

Παρελθόν και μέλλον στην προγεννητική διάγνωση. Θέσεις και αντιθέσεις

Ιωάννης Τζαφέττας

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας ΑΠΘ

Αλληλογραφία: Ιωάννης Τζαφέττας, "Ιπποκράτειο", Κωνσταντινουπόλεως 49, 54642 Θεσσαλονίκη
Τηλ. & Fax: 2310-822509
E-mail: tzafetas@the.forthnet.gr

Περίληψη

Μετά την πρώτη προγεννητική διάγνωση συνδρόμου Down το 1968, ύστερα από αμνιοπαρακέντηση σε έγκυο γυναίκα προχωρημένης ηλικίας, επακολούθησε μία σειρά βιοχημικών μεθόδων που εισήχθησαν στον τομέα της προγεννητικής διάγνωσης συγγενών παθήσεων του εμβρύου. Οι μέθοδοι αυτές σχετίζονται με ένα πολύ ικανοποιητικό ποσοστό αξιοπιστίας. Το κύριο πλεονέκτημά τους είναι το γεγονός ότι είναι μη επεμβατικές και σχετικά χαμηλού κόστους. Έτσι, μπορούν να εφαρμοστούν για μαζική παρακολούθηση στον ευρύτερο πληθυσμό (screening tests) και ως τέτοιες έχουν ήδη καθιερωθεί σε αρκετές χώρες. Όταν συνδυάζονται με υπερήχους η αξιοπιστία τους βελτιώνεται. Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι οι υπερηχογραφικοί δείκτες και ιδιαίτερα η αυχενική διαφάνεια, θα συνεχίσουν να αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο στην προγεννητική διάγνωση, ωστόσο, κατά κανόνα απαιτούν επιβεβαίωση της διάγνωσης με επεμβατική μέθοδο όπως είναι αυτή της αμνιοπαρακέντησης ή της βιοψίας χοριακής λάχνης. Το ίδιο βέβαια απαιτείται και στην περίπτωση των βιοχημικών δεικτών. Αξίζει να σημειωθεί ότι η παρουσία μεμονωμένου παθολογικού υπερηχογραφικού δείκτη όπως κύστεις χοριοειδών πλεγμάτων, υπερηχοϊκές ενδοκαρδιακές κηλίδες, υπερηχοϊκό έντερο, υδροκέφαλος και βράχυνση του μηριαίου ή βραχιονίου οστού, είναι αμελητέας προγνωστικής αξίας. Η διαπίστωση εξάλλου φυσιολογικής αυχενικής διαφάνειας σε γυναίκες υψηλού κινδύνου, όπως γυναίκες άνω των 35 ετών, δεν τις απαλλάσσει από τη γενικότερη ένδειξη για αμνιοπαρακέντηση. Η καθιέρωση της μεθόδου MRI ως μεθόδου προγεννητικής διάγνωσης απαλλαγμένης από την υποκειμενικότητα του χειριστή των υπερήχων, εμφανίζεται ως εναλλακτική προοπτική. Ως προέκταση των βιοχημικών μεθόδων θα μπορούσε να θεωρηθεί η ανάλυση εμβρυϊκών κυττάρων ή ελεύθερου (εξωκυττάρου) εμβρυϊκού DNA στο περιφερικό αίμα της μητέρας, μέθοδοι που βρίσκονται σε εξέλιξη και αναμένεται να απλοποιήσουν τα μέγιστα την προγεννητική διάγνωση. Η προεμφυτευτική διάγνωση εξάλλου έρχεται να προσφέρει υψηλής αξιοπιστίας αποτελέσματα και να απαλλάξει τους υποψήφιους γονείς από το δυσάρεστο δίλημμα της διακοπής της εγκυμοσύνης σε περίπτωση προγεννητικής διάγνωσης συγγενούς πάθησης του εμβρύου, ένα χαρακτηριστικό μειονέκτημα των χρησιμοποιούμενων σήμερα μεθόδων.

Λέξεις κλειδιά: βιοχημικοί-υπερηχογραφικοί δείκτες, προγεννητική διάγνωση

Εισαγωγή

Είναι γεγονός ότι η μαζική παρακολούθηση των εγκύων γυναικών για την προγεννητική διάγνωση ανωμαλιών του εμβρύου έχει εξελιχθεί σε ένα από τα πλέον προβεβλημένα ζητήματα ιατρικής φροντίδας στα τελευταία χρόνια. Αυτό βέβαια υπήρξε φυσικό συνεπακόλουθο των τεχνολογικών εξελίξεων που οδήγησαν στην ανάπτυξη περισσότερο εξειδικευμένων βιοχημικών μεθόδων και στη βελτίωση της ευκρίνειας των υπερήχων.

Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα αυτών των μεθόδων προγεννητικής διάγνωσης, όπως και το σκεπτικό τους, αποτελεί σημείο έντονης αντιπαράθεσης και σύγχυσης στην καθημερινή μαιευτική πράξη, αφού δεν είναι κοινά αποδεκτό το ποιες από τις μεθόδους αυτές υπερέχουν και σε ποιο βαθμό. Αποτέλεσμα αυτής της ασάφειας είναι ο επί μέρους μαιευτήρας να είναι θιασώτης της μιάς ή της άλλης μεθόδου, συχνά από συγκυρία και όχι σπάνια ως αποτέλεσμα επιρροών που έτυχε να δεχθεί από συγκεκριμένες σχολές ή και πρόσωπα. Παρά την παρέλευση 3-4 δεκαετιών έντονης δραστηριοποίησης στο χώρο αυτό, κάθε άλλο παρά ταύτιση υφίσταται μεταξύ των ειδικών, όπως χαρακτηριστικά απεικονίζεται σε δύο πρόσφατες αντιφατικές δημοσιεύσεις σε θέματα δημόσιας υγείας στα δύο έγκριτα περιοδικά *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* (Wald et al., 2004) και *Lancet* (Harris et al., 2004) και τα οποία αντανακλούν τη συνεχιζόμενη σύγχυση στην καθ' ημέρα κλινική πράξη. Στο ένα προτείνεται η επιλεκτική εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων προγεννητικής διάγνωσης ενώ στο δεύτερο υποστηρίζεται ότι επεμβατικές μέθοδοι προγεννητικής διάγνωσης πρέπει να προσφέρονται σε όλες τις γυναίκες(!), μια άποψη που παρά τη δυσχερή εφαρμογή της, δεν στερείται λογικής.

Το 1968 έγινε η πρώτη προγεννητική διάγνωση συνδρόμου Down. Εκτοτε καθιερώθηκε στην καθημερινή κλινική πράξη η μαζική παρακολούθηση των εγκύων γυναικών επιλέγοντας κατ' αρχήν γυναίκες προχωρημένης ηλικίας για αμνιοπαρακέντηση.

Στις αρχές της 10ετίας του 1970 αυξημένα επίπεδα α-εμβρυϊκής πρωτεΐνης (AFP) σχετίστηκαν με ανοικτές βλάβες του οσφυονωτιαίου σωλήνα (Neural Tube Defects) και στη συνέχεια με μια ποι-

κιλία ανωμαλιών όπως η ατελής σύγκλειση του κοιλιακού τοιχώματος, νεφρική αγενεσία, αποφρακτικές νεφροπάθειες και ατρησία του γαστρεντερικού συστήματος, καταστάσεις που μπορούν επίσης να διαγνωστούν και με τους υπερήχους.

Το 1983 διαπιστώθηκε ότι χαμηλά επίπεδα της παραπάνω πρωτεΐνης στον ορό της εγκυμονούσης (MS-AFP) σχετίζονται με σύνδρομο Down.

Αργότερα, αυξημένα επίπεδα χοριακής γοναδοτροπίνης στον ορό της γυναίκας (MS-HCG) σε συνδυασμό με χαμηλά επίπεδα ελεύθερης οιστριόλης (uE3) χαρακτηρίστηκαν επίσης ως δείκτες (markers) για σύνδρομο Down.

Το 1988 και οι τρεις αυτοί βιοχημικοί δείκτες χρησιμοποιήθηκαν από κοινού σε συνδυασμό με την ηλικία της μητέρας ως μαζική μέθοδος ανίχνευσης χρωματοσωμικών και άλλων ανωμαλιών του εμβρύου, μια μέθοδος η οποία υιοθετήθηκε ευρύτατα γνωστή ως "τριπλό βιοχημικό test". Εάν προστεθεί και η ινχιμπίνη, τότε αναφερόμαστε στο «τετραπλό βιοχημικό test".

Όταν χρησιμοποιούνται οι υπέρηχοι για εκτίμηση της ηλικίας της κύησης, το ποσοστό διάγνωσης ανέρχεται στο 59% με το διπλό (Chao et al., 1999), στο 69% με το τριπλό και στο 76% με το τετραπλό test, σε συσχέτισμό βέβαια με την ηλικία της μητέρας (Wald et al., 1997). Τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα κυμαίνονται στο 5%. Το διπλό test (MS-HCG και AFP, σε συνδυασμό με την ηλικία της μητέρας) σύμφωνα με σχετικά πρόσφατη μελέτη, είχε υψηλό ποσοστό αξιοπιστίας για το σύνδρομο Down (με επίπεδα επικινδυνότητας τα 1:250 και 1:384, 71.5% και 86% αντίστοιχα) όχι όμως για άλλες χρωματοσωμικές ανωμαλίες (22.3% και 33.4% αντίστοιχα).

Όσον αφορά την πλακουντιακή πρωτεΐνη Α που σχετίζεται με την εγκυμοσύνη (PAPP-A), εκτιμάται ότι αυτή δεν δικαιολογείται για μαζική εφαρμογή στο 2ο 3μηνο, μπορεί όμως να αποβεί ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις που οι άλλοι βιοχημικοί δείκτες (hCG και uE3) είναι οριακά ανεβασμένοι, ως επιβεβαίωση (Bersinger et al., 1999).

Άλλοι παράγοντες που μπορεί να συνεκτιμηθούν είναι το βάρος της μητέρας, η παρουσία ινσουλινοεξαρτώμενου διαβήτη, η πολλαπλή κύηση, η εθνικότητα, όπως και προηγούμενο ιστορικό συνδρόμου Down. Παράγοντες όπως ο τόκος και το κάπνισμα επηρεάζουν τους βιοχημικούς δείκτες αλλά όχι σε βαθμό που να δικαιολογείται προσαρμοστική διόρθωση του αρχικού αποτελέσματος.

Γενικά περισσότερο από 80% των γυναικών αποδέχονται το διπλό ή τριπλό βιοχημικό test (στην

Ελλάδα >90%) στο 5-6% των οποίων αποδεικνύεται θετικό. Από αυτές ένα ποσοστό 80% δέχονται να υποβληθούν σε επεμβατική μέθοδο επιβεβαίωσης (αμνιοπαρακέντηση, CVS) και επί θετικού αποτελέσματος 9 στις 10 επιλέγουν τη διακοπή της κύησης.

Σε πολύδυμες κύσεις οι μέθοδοι αυτές δεν είναι αξιόπιστες με αποτέλεσμα άλλες μέθοδοι όπως είναι οι υπερηχογραφικοί δείκτες να αποτελούν υποχρεωτικά την εναλλακτική λύση (π.χ. η αυχενική διαφάνεια, nuchal translucency), (Maymon et al., 1999).

Η θέση της αυχενικής διαφάνειας σε σχέση με τους βιοχημικούς δείκτες

Το εύρος της αυχενικής διαφάνειας (Α.Δ.) ποικίλλει ανάλογα με την εβδομάδα κύησης και μετρούται βάσει συγκεκριμένης τεχνικής και οδηγιών (guidelines). Η παρουσία αυξημένης Α.Δ. σχετίζεται με χρωματοσωμική ανωμαλία καθώς και με ανατομική, με ή χωρίς παθολογικό καρύοτυπο. Εξαιτίας των διαφορών που υπάρχουν στους διάφορους πληθυσμούς που μελετήθηκαν, στις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν και στην ποικιλομορφία των αποτελεσμάτων που έχουν ανακοινωθεί, εκτιμάται ότι, επί του παρόντος τουλάχιστον, δεν είναι ασφαλές να υπολογίζεται ποσοτικά ο κίνδυνος ύπαρξης χρωματοσωμικής ανωμαλίας βάσει αυτής της παραμέτρου και μόνον. Ωστόσο, τόσο για τις υψηλού όσο και για τις χαμηλού κινδύνου περιπτώσεις, η προγνωστική αξία της μεθόδου είναι αρκετή (Snijders et al., 1999) ώστε η παρουσία της να απαιτεί ειδικό counseling και επιβεβαίωση με διαγνωστική μέθοδο. Αξίζει να σημειωθεί ότι, εάν για οποιονδήποτε λόγο, δεν επιλεγεί CVS, η εξαφάνιση της Α.Δ. μέχρι τη διενέργεια της αμνιοπαρακέντησης δεν θα πρέπει να θεωρείται καθησυχαστική.

Αναμφίβολα, η υπερηχογραφία, είτε από μόνη της ή σε συνδυασμό με βιοχημικές μεθόδους στο περιφερικό αίμα της εγκύου γυναικός, θα συνεχίσει να αποτελεί σημαντικό εργαλείο στην προγεννητική διάγνωση (Graupe et al., 2001). Η σχέση του παθολογικού υπερηχογραφήματος 1ου 3μήνου με τις χρωματοσωμικές ανωμαλίες δεν επιδέχεται αμφισβήτηση, ιδιαίτερα μάλιστα αυτή της αυξημένης Α.Δ. που θεωρείται, συγκριτικά, ο πλέον ακριβής δείκτης (17πλάσιος κίνδυνος) (Smith-Bindman et al., 2001) σε σχέση με άλλους υπερηχογραφικούς δείκτες που χρησιμοποιούνται στο 1ο 3μηνο όπως κύστεις χοριοειδίων πλεγμάτων, υπερηχοϊκές ενδο-

καρδιακές κηλίδες, υπερηχοϊκό έντερο, υδρονέφρωση και βράχυνση του μηριαίου και βραχιονίου οστού. Η προγνωστική σημασία των τελευταίων, εάν δεν συνυπάρχουν μορφολογικές ανωμαλίες ή δεν συνοδεύεται από άλλους επιπρόσθετους δείκτες, είναι αμελητέα (αύξηση του ποσοστού μόνο κατά 3% όταν αποτελούν μονήρη ευρήματα). Η παρουσία όμως δύο ή περισσότερων υπερηχογραφικών δεικτών σε γυναίκες που βρέθηκαν αρνητικές στην Α.Δ. και στους βιοχημικούς δείκτες, αυξάνει τον κίνδυνο σημαντικά. Στις περιπτώσεις αυτές και πάλι ενδείκνυται χρωματοσωμική ανάλυση του εμβρύου (Verdin et al., 2000).

Αντίθετα, η σημασία της αυξημένης Α.Δ. δεν θα πρέπει να αγνοείται ακόμα και σε περιπτώσεις με βεβαιωμένο φυσιολογικό εμβρυϊκό καρύοτυπο. Στις περιπτώσεις αυτές οι μαιευτικές επιπλοκές αναμένεται να είναι αυξημένες γι' αυτό και μεταξύ άλλων, ενδείκνυται εξειδικευμένος υπερηχογραφικός έλεγχος (Michailides and Economides, 2001).

Μία από τις πλέον αξιόλογες μελέτες που συνέβαλαν στην αναγνώριση της διαγνωστικής αξίας του πάχους της αυχενικής διαφάνειας είναι αυτή της ομάδας του καθηγητή Νικολαΐδη στο King's College του Λονδίνου, σύμφωνα με την οποία σε ένα μεγάλο αριθμό γυναικών, η ευαισθησία της μεθόδου υπερβαίνει το 70% (Snijders et al., 1999), γεγονός που οδήγησε ορισμένες χώρες, όπως η Αγγλία, να την καθιερώσουν σε εθνικό επίπεδο.

Θεωρώντας το θέμα από ευρύτερη άποψη ωστόσο, σε διεθνές επίπεδο δεν φαίνεται ακόμα να υπάρχει ταύτιση απόψεων όσον αφορά το βαθμό χρησιμότητας της μέτρησης της Α.Δ. των εμβρύων ως μεθόδου μαζικού ελέγχου (screening test). Σύμφωνα με μέχρι τώρα ανακοινώσεις γενικότερα, η ευαισθησία της κυμαίνεται μεταξύ 40% και 80% για σύνδρομο DOWN, 50% για τρισωμία 18 (Kurjak et al., 1999) είναι δε χαμηλότερη για άλλες χρωματοσωμικές ανωμαλίες. Ανάλογα εξάλλου ποσοστά έχουν δημοσιευτεί και για τις βιοχημικές μεθόδους [τριπλό test : 40%-81% (Kishida et al., 2000) ή και περισσότερο : 85,7%, Kim et al., 2001].

Από πλευράς κόστους επίσης η Α.Δ., ως μέθοδος μαζικού ελέγχου (screening test), δεν έχει ακόμα εκτιμηθεί ιδιαίτερα σε σύγκριση με τις βιοχημικές μεθόδους. Για κάθε ένα έμβρυο με σύνδρομο DOWN που θα διαγνωστεί με τη μέθοδο αυτή, εκτιμάται ότι θα πρέπει να εξεταστούν 15893 έγκυες γυναίκες χαμηλού κινδύνου ή 6818 υψηλού κινδύνου ((Smith-Bindman et al., 2001). Χαρακτηριστικό της σχετικής ρευστότητας που συνεχίζει να υφίσταται είναι ότι στις ΗΠΑ δεν αποτελεί υποκα-

τάστατο των βιοχημικών με πολλαπλούς δείκτες μεθόδων, που έχουν πλέον καθιερωθεί να προσφέρονται σε όλες τις έγκυες γυναίκες (Jackson et al., 1998). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε γυναίκες υψηλού κινδύνου π.χ. μετά την ηλικία των 35, η παρουσία φυσιολογικής Α.Δ. δεν αναιρεί την αυξημένη πιθανότητα χρωματοσωμικής ανωμαλίας γι' αυτό και πάλι αυτές δεν εξαιρούνται από την κλασική ένδειξη για επεμβατική διαγνωστική μέθοδο (αμνιοπαρακέντηση ή CVS) παρά τη διαπίστωση φυσιολογικού υπερηχογραφήματος στο 1ο τρίμηνο. Η προαναφερθείσα προγνωστική αξία της Α.Δ. επομένως αφορά κυρίως γυναίκες χαμηλού κινδύνου, όπου και πάλι δεν είναι παρά μόνον ενδεικτική αφού κατά κανόνα, όταν βρεθεί παθολογική, χρήζει επιβεβαίωσης.

Υπερηχογράφημα 1ου τριμήνου σε συνδυασμό με πρώιμο βιοχημικό έλεγχο, μάλλον αποτελεί την ασφαλέστερη οδό και προς την κατεύθυνση αυτή στρέφεται η έρευνα. Σύμφωνα με σχετική μελέτη της ομάδας του Βιντζηλαίου, σε γυναίκες προχωρημένης ηλικίας (>35 ετών), η προγνωστική αξία του "γενετικού υπερηχογραφήματος", συμπεριλαμβανομένης της Α.Δ. και των υπολοίπων δεικτών για τη διάγνωση χρωματοσωμικών ανωμαλιών ανήλθε στο 80%, όταν όμως αυτό συνδυάστηκε με βιοχημικούς δείκτες έφτασε το 100% (Vintzileos et al., 1999). Σε ανάλογη μελέτη που αναφέρονταν στο γενικό πληθυσμό, τα ποσοστά ήταν 33% και 57% αντίστοιχα για τρισωμία 21 και 62% έναντι 73% για μειζονες μορφολογικές ανωμαλίες (Smith and Hau, 1991).

Θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι βιοχημικοί δείκτες σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, όπως στις πολύδυμες κήσεις, δεν είναι δυνατόν να αξιολογηθούν και κατά συνέπεια οι αντίστοιχοι υπερηχογραφικοί, κυρίως η Α.Δ., αποτελούν την μόνη εναλλακτική μέθοδο (Bohlandt et al., 2000).

Συμπερασματικά, ο ρόλος των υπερήχων στην προγεννητική διάγνωση χρωματοσωμικών και αδρών ανατομικών ανωμαλιών του εμβρύου, είναι καταφανής και δεν επιδέχεται αμφισβήτηση. Κατά πόσον όμως, με τη βοήθεια των υπερήχων και τη συμβολή ίσως των βιοχημικών μεθόδων, η προγεννητική εντόπιση των ανωμαλιών του εμβρύου πρόκειται να αποβεί συνολικά προς όφελος των εγκύων γυναικών, κατά την άποψη ορισμένων, παραμένει να αποδειχθεί (Smith-Brindman et al., 2001; Roberts et al., 2002).

Στο μέλλον νέες τεχνικές, όπως η ανάλυση κυττάρων του εμβρύου ή εξωκυττάρου DNA και η προεμφυτευτική διάγνωση που θα μπορούσαν περιο-

σσότερο να συσχετιστούν με τις βιοχημικές σημερινές μεθόδους, ίσως καθιερωθούν περισσότερο εν όψει της απλούστευσης και καλύτερης αξιοπιστίας των.

Ανάλυση εμβρυϊκών κυττάρων στο περιφερικό αίμα της μητέρας

Είναι γνωστό ότι εμβρυϊκά κύτταρα κυκλοφορούν στο κυκλοφορικό σύστημα της μητέρας από την 6η εβδομάδα και ο αριθμός τους αυξάνει με την ηλικία της κύησης. Τα κύτταρα αυτά παραμένουν για πολλά χρόνια μετά τον τοκετό.

Η εντόπιση των κυττάρων αυτών επιχειρήθηκε κατ' αρχήν σε ασθενείς που μόλις είχαν υποβληθεί σε διακοπή εγκυμοσύνης λόγω διαγνωσθείσης εμβρυϊκής τρισωμίας. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται αντισώματα που αντιδρούν με τη γ αλυσίδα της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (Hoechst 33342) ή άλλοι ειδικοί ανιχνευτές (markers) που διαφέρουν μεταξύ εμβρύων και ενηλίκων (π.χ. ε-σφαιρίνη mRNA) (Hogh et al., 2001). Η ανάλυση γίνεται κυρίως σε εμπύρηννα εμβρυϊκά ερυθροκύτταρα αρρένων εμβρύων (ελάχιστη απαραίτητη συγκέντρωση κυττάρων άρρενος 2%) (Kunhert-Schmidt et al., 2000) με τη βοήθεια των τεχνικών FISH πολύ-FISH και PCR, αν και άλλοι ερευνητές συνεχίζουν να εργάζονται σε τροφοβλαστικά κύτταρα.

Με τις τεχνικές αυτές έχει αποδειχθεί ότι χρησιμοποιώντας DNA μικροαναλύσεις, είναι δυνατή η διάγνωση ανευπλοειδικών κυττάρων και μονογονιδιακών παθήσεων (Samura et al., 2001). Το αποτέλεσμα της μη επεμβατικής αυτής μεθόδου είναι εφικτό εντός 2-3 ωρών. Κατ' αρχήν υπήρξε δυνατή η εντόπιση κληρονομικά μεταδιδόμενων παθήσεων από την πλευρά του πατέρα (π.χ. Rh αντιγόνα) που απουσιάζουν από την πλευρά της μητέρας.

Προσδιορισμός εμβρυϊκού εξωκυττάρου DNA στο πλάσμα της μητέρας

Η πρόσφατη διαπίστωση ότι στο μητρικό αίμα κυκλοφορεί ελεύθερο εμβρυϊκό DNA σε εξωκυττάρια μορφή (και ένα μέρος εντός των κυττάρων) προσφέρει νέες προοπτικές στην προγεννητική διάγνωση και ανοίγει νέες λεωφόρους στην κλινική έρευνα. Η ποσότητα αυτού του DNA είναι αυξημένη σε εγκυμοσύνες με ανευπλοειδικά έμβρυα (Lo et al., 1999; Zhong et al., 2001). Η ποσοτική ανάλυση του εμβρυϊκού εξωκυττάρου DNA στο μητρικό πλάσμα μπορεί να χρησιμεύσει ως επιπρόσθετος δείκτης για τη διάγνωση συγκεκριμένων

χρωματοσωμικών ανωμαλιών και συγκεκριμένα της τρισωμίας 21.

Είναι φανερό ότι οι μέθοδοι αυτές της ανάλυσης εμβρυϊκών κυττάρων στο περιφερικό αίμα της μητέρας και του ποσοτικού προσδιορισμού του εξωκυττάρου εμβρυϊκού DNA στον ορό της, που επί του παρόντος ακόμα υστερούν από έλλειψη ευαισθησίας και ακρίβειας των αποτελεσμάτων, θα αποτελέσει τελικά το μεγάλο breakthrough αφού, πέραν της εξαιρετικά απλής των διαδικασίας (απαιτούν μια αιμοληψία μόνο) η επεξεργασία των αποτελεσμάτων θα μπορεί να γίνεται σε ορισμένα κατάλληλα εξειδικευμένα κέντρα ανά τον κόσμο εξασφαλίζοντας έτσι ταχύτητα, αξιοπιστία και χαμηλό κόστος.

Προεμφυτευτική διάγνωση και αντιμετώπιση συγγενών διαμαρτιών

Η Προ-Εμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (ΠΕΔ) αποτελεί ένα νέο αναπτυσσόμενο πεδίο που προσφέρει δυνατότητα διάγνωσης γενετικών παθήσεων πριν από την εμφύτευση (Addar et al., 2000). Η απόφαση για προεμφυτευτική διάγνωση στηρίζεται σε μια ποικιλία αιτιών όπως η προϋπαρξη νοσούντος παιδιού, ιστορικό προηγούμενων διακοπών κύσεων λόγω διάγνωσης πάσχοντος εμβρύου με τις κλασικές προγεννητικές μεθόδους και με σκοπό τον περιορισμό της πιθανότητας το ζεύγος να επαναβιώσει την ίδια τραυματική εμπειρία ή ακόμα και εξαιτίας προσωπικής των ιδιαιτερότητας όπως π.χ. η άρνησή τους, για θρησκευτικούς ή άλλους λόγους, να υποβληθούν σε διακοπή μιάς πιθανής παθολογικής κύησης. Σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να είναι γνώστες της γενετικής προδιάθεσης στην οικογένεια και επιθυμούν να περιορίσουν τον κίνδυνο εμφάνισης του προβλήματος στο δικό τους παιδί ή εξαιτίας ύπαρξης ιστορικού καθ'έξιν αποβολών χρωματοσωμικής αιτιολογίας. Εκτός από την πολύ πρώιμη διάγνωση, η μέθοδος αυτή πλεονεκτεί επειδή δεν είναι επεμβατική και σχετίζεται με πολύ λιγότερη ψυχολογική επιβάρυνση.

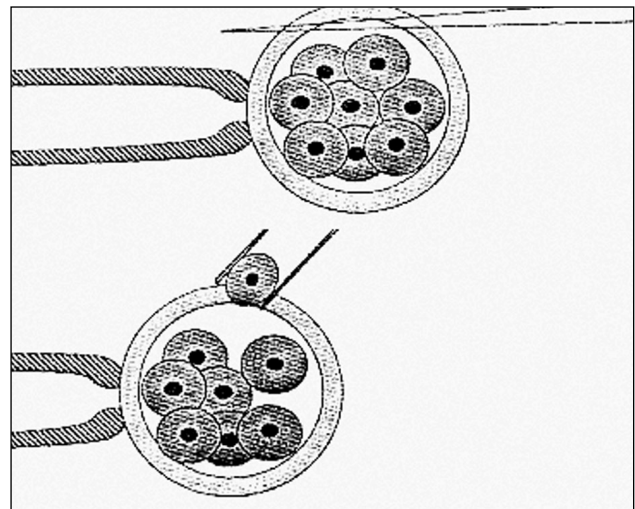
Μέχρι σήμερα η πρόληψη της γέννησης παιδιών με γενετικό πρόβλημα στηρίχτηκε στην προγεννητική διάγνωση της πάθησης του εμβρύου και σε διακοπή της κύησης σε ένα ποσοστό που ανέρχεται στο 25% για φυλοσύνδετα νοσήματα που κληρονομούνται κατά τον υπολειπόμενο και στο 50% κατά τον επικρατούντα χαρακτήρα. Μια κατάληξη κατά κανόνα δυσάρεστη και σαφώς μειονεκτική. Με την εφαρμογή της ΠΕΔ πρόσφατα, επιλέγοντας υγιείς γαμέτες για γονιμοποίηση ή υγιή έμβρυα για εμφύ-

τευση, παρέχεται η δυνατότητα αποτροπής κύσεων με έμβρυα που είναι φορείς συγγενών διαμαρτιών. Βέβαια η μέθοδος απαιτεί διαδικασία Εξωσωματικής Γονιμοποίησης της οποίας αποτελεί μία περαιτέρω εξέλιξη.

Η μέθοδος εφαρμόζεται πριν τη γονιμοποίηση (σε ωάρια μετά από αφαίρεση του 1ου πολικού σωματίου) ή πριν την εμφύτευση των εμβρύων στη μητριά κοιλότητα (σε προ-έμβρυα).

Η τελευταία βασίστηκε στη διαπίστωση σε θηλαστικά ότι η αφαίρεση ενός ή περισσότερων βλαστομεριδίων (εμβρυϊκών κυττάρων) για βιοψία, δεν εμποδίζει τα υπόλοιπα να εμφυτευθούν επιτυχώς (Εικ.1). Εκτός από βλαστομερίδια, στη φάση των τεσσάρων κυττάρων, η βιοψία εφαρμόζεται επίσης στη φάση της βλαστοκύστης (Τζαφέττας, 1996). Τα αποτελέσματα της τεχνικής (με FISH και PCR) διατίθενται εντός ωρών.

Η προεμφυτευτική διάγνωση μπορεί να εφαρμόζεται σε ορισμένα μόνον κέντρα εμβryo-μητρικής ιατρικής τα οποία διαθέτουν υποδομή Εξωσωματικής Γονιμοποίησης όπως αναφέρθηκε, είναι όμως δαπανηρή και ίσως εγείρει ορισμένα θέματα ηθικής φύσεως που χρήζουν περαιτέρω αποσαφήνισης. Οποσδήποτε όμως πρόκειται να συμβάλει ουσιαστικά στην έγκαιρη προγεννητική διάγνωση και να παρακάμψει το δυσάρεστο δίλημμα της άμβλωσης που είναι αναπόφευκτη σε περίπτωση που, με τις γνωστές μεθόδους της προγεννητικής διάγνωσης, εντοπισθεί παθολογικό έμβryo, έστω και αν δεν



Εικόνα 1: Η Προεμφυτευτική Γενετική Διάγνωση (Prenatal Genetic Diagnosis=PGD) βασίστηκε στη διαπίστωση ότι, σε θηλαστικά, η αφαίρεση ενός ή περισσότερων βλαστομεριδίων (εμβρυϊκών κυττάρων) για βιοψία, δεν εμποδίζει τα υπόλοιπα να εμφυτευθούν επιτυχώς και να εξελιχθούν σε βιώσιμη κύηση. Αν και προφανώς ασφαλής, η έλλειψη μακροπρόθεσμων επιπτώσεων στον άνθρωπο χρήζει μελλοντικής επιβεβαίωσης.

μπορεί να αποτελέσει μαζική μέθοδο προγεννητικής διάγνωσης (screening test). Επί του παρόντος τουλάχιστον προορίζεται για επιλεγμένες μόνο σοβαρές περιπτώσεις και όχι απλά για κοινωνικούς λόγους.

Όσον αφορά την ακολουθούμενη πολιτική σε θέματα προεμφυτευτικής διάγνωσης διεθνώς υπάρχουν σημαντικές διαφορές.

Στη Βρετανία λ.χ. λειτουργούν περί τα 12 κέντρα και μόνο τρία στη Γαλλία πρόσφατα. Στις Ηνωμένες Πολιτείες δεν υφίσταται ακόμα Ομοσπονδιακή ρύθμιση της προεμφυτευτικής διάγνωσης ενώ σε άλλες χώρες, όπως η Αυστρία, η Γερμανία και η Σουηδία δεν επιτρέπεται (Grace et al., 2004). Σκεπτικισμός ακόμα υφίσταται όσον αφορά στην ασφάλεια της μεθόδου. Οι μετέπειτα επιπτώσεις από την αφαίρεση ενός ή περισσότερων βλαστομεριδίων με αποτέλεσμα την μείωση της κυτταρικής μάζας του εμβρύου, παραμένουν άγνωστες παρά τα περί του αντιθέτου πειραματικά δεδομένα. Τα ποσοστά κλινικών κηύσεων εμφανίζονται παρερμερή με αυτά της Εξωσωματικής Γονιμοποίησης για άλλες αιτίες, ωστόσο τα ψευδώς αρνητικά ή θετικά αποτελέσματα παραμένουν σχετικά υψηλά (3.4%) (ESHRE-data collection III, 2001).

Εκτιμάται όμως ότι οι ταχείες εξελίξεις στη μοριακή γενετική θα επιτρέψουν επαρκή ανάλυση όλων των χρωματοσωμάτων του εμβρύου και ότι όλο και περισσότερα ζευγάρια θα καταφύγουν στη μέθοδο μελλοντικά για να αυξήσουν, αν μη τι άλλο, τις πιθανότητες για μια επιτυχή Εξωσωματική Γονιμοποίηση. Η διάδοση τέλος της μεθόδου MRI για την καθολική διερεύνηση του εμβρύου, υποστηρίζεται ότι πλεονεκτεί στο ότι είναι αντικειμενική και δεν εκτίθεται στην υποκειμενική εκτίμηση του εκάστοτε χειριστή των υπερήχων. Μαζί με την πολυδιάστατη υπερηχογραφία μπορεί να συμβάλουν ουσιαστικά ως απεικονιστικές μέθοδοι προγεννητικής διάγνωσης (Corincour et al., 2005).

Συμπερασματικά είναι σημαντικό τα άτομα που παρέχουν πληροφορίες για τις διατιθέμενες μεθόδους προγεννητικής διάγνωσης, ότι πρέπει να το πράττουν χωρίς προκατάληψη και ύστερα από κατάλληλη και έγκυρη εκπαίδευση, εισακούοντας και συνεκτιμώντας τις απαιτήσεις και ιδιαιτερότητες κάθε περίπτωσης. Η απόφαση εάν μια γυναίκα θα υποβληθεί σε μια επεμβατική διαγνωστική μέθοδο θα πρέπει να είναι δική της επιλογή μάλλον παρά απόρροια γενικευμένων ενδείξεων, όχι σπάνια αυθαίρετων.

Past future and existing controversies in prenatal diagnosis

J. Tzafettas

MD, FRCOG

Correspondence: Hippokrateio Hospital,
49 Konstantinoupoleos str.,
54642 Thessaloniki, Greece
Tel. & Fax: 2310-822509
E-mail: tzafettas@the.forthnet.gr

Summary

During the last 30 years or so, a number of biochemical markers have been introduced in the prenatal diagnosis of fetal abnormalities. They are non invasive methods of relatively low cost and with satisfactory reliability. As a result, in many countries, they have been established as screening tests. Their diagnostic accuracy improves when they are combined with ultrasound. There is no doubt that sonographic markers, especially nuchal translucency, they will continue to be a powerful tool in prenatal diagnosis. Nevertheless, as it happens with the biochemical markers too, when found abnormal, require invasive methods like amniocentesis or CVS. It is worth mentioning that the presence of an isolated abnormal sonographic marker is of very low diagnostic value. On the other hand, in women with normal N.T. but at high risk for fetal chromosomal abnormality, the option of invasive diagnostic tests should be offered.

Chromosomal analysis of fetal cells or extracellular (free) DNA in the peripheral maternal blood, could be considered as a further development of the biochemical markers. These methods are expected to extremely improve and simplify the procedure of prenatal diagnosis. Furthermore, Preimplantation Genetic Diagnosis, is expected to contribute immensely towards improving prenatal diagnosis and relieving the couples from the distressing dilemma of a termination of pregnancy in the case of an abnormal fetus.

Key words: prenatal diagnosis, biochemical and sonographic markers

Βιβλιογραφία

Addar, M.H. (2000). New trends in prenatal screening for chromosomal abnormalities. Saudi Med. J.21,429-432.

- Bersinger, N.A., Leporrier, N., Herrou, M. and Leymarie, P. (1999) Maternal PAPP-A but not pregnancy-specific beta-glycoprotein (SP1) is a useful 2nd trimester marker for trisomy 18. *Prenatal Diagnosis*, 19,537-541.
- Bohlandt, S., von Kaisenberg, C.S., Wewetzer, K. et al. (2000) Hyaluronan in the nuchal skin of chromosomally abnormal fetuses. *Hum.Reprod.* 15,1155-1158.
- Chao, A.S., Chung, C.L., Chang, S.D. et al. (1999) Second trimester maternal serum screening using alpha fetoprotein, free beta human chorionic gonadotropin and maternal age specific risk:result of chromosomal abnormalities detected in screen positive for Down syndrome in an Asian population. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 78,393-397.
- ESHRE (2002) Preimplantation Genetic Diagnosis Consortium: data collection III (May 2001). *Hum. Reprod.* 17,233-246.
- Grace, J., Toukhy, T.E. and Braude, P. (2004) Pre-implantation Genetic testing- Review. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* 111,1165-1173.
- Graupe, M.H., Naylor, C.S., Greene, N.H. et al. (2001) Trisomy 21. Second trimester ultrasound. *Clinics in Perinatology*, 28,303-319.
- Harris, R.A., Washington, E., Nease, R.F. and Kuppermann, M. (2004) Cost utility of prenatal diagnosis and the risk based threshold. *Lancet*, 363,276-282.
- Hogh, A.M., Hviid, T.V., Christensen, B. et al. (2001) Zeta-, epsilon-, and gamma-Globin mRNA in blood samples and CD71(+) cell fractions from fetuses and from pregnant and non-pregnant women, with special attention to fetal erythroblasts. *Clinical Chemistry*, 47,645-653.
- Jackson, M. and Rose, N.C. (1998) Diagnosis and management of fetal nuchal translucency. *Seminars in Roentgenology*, 33,333-338.
- Kim, S.K., Bai, S.W., Chung, J.E. et al. (2001) Triple marker screening for fetal chromosomal abnormalities in Korean women of advanced maternal age. *Yonsei Med. J.* 42,199-203.
- Kishida, T., Hoshi, N., Hattori, A.N. et al. (2000) Efficacy of maternal serum screening in the prenatal detection of fetal chromosome abnormalities in Japanese women. *Fetal Diagn. Ther.*, 15,112-117.
- Kurjak, A., Kos, M., Stipoljev, F. et al. (1999) Ultrasonic markers of fetal chromosomal abnormalities. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 85,105-108.
- Kuhnert, M. and Schmidt, S. (2000) Detection of fetal cells in maternal blood with magnetically activated cell sorting (MACS) and EGF receptor antibody Mab 425. *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie*, 204, 170-180.
- Lo, Y.M., Lau, T.K., Zhang, J. et al. (1999) Increased fetal DNA in the plasma of pregnant women carrying fetuses with trisomy 21. *Clinical Chemistry*, 45,1747-1751.
- Maymon, R., Dreasen, E., Tovbin, Y. et al. (1999) The feasibility of nuchal translucency measurement in higher order multiple pregnancies achieved by assisted reproduction. *Hum. Reprod.* 14,2102-2105.
- Michailides, G.D. and Economides, D.L. (2001) Nuchal translucency measurement and pregnancy outcome in karyotypically normal fetuses. *Ultrasound in Obstet. Gynaecol.* 17,102-105.
- Roberts, T., Henderson, J., Mugford, M. et al. (2002) Antenatal ultrasound screening for fetal abnormalities : a systematic review of studies of cost and cost effectiveness. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* 109,44-56.
- Samura, O., Sohda, S., Johnson, K.L. et al. (2001) Diagnosis of trisomy 21 in fetal nucleated erythrocytes from maternal blood by use of short tandem repeat sequences. *Clinical Chemistry*, 47,1622-1626.
- Smith-Bindman, R., Hosner, W.R.D., Caponigro, M. and Cunningham, G. (2001) The variability in the interpretation of prenatal diagnostic ultrasound. *Ultrasound in Obstet. Gynecol.* 17,326-332.
- Smith-Bindman, R., Hosmer, W.D., Caponigro, M. and Cunningham, G. (2001) The variability in the interpretation of prenatal diagnostic ultrasound. *JAMA*, 285,1044-1055.
- Smith, N.C. and Hau, C. (1999) A six year study of the antenatal detection of fetal abnormality in six Scottish health boards. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* 106,206-212.
- Snijders, R.J., Sebire, N.J., Nayar, R. et al. (1999) Increased nuchal translucency in trisomy 13 fetuses at 10-14 weeks of gestation. *Am. J. Med. Genet.* 86,205-207.
- Τζαφέττας, Ι.Μ. (1996) "Εξωσωματική Γονιμοποίηση και συναφείς Μέθοδοι στην Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή", σελ. 379-394. Θεσσαλονίκη κεντρική διάθεση: Α.Σιώκης.
- Verdin, S.M., Whitlow, B.J., Lazanakis, M. et al. (2000) Ultrasonographic markers for chromosomal abnormalities in women with negative nuchal translucency and 2nd trimester maternal serum biochemistry. *Ultrasound in Obstet. Gynaecol.* 16,402-406.
- Vintzileos, A.M., Gusman, E.R., Smulian, J.C. et al. (1999) Indication-specific accuracy of second-trimester genetic ultrasonography for detection of trisomy 21. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 181,1045-1048.
- Wald, L.J., Rodeck, C., Hackshaw, A.K. and Rudnicka, A. (2004) SURRUS in perspective. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 111,521-531.
- Wald, N.J., Kennard, A., Hackshaw, A. and McGuire, A. (1997) Antenatal screening for Down syndrome. *J. Med. Screening*, 4,181-246.
- Zhong, X.Y., Burk, M.R., Troeger, C. et al. (2001) Fetal DNA in maternal plasma is elevated in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenatal Diagn.* 20,795-798.

ΚΑΤΑΤΕΘΗΚΕ 25/5/2005 ΕΓΙΝΕ ΑΠΟΔΕΚΤΗ 20/7/2005