

Citogenetikai, molekuláris citogenetikai és ultrahangvizsgálatok a magzati kromoszóma-rendellenességek vizsgálatában

Doktori értekezés

Dr. Tidrenczel Zsolt

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Beke Artúr Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Nagy Sándor Ph.D., osztályvezető főorvos
Dr. Demendi Csaba Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Arató András, az MTA tagja, egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Belics Zorán Ph.D., osztályvezető főorvos
Dr. Szabó Miklós Ph.D., egyetemi docens

Budapest
2021

1. Bevezetés

A praenatalis szűrés és diagnosztika fő célja a magzati rendellenességek méhen belüli felismerése. Az invazív méhüregi beavatkozások kapcsán alkalmazott hagyományos kromoszómavizsgálat mellett a nagyobb felbontású, célzott diagnosztikára alkalmas molekuláris citogenetikai módszerek, mint a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) rutinszerű használata is bevezetésre került a hazai genetikai laboratóriumokban a gyakori aneuploidiák gyors kimutatására. Az elmúlt évtized újdonsága a microarray-komparatív genomhibridizálás (aCGH) elterjedése volt a praenatalis diagnosztikában, mely a teljes genomban előforduló szubmikroszkópos, 10 Mb mérettartomány alatti DNS-többletek és -hiányok gyors és megbízható vizsgálatára alkalmas módszer. Az aCGH alkalmazása a klasszikus kariotipizáláshoz képest átlagosan 5-7%-ban nyújt többlet genetikai információt, elsődlegesen szervi ultrahangeltérést vagy multiplex rendellenességet mutató magzatoknál. A magzati rendellenességek korai felismerését nagymértékben elősegíti az ultrahang-technológia gyors fejlődése, az ultrahang-berendezések felbontóképességének jelentős növekedése és a magzati echocardiographia elterjedése is.

1.1. A Down-szindrómával társuló magzati szívfejlődési rendellenességek

A leggyakoribb humán kromoszóma-rendellenesség a 21-es trisomia, amely következményeként kialakuló multiszisztémás kórkép, a Down-szindróma (DS) az értelmi fogyatékoság fő genetikai oka. A Down-szindrómás betegeknél a veleszületett szívfejlődési rendellenességek (CHD) képezik a társult szervi rendellenességek legnagyobb csoportját. A postnatalis nagy tanulmányok szerint, a Down-szindrómával született újszülöttek közel felénél ugyan CHD igazolható, a jellemzően jóval kisebb esetszámú praenatalis tanulmányokban azonban a társuló szívrendellenességek sokkal alacsonyabb gyakoriságáról számolnak be.

Az újabb nemzetközi adatok azt mutatják, hogy míg a szívrendellenességek összesített prevalenciája Down-szindrómás újszülöttekben állandó, addig a CHD-k spektrumában egyértelmű változás következett be és csökkent a komplex szíveltérések aránya, mint

például a pitvar-kamrai septumdefektus (AVSD). A jelenség háttérében a korai ultrahang és genetikai diagnosztika elterjedése, illetve a következményes korai terhességmegszakítási lehetőség állhat. Tekintettel arra, hogy a CHD-k a morbiditás és a mortalitás jelentős részéért felelősek, kimutatásuk prae- és postnatalisan is alapvető. Ráadásul, a praenatalis ultrahangvizsgálat során felismert magzati szívfejlődési rendellenességek önmagukban is elősegíthetik a kromoszómaeltérések méhen belüli diagnózisát, és egyben döntően meghatározzák a méhen belüli és a postnatalis prognózist.

1.2. A ritka magzati kromoszóma-rendellenességek és a fetoplacentáris mozaikosság

A gyakori aneuploidiák, a 21-es, 18-as, 13-as trisomia és a nemi kromoszómaeltérések, az összes kromoszóma-rendellenességnek megközelítőleg 80-85%-át képezik. Nem hanyagolhatóak el így azok az újonnan kialakuló, fénymikroszkópos vizsgálattal észlelhető, nem szokványos kromoszóma-aberrációk sem, amelyek komplex fetoplacentáris betegséggel, súlyos magzati érintettséggel és gyakran kedvezőtlen terhességi kimenetellel járhatnak. A ritka citogenetikai kórképek klinikai hatása jelentős, ugyanakkor a postnatalis következményük nehezebben jelezhető előre, mint a gyakori aneuploidiáké. Kimutatásukhoz gyakran olyan molekuláris genetikai módszerek szükségesek, mint speciális FISH-technikák vagy újabban az aCGH, amely a kromoszómák pontos szerkezeti meghatározásán túl a töréspontokat is megadja a genetikai diagnózishoz.

A ritka kromoszóma-rendellenességek gyakran mozaikos formában fordulnak elő, mely esetben az egyén szöveteiben egyszerre több, különböző kromoszómaállományú sejtvonal található. A kromoszómális mozaikosság a praenatalis diagnosztika egyik komoly kihívását jelenti. A praenatalis vizsgálatok során a lepényi eredetű trophoblast és mesenchymális sejtekben, illetve a magzatvíz amniocytaiban az egyes sejtvonalak mennyisége és eloszlása határozza meg a mozaikosság pontos típusát.

1.3. A DiGeorge-szindróma praenatalis vizsgálata

A Down-szindrómát követően, a második leggyakoribb kromoszómaeltérés a DiGeorge-szindróma, mely oka a 22q11 kromoszomális szakasz microdeletiója, ritkábban microduplicatiója. A változatos fenotípusú multisisztémás kórkép fő jellegzetességei a CHD, az immunhiány, a szájpad defektus, a faciális dysmorphismus és az enyhe értelmi fogyatékoság. Kimutatása a hagyományos kariotipizálással nem lehetséges, a diagnózis arany standardja a 22q11 szakaszra specifikus FISH-módszer, újabban pedig az aCGH.

A betegség gyanúját elsősorban a praenatalis ultrahangvizsgálat során a magzati szív conotruncalis és aortaív rendellenességei, az első trimeszteri szűrés során pedig a tarkóredő-vastagság kóros értéke vetheti fel. A praenatalis kimutatás szükségességét a kórkép prevalenciája mellett a társuló CHD-k gyakorisága, az immunológiai és intellektuális következmények, illetve az újszülöttkori hypocalcémia támasztja alá.

Jelenleg nem rendelkezünk hazai adatokkal sem a Down-szindrómához társult magzati szívrendellenességek, sem a ritka kromoszómarendellenességek, sem a magzati DiGeorge-szindróma tekintetében.

2. Célkitűzés

Vizsgálataink egyik részében a Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika 20 éves anyagában feldolgoztam a Down-szindrómás magzatoknál praenatalis ultrahang és fetopathológiai vizsgálattal kimutatható szíveltéréseket. Vizsgálataink másik részében a Honvédkórház Genetikai Centrumának anyagában a ritka, nem szokványos mikroszkópos kromoszóma-rendellenességek és a fetoplacentáris mozaikosság előfordulását, illetve a DiGeorge-szindróma molekuláris genetikai és ultrahangvizsgálati kimutatásának hazai lehetőségét elemeztem.

Célul tűztem ki a következők vizsgálatát:

1. Milyen gyakorisággal fordulnak elő a Down-szindrómához társult strukturális és nem-strukturális szívrendellenességek, illetve milyen anyai demográfiai tényezőkkel jellemezhetőek?

2. A Down-szindrómához társuló cardiovascularis eltéréseket a praenatalis ultrahangvizsgálat és a fetopathológiai feldolgozás hogyan képes felismerni?

3. Hogyan változott az elmúlt 20 évben a Down-szindrómához társuló szíveltérések praenatalis felismerése?

4. Felmérjük anyagunkban a mikroszkóppal látható ritka, atípusos kromoszóma-rendellenességek eloszlását, gyakoriságát és a fetoplacentáris mozaikosság előfordulását.

5. Megvizsgáljuk, hogy a ritka kromoszóma-rendellenességek vizsgálatában az ultrahang, a citogenetikai és molekuláris citogenetikai módszerek hogyan használhatóak.

6. A leggyakoribb kópiaszám-variáció, a DiGeorge-szindróma praenatalis szűrésének és kimutatásának lehetőségét megvizsgáljuk és javaslatokat fogalmazzunk meg a hazai bevezetésre.

7. Az új típusú molekuláris citogenetikai vizsgálmódszerek közül a microarray-komparatív genomhibridizálás (aCGH) hogyan illeszhető be a magyarországi praenatalis gyakorlatba és milyen esetekben javasolt a klinikai alkalmazása?

3. Módszerek

A tanulmány első részében retrospektív módon vizsgáltam a SE I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika anyagában 20 év során (1999-2018) invazív mintavételezéssel, magzati kromoszómavizsgálattal igazolt 21-es trisomiás eseteknél az ultrahang (UH) és fetopathológiai (FPATH) vizsgálatokkal kimutatott szívfejlődési rendellenességeket. A praenatalis ultrahangvizsgálati és a magzati szívultrahang leleteket, a citogenetikai eredményeket, valamint a FPATH-leleteket dolgoztam fel. Az anyagot két egyenlő hosszúságú, 10-10 éves vizsgálati periódusra bontottam szét (1999-2008 ill. 2009-2018) és hasonlítottam össze.

Az első és a második trimeszteri ultrahangvizsgálatok során az eltéréseket minor jelek (gyanújelek) vagy major, szervi eltérések csoportjába soroltam, az aktuális hazai protokoll szerint. A major, szervi eltérések az alábbiak voltak: cysticus hygroma, hydrops, központi idegrendszeri, szív, hasüregi, hasfali, urogenitális és végtagi eltérések.

A tanulmány céljából a szíveltéréseket két csoportba soroltam. A strukturális szívrendellenességek (CHD) az alábbiak voltak: (1) septumdefektusok (kamrai septumdefektus/VSD, pitvari septumdefektus/ASD); (2) komplex szíveltérések (pl atrioventrikuláris septumdefektus/AVSD, Fallot-tetralógia/TOF, aortaív rendellenességek, conotruncalis anomáliák) és (3) egyéb szívrendellenességek. A szíveltérést nem strukturálisnak/ funkcionálisnak minősítettem, ha kóros négyüregi szívképet vagy funkciót észleltünk strukturális szívrendellenesség nélkül: (1) izolált kamrai disproporcio (jobb kamra [RV]>bal kamra [LV]); (2) izolált szívtengely eltérés (bal/jobbszív tengely rotáció/deviáció a normál szívtengely álláshoz képest [a közép vonaltól balra 40-45 fok]); (3) pericardialis folyadék (>2 mm átmérő); (4) enyhe/közepes mértékű billentyű elégtelenség/ regurgitatio (mitralis, tricuspidalis) a második trimeszterben. Minden genetikai okból történő termináció vagy méhen belüli magzati elhalás esetén részletes fetopathológiai (FPATH) feldolgozás történt.

A tanulmány másik részében a Magyar Honvédség Egészségügyi Központ Genetikai Centrumában retrospektív módon vizsgáltam a 2014-2019 között, invazív

beavatkozással kimutatott, mikroszkóppal észlelhető magzati kromoszóma-rendellenességeket. Lepényszövet mintavételt (CVS) a 11-20. terhességi hét között, magzatvíz-mintavételt (AC) a 15-20. hét között végeztünk. Mozaikos kromoszómaeltérés esetén a lepenyre korlátozódó/valós magzati mozaikosságot (CPM/TFM) az ismert nemzetközi klasszifikációs rendszer szerint különítettük el.

A magzati ultrahangeltéréseket a másik tanulmányunkhoz hasonlóan csoportosítottam. A mikroszkópos preparátumok kiértékeléséhez G-sávtechnikát alkalmaztunk, kiegészítve C- és Q-sávozási módszerekkel. FISH-technikát használtunk az interfázisos sejtek aneuploidia-analízisére, leggyakrabban a 13, 18, 21, X és Y kromoszómák vizsgálatára (Cytocell Ltd). A szerkezeti átrendeződések és a ritka kromoszóma aneuploidiák vizsgálatához interfázisos és metafázisos kromoszómapreparátumokon a szubtelomerikus régiókra specifikus, 50 különböző próbát tartalmazó TeloMark kitet használtuk (Cytocell Ltd). Amennyiben az észlelt kromoszóma-rendellenesség jellege azt megkövetelte, a házaspárnak javasoltuk az önköltséges aCGH-vizsgálatot, egyszeres nukleotidpolimorfizmus (SNP) microarray analízissel (Affymetrix Cytoscan Optima platform).

Az alábbi kromoszóma-rendellenességeket vizsgáltuk:

Gyakori kromoszómaeltérések: autoszomális trisomiák (T21, T18, T13); nemi kromoszóma-rendellenességek (SCA).

Ritka, *de novo* kromoszómaeltérések: poliploidia (triploidia, tetraploidia); újonnan kialakult, *de novo* szerkezeti kromoszóma-rendellenességek (STR*de novo*); ritka autoszomális trisomiák (RAT); kisméretű számfeletti marker kromoszóma (sSMC).

Ritka, familiáris kromoszómaeltérések: szülőtől örökölt, szerkezeti kromoszóma-rendellenességek (pl. translocatio, inversio- STRpat/mat).

A DiGeorge-szindróma prae-natalis diagnosztikus vizsgálatát prospektív módon végeztük a Honvédkórházban, 2016-2020 között. A fő indikációt a magzati echocardiographiás vizsgálat során felismert szíveltérések (elsődlegesen conotruncalis és aortaív rendellenességek) képezték, mely mellett egyéb indokból (pl. családi anamnézis, nem invazív prae-natalis teszt kóros eredménye) is elvégeztük a vizsgálatot

chorion, magzatvíz és fetopathológiai mintákból. Az alkalmazott molekuláris genetikai vizsgálat a 22q11 régióban a TBX1-génre specifikus FISH-módszer volt, de a páciens kérésére önköltségesen aCGH-vizsgálat is választható volt. Terhességmegszakítás esetén postabortum fibroblastból történt a FISH-analízis.

A statisztikai feldolgozást SAS 9.4 programmal végeztem. A tanulmány első részében egyváltozós és kétváltozós ANOVA módszert használtam, a bináris adatok elemzése Pearson chi-square és Fisher exact teszttel történt. A tanulmány mindkét részében a leíró statisztikában folyamatos változók esetén (életkor, terhességi hetek) az átlagot és a szórást határoztam meg 95% konfidencia intervallummal (CI), kategorikus változók esetén a gyakoriság összes elemszámra vonatkoztatott hányadosát fejeztem ki %-ban. Folyamatos változók esetén kétmintás t-próbát, kategorikus változók esetén chi-négyzet próbát alkalmaztam. A $p < 0,05$ értékét tekintetem szignifikánsnak.

4. Eredmények

4.1. A Down-szindrómával társuló magzati szívfejlődési rendellenességek

A tanulmány első részében, a SE I. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán, 1999-2018 közötti 20 éves időszakban felismert, összesen 462 Down-szindrómával diagnosztizált magzatot vizsgáltam (1999-2008 között 202, 2009-2018 között 260 eset). 1999-2008 között az esetek 70,3%-ban, míg 2009-2018 között az esetek 63,5%-ban minor vagy major ultrahangeltérés társult. Mindkét időszakban a legnagyobb arányban észlelt társuló rendellenesség a szív és a mellkas minor és major eltérései voltak (45% és 41%), melyet a subcután oedema (34% és 27%), a magzatvíz (38 és 18%), a koponya (21% és 21%), a hasfal (22% és 15%) és a vese (22% és 10%) eltérései követnek.

1. táblázat. Az alkalmazott diagnosztikus módszerek igazolt magzati Down-szindróma esetén, és a társult strukturális (CHD), illetve nem-strukturális szíveltérések gyakorisága, a két 10 éves vizsgálati periódusban

	1999-2008 n (%)	2009-2018 n (%)
Összes	202	260
AC	185/202 (91,6%) *	216/260 (83,1%) *
CVS	17/202 (8,4%) *	44/260 (16,9%) *
T21 szívrendellenesség nélkül	146/202 (72,3%) **	191/260 (73,5%) **
T21+CHD	40/202 (19,8%) **	50/260 (19,2%) **
T21 nem-strukturális szíveltéréssel	16/202 (7,9%) **	19/260 (7,3%) **

*p=0,007, **NS

A klinikai beutalás elsődleges indikációja 1999-2008 között II. trimeszteri ultrahangeltérések, döntően minor jelek voltak (47%). A 35 év feletti anyai életkor 39%-ban szerepelt beküldési indokként, míg az anyai szérumbiokémiai markerek eltérése (alacsony AFP) 14%-ban. 2009-2018 között az ultrahangeltérések aránya 40%-ra, az anyai életkor miatti beutalás 18%-ra csökkent és nagymértékben emelkedett a szérumbiokémiai eltérés miatti beküldés (33%, kombinált/integrált teszt kóros értékei).

2014 után a nem-invazív prae-natalis tesztelés kóros eredménye is megjelent a klinikai anyagban (26 eset). A két időszak között, mindegyik indikációs kör gyakoriságában szignifikáns különbség volt kimutatható ($p=0,001$). Amennyiben a Down-szindrómához CHD is társult, az ultrahangeltérések jelentették a beküldés fő okát (65% és 50%). Társult CHD esetén, a két vizsgálati időszak beküldési indokai között nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,054$).

2. táblázat. Down-szindrómás magzatok esetén észlelt anyai életkor, a magzati nem eloszlása és aránya szívrendellenességet nem mutató, illetve igazolt strukturális és nem-strukturális szíveltéréssel társult esetekben

	Anyai életkor (év) (95% CI)	Leány magzat n (%)	Fiú magzat n (%)	Leány/ fiú arány
1999-2008				
T21 CHD nélkül	*35,7 (34,7-36,7) **	65/146 (45%)	81/146 (56%)	0,80 ****
T21+CHD (UH+FPATH)	33,8 (31,8-35,7) **	23/40 (58%)	17/40 (43%)	1,35 ****
T21+nem- strukturális szívrendellenesség	35,0 (32,6-37,4)	6/16 (38%)	10/16 (63%)	0,60 ****
2009-2018				
T21 CHD nélkül	*37,3 (36,7-37,8) ***	76/191 (40%)	115/191 (60%)	0,66 ****
T21+CHD (UH+FPATH)	35,0 (33,2-36,8) ***	29/50 (58%)	21/50 (42%)	1,38 ****
T21+nem- strukturális szívrendellenesség	36,1 (33,6-38,7)	7/19 (37%)	12/19 (63%)	0,58 ****

* $P=0,01$, ** $p=0,038$, *** $p=0,009$, ****NS

3. táblázat. Ultrahang (UH) és fetopathológiai (FPATH) vizsgálattal kimutatott társuló strukturális (CHD) és nem-strukturális szíveltérések, igazolt magzati Down-szindrómában, 1999-2018 között

Szívrendellenesség típusa	1999-2008			2009-2018		
	UH	FPATH	UH+ FPATH	UH	FPATH	UH+ FPATH
CHD						
<i>Septumdefektusok</i>						
VSD	9	10	19 (9,4%) *	13	15	28 (10,8%) *
ASD	-	-	-	1	3	4 (1,6%) *
<i>Komplex defektusok</i>						
AVSD	16	1	17 (8,4%) *	14	1	15 (5,8%) *
TOF	3	-	3 (1,5%) *	2	-	2 (0,78%) *
<i>Egyéb</i>						
TAPVR	-	1	1 (0,5%)	-	-	-
Pulmonalis stenosis	-	-	-	1	-	1 (0,39%)
Összesen	28 (13,9%)	12 (5,9%)	40/202 (19,8%) *	31 (12,0%)	19 (7,4%)	50/260 (19,2%) *
Nem-strukturális szíveltérés						
Kamrai disproporcio (RV>LV)	6			9		
Szívtengely deviáció	6			3		
Pericardialis folyadék	4			5		
Tricuspidalis regurgitatio (TR)	-			2		
Összesen	44 (21,8%)		56/202 (27,7%) *	50 (19,2%)		69/260 (26,5%) *

*nem szignifikáns

A VSD esetek megközelítőleg felében (47%), az AVSD esetek 93 ill. 94%-ában és mindegyik TOF esetben ultrahangvizsgálattal állítottuk fel a diagnózist. A 4 secundum típusú ASD 25%-át igazolta a praenatalis UH és 3 esetben FPATH-vizsgálat mutatta ki. A CHD-k 66%-át, az összes szíveltérés 75%-át a praenatalis UH-vizsgálat felismerte.

A VSD esetek ultrahangeltéréssel 52,6% és 64,3%-ban társultak a két időszakban. 1999-2008 között az ultrahangeltérések döntően második trimeszteri minor jelek voltak, míg két esetben kóros tarkóredőt észleltünk. 2009 és 2018 között az

ultrahanggal észlelt VSD esetekben a kóros tarkóredő aránya 46%-ra emelkedett ($p=0,045$). Ebben az időszakban VSD-vel 29%-ban egyéb cardialis eltérés is társult. ($p=0,011$). A diagnosztizált, összesen 47 VSD eset döntő része perimembranosus (inlet) defektus, míg kis része muskuláris defektus volt (1/19 1999-2008 között és 2/28 2009-2018 között). Az AVSD eseteiben a társuló ultrahangeltérések aránya 47,1% és 53,3% volt a két időszakban, első trimeszteri ultrahangeltérést azonban alig észleltünk. Habár az AVSD 16%-ban extracardialis eltéréssel asszociálódott (hydrocephalus, duodenum atresia, a belek malrotációja), egyéb más cardialis eltérés nem volt kimutatható. A Fallot-tetralógiás esetek mindegyike ultrahangvizsgálattal került felismerésre. 1999-2008 között minor eltérések, 2009-2018 között minden esetben kóros tarkóredő tárult.

Az összesen 35 nem-strukturális szíveltérés közül az izolált kamrai disproporcio jellemzően ultrahangeltéréssel (83%, ill. 67%) és extracardialis rendellenességekkel (50%, ill. 33%) társult. A leggyakoribb asszociált ultrahangeltérés a kóros tarkóredő volt az első trimeszterben (5/15 eset) és mérsékelt agykamra tágulat a második trimeszterben (5/15). A szívtengely deviáció, a pericardialis folyadék és a tricuspidalis regurgitatio is gyakran kóros tarkóredővel és hydrops-al társult az első trimeszterben és multiplex minor jelekkel a második trimeszterben. A nem strukturális szíveltérések 74%-ában (26/35) első vagy második trimeszteri ultrahangeltérés volt kimutatható.

4.2. A ritka magzati kromoszóma-rendellenességek és a fetoplacentáris mozaikosság

A kutatásunk másik részében a Honvédkórház Szülészeti Osztályának Genetikai Centrumában 2014-2019 között 2504 invazív beavatkozást végeztünk, melyből 1334 esetben CVS és 1170 AC történt. A CVS/AC aránya 53,3%-46,7% volt ($p=0,001$). 200 esetben igazoltunk kromoszóma-rendellenességet (8%). A gyakori kromoszómaeltérések csökkenő sorrendben az alábbiak voltak: Down-szindróma (92 eset, 46%); Edwards-szindróma (31 eset, 15,5%); nemi kromoszóma-rendellenességek (22 eset, 11%); Patau-szindróma (8 eset, 4%). Ritka kromoszómaeltérést 47 esetben észleltünk, mely a kromoszóma-rendellenességek 23,5%-a volt. Poliploidia 6 (3%), *de*

novo szerkezeti kromoszómaeltérés (STR*de novo*) 5 (2,5%), RAT 14 (7%) és sSMC 2 (1%) esetben volt kimutatható. *De novo*, tehát újonnan kialakult ritka kromoszóma-rendellenesség így 27 esetben volt igazolható (27/2504=1,07%, 27/200=13,5%). A ritka rendellenességeken belül 20 esetben (10%) anyai vagy apai eredetű, szülőtől örökölt kromoszómális translocatiót/inversiót (STRpat/mat) mutattunk ki.

4. táblázat. A kromoszóma-rendellenességek klinikai jellemzői és az alkalmazott diagnosztikus módszerek

Kromoszómaeltérés típusa	CVS (n, %)	AC (n, %)	Átlag anyai életkor (év, CI 95%)	Terhesség átlag ideje a diagnózis felállításakor (hét, CI 95%)	Dg-hoz használt genetikai módszer
<i>Gyakori kromoszómaeltérés (76,5%)*</i>	110/153 (71,9%)**	43/153 (28,1%)**	36,3 (35,2-37,4)	13,8 (13,4-14,2)***	
Down	69/92	23/92	36,6	14,2	Kario, FISH
Edwards	17/31	14/31	38	13,1	Kario, FISH
Patau	5/8	3/8	35	12,8	Kario, FISH
Nemi kromoszómaeltérés	19/22	3/22	36	14	Kario, FISH
<i>Ritka, de novo kromoszómaeltérés (13,5%)*</i>	24/27 (88,9%)	24/27 (88,9%)	35,5 (33,1-37,9)	16,1 (15,2-17)***	
Poliploidia	6/6	4/6	36	15	Kario, FISH
Szerkezeti	3/5	4/5	35,6	15,8	Kario, FISH, aCGH
Ritka autoszómális trisomia	14/14	14/14	34,8	16,4	Kario, FISH, aCGH
Kisméretű marker kromoszóma	1/2	2/2	39	18	Kario, FISH, aCGH
<i>Ritka, familiáris kromoszómaeltérés (10%)*</i>	18/20 (90%)	2/20 (10%)	35,5 (34,4-36,6)	13 (12,2-13,8)	
STRpat/mat	18/20	2/20	35,5	13	Kario, FISH, aCGH
Összesen	152/200 (76%)**	69/200 (34,5%)**			

*p=0,001, **p=0,001, ***P=0,00001

A ritka kromoszóma-rendellenességek 27 esetéből 24-ben lepénybiopsziát követően magzatvíz-mintavételt is végeztünk. ArrayCGH alkalmazására *de novo* és familiáris

szerkezeti kromoszómaeltérések, ritka autoszomális trisomiák és kisméretű számfeletti marker kromoszómák esetén volt szükség.

Az igazolt mozaikos eseteket az egyes kromoszóma-rendellenességekben az 5. táblázatban foglaltam össze. A lepényszövet-mintavételek 2,7%-ában (36/1334), a magzatvíz minták 1%-ában (12/1170) igazolódott mozaikosság. A gyakori kromoszómaeltérések 12,4%-a bizonyult mozaikosnak (T21 9,8%, T18 3,2%, SCA 40%, összesen 19 eset) és 74%-ban (14/19) valós magzati mozaikosság (TFM) fordult elő. A ritka, *de novo* kromoszóma-rendellenességekben mozaikosságot RAT, sSMC és poliploidia esetekben mutattunk ki (21 eset, 77,8%, $p=0,001$) és gyakoribb volt a CPM (12/21, 57%), míg ritkább a TFM (9/21, 43%). Az összesen 40 mozaikos esetből 17 (42,5%) lepényre korlátozódott (CPM).

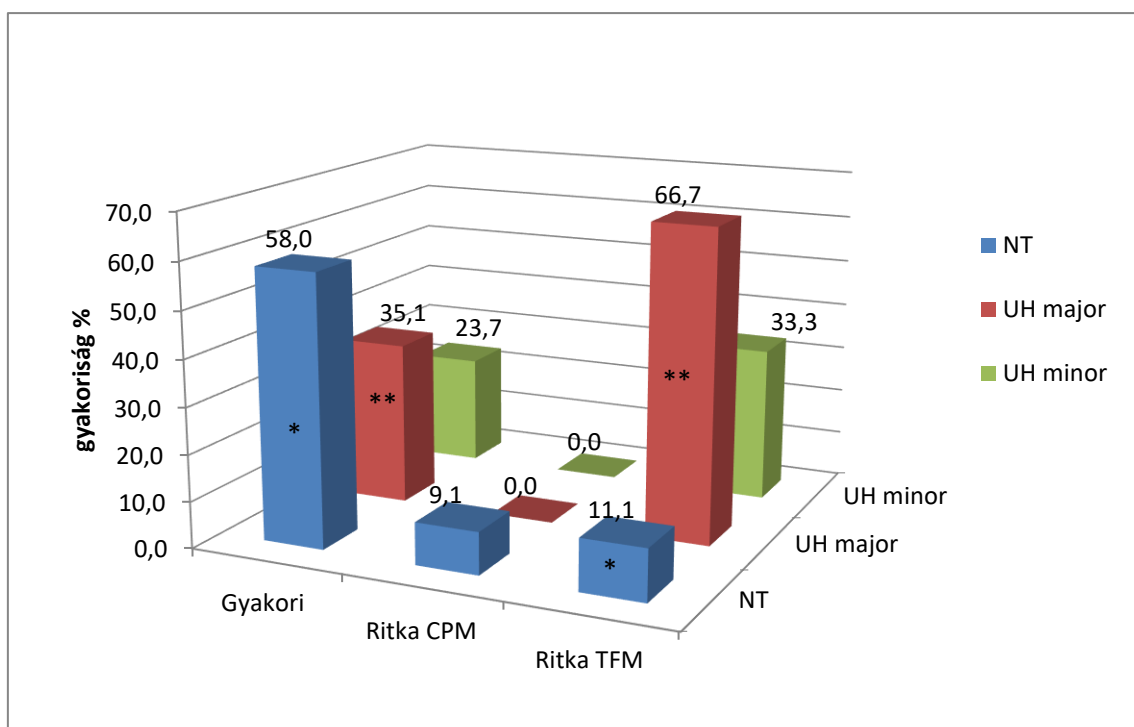
5. táblázat. A fetoplacentáris mozaikosság típusai és gyakorisága a prae-natalis vizsgálatok során, a gyakori és a ritka kromoszóma-rendellenességekben

Kromoszóma-eltérés típusa	Mozaikos esetek (n, %)	Mozaikos eset/ CVS	Mozaikos eset/ AC	CPM	TFM
Gyakori kromoszóma-eltérés	19/153 (12,4%)*	16 (10,4%)**	3 (2%)**	5 (3,3%***)	14 (9,1%***)
Ritka, <i>de novo</i> kromoszóma-eltérés	21/27 (77,8%)*	20 (74%)**	9 (33,3%)**	12(44,5%***)	9 (33,3%***)
Ritka, familiáris kromoszóma-eltérés	0/20	–	–	–	–
Összesen	40/200 (20%)	36/1334 (2,7%)**	12/1170 (1%)**	17/200 (8,5%***)	23/200 (11,5%***)

* $p=0,001$, ** $p=0,001$, *** $p=0,039$

Az egyes kromoszóma-rendellenességekhez társult ultrahangeltéréseket (NT-kóros tarkóredő, major és minor ultrahangeltérések) az 1. ábra tartalmazza. A gyakori trisomiák eseteiben 58%-ban kóros tarkóredőt mutattunk ki. A major ultrahangeltérések

közül Down-szindrómában leginkább septumdefektusok, Edwards-szindrómában omphalocele, Patau-szindrómában ajak-szájpad hasadék társult. A ritka kromoszóma-rendellenességek valós mozaikos formáiban (TFM) a jellemző major eltérés a faciális dysmorphismus, a micrognathia, a komplex szívrendellenességek és a korai aszimmetrikus méhen belüli retardáció voltak, míg kóros tarkóredő 11%-ban társult ($p=0,006$).



1.ábra. A gyakori és a ritka kromoszóma-rendellenességekhez társult ultrahangeltérések (major, minor UH-eltérések és kóros NT). * $p=0,006$, ** $p=0,047$

4.3.A DiGeorge-szindróma praenatalis vizsgálata

A vizsgálatunk harmadik részében 2016-2020 között a Honvédkórház Genetikai Centrumában összesen 57 esetben végeztünk célzott diagnosztikai vizsgálatot DiGeorge-szindrómára specifikus FISH-próbával.

A CVS/AC aránya 53% (28) / 35% (20) volt. A vizsgált páciensek átlag anyai életkora 33,6 évnél bizonyult. A diagnosztikus módszer elvégzésének átlag ideje 18,6 hét volt, 14 esetben az invazív beavatkozás a betöltött 21. terhességi hét után történt (25%). Hét esetben (12%) súlyos szívrendellenesség miatt vetélésinductio történt, így ezen esetekben abortumból, fibroblastból történt az elemzés.

Az 57 vizsgálat kapcsán négy esetben igazoltunk DiGeorge-szindrómát (7%). A második trimeszterben VSD és pulmonalis atresia, illetve TOF eseteiben igazolódott 22q11 microdeletio a TBX1-génben. Mindhárom esetben a magzati mellkas praenatalis UH-vizsgálata kóros, 0,4 alatti thymus-mellkasi arányt is mutatott (kóros thymus-thoracic/TT ratio), tehát thymushypoplasia is társult a szívrendellenességekhez. Egy esetben jobb oldali aortaív is asszociálódott. Egy negyedik esetben pedig 4,2 mm-es vastagságú kóros tarkóredő esetén az aCGH-vizsgálat igazolt 22q11 microduplicatiót, melyet postabortum FISH-vizsgálattal is megerősítettünk. A DiGeorge-szindróma kimutatására elvégzett vizsgálatok indikációit a 6. táblázat tartalmazza.

6. táblázat. DiGeorge-szindróma kimutatására elvégzett genetikai vizsgálatok indikációi a csökkenő gyakoriság sorrendjében és az eredmények (n=57)

Vizsgálati indikációk	Vizsgálatok száma	Kóros eredmény
Jobb oldali aortaív (RAA)	26	-
- izolált	20	-
- asszociált (cardialis)	5	(1*)
- asszociált (extracardialis)	1	-
VSD	8	
- izolált	1	-
- VSD+ pulmonalis atresia	4	1* (25%)
- VSD+ komplex szíveltérés	3	-
Falot-tetralógia (TOF)	7	2* (28%)
Kettős kiáramlású jobb karma (DORV)	4	-
Terhelő anamnézis	3	-
Aortaív hypoplasia	3	-
Supravalvuláris aorta/pulmonalis stenosis (SVAS, SVPS) (Williams Beuren-sz. diagnosztika is történt)	2	-
Aberráns lefutású jobb a. subclavia (ARSA)	2	-
Kóros tarkóredő-vastagság (NT)	1	1**
Truncus arteriosus communis (TAC)	1	-
Teljes nagyér transpositio (TGA)	1	-
Kóros NIPT eredmény	1	-
*22q11 microdeletio		3
**22q11 microduplicatio		1

Az izolált RAA összesen 20 esetéből DiGeorge-szindrómát nem igazoltunk. Hat esetben az RAA más rendellenesség részeként fordult elő, asszociált formában, mely esetek 16,7%-ában igazolódott 22q11 microdeletio.

5. Következtetések

1. Congenitalis szívfejlődési rendellenességek a 21-es trisomiás magzatok több mint egy negyedében voltak igazolhatóak anyagunkban. A leggyakoribb rendellenesség a kamrai és a pitvar-kamrai septumdefektus volt. A szívfejlődési rendellenességek esetén a beutalási indikációk, a magzati nem és az anyai életkor különbözött a szíveltérést nem mutató magzatokétól.
2. A Down-szindrómával asszociált magzati szíveltérések felismerése függ a szívrendellenesség típusától, a társult major és minor ultrahangeltérésektől. Bizonyos ultrahangeltérések segíthetik a szívrendellenességek méhen belüli felismerését, de a szíveltérések egy része csak fetopathológiai vizsgálatokkal igazolható.
3. Az elmúlt 20 évben a Down-szindrómához társult szíveltérések felismerési aránya változatlan maradt, miközben a rendellenességek spektruma szélesedett. Feltételezhetően, az ultrahang és a diagnosztikai módszerek fejlődéséből adódó magasabb felismerési lehetőséget ellensúlyozta a szíveltérések korai terhességmegszakításból adódó alacsonyabb detekciója.
4. A ritka, nem szokványos kromoszóma-rendellenességek relatíve gyakoriak anyagunkban és jelentős részben mozaikosak. A mozaikosság ismerete fontos klinikai információt biztosít és befolyásolhatja a terhesgondozás menetét.
5. A ritka kromoszóma-rendellenességek későbbi terhességi korban diagnosztizálhatóak, kimutatásukhoz sokszor elengedhetetlenek az új típusú molekuláris genetikai módszerek. A társuló ultrahangeltérések különböznek a gyakori trisomiák jellemző ultrahangeltéréseitől.
6. A DiGeorge-szindróma praenatalis vizsgálata magzati echocardiographia során felismert aortaív, conotruncalis és thymus eltérés esetén javasolt, és a megfelelő célzott molekuláris genetikai vizsgálattal lehetséges. Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a hazai centrumokban a DiGeorge-szindróma vizsgálata szükséges lenne.
7. A microarray-komparatív genomhibridizálás a ritka, mikroszkóppal látható és a szubmikroszkópos kromoszómaeltérések vizsgálómódszere, mely hazai bevezetése meghatározott strukturális ultrahangeltérést mutató magzatoknál javasolt.

6. Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó publikációk

Tidrenczel Z, Hajdu J, Simonyi A, Szabó I, Ács N, Demeter J, Beke A. (2021) Trends in the prenatal diagnosis of trisomy 21 show younger maternal age and shift in the distribution of congenital heart disease over a 20-year period. *Am J Med Genet A*, 185(6):1732-1742. doi: 10.1002/ajmg.a.62162. (IF:2.801)

Tidrenczel Z, P Tardy E, Sarkadi E, Simon J, Pikó H, Vermes G, Demeter J, Beke A. (2021) A ritka kromoszóma-rendellenességek és a fetoplacentáris mozaikosság jelentősége a praenatalis diagnosztikában a nem invazív szűrővizsgálatok tükrében. (The significance of rare chromosomal abnormalities and fetoplacental mosaicism in prenatal diagnosis in the non-invasive prenatal testing era). *Orv Hetil*, 162(29): 1556-1665. (IF: 0,54)

Tidrenczel Z, P. Tardy E, Pikó H, Sarkadi E, Böjtös I, Demeter J, Simon J, Kósa PJ, Beke A. (2019) Prenatal diagnosis of 4q terminal deletion and review of the literature. *Cytogenet Gen Res*, 158(2): 63-73. doi: 10.1159/000500735. (IF:1,114)

Tidrenczel Z, P.Tardy E, Sarkadi E, Böjtös I, Simon J, Vermes G, Demeter J, Hajdú J, Ladányi A, Beke A. (2019) A DiGeorge-szindróma prenatális szűrése és diagnosztikája. (Prenatal screening and diagnosis of DiGeorge syndrome). *Magyar Nőorvosok Lapja*, 82: 174-183.

Tidrenczel Z, P Tardy E, Pikó H, Sarkadi E, Böjtös I, Demeter J, Kósa PJ, Beke A. (2018) A microarray-komparatív genomhybridizálás (arrayCGH) prenatális alkalmazása. Javaslat a hazai bevezetésre. (Chromosomal microarray comparative genome hybridization (arrayCGH) in prenatal settings. Proposal for Hungarian application in clinical practice.). *Orv Hetil*, 160(13): 484-493. doi: 10.1556 / 650.2019.31322. (IF: 0,497)

Tidrenczel Z, P Tardy E, Sarkadi E, Simon J, Beke A, Demeter J. (2018) Prenatálisan diagnosztizált Pallister- Killián szindróma esete. (Prenatally diagnosed case of Pallister–Killian syndrome). *Orv Hetil*, 159(21): 847-852. doi: 10.1556 / 650.2018.31015. (IF:0,564)

Könyvfejezetek

Gyakorlati magzati echocardiográfia. Szerkesztette: Hajdú Júlia, Masszi György. KMH Print Kft, 2020, Pécs

21. fejezet. Genetikai diagnosztika és tanácsadás magzati szívbetegségek, keringési elégtelenségek esetén. Írta: Dr. Tidrenczel Zsolt

22. fejezet. A terhesség követése és szülés alatti szülészeti ellátás szívfejlődési rendellenességekben. Írta: Dr. Tidrenczel Zsolt

A disszertációtól független publikációk

Erős FR, Simonyi A, Tidrenczel Z, Szabó I, Rigó J Jr, Beke A. (2018) Efficacy of prenatal ultrasound in craniospinal malformations according to fetopathological and postnatal neonatological, pathological results. Fetal Pediatr Pathol, 8: 1-11. doi: 10.1080 / 15513815.2018.1461282. (IF:0,646)

Erős FR, Tidrenczel Zs, Szabó I, Harmath Á, Rigó J Jr, Beke A. (2018) Efficacy of prenatal ultrasonographic examinations in diagnosing abdominal developmental disorders. J Reprod Med, 63: 39-45. (IF:0,307)

Skriba E, Fekete T, Demendi C, Fülöp V, Tidrenczel Z. (2016) A méhüregi és térbeli ultrahangvizsgálat szerepe a meddő és habituális vetelő páciensek kivizsgálásában. Magyar Nőorvosok Lapja, 79: 186-191.

Tidrenczel Zs, Pető Zs, Vermes G. (2006) Akut hassal és lepényleválással szövődött adnextorsio esete a terhesség III. trimeszterében. Magyar Nőorvosok Lapja, 69, 227-229.

Tidrenczel Zs, Pető Zs, Marton I. (2004) Óriás cervicális leiomyosarcoma esete. Magyar Nőorvosok Lapja, 67: 167-169.

Pető Zs, Tidrenczel Zs, Marton I. (2004) Szimultán méhen belüli és kívüli terhesség esete. Magyar Nőorvosok Lapja, 67: 317-318.