

ΟΡΜΟΝΙΚΟΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΚΥΗΣΗ

Δημήτρης Ρίζος

Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Χημείας, Ιατρικής Σχολής ΠΑ
Ορμονολογικό Εργαστήριο,
«Αρεταίειο» Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο

Περιεχόμενο ομιλίας

- Κύηση, εισαγωγή, επίδραση στη γυναίκα
- Φυσιολογία αρχόμενης κύησης
- Πλακούντας Εμβryo-Μητρο-πλακουντιακή μονάδα
- Ορμόνες της κύησης (hCG, HPL, Προγεστερόνη, Οιστρογόνα, Οιστριόλη)
- Έλεγχος αμνιακού υγρού (AFP, Χολερυθρίνη, Λεκιθίνη/Σφιγγομυελίνη, Πνευμονική ωριμότητα)
- Προγεννητικός έλεγχος για το σύνδρομο Down
- Παραδείγματα
- Αξιολόγηση του προγεννητικού ελέγχου
- Αποτελέσματα του Ορμονολογικού Εργαστηρίου

Η κύηση

- Αποτελεί ειδική κατάσταση στη ζωή της γυναίκας
 - Επηρεάζει όλα τα συστήματα του γυναικείου οργανισμού
 - Ψυχολογική επίδραση
- Διάρκεια 9 μήνες ή 40 εβδομάδες ή 280 ημέρες
- Ημερομηνίες:
 - ΤΕΡ: Ημερομηνία τελευταίας εμμήνου ροής
 - ΠΗΤ: Πιθανή ημερομηνία τοκετού
 - Η ηλικία της κύησης υπολογίζεται σε εβδομάδες (ΕΚ)
- Τρίμηνα κύησης
 - 1ο τρίμηνο: 0 – 14 ΕΚ
 - 2ο τρίμηνο: 15 – 27 ΕΚ
 - 3ο τρίμηνο 28 – 40 ΕΚ

Η επίδραση της κύησης στην γυναίκα

Όλες οι μεταβολές στα λειτουργικά συστήματα της μητέρας έχουν ως στόχο τη διατήρηση και ανάπτυξη του κυήματος

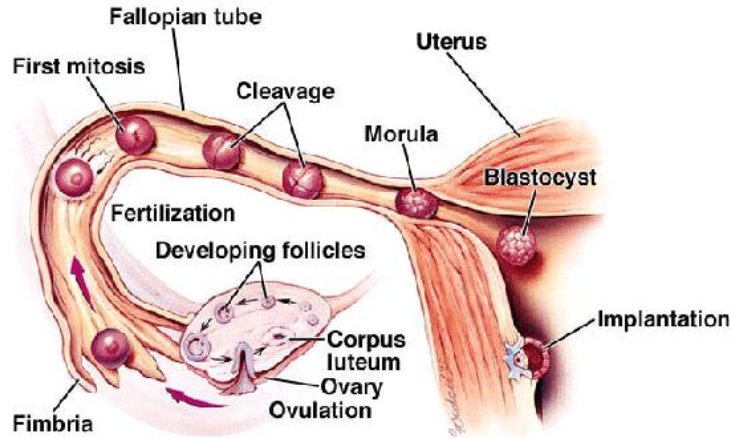
- Αύξηση του όγκου του πλάσματος, έως 40% την 30η με 34η ΕΚ
- Αύξηση της καρδιακής παροχής
- Πτώση του αιματοκρίτη (λόγω αραίωσης)
- Αύξηση της σπειραματικής διήθησης (GRF)
- Αύξηση του μεταβολισμού

Η επίδραση της κύησης στους ενδοκρινείς αδένες της εγκύου

- Ορμονική παραγωγή του πλακούντα
- Επίδραση των Οιστρογόνων και της hCG στους ενδοκρινείς αδένες της μητέρας
- Αύξηση της ηπατικής παραγωγής συνδετικών σφαιρινών (TBG, CBG, SHBG) λόγω επίδρασης των οιστρογόνων.
- Υπόφυση
 - 10πλάσιασμός PRL, ↓ LH, FSH,
 - Σχετικά σταθερή TSH

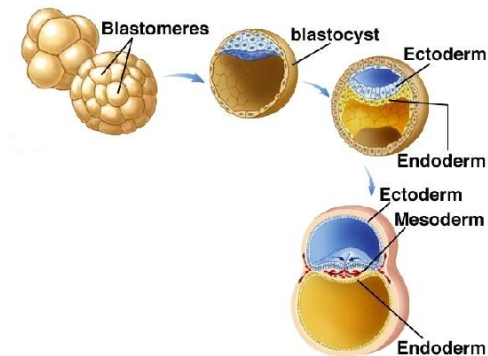
- **Επινεφρίδια**
 - ↑ Αλδοστερόνης (σπειροειδής ζώνη)
 - ↑ Κορτιζόλης (στηλιδωτή ζώνη)
 - Χωρίς μεταβολές τα ανδρογόνα (DHEA-S) (δικτυωτή ζώνη)
- **Θυρεοειδής**
 - ↑ ΤΤ4, ΤΤ3
 - Σταθερές FT4, FT3

Το ταξίδι του γονιμοποιημένου ωαρίου

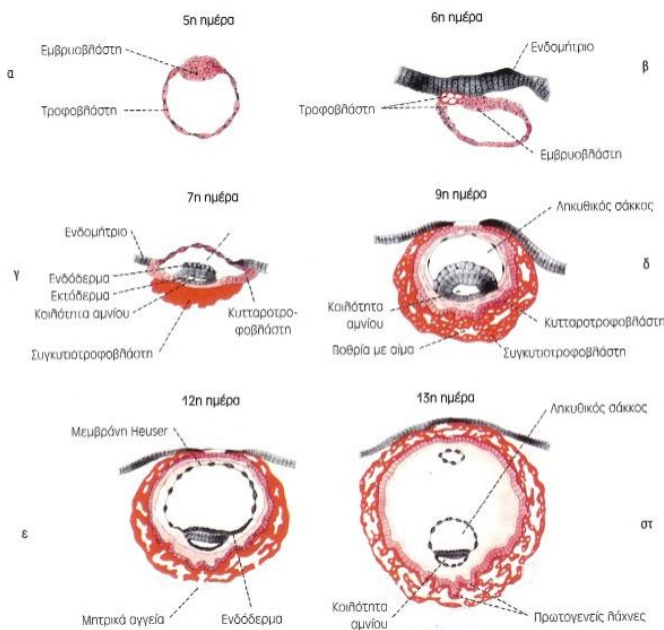


Η βλαστοκύστη

- **Τροφοβλάστη**
 - Συγκυτιο-τροφοβλάστη
 - Κύτταρο-τροφοβλάστη
- **Εμβρυοβλάστη**
 - Εξώδερμα
 - Μεσόδερμα
 - Ενδόδερμα



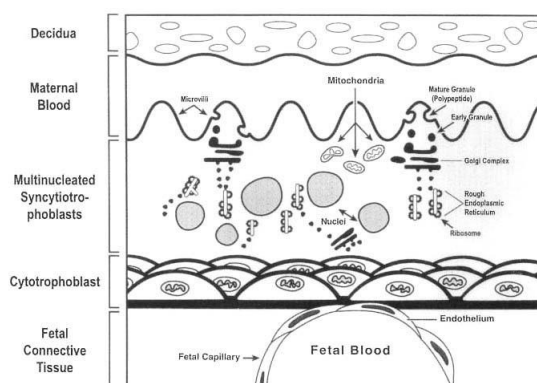
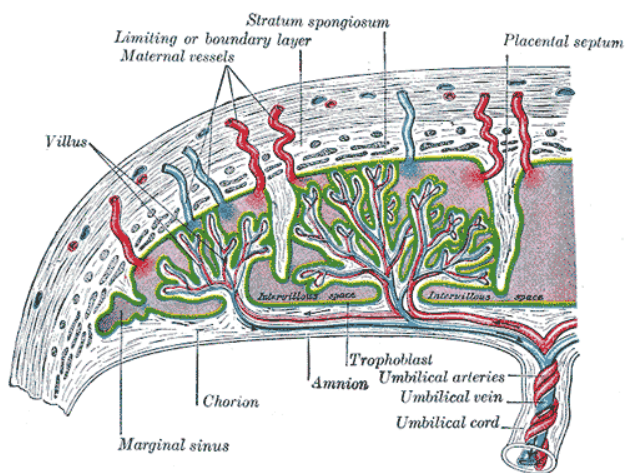
Εμφύτευση και σχηματισμός του Πλακούντα



Ο Πλακούντας

- Είναι όργανο με μεγάλη λειτουργική και μεταβολική ικανότητα
- Σχηματίζεται από την τροφοβλάστη, η οποία διαφοροποιείται:
 - στην κυτταροτροφοβλάστη (GnRH, CRH, σωματοστατίνη, ανασταλτίνη)
 - στην συγκυτιοτροφοβλάστη (hCG, HPL, GH, προγεστερόνη, οιστρογόνα)
- Εξυπηρετεί λειτουργίες του εμβρύου (ανταλλαγή των αερίων, απέκκριση ουσιών, θρέψη, θερμορύθμιση και ανοσολογική προστασία)
- Αποτελεί φραγμό στην είσοδο βλαπτικών ουσιών στον εμβρυϊκό οργανισμό (Πλακουντιακός φραγμός)
- Ατελής ενδοκρινής αδένας (Εμβryo-μητρο-πλακουντιακή μονάδα)

Ο Πλακούντας (2)



Εμβryoμητροπλακουντιακή μονάδα (ΕΜΠΜ)

Μητέρα	Πλακούντας	Έμβryo
Χοληστερόλη →	ΣΤΕΡΟΕΙΔΕΙΣ ΟΡΜΟΝΕΣ	
DHEAS →	Προγεστερόνη	← DHEAS
(Επινεφρίδια)	Οιστραδιόλη - Οιστρόνη	(Επινεφρίδια)
	Οιστριόλη	
	ΠΡΩΤΕΙΝΙΚΕΣ ΟΡΜΟΝΕΣ	← 16-α-OH- DHEAS -
Αμινοξέα	HCG, SP1, HPL, ACTH, GH, TSH,	(Ηπαρ)
και →	TRH, GnRH, CRF	
Υδατάνθρακες	PAPP-A, PAPP-B, PP-5, PP-14	
	Inhibin, Σωματοστατίνη	
	Ακτιβίνες α, β, Φολλιστατίνη	
	Κυτταροκίνες, ένζυμα, Αντιγόνα, Αυξητικοί παράγοντες κ.α.	

Το έμβryo στη στεροειδογένεση

- ΔΕΝ είναι παθητικός φιλοξενούμενος της μητέρας
- Παίζει ενεργό ενδοκρινή ρόλο στη στεροειδογένεση

- Έχει την ικανότητα να συνθέτει από απλές οξικές ρίζες
- Χορηγεί σημαντικά ποσά DHEA-S από την ειδική «εμβρυϊκή» ζώνη των επινεφριδίων
- Έχει μεγάλη ικανότητα για υδροξυλίωση και σύζευξη των οιστρογόνων με τη θειική ρίζα.

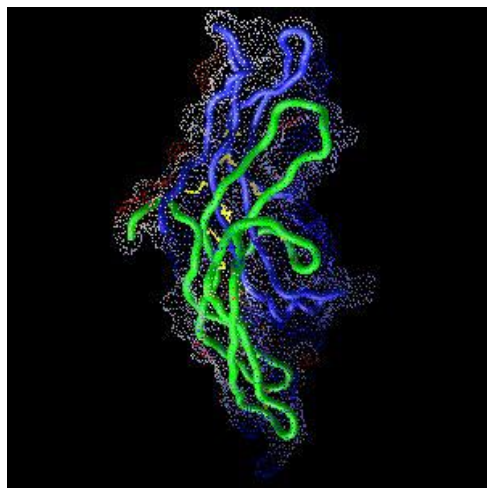
Οι πρωτεϊνικές πλακουντιακές ορμόνες

Κυριότερες:

- η Χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG)
- το Πλακουντιακό γαλακτογόνο (HPL)
- Προέρχονται από πρόδρομες ουσίες της μητέρας
- Βιοσυντίθενται στην συγκυτιοτροφοβλάστη
- Εκλύονται κυρίως στη μητρική κυκλοφορία

Η χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG)

- Είναι γλυκοπρωτεΐνη (MB~ 36500) με υψηλό περιεχόμενο σιαλικού οξέος (30%)
- Αποτελείται από 2 υπομονάδες την α, (92 αμινοξέα) όμοια με FSH, LH, TSH και την β, (145 αμινοξέα) χαρακτηριστική της ορμόνης
- Η βιολογική δράση της ασκείται από το ακέραιο μόριο
- Ο πλακούντας, ο ορός της μητέρας και τα ούρα περιέχουν ποικιλία μορφών της hCG
- Χρόνος ημι-ζωής : 32-37 ώρες, μεγάλος λόγω του σιαλικού οξέος



Βιολογική δράση της hCG

- Διεγείρει και διατηρεί την έκκριση προγεστερόνης από το ωχρό σωματίο της κύησης
- Διεγείρει την πρόσληψη της μητρικής LDL και μετατροπή της χοληστερόλης σε προγεστερόνη στον πλακούντα
- Συμμετέχει στην ανοσοβιολογία του πλακούντα και προστατεύει το έμβρυο από απόρριψη
- Διεγείρει τη λειτουργία των εμβρυϊκών επινεφριδίων
- Διεγείρει την παραγωγή και έκκριση τεστοστερόνης από τους εμβρυϊκούς όρχεις, συμβάλλοντας στη διαφοροποίηση των γεννητικών πόρων του εμβρύου
- Έχει θυρεοειδοτρόπο δράση σε μικρό όμως βαθμό (δράση ίση με το 1/4000 εκείνης της TSH)

Μεταβολές της hCG στην κύηση

- Η hCG ανιχνεύεται στα ούρα και τον ορό της εγκύου 9 – 10 ημέρες μετά την τελευταία ωοθυλακιορρηξία
- Η συγκέντρωσή της αυξάνει εκθετικά μέχρι να φτάσει την 9η – 10η εβδομάδα (~100.000 mIU/ml) όπου παρουσιάζει πλατώ

- Μετά την 12η ΕΚ πέφτει σταδιακά μέχρι την 23η στις 10.000 mIU/ml όπου σταθεροποιείται μέχρι το τέλος της κύησης

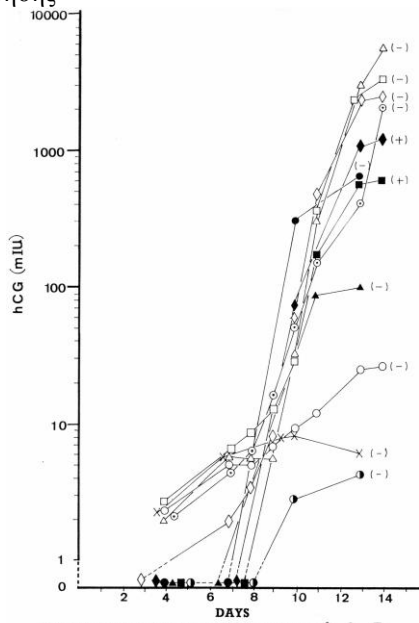
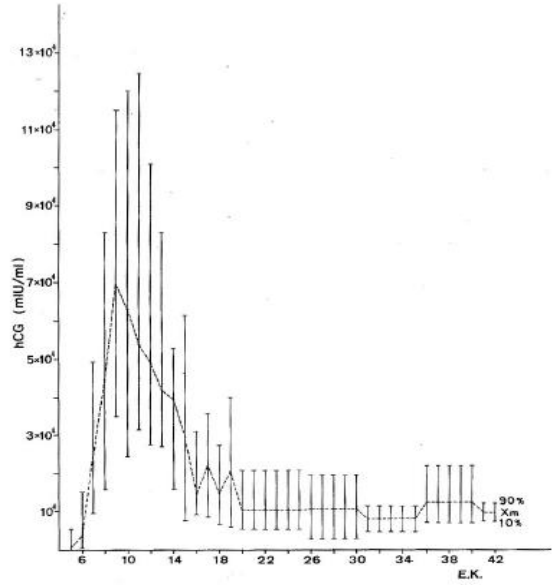
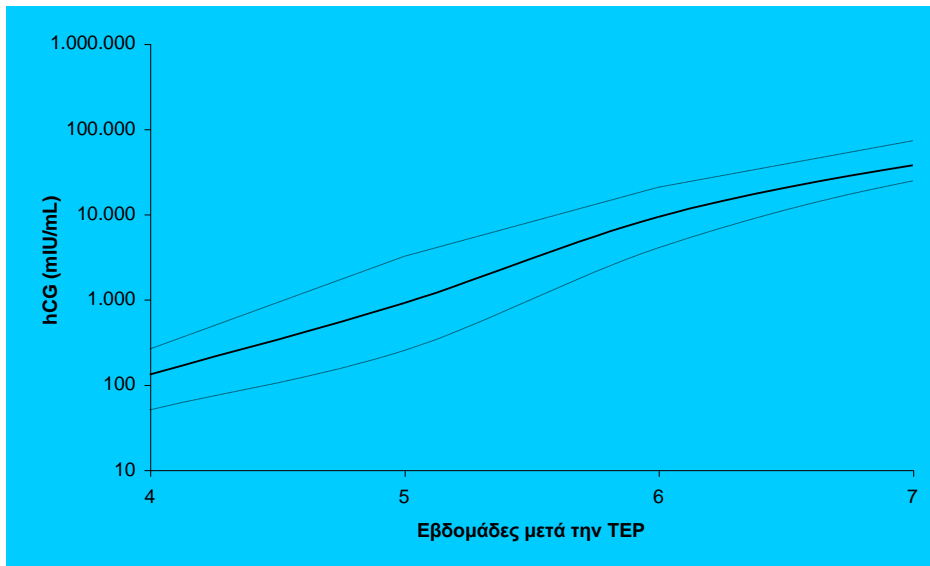


Figure 2: hCG secretion from 11 pre-embryos: ◆, ●, ■, ▲, ○ of one patient; ◇, □, △, ⊗, × of another patient; (+) hatched blastocyst, (-) non hatched blastocyst.



Η hCG στην αρχόμενη κύηση

- Εκθετική αύξηση μέχρι την 6η-7η ΕΚ
- Ο ρυθμός αύξησης της hCG είναι σταθερός
- Χρόνος διπλασιασμού



Χρόνος διπλασιασμού της hCG

Υπολογισμός

Δύο διαδοχικές μετρήσεις hCG με διαφορά 2 ή 3 ημερών

Τιμές αναφοράς:

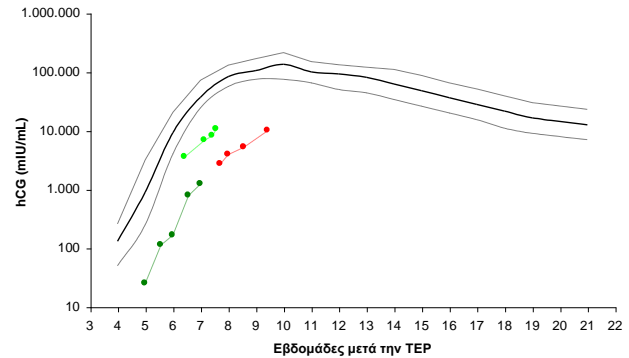
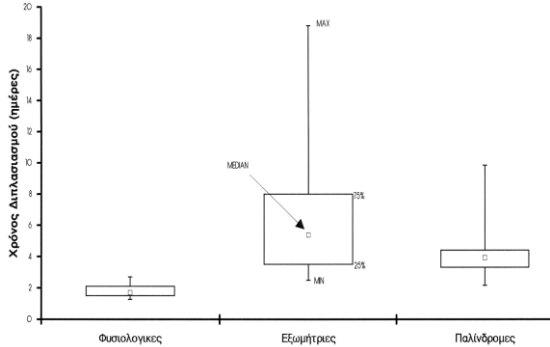
- Φυσιολογική κύηση: 1,9 (1,3-2,8) ημ
- Έκτοπη κύηση: >2,8 ημ
- Επαπειλούμενη έκτρωση: 4-7 ημ

$$DT = \frac{\ln(2) \cdot \Delta t(\eta\mu)}{\ln \frac{hCG_2}{hCG_1}}$$

Δυνατότητα εκτίμησης της ηλικίας κύησης με βάση την τιμή της hCG (μέχρι την 7η ΕΚ)

hCG στην έκτοπη κύηση

- Ανάπτυξη κύησης εκτός μήτρας (συνήθως στη σάλπιγγα)
 - Κίνδυνος ρήξης και αιμορραγίας
- Χαμηλότερα επίπεδα hCG
- Χρόνος διπλασιασμού > 2,9 ημ



Διάγνωση της κύησης

- Δοκιμασία ή τεστ εγκυμοσύνης
 - Βασίζονται στην ανίχνευση της HCG στα ούρα και στο αίμα
 - Αποτελούνται από: υψηλής ειδικότητας μονο- και πολυκλωνικά αντισώματα έναντι διαφόρων επιτόπων της β-υπομονάδας της HCG, χρωμογόνο ουσία, διαλυτικό μέσο
- Όριο ανίχνευσης 20 mIU/mL
- 1η ημέρα καθυστέρησης : ευαισθησία 90%
- 1η εβδομάδα καθυστέρησης : >99% ευαισθησία

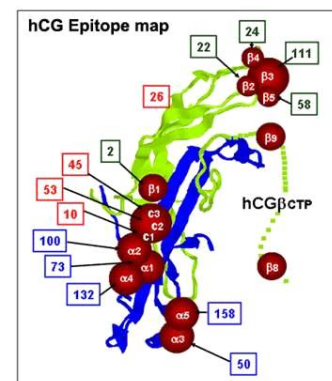
Προσδιορισμός της HCG

ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ ΤΗΣ hCG

- Κανονική hCG (MB ~36,700)
- Υπεργλυκοζυλιωμένη hCG (MB ~40,000)
- Nicked hCG (MB ~36,500)
- hCG Χωρίς το καρβοξυτελικό άκρο της β-υπομονάδας (MB ~29,000)
- Ελεύθερη β-υπομονάδα (MB ~22,000)
- b-core fragment ούρων (MB ~9,500)

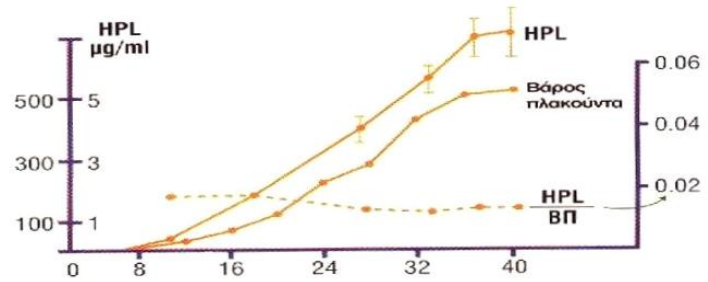
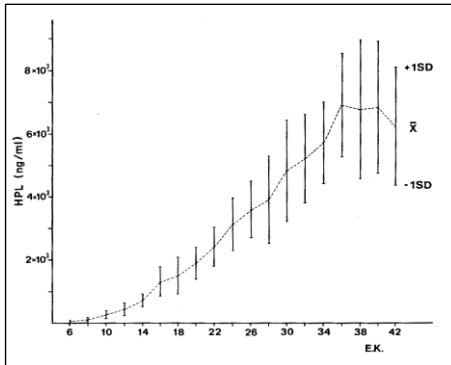
Μέθοδοι προσδιορισμού

- Κυκλοφορούν > από 50 διαφορετικές συσκευασίες τύπου sandwich
 - Ιχνηθέτες: ραδιοϊσότοπα, ένζυμα, φθορίζουσες ή χημειοφωταυγείς ουσίες
 - Μηδενική διασταυρούμενη αντίδραση με την LH
- Για την εκλογή ενός kit θα πρέπει να είναι γνωστό:
 - Το διεθνές πρότυπο βαθμονόμησης:
 - 1st IRP
 - 3rd IS
 - Τι ακριβώς προσδιορίζει (Ολική, ακέραιο μόριο ή ελεύθερη β-υπομονάδα της HCG)
 - Ποια είναι τα κριτήρια αξιοπιστίας της μεθόδου



Πλακουντιακό γαλακτογόνο (HPL)

- 191 αμινοξέα (μία αλυσίδα)
- Μεγάλη δομική ομοιότητα με hGH, PRL (162 αμινοξέα)
- Παράγεται από την συγκύτιο-τροφοβλάστη και εκκρίνεται προς την μητέρα
- Ανιχνεύεται στον ορό μετά την 6η ΕΚ
- Αυξάνει καθ'όλη τη διάρκεια της κύησης μέχρι την 36η ΕΚ
- Η συγκέντρωσή του είναι ανάλογη του βάρους του πλακούντα

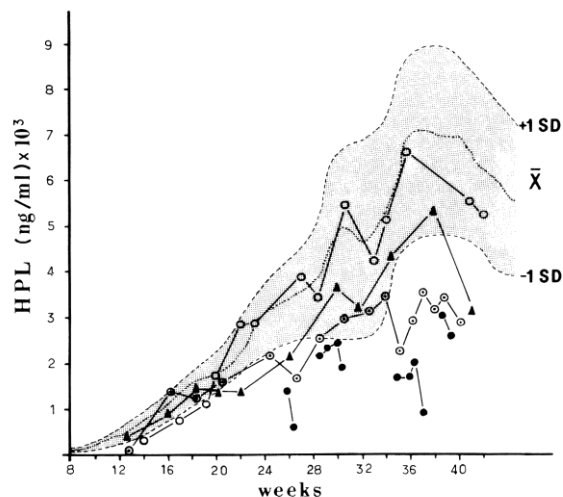


Βιολογικός ρόλος του HPL

- Δράσεις ανάλογες της hGH και PRL
- Διέγερση σύνθεσης λευκωμάτων
- Επιτάχυνση της λιπόλυσης
- Κινητοποίηση των ελευθέρων λιπαρών οξέων
- Ελάττωση της κατανάλωσης της γλυκόζης από την μητέρα (ινσουλινοαντοχή της κύησης)
- Πιθανή πρόκληση σακχαρώδη διαβήτη της κύησης στο τρίτο τρίμηνο

Κλινική αξιολόγηση του HPL

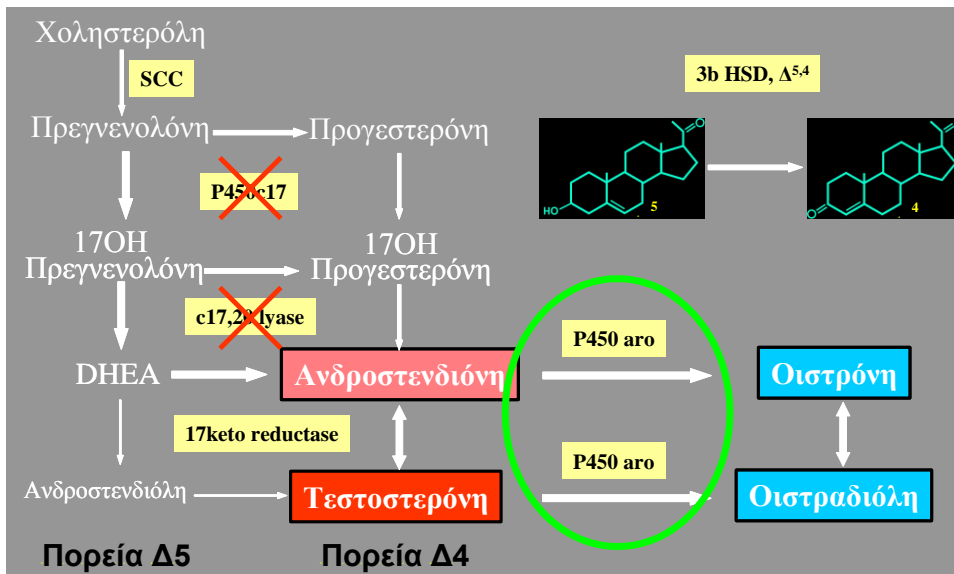
- Τα προηγούμενα χρόνια οι μετρήσεις του χρησιμοποιήθηκαν στο 3ο τρίμηνο της κύησης για την εκτίμηση της εμβρυϊκής δυσχέρειας πλακουντιακής αιτιολογίας
- Διαδοχικές πτωτικές τιμές HPL είναι ενδεικτικές εμβρυϊκής υποξίας ή/και εμβρυϊκού θανάτου
- Η μέτρησή του έχει πλέον αντικατασταθεί από τον υπερηχογραφικό έλεγχο, τη καρδιοτοκογραφία και το βιοφυσικό profile.



Τα στεροειδή του πλακούντα

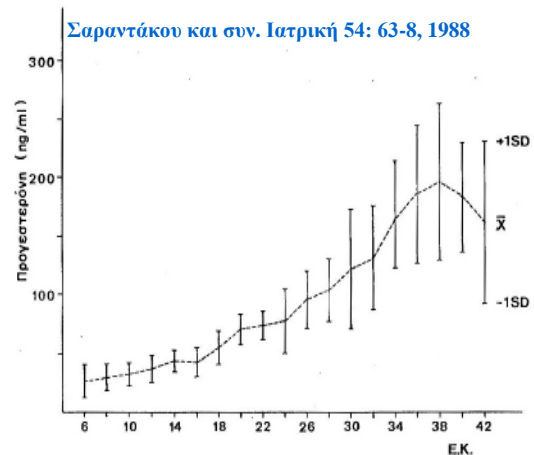
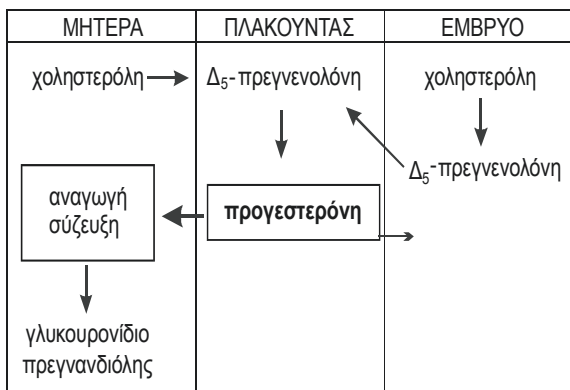
- Προγεστερόνη
- Ολικά Οιστρογόνα
- Οιστριόλη
 - Ολική
 - Ελεύθερη

Στεροειδογένεση: Πορείες Δ^5 , Δ^4



Προγεστερόνη

- Μέχρι την 6η ΕΚ παράγεται από το ωχρό σωματίο της κύησης
- Μετά την 7η ΕΚ αναλαμβάνει την παραγωγή της ο πλακούντας
- Αυξάνει συνεχώς μέχρι την 36η-37η ΕΚ ακολουθώντας την ανάπτυξη του πλακούντα
- Μικρή κλινική αξία ο προσδιορισμός της
 - Διαφοροδιάγνωση εξωμήτριας κύησης από ενδομήτρια κύηση



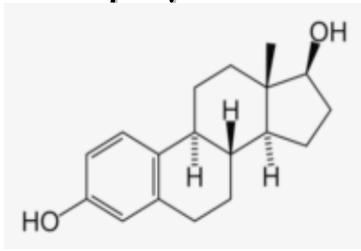
Ο βιολογικός ρόλος της προγεστερόνης

Προγεστερόνη: Ορμόνη της ανθρώπινης κύησης

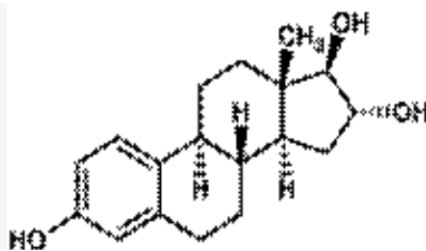
Υποστροφή του ωχρού σωματίου πριν την 7η ΕΚ έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια της κύησης

- Είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του φθαρού και την εμφύτευση της βλαστοκύστης
- Διατηρεί το μυομήτριο σε ηρεμία, συμβάλλοντας στην αποφυγή αποβολών
- Καταστέλλει την ανοσιακή απάντηση της μητέρας
- Χρησιμοποιείται για την παραγωγή κορτικοειδών στα εμβρυϊκά επινεφρίδια

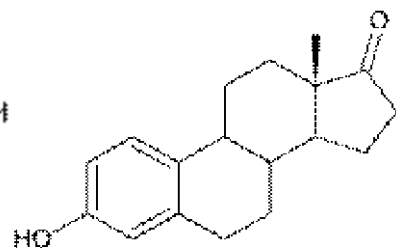
Οιστρογόνα



Οιστραδιόλη



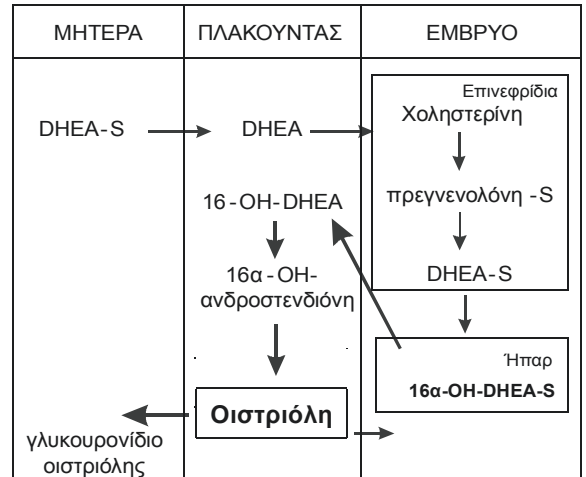
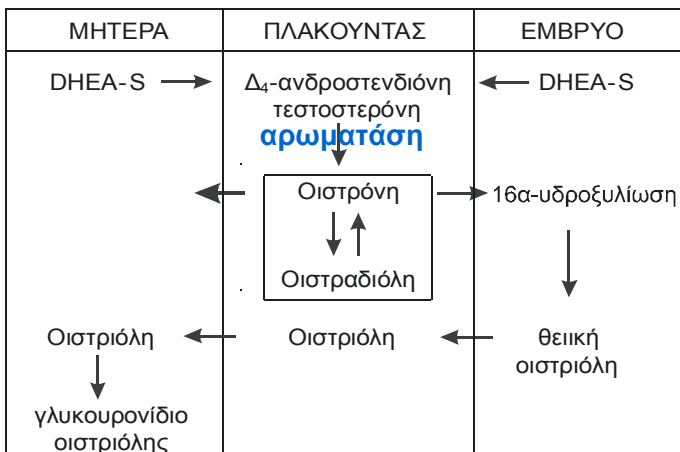
Οιστριόλη



Οιστρόνη

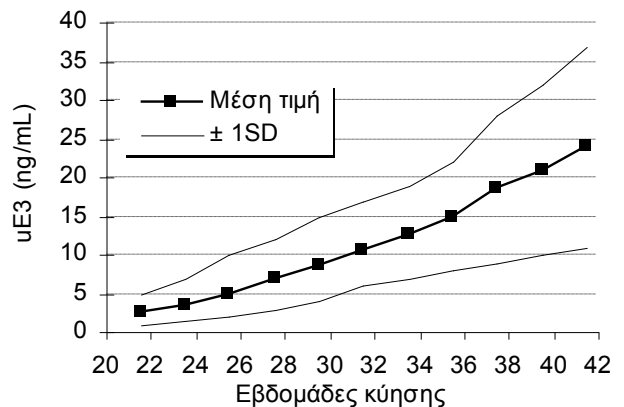
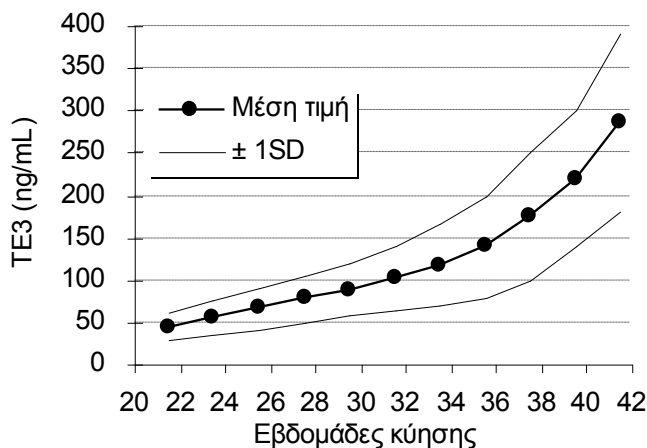
Βιοσύνθεση των Οιστρογόνων

- 7-8 ΕΚ → ωχρό σωματίο → Οιστραδιόλη
- 8η ΕΚ: (Πλακούντας συγκύτιο-τροφοβλάστη) εμβρυικά επινεφρίδια → πρόδρομες ουσίες Οιστραδιόλης, Οιστρόνης
- 12η ΕΚ: (Πλακούντας) εμβρυικό ήπαρ 16-OH-DHEA-S → Οιστριόλης

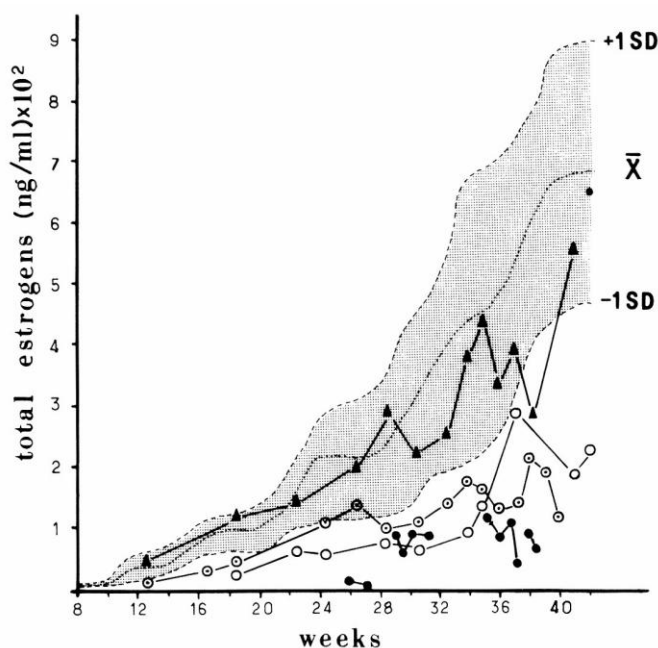


Μεταβολές των οιστρογόνων στην κύηση

- Οι συγκεντρώσεις τους αυξάνουν καθ'ολη τη διάρκεια της κύησης
- Η Οιστριόλη είναι το κυρίαρχο οιστρογόνο στην κύηση
 - Στη μητρική κυκλοφορία βρίσκεται με μορφή με θειικών και γλυκουρονικών εστέρων (90-92%)
 - Προσδιορίζεται ως Ολική οιστριόλη (TE3) και ως ελεύθερη, ασύζευκτη Οιστριόλη μΕ3 (8-10% της TE3)
 - Αποτελεί τον πιο αξιόπιστο δείκτη της εμβρυϊκής δυσχέρειας



Οιστρογόνα σε παθολογικές κυήσεις



Βιολογικές δράσεις των οιστρογόνων

- Αυξάνουν τη μητροπλακουντική αιμάτωση
- Προκαλούν υπερπλασία της μήτρας και των μαστών
- Επηρεάζουν την παραγωγή πολλών ορμονών, ειδικών πρωτεϊνών της κύησης και πρωτεϊνών σύνδεσης

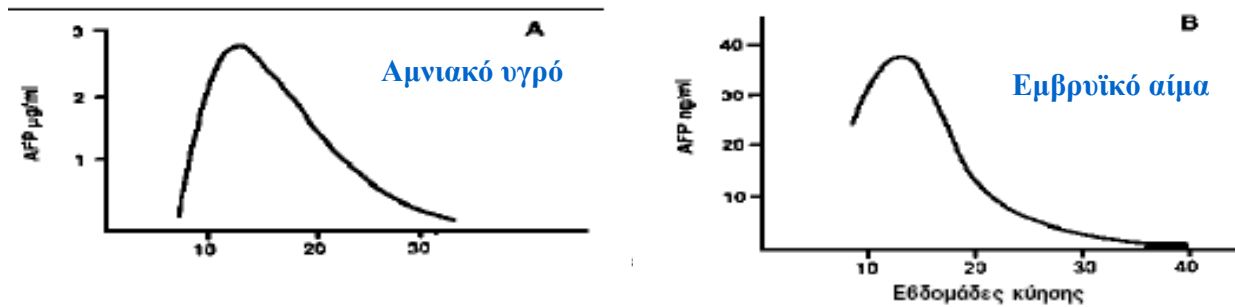
Αμνιακό υγρό

- Το διαυγές υγρό που περιβάλλει το έμβρυο στον αμνιακό σάκο. Φτάνει τα 600-800 mL στο τελευταίο τρίμηνο. Προέρχεται από τις εκκρίσεις των εμβρυϊκών μεμβρανών αλλά κυρίως από τα ούρα του εμβρύου.
- Περιέχει: Πρωτεΐνες, Υδατάνθρακες, Λιπίδια (κυρίως φωσφολιπίδια), ηλεκτρολύτες, άλλα, Εμβρυϊκά κύτταρα.
- Τι προσδιορίζουμε
 - AFP: Ανοικτές βλάβες του νευρικού σωλήνα του εμβρύου (neural tube defects, NTD) δισχιδής ράχη, ανεγκεφαλία, ατρησία οισοφάγου
 - Χολερυθρίνη: Resus ασυμβατότητα
 - Λεκιθίνη/σφιγγομυελίνη: Πνευμονική ωριμότητα εμβρύου
 - Φιβρονεκτίνη: Πρόωρος τοκετός

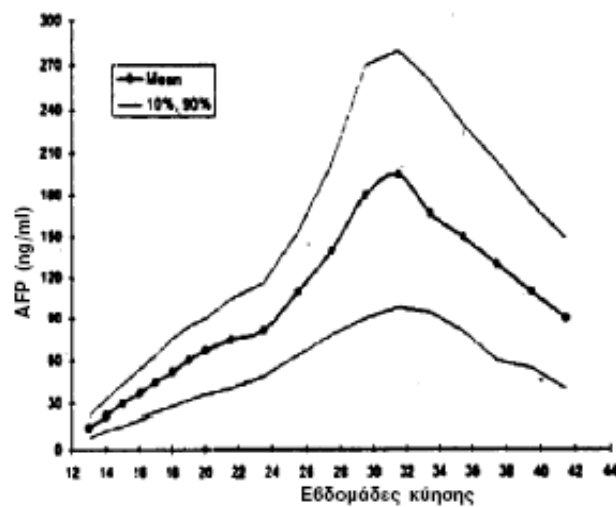
α1- εμβρυϊκή πρωτεΐνη (AFP)

- Είναι η βασική σφαιρίνη στο αίμα του εμβρύου
- Συντίθεται στον λεκιθικό σάκο, τον γαστρεντερικό σωλήνα και κυρίως το ήπαρ του εμβρύου
- Στο εμβρυϊκό αίμα έχει υψηλότερες τιμές στις 13-14 ΕΚ
- Στο αμνιακό υγρό προσδιορίζεται μετά τη 14η ΕΚ
- Στον ορό της μητέρας οι υψηλότερες τιμές (>200 ng/ml) είναι μεταξύ 28ης και 32ης ΕΚ.

AFP στο εμβρυϊκό αίμα και αμνιακό υγρό



AFP στον μητρικό ορό



Διαγνωστική σημασία της AFP

- Στον ορό της μητέρας (2ο τρίμηνο):
 - AFP > 2,5 MoMs Ανοικτές βλάβες του νευρικού σωλήνα του εμβρύου (NTD) δισχιδής ράχη, ανεγκεφαλία, ατρησία οισοφάγου
 - AFP ↓ Χρωμοσωμικές ανωμαλίες, (σύνδρομο Down).
- Στο αμνιακό υγρό (αμνιοπαρακέντηση)
 - AFP > 2,5 MoMs: NTD, δισχιδής ράχη, ανεγκεφαλία κ.λ.π.

Άλλοι προσδιορισμοί στο αμνιακό υγρό

- Χολερυθρίνη
 - Σε περιπτώσεις Rhesus ασυμβατότητας Rh(-) Μητέρας με Rh(+) νεογνό για την αποφυγή της αιμολυτικής νόσου των νεογνών (Erythroblastosis Fetalis)
- Λόγος λεκθίνης/σφιγγομυελίνη (Φωσφατιδίλογλυκερόλη, Φωσφατιδίλοινωσιτόλη)
 - Εκτίμηση της πνευμονικής ωριμότητας του εμβρύου για την αποφυγή του συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας των νεογνών (Respiratory distress syndrome)
- Φιβρονεκτίνη
 - Μέτρηση στο κοιλιακό-τραχηλο υγρό για την εκτίμηση της πιθανότητας πρόωρου τοκετού (επίπεδα > 50 ng/mL)

Άλλες πρωτεΐνες της κύησης

Η ειδική β1 γλυκοπρωτεΐνη της κύησης, SP1

- Παράγεται από τα πρώτα κύτταρα της τροφοβλάστης, με τη hCG και αυξάνεται ως το τέλος της κύησης
- Συμβάλει στην παρεμπόδιση της απόρριψης του εμβρύου

Η σχετιζόμενη με την κύηση πρωτεΐνη A του πλακούντα, PAPP-A

- Παράγεται από τη συγκυτιοτροφοβλάστη, ανιχνεύεται 33 ημέρες μετά την ωορρηξία
- Συνδέεται με τον μηχανισμό της πήξης
- Αξιολογείται στον προγεννητικό έλεγχο του 1ου τριμήνου για το σύνδρομο Down

Βιοχημικός προγεννητικός έλεγχος χρωμοσωματικών ατυπιών

Συχνότητα χρωμοσωματικών ατυπιών στα νεογέννητα

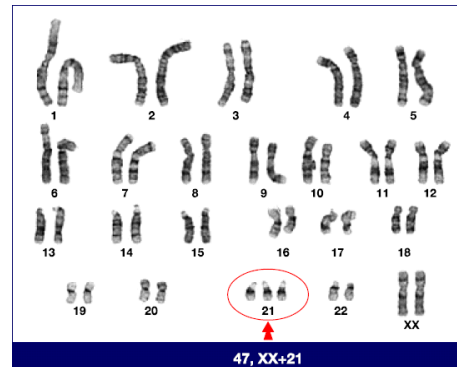
Ατυπίες		Συχνότητα
Αριθμητικές	Τρισωμία 21 (σύνδρομο Down)	1/800
	Τρισωμία 18 (σύνδρομο Edwards)	1/3500
	Τρισωμία 13 (σύνδρομο Patau)	1/5000
	47, XXY (σύνδρομο Klinefelter)	1/1000
	47, XYY	1/1000
	45, X (σύνδρομο Turner)	1/7500
	47, XXX (τριπλό X)	1/1000
	Τριπλοειδίες (69, XXX, κλπ)	
	<u>Σύνολο</u>	1/700
	Δομικές	Ισορροπημένες Μεταθέσεις Αναστροφές
Μη Ισορροπημένες Ελλείψεις Δακτυλιοειδή		1/400
<u>Σύνολο</u>		
Σύνολο ατυπιών		1/170

Διάγνωση χρωμοσωμικών ατυπιών

- Καρυότυπος εμβρυϊκών κυττάρων
- Μέθοδοι λήψης εμβρυϊκών κυττάρων
 - Αμνιοπαρακέντηση
 - 2ο τρίμηνο (μετά την 15η ΕΚ)
 - Κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας: 0.5-1.0%
 - Βιοψία χοριοτικών λαχνών (CVS)
 - 1ο τρίμηνο (11η με 14η ΕΚ)
 - Κίνδυνος εμβρυϊκής απώλειας: 1.0-2.0 %
 - Προ-εμφυτευτική διάγνωση (PGD)
 - Γίνεται μόνο σε κυήσεις μετά από υποβοηθούμενη αναπαραγωγή (IVF). Λήψη κυττάρων σε πολύ αρχόμενο στάδιο της κύησης (βλαστοκύστη)

Κυτταρο-γενετικές τεχνικές

- Κλασσικός καρυότυπος
 - Ευαισθησία: >99.9%
 - Αποτέλεσμα μετά από 2 εβδομάδες
 - Ταχείες μέθοδοι μοριακής γενετικής
 - PCR κυττάρων αμνιακού
 - FISH (fluorescence in situ hybridization)
 - QF-PCR (Quantitative fluorescence PCR)
- Το αποτέλεσμα αυτών των τεχνικών πρέπει να επιβεβαιώνεται από τον καρυότυπο.



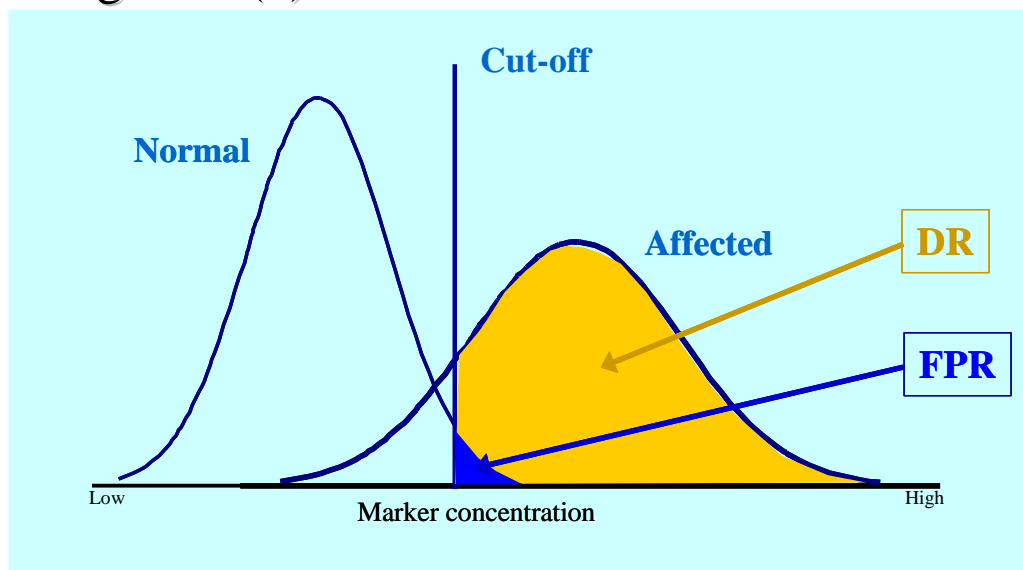
Το πρόβλημα των διαγνωστικών τεχνικών

- Όλες οι διαγνωστικές τεχνικές είναι επεμβατικές και για το λόγο αυτό σχετίζονται με κίνδυνο αποβολής του εμβρύου
- Παράδειγμα: Αν όλες οι κυήσεις στην Ελλάδα για ένα χρόνο έκαναν αμνιοπαρακέντηση:
 - Διάγνωση: 200 έμβρυα με χρωμοσωμικές ανωμαλίες
 - Απώλεια λόγω αμνιοπαρακέντησης: Περισσότερα από 1000 υγιή νεογνά
- Συμβιβαστική λύση: Η χρήση μεθόδων προσυμπτωματικού ελέγχου (screening tests) για την επιλογή των κυήσεων «υψηλού κινδύνου» οι οποίες θα υποβληθούν στη διάγνωση
- Πως επιλέγονται: Παράγοντες κινδύνου

Οι δοκιμασίες επιλογής (screening tests)

- Οι δοκιμασίες επιλογής κατηγοριοποιούν τα άτομα γενικά ως:
 - Υψηλού κινδύνου (υποβάλλονται στη διάγνωση)
 - Χαμηλού κινδύνου
- Τα κριτήρια αξιολόγησης των δοκιμασιών επιλογής είναι:
 - Ευαισθησία (ποσοστό ανίχνευσης, DR) (ποσοστό των πασχόντων με θετικό το αποτέλεσμα της δοκιμασίας)
 - Ποσοστό ψευδώς θετικών (FPR) (ποσοστό των μη πασχόντων με θετικό το αποτέλεσμα της δοκιμασίας) (1-Ειδικότητα)
- Οι δοκιμασίες επιλογής διαφέρουν από τις διαγνωστικές δοκιμασίες:
 - Είναι συνήθως χαμηλότερου κόστους, εύκολες και γρήγορες
 - Μια δοκιμασία επιλογής πάντα θα έχει ψευδώς θετικά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

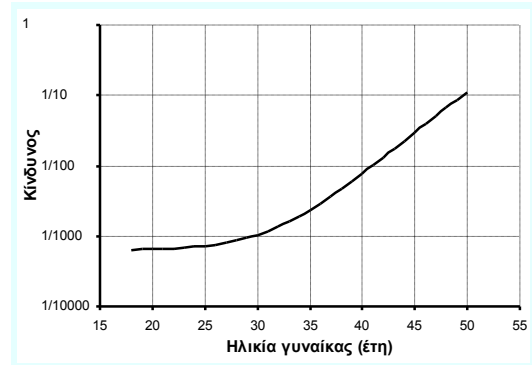
Screening tests (2)



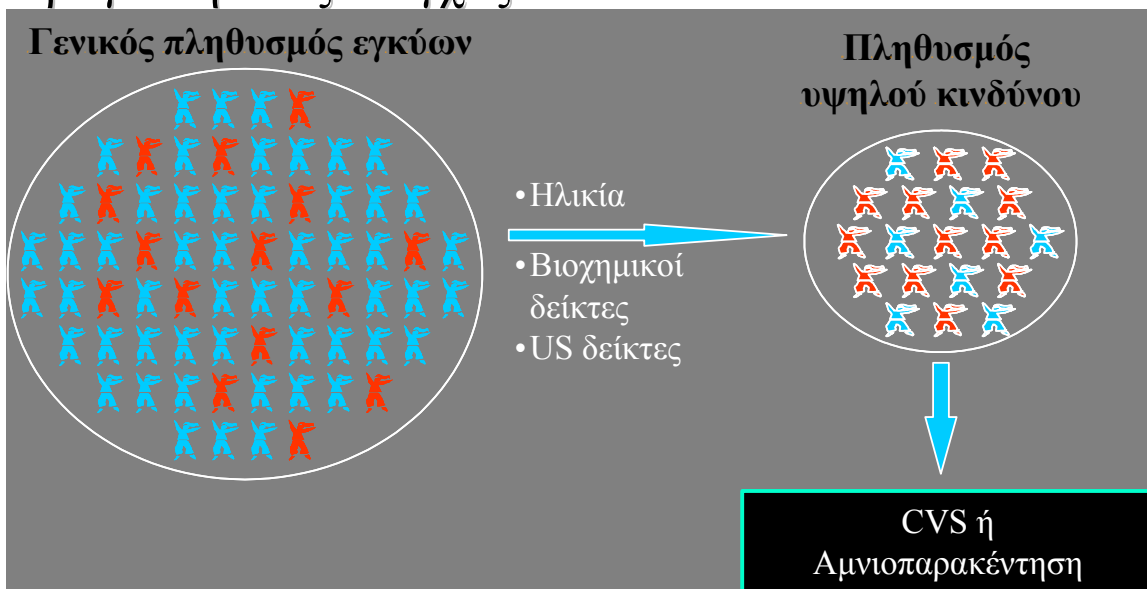
Παράγοντες κινδύνου για χρωμοσωμικές ατυπίες

- Η ηλικία της γυναίκας (για τις τρισωμίες 21, 18, 13 κλπ). Ο μόνος εκ' των προτέρων γνωστός παράγων κινδύνου

- Δείκτες που προσδιορίζονται κατά τη διάρκεια της κύησης:
 - Βιοχημικοί
 - Υπερηχογραφικοί (US)



Προγεννητικός έλεγχος



Προγεννητικός έλεγχος Πως γίνεται;

- Ο προγεννητικός έλεγχος επιλογής για χρωμοσωμικές ανωμαλίες βασίζεται στον υπολογισμό ενός «κινδύνου».
- Ο κίνδυνος αυτός υπολογίζεται από:
 - την ηλικία της εγκύου
 - τις συγκεντρώσεις των βιοχημικών δεικτών στον ορό της, στο πρώτο ή δεύτερο τρίμηνο της κύησης.
 - Τις τιμές των US δεικτών (αυχενική διαφάνεια)
- Συγκρίνεται με έναν οριακό κίνδυνο (cut-off 1:300) και:
 - αν είναι μικρότερος → χαμηλού κινδύνου
 - αν είναι μεγαλύτερος → υψηλού κινδύνου

↓
(Αμνιοπαρακέντηση)

Δείκτες χρωμοσωμικών ανωμαλιών

- Βιοχημικοί δείκτες
 - Χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG)
 - Ελεύθερη β-υπομονάδα της hCG (Fb-hCG)
 - α-φετοπρωτεΐνη (AFP)
 - Ασύζευκτη οιστριόλη (uE3)

- Η σχετιζόμενη με την κύηση πρωτεΐνη A του πλακούντα (PAPP-A)
- Inhibin-A
- Υπερηχογραφικοί δείκτες
 - Αυχενική διαφάνεια (nuchal translucency; NT)

Ιστορική αναδρομή

1980	Ο έλεγχος γινόταν μόνο με την ηλικία της γυναίκας
1984	Προστίθεται η AFP
1988	Δημιουργείται το τριπλό τεστ (AFP, hCG and uE3) από N. Wald and H Cuckle
1992	Εισάγεται η αυχενική διαφάνεια
1996	Τετραπλό τεστ στο 2ο τρίμηνο
1997	Συνδυασμένο τεστ 1ου τριμήνου (NT, PAPP-A, Fb-hCG)
2001	Ενοποιημένο τεστ (1ου και 2ου τριμήνου)

Έλεγχος στο 2ο τρίμηνο

- Χρονική περίοδος: 15 - 20 ΕΚ
- Βιοχημικοί δείκτες:
 - hCG ή Fb-hCG
 - AFP
 - uE3
 - Inhibin-A
- Συνδυασμοί δεικτών:
 - Διπλό τεστ: AFP + hCG
 - Τριπλό τεστ: AFP + hCG + uE3
 - Τετραπλό τεστ: Triple test + Inhibin-A

Έλεγχος στο 1ο τρίμηνο

- Χρονική περίοδος: 11 - 14 ΕΚ
- Βιοχημικοί δείκτες:
 - Fb-hCG
 - PAPP-A
- Υπερηχογραφικός δείκτης
 - Αυχενική διαφάνεια (NT)
- Συνδυασμός δεικτών:
 - Συνδυασμένο τεστ: Fb-hCG + PAPP-A + NT

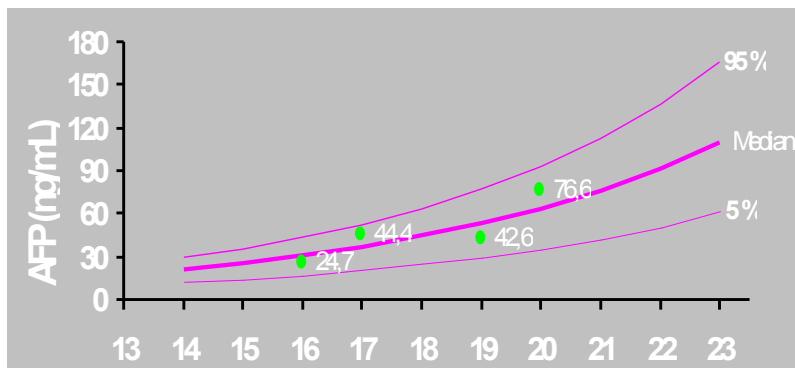
MoMs

- Στα προγράμματα προγεννητικού ελέγχου οι συγκεντρώσεις των δεικτών εκφράζονται σε MoMs
- MoM: Multiple of the median

$$MoM = \frac{\text{Marker C}}{\text{Median C of normal Pregnancies of same GA}}$$

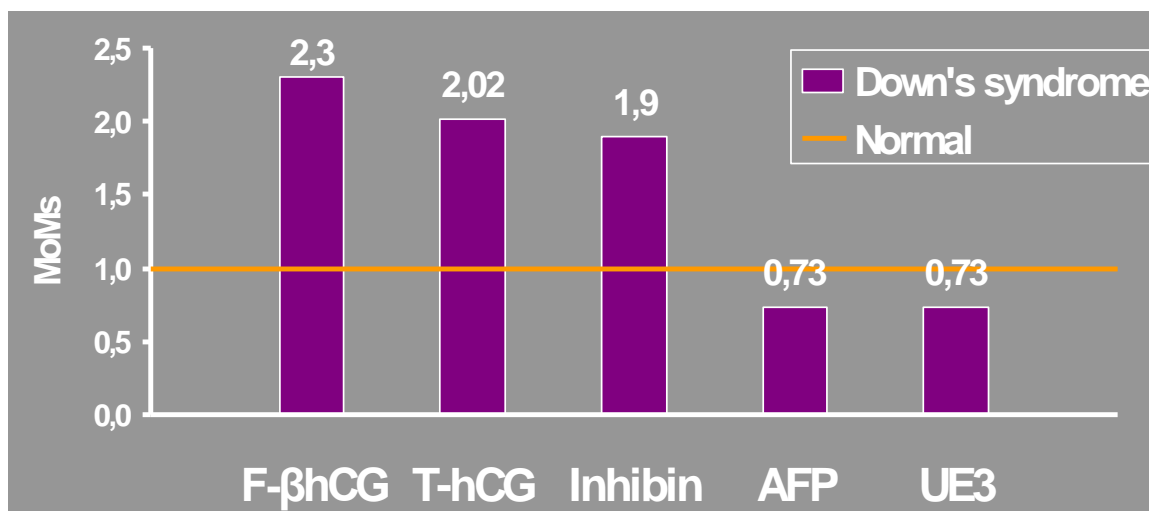
- Δεδομένου ότι οι δείκτες μεταβάλλονται (αυξάνουν ή ελαττώνονται) κατά τη διάρκεια της κύησης, η έκφραση των συγκεντρώσεών τους σε MoMs τους καθιστά ανεξάρτητους από την ηλικία κύησης

MoMs: παράδειγμα



	Ευρεθείσα τιμή	Median	MoM
A	24,7	30,9	0,8
B	44,4	37,0	1,2
Γ	42,6	53,2	0,8
Δ	76,6	63,8	1,2

Διάμεσες τιμές, (medians) των δεικτών στο 2ο τρίμηνο



Βιοχημική εικόνα στο 2ο τρίμηνο

Οι συγκεντρώσεις των βιοχημικών δεικτών μιας κύησης με σύνδρομο Down στο 2ο τρίμηνο θα είναι:

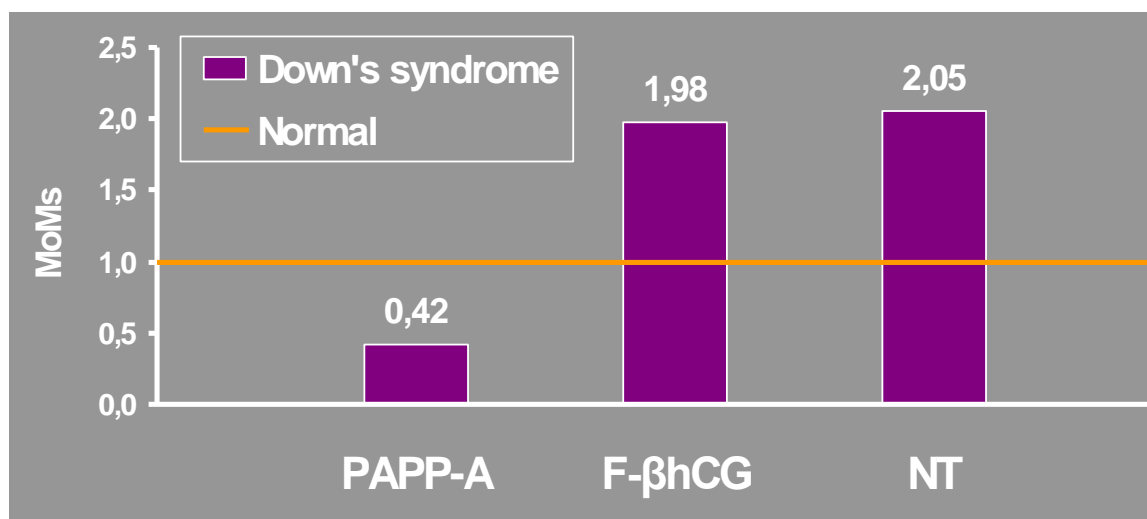
hCG (and Fb-hCG) αυξημένη (πολύ αυξημένη)

Inhibin-A αυξημένη

AFP ελαττωμένη

uE3 ελαττωμένη

Διάμεσες τιμές, (medians) των δεικτών στο 1ο τρίμηνο



Εικόνα δεικτών στο 1ο τρίμηνο

Οι συγκεντρώσεις των δεικτών σε μια κύηση με σύνδρομο Down στο 1ο τρίμηνο θα είναι:

Fb-hCG	αυξημένη
PAPP-A	ελαττωμένη
NT	αυξημένη (πολύ αυξημένη)

Βιοχημική εικόνα των άλλων ανωμαλιών στο 2ο τρίμηνο

Δείκτης	Ανευπλοδία			
	T21	T18	T13	Turner
AFP	Low	Unchanged	Increase	Decrease
hCG	High	Very low	Normal	Very high
uE3	Low	Low	Normal	Decrease
Inhibin A	High	Unchanged	Normal	Very high

Η λογική υπολογισμού του κινδύνου

- Δεδομένα:
 - Ηλικία γυναίκας
 - MoMs βιοχημικών δεικτών
 - MoMs υπερηχογραφικών δεικτών

- Ο τελικός κίνδυνος είναι ο συνδυασμός του κινδύνου λόγω ηλικίας με την πληροφορία που δίνουν οι δείκτες (Likelihood ratio, LR) για την κατάσταση της παρούσας εγκυμοσύνης.

$$\text{Κίνδυνος Down} = (\text{Κίνδυνος ηλικίας}) \times \text{LR}$$

Παράδειγμα υπολογισμού κινδύνου (2ο τρίμηνο) (1)

- Ηλικία 30,0 ετών	(Agerisk = 1:965)
- Ηλικία κύησης:	17εβδ+2ημ
- hCG (mU/L)=26,4	MoM hCG = 1,0
- AFP (ng/mL)=46,0	MoM AFP = 1,0
- uE3(ng/mL)=2,20	MoM uE3 = 1,0

- Downrisk = 1:4570 (1:300)

- Αξιολόγηση: Κύηση χαμηλού κινδύνου

Παράδειγμα υπολογισμού κινδύνου (2ο τρίμηνο) (2)

- Ηλικία 30,0 ετών	(Agerisk=1:965)
- Ηλικία κύησης:	<u>20εβδ+4ημ</u>
- hCG (mU/L)=26,4	MoM hCG = 1,3
- AFP (ng/mL)=46,0	MoM AFP = 0,63
- uE3(ng/mL)=2,20	MoM uE3 = 0,59

- Downrisk = 1:200 (1:300)

- Αξιολόγηση Κύηση υψηλού κινδύνου

Παράδειγμα υπολογισμού κινδύνου (1ο τρίμηνο)

- Ηλικία 35,7 ετών	(Agerisk = 1:372)
- Ηλικία κύησης:	13εβδ+4ημ
- Fb-hCG (ng/mL)=19,4	MoM = 0,67
- PAPP-A (mIU/mL)=4,286	MoM = 0,78
- NT (mm)=2,1	MoM = 1,14

- Downrisk = 1:3920 (1:300)

- Αξιολόγηση: Κύηση χαμηλού κινδύνου

Παράδειγμα: Ψευδώς αρνητικό

- Ηλικία 30,7 ετών	(Agerisk=1:883)
- Ηλικία κύησης (TEP):	16εβδ+5ημ
- Ηλικία κύησης (US):	16εβδ+0ημ
- hCG (mU/L)=57,4	MoM hCG=1,64
- AFP (ng/mL)=26,0	MoM AFP=0,63
- uE3(ng/mL)=1,94	MoM uE3=1,19
- NT (mm)=1,3	MoM NT=1,12

- Τριπλό τεστ = 1:437 NT Risk = 1:2840
- Συνδυασμένος κίνδυνος = 1:1400

- Αξιολόγηση: Κύηση χαμηλού κινδύνου
- Έκβαση: Γέννηση παιδιού με σύνδρομο Down

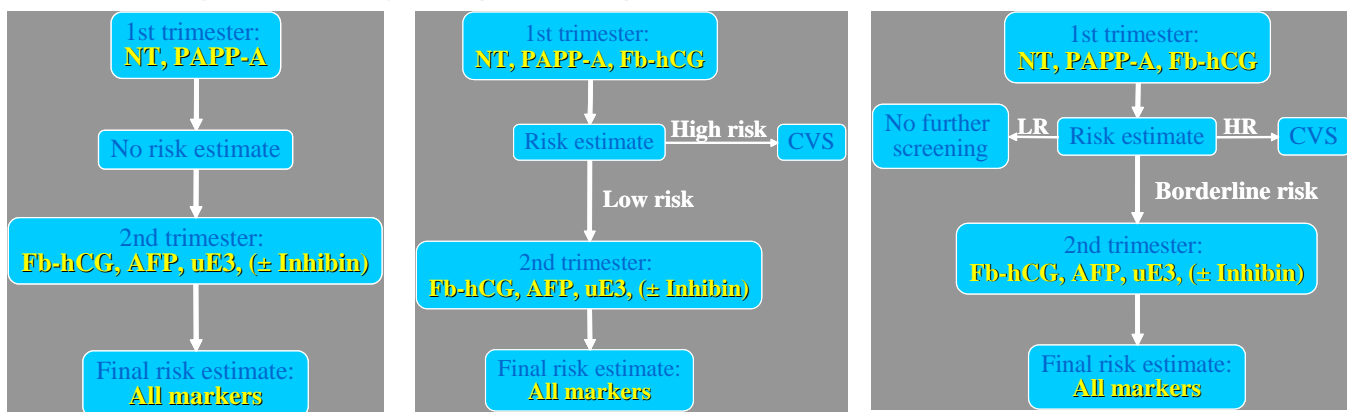
Αξιολόγηση του προγεννητικού ελέγχου

- Το 2000, ξεκίνησαν 2 μεγάλες προοπτικές μελέτες με σκοπό να αξιολογήσουν τον προγεννητικό έλεγχο στο 1ο και 2ο τρίμηνο και να προτείνουν την καλύτερη στρατηγική:
 - SURUSS (Serum Urine and Ultrasound Screening Study)
 - 30.375 κυήσεις (65 Downs)
 - Δημοσίευση: Health Technology Assessment 2003
 - FASTER (First And Second Trimester Evaluation of Risks)
 - 33,546 pregnancies (87 Downs)
 - Δημοσίευση: N. Eng J Med, 2005

Ενιαίος έλεγχος (1ο και 2ο τρίμηνο)

Κύριες στρατηγικές:

- Πλήρως ενιαίος έλεγχος (Fully Integrated)
- Διαδοχικός βηματικός (Step-wise sequential)
- Διαδοχικός κατά περίπτωση (Contingent screening)



Αποτελέσματα των μελετών SURUSS και FASTER

Τεστ	Δείκτες	Τρίμηνο	DR (%) for 5% FPR	
			SURUSS	FASTER
Διπλό	hCG, AFP	2 nd	66	-
Τριπλό	hCG, AFP, uE3	2 nd	74	69
Τετραπλό	hCG, AFP, uE3, Inh	2 nd	81	81
Συνδιασμένο	NT, PAPP-A, Fb-hCG	1 st	83	85
Ενιαίο (ορός)	PAPP-A, hCG, AFP, uE3	1 st & 2 nd	86	86
Ενιαίο	NT, PAPP-A, hCG, AFP, uE3	1 st & 2 nd	93	95
Κατά περίπτωση	NT, PAPP-A, Fb-hCG, AFP, uE3	1 st & 2 nd	94 (9%)	94 (11%)

Συμπεράσματα από τις μελέτες SURUSS και FASTER

- Ο έλεγχος στο 1ο τρίμηνο είναι καλύτερος από τον έλεγχο στο 2ο τρίμηνο
- Ο ενιαίος έλεγχος δείχνει να είναι η καλύτερη πολιτική προγεννητικού ελέγχου (95% DR, 5% FPR)
 - Μειονεκτήματα:
 - Μεγάλος χρόνος αναμονής για την ολοκλήρωση του ελέγχου
 - Ηθικό δίλημμα σε περιπτώσεις με σαφώς παθολογικό αποτέλεσμα 1ου τριμήνου
- Περισσότερο αποδεκτή φαίνεται να είναι η λύση του κατά περίπτωση διαδοχικού ελέγχου (contingent screening)

Το μέλλον του προγεννητικού ελέγχου

- Νέοι υπερηχογραφικοί δείκτες
 - Ρινικό οστού
- Νέοι βιοχημικοί δείκτες
 - ADAM-12 (A disintergin and metalloprotease)
 - Έλεγχος μεταξύ 8 – 12 ΕΚ
- Πολλά υποσχόμενες μοριακές τεχνικές
 - Ελεύθερο εμβρυϊκό DNA στη μητρική κυκλοφορία

Αποτελέσματα Ορμονολογικού εργαστηρίου (1)

	N	Τεστ (+)	%
Σύνολο δειγμάτων	7060		
Γνωστής έκβασης	2296		
Υγιή νεογνά	2282	131	5,7
Χρωμ/τικές ανωμαλίες	14	12	85,7
Τρισωμία 21	8	7	87,5
Τρισωμία 18	2	2	100
45, X (Turner)	2	2	100
Τρισωμία 13	1	1	100
Μωσαϊκισμός	1		0

Αποτελέσματα Ορμονολογικού εργαστηρίου (2)

Χρωμοσωματική ανωμαλία	N	Μέση ηλικία	ΕΚ	Θετικά	ΠΑ (%)
Τρισωμία 21	27	38,2	17-23	21	78
Τρισωμία 18	7	37,8	17-23	5	71
Klinefelter	4	36,1	15-21	2	50
Τρισωμία 13	2	35,7	20	2	100