



Νικόλαος Δ. Βραχνής

MD, PhD, FRCOG, DFFP, PCME
Μαιευτήρας - Γυναικολόγος

Αναπλ. Καθηγητής Μαιευτικής - Γυναικολογίας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών
Επισκέπτης Καθηγητής Μαιευτικής και Ιατρικής
Εμβρύου Πανεπιστημίου St. George's Λονδίνου

Βασιλίσσης Σοφίας 124B • 115 26 Αθήνα
τηλ.: 210 7777442 • fax: 210 7777390
κιν.: 6974 441144
email: nvrachnisiatreio@hotmail.com

ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

ΟΙ ΠΙΟ ΣΥΧΝΕΣ ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ

Λήψη χοριακών λαχνών

Πραγματοποιείται από την 11^η έως και την 14^η εβδομάδα της κύησης. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης με τη βοήθεια του υπερηχοτομογράφου αφαιρείται ένα μικρό κομμάτι από τον πλακούντα.



Στόχος της λήψης του δείγματος είναι η εξέταση των κυττάρων του πλακούντα. Το γενετικό υλικό του πλακούντα προέρχεται από το έμβρυο, οπότε με την εξέταση αυτών των κυττάρων γίνεται ουσιαστικά εξέταση του γενετικού υλικού του εμβρύου.

Η εξέταση με λήψη χοριακών λαχνών προτείνεται κυρίως σε:

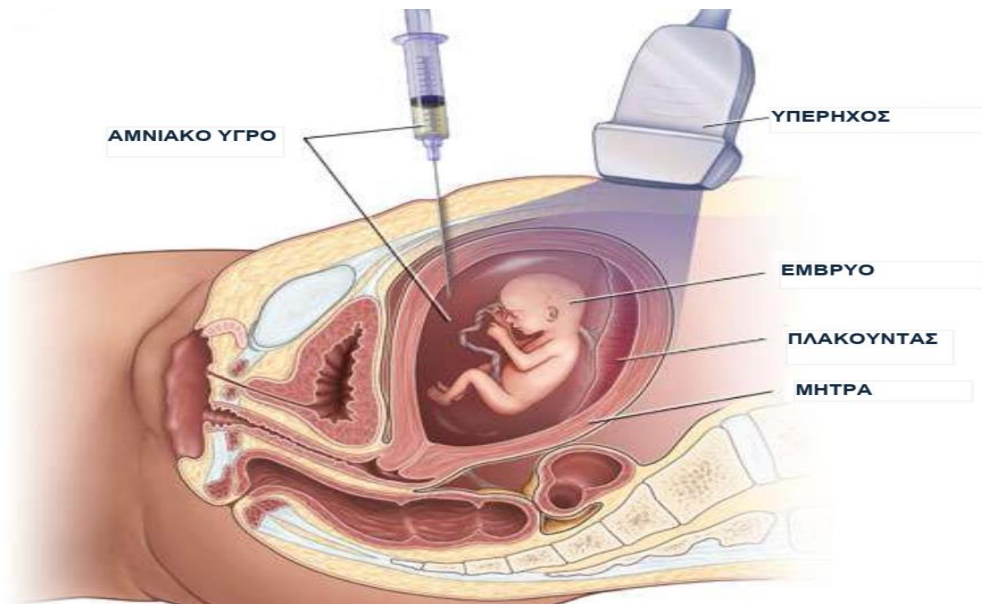
- Κυήσεις όπου υπήρχαν παθολογικά ευρήματα στο υπερηχογράφημα 1^{ου} τριμήνου όπως πχ αυξημένη αυχενική διαφάνεια
- Όταν ο κίνδυνος μετά από το βιοχημικό έλεγχο του 1^{ου} τριμήνου με PAPP-A και β-hCG βρίσκεται αυξημένος για χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Οικογενειακό ιστορικό με κληρονομικό γενετικό νόσημα
- Γονείς με γνωστές χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Επιθυμία των γονέων

Η λήψη χοριακών λαχνών αποτελεί μια εύκολη, σχετικά ανώδυνη και γρήγορη εξέταση για την έγκυο γυναίκα και το έμβρυο. Στα χέρια ενός έμπειρου ιατρού αποτελεί μια ασφαλή εξέταση. Ο κίνδυνος απώλειας του κυήματος λόγω της λήψης των χοριακών λαχνών είναι μικρότερος από 1/100 λήψεις.

Αμνιοπαρακέντηση

Πραγματοποιείται από τη 15^η εβδομάδα της κύησης μέχρι και το 3^ο τρίμηνο αυτής. Όσο προχωράει η εγκυμοσύνη τόσο πιο δύσκολο είναι να καλλιεργηθούν τα κύτταρα που λαμβάνονται, έχοντας ως συνέπεια τη πιθανότητα αδυναμίας ελέγχου του καρυστύπου.

Κατά τη διάρκεια της εξέτασης αυτής λαμβάνεται υπό υπερηχογραφική παρακολούθηση μικρή ποσότητα δείγματος αμνιακού υγρού (περίπου 18 ml). Στο υγρό αυτό περιέχονται και αποφολιδωμένα εμβρυικά κύτταρα, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν για την εξέταση του καρυστύπου του εμβρύου.



Η εξέταση του αμνιακού υγρού προτείνεται κυρίως:

- Σε εγκύους με παθολογικά ευρήματα στον υπερηχογραφικό έλεγχο
- Όταν ο κίνδυνος μετά από το βιοχημικό έλεγχο του 1^{ου} τριμήνου με PAPP-A και β-hCG βρίσκεται αυξημένος για χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Οικογενειακό ιστορικό με κληρονομικό γενετικό νόσημα
- Γονείς με γνωστές χρωμοσωμικές ανωμαλίες
- Επιθυμία των γονέων

Η αμνιοπαρακέντηση αποτελεί μια εύκολη, ανώδυνη και γρήγορη εξέταση για την έγκυο γυναίκα και το έμβρυο. Στα χέρια ενός έμπειρου ιατρού αποτελεί μια ασφαλή εξέταση. Ο κίνδυνος απώλειας του κυήματος λόγω της λήψης αμνιακού υγρού είναι μικρότερος από 1/100 λήψεις.

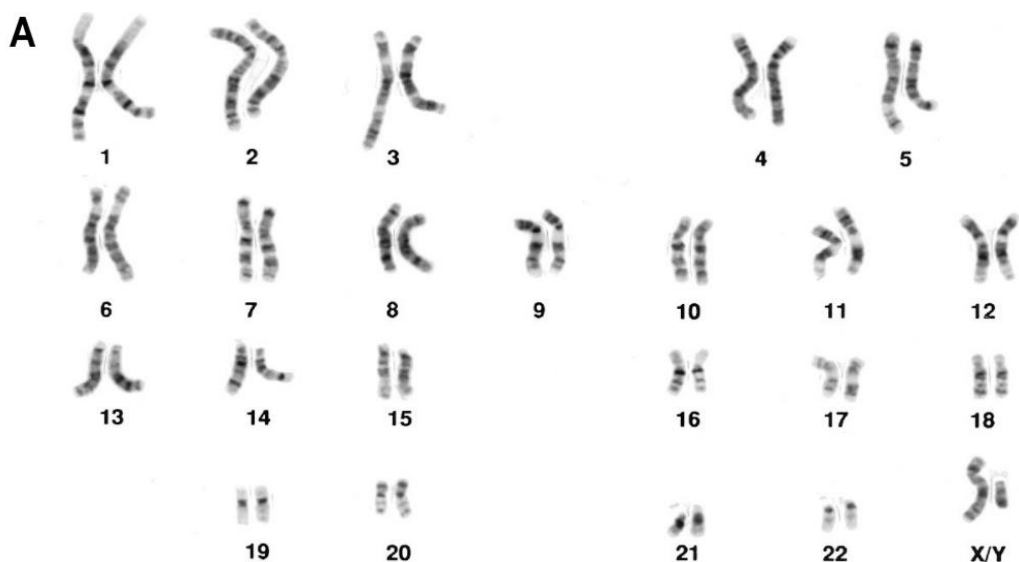
ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΝΟΣΩΝ ΜΕ ΚΑΡΥΟΤΥΠΟ – ΠΟΙΟΣ ΤΥΠΟΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΓΙΑ ΠΟΙΑ ΝΟΣΟΉ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

Οι γενετικές ανωμαλίες προκαλούνται από αλλαγές στα χρωμοσώματα ή τα γονίδια ενός ατόμου. Έχει υπολογιστεί πως σε 1/800 ζώντες γεννήσεις υπάρχει κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία. Στις μέρες μας μια σειρά από διαθέσιμες μεθόδους χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση γενετικών

ανωμαλιών στο αμνιακό υγρό ή τις χοριακές λάχνες. Πιο συγκεκριμένα, ο κλασικός καρυότυπος, η τεχνική QF-PCR, η τεχνική FISH, ο μοριακός καρυότυπος ή αλλιώς ο συγκριτικός γονιδιωματικός υβριδισμός με συστοιχίες (array CGH) καθώς και η ανάλυση της αλληλουχίας ολόκληρου του εξώματος (Whole Exome Sequencing ή αλλιώς WES).

Με τη χρήση αυτών των μεθόδων μπορούν να ανιχνευθούν προγεννητικά μια πληθώρα νόσων που μπορεί να προκαλούνται από:

- A) μη φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων που ονομάζονται ανευπλοειδίες (πχ σύνδρομο Down, σύνδρομο Turner, σύνδρομο Klinefelter, τρισωμία 13, 18)
- B) από μικροαλλαγές στην αλληλουχία των γονιδίων που βρίσκονται πάνω στα χρωμοσώματα (πχ σύνδρομο Cri-du-Chat, σύνδρομο Angelman, σύνδρομο Prader Willi και άλλες).



Εικόνα Α. Φυσιολογικός κλασικός καρυότυπος εμβρύου άρρενος φύλου

ΤΡΟΠΟΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Ο κλασικός πλήρης καρυότυπος μπορεί να ανιχνεύσει την ύπαρξη ενός επιπλέον ή την έλλειψη ενός χρωμοσώματος, καθώς και δομικές αλλαγές στα χρωμοσώματα που έχουν αρκετά μεγάλο μέγεθος ώστε να είναι ορατές στο μικροσκόπιο. Έτσι μπορούν να ανιχνευθούν ανευπλοειδίες,

όπως είναι η τρισωμία 21 (σύνδρομο Down), οι τρισωμίες 13 και 18 καθώς και νοσήματα που οφείλονται σε απουσία κάποιου χρωμοσώματος όπως το σύνδρομο Turner (ένα μόνο φυλετικό X χρωμόσωμα σε θηλυκού γένους έμβρυο). Επιπρόσθετα προσφέρει πληροφορίες για αλλαγές στη δομή των χρωμοσωμάτων, όπως συμβαίνει στο σύνδρομο cri du chat. Συνολικά μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για τη διάγνωση 30 νοσημάτων, με τα αποτελέσματα να αναμένονται εντός 2 εβδομάδων από τη λήψη είτε των χοριακών λαχνών είτε του αμνιακού υγρού, πράγμα που μπορεί να είναι αρκετά αγχωτικό για την εγκυμονούσα και το σύντροφό της.



Εικόνα Β. Καρυότυπος άρρενος φύλου με τρισωμία 21 (σύνδρομο Down)

Η καθυστέρηση αυτή οδήγησε στην ανάγκη ανεύρεσης νέων ταχύτερων μεθόδων προγεννητικής ανίχνευσης γενετικών ανωμαλιών, με αποτέλεσμα τα τελευταία χρόνια να έχουν αναπτυχθεί δοκιμασίες όπως η **ποσοτική φθορίζουσα αντίδραση πολυμεράσης** (Quantitative fluorescent polymerase chain reaction ή αλλιώς **QF-PCR**) καθώς και η τεχνική της **φθορίζουσας υβριδοποίησης in situ** (Fluorescent In Situ Hybridization ή αλλιώς **FISH**) που ελέγχουν συγκεκριμένα χρωμοσώματα (21, 13, 18, X, Y) και παρέχουν αποτέλεσμα εντός 1-2 ημερών με πολύ

καλά αποτελέσματα όσον αφορά το ποσοστό ανίχνευσης νόσου. Οι δοκιμασίες αυτές βρίσκουν μεγάλη κλινική σημασία σε περιπτώσεις εμβρύων με ανησυχητικά υπερηχογραφικά ευρήματα (πχ αυξημένη αυχενική διαφάνεια) ή σε περιπτώσεις αυξημένων πιθανοτήτων ύπαρξης κάποιας από τις πιο συχνές ανευπλοειδίες. Επιπρόσθετα με τη τεχνική FISH μπορεί να ανιχνευθούν στοχευμένα υπομικροσκοπικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που παρά το μικρό τους μέγεθος έχουν τεράστια κλινική σημασία όπως για παράδειγμα το μικροέλλειμμα 22q11 που προκαλεί το σύνδρομο DiGeorge. Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος με QF-PCR ή FISH θα πρέπει να γίνεται επιβεβαίωση με πραγματοποίηση κλασσικού καρυότυπου.

Η **MPLA (Multiple Ligation-dependent Probe Amplification)** χρησιμοποιείται στις μέρες μας για την ανίχνευση μικρού μεγέθους αλλαγών στο γονιδίωμα όπως είναι τα μικροελλείμματα ή οι μικροδιπλασιασμοί που οφείλονται για πληθώρα συνδρόμων όπως είναι το σύνδρομο DiGeorge, το σύνδρομο Williams, το σύνδρομο Prader Willi και άλλα.

Ο **μοριακός καρυότυπος ή αλλιώς ο συγκριτικός γονιδιωματικός υβριδισμός με μικροσυστοιχίες (array CGH)** είναι σε θέση να ανιχνεύσει με ακρίβεια οποιαδήποτε ποσοτική αλλαγή στο DNA του εμβρύου, δηλαδή οποιαδήποτε αλλαγή στον αριθμό των χρωμοσωμάτων καθώς και δομικές αλλαγές των χρωμοσωμάτων που οφείλονται σε μικροελλείμματα και μικροδιπλασιασμούς που συνδέονται με την εμφάνιση νοητικής υστέρησης, συγγενών ανωμαλιών, αναπτυξιακών διαταραχών. Πρόκειται για αλλαγές που δεν γίνεται να ανευρεθούν με τον συμβατικό καρυότυπο λόγω μεγέθους. Η ανιχνευτική ικανότητα του μοριακού καρυότυπου είναι 100 με 1000 φορές μεγαλύτερη από αυτή του κλασσικού. Μπορεί να οδηγήσει στην επιπλέον ανίχνευση αλλαγών στο γονιδίωμα που οδηγούν σε διαταραχές στο φαινότυπο έως και 8% των κυήσεων υψηλού κινδύνου. Έτσι μπορούν να ανιχνευθούν αλλαγές σε περίπου 500 γονιδιακές περιοχές που σχετίζονται με αντιστοιχες σε αριθμό γενετικές νόσους. Επιπλέον χρησιμοποιείται στον έλεγχο του εμβρύου πριν την εμφύτευσή του μετά από εξωσωματική γονιμοποίηση. Πρέπει να σημειωθεί πως ο μοριακός καρυότυπος δεν μπορεί να ανιχνεύσει ανακατατάξεις του γενετικού υλικού χωρίς απώλεια ή αύξηση αυτού, όπως για παράδειγμα σε μεταθέσεις χρωμοσωμάτων.

Η **ανάλυση ολόκληρου του εξώματος (WES)** πρόκειται για μια νέα μέθοδο που εφαρμόζεται όλο και περισσότερο στη προγεννητική διάγνωση γενετικών διαταραχών. Μπορεί να ανιχνεύσει αλλαγές στις περιοχές του γονιδιώματος που είναι υπεύθυνες για τη κωδικοποίηση των πρωτεϊνών. Οι περιοχές αυτές ονομάζονται εξόνια και υπολογίζεται πως αποτελούν μόλις το 1.5% ολόκληρου του DNA. Παρόλα αυτά αποτελούν πολύ σημαντικό κομμάτι του γονιδιώματος και αλλαγές σε αυτά οδηγούν στη δημιουργία πληθώρας γονιδιακών νόσων. Πρόκειται για περίπου 20.000 γονίδια που μπορούν να ελεγχθούν. Από αυτά περίπου τα 6.700 γονίδια έχουν συσχετισθεί με γνωστούς φαινότυπους. Έτσι μπορεί να γίνει η ανίχνευση 3.200 σπανίων γενετικών νοσημάτων πλην των γνωστών νοσημάτων που ανιχνεύονται και με τις μεθόδους που αναλύθηκαν προηγουμένως.

ΜΗ ΕΠΕΜΒΑΤΙΚΟΣ ΠΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ: ΕΝΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΥΨΗΛΗΣ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ

Τα τελευταία χρόνια έχει αναπτυχθεί και μια τεχνική μη επεμβατικής ανίχνευσης των συχνότερων χρωμοσωμικών ανωμαλιών του εμβρύου με τη λήψη μητρικού αίματος σε μια απλή αιμοληψία. Η τεχνική αυτή ονομάζεται NIPT (Non Invasive Prenatal Testing) και στηρίζεται στην ανίχνευση ελεύθερου εμβρυϊκού DNA (cffDNA) στο αίμα της εγκύου. Πρόκειται για μια τεχνική με υψηλή ευαισθησία (>95-99%) για συγκεκριμένες γενετικές ανωμαλίες, 7 στον αριθμό, όπως είναι η τρισωμία 21 (σύνδρομο Down), η τρισωμία 13 και 18 καθώς και οι ανευπλοειδίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων (X και Y). Επιπρόσθετα μέσω αυτής της τεχνικής μπορεί να ανευρεθούν με μικρότερη βέβαια ευαισθησία και ειδικότητα τρισωμίες των χρωμοσωμάτων 9, 16, 22 καθώς και γενετικές ανωμαλίες του τύπου της διαγραφής ή του διπλασιασμού που έχουν συσχετισθεί με 60 διαφορετικά σύνδρομα. Πρόκειται για έναν έλεγχο με στατιστικά υψηλή ακρίβεια που δεν αφορά όμως τον έλεγχο του γενετικού υλικού του εμβρύου όπως όλες οι παραπάνω μέθοδοι που αναπτύχθηκαν.