3</i> , укупни <i>hCG</i> , МД	Друго	1:385	71	7.2	1:59
<p><i>NT</i>: нухална транслуценција; МД: Матернална доб; ИПС: Интегрисани пренатални скрининг. Слободни β-<i>hCG</i>: слободни бета хумани хорионски гонадотропин, <i>PAPP-A</i>: Плазма протеин А повезан са трудноћом (<i>Pregnancy-Associated Plasma Protein A</i>); <i>AFP</i>: алфа фето протеин; <i>uE3</i>: неконјуговани естриол; укупни <i>hCG</i>: укупни хумани хорионски гонадотропин</p>						

1.3.5 ОДСТУПАЊЕ У НАЛАЗУ УЛТРАСОНОГРАФСКОГ ПРЕГЛЕДА ФЕТУСА

Ултрасонографским прегледом плода у периоду између 11 – 13+6/7 гестацијских недеља код око 60 – 70% фетуса са тризомијом 21 и код око 2% фетуса са уредним кариотипом присутна је немогућност визуелизације носне кости. Аномалије протока кроз дуктус венозус могу се видети у око 80% фетуса са тризомијом хромозома 21 и код 5% фетуса са уредним кариотипом. И други ултрасонографски маркери као што су омфалокела, мегациста и једна умбиликална артерија имају већу преваленцију код плодова са одређеним хромозомским аномалијама у односу на хромозомски нормалне фетусе. Сваки од ових ултразвучних маркера повезан је са одређеним фактором ризика, који се може умножити са почетним ризиком у циљу израчунавања новог ризика. (97,98)

Табела 1-8: Преваленција ултрасонографских маркера у другом триместру трудноће код фетуса са тризомијом хромозома 21 и са нормалним кариотипом

Ултрасонографски маркер	Тризомија хромозома 21	Нормалан кариотип
Повећана <i>NT</i>	33%	0.6%
Кратак хумерус	33%	1.5%
Кратак фемур	41%	5%
Хидронефроза	17%	2.6%
Ехогени фокус у срцу	28%	4%
Ехогена црева	13%	0.6%
Мајор аномалија	21%	0.6%

Уколико се у првом триместру трудноће ултрасонографски детектује повећана дебљина *NT*, немогућност визуелизације носне кости, интраутерина ретардација раста, краћи фемур и хумерус, присуство једне умбиликалне артерије, мегациста, омфалоцела, циста хориоидног плексуса, пијелектазије, хиперехогени фокус у срцу, поремећај срчане фреквенције, патолошки проток кроз дуктус венозус, перзистентно присуство обрнутог протока на крају дијастоле (*REDF*), индикује се кариотипизација плода. (99,100,101,102,103,104) Такође, у другом триместру трудноће трага се за евентуалним аномалијама плода као што су: вентрикуломегалија, холопрозенцефалија, циста пл. хориоидеуса, расцеп усне/непца, микрогнатија, хипоплазија носа, нухални едем, цистични хигром, дијафрагмална хернија, аномалије кардиоваскуларног система, омфалоцела, атрезија дуоденума, атрезија езофагуса, аномалије бубрега, скраћени екстремитети, клинодактилија, преклапање прстију,

синдактилија, деформитети стопала, *IUGR*, асцитес и друге аномалије. (78,81,105,106,107,108)

Наведени ултрасонографски налази показују већу преваленцу код хромозомски абнормалних фетуса.

Табела 1-9: Скрининг тестови за Даунов синдром и стопа детекције

СКРИНИНГ ТЕСТ	СТОПА ДЕТЕКЦИЈЕ (%)
Први триместар	
Мерење <i>NT</i>	64 – 70
Мерење <i>NT</i> , <i>PAPP-A</i> , слободни или укупни β - <i>hCG</i>	82 – 87
Други триместар	
Троструки скрининг (<i>AFP</i> , <i>hCG</i> , неконјуговани естриол)	69
Четвороструки скрининг (<i>AFP</i> , <i>hCG</i> , неконјуговани естриол, инхибин А)	81
Први + други триместар	
Интегрисани скрининг (<i>NT</i> , <i>PAPP-A</i> , четвороструки скрининг)	94 – 96
Серум интегрисани скрининг (<i>PAPP-A</i> , четвороструки скрининг)	85 – 88
Секвенционални скрининг	
Уколико су резултати првог триместра трудноће: <ul style="list-style-type: none"> • позитивни: нуди се инвазивна дијагностика (кариотипизација плода) • негативни: нуди се неинвазивни скрининг другог триместра Дефинитивна процена ризика постиже се инкорпорацијом резултата првог и другог триместра	
Условни („contingent” скрининг)	88 – 94
Уколико су резултати првог триместра трудноће: <ul style="list-style-type: none"> • позитивни: нуди се инвазивна дијагностика (кариотипизација плода) • негативни: без даљег тестирања • интермедијарни: нуди се неинвазивни скрининг другог триместра Дефинитивна процена ризика постиже се инкорпорацијом резултата првог и другог триместра	

1.3.6 МОГУЋНОСТИ ПРЕНАТАЛНОГ СКРИНИНГА

Најпогоднији тест за Даунов синдром треба да има најмању стопу лажно позитивног резултата а највећу стопу детекције. Овакви скрининг програми базирани су и на трошковима повезаним са скрининг програмима генерално посматрано, а трошкови повезани са скринингом одређују се спрам трошкова по трудноћи којом се дијагностикује Даунов синдром. Године 2007, као минимални стандард пренаталног скрининга који се нудио женама у Канади има стопу детекције 75% са не више од 5% лажно позитивних стопа за Даунов синдром.

1.3.6.1 Опције пренаталног скрининга

Скрининг првог триместра:

NT комбинован са биохемијским маркерима

- Комбинација: NT, f β -hCG, PAPP-A, матернална доб.
- Стопа детекције 83%, cut-off 1:325.
- Изгледи да фетуси буду захваћени анеуплоидијом у случају позитивног резултата 1 : 27.

Уколико се не мери NT:

- Комбинација: матернална доб + PAPP-A + f β -hCG.
- Стопа детекције овог скрининга рангира од 69 – 75% са стопом лажне детекције од 5 – 8%.

NT у првом триместру трудноће треба тумачити у процени ризика само ако мерење обављају ултрасонографисти који су обучени и акредитовани за пружање ових услуга и обезбеђују квалитет.

NT без биохемијског скрининга не би требало нудити као скрининг без биохемијских маркера осим у случајевима мултиплих трудноћа.

Женама које пролазе кроз скрининг првог триместра, треба понудити скрининг другог триместра серумски α -фетопротеин (AFP) и/или преглед ултразвуком за скрининг аномалија неуралне цеви.

Скрининг другог триместра:

Матернална доб + AFP + uE3 + f β -hCG (мерени у 15 – 20. гестацијској недељи) детектују 65% фетуса са Дауновим синдромом са лажно позитивном стопом од 5%, cut-off троструког биохемијског маркер скрининга износи 1 : 385.

Уз инхибин А стопа детекције за Даунов синдром расте за +10%, cut-off 1 : 230.

Комбиновани скрининг првог и другог триместра (интегрисани; условни и секвенционални)

Интегрисани скрининг

• NT + PAPP-A, AFP, uE3, f β -hCG / укупни β -hCG, инхибин А, матернална доб.

• Стопа детекције износи 87%, cut-off 1 : 200.

• Ризик да фетуси буду захваћени анеуплоидијом у случају позитивног резултата су 1:10.

Уколико се не мери NT (серумски интегрисани пренатални скрининг – ИПС)

• PAPP-A, AFP, uE3, f β -hCG / укупни β -hCG, инхибин А

• Стопа детекције износи 85%, cut-off 1 : 200

• Ризик да фетуси буду захваћени анеуплоидијом у случају позитивног резултата су 1 : 26.

Уколико се не одређује инхибин А

• NT + PAPP-A, AFP, uE3, укупни β -hCG, матернална доб

• Стопа детекције износи 88%, cut-off 1 : 200

• Ризик да фетуси буду захваћени анеуплоидијом у случају позитивног резултата су 1 : 20.

Условни скрининг („contingent screening”)

Представља алтернативу интегрисаном пренаталном скринингу. Код овог скрининга већина жена ће добити резултат након скрининга првог триместра. Трудницама у високом ризику (нпр. ризик преко 1:50) биће понуђене инвазивне дијагностичке процедуре за анализу кариотипа фетуса, а трудницама у ниском ризику нпр. мање од 1:1000 неће бити потребно даље тестирање. Одређеном проценту трудница са интермедијарним ризиком, тј. ризиком између две *cut-off* вредности (нпр. преко 1:50 и мање од 1:1000) биће понуђено скрининг тестирање другог триместра, те ће им накнадно бити одређен комбинован резултат. У овом скринингу женама које су идентификоване да имају интермедијарни ризик, накнадно се врши и скрининг другог триместра. Овакав резултат услед потребе за чекањем коначног резултата повећава забринутост

ових жена, које би могле одмах да обаве инвазивну дијагностичку процедуру анализе кариотипа фетуса, стога се повећава стопа лажно позитивних резултата. (109,110,111)

Секвенционални скрининг

Селектује жене другог триместра према резултатима скрининга првог триместра. Трудницама које добију скрининг позитиван резултат у првом триместру нуди се инвазивна дијагностичка процедура за анализу кариотипа фетуса. Трудницама које добију скрининг негативан резултат у првом триместру предлаже се додатни серум скрининг у другом триместру.

Секвенционални скрининг који не садржи резултате тестирања првог триместра, већ само резултате другог триместра значајно повећава лажно позитивну стопу. С обзиром на високу стопу лажно позитивних резултата, секвенционални скрининг не би требало предлагати трудницама осим у случајевима када резултати другог триместра инкоропоришу и резултате првог триместра. (112,113,114)

У идеалном случају, свим трудницама би требало понудити скрининг анеуплоидија пре 20. гестацијске недеље, без обзира на доб труднице. Пре одлучивања која стратегија или стратегије ће се предложити трудници треба утврдити који тестови су доступни у одређеној установи и утврдити која стратегија или стратегије ће најбоље задовољити потребе супружника. Могућности за труднице које се први пут јаве гинекологу и генетичару током другог триместра трудноће су ограничене на четвороструки биохемијски скрининг и преглед ултразвуком. (115)

Без обзира који скрининг тест се предложи супружницима, потребно им је предочити информације о стопи детекције, лажно позитивној стопи, предностима, недостацима и ограничењима неинвазивних и инвазивних пренаталних дијагностичких процедура, као и ризицима и користи од дијагностичких поступака, тако да би супружници могли доносити одлуке. Супружници могу дијагностичке процедуре за скрининг Дауновог синдрома, јер им не би користила информација у одлучивању или зато што желе да избегну могућност лажно-позитивних резултата теста. Избор теста зависи од многих чинилаца, укључујући и гестацијску доб при првој посети генетичару или

гинекологу, број фетуса, претходну акушерску анамнезу, породичну анамнезу, доступност мерења *NT*, испитивање осетљивости и ограничења, ризик инвазивних дијагностичких поступака, жељу за раним резултатима теста и могућности за ранији прекид трудноће. Треба узети у обзир и породичну анамнезу хромозомских абнормалности, генетски поремећај или конгениталне малформације. (38,116,117,118,119)

Скрининг за анеуплоидије идентификује жене чији фетуси имају повећан ризик за Даунов синдром, тризомију хромозома 18 и тризомију хромозома 13. Ако се жене које су имале позитиван резултат теста скрининга одлуче да наставе дијагностички поступак у правцу инвазивних дијагностичких процедура, као што је аспирациона биопсија чупица или амниоцентеза, постоји већа вероватноћа идентификације захваћеног фетуса него када би дијагностички тест био изведен у популацији која није обухваћена скринингом, те ће тако бити потребно мање инвазивних процедура у идентификацији анеуплоидних фетуса код пацијената који имају скрининг, што резултира смањењу броја губитака нормалних фетуса услед инвазивних дијагностичких процедура. (120,121,122)

Главни недостатак неинвазивног скрининг приступа за детекцију анеуплоидија фетуса се састоји у томе што неће бити детектовани сви фетуси који су захваћени анеуплоидијом. Иако тренутно доступни приступи имају релативно високу стопу детекције и ниску стопу позитивног скрининга, жене морају разумети (треба им предочити) да скрининг пружа појединачну процену ризика, а не дијагнозу и тако неће открити све хромозомске абнормалности.

У поређењу са осетљивошћу скрининга, главна предност инвазивних дијагностичких процедура састоји се у томе што ће бити детектоване све аутозомне тризомије. Дијагностичко тестирање ће такође поуздано детектовати све анеуплоидије везане за полне хромозоме, велике делеције, дупликације и мозаицизам хромозома. Међутим, у популацији која није обухваћена скринингом, извршиће се више инвазивних процедура за идентификацију сваког оболелог фетуса, што доводи до већег губитка нормалних фетуса у поређењу са популацијом обухваћеном скринингом. Пацијенти који се информишу о ризику, нарочито они који су у повећаном ризику да имају анеуплоидни фетус, могу да одлуче да имају инвазивно дијагностичко тестирање без да имају неинвазивни скрининг. (58,59,65,123)

Резултати скрининга се могу изразити као скрининг позитивни и скрининг негативни базирани на фиксној граничној вредности (*cut-off*). Коришћење фиксних *cut-off* вредности у клиничким студијама је од значаја јер пружа основу за упоређивање осетљивости (стопе детекције), лажно-позитивних стопа, и прихватљивост за пацијенте у оквиру различитих студијских група. Често су ове фиксне *cut-off* вредности произвољно селектоване на вредности које су упоредиве са ризиком за жене одређених година и чини се да обезбеђују адекватну равнотежу у поређењу са ризиком од губитка трудноће као резултат инвазивне дијагностичке процедуре. (124,125,126)

1.4 ЦИЉАНИ ПРЕКИД ТРУДНОЋЕ

Брз и сталан напредак у пренаталној дијагностици омогућио је пренатални скрининг и дијагнозу феталних анеуплоидија доступним у првом и почетком другог триместра трудноће. Релативно касна дијагноза тешких феталних стања такође је повећана због унапређеног извођења рутинског ултрасонографског испитивања заједно са систематичним приступом евалуације фетуса и одређивања прогностичких фактора са повећањем гестације. Прогностичка неизвесност често је против етичких и правних питања у процесу доношења одлука, што доводи до ране терминације потенцијално нормалног фетуса или касне терминације тешко захваћеног фетуса. Терминологија касног елективног прекида трудноће се често користи када је могуће да такав фетус буде одржив екстраутерино. Граница вијабилности је обично у периоду 20. до 24. недеље гестације. По закону Велике Британије, може се сматрати да се „способност фетуса да је рођен жив“ одређује спрам способности за дисање, која је вероватна пре 24. гестацијске недеље. У Француској, новорођенчад се правно сматра одрживим након 22. гестацијске недеље или ако је порођајна маса преко 500 грама. У неким земљама могуће је извести побачај из социјалних разлога након 20. гестацијске недеље. У складу са локалним прописима правни оквири за елективни прекид трудноће се доста разликују од једне до друге земље и унутар Европе и од једне до друге земље унутар САД. Према томе, допуштено деловање у једној земљи може бити противзаконито у другој земљи. У многим европским земљама, елективни прекиди трудноћа могу се обављати све до термина у случајевима леталних или тешких абнормалности фетуса

(Француска, Енглеска, Белгија, Норвешка - под одређеним условима, Шведска - уз одобрење Националног одбора за здравство и социјалну заштиту, као и Финска). Прекид трудноће због аномалија фетуса такође је дозвољен без обзира на гестацију и у другим деловима света: Израел, Кина, Индија, Куба, Канада, Аустралија, као и неколико америчких држава, укључујући Канзас, Џорџију, Мичиген, Њујорк. Поједине земље допуштају прекид трудноће до средине трудноће са гестацијским ограничењем и под специфичним основама: до 22. гестацијске недеље у Немачкој; до 24. гестацијске недеље у случајевима тешких конгениталних аномалија и до 28 недеља, ако преживљавање није вероватно (Данска); до 24. гестацијске недеље у случају абнормалног феталног развоја (Грчка), до 24. гестацијске недеље у случају лоше прогнозе (Холандија), до 22. гестацијске недеље (Шпанија) и касније, ако је стање опасно по живот за мајку; до 22. гестацијске недеље (Јапан); 20 – 24. гестацијске недеље (у већини земаља САД), у другом триместру трудноће (у бившим државама Совјетског Савеза). Гестацијски лимит за елективне прекиде трудноћа такође зависи од локалних законских прописа. У већини европских земаља побачај је доступан на захтев у првом триместру (обично 10. – 12. гестацијска недеља), 14. гестацијска недеља у Француској, али и касније у Шведској (18. гестацијска недеља), Шпанији (22. гестацијске недеље), Холандији (24. гестацијске недеље) и Великој Британији (24. гестацијска недеља). Међутим, неколико европских земаља (Малта, Република Ирска и Северна Ирска) не допуштају побачај у било којој гестацији. Закон не само да поставља гестацијски лимит за елективни прекид трудноће већ такође одређује и индикације. Закон у Француској допушта елективни прекид трудноће након 14. гестацијске недеље „само онда када су дијагностиковане тешке и неизлечиве болести фетуса”.

Стопе касног циљаног прекида трудноће у литератури су хетерогене због разлике у регистрацији и објављивању. Уопштено посматрано, чини се да у свакој земљи где је елективни прекид трудноће законит, број елективних прекида трудноће се смањује са гестацијском доби, што се мора тумачити паралелно са бројем елективних прекида трудноћа у сваком триместру трудноће, који зависи од локалног закона.

У Републици Србији важи Закон о поступку прекида трудноће у здравственим установама („Сл. Гласник РС“, бр. 16/95 и 101/2005.)

Према Члану 6 прекид трудноће може се извршити до навршене десете недеље трудноће. Изузетно, прекид трудноће може се извршити и после навршене десете недеље трудноће:

- 1) када се на основу медицинских индикација утврди да се на други начин не може спасити живот или отклонити тешко нарушавање здравља жене;
- 2) када се на основу научно-медицинских сазнања може очекивати да ће се дете родити са тешким телесним или душевним недостацима;
- 3) када је до зачећа дошло извршењем кривичног дела (силовање, обљуба над немоћним лицем, обљуба над малолетним лицем, обљуба злоупотребом положаја, завођење и родоскрнављење).

Према Члану 7 постојање услова за прекид трудноће утврђује:

- 1) до навршене десете недеље трудноће - лекар специјалиста акушерства и гинекологије
- 2) од навршене десете недеље трудноће до навршене двадесете недеље трудноће – конзилијум лекара одговарајуће здравствене установе;
- 3) после навршене двадесете недеље трудноће - етички одбор здравствене установе.

Према Члану 8 Председника и чланове етичког одбора именује на период од две године Министарство надлежно за послове здравља на предлог одговарајуће здравствене установе. Број, састав и начин рада етичког одбора утврђује Министарство надлежно за послове здравља.

Према Члану 9 Прекид трудноће може се извршити када трудна жена да писмену сагласност за прекид.

1.5 РЕТКЕ ХРОМОЗОМСКЕ АНОМАЛИЈЕ

Пренатална дијагностика је од изузетног значаја јер омогућава добијање здравог потомства у популацији репродуктивног становништва и доприноси смањењу проблема јавног и репродуктивног здравља како у развијеним тако и у неразвијеним земљама. Захваљујући интензивном развоју пренаталне дијагностике омогућено је откривање великог броја болести и малформација пре рођења детета. (127,128) Циљ пренаталне дијагностике је да омогући

супружницима да добију здраво жељено потомство те да се у случају када је код фетуса утврђено присуство хромозомске аномалије, размотри могућност циљаног прекида трудноће из медицинских разлога. (124,125,129)

С обзиром на то да учесталост хромозомских аномалија и стопу спонтаних побачаја и морталитет у перинаталном и неонаталном периоду, хромозомске аномалије представљају важан здравствени и економски проблем јер утичу на квалитет живота како оболеле деце тако и њихових породица али и читавог друштва, будући да је у случају рађања детета са хромозомском аберацијом читаво друштво оптерећено здравственим, социјалним и финансијским проблемима који се односе на доживотну здравствену заштиту детета као и потребу да се дете интегрише у друштвену заједницу те побољша квалитет његовог живота. Када се пренатално дијагностикују ретке хромозомске аномалије и када се, из медицинских разлога, одобри прекид трудноће према важећем Закону Републике Србије, смањују се значајни материјални трошкови које би заједница имала за збрињавање пацијената са леталним и тешким конгениталним аномалијама, дубоком менталном ретардацијом чиме се смањује негативан утицај на квалитет живота породице. (130)

Досадашњим студијама више је пажње посвећено трудноћама које су захваћене најчешћим хромозомским аномалијама као што су класичне тризомије хромозома 21, 13 и 18.

Међутим, и код трудноћа које су захваћене ретким хромозомским аномалијама може да постоји удруженост одређене специфичне хромозомске аномалије са конгениталним малформацијама и одступањима од нормалних вредности биохемијског скрининга у првом и другом триместру трудноће. (61,131)

Циљани прекиди трудноће из медицинских разлога најчешће се одобравају због хромозомских аномалија фетуса. Проблем хумане репродукције су хромозомске аномалије у актуелној трудноћи и могућности правовремене детекције како би се омогућило да особе у репродуктивној доби добију здраво потомство. (132,133)

Пренатална дијагностика представља једну од медицинских области са најбржим развојем, те су у подручју цитогенетике омогућила детекцију веома

малих хромозомских промена што је довело и до разјашњења етиологије бројних клиничких синдрома.

Већина досадашњих студија односи се на анализу трудноћа захваћених најчешћим хромозомским аномалијама. Анализа трудноћа захваћених ретким хромозомским аномалијама и повезаност са налазима неинвазивног пренаталног скрининга није у довољној мери заступљена у литератури.

У Европи се формирају регистри ретких хромозомских аномалија ради увида у могуће очекиване проблеме код таквих пренатално детектованих фетуса. Резултати претходних истраживања указују да је код раних спонтаних побачаја око 50 – 60% фетуса захваћено неком од хромозомских аномалија. Приликом цитогенетичке анализе таквих фетуса најчешће су утврђене тризомије аутозомних хромозома (најчешће хромозома 16, 22, 15, 21, 13 и 18), различите структурне хромозомске аномалије, полиплоидије и монозомија хромозома X. (52,134,135) Методе неинвазивне и инвазивне пренаталне дијагностике су значајно унапређене последњих година, као и неинвазивни тестови за детекцију трудноћа са повећаним ризиком од хромозомских аномалија. Највећи допринос је постигнут за трудноће које су захваћене најчешћим хромозомским аномалијама као што су тризомија хромозома 21, 13, 18. Ове хромозомске аномалије су приоритетни проблем пренаталне дијагностике јер су код живорођених најчешће заступљене. (136)

Хромозомске аномалије су значајан узрок психомоторне ретардације и мултиплих или изолованих конгениталних аномалија различитих органских система. Одређен број трудноћа захваћених ретким хромозомским аномалијама буде одбачен природном селекцијом кроз спонтане побачаје, мисед абортусе, превремене порођаје и мртворођења. Хромозомске аномалије представљају значајан узрок губитака трудноћа у свим стадијумима трудноће. Према истраживању Гарднера, рана смрт ембриона у још непотврђеној трудноћи мањој од 5 гестацијских недеља тзв. „окултни побачај“ је код 50% случајева удружен са хромозомском аномалијом, док је 30% спонтаних побачаја гестацијске доби преко 5 гестацијских недеља удружено са хромозомским аномалијама.

Процент хромозомских аномалија код деце са дијагностикованим конгениталним малформацијама пре навршене прве године живота износи 15%

док у групи леталних конгениталних малформација хромозомске аномалије чине 25%.

Дијагностиковање трудноћа захваћених ретким хромозомским аномалијама може да допринесе давању исправне генетичке информације за супружнике који желе здраво потомство. Један део ретких хромозомских аномалија фетуса настаје због балансираних хромозомских реаранжмана код супружника, други део настаје *de novo*, те је важно препознати све такве случајеве ради спровођења доступних мера дијагностике у наредним трудноћама. (127)

Имајући у виду да су најчешће заступљене хромозомске аномалије код живорођених тризомија 21 (*Down* синдром), тризомија 18 (*Edwards* синдром) и тризомија 13 (*Patau* синдром) ове хромозомопатије представљају приоритетни проблем пренаталне дијагностике. Међутим, познато је да осим наведених најчешћих хромозомских аномалија, у мањем али такође значајном проценту постоји захваћеност фетуса и новорођенчади, другим, ретким хромозомским аномалијама.

У ретке хромозомске аномалије спадају (Слика 1-6):

- делеције
- дупликације
- ринг хромозоми
- тризомије осталих аутозомних хромозома
- маркер хромозоми
- полиплоидије
- небалансирани хромозомски реаранжмани
- мозаичне форме кариотипа (128,127)

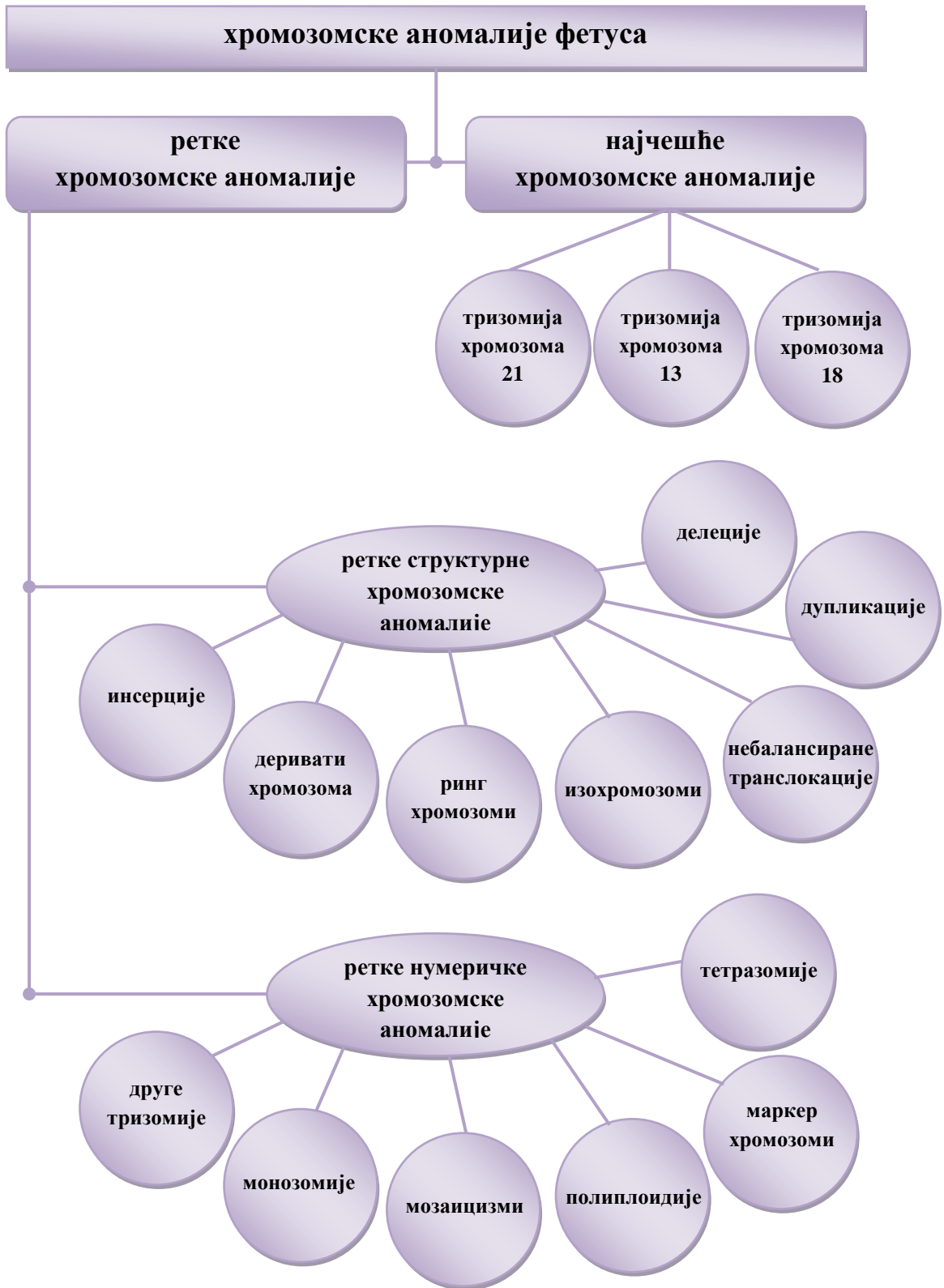
У пренаталној дијагностици, у свакодневном раду гинеколог акушер и генетичар сарађују и мултидисциплинарним приступом детектују хромозомске аберације фетуса, укључујући и ретке хромозомске аберације. Гинеколог акушер детектује одступања од нормалног налаза ултрасонографског прегледа као и патолошке налазе биохемијског скрининга и заједно са генетичарем индикује додатну инвазивну пренаталну дијагностику. Такође, када се добије налаз кариотипа, значајна је улога генетичара у тумачењу налаза и давању

адекватне генетичке информације. (4,5,16,137)

Биохемијски скрининг првог триместра (слободни хумани хорионски гонадотропин и протеин плазме везан за трудноћу) и другог триместра (алфа фето протеин, неконјуговани естриол, слободни хумани хорионски гонадотропин) као неинвазивни скрининг, омогућава процену ризика од хромозомских аномалија фетуса као и ризик од урођених аномалија фетуса. Ултрасонографским прегледом фетуса могу се визуелизовати конгениталне аномалије органских система. Уколико се утврде одступања од референтног опсега неинвазивним процедурама, биохемијским скринингом и ултрасонографским прегледом фетуса, приступа се кариотипизацији фетуса којом се поставља присуство или одсуство хромозомске аномалије фетуса. (4,5,12,138,139)

У Европи постоји регистар хромозомских абнормалности укључујући и ретке хромозомске абнормалности (*Unique, ECARUCA - European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations, EUROCAT-European Catalog of Congenital Anomalies, The Chromosome Anomaly Collection, Chromosome Disorder Outreach, National Organization of Rare Disorders*, и др.). (20) У свету, а и у Републици Србији постоји заинтересованост да се омогући и унапреди дијагностика свих хромозомских абнормалности, укључујући и ретке, а не само најчешће. (12)

Слика 1-6: Подела хромозомских аномалија



2 ЦИЉЕВИ РАДА

1. Утврдити вредности биохемијских маркера у првом триместру (слободни бета хумани хорионски гонадотропин и са трудноћом повезаног плазма протеина) код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса.

2. Утврдити вредности биохемијских маркера у другом триместру (алфа фето протеин, слободни бета хумани хорионски гонадотропин и неконјуговани естриол) код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса.

3. Утврдити ултрасонографски налаз (дебљину нухалног набора, количину плодове воде, присуство аномалија органских система) у првом триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса.

4. Утврдити ултрасонографски налаз (количину плодове воде, присуство аномалија органских система) у другом триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса.

5. Утврдити ултрасонографски налаз (количину плодове воде, присуство аномалија органских система) у трећем триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса.

3 РАДНЕ ХИПОТЕЗЕ

1. Постоји статистички значајно већа разлика вредности биохемијских маркера у првом триместру од референтног опсега (слободни бета хумани хорионски гонадотропин и са трудноћом повезаног плазма протеина) код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса у односу на групу најчешћих хромозомских аномалија и групу трудноћа са нормалним кариотипом.

2. Постоји статистички значајно већа разлика вредности биохемијских маркера од референтног опсега у другом триместру (алфа фето протеин, слободни бета хумани хорионски гонадотропин и неконјуговани естриол) код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса у односу на групу најчешћих хромозомских аномалија и групу трудноћа са нормалним кариотипом.

3. Постоји статистички значајно већа разлика од референтног опсега ултрасонографских маркера у првом триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса у односу на групу најчешћих хромозомских аномалија и групу трудноћа са нормалним кариотипом.

4. Постоји статистички значајно већа разлика од референтног опсега ултрасонографског налаза у другом триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса у односу на групу најчешћих хромозомских аномалија и групу трудноћа са нормалним кариотипом.

5. Постоји статистички значајно већа разлика ултрасонографског налаза од референтног опсега у трећем триместру код пренатално детектованих ретких хромозомских аномалија фетуса у односу на групу најчешћих хромозомских аномалија и групу трудноћа са нормалним кариотипом.

4 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

4.1 НАЧИН ИЗБОРА, ВЕЛИЧИНА И КОНСТРУКЦИЈА УЗОРКА

Спроведена је ретроспективно-проспективна студија. Методом случајног избора узорка од укупног броја прегледаних трудница у истраживање је било укључено 100 трудница са монофеталном трудноћом насталом природним путем које су биле упућене у Генетичко саветовалиште Службе за клиничку генетику Института за здравствену заштиту деце и омладине Војводине Нови Сад у периоду од 1. јануара 2010. године до 31. децембра 2019. године. Свим трудницама су пре укључивања у истраживање објашњени циљеви и методе истраживања те је учествовање у истраживању било могуће тек након што су пацијенткиње прочитале и добиле штампану информацију о истраживању и потписале сагласност за учествовање.

Испитивањем су обухваћене три групе испитаница:

- Прву групу је чинило 100 трудница код којих је цитогенетичком анализом плодове воде или крви из умбиликалне вене фетуса дијагностикована ретка хромозомска аномалија плода у коју спадају делеције, дупликације, ринг хромозоми, тризوميје осталих аутозомних хромозома као и мозаични и транслокацијски облик тризوميје хромозома 21, 13 и 18, маркер хромозоми, полиплоидије, небалансирани хромозомски реаранжмани, мозаичне форме и поремећаји броја полних хромозома (синдром Тарнер, синдром троструког X хромозома, Клинефелтеров синдром и синдром двоструког Y хромозома).

- Другу групу је чинило 100 трудница код којих је цитогенетичком анализом плодове воде или крви из умбиликалне вене фетуса дијагностикована нека од најчешћих хромозомских аномалија у које спадају класичне тризوميје хромозома 21, 13 и 18.

- Трећу групу је чинило 100 трудница са уредним налазом кариотипа плода.

Критеријуми за искључивање из студије су били спонтани побачај или „*fetus mortus in utero*“ пре планиране инвазивне пренаталне дијагностике,

утврђивање вишеплодне трудноће, дијагностиковање малигног обољења код труднице, те одустајање труднице од учествовања у истраживању.

4.2 МЕТОДЕ ПРИКУПЉАЊА ПОДАТАКА

Код свих испитаница претходно је обављен комплетан гинеколошки преглед као и комбиновани скрининг на хромозомопатије у примарној здравственој заштити након чега су упућене код гинеколога у Клинику за гинекологију и акушерство Клиничког центра Војводине као и код генетичара у Генетичко саветовалиште Службе за клиничку генетику Института за здравствену заштиту деце и омладине Војводине Нови Сад на даљу дијагностику те је непосредно по постављању индикације учињена инвазивна пренатална дијагностика. Индикација за инвазивну пренаталну дијагностику постављена је на основу абнормалног ултразвучног налаза (нухална траслуценција изнад 99. перцентила у односу на удаљеност теме–тртица), или комбинованог скрининга (ултразвучни и серумски маркери) с ризиком $\geq 1:50$, старост труднице (изнад 35 година); генетичко оптерећење у породици, наследна болест у породици; плод или рођено дете са мултиплим конгениталним аномалијама; присуство балансираног хромозомског реаранжмана (реципрочне транслокације, Робертсонове транслокације, инверзије) код једног од супружника.

Током овог истраживања свим испитаницама је урађена рана амниоцентеза и/или кордоцентеза, од 16 до 22 недеље трудноће и анализиран кариотип плода из узорака плодове воде или крви плода. Генетичка анализа кариотипа плода је извођена у цитогенетичкој лабораторији службе за медицинску генетику Института за здравствену заштиту деце и омладине Војводине Нови Сад.

Као извори података који су коришћени у истраживању су протоколи болесника, историје болести и здравствени картони Клинике за гинекологију и акушерство Клиничког центра Војводине Нови Сад и Института за здравствену заштиту деце и омладине Војводине Нови Сад. Анамнестички подаци пацијенткиња који су евалуирани током овог истраживања су: животна доб труднице као и гестацијска старост трудноће у тренутку инвазивног тестирања и

која је по реду актуелна трудноћа те резултати неинвазивног комбинованог (биохемијског и ултразвучног) скрининга хромозомопатија у првом триместру трудноће: вредности β -hCG из периферне крви труднице, вредност PAPP-A из периферне крви труднице, ултразвучно измерена вредност нухалне транслуценције. Од података о личној анамнези труднице, који би могли да имају утицај на трудноћу уврштена су обољења и компликације у току актуелне трудноће, постојање тежих хроничних системских болести труднице (дијабетес тип I, хронична хипертензија, кардиоваскуларна обољења, болести везивног ткива, хематолошка, неуролошка, психијатријска и друга), као и инфекције у трудноћи које би потенцијално могле проузроковати оштећење плода и угрозити ток трудноће (*Toxoplasmosis, Rubella, Varicella, HSV, HBV, CMV*, и друге).

Анамнестички подаци о претходним трудноћама који су од значаја за ово истраживање су: детектоване хромозомопатије у претходним трудноћама, претходни спонтани побачаји, превремени порођаји, претходна интраутерусна смрт плода и претходна смрт неонатуса.

4.3 МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

Код свих испитаница је обављен ултразвучни преглед и узет узорак серума за анализу биохемијских маркера, од 10+3 до 13+6 гестацијске недеље. Наведени ултразвучни прегледи обављени су од стране лекара специјалиста гинекологије и акушерства у установама које поседују лиценцу за коришћење специјализованог FMF-овог компјутерског програма за израчунавање индивидуалног ризика појаве тризомије 21, 18. и 13. помоћу биохемијских маркера: слободног β -hCG и PAPP-A и ултразвуком измерене дебљине нухалног набора (NT) у односу на размак теме-тртица (CRL).

Одређивање гестацијске старости врши се према измереној вредности CRL-а (од 38 мм до 84 мм) при чему се мерење дебљине нухалног набора изводи према стандардизираном протоколу FMF-а који као оптимално време за мерење нухалне транслуценције препоручује мерење при вредностима теме-тртица од 45 мм до 84 мм. Протоколом FMF-а се захтева мерење фетуса у сагиталном пресеку, са сликом на екрану која обухвата само главу и горњи део грудног

коша. Увећање је било максимално од 75% тако да мало померање калипера мења меру за само 0,1мм. Нухална транслуценција је мерена када је фетус у неутралном положају. Мерена је максимална дебљина поткожног расветљења између коже и поткожног ткива које се налази изнад цервикалног дела кичме. Калипери се постављају на линије које дефинишу набор, тако да се једва виде на белој граничној линији накупине иза врата.

Приликом мерења мора се обратити пажња на разликовање коже од амнионске мембране. Препоручују се најмање три мерења у времену од најмање 20 минута при чему се узима највећа измерена вредност. За сваку удаљеност теме–тртица утврђен је одговарајући распон величине нухалне транслуценције, а свака вредност нухалне транслуценције која одступа од медијане за одређену гестацијску старост представља одговарајуће повећање или смањење претходно израчунатог ризика од постојања абнормалности плода, с тим да је ризик већи што већа измерена вредност. Измерена нухална транслуценција се укалкулише у укупни ризик тако да се претходно утврђени ризик (мајчина доб и гестацијска старост) помножи са коефицијентом који зависи од измерене нухалне транслуценције и медијане за исту удаљеност теме–тртица.

Осим мерења *NT*, за израчунавање ризика од хромозомопатија, потребна је и детекција додатних ултразвучних маркера попут присуства носне кости, протока кроз дуктус венозус, трикуспидалне регургитације, фронтно-максиларног и мандибуломаксиларног угла.

Непосредно пре вађења узорка крви за анализу биохемијских маркера, свакој трудници је од стране надлежног гинеколога–акушера детаљно објашњен начин извођења, сврха теста и дата информација о времену потребном за добијање резултата. Информација се даје усмено као и путем писаног извештаја који представља обавезан информисани пристанак на поступак скрининга. Информисани пристанак обавезно мора бити оверен од стране лекара који је обавио ултразвучни преглед а који уноси измерене ултразвучне параметре као и личне податке труднице; старост, телесну тежину, број претходних трудноћа и порођаја, пушачки статус. Поред тога уносе се и подаци о начину заносења (спонтана или биомедицински потпомогнута оплодња), близаначкој трудноћи, постојању шећерне болести код труднице те евентуалном постојању хромозомопатија или малформација фетуса у ранијим трудноћама. Ултразвучно

измерене вредности *NT* и *CRL* валидне су искључиво уколико је преглед обављен унутар 48 сати у односу на узимање узорка крви.

Анализа биохемијских маркера је рађена у акредитованим лабораторијама. Код пацијенткиња је узорковано 5 до 10 милилитара крви добијене венепункцијом у нехепаринизирану епрувету и потом центрифугиране током 15 минута. Након сепарације серума, концентрације слободног β -*hCG* и *PAPP-A* одређивани су сетовима *Brahms Kriptor* на анализатору *Brahms Kriptor* (*Brahms Henningsford, Germany*), *Trace* технологијом која представља модификацију имунофлуорометријске методе. Измерене концентрације биомаркера су изражене у милиинтернационалним јединицама по милилитру (*mIU/mL*) а потом прерачунате у вредности у *MoM*-има. Концентрације биохемијских маркера прерачунавају су у *MoM* вредности према дневним регресијским медијанама за неугрожене трудноће у интервалу од 56 – 97 дана. У анализу ризика од хромозомопатија калкулишу се ултрасонографски налаз: дебљина нухалног набора (*NT*), вредности *CRL* (*crown rump length*, дужина теме–тртица), присуство носне кости, као и телесна тежина труднице, демографске карактеристике те пушачки статус. Овим путем добијамо извештај комбинованог скрининга првог триместра. Као стандардне референтне вредности нормалних налаза испитиваних биохемијских маркера првог триместра трудноће узимају се вредности од 0,5 до 1,8 *MoM*-а.

4.3.1 ЦИТОГЕНЕТИЧКА АНАЛИЗА ХРОМОЗОМА ФЕТУСА

Код свих испитаница извршена је цитогенетичка анализа класичном *Morheadovom* методом кариотипизације која је заснована на анализи препарата метафазних и прометафазних хромозома добијених из фибробласта амнионске течности или феталних лимфоцита.

Узорци ћелија за генетичке анализе су добијени инвазивним дијагностичким методама амниоцентезе или кордоцентезе на класичан начин, а одабир технике је зависио од гестацијске недеље у којој је трудница приступила генетичком саветовању. Сви поступци амниоцентезе и кордоцентезе спроведени су од стране специјалисте гинекологије и акушерства уз употребу ултразвука.

Испитивани узорци амнионске течности и ћелија амнионске течности добијени су амниоцентезом од трудница од 16. до 18. недеље гестацијске

старости. Узорци добијени амниоцентезом у количини од око 20 мл подељени су у две чисте епрувете по 10 мл и центрифугирани 20 минута на 1800 обртаја у минути. Након центрифугирања ћелијска суспензија се ресуспендује у 5 мл комплетног медијума за краткотрајно гајење култура ћелија амнионске течности (*Gibco, AmnioMAX - II Complete Medium*). Ћелијска суспензија се потом пребацује у фласк за културу ћелија T-25 и инкубира на +37 °C у влажној атмосфери са 5% CO₂ до постизања конфлуентности (14 дана) уз мењање медијума у култури ћелија на свака два дана.

Испитивани узорци феталне крви добијени су кордоцентезом од трудница од 20. до 22. недеље гестацијске старости. Узорци добијени кордоцентезом, у количини од око 5 мл крви у хепаринизованој епрувети се затим центрифугирају док се лимфоцити не издвоје у виду прстена изнад осталих наталожених крвних ћелија. Овакви лимфоцити се потом култивишу 72 ч. на +37 °C у Паркер медијуму (Торлак), са 20% феталног телећег серума (*Foetal bovine serum, Gibco*) и фитохемаглутинаина у концентрацији 10 µг/мл (*Phytohaemagglutinin, PAA*), који има митогену функцију.

Додавањем Колхоцина или Винбластина 1 сат пре препарације постиже се спречавање формирања деобног вретена чиме се митоза зауставља у метафази, када се хромозоми најбоље уочавају. Додавање хипотоног раствора изазива прскање ћелијске мембране и ослобађање хромозома, који се потом фиксирају и боје. Затим се направи размаз на плочици који се анализира под микроскопом при чему се анализира број, изглед и величина хромозома, као и присуство евентуалних структурних и нумеричких аномалија.

4.3.2 ПРИПРЕМА ПРЕПАРАТА КЛАСИЧНУ КАРИОТИПИЗАЦИЈУ

На предметна стакалца охлађена на 4 °C у дестилованој води, капне се 20-50 µл чисте суспензије лимфоцита и кап свеже припремљеног фиксатива од метанола (*Merck*) и сирћетне киселине (*Merck*), у односу 3:1. Предметна стакалца се потом оставе 24 сата у термостату на 70 °C.

4.3.3 Г-БЕНДИНГ ТЕХНИКА

Препарати охлађени до собне температуре урањају се у 0,25% раствор

трипсина/*PBS* (*Trypsin 250, Difco; PBS pufera, GIBCO*) у трајању од 5 – 15 секунди, након тога исперу се у *PBS* пуферу, те потом у фосфатном пуферу *pH* 6,88 (*Gurr Buffer Tablets, GIBCO*). Припремљени препарати се боје 5 – 10 мин са 2% раствором гимзе у фосфатном пуферу (0,9% KH_2PO_4 и 1,2% Na_2HPO_4 , *pH* 6,8), и исперу дестилованом водом. Цитогенетичком анализом анализирано је најмање 15 метафаза у две културе. Описивање кариотипа и дефинисање хромозомских аномалија вршено је по препорукама Међународног система номенклатуре за хуману цитогенетку из 2009. године (енгл. *ISCN – An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*) По *ISCN* препорукама, патолошки клон је дефинисан налазом најмање две ћелије са истом структурном аберацијом, односно тризомијом истог хромозома или налазом бар три метафазе са монозомијом истог хромозома.

4.4 МЕТОДЕ СТАТИСТИЧКЕ ОБРАДЕ ПОДАТАКА

Подаци прикупљени током истраживања, унесени су у базу података направљену посебно за потребе овог истраживања.

Подаци у овом истраживању су независног факторијалног дизајна, са неколико независних предиктора који су мерени у различитим групама испитаника.

Обрада података је обухватала методе описне (дескриптивне) и аналитичке (инференцијалне) статистике.

У склопу дескриптивне статистике израчунате су мере централне тенденције којима приказујемо центар учесталости у дистрибуцији (просечна вредност, мод и медијана), показатељи распршености података у дистрибуцији (опсег, квантили, интерквантилни опсег) и показатељи уклапања података у статистички модел (варијанса, стандардна девијација).

Просечна вредност је мера централне тенденције која представља количник збира свих вредности у посматраној групи и броја посматраних вредности у групи (*Формула 1*). Пошто је просечна вредност статистички модел који зависи од свих посматраних вредности, на њу утичу екстремне вредности те је њена употребна вредност у овом истраживању ограничена.

Формула 1
$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Мод је вредност која се најчешће понавља у посматраној групи. У групама у којима постоји више модова, у овом истраживању узета је вредност најнижег мода у групи.

Медијана је средишња вредност у групи вредности поређаних по величини. Пошто се у овом истраживању групе састоје од 100 испитаница, медијана је израчуната као аритметричка средина између 50. и 51. вредности у групи (односно 150. и 151. вредности у целом узорку од 300 испитаница). Код вредности које не прате нормалну дистрибуцију, медијана има много већи значај код поређења између група, а за разлику од просечне вредности на њу не утичу екстремне вредности у толикој мери.

Опсег је мера распршености података унутар групе која представља разлику између највеће и најмање вредности у групи, али пошто се рачуна из екстремних вредности и овај статистички модел има смањену употребну вредност у нашем истраживању.

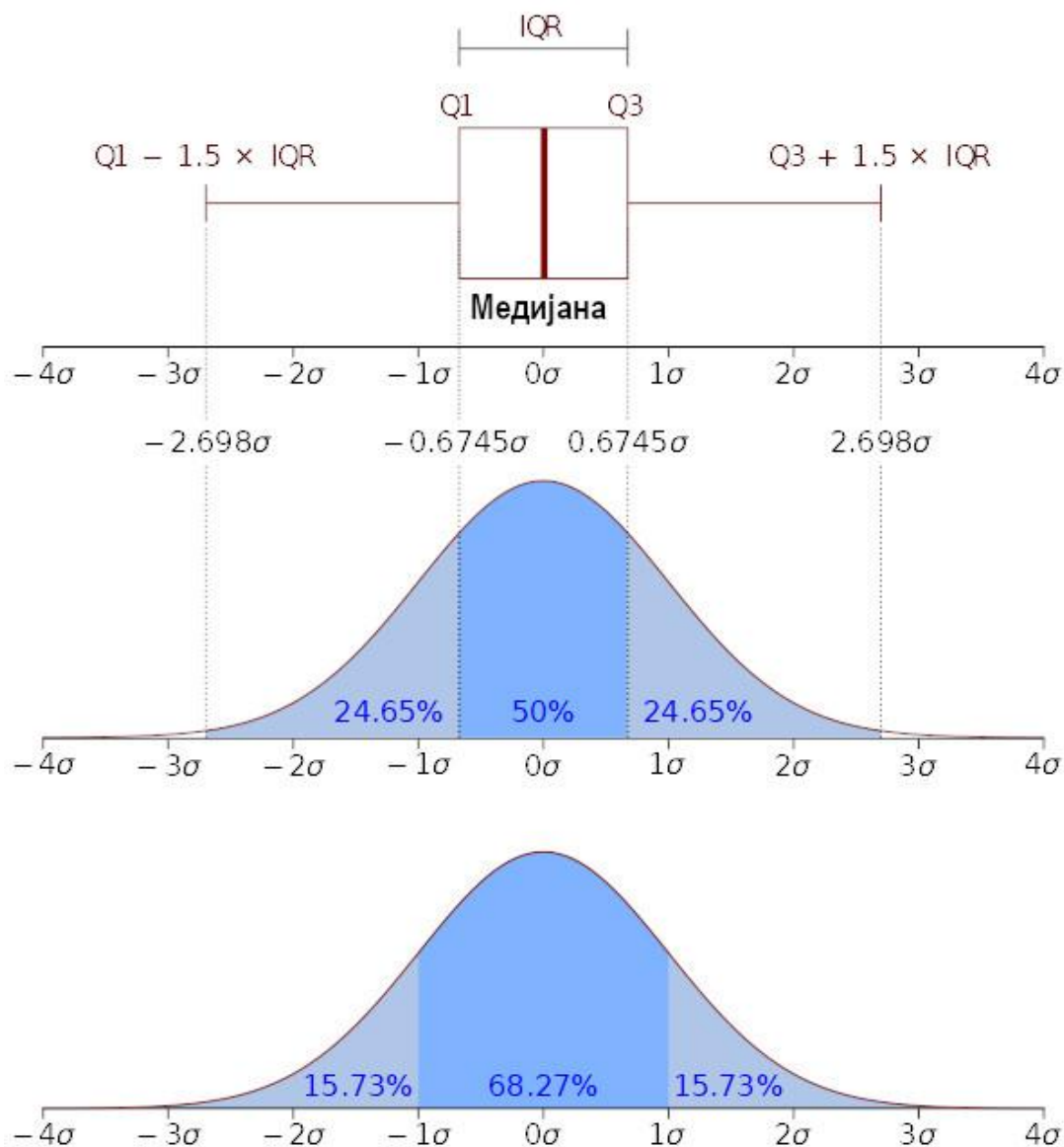
Квартили су вредности којима групу вредности делимо на четири једнака дела по учесталости. Други квартал (Q_2) представља медијана и она дели групу вредности на два дела – у делу испод медијане налази се 50% вредности из целе групе чија је величина мања од величине медијане. Први квартал (Q_1) и трећи квартал (Q_3) деле део групе испод, односно изнад медијане на два дела. У делу испод првог квартила налази се 25% вредности из целе групе чија је величина мања од величине првог квартила, док се у делу испод трећег квартила налази 75% вредности из целе групе чија је величина мања од величине трећег квартила.

Интерквартилни опсег (IQR) је разлика између вредности првог и трећег квартила. Код података који не прате нормалну дистрибуцију поређење интерквартилног опсега има највећи практични значај пошто занемарује екстремне вредности, али се притом из поређења искључује половина вредности у групи.

Екстремне вредности су вредности које се налазе на више од $1,5 \times IQR$ изнад трећег квартила односно испод првог квартила, и оне нису искључиване

из овог истраживања пошто је циљ истраживања специфичан и посматрају се ретке хромозомске аномалије већ су те вредности двостуко проверене како би се искључила могућност грешке приликом мерења или приликом уноса података, а затим је настављена статистичка анализа.

Графикон 4-1: Упоредни приказ дијаграма распршености и криве нормалне дистрибуције (140)



На графичком приказу (Графикон 4-1) види се однос квантила са интерквартилним опсегом и криве нормалне дистрибуције са стандардним девијацијама. Оквир интерквартилног опсега на дијаграму распршености обухвата средишњих 50% вредности, док краци дијаграма обухватају преостале вредности осим екстремних вредности.

Варијанса (σ^2) представља меру одступања посматраних вредности од

средње вредности и рачуна се као просечна вредност квадрата разлике између посматраних вредности и средње вредности (Формула 2). Пошто се за варијансу добија квадрат мерне јединице, приликом поређења користи се вредност стандардне девијације (σ), која представља квадратни корен вредности варијансе.

Формула 2

$$\sigma^2 = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$$

Како бисмо изабрали одговарајућу методу статистичке анализе морамо пре свега утврдити да ли се наши подаци могу окарактерисати као параметријски или не, односно да ли подаци прате одређени модел дистрибуције.

За тестирање одступања узорка од нормалне расподеле коришћени су Коломогоров-Смирновљев (*Kolmogorov-Smirnov*) и Шапиро-Вилков (*Shapiro-Wilk*) тест који пореде вредности узорка са скупом нормално распоређених података који има исту просечну вредност и стандардну девијацију. Статистичка значајност ових тестова ($p < 0.05$) указује на то да постоји значајна разлика између посматраног узорка и нормалне дистрибуције. Пошто су сви посматрани предиктори у овом истраживању показали статистички значајну вредност у најмање једној од посматраних група, чиме је доказано одступање од нормалне расподеле, за статистичку анализу користиће се непараметријске методе. Највероватнији узрок одступања од нормалне расподеле је одабир узорка, истраживање не посматра случајан узорак, већ је свака од посматраних пацијенткиња испунила барем један од критеријума за генетичко саветовање.

За тестирање статистичке значајности разлика коришћени су непараметријски тестови: Крускал-Валисов (*Kruskal-Wallis*) тест, а за пост хок тестирање Ман-Витнијев (*Mann-Whitney*) тест.

Код рачунања статистичке значајности, ниво поузданости постављен је на 95% и представљен је граничном вредношћу $p \leq 0,05$. Вредности мање или једнаке граничној, дају нам прихватљиву сигурност да одбацимо нулту хипотезу постављену пре извођења теста, која тврди да су све разлике у посматраним величинама између два узорка, резултат случајности. Одбацивањем нулте хипотезе, аутоматски прихватамо супротну хипотезу која тврди да су разлике

између посматраних величина, узроковане чиниоцем на основу којег смо поделили узорке у групе. Ту хипотезу није могуће доказати, пошто би за то било неопходно спровођење истраживања на целокупној популацији. У табеларним приказима података, p вредности које нису показале статистичку значајност означене су црвеном бојом док су статистички значајне p вредности приказане црном бојом.

Приликом тестирања хипотеза користили смо двостране тестове који утврђују само да ли постоји статистички значајна разлика али не и да ли су посматране вредности значајно веће односно мање. За двостране тестове смо се одлучили пошто су посматрани параметри такви да се разлика налази са обе стране дистрибуције.

Крускал-Валисов тест је непараметријски пандан АНОВА тесту. Тест се заснива на рангирању прикупљених података не обазујући се на групу у којој се подаци налазе, и рачунању статистичке значајности на основу збира нумеричких вредности датих рангова у свакој групи понаособ. Вредност теста (H) рачуна се на основу збира рангова у свакој групи (R_i), величине укупног узорка (N) и величине сваке посматране групе (n_i).

Формула 3

$$H = \frac{12}{N(N-1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

За израчунавање p вредности примењене су две методе: асимптотична и Монте Карло процена. Асимптотична метода се заснива на асимптотичној дистрибуцији података, али може да буде непоуздана уколико дистрибуција података није правилна. Са друге стране, Монте Карло процена је непристрасна процена тачног нивоа значајности која са рачуна понављаним узорковањем одређеног броја података из референтних модела истих димензија, за разлику од асимптотичне методе не захтева да буду испуњене претпоставке о моделу података те је у нашем истраживању много практичнија.

Уз резултате Крускал-Валисовог теста приказане су и границе интервала поузданости од 99%. Вредности ових граница које су мање од 0,05 говоре нам да постоји вероватноћа од 99% да је израчуната p вредност у поузданом интервалу статистичке значајности.

Пошто из вредности Крускал-Валисовог теста можемо само да закључимо да ли постоји статистички значајна разлика или не, а не можемо да утврдимо где тачно лежи та разлика, спроводили смо пост хок тестирање за оне параметре у којима је разлика статистички значајна. За пост хок тестирање Крускал-Валисовог теста коришћени су Ман-Витнијеви тестови између појединачних група. Урађена су три теста у којима су поређене: група I са групом II, група I са групом III и група II са групом III.

Резултат Ман-Витнијевог теста рачуна се на сличан начин као и код Крускал-Валисовог теста (Формула 4), рангирањем прикупљених вредности, не обазирјући се на групу у којој се подаци налазе, с тим да се овде пореде само две групе.

Формула 4
$$U = n_1 n_2 + \frac{N_1(N_1 + 1)}{2} - R_1$$

Пошто би коришћење већег броја независних Ман-Витнијевих тестова довело до пораста могућности грешке типа 1 односно нетачног одбацивања нулте хипотезе са прихватљивих 5% на 14,3% $(1-(0.95)^3)$, примењена је Бонферонијева (*Bonferroni*) корекција при којој је за критичну вредност, уместо 0,05 узето 0,0167 (0,05/3).

Пост хок тестирање спроведено је и између групе трудноћа са нормалним кариотипом (група III) и сваке од подгрупа групе трудноћа где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса (група I). Пошто је рађено укупно 5 Ман-Витнијевих тестова примењена је Бонферонијева корекција при којој је за критичну вредност, уместо 0,05 узето 0,01 (0,05/5).

Z вредност у Ман-Витнијевом тесту (Формула 5) рачуна се као количник разлике најнижег збира рангова (W_s) и средње вредности (\bar{W}_s) са стандардном грешком теста ($SE_{\bar{W}_s}$) и оне нам служе да поредимо резултате са нормалном дистрибуцијом показујући колико је вредност теста удаљена од средње вредности.

Формула 5
$$Z = \frac{W_s - \bar{W}_s}{SE_{\bar{W}_s}}$$

За мерење величине ефекта узели смо Z вредност из Ман Витнијевих тестова и претворили је у процену величине ефекта r (Формула 6). Вредности

величине ефекта веће од 0,5 сматрају се великом величином ефекта, вредности у распону од 0,3 до 0,5 и представљају средњу величину ефекта, док се вредности испод 0,3 сматрају малом величином ефекта.

Формула 6
$$r = \frac{Z}{\sqrt{N}}$$

Статистичка анализа података рађена је помоћу програма *IBM SPSS Statistics 25.0*. Израда табеларних прорачуна и Графикана, као и израда целокупног рада и његова припрема за штампање рађени су у програмском пакету *Microsoft Office Enterprise 2007* (односно његовим деловима *Word* и *Excel*).

5 РЕЗУЛТАТИ

Овим истраживањем испитане су разлике између резултата неинвазивног пренаталног скрининга код трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) у односу на групу трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III). Испитиван узорак чинило је укупно 300 трудница, по 100 у свакој од посматраних група.

Како бисмо детаљније испитали статистичку значајност у разлици између посматраних параметара код различитих врста ретких хромозомских аномалија спроведено је и додатно тестирање у којем смо групу трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) поделили на пет подгрупа: мозаицизми, монозомије, небалансиране / *de novo* транслокације, остале структурне аномалије и остале нумеричке аномалије, а групу трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) на три подгрупе: тризомија 21, тризомија 13 и тризомија 18 а затим су испитиване разлике између свих подгрупа и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III).

Приказани су резултати који се односе на старост трудница, гестацијску старост у којој су се труднице јавиле у генетско саветовалиште, приказан је број претходних трудноћа, ултразвучни налази првог триместра, ултразвучни налази другог триместра, биохемијски маркери скрининга на хромозомопатије у првом и другом триместру и анализа индикација за извођење инвазивне пренаталне дијагностике.

Један од најважнијих аспеката истраживања представља анализа индикација за извођење инвазивних захвата. Индикације су анализирание тако да су испитиване за сваку од три групе трудница посебно, а саме индикације биле су подељене у шест категорија. Прву групу индикација су чинили високоризични налази биохемијских маркера скрининга првог триместра. Другу групу индикација представљају ултразвучни налази првог триместра - повећање нухалног набора, одсутност носне кости. Трећу групу су чинили ултразвучни налази другог триместра - срчане мане, аномалије централног нервног система,

аномалије гастроинтестиналног тракта и дефекти трбушног зида, аномалије урогениталног тракта, расцепи усне или непца, поремећаји скелета, интраутерина рестрикција у расту плода, поремећаји у количини плодове воде (олигоамнион или полихидрамнион) и остало. Четврта група индикација била је доб труднице од 35 година или више. Пету групу чиниле труднице са постојањем хромозомопатије у породичној анамнези и родитељ носитељ балансиране транслокације. Шесту групу чиниле су све остале индикације - претходне трудноће са неповољним исходима.

5.1 ДЕМОГРАФСКИ ПОДАЦИ

5.1.1 СТАРОСНА СТРУКТУРА ТРУДНИЦА

Просечна старост испитаница у истраживању је 32,5 година. Најмлађа трудница је имала 17, а најстарија 45 година. Резултати добијени у овом истраживању (Табела 5-1) указују да постоји широк распон животне доби испитиваних трудница у свим испитиваним групама. С обзиром на описану појаву учесталог рађања деце с хромозомопатијама код трудница млађих од 35 година у периоду када је трудничина доб била једини критеријум за спровођење инвазивне дијагностике, овако широк распон година показује да су укључивањем у скрининг млађе жене добиле могућност за пренаталну дијагностику хромозомских аномалија фетуса инвазивним методама пренаталне дијагностике.

Табела 5-1: Вредности статистичких модела у поређењу старости труднице (изражен у годинама) у укупном узорку и по групама.

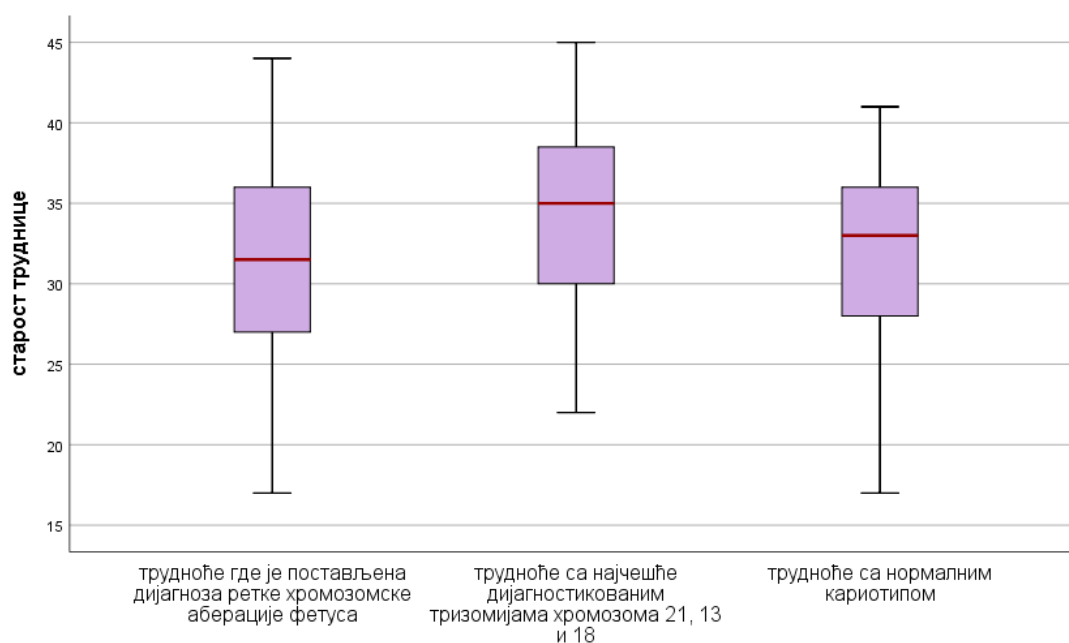
параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	300	100	100	100
просечна вредност	32,5	31,4	34,4	31,8
медијана	33,0	31,5	35,0	33,0
мод	36	27	37	36
стандардна девијација	5,86	6,21	5,54	5,39
варијанса	34,28	38,53	30,64	29,02
опсег	28	27	23	24
најмања вредност	17	17	22	17
највећа вредност	45	44	45	41

Највећа просечна вредност старости труднице (34,4 године) присутна је у

групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), а у овој групи су и најмлађа (22 године) и најстарија трудница (45 година) у групи старије од најмлађих и најстаријих трудница у осталим групама трудница (Табела 5-1).

Највећа вредност медијане (35,0 година) присутна је у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – група II, док највећи опсег забележених вредности има група трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода – група I (Графикон 5-1)

Графикон 5-1: Дијаграм распршености вредности параметра старост труднице (изражен у годинама) у свакој од посматраних група.

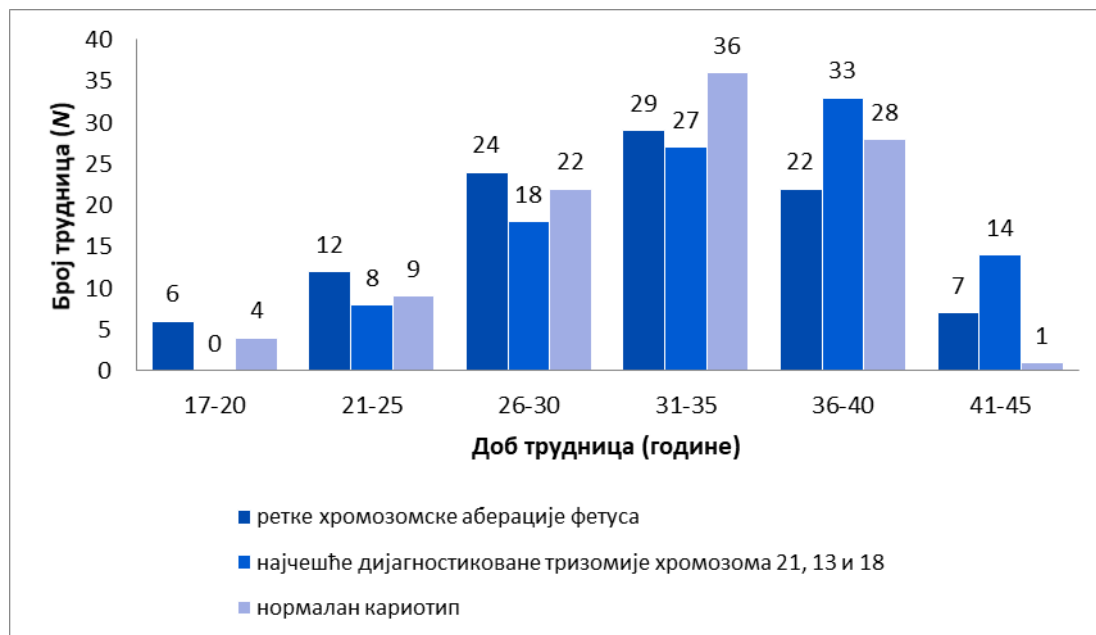


Највећи број трудница био је старости 31 – 35 година у групи трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III) док је у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), највећи број трудница био старости 36 – 40 година (Графикон 5-2).

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-2) за процену значајности разлике између група $H(2)=14,056$ утврђена је вредност статистичке значајности $p < 0,05$. Постоји статистички значајна разлика у годинама старости

трудница између посматраних група трудница.

Графикон 5-2: Дистрибуција доби трудница



Табела 5-2: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра старости труднице између све три групе трудница

вредност <i>Kruskal-Wallis</i> теста	$H=14,056$
асимптотична значајност	$p=0,001$
Монте Карло процена значајности	$p=0,001$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,002

Табела 5-3: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра старости труднице између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=3645,5$
	Z вредност	$Z=-3,314$
	асимптотична значајност	$p=0,001$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,001$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=4802$
	Z вредност	$Z=-0,485$
	асимптотична значајност	$p=0,628$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,632$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=3716,5$
	Z вредност	$Z=-3,141$
	асимптотична значајност	$p=0,002$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,002$

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-3) показују да постоји статистички значајна разлика у старости трудница између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) $\{U=3645,5; r=-0,33\}$, као и између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=3716,5; r=-0,31\}$. У вредностима између групе I и групе III не постоји статистички значајна разлика $\{U=4802; r=-0,05\}$.

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-4) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=20,360$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у годинама старости трудница између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

Табела 5-4: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра старости труднице између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=20,360$
асимптотична значајност	$p=0,009$
Монте Карло процена значајности	$p=0,007$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,005
горња граница интервала поузданости од 99%	0,009

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,01. Резултати теста (Табела 5-5) показују да не постоји статистички значајна разлика у старости трудница између групе III и подгрупе мозаицизама $\{U=2702,5; r=-0,02\}$, између групе III и подгрупе монозомија $\{U=484; r=-0,2\}$, између групе III и подгрупе небалансираних / *de novo* транслокација $\{U=417; r=-0,27\}$, између групе III и подгрупе осталих структурних аномалија $\{U=693,5; r=-0,02\}$ као ни између групе III и подгрупе осталих нумеричких аномалија $\{U=410; r=-0,30\}$. Овакви резултати наводе на претпоставку да статистички значајна разлика утврђена Крускал-Валисовим тестом лежи у подгрупама групе трудница са дијагностикованим најчешћим

тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) које нису обухваћене пот хок тестирањем или међусобном односу између подгрупа.

Табела 5-5: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра старости труднице између подгрупа хромозомских аномалија плода у склопу пост хок тестирања

подгрупа поређена са групом III	тест	резултат
Мозаицизми	вредност Mann-Whitney теста	$U=2702,5$
	Z вредност	$Z=-0,178$
	асимптотична значајност	$p=0,859$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,856$
Монозомије	вредност Mann-Whitney теста	$U=484$
	Z вредност	$Z=-0,653$
	асимптотична значајност	$p=0,514$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,536$
Небалансиране / <i>de novo</i> транслокације	вредност Mann-Whitney теста	$U=417$
	Z вредност	$Z=-0,865$
	асимптотична значајност	$p=0,387$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,395$
Остале структурне аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=693,5$
	Z вредност	$Z=-0,056$
	асимптотична значајност	$p=0,955$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,956$
Остале нумеричке аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=410$
	Z вредност	$Z=-0,938$
	асимптотична значајност	$p=0,348$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,356$

5.1.2 СТРУКТУРА ТРУДНОЋА ПРЕМА ГЕСТАЦИЈСКОЈ СТАРОСТИ

Значајно већи број трудница (Табела 5-6) се у генетичко саветовалиште јавио при старости трудноће од 17. гестацијске недеље што је очекиван резултат имајући у виду да иако се током последње деценије дијагностика хромозомских аномалија настоји помакнути са другог на први триместар узрок оваквог резултата лежи у организацијском оквиру здравствених служби, будући да је код већине трудница суспектан ултразвучни налаз или налаз скрининга уочен у примарној здравственој заштити при гестацијској старости од 11. до 13+6 гестацијске недеље, након чега су упућене у терцијални здравствени центар на

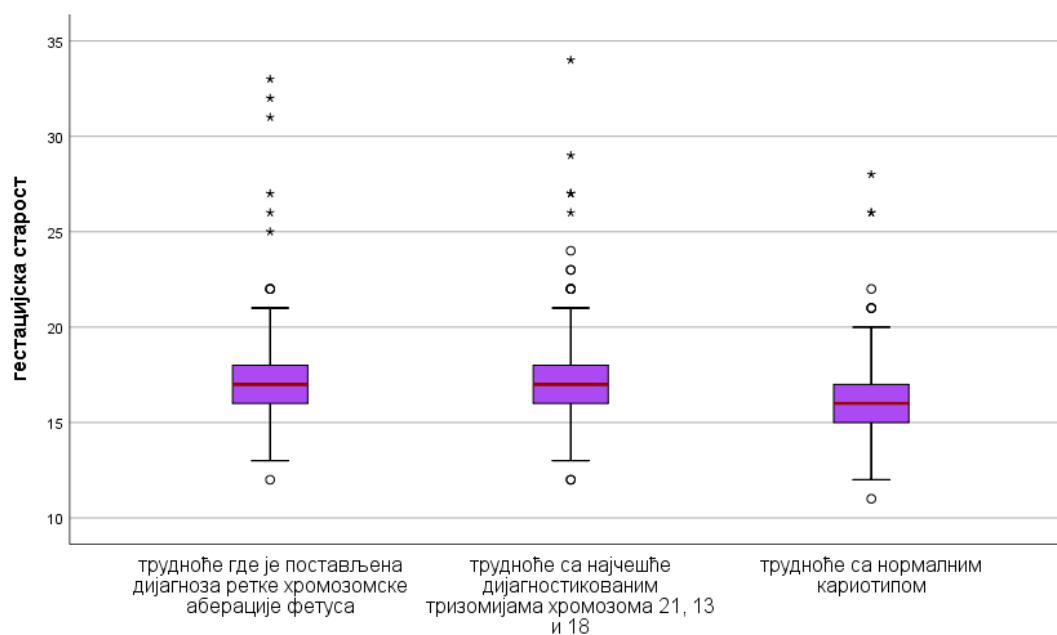
даљу дијагностику.

У свим групама присутан је велик број екстремних вредности што показује да је велики број трудница дошао у генетичко саветовалиште у каснијој трудноћи, али је у групи трудноћа са нормалним кариотипом плода (група III) тај број мањи него у осталим групама. Интерквартилни опсези су подједнаки у свим посматраним групама. Нешто мања вредност медијане као и мањи опсег присутна је такође у групи III (*Графикон 5-3*).

Табела 5-6: Вредности статистичких модела у поређењу гестацијске старости (изражене у недељама) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	300	100	100	100
просечна вредност	17,2	17,8	17,6	16,2
медијана	17	17	17	16
мод	17	17	17	15
стандардна девијација	3,31	3,40	3,59	2,68
варијанса	10,97	11,53	12,91	7,19
опсег	23	21	22	17
најмања вредност	11	12	12	11
највећа вредност	34	33	34	28
1. квартил	16	16	16	15
2. квартил	17	17	17	16
3. квартил	18	18	18	17

Графикон 5-3: Дијаграм распршености вредности параметра гестацијске старости (изражене у недељама) у свакој од посматраних група.



Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-7) за процену значајности разлике између група $H(2)=29,545$ утврђена је вредност статистичке значајности $p < 0,05$. Постоји статистички значајна разлика у гестацијској старости између посматраних група трудница.

Табела 5-7: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра гестацијске старости између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=29,545$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Табела 5-8: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра гестацијске старости између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I-II	вредност Mann-Whitney теста	$U=4592,5$
	Z вредност	$Z=-1,020$
	асимптотична значајност	$p=0,308$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,306$
I-III	вредност Mann-Whitney теста	$U=2864,0$
	Z вредност	$Z=-5,313$
	асимптотична значајност	$p=0,000$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
II-III	вредност Mann-Whitney теста	$U=3438,0$
	Z вредност	$Z=-3,869$
	асимптотична значајност	$p=0,000$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-8) показују да постоји статистички значајна разлика у гестацијској старости између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=2864,0; r=-0,53\}$, као и између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=3438,0; r=-0,39\}$. У вредностима између групе I и групе II не постоји статистички значајна разлика $\{U=4592,5;$

$r=-0,1$ }.

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-9) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=38,984$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у гестацијској старости између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

Табела 5-9: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра гестацијске старости између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=38,984$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Табела 5-10: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра гестацијске старости између подгрупа хромозомских аномалија плода у склопу пост хок тестирања

подгрупа поређена са групом III	тест	резултат
Мозаицизми	вредност Mann-Whitney теста	$U=1506$
	Z вредност	$Z=-4,728$
	асимптотична значајност	$p=0,000$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
Монозомије	вредност Mann-Whitney теста	$U=468$
	Z вредност	$Z=-0,823$
	асимптотична значајност	$p=0,411$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,413$
Небалансиране / de novo транслокације	вредност Mann-Whitney теста	$U=346$
	Z вредност	$Z=-1,628$
	асимптотична значајност	$p=0,104$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,105$
Остале структурне аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=318,5$
	Z вредност	$Z=-3,344$
	асимптотична значајност	$p=0,001$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
Остале нумеричке аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=225,5$
	Z вредност	$Z=-2,899$
	асимптотична значајност	$p=0,004$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,004$

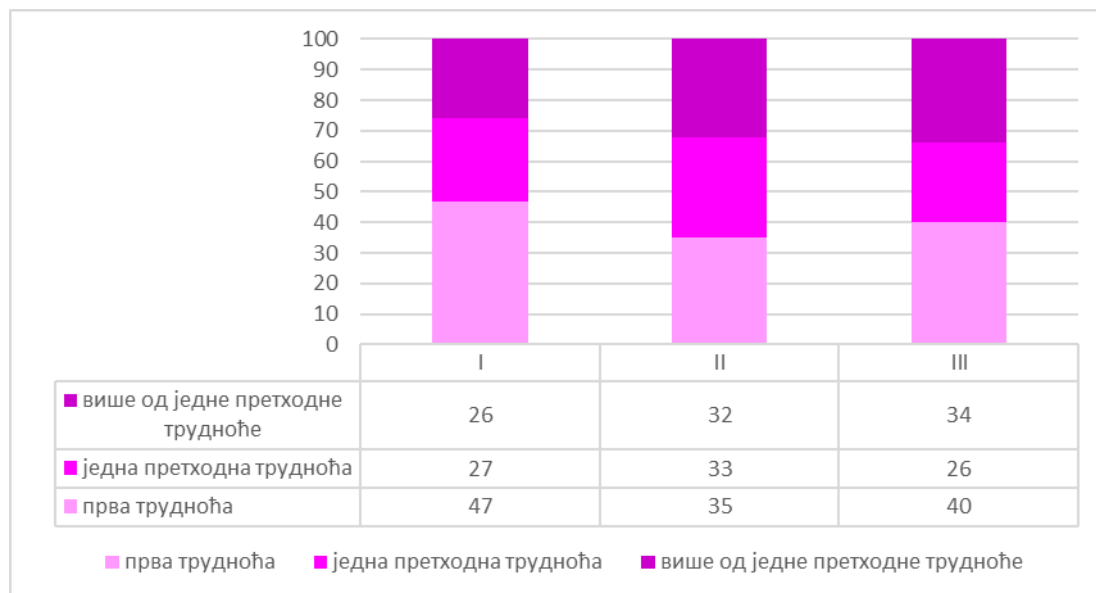
Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај

результат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,01. Резултати теста (Табела 5-10) показују да постоји статистички значајна разлика у гестацијској старости између групе III и подгрупе мозаицизама $\{U=1506; r=-0,64\}$, између групе III и подгрупе осталих структурних аномалија $\{U=318,5; r=-0,89\}$ као и између групе III и подгрупе осталих нумеричких аномалија $\{U=225,5; r=-0,92\}$, док не постоји статистички значајна разлика између групе III и подгрупе монозомија $\{U=468; r=-0,25\}$ нити између групе III и подгрупе небалансираних / *de novo* транслокација $\{U=346; r=-0,51\}$.

5.1.3 СТРУКТУРА ТРУДНИЦА ПРЕМА БРОЈУ ПРЕТХОДНИХ ТРУДНОЋА

У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода најчешће су биле труднице у првој трудноћи (47%), затим труднице са једном претходном трудноћом (27%), док је 26% чинило труднице које су имале више од једне претходне трудноће (Графикон 5-4).

Графикон 5-4: Расподела пацијенткиња према броју претходних трудноћа по групама



У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода труднице најчешће су биле труднице у првој трудноћи (35%), затим труднице са једном претходном трудноћом (33%), док је 32% чинило труднице које су имале више од једне претходне трудноће (Графикон 5-4).

У групи трудница са нормалним кариотипом плода најчешће су биле труднице у првој трудноћи (40%), затим труднице које су имале више од једне претходне трудноће (34%), док је 26% чинило труднице са једном претходном трудноћом (Графикон 5-4).

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-11) за процену значајности разлике између група $H(2)=2,544$ утврђена је вредност статистичке значајности $p>0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у броју претходних трудноћа између посматраних група трудница.

Табела 5-11: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра паритета између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=2,544$
асимптотична значајност	$p=0,280$
Монте Карло процена значајности	$p=0,278$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,267
горња граница интервала поузданости од 99%	0,290

С обзиром на то да није утврђена статистички значајна разлика Крускал-Валисовим тестом, није спровођено пост хок тестирање за параметар броја претходних трудноћа.

Број претходних трудноћа није имао значајну улогу у појави како ретких, тако ни честих хромозомских аномалија.

Утврђивана је и разлика у вредностима β -hCG, PAPP-A и нухалне транслуценције у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода у односу на број претходних трудноћа, поделивши труднице у три подгрупе труднице у првој трудноћи, труднице са једном претходном трудноћом и труднице које су имале више од једне претходне трудноће.

Табела 5-12: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра β -hCG између подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=2,316$
асимптотична значајност	$p=0,314$
Монте Карло процена значајности	$p=0,310$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,298
горња граница интервала поузданости од 99%	0,322

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-12) за процену значајности разлике између подгрупа $H(2)=2,316$ утврђена је вредност

статистичке значајности $p > 0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима β -hCG између посматраних подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-13) за процену значајности разлике између подгрупа $H(2)=1,789$ утврђена је вредност статистичке значајности $p > 0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима PAPP-A између посматраних подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

Табела 5-13: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра PAPP-A између подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=1,789$
асимптотична значајност	$p=0,409$
Монте Карло процена значајности	$p=0,413$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,400
горња граница интервала поузданости од 99%	0,426

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-14) за процену значајности разлике између подгрупа $H(2)=1,153$ утврђена је вредност статистичке значајности $p > 0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима нухалне транслуценције између посматраних подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

Табела 5-14: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра нухалне транслуценције између подгрупа трудница у групи I по броју претходних трудноћа.

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=1,153$
асимптотична значајност	$p=0,562$
Монте Карло процена значајности	$p=0,560$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,547
горња граница интервала поузданости од 99%	0,573

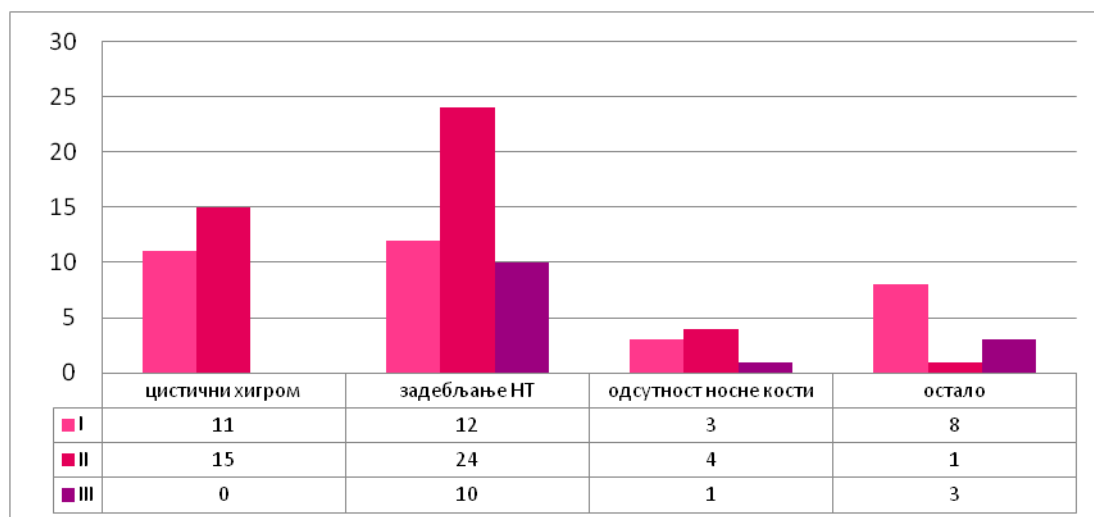
5.1 УЛТРАЗВУЧНИ НАЛАЗИ ПРВОГ ТРИМЕСТРА

Детектовани ултразвучни маркери хромозомопатија првог триместра су: цистични хигром, задебљање нухалне транслуценције и одсутност носне кости.

Ултразвучни маркери хромозомских аномалија првог триместра (Графикон 5-5) детектовани су код укупно 92 труднице ($N=92/300$; 30,7%) и то 34 у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода ($N=34/100$;

34%), 44 у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода ($N=44/100$; 44%) и 14 у групи трудница са нормалним кариотипом плода ($N=14/100$; 14%). Најчешће је детектовано задебљање нухалне транслуценције – код 12 трудница у I групи ($N=12/100$; 12%), 24 труднице у II групи ($N=24/100$; 24%) и 10 трудница у III групи ($N=10/100$; 10%). Цистични хигром детектован је код 11 трудница у I групи ($N=11/100$; 11%), 15 трудница у II групи ($N=15/100$; 15%), док у III групи није детектован ниједан случај цистичног хигрома. Одсуство носне кости детектовано је код 3 труднице у I групи ($N=3/100$; 3%), 4 труднице у II групи ($N=4/100$; 4%) и код 1 труднице у III групи. ($N=1/100$; 1%).

Графикон 5-5: Број патолошких налаза приликом ултразвучних прегледа у току другог триместра, по групама



Праћење протока кроз дуктус венозус и трикуспидалну валвулу, као и мерење фронтмаксиларног и мандибуломаксиларног угла као додатних ултразвучних маркера није вршено током овог истраживања будући да код великог броја гинеколога још увек није прихваћен као део стандардног ултразвучног скрининга првог триместра.

5.1.1 НУХАЛНА ТРАНСЛУЦЕНЦИЈА

Веће просечне вредности нухалне транслуценције (Табела 5-15) присутне су у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,81 мм), као и у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (1,86 мм) у односу групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,26 мм). У групи трудница са ретким

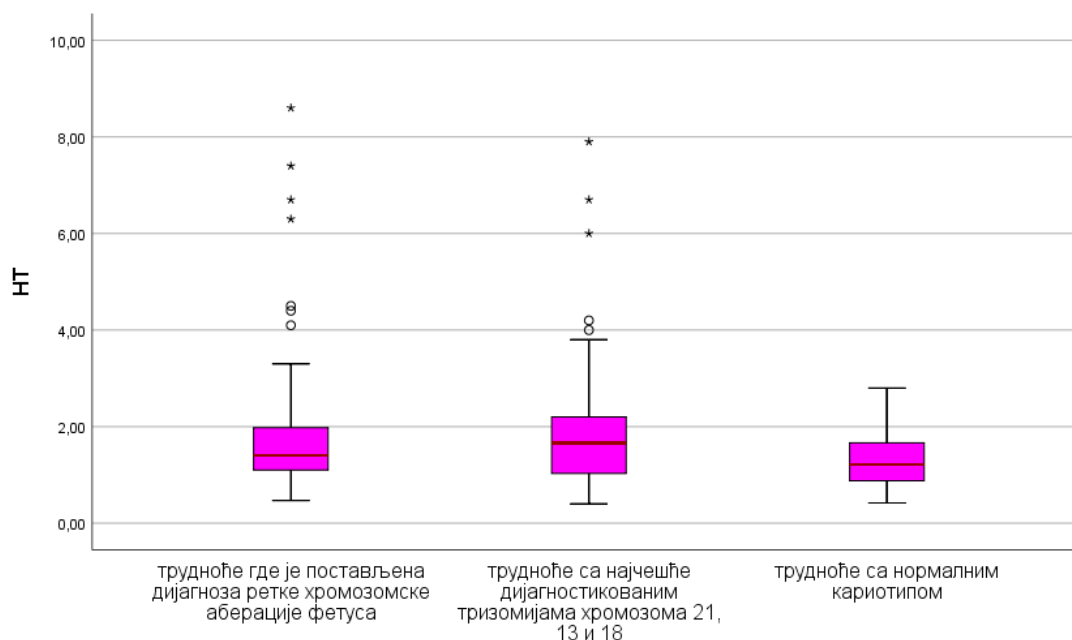
хромозомским аномалијама плода – I група забележен је највећи опсег вредности (0,47 – 8,60) као и веће просечне вредности.

У групи III нису забележене екстремне вредности. Опсег без екстремних вредности и интерквартилни опсег су највећи у групи II (Графикон 5-6).

Табела 5-15: Вредности статистичких модела у поређењу параметра нухалне транслуценције (изражене у мм) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	300	100	100	100
просечна вредност	1,65	1,81	1,86	1,26
медијана	1,40	1,41	1,66	1,22
мод	1,30	1,30	3,20	0,88
стандардна девијација	1,14	1,36	1,24	0,55
варијанса	1,30	1,86	1,54	0,30
опсег	8,20	8,13	7,50	2,38
најмања вредност	0,40	0,47	0,40	0,42
највећа вредност	8,60	8,60	7,90	2,80
25. перцентил	1,00	1,10	1,03	0,88
50. перцентил	1,40	1,41	1,66	1,22
75. перцентил	1,92	1,99	2,20	1,67

Графикон 5-6: дијаграм распршености вредности параметра нухалне транслуценције у свакој од посматраних група



Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-16) за процену значајности разлике између група $H(2)=17,435$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима

нухалне транслуценције између посматраних група трудница.

Табела 5-16: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра нухалне транслуценције између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=17,435$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Табела 5-17: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра нухалне транслуценције између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=4695,5$
	Z вредност	$Z=-0,744$
	асимптотична значајност	$p=0,457$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,449$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=3672,5$
	Z вредност	$Z=-3,244$
	асимптотична значајност	$p=0,001$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,001$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=3413$
	Z вредност	$Z=-3,878$
	асимптотична значајност	$p=0,000$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-17) показују да постоји статистички значајна разлика у вредностима нухалне транслуценције између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=3672,5; r=-0,32\}$, као и између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=3413; r=-0,39\}$. У вредностима између групе I и групе II не постоји статистички значајна разлика $\{U=4695,5; r=-0,07\}$.

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-18) за процену

значајности разлике између подгрупа $H(8)=24,890$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима нухалне транслуценције између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

Табела 5-18: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра нухалне транслуценције између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=24,890$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Табела 5-19: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра нухалне транслуценције између подгрупа хромозомских аномалија плода у склопу пост хок тестирања

подгрупа поређена са групом III	тест	резултат
Мозаицизми	вредност Mann-Whitney теста	$U=2258,5$
	Z вредност	$Z=-1,838$
	асимптотична значајност	$p=0,066$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,063$
Монозомије	вредност Mann-Whitney теста	$U=247,5$
	Z вредност	$Z=-2,986$
	асимптотична значајност	$p=0,003$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,002$
Небалансиране / <i>de novo</i> транслокације	вредност Mann-Whitney теста	$U=326$
	Z вредност	$Z=-1,809$
	асимптотична значајност	$p=0,07$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,067$
Остале структурне аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=573,5$
	Z вредност	$Z=-1,092$
	асимптотична значајност	$p=0,275$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,283$
Остале нумеричке аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=267$
	Z вредност	$Z=-2,423$
	асимптотична значајност	$p=0,015$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,015$

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,01. Резултати теста (Табела 5-19) показују

да не постоји статистички значајна разлика у вредностима нухалне транслуценције између групе III и подгрупе мозаицизама $\{U=2258,5; r=-0,25\}$, између групе III и подгрупе небалансираних/*de novo* транслокација $\{U=326; r=-0,57\}$, између групе III и подгрупе осталих структурних аномалија $\{U=573,5; r=-0,29\}$ као ни између групе III и подгрупе осталих нумеричких аномалија $\{U=267; r=-0,77\}$. Статистички значајна разлика утврђена је једино између групе III и подгрупе монозомија $\{U=247,5; r=-0,90\}$.

5.2 УЛТРАЗВУЧНИ НАЛАЗИ ДРУГОГ ТРИМЕСТРА

Детектовани ултразвучни маркери хромозомопатија другог триместра подељени су у следеће групе:

- Аномалије централног нервног система (вентрикуломегалија, хидроцефалус, краниоспиналне аномалије, аномалије задње лобањске јаме, цисте хориоидног плексуса)

- Аномалије лица (назална хипоплазија, расцеп усне и непца, микрогнатија, хипотелоризам, хипертелоризам, дефекти ушне шкољке)

- Аномалије кардиоваскуларног система (АСД, ВСД, остале аномалије срца и великих крвних судова, хиперехогени фокус срца)

- Мишићно-скелетне аномалије тупа и удова (аномалије шака и стопала, скраћене једне или више дуге кости)

- Аномалије урогениталног тракта (диспластична болест бубрега, ренална агенеза, хидронефроза, пијелектазија)

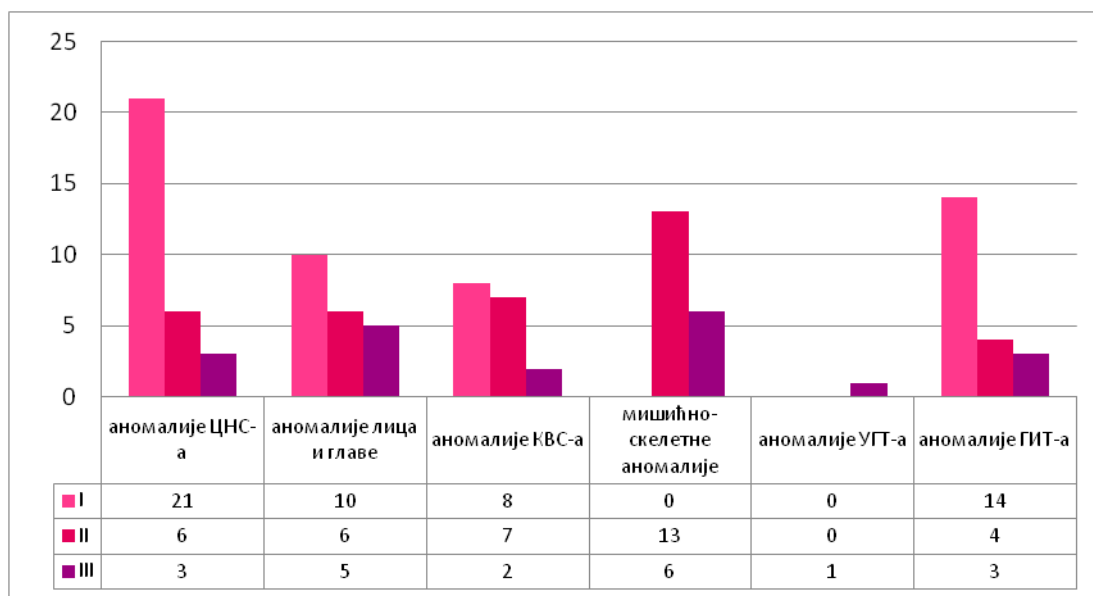
- Аномалије гастроинтестиналног тракта (езофагеална атрезија, дуоденална атрезија, дијафрагмална хернија, омфалокела, хиперехогена црева)

Ултразвучни маркери хромозомских аномалија другог триместра (*Графикон 5-7*) детектовани су код укупно 80 трудница ($N=80/300$; 26,7%) и то 36 у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода ($N=36/100$; 36%), 24 у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода ($N=24/100$; 24%) и 20 у групи трудница са нормалним кариотипом плода ($N=20/100$; 14%).

У групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском

аномалијом плода (група I) најчешће су детектоване аномалије централног нервног система ($N=21/100$; 21%), затим аномалије гастроинтестиналног тракта ($N=14/100$; 14%) и аномалије лица и главе ($N=10/100$; 10%). Није детектован ниједан ултразвучни маркер хромозомских аномалија из групе мишићно-скелетних аномалије трупа и удова и аномалија урогениталног тракта. У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије трупа и удова ($N=13/100$; 13%) и аномалије кардиоваскуларног система ($N=7/100$; 7%). Није детектован ниједан ултразвучни маркер хромозомских аномалија из групе аномалија урогениталног тракта. У групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III) најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије трупа и удова ($N=6/100$; 6%) и аномалије лица и главе ($N=5/100$; 5%).

Графикон 5-7: Број патолошких налаза приликом ултразвучних прегледа у току другог триместра, по групама



У групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода (група I) код 22 жене је детектован један ултразвучни маркер хромозомских аномалија ($N=22/100$; 22%), код 11 жена су детектована два ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=11/100$; 11%) док су код 3 жене детектована три ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=3/100$; 3%). У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 (група II) код 21 жене је детектован један ултразвучни маркер хромозомских аномалија ($N=21/100$; 21%), код 4 жене су детектована два

ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=4/100$; 4%) док су код 1 жене детектована три ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=1/100$; 1%). Код трудница са нормалним кариотипом плода (група III) није нађен ниједан случај са два или више више ултразвучних маркера хромозомских аномалија.

5.3 БИОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ СКРИНИНГА НА ХРОМОЗОМОПАТИЈЕ У ПРВОМ ТРИМЕСТРУ

Значајан део студије представља анализу вредности појединачних биохемијских и ултразвучних параметара скрининга на хромозомопатије првог триместра као и њихову међусобну корелацију али и корелацију са анамнестичким подацима трудница у циљу процене ризика од хромозомопатија.

5.3.1 β -hCG

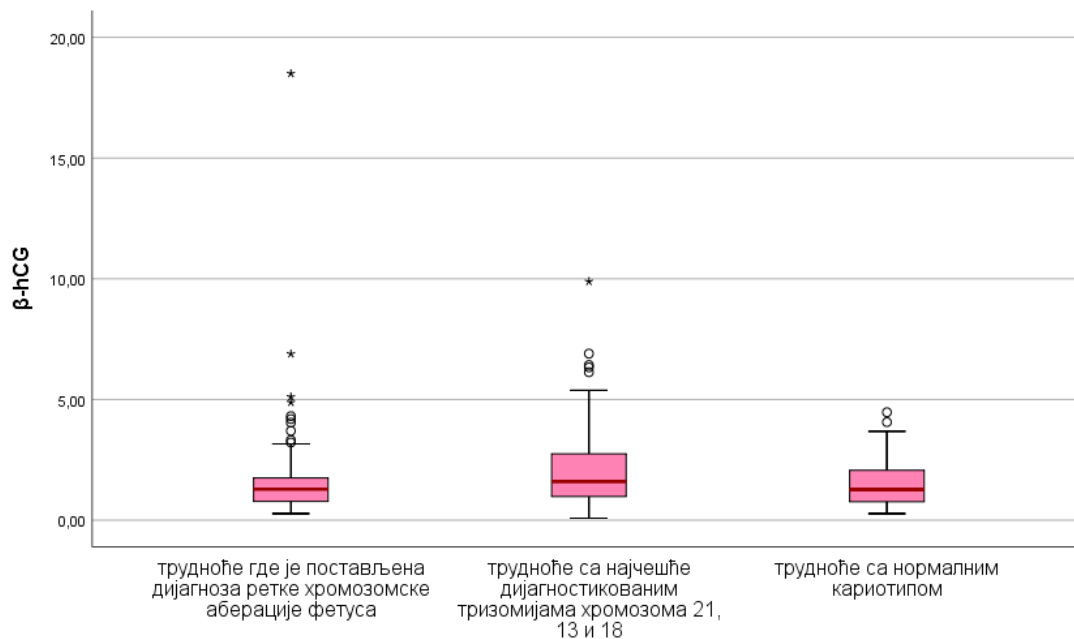
Највеће просечне вредности β -hCG (Табела 5-20) присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (2,04 MoM), затим у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,70 MoM) и најмања вредност у групи трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,48 MoM). У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода забележен је и највећи опсег вредности (0,27 – 18,50).

Табела 5-20: Вредности статистичких модела у поређењу параметра β -hCG (израженог у МоМ-има) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	300	100	100	100
просечна вредност	1,74	1,70	2,04	1,48
медијана	1,39	1,29	1,60	1,27
мод	0,70	0,70	1,12	0,53
стандардна девијација	1,63	2,05	1,69	0,91
варијанса	2,66	4,18	2,85	0,83
опсег	18,42	18,23	9,81	4,20
најмања вредност	0,08	0,27	0,08	0,27
највећа вредност	18,50	18,50	9,89	4,47
1. квартил	0,80	0,78	0,98	0,76
2. квартил	1,39	1,29	1,60	1,27
3. квартил	2,10	1,75	2,78	2,08

Највећи опсег у I групи узрокован је великом екстремном вредношћу (18,5 МоМ), док је опсег без екстремних вредности највећи у групи II, где је и највећи интерквартилни опсег, као и највећа вредност медијане (1,60 МоМ). Већи број екстремних вредности забележен је у групама I и II (Графикон 5-8).

Графикон 5-8: дијаграм распршености вредности параметра β -hCG у свакој од посматраних група.



Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-21) за процену значајности разлике између група $H(2)=6,061$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима β -hCG између посматраних група трудница са аномалијама хромозома.

Табела 5-21: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра β -hCG између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=6,061$
асимптотична значајност	$p=0,048$
Монте Карло процена значајности	$p=0,049$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,043
горња граница интервала поузданости од 99%	0,054

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-22) показују да не постоји статистички значајна разлика у вредностима β -hCG између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске

аномалије плода (група I) и групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) $\{U=4135; r=-0,21\}$, између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I)) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=4969,5; r=-0,01\}$, као ни између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=4121,5; r=-0,21\}$.

Табела 5-22: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра β -hCG између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=4135$
	Z вредност	$Z=-2,114$
	асимптотична значајност	$p=0,035$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,036$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=4969,5$
	Z вредност	$Z=-0,075$
	асимптотична значајност	$p=0,941$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,940$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=4121,5$
	Z вредност	$Z=-2,147$
	асимптотична значајност	$p=0,032$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,033$

Утврђена статистичка значајност у резултату Крускал-Валисовог теста нема основ у подели на групе каква је употребљена у овом истраживању, већ је вероватно резултат неког комплекснијег модела.

Табела 5-23: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра β -hCG између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=56,518$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-23) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=56,518$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у

вредностима β -hCG између посматраних подгрупа трудница.

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,01. Резултати теста (Табела 5-24) показују да не постоји статистички значајна разлика у вредностима β -hCG између групе III и подгрупе мозаицизама $\{U=2652,5; r=-0,05\}$, између групе III и подгрупе монозомија $\{U=528; r=-0,07\}$, између групе III и подгрупе небалансираних / *de novo* транслокација $\{U=329; r=-0,56\}$, између групе III и подгрупе осталих структурних аномалија $\{U=624,5; r=-0,17\}$ као ни између групе III и подгрупе осталих нумеричких аномалија $\{U=449,5; r=-0,17\}$.

Табела 5-24: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра β -hCG између подгрупа хромозомских аномалија плода у склопу пост хок тестирања

подгрупа поређена са групом III	тест	резултат
Мозаицизми	вредност Mann-Whitney теста	$U=2652,5$
	Z вредност	$Z=-0,365$
	асимптотична значајност	$p=0,715$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,718$
Монозомије	вредност Mann-Whitney теста	$U=528$
	Z вредност	$Z=-0,217$
	асимптотична значајност	$p=0,828$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,831$
Небалансираних / <i>de novo</i> транслокације	вредност Mann-Whitney теста	$U=329$
	Z вредност	$Z=-1,778$
	асимптотична значајност	$p=0,075$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,076$
Остале структурне аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=624,5$
	Z вредност	$Z=-0,652$
	асимптотична значајност	$p=0,514$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,521$
Остале нумеричке аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=449,5$
	Z вредност	$Z=-0,525$
	асимптотична значајност	$p=0,6$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,606$

Овакви резултати наводе на претпоставку да статистички значајна разлика утврђена Крускал-Валисовим тестом лежи у подгрупама групе

трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) које нису обухваћене пот хок тестирањем или међусобном односу између подгрупа.

5.3.2 PAPP-A

Најмање просечне вредности PAPP-A (Табела 5-25) присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (0,81 МоМ), затим у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,07 МоМ).

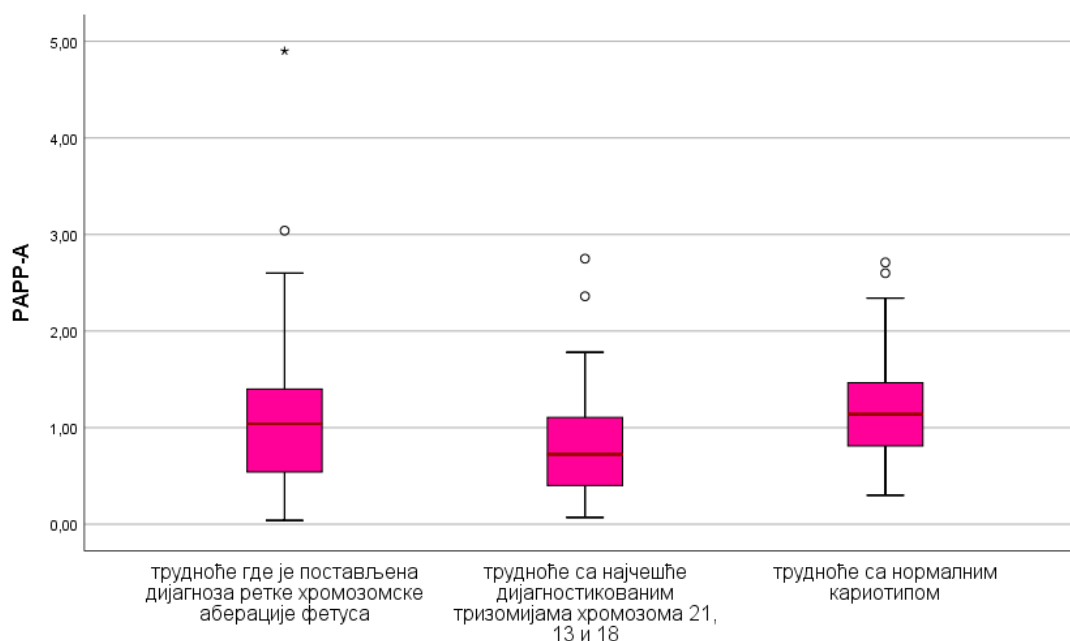
Табела 5-25: Вредности статистичких модела у поређењу параметра PAPP-A (изражене у МоМ-има) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	300	100	100	100
просечна вредност	1,02	1,07	0,81	1,20
медијана	0,98	1,04	0,69	1,14
мод	0,60	0,32	0,60	1,22
стандардна девијација	0,61	0,72	0,52	0,51
варијанса	0,37	0,51	0,27	0,26
опсег	4,86	4,86	2,68	2,41
најмања вредност	0,04	0,04	0,07	0,30
највећа вредност	4,90	4,90	2,75	2,71
25. перцентил	0,59	0,54	0,40	0,81
50. перцентил	0,98	1,04	0,69	1,14
75. перцентил	1,34	1,40	1,17	1,47

Највећа просечна вредност (Табела 5-25) измерена је у групи трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,20 МоМ) док је у групи трудница са са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен највећи опсег вредности (0,04 – 4,90).

У групи I су забележене највеће екстремне вредности, као и највећи опсег без екстремних вредности и интерквартилни опсег (Графикон 5-9). Најмања вредност медијане забележена је у групи II (0,69 МоМ).

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-26) за процену значајности разлике између група $H(2)=30,369$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима PAPP-A између посматраних група трудница са аномалијама хромозома.

Графикон 5-9: дијаграм распршености вредности параметра *PAPP-A* у свакој од посматраних група.Табела 5-26: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра *PAPP-A* између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=30,369$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-27) показују да постоји статистички значајна разлика у вредностима *PAPP-A* између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) $\{U=3732; r=-0,31\}$, као и између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=2675,5; r=-0,57\}$. У вредностима између групе I и групе III не постоји статистички значајна разлика $\{U=4207; r=-0,19\}$.

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-28) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=38,275$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у

вредностима *PAPP-A* између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

Табела 5-27: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра *PAPP-A* између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=3732$
	Z вредност	$Z=-3,098$
	асимптотична значајност	$p=0,002$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,002$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=4207$
	Z вредност	$Z=-1,938$
	асимптотична значајност	$p=0,053$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,050$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=2675,5$
	Z вредност	$Z=-5,680$
	асимптотична значајност	$p=0,000$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,000$

Табела 5-28: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра *PAPP-A* између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=38,275$
асимптотична значајност	$p=0,000$
Монте Карло процена значајности	$p=0,000$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,000
горња граница интервала поузданости од 99%	0,000

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-28) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=38,275$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима *PAPP-A* између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,01. Резултати теста (Табела 5-29) показују да не постоји статистички значајна разлика у вредностима *PAPP-A* између групе III и подгрупе мозаицизама $\{U=2175,5; r=-0,29\}$, између групе III и подгрупе небалансираних / *de novo* транслокација $\{U=464,5; r=-0,12\}$, између групе III и

подгрупе осталих структурних аномалија $\{U=664; r=-0,08\}$ као ни између групе III и подгрупе осталих нумеричких аномалија $\{U=495; r=-0,02\}$. Статистички значајна разлика утврђена је једино између групе III и подгрупе монозомија $\{U=265; r=-0,85\}$.

Табела 5-29: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра PAPP-A између подгрупа хромозомских аномалија плода у склопу пост хок тестирања

подгрупа поређена са групом III	тест	резултат
Мозаицизми	вредност Mann-Whitney теста	$U=2175,5$
	Z вредност	$Z=-2,149$
	асимптотична значајност	$p=0,032$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,029$
Монозомије	вредност Mann-Whitney теста	$U=265$
	Z вредност	$Z=-2,813$
	асимптотична значајност	$p=0,005$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,003$
Небалансиране / <i>de novo</i> транслокације	вредност Mann-Whitney теста	$U=464,5$
	Z вредност	$Z=-0,369$
	асимптотична значајност	$p=0,712$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,711$
Остале структурне аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=664$
	Z вредност	$Z=-0,311$
	асимптотична значајност	$p=0,756$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,762$
Остале нумеричке аномалије	вредност Mann-Whitney теста	$U=495$
	Z вредност	$Z=-0,052$
	асимптотична значајност	$p=0,959$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,961$

5.4 БИОХЕМИЈСКИ МАРКЕРИ СКРИНИНГА НА ХРОМОЗОМОПАТИЈЕ У ДРУГОМ ТРИМЕСТРУ

5.4.1 $f\beta$ -hCG

Највеће просечне вредности $f\beta$ -hCG (Табела 5-30) присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (2,03 MoM), затим у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,67 MoM) и најмања вредност у групи трудница

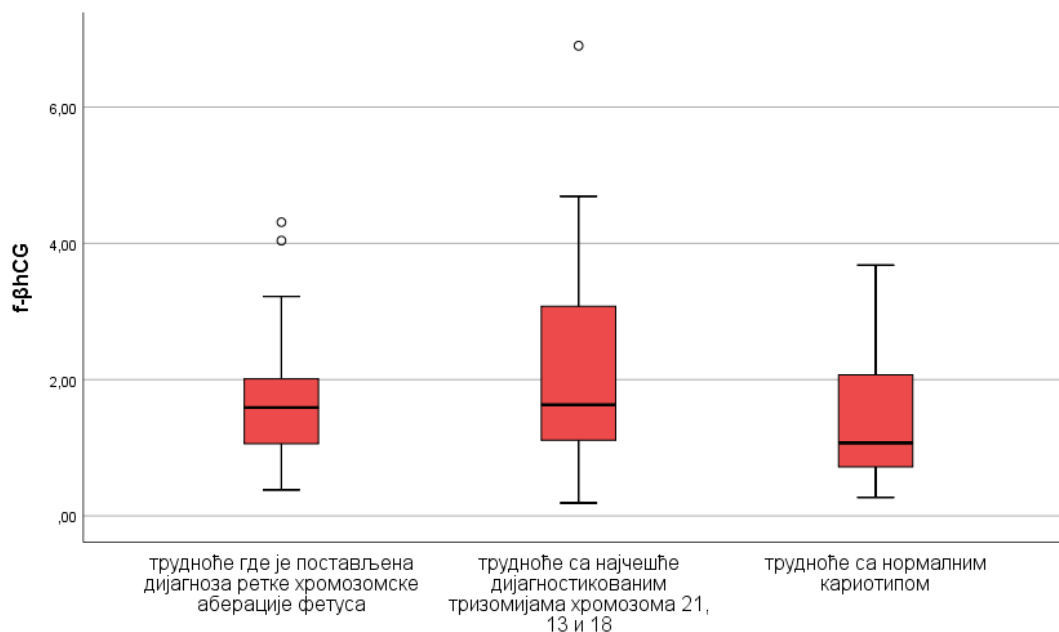
са нормалним кариотипом плода – III група (1,43 МоМ). У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода забележен је и највећи опсег вредности (0,19 – 6,9).

Табела 5-30: Вредности статистичких модела у поређењу параметра $f\beta$ -hCG (израженог у МоМ-има) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	116	37	40	39
просечна вредност	1,71	1,67	2,03	1,43
медијана	1,54	1,59	1,63	1,07
мод	0,46	1,22	1,12	0,46
стандардна девијација	1,16	0,97	1,46	0,90
варијанса	1,36	0,95	2,14	0,81
опсег	6,71	3,93	6,71	3,41
најмања вредност	0,19	0,38	0,19	0,27
највећа вредност	6,9	4,31	6,9	3,68
1. квартил	0,87	0,99	1,11	0,71
2. квартил	1,54	1,59	1,63	1,07
3. квартил	2,10	2,05	3,17	2,09

Опсег без екстремних вредности и интерквартилни опсег вредности $f\beta$ -hCG су највећи у групи II. Најмања вредност медијане (1,07 МоМ) присутна је у групи III. У групама II и III вредности медијане померене су ка нижим вредностима интерквартилног опсега (Графикон 5-10).

Графикон 5-10: дијаграм распршености вредности параметра $f\beta$ -hCG у свакој од посматраних група.



Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-31) за процену значајности разлике између група $H(2)=3,188$ утврђена је вредност статистичке значајности $p>0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима $f\beta$ - hCG између посматраних група трудница.

Табела 5-31: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра $f\beta$ - hCG између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=3,188$
асимптотична значајност	$p=0,203$
Монте Карло процена значајности	$p=0,198$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,187
горња граница интервала поузданости од 99%	0,208

С обзиром на то да није утврђена статистички значајна разлика Крускал-Валисовим тестом, није спровођено пост хок тестирање за параметар $f\beta$ - hCG .

Табела 5-32: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра $f\beta$ - hCG између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=9,048$
асимптотична значајност	$p=0,338$
Монте Карло процена значајности	$p=0,343$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,330
горња граница интервала поузданости од 99%	0,355

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-32) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=9,048$ утврђена је вредност статистичке значајности $p>0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима $f\beta$ - hCG између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

5.4.2 АЛФА ФЕТОПРОТЕИН

Мање просечне вредности алфа фетопротеина (Табела 5-33) присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (0,8 MoM) у односу групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,15 MoM) као и на групу трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,01 MoM). У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен је највећи опсег вредности (0,04 – 2,09 MoM).

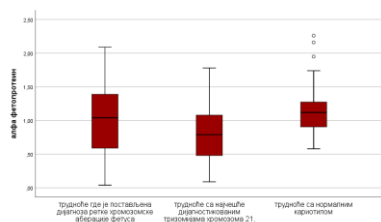
Опсег без екстремних вредности и интерквartilни опсег су највећи у

групи I. Највећа вредност медијане присутна је у групи III и она се налази ван интерквартилног опсега вредности у групи II. Једино су у групи III присутне екстремне вредности. (Графикон 5-11)

Табела 5-33: Вредности статистичких модела у поређењу параметра алфа фетопротеина (изражене у МоМ-има) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	116	37	40	39
просечна вредност	0,99	1,01	0,8	1,15
медијана	1,01	1,04	0,79	1,12
мод	1,01	0,44	0,55	0,79
стандардна девијација	0,46	0,52	0,42	0,39
варијанса	0,22	0,27	0,18	0,15
опсег	2,22	2,05	1,69	1,68
најмања вредност	0,04	0,04	0,09	0,58
највећа вредност	2,26	2,09	1,78	2,26
25. перцентил	0,66	0,57	0,46	0,9
50. перцентил	1,01	1,04	0,79	1,12
75. перцентил	1,27	1,4	1,09	1,28

Графикон 5-11: дијаграм распршености вредности параметра алфа фетопротеин у свакој од посматраних група



Мање просечне вредности алфа фетопротеина (Табела 5-33) присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (0,8 МоМ) у односу групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,15 МоМ) као и на групу трудница са ретким

хромозомским аномалијама плода – I група (1,01 MoM). У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен је највећи опсег вредности (0,04 – 2,09 MoM).

Опсег без екстремних вредности и интерквартилни опсег су највећи у групи I. Највећа вредност медијане присутна је у групи III и она се налази ван интерквартилног опсега вредности у групи II. Једино су у групи III присутне екстремне вредности. (Графикон 5-11)

Табела 5-34: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра алфа фетопротеина између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=10,685$
асимптотична значајност	$p=0,005$
Монте Карло процена значајности	$p=0,004$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,003
горња граница интервала поузданости од 99%	0,006

Табела 5-35: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра алфа фетопротеина између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=561,5$
	Z вредност	$Z=-1,82$
	асимптотична значајност	$p=0,069$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,070$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=619,5$
	Z вредност	$Z=-1,06$
	асимптотична значајност	$p=0,289$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,300$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=436$
	Z вредност	$Z=-3,374$
	асимптотична значајност	$p=0,001$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,001$

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-34) за процену значајности разлике између група $H(2)=10,685$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима алфа фетопротеина између посматраних група трудница.

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти

приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-35) показују да постоји статистички значајна разлика у вредностима алфа фетопротеина између групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=436; r=-0,34\}$. У вредностима између групе I и групе II $\{U=561,5; r=-0,18\}$, као ни између групе I и групе III $\{U=619,5; r=-0,11\}$ није утврђена статистички значајна разлика.

Табела 5-36: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра алфа фетопротеина између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=13,665$
асимптотична значајност	$p=0,091$
Монте Карло процена значајности	$p=0,077$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,070
горња граница интервала поузданости од 99%	0,084

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-36) за процену значајности разлике између подгрупа $H(8)=13,665$ утврђена је вредност статистичке значајности $p>0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима алфа фетопротеина између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

5.4.3 НЕКОНЈУГОВАНИ ЕСТРИОЛ

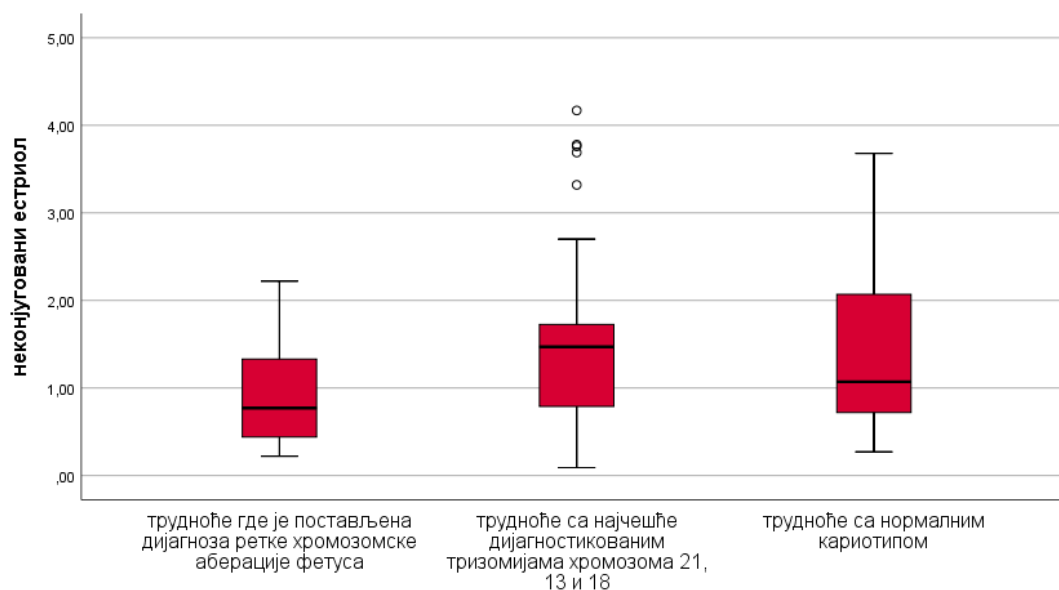
Мање просечне вредности неконјугованог естриола (Табела 5-37) присутне су у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (0,9 МоМ) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,4 МоМ) као и на групу трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (1,53 МоМ). У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група забележен је највећи опсег вредности (0,09 – 4,17 МоМ).

Највећа вредност медијане присутна је у групи I и она је померена ка вишим вредностима интерквалтиног опсега у тој групи, а налази се изван интерквартилног опсега вредности у групи I. Вредност медијане у групи III је померена ка нижим вредностима интерквартилног опсега. Једино су у групи II забележене екстремне вредности. Опсег без екстремних вредности и интерквартилни опсег највећи у групи III (Графикон 5-12).

Табела 5-37: Вредности статистичких модела у поређењу параметра неконјугованог естриола (израженог у МоМ-има) у укупном узорку и по групама.

параметар \ група	укупно	група I	група II	група III
број пацијенткиња (N)	116	37	40	39
просечна вредност	1,29	0,9	1,53	1,4
медијана	1,095	0,77	1,47	1,07
мод	1,66	0,77	1,12	0,46
стандардна девијација	0,88	0,52	1,05	0,86
варијанса	0,77	0,27	1,1	0,73
опсег	4,08	2	4,08	3,41
најмања вредност	0,09	0,22	0,09	0,27
највећа вредност	4,17	2,22	4,17	3,68
25. перцентил	0,6	0,44	0,79	0,71
50. перцентил	1,095	0,77	1,47	1,07
75. перцентил	1,7	1,33	1,73	2,09

Графикон 5-12: дијаграм распршености вредности параметра неконјугованог естриола у свакој од посматраних група



Табела 5-38: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра неконјугованог естриола између све три групе трудница

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=9,684$
асимптотична значајност	$p=0,008$
Монте Карло процена значајности	$p=0,007$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,005
горња граница интервала поузданости од 99%	0,009

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-38) за процену значајности разлике између група $H(2)=9,684$ утврђена је вредност статистичке значајности $p<0,05$. Постоји статистички значајна разлика у вредностима

неконјугованог естриола између посматраних група трудница.

Табела 5-39: Резултати Ман-Витнијевих тестова за поређење параметра неконјугованог естриола између сваке од три групе трудница у склопу пост хок тестирања

поређене групе	тест	резултат
I и II	вредност Mann-Whitney теста	$U=464,5$
	Z вредност	$Z=-2,809$
	асимптотична значајност	$p=0,005$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,005$
I и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=473,5$
	Z вредност	$Z=-2,578$
	асимптотична значајност	$p=0,010$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,009$
II и III	вредност Mann-Whitney теста	$U=752$
	Z вредност	$Z=-0,275$
	асимптотична значајност	$p=0,784$
	Монте Карло процена значајности	$p=0,773$

Ман-Витнијеви тестови су спроведени да се додатно испита овај резултат. Примењена је Бонферонијева корекција тако да су сви ефекти приказани на нивоу значајности од 0,0167. Резултати теста (Табела 5-39) показују да постоји статистички значајна разлика у вредностима неконјугованог естриола између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) $\{U=464,5; r=-0,28\}$, као и између групе трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) и групе трудница са нормалним кариотипом плода (група III) $\{U=473,5; r=-0,26\}$. У вредностима између групе II и групе III не постоји статистички значајна разлика $\{U=752; r=-0,03\}$.

Табела 5-40: Резултати Крускал-Валисовог теста за поређење параметра неконјугованог естриола између подгрупа хромозомских аномалија плода

вредност Kruskal-Wallis теста	$H=15,401$
асимптотична значајност	$p=0,052$
Монте Карло процена значајности	$p=0,038$
доња граница интервала поузданости од 99%	0,033
горња граница интервала поузданости од 99%	0,043

Резултатима Крускал-Валисовог теста (Табела 5-40) за процену

значајности разлике између подгрупа $H(8)=15,401$ утврђена је вредност статистичке значајности $p>0,05$. Не постоји статистички значајна разлика у вредностима неконјугованог естриола између посматраних подгрупа трудница са аномалијама хромозома.

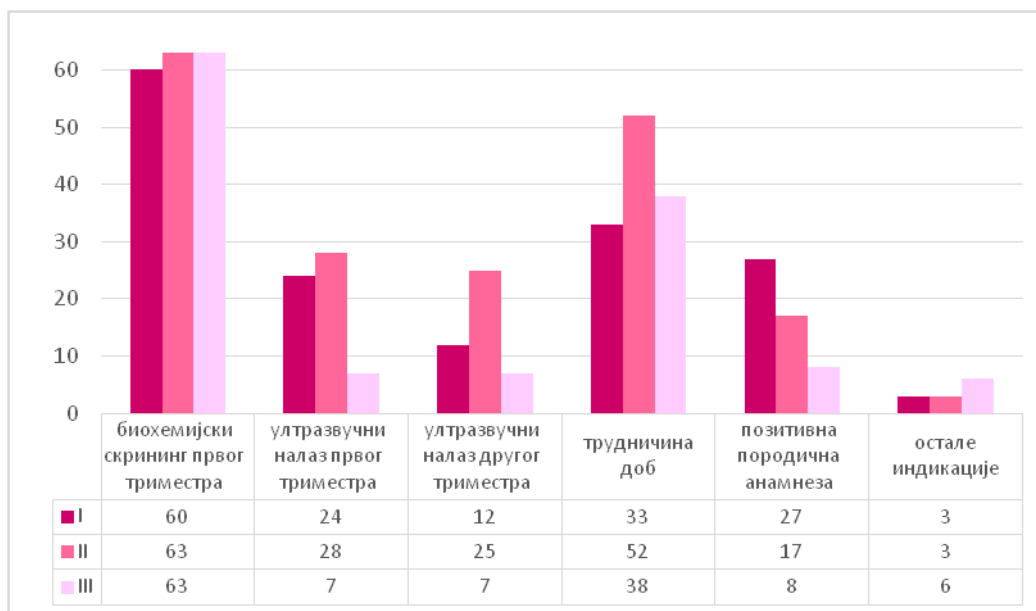
5.5 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА ИЗВОЂЕЊЕ ИНВАЗИВНЕ ПРЕНАТАЛНЕ ДИЈАГНОСТИКЕ

Добијени резултати (*Графикон 5-13*) указују да су најчешће индикације за извођење инвазивне пренаталне дијагностике у све три групе, у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I), у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III), били налази биохемијског скрининга првог триместра – 1. група индикација (60% у I групи, 63% у II групи и 63% у III групи), а након њих су следили трудничина доб – 4. група индикација (33% у I групи, 52% у II групи и 38% у III групи), затим ултразвучни налази првог триместра – 2. група индикација (24% у I групи, 28% у II групи и 7% у III групи) и ултразвучни налази другог триместра – 3. група индикација (12% у I групи, 25% у II групи и 7% у III групи) постојање хромозомопатије у породичној анамнези – 5. група индикација (27% у I групи, 17% у II групи и 8% у III групи), и потом остале индикације у мањој мери (3% у I групи, 3% у II групи и 6% у III групи).

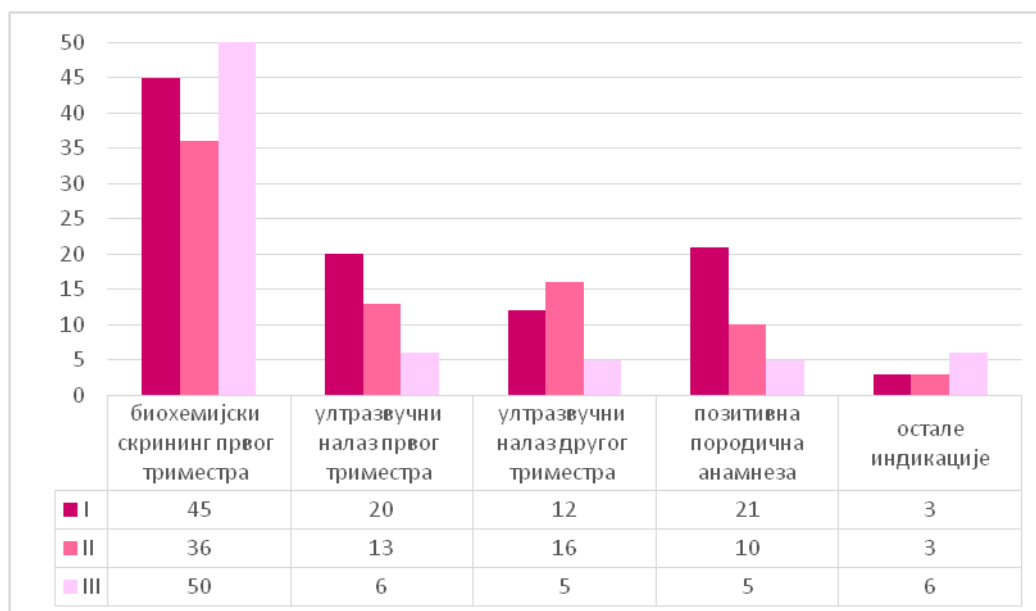
Резултати истраживања указују на постојање значајног броја трудница млађих од 35 година код којих су индикације за извођење инвазивне дијагностике биле високоризичан налаз ултразвучног или биохемијског скрининга (*Графикон 5-14*). Добијени резултати указују да су најчешћа индикација код жена млађих од 35 година у све три групе – у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I), у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III), били налази биохемијског скрининга првог триместра (45% у I групи, 36% у II групи и 50% у III групи), а након њих су следили ултразвучни налази првог триместра (20% у I групи, 13% у II групи и 6% у III групи) и ултразвучни налази другог

триместра (21% у I групи, 10% у II групи и 5% у III групи), док су у мањој мери као индикација присутни постојање хромозомопатије у породичној анамнези (12% у I групи, 16% у II групи и 5% у III групи) и остале индикације.

Графикон 5-13: Укупан број трудница унутар сваке групе појединачно, према индикацијама за извођење инвазивне пренаталне дијагностике.



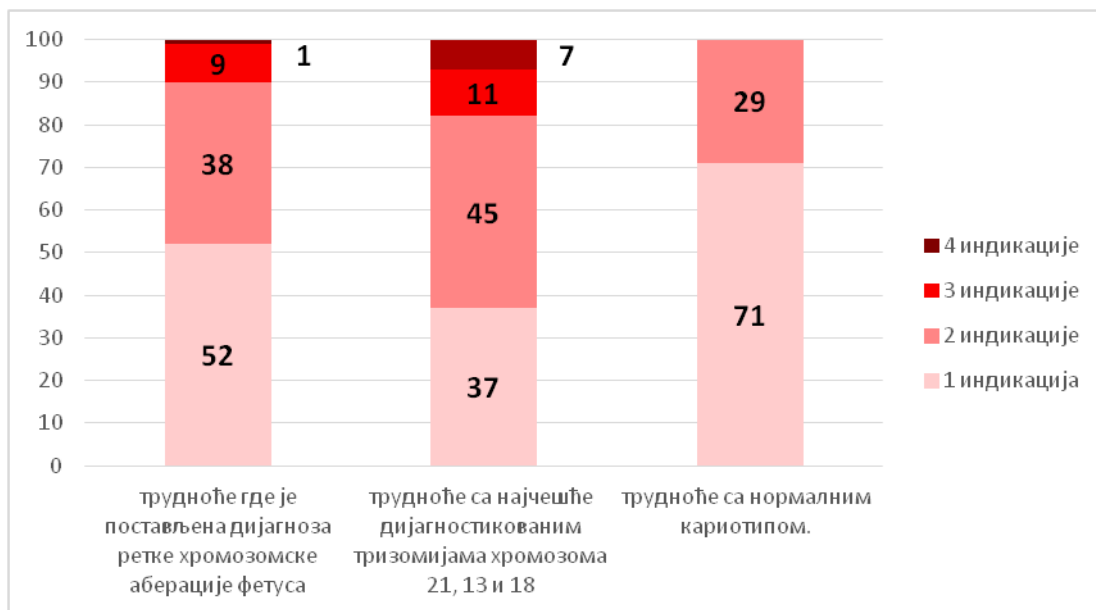
Графикон 5-14: Укупан број трудница млађих од 35 година унутар сваке групе појединачно, према индикацијама за извођење инвазивне пренаталне дијагностике.



У односу на број индикација за разматрање услова за спровођење инвазивне пренаталне дијагностике код највећег броја трудница инвазивна дијагностика је вршена на основу постојања само једне индикације: 52 случаја I групе ($N=52/100$; 52%), 37 случајева у II групи ($N=37/100$; 37%), и 71 случај у III

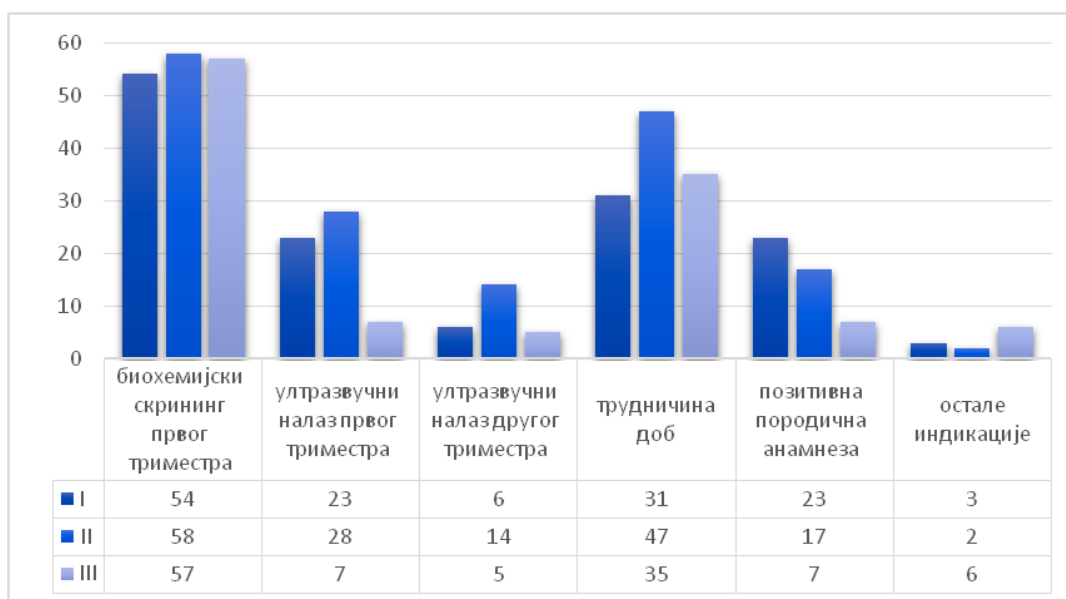
групи ($N=71/100$; 71%), а нешто мање на основу постојања две индикације. У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I) и у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) инвазивна дијагностика је вршена и на основу три или четири индикације (Графикон 5-15).

Графикон 5-15: Број индикација за извођење инвазивне пренаталне дијагностике на основу којих је вршена инвазивна дијагностика у свакој од група.



5.5.1 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА ИЗВОЂЕЊЕ АМНИОЦЕНТЕЗЕ

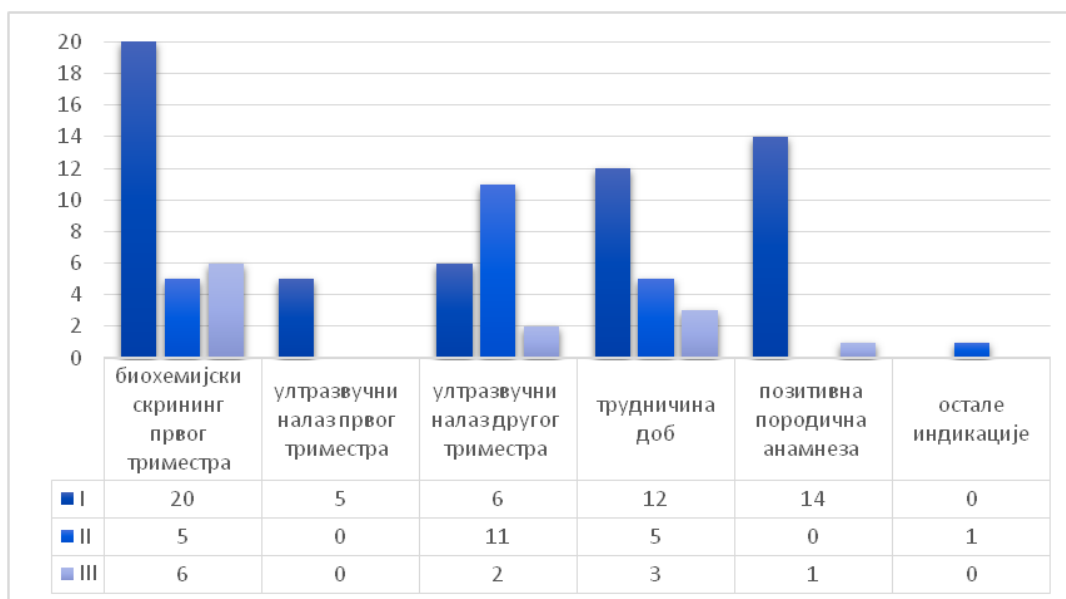
Графикон 5-16: Расподела броја извршених амниоцентеза према индикацијама у свакој од посматраних група



Добијени резултати показују да су најчешћа индикација за извођење ране амниоцентезе у све три групе – у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I), у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III), били налази биохемијског скрининга првог триместра (54% у I групи, 58% у II групи и 57% у III групи), а након њих су следиле трудничина доб (31% у I групи, 47% у II групи и 35% у III групи), ултразвучни налази првог триместра (23% у I групи, 28% у II групи и 7% у III групи) постојање хромозомопатије у породичној анамнези (23% у I групи, 17% у II групи и 7% у III групи) и потом у мањој мери ултразвучни налази другог триместра као и остале индикације (Графикон 5-16).

5.5.2 АНАЛИЗА ИНДИКАЦИЈА ЗА КАРИОТИПИЗАЦИЈУ ПЛОДА ПОСТУПКОМ КОРДОЦЕНТЕЗЕ

Графикон 5-17: Расподела броја извршених кордоцентеза према индикацијама у свакој од посматраних група



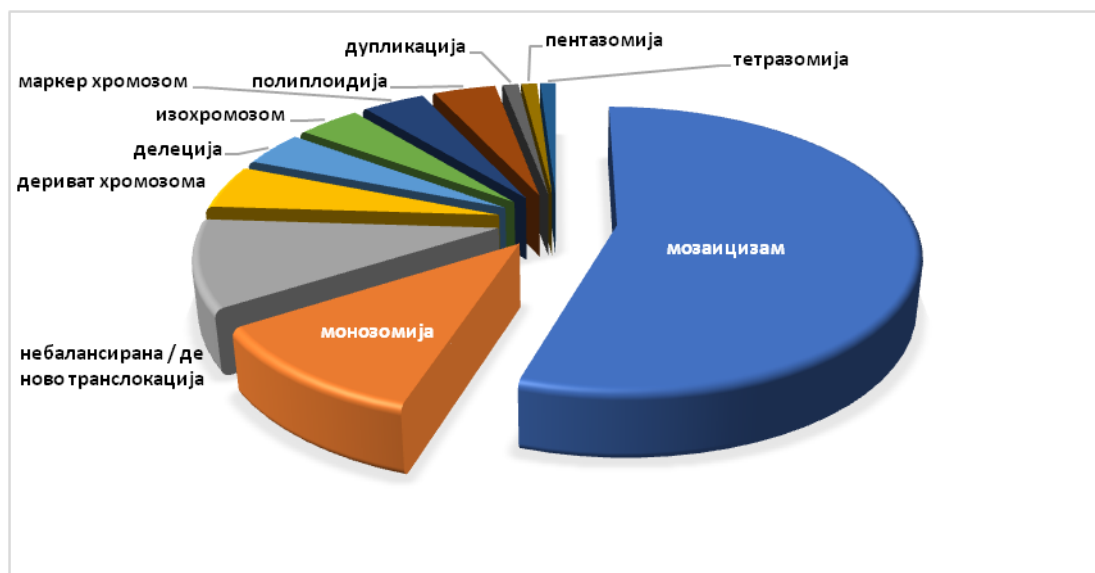
Добијени резултати показују да су најчешћа индикација за извођење кариотипизације плода поступком кордоцентезе у све три групе били налази биохемијског скрининга првог триместра (20% у I групи, 5% у II групи и 6% у III групи), а након њих су следиле трудничина доб (12% у I групи, 5% у II групи и 3% у III групи) и ултразвучни налази другог триместра (6% у I групи, 11% у II групи и 2% у III групи). Постојање хромозомопатије у породичној анамнези је

било значајно чешћа индикација у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода док у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III) није забележен ниједан случај извршене кордоцентезе због ултразвучног налаза првог триместра (Графикон 5-17).

5.6 КАРИОТИПОВИ ФЕТУСА КОД ДИЈАГНОЗА РЕТКЕ ХРОМОЗОМСКЕ АНОМАЛИЈЕ

Од укупно 100 пацијенткиња (Табела 5-41) у групи трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I), код 24 пацијенткиње утврђена је структурна хромозомска аномалија (делеција, дупликација, дериват хромозома, изохромозом, небалансирана / *de novo* транслокација) док је код 76 пацијенткиња утврђена нумеричка хромозомска аномалија (тетразомија, пентазомија, маркер хромозом, полиплоидија, мозаицизам, монозомија).

Графикон 5-18: Заступљеност појединих хромозомских аномалија у групи трудница са ретком хромозомском аномалијом плода.



Табела 5-41: Кариотип фетуса код дијагноза ретке хромозомске аномалије.

СТРУКТУРНЕ АНОМАЛИЈЕ	врста аномалије	гестацијска старост	кариотип	опис аномалије
	делеција	18	46,XX,del(4)(p16.3)dn	Wolf Hirschhorn синдром
		21	46,XY,del(13)(q32)dn	Делеција дела дугог крака хромозома 13
		32	46,XY,del(8)(p23)dn	Новонастала делеција дела кратког крака хромозома 8
		16	46,XY,del13(q2?1q31)dn	Делеција дела дугог крака хромозома 13
	дупликација	17	46,XY,rec(4),dup(4q),inv(4)(p15q33)	Структурна хромозомска аберација хромозома 4
	дериват хромозома	33	46,XX,add(10)(q26)dn	Присутан новонастали вишак хромозомског материјала на хромозому 10
		22	46,XX,add(15)(p13)dn	Присутан новонастали вишак хромозомског материјала на хромозому 15
		17	46,XX,add(18)(p11)dn	Присутан новонастали вишак хромозомског материјала на хромозому 18
		16	46,XY,add(20)(q13)dn	Присутан де ново вишак хромозомског материјала на хромозому 20
17		46,XY,der(4)dn	Присутан новонастали вишак хромозомског материјала на хромозому 4	
изохромозом	15	46,X,i(X)(q10) dn	Изохромозом хромозома X	
	17	46,XX,i(21)(q10) dn	Изохромозом хромозома 21	
	18	46,XX,i(21)(q10)dn	Изохромозом хромозома 21	
	17	46,XY,i(21)(q10) dn	Изохромозом хромозома 21	
небалансирана / де ново транслокација	18	45,XX,rob(13;14)(q10;q10),13ps+ dn	Новонастала Робертсонова транслокација	
	16	46,XX,rob(21)(q10;q10)dn	Новонастала транслокација	
	16	46,XX,t(11;17)(q13;q21)dn	Новонастала транслокација	
	16	46,XX,t(3;16)(p14;p13)dn	Новонастала транслокација	
	18	46,XX,t(6;13)(q25;q32)dn	Новонастала транслокација	
	16	46,XY,rob(14;21)(q10;q10),mat,+21	Вишак хромозомског материјала хромозома 21 услед Робертсонове транслокације	
	18	46,XY,t(11;22)(q23;q11)dn	Новонастала транслокација	
	16	46,XY,t(16;18)(q23;q11.2)dn	Новонастала транслокација 16;18	
	15	46,XY,t(5;11)(q31;p13)dn	Новонастала транслокација	
	18	46,XY,t(8;22)(q24;q11)dn	Новонастала транслокација	

СТРУКТУРНЕ АНОМАЛИЈЕ	врста аномалије	гестациска старост	кариотип	опис аномалије
		тетразомија	17	48,XXYY
	пентазомија	17	49,XXXXY	Пентазомија
маркер хромозом		18	47,XX,+mar dn	Присутан прекобројан маркер хромозом
		17	47,XX,+mar dn	Присутан прекобројан маркер хромозом
		18	47,XX,+mar dn	Присутан прекобројан маркер хромозом
		18	47,XY,+mar dn,1qh+ pat	Мушки кариотип са новонасталим маркер хромозомом
полиплоидија		18	69,XXX	Триплоидија
		16	69,XXY	Триплоидија
		17	69,XXY	Триплоидија
		17	69,XXY	Триплоидија
мозаицизам		17	45, X(17) / 46,der(X)t(X;X)(p22;q13)(7) / 47,X,der(X)t(X;X)(p22;q13),+ r?(X)(p)(6)	Новонастали мозаични кариотип са три клона патолошких ћелија
		17	45,X (11) /46,XY (53)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		18	45,X (41) / 46,XY (19)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		17	45,X (17) / 46,X,del (Y)(q12) (13)	Мешовита гонадна дисгенеза
		27	45,X (17)/ 46,X,+mar (13)	Мозаик Тарнер синдрома и маркер хромозома
		18	45,X (2) / 46,XX (98)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		17	45,X (21) / 46,X,i(X)(q10) (9)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		17	45,X (27) / 47,XXX (3)	Мозаик Тарнеровог синдрома и синдрома троструког X хромозома
		17	45,X (4) / 46,XX (26)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		26	45,X (4) / 46,XY (96)	Мешовита гонадна дисгенеза.
		17	45,X (4) /46,XY (96)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		17	45,X (79) / 46,X,r(X) (21)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		17	45,X (12) / 46,XX (88)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		18	45,XX,-21 (14) / 46,XX,r(21)(33) / 46,XX,r?dup (21) (3)	Мозаични кариотип са 3 патолошка клона ћелија: монозомијом 21. хромозома, ринг 21. хромозома и дупликацијом 21. хромозома.
		12	45,XY,-18 (3) / 46,XY (97)	Мозаичан кариотип монозомије хромозома 18
		18	45,XY,-20 (2) / 46,XY (61)	Мозаичан кариотип монозомије хромозома 20

	врста аномалије	гестациска старост	кариотип	опис аномалије
СТРУКТУРНЕ АНОМАЛИЈЕ	мозаицизам	17	46, XX,t(11;22)(q25;q13) (28) / 46,XX (2) de novo	Мозаик са новонасталом балансираном транслокацијом између 11. и 22. хромозома.
		13	46,X,i(X)(q10),9qh+ (3) / 46,XX,9qh+ (147)	Мозаик Тарнеровог синдрома
		16	46,XX (19) / 46,XY (11)	Мешовита гонадна дисгенеза
		25	46,XX (3) /46,XY (97)	Мешовита гонадна дисгенеза
		22	46,XX (9) / 46,XY,inv(9)(p11q13) (191)	Мозаик инверзије хромозома 9
		17	46,XX (9)/ 46,XY (91)	Мешовита гонадна дисгенеза
		17	46,XX (9)/ 46,XY (91)	Мешовита гонадна дисгенеза
		16	46,XX,add(18)(q23) (17) / 46,XX (13)	Присутан вишак хромозомског материјала на хромозому 18 у мозаичној форми
		16	46,XX,fra (16) (q22) (6) / 46,XX (58)	Фрагилни хромозом 16 у региону q22 у мозаичној форми
		17	46,XY (100) / 46,XX (106)	Мешовита гондана дисгенеза
		16	46,XY (36) / 46,XX (29)	Мешовита гонадна дисгенеза
		13	46,XY,9?qh+ ?dn, 15ps+ pat (22) / 46,XY,9?qh- ? dn, 15ps+pat (8)	Присутан вишак и мањак генетског материјала на хромозому 9 у мозаику
		19	46,XY,der(13)dn (18) / 46,XY (12)	Новонастали вишак хромозомског материјала непознатог порекла на q краку хромозома 13 у мозаичној форми
		17	47,XX,+13 (88) / 46,XX (12)	Мозаик форма Патау синдрома
		17	47,XX,+16 (13) / 46,XX (17)	Тризомија хромозома 16 у мозаичној форми
		16	47,XX,+20 (12) / 46,XX (18)	Мозаик тризомије хромозома 20
		17	47,XX,+21 (27) / 46,XX (3)	Мозаик Дауновог синдрома
		21	47,XX,+21 (28) / 46,XX (72)	Мозаик Дауновог синдрома
		15	47,XX,+21 (5) / 46,XX (25)	Мозаик Дауновог синдрома
		17	47,XX,+mar (17) /46,XX (13)	Присутан прекобројан маркер хромозом у мозаичној форми
		17	47,XX,+mar (21) / 46,XX (79)	Присутан прекобројан маркер хромозом у мозаичној форми
		18	47,XX,+mar,9qh+mat (4)/46,XX,9qh+mat (146)	Присутан прекобројан маркер хромозом у мозаичној форми
		16	47,XX,+t(9;14)(14pter-14q11::9p11-9ter) 46, XX,t(9;14)(9qter-9p11::14q11-14qter ;14pter-14q11::9p11-9pter)	Женски кариотип са вишком хромозомског материјала (тризомија 9п и 14 п) наслеђени из балансиране транслокације мајке.
16	47,XXX (13) / 46,XX (16)	Мозаик троструког X хромозома		

СТРУКТУРНЕ АНОМАЛИЈЕ	врста аномалије	гестациска старост	кариотип	опис аномалије
	МОЗАИЦИЗАМ		22	47,XXX (6) / 46,XX (59)
		17	47,XXY (12) / 46,XY (18)	Мозаик Клинефелтеровог синдрома
		31	47,XXY (14) / 46,XY (16)	Мозаик Клинефелтеровог синдрома
		18	47,XXY (22) / 46,XY (8)	Мозаик Клинефелтеровог синдрома
		21	47,XXY (5) / 46,XY (95)	Мозаик Клинефелтеровог синдрома
		18	47,XXY(14) / 46,XY (16) 47,XXY 834) / 46,XY (30)	Мозаик Клинефелтеровог синдрома
		18	47,XXY,inv(12)(p112q11)mat	Инверзија хромозома 12 и Клинефелтер синдром
		17	47,XY,+20 (18) / 46,XY (12)	Тризомија хромозома 20 у мозаичној форми
		17	47,XY,+21 (8) / 46,XY (192)	Мозаик Дауновог синдрома
		18	47,XY,+22 (24) / 46,XY (6)	Мозаик тризомије 22
		18	47,XY,+mar (24) / 46,XY (6)	Присутан прекобројан маркер хромозом у мозаичној форми
		17	47,XY,+mar (9) / 46,XY (91)	Присутан прекобројан маркер хромозом у мозаичној форми
		16	47,XY,t(3;7)(q26;p14),+21	Мозаик Дауновог синдрома са балансираном транслокацијом 3. и 7. хромозома.
		17	47,XYY (19) / 46,XY (81)	Мозаик синдрома двоструког Y хромозома
		16	47,XYY (5) / 46,XY (25)	Мозаик синдрома двоструког Y хромозома
МОНОЗОМИЈА			14	45,X
		17	45,X	Монозомија X хромозома
		21	45,X	Монозомија X хромозома
		15	45,X	Монозомија X хромозома
		16	45,X	Монозомија X хромозома
		13	45,X	Монозомија X хромозома
		17	45,X	Монозомија X хромозома
		17	45,X	Монозомија X хромозома
		17	45,X	Монозомија X хромозома
		17	45,X	Монозомија X хромозома
		16	45,X	Монозомија X хромозома

Табела 5-42: Процентуална заступљеност појединих хромозомских аномалија у групи трудница са ретком хромозомском аномалијом плода.

Ретка хромозомска аномалија	Процентуална заступљеност
мозаицизам	55%
монозомија	11%
небалансирана / <i>de novo</i> транслокација	10%
дериват хромозома	5%
делеција	4%
изохромозом	4%
маркер хромозом	4%
полиплоидија	4%
дупликација	1%
пентазомија	1%
тетразомија	1%

Од појединих аномалија у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (Графикон 5-18, Табела 5-42) најчешће су били детектовани мозаицизми (55%), затим монозомије (11%), небалансиране / *de novo* транслокације (10%), деривати хромозома (5%), делеције (4%), изохромозоми (4%), маркер хромозоми (4%) и полиплоидије (4%), дупликације (1%), пентазомије (1%) и тетразомије (1%).

Графикон 5-19: Заступљеност појединих аномалија у групи трудница са најчешћим тризомијама плода.



У погледу процентуалне заступљености тризомија у групи трудница са најчешћим тризомијама плода (Графикон 5-19, Табела 5-43) најчешће је била детектована тризомија хромозома 21 (68%), затим тризомија хромозома 18

(25%) и тризомија хромозома 13 (7%).

Табела 5-43: Процентуална заступљеност појединих аномалија у групи трудница са ретком хромозомском аномалијом плода.

Најчешћа тризомија плода	Процентуална заступљеност
Тризомија хромозома 13	7%
Тризомија хромозома 18	25%
Тризомија хромозома 21	68%

6 ДИСКУСИЈА

Поред чињенице да се пренатални скрининг на хромозомопатије протеклих неколико деценија успешно примењује у клиничкој пракси, још увек није у потпуности дефинисан алгоритам дијагностичких поступака трудноћа са ретким хромозомским аномалијама. Појединачно посматрано поједине хромозомске аномалије се ретко јављају, али када се све ретке хромозомске аномалије посматрају као једна група, оне такође представљају значајан удео пренаталне патологије и имају медицински значај. Ретке хромозомске аномалије се, за разлику од најучесталијих хромозомских аномалија тризомија хромозома 21, 13 и 18, не одликују постојањем карактеристичних ултразвучних маркера па се у случајевима када није рађена кариотипизација фетуса догађа да не буду пренатално откривене. Обично се откривају након ултрасонографски детектоване конгениталне аномалије фетуса или због сумње на најчешће хромозомске аномалије фетуса, или због одступања од референтних вредности биохемијског скрининга или код циљаног испитивања труднице, због честих спонтаних побачаја или се детектују случајно. Фактори ризика за најчешће хромозомске аномалије су анализирани, док за ретке хромозомске аномалије постоји значајно мање података у литератури. С обзиром на то да један део ретких хромозомских аномалија фетуса настаје због балансираних хромозомских реаранжмана код супружника док други део настаје *де ново*, важно је детектовати све такве случајеве ради спровођења доступних мера пренаталне дијагностике у наредним трудноћама.

Један од најважнијих циљева пренаталне дијагностике је да омогући правовремено постављање дијагнозе хромозомске аномалије плода са циљем упознавања супружника са могућим последицама на стање захваћеног плода како би супружници донели одлуку да ли желе наставак такве трудноће или разматрање услова за циљани прекид трудноће из медицинских разлога.

Спроведеним истраживањем испитана је разлика између резултата неинвазивног пренаталног скрининга код трудноћа захваћеним ретким хромозомским аномалијама фетуса у односу на трудноће где је фетус захваћен најчешћим тризомијама (тризомија хромозома 21, 13, 18) као и у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода. Поред тога, циљ студије је и

одређивање прогностичког значаја и предиктивне вредности параметара скрининга који су показали статистички значајну разлику између испитиваних група трудница.

Просечна старост испитаница у истраживању је 35,5 година. Најмлађа трудница је имала 17 а најстарија 45 година. Резултати добијени у овом истраживању указују да постоји широк распон у животној доби испитиваних трудница у свим испитиваним групама што се може сматрати параметром добро организованог скрининга на хромозомопатије. С обзиром на описану појаву учесталог рађања деце с хромозомопатијама код трудница млађих од 35 година у периоду када је трудничина доб била једини критеријум за спровођење инвазивне дијагностике, овако широк распон година показује да су укључивањем у скрининг млађе жене добиле могућност за пренаталну дијагностику хромозомских аномалија фетуса инвазивним методама пренаталне дијагностике.

У односу на дистрибуцију старости трудница по старосним групама највећи број трудница био је старости 31 – 35 година у групи трудноћа где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса (група I) и групи трудноћа са нормалним кариотипом (група III) док је у групи трудноћа са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), највећи број трудница био старости 36 – 40 година.

Сличне вредности старосне структуре трудница код којих су извођене инвазивне методе пренаталне дијагностике наводе се у мултицентричној студији Zhu-a (36) у којој су испитиване ретке хромозомске аномалије у Кини као средња вредност доби испитиваних трудница наводи се 37,4, а према дистрибуцији старости трудница по старосним групама највећи број трудница био је старости 35 – 46 година.

Према резултатима истраживања, године труднице представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију хромозомских аномалија у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), у односу на остале две посматране групе, али не представљају значајан фактор код диференцијације хромозомских аномалија у групи трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода

(група I) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III).

Анализом гестацијске старости приликом упућивања трудница генетичару у генетичком саветовалишту значајно већи број трудница се јавио при старости трудноће од 17. гестацијске недеље, што је очекиван резултат имајући у виду да иако се током последње деценије дијагностика хромозомских аномалија настоји спровести при мањој гестацијској старости, узрок оваквог резултата лежи у организацијском оквиру здравствених служби, будући да је код већине трудница суспектан ултразвучни налаз или налаз скрининга биохемијским маркерима уочен у примарној здравственој заштити у периоду 11 – 13+6 гестацијских недеља, након чега су упућене у терцијални центар на даљу дијагностику. Решење проблема скраћивања времена током процеса пренаталног скрининга *Spencer* (141) налази у увођењу програма скрининга као што је *OSCAR* (engl. *One Step Clinic for Assessment of Risk*) који омогућава трудницама обављање ултразвучног прегледа, добијања резултата биохемијских маркера на хромозомопатије и генетичког саветовања у истом дану али овакав концепт пренаталног скрининга могуће је спровести искључиво у терцијалним здравственим центрима у којима постоји добро организована мултидисциплинарна дијагностика, због чега представља веома захтеван и тешко изводљив процес у економском и организационом смислу.

У погледу броја претходних трудноћа најчешће су биле труднице у првој трудноћи (47% у I групи, 35% у II групи, 40% у III групи), затим труднице са једном претходном трудноћом (27% у I групи, 33% у II групи, 26% у III групи), док више од једне претходне трудноће имало 26% трудница у I групи, 32% у II групи, 34% у III групи.

У истраживањима *Spencer*-а (84) која су истраживала разлике у вредностима биохемијских маркера пренаталног скрининга првог триместра у односу на паритет нису нађене статистички значајне разлике.

Значајан део студије представља анализу вредности појединачних биохемијских и ултразвучних параметара скрининга првог триместра на хромозомопатије као и њихову међусобну корелацију али и корелацију са анамнестичким подацима трудница у циљу процене ризика од хромозомопатија.

Ултразвучни маркери хромозомопатија детектовани су током редовних ултразвучних прегледа у првом и другом триместру док за ултразвучне маркере хромозомских аномалија у трећем триместру трудноће нису добијени подаци будући да су се све испитанице из групе трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода одлучиле за елективни прекид трудноће из медицинских разлога.

Детектовани ултразвучни маркери хромозомопатија првог триместра су: цистични хигром, задебљање нухалне транслуценције и одсутност носне кости.

Ултразвучни маркери хромозомских аномалија првог триместра детектовани су код укупно 92 труднице ($N=92/300$; 30,7%) и то 34 у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода ($N=34/100$; 34%), 44 у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода ($N=44/100$; 44%) и 14 у групи трудница са нормалним кариотипом плода ($N=14/100$; 14%). Најчешће је детектовано задебљање нухалне транслуценције – код 12 трудница у I групи ($N=12/100$; 12%), 24 труднице у II групи ($N=24/100$; 24%) и 10 трудница у III групи ($N=10/100$; 10%). Цистични хигром детектован је код 11 трудница у I групи ($N=11/100$; 11%), 15 трудница у II групи ($N=15/100$; 15%), док у III групи није детектован ниједан случај цистичног хигрома. Одсуство носне кости детектовано је код 3 труднице у I групи ($N=3/100$; 3%), 4 труднице у II групи ($N=4/100$; 4%) и код 1 труднице у III групи. ($N=1/100$; 1%).

Измерене су веће просечне вредности нухалне транслуценције у групи трудница са ретком хромозомском аномалијом плода – I група (1,81 мм) као и у групи са тризомијом плода 21, 13 и 18 – II група (1,86 мм) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,26 мм) док је у групи трудница са ретком хромозомском аномалијом плода – I група, забележен највећи опсег вредности (0,47-8,60).

Према резултатима истраживања, вредност нухалне транслуценције представља значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију ретких хромозомских аномалија плода у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III) али не представљају значајан фактор у диференцијацији ретких хромозомских аномалија плода (група I) у односу на

групу трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II).

Вредност нухалне транслуценције представља значајан фактор који такође утиче на пренаталну детекцију монозомија, док код мозаицизама, небалансираних / де ново транслокација, осталих структурних аномалија и осталих нумеричких аномалија нема статистички значајне разлике за вредност нухалне транслуценције у односу на трудноће са нормалним кариотипом плода.

До сличних резултата долази *Huang* (142) у студији у којој је истраживао налазе пренаталног скрининга код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама у којој се наводе статистички значајно веће вредности нухалне транслуценције код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама (3,09 *MoM*) у односу на групу трудноћа са балансираним хромозомским транслокацијама (1,79 *MoM*) као и трудноћа са нормалним кариотипом (1,70 *MoM*). До истоветних резултата долази *Cheng* (143) који у истраживању вредности нухалне транслуценције код трудноћа захваћених транслокацијом хромозома налази статистички значајно веће вредности нухалне транслуценције код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама (2,9 +/- 1,2 мм) у односу на групу трудноћа са балансираним хромозомским транслокацијама (1,0 +/- 0,6 мм) као и трудноћа са нормалним кариотипом (1,0 +/- 0,8 мм).

Детектовани ултразвучни маркери хромозомопатија другог триместра подељени су у следеће групе:

- Аномалије централног нервног система (вентрикуломегалија, хидроцефалус, краниоспиналне аномалије, аномалије задње лобањске јаме, цисте хориоидног плексуса)
- Аномалије лица (назална хипоплазија, расцеп усне и непца, микрогнатија, хипотелоризам, хипертелоризам, дефекти ушне шкољке)
- Аномалије кардиоваскуларног система (АСД, ВСД, остале аномалије срца и великих крвних судова, хиперехогени фокус срца)
- Мишићно-скелетне аномалије (аномалије шака и стопала, скраћење једне или више дуге кости)

- Аномалије урогениталног тракта (диспластична болест бубрега, ренална агенеза, хидронефроза, пијелектазија)

- Аномалије гастроинтестиналног тракта (езофагеална атрезија, дуоденална атрезија, дијафрагмална хернија, омфалокела, хиперехогена црева)

Ултразвучни маркери хромозомских аномалија другог триместра детектовани су код укупно 80 трудница ($N=80/300$; 26,7%) и то 36 у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода ($N=36/100$; 36%), 24 у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода ($N=24/100$; 24%) и 20 у групи трудница са нормалним кариотипом плода ($N=20/100$; 14%).

У групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода (група I) најчешће су детектоване аномалије централног нервног система ($N=21/100$; 21%), затим аномалије гастроинтестиналног тракта ($N=14/100$; 14%) и аномалије лица и главе ($N=10/100$; 10%). Није детектован ниједан ултразвучни маркер хромозомских аномалија из групе мишићно-скелетних аномалије и аномалија урогениталног тракта. У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије ($N=13/100$; 13%) и аномалије кардиоваскуларног система ($N=7/100$; 7%). Није детектован ниједан ултразвучни маркер хромозомских аномалија из групе аномалија урогениталног тракта. У групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III) најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије ($N=6/100$; 6%) и аномалије лица и главе ($N=5/100$; 5%).

У групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода (група I) код 22 труднице је детектован један ултразвучни маркер хромозомских аномалија ($N=22/100$; 22%), код 11 трудница су детектована два ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=11/100$; 11%) док су код 3 труднице детектована три ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=3/100$; 3%). У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 (група II) код 21 труднице је детектован један ултразвучни маркер хромозомских аномалија ($N=21/100$; 21%), код 4 труднице су детектована два ултразвучна маркера хромозомских аномалија

($N=4/100$; 4%) док су код 1 труднице детектована три ултразвучна маркера хромозомских аномалија ($N=1/100$; 1%). Код трудница са нормалним кариотипом плода (група III) није нађен ниједан случај са два или више више ултразвучних маркера хромозомских аномалија.

N. Veana (144) у студији у којој је истраживао налазе пренаталног скрининга код трудноћа захваћеним ретким хромозомским аномалијама наводи као најчешће детектоване ултразвучне маркере хромозомопатија цистични хигром (20,6%), дефекте ЦНС (17,6%), срчане мане (13,2%) и дефекте дијафрагме (10,3%), при чему присуство једног ултразвучног маркера хромозомопатија је детектовано код 59,6%, два ултразвучна маркера код 23% а три ултразвучна маркера код 17,3%.

Највеће просечне вредности слободног β -hCG присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (2,04 MoM), затим у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,70 MoM) и најмања вредност у групи трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,48 MoM) док је у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен највећи опсег вредности (0,27 – 18,50).

Најмање просечне вредности PAPP-A присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (0,81 MoM), затим у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,07 MoM) и највећа просечна вредност у групи трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,20 MoM) док је у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен највећи опсег вредности (0,04 – 4,90).

Према резултатима истраживања, вредности PAPP-A представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију хромозомских аномалија у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), у односу на остале две посматране групе, али не представљају значајан фактор код диференцијације хромозомских аномалија у групи трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије плода (група I) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група

III).

Анализом по подгрупама ретких хромозомских аномалија вредност *PAPP-A* представља значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију монозомија док код мозаицизама, небалансираних / *de novo* транслокација, осталих структурних аномалија и осталих нумеричких аномалија не налазимо статистички значајну разлику у односу на трудноће са нормалним кариотипом плода.

Мање просечне вредности алфа фетопротеина присутне су у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (0,8 *MoM*) у односу групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,15 *MoM*) као и на групу трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (1,01 *MoM*). У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група забележен је највећи опсег вредности (0,04 – 2,09 *MoM*).

Вредности алфа фетопротеина представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију најчешћих тризомија хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III) али не представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију ретких хромозомских аномалија плода (група I) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III) нити представља значајан фактор у диференцијацији ретких хромозомских аномалија плода (група I) у односу на труднице са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II).

Мање просечне вредности неконјугованог естриола присутне су у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода – I група (0,9 *MoM*) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода – III група (1,4 *MoM*) као и на групу трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група (1,53 *MoM*). У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група забележен је највећи опсег вредности (0,09 – 4,17 *MoM*).

Вредности неконјугованог естриола представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију ретких хромозомских аномалија плода (група I)

у односу на остале две групе трудница, али не представљају значајан фактор који утиче на пренаталну детекцију најчешћих тризомија хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) у односу на групу трудница са нормалним кариотипом плода (група III).

Huang (142) у студији у којој је истраживао налазе пренаталног скрининга код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама налази статистички значајно веће вредности слободног β -hCG код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама (1,86 MoM) у односу на групу трудноћа са балансираним хромозомским транслокацијама (1,29 MoM) као и трудноћа са нормалним кариотипом (1,29 MoM). Такође налази значајно ниже серумске вредности PAPP-A код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским транслокацијама (0,60 MoM) у односу на групу трудноћа са балансираним хромозомским транслокацијама (1,18 MoM) као и трудноћа са нормалним кариотипом (1,29 MoM). *Huang* наводи да је узрок оваквих налаза поремећена регулација транскрипције гена који утичу на синтезу β -hCG и PAPP-A код трудноћа захваћеним небалансираним хромозомским аномалијама. До значајно нижих вредности PAPP-A (0,26 MoM) долази *Ochshorn* (145) у испитивању серумских вредности PAPP-A код „non-Down“ хромозомских аномалија, што аутор објашњава резултатом абнормалне функције плаценте и закључује да ниске серумске вредности PAPP-A представљају осетљив показатељ различитих врста анеуплоидија, од триплоидија до небалансираних хромозомских транслокација.

Анализом индикација за спровођење инвазивних пренаталних интервенција за сваку од три групе трудница утврђено је да су прву групу индикација чинила одступања вредности биохемијских маркера скрининга првог триместра од референтних вредности. Другу групу индикација представљају ултразвучни маркери хромозомопатија првог триместра – цистични хигром, задебљање нухалне транслуценције и одсутност носне кости. Трећу групу су чинили ултразвучни маркери хромозомопатија другог триместра. Четврта група индикација била је доб труднице од 35 година или више. Пету групу чине оптерећена породична анамнеза и родитељ носитељ балансиране транслокације. Шесту групу чиниле су све остале индикације: претходна трудноћа са хромозомопатијом, феталним аномалијама или другим

болестима.

Добијени резултати указују да су најчешћа индикације за извођење инвазивне пренаталне дијагностике у све три групе – у групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I), у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода (група III), били налази биохемијског скрининга првог триместра – 1. група индикација (60% у I групи, 63% у II групи и 63% у III групи), а након њих су следиле трудничина доб – 4. група индикација (33% у I групи, 52% у II групи и 38% у III групи) затим ултразвучни налази првог триместра – 2. група индикација (24% у I групи, 28% у II групи и 7% у III групи) и ултразвучни налази другог триместра – 3. група индикација (12% у I групи, 25% у II групи и 7% у III групи) постојање хромозомопатије у породичној анамнези – 5. група индикација (27% у I групи, 17% у II групи и 8% у III групи), и потом остале индикације у мањој мери (3% у I групи, 3% у II групи и 6% у III групи).

Добијени резултати указују да су најчешћа индикација за извођење амниоцентезе у све три групе – код трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I), трудноћа захваћених најчешћим тризомијама (група II) као и код трудница са нормалним кариотипом плода (група III), били налази биохемијског скрининга првог триместра – 1. група индикација (54% у I групи, 58% у II групи и 54% у III групи), а након њих су следиле трудничина доб – 4. група индикација (23% у I групи, 28% у II групи и 7% у III групи) затим постојање хромозомопатије у породичној анамнези – 5. група индикација (23% у I групи, 17% у II групи и 7% у III групи) и ултразвучни налази првог триместра – 2. група индикација (23% у I групи, 28% у II групи и 7% у III групи), ултразвучни налази другог триместра – 3. група индикација (6% у I групи, 14% у II групи и 5% у III групи) и потом остале индикације у мањој мери. Резултати анализе индикација у укупном броју извршених амнио/кордоцентеза указују да су ултразвучни налази првог и другог триместра били више присутни као индикација код честих хромозомских аномалија у односу на ретке хромозомске аномалије док је постојање хромозомопатије у породичној анамнези било више присутно као индикација код ретких хромозомских аномалија у односу на честе хромозомске аномалије. Резултати овог

истраживања су у складу са ранијим студијама, као што је студија *Zhang*-а (146), спроведена у Кини, у којој су евалуиране индикације за извођење амниоцентезе и налази се да је најчешћа индикација била налаз биохемијског скрининга (43,67%).

Такође, слични резултати се наводе у студији *Nastran*-а у Ирану (147) који наводи да су најчешћа индикација за амниоцентезе били налази биохемијског скрининга првог триместра (58,04%), затим налази комбинованог теста, биохемијски маркери и повишена вредност *NT* (11,5%), амниоцентеза на властити захтев (4,9%), повишена вредност *NT* и абнормалан ултразвучни налаз (3,78%), при чему је код 78,7% случајева дијагностика вршена на основу постојања само једне индикације, 20,6% на основу постојања две индикације док је само 0,7% имало 3 и више индикације.

У овом истраживању код највећег броја трудница инвазивна дијагностика је вршена на основу постојања само једне индикације: 52 случаја у I групи, 37 случајева у II групи и 71 случај у III групи, а нешто мање на основу постојања две индикације: 38 случајева у I групи, 45 случајева у II групи и 29 случајева у III групи. У групи трудница са ретким хромозомским аномалијама плода (група I) и у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II) инвазивна дијагностика је вршена и на основу три или четири индикације.

Chang у истраживању спроведеном у Тајвану (148), на 31,556 извршених амниоцентеза налази да је најчешћа индикација за извођење амниоцентезе била старија трудничина доб (75,11%), затим абнормални резултати биохемијског скрининга другог триместра (13,22%), и абнормалан ултразвучни налаз.

N. Veana (144) у студији у којој је истраживао налазе пренаталног скрининга код трудноћа захваћеним ретким хромозомским аномалијама налази да је најчешћа индикација за извођење амниоцентезе била високоризични ултразвучни налаз (45%), старија трудничина доб и серум маркери у 22,8% док је 31% ретких хромозомских аномалија детектовано након порођаја. На значај ултразвучног скрининга при детекцији ретких хромозомских аномалија указује и студија *Al-Kountly* (149) који налази значајно већи проценат ретких хромозомских аномалија које су ултразвучна детектоване (42,8%), у односу на

најчешће хромозомопатије које су ултразвучно детектоване код 34,7% случајева.

Резултати овог истраживања указују на постојање значајног броја трудница млађих од 35 чија је индикација за извођење инвазивне дијагностике био патолошки ултразвучни налаз или налази биохемијског скрининга. Добијени резултати указују да су најчешћа индикација код жена млађих од 35 у све три групе – у групи са ретким хромозомским аномалијама плода – I група, групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода – II група, као и у групи трудница са нормалним кариотипом плода – III група, били налази биохемијског скрининга првог триместра (45% у I групи, 36% у II групи и 50% у III групи), а након њих су следили ултразвучни налази првог триместра (20% у I групи, 13% у II групи и 6% у III групи) и ултразвучни налази другог триместра (12% у I групи, 16% у II групи и 5% у III групи), и постојање хромозомопатије у породичној анамнези (21% у I групи, 10% у II групи и 5% у III групи), док су у мањој мери као индикација присутне остале индикације.

Уколико се не спроводи скрининг у широкој популацији трудница ниједна трудница не може бити у потпуности сигурна да актуелна трудноћа није захваћена хромозомском аномалијом, те постоји потреба за даљим унапређењем ултразвучног скрининга на хромозомске аномалије фетуса, што се нарочито односи на примену уређаја високих резолуција, 3Д и 4Д модела, доплерских мерења и увођења додатних ултразвучних маркера.

Доступност неинвазивних метода за процену ризика и рану дијагнозу хромозомских аномалија је врло важан предуслов за селекцију циљне популације за примену инвазивних метода пренаталне дијагностике.

Будући да претерана и неселективна примена метода скрининга у нискоризичним трудноћама може довести то непотребних инвазивних дијагностичких интервенција, што се најчешће односи на повећан број извршених амниоцентеза код еуплоидних трудноћа, неопходно је тежити ка развоју неинвазивних метода за процену ризика од хромозомопатија као најзначајнијег предуслова за рационалну селекцију трудница код којих је индиковано спровођење инвазивних метода. Нарочито је важно, уз уважавање

високих професионалних стандарда, тежити ка континуираном унапређивању програма неинвазивног скрининга. Кроз усавршавање смерница у пренаталној дијагностици настоји се најефикаснијим путем доћи до детекције ретке хромозомске аномалије, уз најмањи ризик од нежељених исхода. (132) Резултати ове студије иду у прилог тврдњи да се континуираним развојем савремених метода неинвазивне пренаталне дијагностике, као што су примена ултразвучних апарата високе резолуције при редовним контролама трудница као и едукација лекара за спровођење метода неинвазивног пренаталног скрининга, омогућава широкој популацији трудница да буду обухваћене скринингом а тиме и олакшава детекција ретких конгениталних хромозомских аномалија. У данашње време је значајно унапређена ултразвучна дијагностика применом уређаја високих резолуција, 3Д и 4Д модела, као и доплерских мерења чиме је увелико олакшана детекција конгениталних аномалија.

Из тог разлога је важно указати на неопходно планирање стратегије пренаталне детекције не само најчешћих хромозомских аномалија већ и ретких хромозомских аномалија кроз мултидисциплинарну сарадњу у унапређивању неинвазивне и инвазивне пренаталне дијагностике у циљу рађања здравог потомства.

Како су хромозомске аномалије један од најзначајнијих узрока спонтаних побачаја, мртворођења, а уколико се дете са ретком хромозомском аномалијом роди узрок су перинаталне смртности и инвалидитета и представљају велики здравствени, економски и социјални проблем, те је препознавање трудноћа захваћених ретким хромозомским аномалијама од изузетног значаја за давање исправне генетичке информације за супружнике који желе здраво потомство. (130,138)

Иако се пренатални скрининг на хромозомске аномалије протеклих неколико деценија успешно примењује у клиничкој пракси, постоји потреба за дефинисањем алгорита дијагностичких поступака код трудница који ће обухватати детекцију не само најчешћих него и ретких хромозомских аномалија фетуса. Ретке хромозомске аномалије се, за разлику од најчесталијих хромозомских аномалија тризомија хромозома 21, 13 и 18, не одликују постојањем карактеристичних ултразвучних маркера па се у случајевима када није рађена кариотипизација фетуса догађа да не буду пренатално откривене.

Појединачно посматрано поједине хромозомске аномалије се ретко јављају, али када се све ретке хромозомске аномалије посматрају као једна група, оне такође представљају значајан удео пренаталне патологије и имају медицински значај.

7 ЗАКЉУЧАК

Највећи број трудница био је старости 31 – 35 година у групи трудница где је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса (група I) и групи трудница са нормалним кариотипом (група III) док је у групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 плода (група II), највећи број трудница био старости 36 – 40 година.

У погледу броја претходних трудноћа најчешће су биле труднице у првој трудноћи, затим труднице са једном претходном трудноћом.

Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија првог триместра трудноће у све три испитиване групе трудница најчешће је детектовано задебљање нухалне транслуценције, затим цистични хигром и одсуство носне кости.

Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,017$) у вредностима нухалне транслуценције у првом триместру трудноће у групи трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу трудница са нормалним кариотипом, као и између групе трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса у односу на групу трудница са нормалним кариотипом при чему се значајно највеће вредности нухалне транслуценције налазе у групи трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса.

Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија другог триместра трудноће у групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода најчешће су детектоване аномалије централног нервног система, затим аномалије гастроинтестиналног тракта. У групи трудница са дијагностикованим најчешћим тризомијама хромозома 21, 13 и 18 фетуса најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије трупа и удова и аномалије кардиоваскуларног система. Код трудница са нормалним кариотипом плода најчешће су детектоване мишићно-скелетне аномалије трупа и удова. Од ултразвучних маркера хромозомских аномалија другог триместра трудноће у групи трудница са дијагностикованом ретком хромозомском аномалијом плода најчешће су детектовани у подгрупи ретких хромозомских аномалија-

монозомија.

Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,017$) вредности биохемијског маркера PAPP-A (са трудноћом повезаног плазма протеина) у првом триместру трудноће у групи трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса као и групе трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса у односу на групу трудница са нормалним кариотипом фетуса при чему се значајно најмање вредности PAPP-A налазе у групи трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса.

Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,01$) у вредностима PAPP-A (са трудноћом повезаног плазма протеина) и нухалне транслуценције у првом триместру трудноће између групе трудница са нормалним кариотипом плода и подгрупе ретких хромозомских аномалија- монозомија.

Није нађена статистички значајна разлика у вредностима серумских концентрација free beta HCG (слободни бета хумани хорионски гонадотропин) у првом триместру трудноће између испитиваних група трудница као ни између подгрупа ретких хромозомских аномалија.

Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,017$) вредности биохемијског маркера алфа фетопротеина у другом триместру трудноће у групи трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса као и односу на групу трудница са нормалним кариотипом фетуса при чему се значајно најмање вредности алфа фетопротеина налазе у групи трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса.

Постоји статистички значајна разлика ($p < 0,017$) вредности биохемијског маркера неконјугованог естриола у другом триместру трудноће између групе трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса у односу на групу трудница са нормалним кариотипом док није нађена статистички значајна разлика вредности између групе трудница којима је постављена дијагноза ретке хромозомске аномалије фетуса у односу на групу

трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса као ни у односу на групу трудница са нормалним кариотипом фетуса. Најмање вредности неконјугованог естриола налазе у групи трудница са најчешће дијагностикованом тризомијом хромозома 21, 13 и 18 фетуса.

Ретке хромозомске аномалије чине значајан удео пренатално детектованих хромозомских аномалија фетуса. Најчешће се детектују због одступања вредности биохемијског маркера првог триместра од референтог опсега вредности, доби труднице и затим због детекције ултразвучних маркера хромозомских аномалија.

8 ЛИТЕРАТУРА

1. Turnpenny PD, Ellard S. Emeryjeve osnove medicinske genetike. 14th ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
2. Obe G, Pfeiffer P, Savage JR, et al. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutat Res.* 2002;504(1-2):17-36.
3. Fragouli E, Alfarawati S, Spath K, et al. Analysis of implantation and ongoing pregnancy rates following the transfer of mosaic diploid-aneuploid blastocysts. *Hum Genet.* 2017;136(7):805-19.
4. Keagle M, Gersen S. *The Principles of Clinical Cytogenetics*, 2nd ed. Totowa, NJ: Humana Press; 2004.
5. Nussbaum R, McInnes R, Williard H, et al. *Genetics in medicine*. 7th ed. Estados Unidos: Saunders; 2007.
6. Dashe JS. Aneuploidy screening in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2016;128(1):181-194.
7. Boyd PA, De Vigan C, Khoshnood B, et al. Survey of prenatal screening policies in Europe for structural malformations and chromosome anomalies, and their impact on detection and termination rates for neural tube defects and Down's syndrome. *BJOG.* 2008;115(6):689-96.
8. Balić D, Balić A. Antenatalna dijagnostika fetalnih anomalija i hromozomskih abnormalnosti. *Pedijatrija danas.* 2008;4(1):42-52.
9. Chasen ST, Kalish RB, Chervenak FA. Gestational age at abortion: the impact of first-trimester risk assessment for aneuploidy. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(3):839-42.
10. Hourrier S, Salomon LJ, Dreux S et al. Screening for adverse pregnancy outcome at early gestational age. *Clin Chim Acta.* 2010;411(21-22):1547-52.
11. Brown S. Miscarriage and its associations. *Semin Reprod Med.* 2008;26(5):391-400.
12. Bianco K, Caughey AB, Shaffer BL et al. History of miscarriage and increased incidence of fetal aneuploidy in subsequent pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2006;107(5):1098-102.
13. Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med.* 2006;24(1):17-24.
14. Imataka G, Nitta A, Suzumura H et al. Survival of trisomy 18 cases in Japan. *Genet Couns.* 2007;18(3):303-8.
15. Morris JK, Savva GM. The risk of fetal loss following a prenatal diagnosis of trisomy 13 or trisomy 18. *Am J Med Genet.* 2008;146(7):827-32.
16. Yusuf RZ, Naeem R. Cytogenetic abnormalities in products of conception: a relationship revisited. *Am J Reprod Immunol.* 2004;52(1):88-96.
17. Park IY, Kwon JY, Kim YH et al. Maternal age-specific rates of fetal chromosomal abnormalities at 16-20 weeks' gestation in Korean pregnant women ≥ 35 years of age. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(4):214-21.
18. Vogt E, Kirsch-Volders M, Parry J et al. Spindle formation. Chromosome segregation and the spindle checkpoint in mammalian oocytes and susceptibility to meiotic error. *Mutat Res.* 2008; 651:14-29.

19. Hulten MA, Patel SD, Tankimanova M et al. On the origin of trisomy 21 Down syndrome. *Mol Cytogenet.* 2008;1:21.
20. Keefe DL, Liu L. Telomeres and reproductive aging. *Reprod Fertil Dev.* 2009;21:10-14.
21. Coppedè F, Marini G, Bargagna S et al. Folate gene polymorphisms and the risk of Down syndrome pregnancies in young Italian women. *Am J Med Genet A.* 2006;140(10):1083-91.
22. Coppedè F. The complex relationship between folate/homocysteine metabolism and risk of Down syndrome. *Mutat Res.* 2009;682(1):54-70.
23. Sata F, Yamada H, Suzuki K et al. Caffeine intake, CYP1A2 polymorphism and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod.* 2005;11(5):357-60.
24. Torfs CP, Christianson RE. Effect of maternal smoking and coffee consumption on the risk of having a recognized Down syndrome pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2000;152(12):1185-91.
25. Hultén MA, Patel S, Jonasson J et al. On the origin of the maternal age effect in trisomy 21 Down syndrome: the Oocyte Mosaicism Selection model. *Reproduction.* 2010;139:1-9.
26. Grau Madsen S, Uldbjerg N, Sunde L, et al. Prognosis for pregnancies with trisomy 16 confined to the placenta: A Danish cohort study. *Prenat Diagn.* 2018;38(13):1103–10.
27. López-Félix J, Flores-Gallegos L, Garduño-Zarazúa L, et al. Partial trisomy 9: prenatal diagnosis and recurrence within same family. *Clin Case Rep.* 2017;5(6):986-92.
28. Vičić A, Hafner T, Bekavac Vlatković I, et al. Prenatal diagnosis of Down syndrome: a 13-year retrospective study. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2017;56(6):731–5.
29. Deng C, Yi L, Mu Y, et al. Recent trends in the birth prevalence of Down syndrome in China: impact of prenatal diagnosis and subsequent terminations. *Prenat Diagn.* 2015;35(4):311–8.
30. Xu HH, Dai MZ, Wang K, et al. A rare Down syndrome foetus with de novo 21q;21q rearrangements causing false negative results in non-invasive prenatal testing: a case report. *BMC Medical Genomics.* 2020;13(1):96.
31. Lin HY, Lin SP, Chen YJ, et al. Clinical characteristics and survival of trisomy 18 in a medical center in Taipei, 1988–2004. *Am J Med Genet A.* 2006;140(9):945–51.
32. Meyer RE, Liu G, Gilboa SM, et al. Survival of children with trisomy 13 and trisomy 18: A multi-state population-based study. *Am J Med Genet A.* 2016;170A(4):825–37.
33. Hassold T, Merrill M, Adkins K et al. Recombination and maternal age-dependent nondisjunction: molecular studies of trisomy 16. *Am J Hum Genet.* 1995;57(4):867-74.
34. Farfalli VI, Magli MC, Ferraretti AP et al. Role of aneuploidy on embryo implantation. *Gynecol Obstet Invest.* 2007;64(3):161-5.
35. Grati FR, Barlocco A, Grimi B et al. Chromosome abnormalities investigated by non-invasive prenatal testing account for approximately 50% of fetal unbalances associated with relevant clinical phenotypes. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(6):1434-42.
36. Zhu J, Liu H, Tang J, et al. Unusual trend in the prevalence of trisomy 13 in mothers aged 35 and older: A population based study of national congenital anomaly data. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2015;103(7):610–6.

37. Sumner A. Chromosomes Organization and Function, editors Oxford: Blackwell Science Ltd; 2003.
38. Gardner RJ, Sutherland G, Shaffer L, editors. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2012.
39. Li X. Sex chromosomes and sex chromosome abnormalities. Clin Lab Med. 2011;31(4):463-79.
40. Reiss RE, Discenza M, Foster J, et al. Sex chromosome aneuploidy detection by noninvasive prenatal testing: helpful or hazardous? Prenat Diagn. 2017;37(5):515-20.
41. Lucas-Herald AK, Cann F, Crawford L, et al. The outcome of prenatal identification of sex chromosome abnormalities. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2016;101(5):423-7.
42. Zhong Q, Layman LC. Genetic considerations in the patient with Turner syndrome--45,X with or without mosaicism. Fertil Steril. 2012;98(4):775-9.
43. Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J et al. The meiotic competence of in-vitro matured human oocytes is influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary. Hum Reprod. 1998;13(1):154-60.
44. Grati FR, Malvestiti F, Branca L, et al. Chromosomal mosaicism in the fetoplacental unit. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2017;42:39-52.
45. Grati FR, Grimi B, Frascoli G, et al. Confirmation of mosaicism and uniparental disomy in amniocytes, after detection of mosaic chromosome abnormalities in chorionic villi. Eur J Hum Genet. 2006;14(3):282-8.
46. Mackay DJG, Temple IK. Human imprinting disorders: principles, practice, problems and progress. Eur J Med Genet. 2017;60(11):618-26.
47. Eggermann T, Soellner L, Buiting K, et al. Mosaicism and uniparental disomy in prenatal diagnosis. Trends Mol Med. 2015;21(2):77-87.
48. Dawson AJ, Chernos J, McGowan-Jordan J, et al. Canadian College of Medical Geneticists committees.CCMG guidelines: prenatal and postnatal diagnostic testing for uniparental disomy. Clin Genet. 2011;79(2):118-124.
49. Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man. Berlin: Walter de Gruyter; 2001.
50. Ghosh S, Bhaumik P, Ghosh P et al. Chromosome 21 non-disjunction and Down syndrome birth in an Indian cohort: analysis of incidence and aetiology from family linkage data. Genet Res. 2010;92(3):189-97.
51. Montazerinezhad S, Emamjomeh A, Hajieghrari B. Chromosomal abnormality, laboratory techniques, tools and databases in molecular Cytogenetics. Mol Biol Rep. 2020;47:9055-73.
52. Wellesley D, Dolk H, Boyd P end al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. Eur J Hum Genet. 2012;20(5):521-6.
53. Halgren C, Nielsen NM, Nazaryan-Petersen L, et al. Risks and recommendations in prenatally detected de novo balanced chromosomal rearrangements from assessment of long-term outcomes. Am J Hum Genet. 2018;102(6):1090-103.
54. Shaw CJ, Lupski JR. Implications of human genome architecture for rearrangement-

- based disorders: the genomic basis of disease. *Hum Mol Genet.* 2004;13 Spec No 1:R57-64.
55. Zhang F, Carvalho CM, Lupski JR. Complex human chromosomal and genomic rearrangements. *Trends Genet.* 2009;25(7):298-307.
56. Wang Y, Chen Y, Zhang J, et al. Maternal mosaicism is a significant contributor to discordant sex chromosomal aneuploidies associated with noninvasive prenatal testing. *Clin Chem.* 2014;60(1):251-9.
57. Tug E, Karcaaltincaba D, Yirmibeş Karaoğuz M, et al. Confirmation of the prenatal mosaic trisomy 2 via fetal USG and cytogenetic analyses. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(13):1579–83.
58. Burnside RD. 22q11.21 Deletion syndromes: a review of proximal, central, and distal deletions and their associated features. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146(2):89-99.
59. Watson CT, Marques-Bonet T, Sharp AJ, et al. The genetics of microdeletion and microduplication syndromes: an update. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2014;15:215-44.
60. Tesner P, Vlckova M, Drabova J, et al. Molecular cytogenetic diagnostics of marker chromosomes: analysis in four prenatal cases and long-term clinical evaluation of carriers. *Cytogenet Genome Res.* 2018;154(4):187-95.
61. Yakut S, Cetin Z, Berker-Karauzum S, et al. De novo supernumerary marker chromosome originating from chromosome 17 resulting in a normal pregnancy outcome. *Genet Couns.* 2011;22(1):63-8.
62. Li MM, Howard-Peebles PN, Killos LD, et al. Characterization and clinical implications of marker chromosomes identified at prenatal diagnosis. *Prenat Diagn.* 2000;20(2):138–143.
63. Zhang HG, Liu XY, Hou Y, et al. Reproductive outcome of a case with familial balanced translocation t(3;6): implications for genetic counseling. *Genet Mol Res.* 2015;14(1):2809-15.
64. Wilch ES, Morton CC. Historical and clinical perspectives on chromosomal translocations. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1044:1–14.
65. Sodr  CP, Guilherme RS, Meloni VF, et al. Ring chromosome instability evaluation in six patients with autosomal rings. *Genet Mol Res.* 2010;9(1):134-43.
66. Guilherme R, Klein E, Hamid A, et al. Human ring chromosomes - new insights for their clinical significance. *Balkan J Med Genet.* 2013;16(1):13-20.
67. Cakmak Celik F, Aygun C, Kucukoduk S, et al. Maternal and neonatal outcomes in advanced maternal age: a retrospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(20):2452-6.
68. Resta RG. Changing demographics of advanced maternal age (AMA) and the impact on the predicted incidence of Down syndrome in the United States: implications for prenatal screening and genetic counseling. *Am J Med Genet A.* 2005;133A(1):31–6.
69. Patsalis PC. Complex chromosomal rearrangements. *Genet Couns.* 2007;18(1):57-69.
70. Karaoguz MY, Bal F, Yakut T et al. Cytogenetic results of amniocentesis materials: incidence of abnormal karyotypes in the Turkish collaborative study. *Genet Couns.*

- 2006;17(2):219-30.
71. Yong PJ, Marion SA, Barrett IJ et al. Evidence for imprinting on chromosome 16: the effect of uniparental disomy on the outcome of mosaic trisomy 16 pregnancies. *Am J Med Genet.* 2002;112(2):123-32.
 72. Kotzot D. Complex and segmental uniparental disomy (UPD): review and lessons from rare chromosomal complements. *J Med Genet.* 2001;38(8):497-507.
 73. Carlin AJ, Alfirevic Z. Techniques for chorionic villus sampling and amniocentesis: a survey of practice in specialist UK centres. *Prenat Diagn.* 2008;28(10):914-9.
 74. Benn PA. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through chorionic villus sampling and amniocentesis. In Milunski A, Milunski M, editors. *Genetic disorders and the fetus.* 7th ed.: Wiley-Blackwell; 2016. 178-266.
 75. Alfirevic Z, Navaratnam K, Mujezinovic F. Amniocentesis and chorionic villus sampling for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;9(9):321-8.
 76. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Practice bulletin no. 163: screening for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):123-37.
 77. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Practice bulletin no. 162: prenatal diagnostic testing for genetic disorders. *Obstet Gynecol.* 2016;127(5):108-22.
 78. Graham L. ACOG Releases Guidelines on Screening for Fetal Chromosomal Abnormalities. *Am Fam Physician.* 2007;76(5):712-16.
 79. Cox TM, Sinclair J. *Molekularna biologija u medicini.* Zagreb: Medicinska naklada; 2000.
 80. Dugoff L. First- and second-trimester maternal serum markers for aneuploidy and adverse outcomes. *Obstet Gynecol.* 2010;115(5):1052-1061.
 81. Morris RK, Bilagi A, Devani P, et al. Association of serum PAPP-A levels in the first trimester with small for gestational age and adverse pregnancy outcomes: systematic and meta-analysis. *Prenat Diagn.* 2017;37(3):253-65.
 82. Berger VK, Norton ME, Sparks TN, et al. The utility of nuchal translucency ultrasound in identifying rare chromosomal abnormalities not detectable by cell-free DNA screening. *Prenat Diagn.* 2020;40(2):185-190.
 83. Topić E, Primorac D, Janković S, et al. *Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi.* 2. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
 84. Spencer K, Liao AW, Skentou H, et al. Screening for triploidy by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn.* 2000;20(6):495-9.
 85. Lao MR, Calhoun BC, Bracero LA, et al. The ability of the quadruple test to predict adverse perinatal outcomes in a high-risk obstetric population. *J Med Screen.* 2009;16(2):55-59.
 86. Huang T, Alberman E, Wald N, et al. Triploidy identified through second-trimester serum screening. *Prenat Diagn.* 2005;25(3):229-33.
 87. Armstrong N, Eborall H. The sociology of medical screening: past, present and future. *Sociology of Health & Illness.* 2012; 34 (2) :161-176.

88. Harris R, Sawaya GF, Moyer VG, et al. Reconsidering the criteria for evaluating proposed screening programs: reflections from 4 current and former members of the U.S. Preventive services task force. *Epidemiol Rev.* 2011;33(1):20–35.
89. Maxim LD, Niebo R, Utell MJ. Screening tests: a review with examples. *Inhal Toxicol.* 2014;26(13):811-28.
90. Spencer K, Aitken D. Factors affecting women's preference for type of prenatal screening test for chromosomal anomalies. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004;24(7):735–9.
91. Garne E, Loane M, Dolk H, et al. Prenatal diagnosis of severe structural congenital malformations in Europe. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;25(1):6–11.
92. de Jong A, Dondorp WJ, Frints SG, et al. Advances in prenatal screening: the ethical dimension. *Nat Rev Genet.* 2011;12(9):657-63.
93. Johnston J, Farrell RM, Parens E. Supporting women's autonomy in prenatal testing. *N Engl J Med.* 2017;377(6):505-507.
94. Ogilvie CM. Prenatal diagnosis for chromosome abnormalities: past, present and future. *Pathol Biol (Paris).* 2003;51(3):156–60.
95. Lindquist A, Poulton A, Halliday J, et al. Prenatal diagnostic testing and atypical chromosome abnormalities following combined first-trimester screening: Implications for contingent models of non-invasive prenatal testing. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(4):487–92.
96. Sheth F, Rahman M, Liehr T, et al. Prenatal screening of cytogenetic anomalies - a Western Indian experience. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015;15:90.
97. Nyberg DA, Souter VL. Sonographic markers of fetal trisomies: second trimester. *J Ultrasound Med.* 2001;20(6):655-74.
98. Sonek J, Nicolaides K. Additional first-trimester ultrasound markers. *Clin Lab Med.* 2010;30(3):573-92.
99. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, et al. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11–14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet.* 2001;358(9294):1665–7.
100. Salomon LJ, Alfirevic Z, Bilardo CM et al. ISUOG Practice Guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2013;41(1):102–13.
101. Saltvedt S, Almström H, Kublickas M, et al. Detection of malformations in chromosomally normal fetuses by routine ultrasound at 12 or 18 weeks of gestation - a randomised controlled trial in 39 572 pregnancies. *BJOG.* 2006;113(6):664–674.
102. Loughna P, Chitty L, Evans T, et al. Fetal size and dating: charts recommended for clinical obstetric practice. *Ultrasound: Journal of the British Medical Ultrasound Society.* 2009;17(3):161–6.
103. Wang JW, Guo LY, Chen L, et al. Detection of structural abnormalities and ultrasonic soft markers in the first trimester screening. *Indian J Pharm Sci.* 2020;82(3):77-82.
104. Chen M, Lee CP, Lam YH, et al. Comparison of nuchal and detailed morphology ultrasound examinations in early pregnancy for fetal structural abnormality screening: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(2):136–146.

105. von Kaisenberg CS, Kuhling-von Kaisenberg H, Fritzer E, et al. Fetal transabdominal anatomy scanning using standard views at 11 to 14 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192(2):535-42.
106. Bidondo MP, Groisman B, Duarte S, et al. Prenatal detection of congenital anomalies and related factors in Argentina. *J Community Genet.* 2020;11(3):313-320.
107. Ghi T, Sotiriadis A, Calda P, et al. ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48(2):256-68.
108. Torloni MR, Vedmedovska N, Merialdi M, et al. Safety of ultrasonography in pregnancy: WHO systematic review of the literature and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33(5):599-608.
109. Tørring N. First trimester combined screening - focus on early biochemistry. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016;76(6):435-47.
110. Palomaki GE, Steinort K, Knight GJ, et al. Comparing three screening strategies for combining first- and second-trimester Down syndrome markers. *Obstet Gynecol.* 2006;107(2 pt 1):367-75.
111. Guanciali-Franchi P, Iezzi I, Palka C, et al. Comparison of combined, stepwise sequential, contingent, and integrated screening in 7292 high-risk pregnant women. *Prenat Diagn.* 2011;31(11):1077-81.
112. Benn P, Wright D, Cuckle H. Practical strategies in contingent sequential screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2005;25(8):645-52.
113. Baer RJ, Flessel MC, Jelliffe-Pawłowski LL, et al. Detection rates for aneuploidy by first-trimester and sequential screening. *Obstet Gynecol.* 2015;126(4):753-9.
114. Benn PA, Campbell WA, Zelop CM, et al. Stepwise sequential screening for fetal aneuploidy. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197(3):318-322.
115. Audibert F, De Bie I, Johnson JA, et al. No. 348-Joint SOGC-CCMG guideline: update on prenatal screening for fetal aneuploidy, fetal anomalies, and adverse pregnancy outcomes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2018;40(8):1109.
116. Čulić V, Pavelić J, Radman M. Genetičko informiranje u praksi Zagreb: Medicinska naklada; 2016.
117. Wojcik MH, Reimers R, Poorvu T, et al. Genetic diagnosis in the fetus. *J Perinatol.* 2020;40(7):997-1006.
118. Stipoljev F. Citogenetika. In Kurjak A, Stavljenić-Rukavina A, Pavelić K, urednici. Prenatalna dijagnostika i terapija. Varaždinske Toplice: Nakladnička kuća Tonimir; 2000;187-202.
119. Stipoljev F, Vičić A. Prednosti i ograničenja invazivne prenatalne dijagnostike. *Paediatr Croat.* 2015;59(2):130-7.
120. Salomon LJ, Sotiriadis A, Wulff CB, et al. Risk of miscarriage following amniocentesis or chorionic villus sampling: systematic review of literature and updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019;54(4):442-51.
121. Durmaz AA, Karaca E, Demkow U, et al. Evolution of genetic techniques: past, present, and beyond. *Biomed Res Int.* 2015;2015:461-524.
122. Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, et al. Guidelines for molecular karyotyping in

- constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet.* 2007;15(11):1105–14.
123. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with serum markers for screening. *N Engl J Med.* 1994;330(16):1114–8.
124. Cogulu O, Ozkinay F, Akin H, et al. Reasons for adult referrals for genetic counseling at a genetics center in Izmir, Turkey: analysis of 8965 cases over an eleven-year period. *J Genet Couns.* 2011;20(3):287-93.
125. Stembalska A, Ryszard OE, Karolina P, et al. Prenatal diagnosis—principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007;45 Suppl 1:S11–6.
126. Stefansdottir V, Skirton H, Jonasson K, et al. Effects of knowledge, education, and experience on acceptance of first trimester screening for chromosomal anomalies. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010;89(7):931-8.
127. Scott F, Bonifacio M, Sandow R, et al. Rare autosomal trisomies: Important and not so rare. *Prenat Diagn.* 2018;38(10):765–71.
128. Kane DT, D'Alton ME, Malone F. Rare chromosomal abnormalities: Can they be identified using conventional first trimester combined screening methods? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X.* 2021;10:100-23.
129. Boycott KM, Vanstone MR, Bulman DE, et al. Rare-disease genetics in the era of next-generation sequencing: discovery to translation. *Nat Rev Genet.* 2013;14(10):681–691.
130. Kleinfinger P, Lohmann L, Luscan A, Trost D, Bidat L, Debarge V, Castaigne V, Senat MV, Brechard MP, Guilbaud L, Le Guyader G, Satre V, Laurichesse, Delmas H, Lallaoui H, Manca-Pellissier MC, Boughalem A, Valduga M, Hodeib F, Benachi A, Costa JM. Strategy for Use of Genome-Wide Non-Invasive Prenatal Testing for Rare Autosomal Aneuploidies and Unbalanced Structural Chromosomal Anomalies. *J Clin Med.* 2020 ;9(8):2466..
131. Pertile MD, Halks-Miller M, Flowers N, et al. Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease. *Sci Transl Med.* 2017;9(405).
132. Chatron N, Till M, Abel C, et al. Detection of rare autosomal trisomies through non-invasive prenatal testing: benefits for pregnancy management. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019;53(1):129–130.
133. Weng B, Li X. An external quality assessment scheme for prenatal detection of rare chromosomal abnormalities. *Clin Chim Acta.* 2012;413(21-22):1721-4.
134. Bishop C, Small N, Mason D, et al. Improving case ascertainment of congenital anomalies: findings from a prospective birth cohort with detailed primary care record linkage. *BMJ Paediatr Open.* 2017;1(1):1-11.
135. Dolk H, Loane M, Garne E. The prevalence of congenital anomalies in Europe. *Adv Exp Med Biol.* 2010;686:349–64.
136. Loane M, Morris JK, Addor MC, et al. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2013;21(1):27–33.
137. Breathnach FM, Malone FD, Lambert-Messerlian G, et al. First-and second-trimester

- screening: detection of aneuploidies other than Down syndrome. *Obstet Gynecol.* 2007;110(3):651–7.
138. Mak A, Lee H, Poon CF, et al. Factors associated with common and atypical chromosome abnormalities after positive combined first-trimester screening in Chinese women: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(1):55.
139. Ardawi MSM, Nasrat HA, Rouzi AA, et al. Maternal serum free- β -chorionic gonadotrophin, pregnancy-associated plasma protein-A and fetal nuchal translucency thickness at 10–13+6 weeks in relation to co-variables in pregnant Saudi women. *Prenat Diagn.* 2007;27(4):303–311.
140. Jhguch. Boxplot and a probability density function (pdf) of a Normal $N(0,1\sigma^2)$ Population. [Internet]. Commons.wikimedia.org. [Online].; 2011 [cited 2021 Maj 10]. Available from: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Boxplot_vs_PDF.svg.
141. Spencer K, Spencer CE, Power M et al. One stop clinic for assessment of risk for fetal anomalies: a report of the first year of prospective screening for chromosomal anomalies in the first trimester. *BJOG.* 2000;107(10):1271-5.
142. Huang S, Chang C, Cheng P et al. First-trimester combined screening is effective for the detection of unbalanced chromosomal translocations at 11 to 12 weeks of gestation. *Reprod Sci.* 2014;21(5):594-600.
143. Cheng PJ, Chang SD, Shaw SW et al. Nuchal translucency thickness in fetuses with chromosomal translocation at 11-12 weeks of gestation. *Obstet Gynecol.* 2005;105(5 Pt 1):1058-62.
144. Baena N, De Vigan C, Cariati E, et al. Prenatal detection of rare chromosomal autosomal abnormalities in Europe. *Am J Med Genet A.* 2003;118(4):319-27.
145. Ochshorn Y, Kupfermanc MJ, Wolman I, et al. First trimester PAPP-A in the detection of non-Down syndrome aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2001;21(7):547–549.
146. Zhang S, Yin M, Xu JZ, Lei CX, Wu JP, Sun XX, Zhang YP. Cytogenetic analysis for fetal chromosomal abnormalities by amniocentesis: Review of over 40,000 consecutive cases in a single center. *Reproductive and Developmental Medicine.*;1(2):84. 2017 Apr 1.
147. Akbari NA, Tooba K. Analyzing indications of amniocentesis and positive predictive value (PPV) of cytogenetic findings of chromosomal abnormalities. *Revista Latinoamericana de Hipertensión.* 2019;14(3):313–9.
148. Chang HP, Chiou JY, Chen JY, et al. Prenatal cytogenetic diagnosis in Taiwan: a nationwide population-based study. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(21):2521-8.
149. Al-Kouatly HB, Chasen ST, Gilbert F, et al. Correlation between rare chromosomal abnormalities and prenatal ultrasound findings. *Am J Med Genet A.* 2002;107(3):197-200.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
„ Неинвазивни пренатални скрининг у детекцији ретких хромозомских аномалија“
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Клиника за гинекологију и акушерство Клиничког центра Војводине, Нови Сад. б) Институт за здравствену заштиту деце и омладине Војводине, Нови Сад. в)
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
1. Опис података
<i>1.1 Врста студије</i> <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> <u>Докторска дисертација</u>
<i>1.2 Врсте података</i> а) <u>квантитативни</u> б) <u>квалитативни</u>
<i>1.3. Начин прикупљања података</i> а) анкете, упитници, тестови б) <u>клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</u> в) <u>генотипови: навести врсту –Анализа кариотипа рутинском Г- бендинг техником</u> г) административни подаци: навести врсту _____ д) узорци ткива: навести врсту _____ ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____ е) текст, навести врсту <u>литература</u> ж) мапа, навести врсту _____ з) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

- a) Excel фајл, датотека .xlsx,.csv
- b) SPSS фајл, датотека .spv,.sav
- c) PDF фајл, датотека .pdf
- d) Текст фајл, датотека .docx
- e) JPG фајл, датотека .jpg,.jpeg,.png,.tif
- f) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

- a) број варијабли велики број варијабли
- б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) 300 испитаница

1.3.3. Поновљена мерења

- a) да
- б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- a) временски размак између поновљених мера је _____
- б) варијабле које се више пута мере односе се на _____
- в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

a) Да

б) *Не*

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- а) експеримент, навести тип _____
- б) корелационо истраживање, навести тип корелација кариотипа плода са налазима ултрасонографских прегледа плода, налазима биохемијског скрининга, индикацијама за инвазивну пренаталну дијагностику и подацима из анамнезе.
- ц) анализа текста, навести тип прикупљање података из литературе
- д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

Биохемијски маркери првог триместра (протеин плазме везан за трудноћу и хумани хорионски гонадотропин и другог триместра алфа фето протеин, слободни бета хумани хорионски гонадотропин и некоњуговани естриол одређивани су сетовима *Brahms Kriptor* на анализатору *Brahms Kriptor (Brahms Henningsford, Germany)*, *Trace* технологијом која представља модификацију имунофлуорометријске методе. На основу унетих параметара израчунава се вредност биохемијских маркера у умношцима медијане (*MoM*) како би се омогућила процена ризика од хромозомских аномалија фетуса.

Одређивање феталног кариотипа рађено је класичном *Morheadovom* методом из лимфоцита феталне крви или из фибробласта амнионске течности у зависности од гестацијске доби. Од пацијенткиње се трансабдоминалном пункцијом из умбиликалне вене или из амниона узима 1-2 mL феталне крви или 20 mL плодове воде у хепаринизирани епрувету, а затим се крв центрифугира док се лимфоцити или фибробласти не издвоје у виду прстена изнад наталожених осталих крвних ћелија. Леукоцити или фибробласти се 3 дана инкубирају на медијуму који поспешује њихову митозу, на 37° C да се више пута поделе. Затим се митоза зауставља у метафази, када се хромозоми најбоље уочавају, додавањем колхицина или винбластина који спречавају образовање деобног вретена. Додавање хипотоног раствора изазива прскање мембране леукоцита и ослобађање хромозома, који се онда фиксирају и боје (класично употребом Гимза боје или методама бојења трака које омогућава откривање структурних и нумеричких аберација у специфичним регионима хромозома). Затим се направи размаз на плочици који се анализира под микроскопом у смислу броја, изгледа и величине хромозома, као и структурних и нумеричких аберација. Узорци ћелија за генетичке анализе су добијени инвазивним дијагностичким методама (биопсија хорионских чупица, амниоцентезе или кордоцентезе) на класичан начин, а одабир технике је зависио од гестацијске недеље. Узимање узорака за кариотипизацију фетуса спроводи се од стране гинеколога акушера. Индикације за кариотипизацију спроводе се од стране гинеколога и генетичара.

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? _____

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан применом статистичких тестова ,одбацивањем екстрема и валидацијом добијених података.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уписа података у матрицу је изведена поређењем добијених података са литературним подацима.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у **Репозиторијуму докторских дисертација Универзитета у Новом Саду.**

3.1.2. URL адреса **<https://cris.uns.ac.rs./searchDissertations.isf>**

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) **Да**

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? _____

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? **Да** **Не**

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да **Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
 - б) Подаци су анонимизирани
 - ц) Остало, навести шта
-
-

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) **јавно доступни**

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Хелена Хрњак Илић dr.hrnjak@gmail.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Хелена Хрњак Илић dr.hrnjak@gmail.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Хелена Хрњак Илић dr.hrnjak@gmail.com