

## INVAZIVNE I NEINVAZIVNE METODE PRENATALNE DIJAGNOSTIKE

BOJANA BRAJENOVIĆ-MILIĆ\*

*Brojne invazivne i neinvazivne metode, danas su sastavni dio svake moderno organizirane prenatalne skrbi. Invazivni, dijagnostički, testovi kao što su biopsija korion frondoza i amniocenteza, primjenjuju se u visoko rizičnih trudnoća, a neinvazivni, biokemijski i/ili ultrazvučni, testovi probira predviđeni su za sve trudnice bez obzira na njihovu dob i bez osobnog ili obiteljskog genetičkog opterećenja. Svrha probira je utvrđivanje trudnica s povećanim rizikom za određeni poremećaj što indicira daljnju dijagnostiku. Danas je u širokoj primjeni, biokemijski test probira za trisomiju 21 (Downov sindrom), najčešću autosomnu aberaciju u ljudi. Probir se, najčešće, izvodi između 15. i 18. tjedna trudnoće, a procjena rizika temelji se na riziku za trisomiju 21 ovisnom o godinama trudnoće i riziku vezanom uz razinu serumskih biljega kao što su alfa-fetoprotein, humani korionski gonadotropin ili njegova slobodna  $\beta$ -podjedinica i nekonjugirani estriol. Stopa detekcije Downovog sindroma, u drugom tromjesečju trudnoće, kreće se od 60% do 75% uz 5% lažno pozitivnih nalaza. Test probira može se izvoditi i u prvom tromjesečju i kombinacija je ultrazvučnog mjerenja nuhalnog nabora i mjerenja razine slobodnog  $\beta$ -hCG i uz trudnoću-vezanog plazma proteina-A (PAPP-A) u serumu trudnice. Stopa detekcije je više nego u drugom tromjesečju i iznosi 75%-90% uz stopu od 5% lažno pozitivnih nalaza. Pored Downovog sindroma, biokemijskim testovima probira moguće je detektirati i neke druge poremećaje kao što su oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stijenke (drugo tromjesečje), trisomija 18 (Edwardsov sindrom), Turnerov sindrom, Smith-Lemli-Opitz sindrom i deficijencija steroidne sulfataze.*

Deskriptori: DOWNOV SINDROM, PRENATALNI TEST PROBIRA

### UVOD

Kongenitalne anomalije uzrok su perinatalne smrti u 20-25% slučajeva, a čak 3% djece rodi se s većom ili manjom malformacijom. Mnoge od njih mogu biti detektirane već prije rođenja primjenom različitih metoda prenatalne dijagnostike. Današnja, moderno koncipirana prenatalna skrb nudi brojne invazivne i neinvazivne testove. Invazivni testovi, kao što su amniocenteza i biopsija korion frondoza, su dijagnostički i primjenjuju se u slučajevima visoko rizičnih trudnoća. Razlozi njihove primjene su brojni, a najčešće se radi o slučajevima osobnog ili obiteljskog genetičkog opterećenja, već rođenom bolesnom djetetu, poznoj dobi trudnice

te povećanom riziku utvrđenim biokemijskim ili ultrazvučnim testom probira. No, prije bilo kakve intervencije ili primjene invazivnih metoda, valja uvažavati pravilo sine qua non prenatalne dijagnostike, što u prvom redu podrazumijeva mogućnost utvrđivanja ili isključivanja bolesti analizom fetalnog tkiva. U slučajevima utvrđenog poremećaja u fetusa prenatalna dijagnoza omogućuje roditeljima da u razgovoru sa svojim liječnikom donesu odluku o daljnjem tijeku trudnoće.

Za razliku od invazivnih metoda, neinvazivni testovi probira, biokemijski i ultrazvučni, predviđeni su za sve trudnice bez obzira na dob, odnosno one koje nemaju niti jedan od gore navedenih problema. Općenito, pojam probira podrazumijeva sistemsku primjenu testa u svrhu otkrivanja osoba s povećanim rizikom za određen poremećaj (1). Kriteriji koji određen program probira mora zadovoljiti su: medicinski dobro opisan poremećaj s poznatom prevalencijom, financijski

opravdan, siguran i pristupačan test s dobro definiranim mogućnostima (2). Valjanost testa probira procjenjuje se na osnovu njegove stope detekcije (senzitivnost), lažno-pozitivne stope (specifičnost) i o mogućnosti da se stvarno radi o bolesti u slučaju pozitivnog rezultata. Prenatalni biokemijski test probira u svrhu identifikacije trudnica s povećanim rizikom za Downov sindrom (DS) u skladu je s navedenim kriterijima i, apsolutno, opravdava svoju primjenu.

### Klinički aspekt Downovog sindroma

Downov sindrom je najčešći uzrok mentalne retardacije u čovjeka i uz karakterističnu kraniofacijalnu dismorfiju često se javljaju teške abnormalnosti srca, bubrega i crijeva, što nerijetko zahtijeva kiruršku intervenciju u prvih nekoliko godina života. Često boluju i od akutne leukemije, a ukoliko dožive dob od 40-50 godina, većina ih pati od presenilne demencije tipa Alzheimer (3). Incidencija Downovog sindroma iznosi

\*Zavod za biologiju i medicinsku genetiku  
Medicinski fakultet  
Sveučilište u Rijeci

Adresa za dopisivanje:  
Prof. dr. sc. Bojana Brajenović-Milić  
51000 Rijeka, Braće Branchetta 22

1 na 650 do 1000 živorođene djece (4). U Hrvatskoj je učestalost DS 13,0 na 10000 živorođenih godišnje (5, 6).

Downov sindrom je posljedica trisomije 21. kromosoma (7). U gotovo 95% slučajeva radi se o slobodnoj trisomiji (regularni tip), koja je, najčešće, posljedica nerazdvajanja kromosoma tijekom oogeneze (8). U 4% slučajeva radi se o translokacijskom tipu trisomije 21, koja nastaje kao posljedica Robertsonove translokacije, a u svega 1% slučajeva, Downov sindrom može biti posljedica prisustva dviju staničnih linija od koje je jedna trisomična za 21. kromosom (mozaicizam) (9).

Još je, davne, 1933. godine, Penrose uočio vezu između prevalencije Downovog sindroma i godina majke (10). Tako, npr., žena stara 30 godina ima vjerojatnost da rodi dijete s DS 1:910, s 35 godina 1:350, dok je u dobi od 40 godina ta vjerojatnost značajno veća i iznosi 1:100 (11). Važno je istaknuti da u 10-24% trudnoća s trisomijom 21 dolazi do spontanog pobačaja tijekom drugog tromjesečja, pa je stvarna incidencija DS viša pa tako rizik, u drugom tromjesečju, za 35-godišnju trudnicu iznosi 1:270 (12).

Prije uvođenja biokemijskog testa probira za DS, vršio se probir na osnovu godina majke, uvažavajući 35 godina kao graničnu vrijednost. To, drugim riječima, znači da je u trudnica starih 35

i više godina bila indicirana neka od invazivnih metoda prenatalne dijagnoze u svrhu utvrđivanja kariotipa ploda. Ovakvim probirom moguće je, teoretski, utvrditi 30% slučajeva DS, a u stvarnosti taj se postotak kretao najviše do 20% (12 i mi). Ne čudi, stoga, da je u proteklih 15-ak godina učinjen veliki napor kako bi se uveli novi testovi probira koji su morali biti, u prvom redu, bezopasni za trudnicu i plod, a učinkovitiji od postojećih.

**BIOKEMIJSKI TEST PROBIRA ZA DOWNOV SINDROM**

Još su, davne, 1984. godine Merkatz, Macri i suradnici utvrdili smanjenu razinu alfa-fetoproteina u serumu trudnice (MSAFP) koja nosi plod s trisomijom 21 (13). Godine 1988. Canick i suradnici ukazuju na sniženu razinu nekonjugiranog estriola (nE), a 1987. godine Bogart i suradnici iznose podatak o povišenoj razini humanog korionskog gonadotropina (hCG) u trudnoća s trisomijom 21 (14, 15). Kasne 1990. i rane 1991. godine Macri sa suradnicima i Spencer, neovisno jedan o drugome, objavljuju radove koji govore o povišenoj razini slobodne β-podjedinice hCG (16, 17). Ovim ranim radovima započinje era uvođenja i primjene biokemijskih testova probira za Downov sindrom.

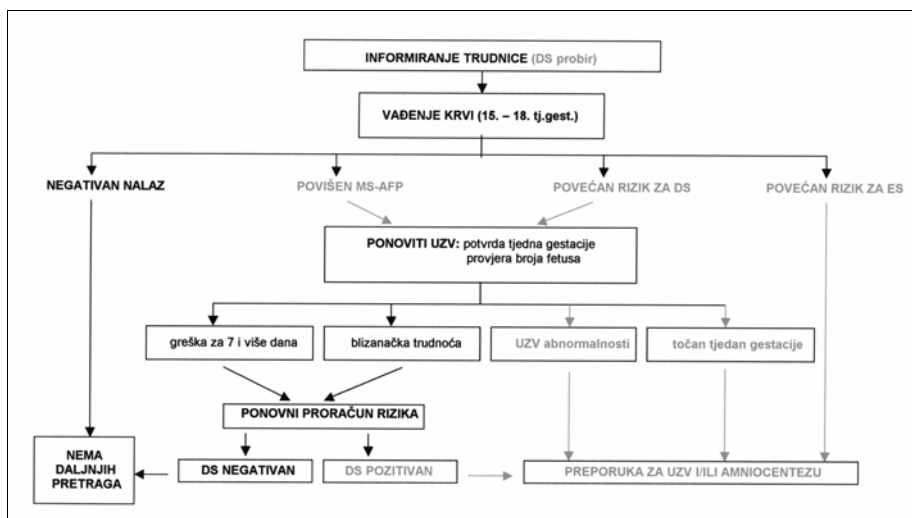
**Biokemijski test probira za DS**

u drugom tromjesečju

Wald i suradnici su 1988. godine, preporučili mjerenje tri serumska biljega (MSAFP, hCG i nE) u svrhu detekcije DS (18). Ovaj test je vrlo brzo prihvaćen kao rutinski dio prenatalne skrbi pa je provedenim ispitivanjem, 1995. godine, utvrđeno da čak 63% trudnica u Sjedinjenim Američkim Državama pristaje biti testirana (19). Pored navedene kombinacije serumskih biljega, danas su u uporabi i druge kombinacije, kao što su npr. MSAFP i slobodna β-podjedinica hCG (20, 21); MSAFP, slobodna β-podjedinica hCG i nE te MSAFP, hCG, nE i Inhibin-A (22, 23). Procjena rizika temelji se na riziku za trisomiju 21 ovisnom o godinama trudnice i riziku vezanom uz razinu serumskih biljega, a koristi se matematički model za multivarijantnu analizu normalno distribuiranih varijabli (Gauss) (24). Izmjerene koncentracije biljega izražene su kao količnici njihovih medijana razine (MoM, od engl. Multiple of the Median) u neugroženim trudnoćama u određenom tjednu gestacije i korigirane u odnosu na težinu trudnice. Bez obzira na kombinaciju serumskih biljega, biokemijski test probira za DS drugog tromjesečja izvodi se između 15. i 18. tjedna trudnoće prema protokolu prikazanom na slici 1.

Kao granična vrijednost, najčešće, se smatra rizik od 1:250, što znači da će svaki rizik veći od graničnog predstavljati pozitivan nalaz. Na uspješnost probira bitno utječe određivanje tjedna gestacije te se, stoga, preporučuje ultrazvučno određivanje prema mjerama trtica-tjeme ili biparijentalnog promjera glavice fetusa. U tablici 1 prikazana je važnost točnog određivanja gestacije. O procijenjenom riziku ovisi daljnje vođenje i praćenje trudnoće kao i sam ishod trudnoće. Razina serumskih biljega ovisi o tjelesnoj težini trudnice, rasi i inzulin ovisnoj šećernoj bolesti pa programi za proračun individualnog rizika imaju mogućnost korekcije u odnosu na spomenute parametre (25, 26, 27).

Postoje i drugi faktori koji utječu na razinu biljega, a to su duhanski dim (pušenje), paritet, graviditet, in vitro fertilizacija te spol fetusa (28, 29, 30).



Slika 1. Protokol biokemijskog testa probira za Downov sindrom u drugom tromjesečju trudnoće.

Figure 1. Protocol of biochemical test for Down syndrome screening in second trimester of pregnancy.

Tablica 1.

Primjer važnosti točnog određivanja tjedna gestacije na procjenu rizika za Downov sindrom u trudnice stare 26,4 godina.

Table 1

Example of importance of precise determination of gestation week on risk assessment for Down syndrom in 26,4 years old pregnant women

GESTACIJA		KONCENTRACIJA SERUMSKIH BILJEGA		DS rizik
tjedan	dan	MS-AFP MoM	slobodni $\beta$ -hCG MoM	1:n
15	1	1,19	3,49	309
15	5	1,05	4,10	159
16	1	0,96	4,58	101

Iako se čini da neki od navedenih faktora imaju dokazan značajan utjecaj, kao što je to primjer s uživanjem duhanskog dima, korekcija za njih nije u široj i obaveznoj primjeni. Stopa detekcije Downovog sindroma primjenom biokemijskog testa probira u drugom tromjesečju, kreće se od 60-75% uz 5% lažno pozitivnih rezultata (18, 19, 23, 31). Međutim, uspješnost detekcije ovisi, u manjoj mjeri, o kombinaciji serumskih biljega, a više o graničnoj vrijednosti rizika te o starosti testiranih trudnica. Što se tiče dobi testiranih trudnica, bolja detekcija je, svakako, u grupi žena starijih od 35 godina (90%), a manja u mlađih trudnica (40%). Kao posljedica toga, broj lažno pozitivnih nalaza veći je u grupi starijih žena, a manji u grupi mlađih trudnica. Isto tako, uz manji granični rizik (npr. 1:350), očekuje se i veća stopa detekcije, ali i veći broj lažno pozitivnih nalaza (39, 40).

Mogućnost detekcije ostalih poremećaja

Biokemijskim testovima probira moguće je, osim Downovog sindroma, detektirati i neke druge kromosomopatije i poremećaje. To se, u prvom redu, odnosi na oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stjenke. Odavno je poznata veza između visoke razine AFP, kako u plodovoj vodi tako i u serumu majke, i spomenutih poremećaja (32). Iako osjetljivost MSAFP, kao pojedinačnog biljega, u probiru trisomije 21 nije viša od 30-ak %, njegova uloga kao visoko-osjetljivog pokazatelja oštećenja neuralne cijevi i prednje trbušne stjenke čini ga neizostavnim dijelom svakog biokemijskog probira drugog tromjesečja. Osim trisomije 21,

biokemijski test probira primjenjuje se i za probir trisomije 18 (Edwardsov sindrom). Takve trudnoće karakterizirane su niskom razinom MSAFP, nE, hCG/slobodnim  $\beta$ -hCG i Inhibin-A glikoproteinom (33). Mogućnost detekcije trisomije 13, Patau sindrom, je mala, osim u onim slučajevima kada je prisutno oštećenje neuralne cijevi, otvorenog tipa, vezano uz povećanu razinu MSAFP (34). Monosomiju X-kromosoma, Turnerov sindrom, udruženom s fetalnim hidropsom često odlikuje niska razina MSAFP i nE i visoka razina HCG i Inhibina-A (35).

U slučajevima bez hidropsa, razina sva četiri markera je niska. Genetički poremećaji vezani uz nepravilnu sintezu nE, kao što su deficijencija steroidne sulfataze i Smith-Lemli-Opitz sindrom, mogu, također, biti detektirani u okviru biokemijskog testa probira (36, 37). Veza između visoke razine MS-AFP i intrauterinog zastoja rasta, prijevremenog poroda i smrt fetusa/novorodenčeta poznata je još od ranih sedamdesetih godina prošlog stoljeća. Iskustva stečena širokom primjenom biokemijskog testa probira za trisomiju 21 ukazuju da, osim visoke razine MS-AFP, i visoka razina hCG, bilo totalnog ili slobodnog  $\beta$ -hCG, može biti pokazatelj ugroženosti ploda kao i lošeg ishoda same trudnoće (38). Čini se, stoga, razumnim da se trudnoće s lažno pozitivnim nalazom za DS pomnije prate u tom smislu.

Kombinirani, ultrazvučni i biokemijski test probira za Downov sindrom u drugom tromjesečju

Ultrazvučni pregled trudnice obavezno je uključen u protokol

biokemijskog testa probira za DS jer se njime, u prvom redu, utvrđuje tjedan gestacije. Međutim, ultrazvukom je moguće tijekom drugog tromjesečja trudnoće utvrditi specifične anatomske anomalije fetusa i/ili biljege karakteristične za DS. To se, u prvom redu, odnosi na povećan nuchalni nabor (engl. nuchal fold), kratki femur i humerus, pijejektaziju, hiperehogeno crijevo i ciste koroidnog pleksusa (39). U slučaju pozitivnog nalaza biokemijskog testa probira, utvrđen jedan ili više ultrazvučnih biljega, povećava rizik za DS. No, valja imati na umu da, u slučaju kada se ultrazvučni biljezi ne utvrde, rizik utvrđen biokemijskom analizom ne isključuje se, iako je reduciran za oko 50% (40).

S obzirom da su mjere nuchalnog nabora i humerusa kontinuirane varijable moguće ih je kombinirati s vrijednostima razina serumskih biljega koje su uključene u osnovni multivarijantni Gaussov model. Prema podacima iz literature stopa detekcije DS iznosi čak 90% uz 5% lažno pozitivnih nalaza (41). U ovom trenutku, primjena ultrazvuka u svrhu matematičke korekcije rizika utvrđenog na osnovu biokemijske analize nije u široj primjeni i još je predmet diskusije.

Prenatalni test probira za Downov sindrom u prvom tromjesečju

Brojni radovi potvrdili su vezu između niske razine uz trudnoću-vezanog plazma proteina-A (engl. pregnancy-associated plasma protein-A; PAPP-A) i trisomije 21 tijekom prvog tromjesečja (42). U urednih trudnoća razina PAPP-A naglo raste i od 15. tjedna dalje njegova vrijednost kao biljega za DS prestaje. Mjerenjem ovog proteina i uz uvažavanje godina trudnoće moguće je detektirati 52% slučajeva DS uz 5% lažno pozitivnih rezultata (42). U trudnoća s trisomijom 21, razina slobodnog  $\beta$ -hCG stalno je povišena između 8. i 14. tjedna gestacije. Na osnovu slobodnog  $\beta$ -hCG i godina, stopa detekcije DS iznosi 42% uz 5% lažno pozitivnih nalaza (43). Još je 1990. godine prepoznata važnost mjerenja nuchalnog nabora u probiru DS tijekom prvog tromjesečja. Uz graničnu vrijednost od 3 mm debljine nuchalnog

nabora stopa detekcije DS iznosi 64% (44).

Kombiniranjem vrijednosti PAPP-A i slobodnog  $\beta$ -hCG u serumu te nuhalnog nabora, mogućnost detekcije DS penje se do zavidnih 90% uz 5% lažno pozitivnih nalaza (45). Testiranje se vrši između 10. i 14. tjedna gestacije. U slučaju pozitivnog nalaza trudnica može pristupiti biopsiji korion frondozuma (10.-12. tjedan) ili amniocentezi (15.-18. tjedan), ovisno kada je gotovo testiranje. Kao što je to već prethodno u tekstu navedeno, stopa detekcije Downovog sindroma u drugom tromjesečju trudnoće znatno se razlikuje ovisno o dobi trudnica. Ovaj je efekt, međutim, bitno manje izražen pri testiranju u prvom tromjesečju pa je stopa detekcije za starost od 15 godina 77% (1,9% lažno pozitivnih), u 30-godišnjakinja 84% (4% lažno pozitivnih), a sa 49 godina 100% uz 67% lažno pozitivnih nalaza (45).

#### INFORMIRANJE TRUDNICA

U svakom programu probira, pa tako i u ovom, izuzetno važnu ulogu ima pravilno informiranje trudnica o svrsi testa, o njegovim mogućnostima, odnosno prednostima i nedostacima. Brojni radovi, posvećeni ovom problemu, govore o nedovoljnom i neadekvatnom informiranju trudnica što je, nerijetko, izazivalo ili izaziva, strepnju i nemir (46). Poseban problem predstavlja interpretacija nalaza, odnosno rezultata testa, pa je prema našim podacima, objavljenim 1999. godine, čak 32% testiranih trudnica odgovorilo da ne znaju što znači pojam "visoki rizik" (47). U to doba informiranje su provodili samo ginekolozi.

Ovaj podatak naveo nas je na ciljanu edukaciju laboratorijsko-zdravstvenog osoblja našeg Zavoda (Zavod za biologiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Rijeci) u svrhu osposobljavanja za ispravno i detaljno informiranje trudnica. Od početka 2000. godine sa svakom se trudnicom vodi razgovor nakon kojeg se, davanjem tzv. informiranog pristanka (engl. informed consent), podvrgavaju testiranju.

Osim toga, u svim ginekološkim ambulancama dostupni su im i leci u

kojima je opisana svrha testa. Leci su tiskani u sklopu projekta "Rijeka zdrav grad". Isti tekst dostupan je i na web-stranicama našeg Zavoda:

[www.medri.hr/katedre/biologija](http://www.medri.hr/katedre/biologija)

Ponovnim anketiranjem trudnica, provedenim 2003. godine, utvrđeno je da svega 11% žena, ni nakon detaljnog informiranja, ne razumije svrhu testa (Brajenović-Milić B. i sur. in press). Zanimljiv je i podatak o spremnosti žena za daljnju dijagnostiku u slučaju pozitivnog nalaza. Naime, dok je u prvom ispitivanju svega 46% trudnica bilo spremno pristupiti amniocentezi, u drugom ispitivanju, čak 91% žena smatra amniocentezu kao logičan slijed pretraga u slučajevima utvrđenog povećanog rizika za Downov sindrom. Ovi podaci jasno ukazuju na važnost i obavezu zdravstvenog osoblja da nađu dovoljno vremena i, jezikom razumljivim svakoj trudnici, objasne svrhu i mogućnosti testa probira.

#### LITERATURA

- Wald NJ. Guidance on terminology. *J Med Screen* 1994; 1: 76.
- Cuckle HS, Wald NJ. Principles of screening. U: Wald NJ, ur. *Antenatal and neonatal screening*. Oxford: Oxford University Press. 1984; 1-22.
- Tofts Cp, Christianson RE. Anomalies in Down syndrome individuals in a large populations-based registry. *Am J Med Genet* 1998; 77: 431-8.
- Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in live-born infants. *JAMA* 1983; 249: 2034-8.
- Eurocat Working Group: EUROCAT Report 6. Surveillance of congenital anomalies in Europe 1980-1992. Brussels, Institute of Hygiene and Epidemiology, 1995.
- Brajenović-Milić B, Ristić S, Kapović M, Mojsović A, Medica I, Modrušan-Mozetić Z. Incidence of Down's syndrome in the municipality of Rijeka and Istrian region. *Coll Antropol* 1996; 20 suppl: 1-5.
- Lejeune J, Gautier M, Turpin R. Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *c R Acad Sci* 1959; 248: 602-3.
- Antonarakis SE, Lewis JG, Adelsberger PA. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 using DNA polymorphism analysis. *New Eng J Med* 1991; 324: 872-6.
- Nevin NC. Trends in the prevalence of congenital abnormalities. U: Drife JO, Donnai D, ur. *Antenatal Diagnosis of Fetal aNormalities*. London: Springer-Verlag; 1991; 8.
- Penrose LS. The relative effects of paternal and maternal age in mongolism. *J Genet* 1933; 27: 219-24.
- Cuckle HS. Effect of maternal age curve of predicted detection rate in maternal serum screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1998; 18: 1127-30.
- Cuckle HS. Down syndrome fetal loss rate in early pregnancy. *Prenat Diagn* 1999; 19: 1177-9.
- Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 886-94.
- Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second unconjugated oestriol in pregnancies with Down syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 330-3.
- Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7: 623-30.
- Macri JN, Krantz DA, Kasturi RV i sur. Maternal serum Down syndrome screening: Free- $\beta$  protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163: 1248.
- Spencer K. Evaluation of an assay of free beta subunit of choriogonadotropin and its potential value in screening for Down syndrome. *Clin Chem* 1991; 37: 809.
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW i sur. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297: 883-7.
- Palomaki GE, Knight GJ, McCarthy J, Haddow JE, Donhowe JM. Maternal serum screening for Down syndrome in the United States: a 1995 survey. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 1046-51.
- Spencer K. Second trimester prenatal screening for Down's syndrome using alpha-fetoprotein and free beta hCG: A seven year review. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 1287-93.
- Brajenović-Milić B, Tišlarić D, Bačić J. i sur. Screening for Down's syndrome and neural tube defect in Croatia: A regional prospective study. *Fetal Diagn Ther* 1998; 13: 367-71.
- Verloes A, Gillerot Y, Van Maldergem L i sur. Major decrease in the incidence of trisomy 21 at birth in south Belgium: mass impact of triple test? *Eur J Hum Genet*. 2001; 9: 1-4.
- Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 1996; 16: 143-52.

24. Reynolds TM, Penny MD. The mathematical basis of multivariate risk screening: with special reference to screening for Down syndrome associated pregnancy. *Ann Clin Biochem* 1989; 27: 452-8.
25. Neveux LM, Palomaki GE, Larrivee DA, Knight GJ, Haddow JE. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. *Prenat Diagn* 1996; 16: 1115-9.
26. Benn PA, Clive JM, Collins R. Medians for second trimester maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol; differences between races or ethnic groups. *Clin Chem* 1997; 43: 333-7.
27. Kramer RL, Yaron Y, OBrein JE i sur. Effect of adjustment of maternal serum alpha-fetoprotein levels in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Med Genet* 1998; 75: 176-8.
28. Bernstein L, Pike MC, Lobo RA, Depue RH, Ross RK, Henderson BE. Cigarette smoking in pregnancy results in marked decrease in maternal hCG and oestradiol levels. *Br J Obstet Gynaecol* 1989; 96: 92-6.
29. Tišlarić D, Brajenović-Milić B, Ristić S i sur. The influence of smoking and parity on serum markers for Down's syndrome screening. *Fetal Diagn Ther* 2002; 17: 21.
30. Wald NJ, White N, Morris JK, Huttly WJ, Canick JA. Serum markers for Down's syndrome in women who have had in vitro fertilisation: implications for antenatal screening. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106: 1304-6.
31. Huderer-Đurić K, Škrablin S, Kuvačić I, Rubala D, Suchanek E. The triple marker test in predicting fetal aneuploidy: A compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynaecol Biol* 2000; 88: 49-55.
32. NTD
33. Canick JA, Palomaki GE, Osthonondh R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenat Diagn* 1990; 10: 546-8.
34. Saller Jr DN, Canick JA, Blitzer MG i sur. Second-trimester maternal serum analyte levels associated with fetal trisomy 13. *Prenat Diagn* 1999; 19: 813-6.
35. Saller Jr DN, Canick JA, Schwartz S, Blitzer MG. Multiple-marker screening in pregnancies with hydropic and non-hydropic Turner syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 67: 1021-4.
36. Bradley LA, Palomaki GE, Knight GJ i sur. Levels of unconjugated estriol and other maternal serum markers in pregnancies with Smith-Lemli-Opitz (RSH) syndrome fetus. *Am J Med Genet* 1999; 82: 355-8.
37. Bradley LA, Canick JA, Palomaki GE, Haddow JE. Undetectable maternal serum unconjugated estriol levels in the second trimester: risk of perinatal complications associated with placental sulfatase deficiency. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 531-5.
38. Pergament E, Stein AK, Fiddler M, Cho NH, Kupfermine MJ. Adverse pregnancy outcome after a false positive screen for Down syndrome using multiple markers. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 255-8.
39. Smith-Bindman R, Hosmer W, Feldstein VA, Deeks JJ, Goldberg JD. Second-trimester ultrasound to detect fetus with Down syndrome: a meta-analysis. *JAMA* 2001; 285: 1044-55.
40. Nyberg Da, Souter VL, El-Bastawissi A, Young S, Luthardt F, Luthy DA. Isolated sonographic markers for detection fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 1053-63.
41. Kaminsky L, Egan J, Ying J, Borgida A, DeRoche M, BennP. Combined second trimester biochemical and ultrasound screening for Down syndrome is highly effective. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185: 78.
42. Wald Nj, Kennard A, Hacckshaw A, McGuire A. antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 1997; 4: 181-246.
43. Hallahan T, Krantz D, Orlandi F i sur. First trimester biochemical screening for Down syndrome: free beta hCG versus intact hCG. *prenatal Diagn* 2000; 20: 785-9.
44. Szabo J, Gellen J. Nuchal fluid accumulation in trisomy-21 detected by vaginosonography in first trimester. *Lancet* 1990; 1: 336.
45. Spencer K. Age related detection and false positive rates when screening for Down's syndrome in the first trimester using fetal nuchal translucency and maternal serum  $\beta$ hCG and PAPP-A. *Br J Obstet Gynaecol* 2001; 108: 1043-6.
46. Gekas J, Gondry J, Mazur S, Cesbron P, Thepot F. Informed consent to serum screening for Down syndrome: Are women given adequate information? *Prenat Diagn* 1999; 19: 1-7.
47. Paravić J, Brajenović-Milić B, Tišlarić D i sur. Maternal serum screening for Down syndrome: A survey of pregnant women's views. *Community Genetics* 1999; 2: 109-12.

### Summary

#### INVASIVE AND NON-INVASIVE METHODS OF PRENATAL DIAGNOSTICS

B. Brajenović-Milić

*A variety of invasive and non-invasive tests were included in modern prenatal care. Invasive, diagnostic, tests (chorionic villus sampling and amniocentesis) are performed in "high risk" pregnancies while non-invasive, biochemical and/or ultrasonographical, screening tests are available to all pregnant women regardless of their age, in particular to those women who do any personal or family history of genetic disorder. The purpose of prenatal screening test is to identify individuals at sufficient risk of a specific disorder to benefit from further diagnostic investigation. Nowadays, the second trimester serum screening for one of the most common autosomal abnormality, trisomy 21 (Down syndrome), has been gaining a wide acceptance. Generally, it is carried out at 15 to 18 weeks gestational age and the risk evaluation is liable to the combination of the maternal age-specific risk for an affected pregnancy with the risk associated with the concentrations of maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin or its free  $\beta$  subunit and unconjugated estriol. Second trimester detection rate for Down syndrome is 60-75% at a 5% false positive rate. First trimester screening for trisomy 21 can be performed using combined measuring of fetal nuchal translucency thickness and maternal serum free  $\beta$ -hCG and pregnancy associated plasma protein-A. In this case, a detection rate of 75-90% at a 5% false positive rate, can be achieved. In addition to Down syndrome, the serum screening tests are also effective in detection of neural tube defects, abdominal wall defects, trisomy 18 (Edward's syndrome), Turner syndrome, Smith-Lemli-Opitz syndrome and steroid sulfatase deficiency.*

Descriptors: DOWN SYNDROME, PRENATAL SCREENING TEST

