

- ^a Endokrinološki laboratorij, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«,
^b Klinika za ginekologiju i porodništvo, Klinička bolnica »Sestre milosrdnice«,
^c Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Vili«,
^d Ginekološka ordinacija, Poliklinika »Dr. Harni«,
^e Zavod za genetiku i bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju KBC »Rebro«,
^f Endokrinološki laboratorij, Klinika za ženske bolesti i porode KBC »Petrova« u Zagrebu,
^g Ginekološki odjel, Opća bolnica Nova Gradiška

KOMBINIRANI ULTRAZVUČNO-BIOKEMIJSKI PROBIR FETALNIH TRISOMIJA U PRVOM I DVOSTRUKI BIOKEMIJSKI PROBIR U DRUGOM TROMJESEČJU U NEUGROŽENIM TRUDNOĆAMA

COMBINED ULTRASOUND-BIOCHEMICAL SCREENING OF FETAL TRISOMIA IN THE FIRST TRIMESTER AND DOUBLE BIOCHEMICAL SCREENING IN THE SECOND TRIMESTER AT NONRISK PREGNANCIES

*Dubravka Tišlarić-Medenjak,^a Ivana Zec,^a Vesna Košec,^b Tomislav Ivičević-Bakulić,^b
 Krunoslav Kuna,^b Radoslav Herman,^b Dražan Butorac,^b Ivan Bolanča,^b Martina Ujević,^c
 Erden Radončić,^c Sanja Boras-Slivar,^d Nataša Šemnički,^d Ivana Tonković-Đurišević,^e
 Saša Kralik-Oguić,^f Boris Lovrić^g*

Izvorni rad

Ključne riječi: Downov sindrom, prenatalni probir, dvostruki biokemijski probir, kombinirani probir, alfa-fetoprotein, PAPP-A, slobodni β -hCG, nuchalni nabor

SAŽETAK. *Cilj rada:* Usporediti uspješnost primjene probirnih testova aneuploidija u prvom i drugom tromjesečju trudnoće. *Ispitanice i metode:* Istraživanu skupinu činilo je 374 trudnica s kombiniranim ultrazvučno-biokemijskim testom u prvom, odnosno dvostrukim biokemijskim testom u drugom tromjesečju. Sve su trudnoće bile jednopodne i urednog ishoda. U probiru prvog tromjesečja korišteni su biokemijski biljezi u serumu trudnica: plazmatski protein pridružen trudnoći (PAPP-A) i slobodna β -podjedinica humanog korionskog gonadotropina (slobodni β -hCG), uz ultrazvukom izmjerenu debljinu nuchalnog nabora (NT) i dužinu tjeme-trtica (CRL) u ploda. U dvostrukom biokemijskom probiru drugog tromjesečja korišteni su biokemijski biljezi: alfa-fetoprotein (AFP) i slobodni β -hCG, a gestacija je procijenjena prema ultrazvučnoj biometriji. *Rezultati:* Povećani ultrazvučno-biokemijski rizik trisomije 21 u 1. tromjesečju trudnoće ustanovili smo u 30 trudnica (8.0%). Od ukupnog broja, 70 ispitanica (18.7%) imalo je povećani rizik obzirom na biokemijske biljege u prvom, odnosno njih 56 (15.0%) obzirom na biokemijske biljege u drugom tromjesečju trudnoće. Izvršeno je ukupno 30 postupaka amniocenteze. Od toga je u 19 trudnica (63.3%) indikacija postavljena na osnovi kombiniranog probirnog testa. Nadalje, amniocenteza je izvršena u 11 trudnica (28.2%) zbog povećanog rizika u dvostrukom biokemijskom probiru drugog tromjesečja. Udjel lažno-pozitivnih rezultata u kombiniranom probiru prvog tromjesečja bio je statistički značajno niži, nego u biokemijskom probiru drugog tromjesečja ($\chi^2=12.02$, $p=0.0005$). Ustanovili smo značajnu pozitivnu povezanost \log_{10} MoM slobodnog β -hCG između prvog i drugog tromjesečja ($r^2=0.403$, $p<0.0001$). Nismo ustanovili značajnu povezanost između ostalih biokemijskih biljega u prvom, odnosno, drugom tromjesečju. *Zaključak:* Rezultati našeg istraživanja su pokazali značajno veću specifičnost ranog kombiniranog probirnog testa aneuploidija u odnosu na biokemijski probirni test u prvom, kao i u drugom tromjesečju. Mogućnosti izbora pojedinih probirnih testova trebale bi biti usklađene sa stavovima i potrebama samih trudnica, kao i sa smjernicama koje su preporučile nadležne institucije za fetalnu medicinu.

Original paper

Key words: Down's syndrome, prenatal screening, double biochemical screening, combined screening, alpha-fetoprotein, PAPP-A, free β -hCG, nuchal translucency

SUMMARY. *Objective:* To evaluate the performance of screening tests for aneuploidy in the first and second trimesters of pregnancy in Croatian pregnant women. *Study Design and Methods:* Study population comprised 374 pregnant women who underwent the combined ultrasound-biochemical in the first and double-test in the second trimester of pregnancy, respectively. All were singleton pregnancies with normal outcomes. The first-trimester screening was performed combining serum markers, pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) and free β -subunit of human chorionic gonadotropin (free β -hCG) with fetal nuchal translucency thickness (NT) and crown-rump length (CRL), measured by ultrasound. For the second-trimester screening, maternal serum alpha-fetoprotein and free β -hCG were used as biochemical markers in relation to fetal biometry diagnosed by ultrasound. *Results:* In 30 pregnant women (8.0%) elevated risk for trisomy 21 was found after combined ultrasound-biochemical screening. Out of total, 70 pregnant women (18.7%) were classified 'at risk' on the basis of biochemical markers in the first and 56 (15.0%) in the second trimester. In 30 pregnant women amniocentesis was performed. In 19 cases (63.3%) the indication was elevated risk in the first-trimester com-

bined test. In 11 women (28.2%) amniocentesis is recommended because of the elevated second-trimester biochemical risk. The proportion of false-positive results in combined first-trimester screening test was significantly lower than with second-trimester biochemical markers ($\chi^2=12.02$, $p=0.0005$). We found the significant positive relationship between \log_{10} MoM F β -hCG in the first and second trimester ($r^2=0.403$, $p<0.0001$). There was no significant relationship between PAPP-A and second-trimester biochemical markers. **Conclusion:** Results of this preliminary study confirmed better specificity of the combined first-trimester screening in relation to biochemical screening in the second trimester of pregnancy. The decision and choice of the most appropriate screening test should consider woman's personal attitude and preferences, as well as follow the guidelines recommended by the competent associations for the fetal medicine.

Uvod

U najčešće primjenjivanim testovima probira fetalnih aneuploidija koriste se: a/ u prvom tromjesečju biokemijski biljezi u serumu trudnice (PAPP-A, slobodni β -hCG), uz ultrazvučno izmjerenu debljinu nuhalnog nabora (NT) u ploda, odnosno, b/ u drugom tromjesečju razne kombinacije fetoplacentarnih biokemijskih biljega (dvostruki test s alfa-fetoproteinom i slobodnim β -hCG; trostruki test s alfa-fetoproteinom, ukupnim/slobodnim β -hCG i nekonjugiranim estriolom). U mnogim se centrima u svijetu provode opsežna istraživanja o mogućnostima i uspješnosti združenog probira prvog i drugog tromjesečja. Iako ni do danas nije usvojen jednoznačan princip, zajednički im je strateški cilj iznaći test, ili kombinaciju testova, koja će zadovoljiti sljedeće zahtjeve: 1. Postići visoku stopu detekcije ugroženih trudnoća, uz što manji udio lažno-pozitivnih rezultata; 2. Smanjiti broj trudnica koje se upućuju na invazivni zahvat; 3. Dobiti što raniju informaciju o zdravlju ploda; 4. Uskladiti novčane troškove uložene u program probira u općoj populaciji, i posljednje, iako ne i najmanje važno; 5. Prilagoditi mogućnosti probira izboru i pravima svake trudnice pojedinačno.

Istraživanja Walda i suradnika postavila su temelje tzv. integriranog probira (*Integrated screening*).¹ Testiranje se provodi u prvom tromjesečju kombinacijom biokemijskih biljega (PAPP-A, slobodni β -hCG) uz ultrazvučno izmjerenu debljinu nuhalnog nabora (NT), a potom se u drugom tromjesečju trudnice upućuju na trostruki, odnosno, četverostruki (biljezi trostrukog testa+inhibin A) biokemijski test. Trudnicama se konačni, jedinstveni rezultati probira priopće nakon obavljena oba testa, a u slučajevima s visokim rizikom za aneuploidije preporuča im se amniocenteza (ACZ).

Istraživanja drugih znanstvenika posvećena su tzv. uvjetovanom sekvencijskom probiru (*Contingent sequential screening*) u kojem se trudnicama priopće rezultati nakon probira u prvom tromjesečju; onima s visokim rizikom kombiniranog testa preporuča se invazivni postupak, a trudnice umjerenog rizika upućuju se na biokemijski test u drugom tromjesečju, nakon čega im se predoči zajednički rezultat oba probirna testa.²⁻⁴ Prema ovakvom modelu, nije nužno dalje testirati trudnice s niskim rizikom u prvom, kombiniranom testu. Unatoč trajnim polemikama u literaturi, većina istraživača slaže se u zaključcima da ovakav model osigurava, s jedne strane, zadovoljavajuće visoku stopu detekcije trisomija 21, 18 i 13, uz prihvatljiv postotak lažno-pozitivnih rezultata te, s druge strane, financijski najisplativije ulaganje u program probira.^{5,6}

U Hrvatskoj nisu postavljene smjernice za provođenje probira fetalnih trisomija te je odluka o izbornom testu prepuštena pojedinim ginekolozima, odnosno samim trudnicama. Ranije objavljeni rezultati o primjeni probirnih testova u našoj zemlji, u prvom i drugom tromjesečju, predstavili su uspješnost neinvazivnog probira, u skladu s postignućima i preporukama referentnih svjetskih centara.⁷⁻¹⁰ Zahvaljujući postavljenim visokim kriterijima struke u nas, kao i sve većoj informiranosti trudnica, većina perinatologa slijedi model koji preporuča prof. Kypros Nicolaides, odnosno Organizacija za fetalnu medicinu (*The Fetal Medicine Foundation-FMF*) u Londonu.¹¹ Nadalje, godine 2007. Američka udruga za ginekologiju i opstetriciju (*American College of Obstetrics and Gynecology*) objavljuje smjernice prema kojima se svim trudnicama, u kojih je rizik za Downov sindrom u kombiniranom testu veći od 1:50, preporuča dijagnostički postupak.¹² U trudnica s umjerenim rizikom (rizik u probiru prvoga tromjesečja između 1:50 i 1:1000) potrebno je provjeriti dodatne ultrazvučne biljege – mjerenje *nosnih kostiju*, protok kroz *ductus venosus*, prisutnost *trikuspidalne regurgitacije* i mjerenje *fronto-maksilarnog ličnog kuta*.¹³⁻¹⁶ U slučaju pozitivnog nalaza, odnosno, procijenjenog rizika većeg od 1:50, potvrđuje se preporuka za invazivni zahvat. Ukoliko nema ultrazvučnih biljega, postupak se nastavlja biokemijskim probirom u drugom tromjesečju. Ovakav sekvencijski probir ostaje kao mogućnost i za trudnice koje se odlučuju na neinvazivne postupke zbog osobnih razloga.

Cilj je ovog istraživanja predstaviti rezultate tzv. »otvorenog sekvencijskog probira« (*Disclosed sequential screening*) u ispitanica s jednoplođnim trudnoćama koje su pristupile probiru u prvom i drugom tromjesečju trudnoće. Ispitat ćemo povezanost biljega i rezultata u oba probirna testa te iznijeti vlastita iskustva o opravdanosti primjene probira u oba razdoblja trudnoće.

Ispitanice i metode

Tijekom istraživanja, od veljače 2006. do kraja kolovoza 2008. godine, ukupno su 3633 trudnice pristupile kombiniranom ultrazvučno-biokemijskom probiru između 10⁺³ i 13⁺⁶ tjedana trudnoće. O uvjetima i načinu provođenja ovog testa izvijestili smo u našem ranijem radu.¹⁰ Od tog broja, njih 378 bilo je podvrgnuto i dvostrukom biokemijskom testu između 15. i 18. tjedna trudnoće. Kriteriji za uključivanje trudnica u ovo istraživanje bili su: jednoplođne trudnoće, uredan fetalni kariotip u trudnica s učinjenom amniocentezom (ACZ), te ročni porod zdravog djeteta potvrđen pregledom neonata.

tologa. Zbog toga su isključene dvije trudnice u kojih je kariotipizacijom fetalnih stanica ustanovljena jedna trisomija 21 i jedna trisomija 13, kao i dvije trudnice u kojih je nastupio spontani pobačaj prije 24. tjedna, bez prethodnog invazivnog zahvata. Ostale su 374 trudnice, čije su trudnoće do kraja veljače 2009. godine završile ročnim porodom. U trudnica podvrgnutih prenatalnoj dijagnostici ustanovljen je uredan fetalni kariotip, a neonatološkim pregledom novorođenčeta nisu nađene fenotipske abnormalnosti. Podatke o tijeku trudnoće dobili smo od nadležnih liječnika, a o ishodu i načinu dovršenja trudnoće iz bolničke dokumentacije u rodilištima. Podatke o citogenetskoj analizi fetalnih stanica prikupili smo u ordinacijama gdje su trudnice kontrolirane, odnosno, u Laboratoriju Zavoda za genetiku i bolesti metabolizma Klinike za pedijatriju KBC »Rebro« Zagreb.

U svrhu probira u prvom tromjesečju, u svih je ispitanica učinjen ultrazvučni pregled te uzet uzorak seruma za analizu biokemijskih biljega, od 73 – 97 dana trudnoće (10^{+3} do 13^{+6} tjedana). Trajanje trudnoće je izračunato prema izmjerenoj vrijednosti CRL-a (od 38 mm do 84 mm). Način mjerenja debljine nuhalnog nabora strogo je definiran postojećim preporukama FMF-a.¹⁷

Koncentracije slobodnog β -hCG i PAPP-A određivali smo imunometrijski, metodom encimski kontrolirane kemiluminiscencije (IMMULITE, Siemens Medical Solutions Diagnostics). Koncentracije su preračunate u MoM vrijednosti (»Multiple of the Median«) prema ranije izračunatim regresijskim medijanama za vlastitu populaciju trudnica. Individualni rizik trisomija izračunavali smo licenciranim programom Prisca 4.0 (Typolog Software Ltd & Co., Germany). Programom su predviđene korekcije MoM biljega za tjelesnu težinu i pušenje cigareta u trudnoći. Kao granični rizik trisomije 21, u vrijeme testiranja, uzimali smo omjer $>1:300$, odnosno, $>1:100$ za trisomije 18 i 13.

Za biokemijski probir u drugom tromjesečju, tjedan i dan trudnoće su procijenjeni na osnovi ultrazvučno izmjerenog biparijetalnog promjera, duljine femura i abdominalnog opsega ploda. Koncentracije biokemijskih biljega u krvi trudnice, alfa-fetoproteina (MS-AFP) i

slobodnog β -hCG određivali smo imunoflorometrijskom metodom (»Dual-assay«, Perkin Elmer Live and Analytical Sciences, Wallac Oy, Finland). Na osnovi biokemijskih biljega izračunavali smo rizik trisomija i otvorenih oštećenja neuralne cijevi, pomoću računalnog programa CISline PRENAT' SCREEN™, PRENATEL-SA 2,1 (University of Leeds, UK). Kao granični rizik trisomije 21 uzeli smo preporučeni omjer $> 1:250$, a za oštećenja neuralne cijevi MS-AFP MoM $\geq 2,5$.

Za statističku obradu podataka koristili smo metode deskriptivne statističke analize (Microsoft Excell 7,0). Normalnu razdiobu podataka dokazali smo Kolgomorov-Smirnovljevim testom na \log_{10} MoM vrijednostima biokemijskih biljega. Statistička analiza podataka provedena je pomoću programskog sustava MedCalc® (MedCalc 9,3.9,0, Frank Schoonjans, Mariakerke, Belgium). Razlike u proporcijama lažno-pozitivnih rezultata u pojedinim testovima ispitali smo McNemarovim testom. Stupanj povezanosti biokemijskih biljega u prvom i drugom tromjesečju prikazali smo Pearsonovim koeficijentom korelacije, uz granice pouzdanosti od 95%. Linearnom regresijskom analizom logaritmiranih MoM vrijednosti slobodnog β -hCG ustanovili smo obilježja međuodnosa varijable u prvom i drugom tromjesečju. Vrijednost $p < 0,05$ smatrali smo statistički značajnim.

Rezultati

Prosječna životna dob trudnica koje su sudjelovale u sekvencijskom probiru bila je $30,4 \pm 5,3$ godina (srednja vrijednost \pm SD). Prosječna dob trudnoće u kombiniranom ultrazvučno-biokemijskom testu bila je 85 ± 6 dana, odnosno 112 ± 5 dana u vrijeme dvostrukog biokemijskog testa. Od ukupnog broja, 182 trudnice (48,7%) bile su mlađe od 30 godina, njih 112 (29,9%) bilo je u dobi od 30 do 34,5 godina, a 80 ispitanica (21,4%) imalo je u vrijeme pristupanja probiru 34,6 ili više godina. Trudnice iz posljednje skupine imale su povećani tzv. *a priori* rizik, s obzirom da incidencija fetalne trisomije 21 raste s dobi trudnice. U tablici 1 prikazali smo razdiobu trudnica s obzirom na dobne granice te udjele lažno-pozitivnih nalaza prema probirnim testovima.

Tablica 1. Razdioba trudnica prema dobi i udjeli lažno-pozitivnih nalaza u probiru trisomije 21 (granični rizik 1:300 u prvom, odnosno 1:250 u drugom tromjesečju)

Table 1. Distribution of pregnant women in relation to age and false-positive results in screening for trisomy 21 (first-trimester cut-off risk 1:300 and second-trimester 1:250, respectively)

Dob trudnica u vrijeme testa (godine) Women's age at sampling (years)	Broj trudnica Number of pregnant women	Lažno-pozitivni u kombiniranom testu 1. tromjesečja * False-positives in first-trimester combined test *	Lažno-pozitivni u biokemijskom testu 1. tromjesečja ** False-positives in first-trimester biochemistry **	Lažno-pozitivni u biokemijskom testu 2. tromjesečja *** False-positives in second-trimester biochemistry ***
< 30	182	8 (4.4%)	17 (9.3%)	13 (7.1%)
30 – 34.5	112	9 (8.0%)	28 (25.0%)	15 (13.4%)
> 34.5	80	14 (17.5%)	25 (31.2%)	27 (33.8%)
Ukupno – Total	374	31 (8,3%)	70 (18,7%)	55 (14,7%)

* Probir uz biljega PAPP-A + slobodni β -hCG + NT/CRL / Screening with PAPP-A + free β -hCG + NT/CRL

** Probir uz biokemijske biljega PAPP-A + slobodni β -hCG / Screening with biochemical markers PAPP-A + free β -hCG

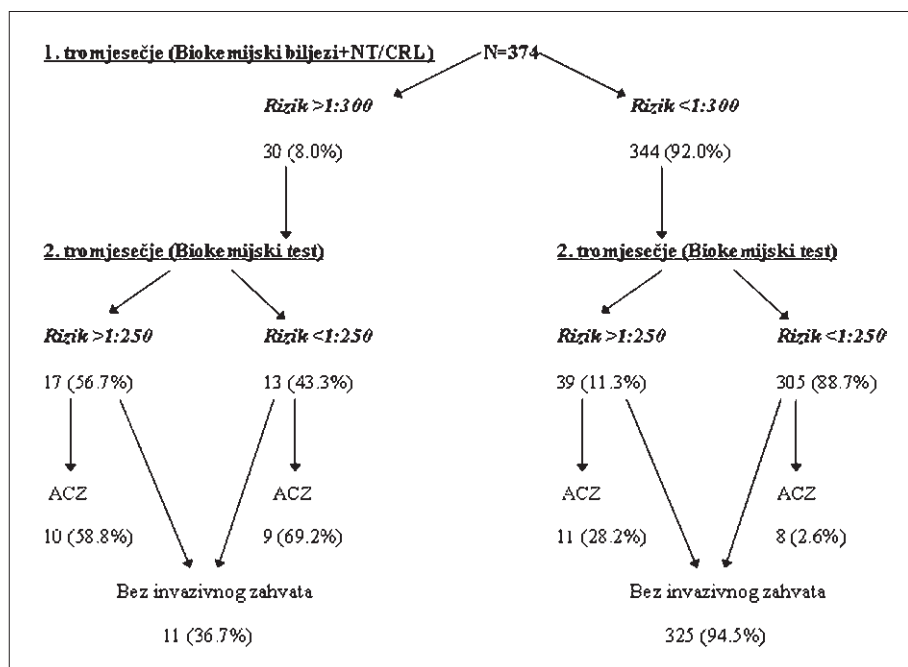
*** Probir uz biljega AFP + slobodni β -hCG / Screening with biochemical markers AFP + slobodni β -hCG

Tablica 2. Udjeli lažno-pozitivnih rezultata u ispitanica (N=374) s obzirom na granične vrijednosti prvog i drugog tromjesečja i različite kombinacije biljega (rezultati se odnose na izračunati rizik trisomije 21).

Table 2. Proportions of false-positive results in studied population (N=374) in relation to cut-off values in the first and second trimester, with different combination of markers (results are referred to the calculated risk for trisomy 21).

	1. tromjesečje * 1 st trimester * (10 ⁺³ do 13 ⁺⁶)	2. tromjesečje * 2 nd trimester * (15 ⁺⁰ do 18 ⁺⁰)	
Dobni rizik >1:300 Age-risk >1:300	80 (21.4%)	–	–
Nuhalni nabor (NT) iznad 95. percentila Nuchal translucency (NT) above 95th percentile	28 (7.5%)	–	–
Kombinirani ultrazvučno-biokemijski rizik >1:300 Combined ultrasound-biochemical risk >1:300	30 (8.0%)	–	–
Biokemijski rizik >1:300 Biochemical risk >1:300	70 (18.7%)	Biokemijski rizik >1:250 Biochemical risk >1:250	56 (15.0%)

* Tjedan trudnoće / Week of gestation



Slika 1. Razdioba trudnica u sekvencijskom testiranju, s obzirom na rezultate probira u oba razdoblja trudnoće, te broj izvršenih invazivnih zahvata u pojedinim skupinama (ACZ – amniocenteza)

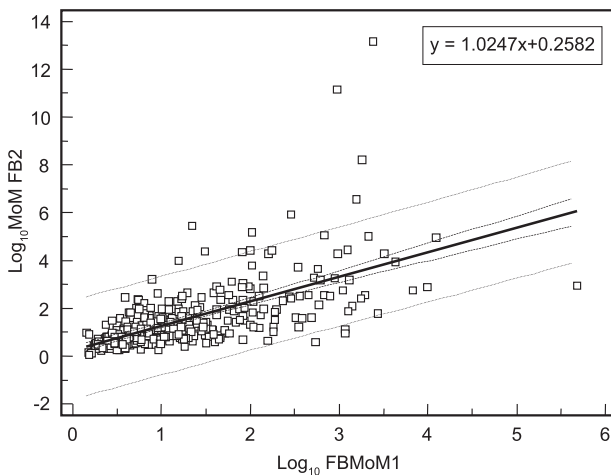
Figure 1. Distribution of pregnant women in sequential screening in relation to the results in both periods of pregnancy and number of invasive procedures in sub-groups (ACZ – amniocentesis)

U tablici 2 prikazane su stope lažno-pozitivnih rezultata s obzirom na kombinacije biljega, pri izabranim graničnim vrijednostima u prvom odnosno drugom tromjesečju.

Slika 1 prikazuje razdiobu trudnica u sekvencijskom testiranju, s obzirom na rezultate probira u oba razdoblja trudnoće, kao i broj izvršenih invazivnih zahvata u pojedinim razdobljima testiranja. Prikazani rezultati odnose se na procjenu rizika trisomije 21. Od 30 ispitanica, koje su u prvom tromjesečju imale kombinirani ultrazvučno-biokemijski nalaz s povećanim rizikom, u njih 25 na rizik trisomije 21 utjecali su biokemijski biljezi. U 17 trudnica je i nakon biokemijskog testa u drugom tromjesečju ustanovljen povećani rizik. Ukupno je izvršeno 19 postupaka amniocenteze, iz čega proizlazi da je učešće invazivnog zahvata zbog povećanog rizika probirnih testova 63,3%. U preostalih 344 trudnica, koje su imale nisko-rizičan nalaz nakon kombiniranog testa za trisomiju 21, njih 39 (11,3%) je imalo povećani rizik

nakon provedenog dvostrukog biokemijskog testa u drugom tromjesečju. Zbog nalaza biokemijskog probira tijekom drugog tromjesečja, amniocenteza je učinjena u 11 trudnica (28,2%). Iz naših rezultata je vidljivo da je u 374 trudnice, obuhvaćenih ovim istraživanjem, učinjeno ukupno 38 invazivnih zahvata (10,1%). Od toga je u njih 30 (8,0%) indikacija postavljena na osnovi rezultata probirnih testova u prvom, odnosno, drugom tromjesečju trudnoće.

Samo je njih 17 (4,5%), od ukupnog broja ispitivanih trudnica, svrstano u područje povećanog rizika trisomije 21 i u prvom i u drugom probirnom testu. Kombinirani ultrazvučno-biokemijski rizik veći od 1:50 ustanovili smo u 5 trudnica, od kojih su 4 bile starije od 35 godina. McNemarovim testom pokazali smo da razlika između 18,7% trudnica s lažno-pozitivnim nalazom u biokemijskom testu za prvo tromjesečje (PAPP-A+slobodni β -hCG) i 15,0% uz biokemijske biljege drugog tromjesečja (AFP+slobodni β -hCG) nije statistički



Slika 2. Pravac linearne regresije \log_{10} MoM slobodnog β -hCG u prvom i drugom tromjesečju (crtkano su označene granice pouzdanosti od 95%)

Figure 2. Linear regression analysis of \log_{10} MoM free β -hCG in the first and second trimester (95% confidence intervals are shown as dashed lines)

Tablica 3. Cijene postupaka i pretraga koje se preporučaju u dijagnostici fetalnih aneuploidija

Table 3. Costs of the procedures and tests recommended in diagnosis of fetal aneuploidies

Postupak/Pretraga Test/Diagnostic procedure	Cijena (Kn) Price (Kn)
Ultrazvučni pregled između 10.–14. tjedna trudnoće First-trimester ultrasound exam	180,00
Kombinirani ultrazvučno-biokemijski probir između 10.–14. tjedna trudnoće First-trimester combined ultrasound-biochemical screening	319,70
»Mini-anomaly scan« prije 14. tjedna trudnoće »Mini-anomaly scan« before 14th week of pregnancy	300,00
Dvostruki biokemijski probir fetalnih aneuploidija između 15.–18. tjedna trudnoće Biochemical screening with double-test in the second trimester	298,94
Trostruki biokemijski probir fetalnih aneuploidija između 15.–18. tjedna trudnoće Biochemical screening with triple-test in the second trimester	385,34
Genetičko savjetovanje / Genetic counselling	135,95
Biopsija korionskih resica i citogenetska analiza Chorionic villus sampling and cytogenetic analysis	9.291,54
Uzimanje plodove vode i citogenetska analiza Amniotic fluid sampling and cytogenetic analysis	9.219,97

značajna ($\chi^2=2.817$, $p=0,0933$). S druge strane, udjel od 8,3% lažno-pozitivnih nalaza u kombiniranom probirnom testu prvog tromjesečja (biokemijski biljezi+NT/CRL) bio je značajno manji u usporedbi s udjelom lažno-pozitivnih nalaza u biokemijskom probirnom testu drugog tromjesečja ($\chi^2=12,02$, $p=0,0005$). Očito je da ultrazvučni biljezi tj. nuhalni nabor znatno pridonosi statističkoj znakovitosti kombiniranoga testa u odnosu na biokemijski probirni test drugoga tromjesečja; nuhalni nabor sam po sebi je bio lažno pozitivan u samo 7,5% istraživanih trudnica (tablica 2).

Potvrdili smo statistički značajnu, pozitivnu povezanost \log_{10} MoM slobodnog β -hCG između prvog i dru-

gog tromjesečja. Pravac linearne regresije na slici 2 prikazuje promjene vrijednosti \log_{10} MoM slobodnog β -hCG u drugom tromjesečju u odnosu na njihove vrijednosti u prvom tromjesečju ($r^2=0,403$, $p<0,0001$). Nismo ustanovili značajnu povezanost između vrijednosti \log_{10} MoM slobodnog β -hCG u prvom i AFP u drugom tromjesečju ($r^2=0,0025$, $p=0,31$), između PAPP-A u prvom i slobodnog β -hCG u drugom ($r^2=0,0144$, $p=0,025$), odnosno između PAPP-A u prvom i AFP u drugom tromjesečju ($r^2=0,0036$, $p=0,25$).

Tablica 3 prikazuje cijene za osnovne probirne testove, invazivne postupke i pretrage koje se primjenjuju u nadzoru trudnoće tijekom prvog, odnosno drugog tromjesečja trudnoće. Navedeni iznosi su trenutno važeći prema cjeniku Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje, s iznimkom kombiniranog testa, čiji trošak snose same pacijentice.

Rasprava

Moderne laboratorijske metode nude perinatalnoj medicini veliki izbor kombinacija biokemijskih biljega u otkrivanju visokorizičnih trudnica za fetalne trisomije. Veliki broj istraživanja različitih modela probirnih testova nastoji pronaći najprikladniji postupnik koji bi, s jedne strane, bio prilagođen individualnim potrebama i željama trudnica, a s druge bi se strane pokazao najdjelotvornijim i financijski najprihvatljivijim u primjeni na općoj populaciji trudnica. Wald i suradnici su 1999. godine predstavili integrirani test koji objedinjuje rezultate probira u prvom i drugom tromjesečju trudnoće.¹ Prema njihovim preporukama, ovakav model uključuje kombinaciju ranih biokemijskih biljega (PAPP-A+ slobodni β -hCG) i ultrazvučno izmjerene NT u prvom tromjesečju te trostrukog (AFP+ukupni hCG+nekonjugirani estriol), odnosno, četverostrukog (trostruki test+ inhibin A) biokemijskog testa u drugom tromjesečju. Rezultati se trudnicama priopće po završetku oba testa. Prednost koju autori ističu je visoka stopa detekcije trisomije 21 (80%) uz 0.9% lažno pozitivnih nalaza, što kod trudnica osigurava manji broj nepotrebnih invazivnih zahvata.

Na predloženi model Walda i suradnika nadovezuju se opsežna istraživanja drugih autora koji ne poriču uspješnost ovakvog cjelovitog protokola, ali ne zaobilaze ni emocionalno stanje trudnica zbog čekanja na konačne rezultate testa do 18. tjedna trudnoće. U radovima izraelskih znanstvenika, Hermana i Maymona uspoređeni su rezultati u tzv. otvorenim (»disclosed«) i zatvorenim (»non-disclosed«) protokolima integriranog probira.^{2,18} Istraživanja su dokazala da oba programa osiguravaju sličnu stopu detekcije trisomije 21, premda je udio lažno-pozitivnih nalaza manji ukoliko se ishod probira izražava kao jedinstveni zajednički rezultat u zatvorenom integriranom testu. Svjesni etičkih dilema zbog neuvažavanja osobnih stavova pacijentica, kao i pritiska na osoblje uključeno u nadzor trudnoće, oni predlažu tzv. »semi-sekvencijski« probir u kojem bi se konačni rizik fetalnih aneuploidija izražavao na osnovi mjerenja debljine nuhalnog nabora između 10. i 14.

tjedna i biokemijskog probirnog testa u drugom tromjesečju trudnoće. Dodatna pogodnost ovog načina je i manje ulaganje u sustavnu primjenu prenatalnog probira, kao i u činjenici da je amniocenteza, kada je nužna, manje rizičan zahvat od biopsije korionskih resica. Mjerenje NT/CRL obavezni je dio ultrazvučnog pregleda u prvom tromjesečju za trudnice u većini zemalja koje slijede aktualne smjernice za prenatalnu skrb pa bi spomenuti program obuhvatio i trudnice kod kojih iz raznih razloga nije proveden biokemijski dio probira.

U slijedu saznanja, pozornost privlače i istraživanja tzv. uvjetovanog sekvencijskog probira (*»Contingent sequential screening«*). Prema tom protokolu se trudnicama s vrlo visokim rizikom za trisomije nakon kombiniranog ultrazvučno-biokemijskog probira u prvom tromjesečju preporuča genetsko savjetovanje, odnosno neposredni invazivni zahvat radi postavljanja što ranije dijagnoze. Istraživanja se razlikuju u odabiru granične vrijednosti kombiniranog rizika kao indikacije za invazivni zahvat; preporučene granične vrijednosti variraju od 1:30 do 1:100. Na biokemijski probir u drugom tromjesečju upućuju se samo trudnice u kojih je kombinirani probir između granične vrijednosti za visoki rizik i omjera 1:1000, odnosno, 1:1500. Christiansen i suradnici⁵ iz Danske su 2002. godine predstavili model za primjenu ovog testa u općoj trudničkoj populaciji, prema kojem bi se nakon analize biokemijskih biljega prvog tromjesečja preporučilo mjerenje dodatnih ultrazvučnih biljega u trudnica s rizikom između 1:65 i 1:1000.

Brojni su drugi znanstvenici objavili usporedne rezultate integriranog i sekvencijskog programa probira u velikim, neinterventnim populacijskim studijama.^{3–6,19–21} Argumenti kojima opravdavaju izbor uvjetovanog sekvencijskog probira su prihvatljiv odnos osjetljivosti (stopa detekcije) i specifičnosti (stopa lažno-pozitivnih) samog testa, te financijski najisplativiji model koji se može primijeniti na razini populacije. U ovakvom konceptu probira, rezultati kombiniranog testa odmah se priopće trudnicama; na izravni dijagnostički postupak se upućuju trudnice visokog rizika, a onima s umjerenim rizikom se preporuča testiranje u drugom tromjesečju. Ako se uz to ima na umu da u oko 48% trudnoća s fetalnom trisomijom dolazi do spontanog pobačaja nakon 10. tjedna, čini se da ovaj koncept probira racionalizira broj daljnjih testova u trudnoćama koje su predodređene za negativan ishod.²² Prema načelnim stavovima u literaturi, za trudnice s niskim kombiniranim rizikom u prvom tromjesečju nisu predviđeni daljnji probirni testovi. Ipak, odluka o tome bi trebala biti sukladna osobnom stavu trudnice i dogovoru s njezinim liječnikom.

U Hrvatskoj se s uspjehom primjenjuju različiti testovi probira trisomija u prvom, kao i u drugom tromjesečju trudnoće. Nakon više od desetljeća sustavne primjene ni u nas ne postoje jednoznačne smjernice i preporuke za medicinsko osoblje, odnosno za trudnice. U ovom smo istraživanju predstavili vlastita iskustva na grupi ispitanica, retrospektivno izdvojenih iz neselektirane populacije trudnica, koje su sudjelovale u kombiniranom pro-

biru u prvom i dvostrukom biokemijskom testu u drugom tromjesečju. Srednja starosna dob i dobna razdioba trudnica bile su slične prosječnim demografskim obilježjima trudnica u Hrvatskoj. Ipak, udjel od 8,0% lažno-pozitivnih rezultata u kombiniranom testu u ovom radu bio je veći od 5,1% koji smo objavili u ranijoj, neinterventnoj studiji. Korišteni računalni program za procjenu rizika trisomija u prvom tromjesečju odvaja dobni rizik u vrijeme testa i rizik prema biokemijskim biljezima od kombiniranog ultrazvučno-biokemijskog rizika. U računalnom programu za drugo tromjesečje, rizik se izražava s obzirom na dob trudnice u terminu poroda i onaj prema biokemijskim biljezima. U ovom radu udjeli lažno-pozitivnih rezultata biokemijskog probira nisu se značajno razlikovali u prvom, odnosno drugom tromjesečju. Nasuprot tomu, značajno je niža stopa lažno-pozitivnih rezultata u kombiniranom testu, u poredbi s biokemijskim testom i u prvom i u drugom tromjesečju. Na povećanje specifičnosti konačnog rezultata testa utječe uključivanje ultrazvučnih biljega.^{2,23–25}

U literaturi su temeljito opisani čimbenici, neovisni o kromosopatijama ploda, koji imaju potencijalni utjecaj na koncentracije biokemijskih biljega u serumu trudnica.²⁶ Osim standardizirane korekcije za MoM vrijednosti u pušačica i trudnica s dijabetesom ovisnim o inzulinu, dokazan je utjecaj hormonske stimulacije ovulacije i protokola koji prethodi potpomoj oplođnji na kasnije mjerene koncentracije placentalnih biljega u serumu trudnica.^{27,28} Rezultati istraživanja Spencera i suradnika ukazuju da su MoM vrijednosti slobodnog β -hCG prosječno za oko 15% više u normalnim trudnoćama sa ženskim plodom.²⁹ Ipak, nesigurnost u ultrazvučnom prepoznavanju spola u ranim tjednima trudnoće ne dopušta pouzdanu kliničku interpretaciju ni korekciju laboratorijskih rezultata prema fetalnom spolu te se ne može uvažiti u praktičnoj primjeni probira. Također je poznato da su koncentracije ukupnog humanog korionskog gonadotropina i njegove slobodne β -podjedinice značajno više u serumu trudnica tijekom prve trudnoće.³⁰ Mi u ovom radu nismo isključili trudnoće započete uz postupke potpomognute oplođnje, niti smo ispitivanje razdijelili prema broju prethodnih trudnoća. S jedne strane, broj od 374 trudnice nije bio dovoljno velik za kvalitetnu statističku obradu po podskupinama, a s druge to nije bio ni cilj našeg istraživanja. Dokazali smo da u istih trudnica postoji statistički značajna korelacija i pozitivna povezanost MoM vrijednosti slobodnog β -hCG između prvog i drugog tromjesečja. Drugim riječima, ako smo u neke pacijentice ustanovili odstupanje koncentracije slobodnog β -hCG u odnosu na medijanu u ranom tjednu trudnoće, slična opažanja možemo očekivati i u testu drugog tromjesečja. Za razliku od toga, nismo našli statistički značajnu korelaciju PAPP-A ni s jednim od biokemijskih biljega u drugom tromjesečju trudnoće.

U objavljenom literaturi nema mnogo podataka koji govore o samoj korelaciji biokemijskih biljega u prvom i drugom tromjesečju u istih trudnica, jer je zanimanje većine istraživača usmjereno na poboljšanje detekcije

trisomija i smanjenje stope lažno-pozitivnih. Značajnu povezanost MoM vrijednosti slobodnog β -hCG između oba tromjesečja, te izostanak povezanosti PAPP-A s biokemijskim biljezima u drugom tromjesečju opisali su Wald i suradnici.^{31,32} Iako je u testovima probira primarna uloga slobodnog β -hCG u otkrivanju fetalnih aneuploidija, poznato je da povećane koncentracije ukupnog hCG i slobodnog β -hCG imaju prediktivnu vrijednost za trudničku hipertenziju, proteinuriju, a povezuju se i s preeklampsijom.^{33,34}

Nadalje, neki su autori opisali povezanost abnormalnih koncentracija slobodnog β -hCG i PAPP-A s tijekom i trajanjem trudnoće, kao i pokazateljima fetalnog razvoja.^{35–38} Mi u ovom radu nismo mogli istražiti povezanost biokemijskih biljega s detaljnim tijekom trudnoće, odnosno s procjenom fetalnog rasta. S obzirom na veliku disperziju trudnica u brojnim centrima za nadzor i dovršenje trudnoće, prikupljanje takvih podataka zahtijeva dobro osmišljenu, timski organiziranu i multidisciplinarnu studiju na većem broju ispitanica, nego što je obuhvaćeno ovim istraživanjem. Stoga nije bilo moguće ispitati utjecaj svih poznatih čimbenika na udjele lažno-pozitivnih rezultata u biokemijskom probiru u prvom, odnosno drugom tromjesečju. Nedvojbeno je da sami biokemijski biljezi nisu dovoljno specifični parametri u otkrivanju ugroženih trudnoća. Rezultat koji se u probirnom testu pojavljuje kao povećani rizik trisomije treba kritički i promišljeno uvažiti kao poticaj za pojačani antenatalni nadzor takvih trudnica. Značajno smanjenje stope lažno-pozitivnih rezultata uključivanjem ultrazvučnih biljega u konačni izračun rizika i u ovom je radu dokazalo prednost kombiniranog probira u uporedbi s biokemijskim testom i u prvom i u drugom tromjesečju. Sam ultrazvučni probir (nuhalni nabor >95 centila za tjedan trudnoće) značajno je pridonio osjetljivosti kombiniranoga testa odnosno smanjenju lažno-pozitivnih nalaza. Nuhalni nabor kao pokazatelj fetalne trisomije je bio lažno pozitivan u 7,5% trudnica prvoga tromjesečja (28 od 374), slično broju lažno pozitivnih nalaza u kombiniranom testu prvoga tromjesečja (30 od 374 – 8,0%), dok je sam biokemijski test prvoga tromjesečja imao značajno više lažno pozitivnih nalaza (70 od 374 – 18,7%), a 15,0% u drugom tromjesečju.

Skloni smo podržati preporuku da se trudnicama čiji je kombinirani rizik veći od 1:100 preporučiti genetsko savjetovanje kako bi što ranije mogle odlučiti o vlastitom izboru daljnjih postupaka. Uznemirujuća je činjenica da takve trudnice moraju čekati nekoliko tjedana do postavljanja konačne dijagnoze, jer se zahvat biopsije korionskih resica izvodi samo u dva specijalistička centra u Hrvatskoj. Amniocenteza u drugom tromjesečju (16–18 tjedana) trudnoće i čekanje na rezultate daljnja 3–4 tjedna uzrokuju veliki emocionalni pritisak i strah u samih trudnica, a medicinskim djelatnicima ograničavaju mogućnost djelovanja. Vrlo korisno istraživanje Nicolaidesa i suradnika, na reprezentativnom uzorku od 30.564 trudnice, pokazuje da je stopa prihvaćanja invazivnih zahvata ovisna o stupnju rizika koji je ustanovljen prethodnim probirom.³⁹ Prema njiho-

vim iskustvima, više od 70% trudnica izabire invazivni zahvat, ako je rizik u probiru bio veći od 1:300. Našim smo rezultatima pokazali da je od 30 trudnica njih 19 (63,3%) donijelo takvu odluku. S druge strane, razborito je postaviti pitanje da li ponuditi oba testa trudnicama s izrazito niskim rizikom trisomija u kombiniranom ultrazvučno-biokemijskom probiru (manji od 1:1000). Mjerenje koncentracije alfa-fetoproteina u serumu nakon 15. tjedna daje mogućnost procjene rizika za oštećenja neuralne cijevi otvorenog tipa te anomalija prednje trbušne stijenke. No, te se morfološke abnormalnosti fetusa mogu otkriti tijekom ultrazvučnog pregleda u drugom tromjesečju. Većina se autora slaže da se oko 80% trudnica nepotrebno šalje na daljnje biokemijsko testiranje.^{3,6,18,20,40}

Nesumnjivo, najveće dvojbe prisutne u praksi i opisane u literaturi proizlaze iz neujednačenosti stavova prema trudnicama koje su u tzv. umjereno-rizičnom području. Brojne su studije nastojale dokazati ispravnost, osnovanost, ali i finacijsku isplativost programa probira i dijagnostike koji bi se preporučio kao model za opću trudničku populaciju.⁴¹ Nažalost, ne možemo diskutirati o tako osjetljivim pitanjima koja se, s jedne strane, tiču učinkovitosti svih oblika i kombinacija probirnih testova, a s druge, racionalizacije novčanih troškova za sustavno provođenje probira u našoj zemlji. Za takve ključne nužne su daljnje opsežne, multidisciplinarnе, kliničke studije koje će rasvijetliti dileme o brojnim medicinskim i etičkim problemima pa i o ulaganjima u program na nacionalnoj razini. Stoga smo u ranijem poglavlju, kao nezaobilazno važnu informaciju, naveli i troškove koje iziskuju osnovne pretrage primjenjivane u prenatalnoj skrbi. Nadamo se da naše stručne timove i ovi početni rezultati stavljaju pred konstruktivno razmišljanje o tome koji bi model i preporuke bili najprihvatljiviji u našim uvjetima.

Na kraju želimo još jednom naglasiti vlastiti, ali i opći stav, da je primarno ono načelo koje je najbolje za samog pacijenta. Naše stavove podupiremo i preporukama Europske organizacije za fetalnu medicinu¹¹ kao i Američke udruge za ginekologiju i opstetriciju iz siječnja 2007. godine.¹² Objavljene smjernice mogle bi se ukratko sažeti u sljedeće:

1. Kombinirani probir u prvom tromjesečju, pomoću biokemijskih biljega (slobodni β -hCG+PAPP-A) i ultrazvukom izmjerenog NT/CRL, omogućava veću stopu detekcije fetalnih trisomija od dvostrukog (slobodni β -hCG+AFP) i/ili trostrukog biokemijskog probira (ukupni β -hCG+AFP+uE3) u drugom tromjesečju.
2. Mjerenje samog nuhalnog nabora u prvom tromjesečju ima slabiju stopu detekcije trisomija, nego u kombinaciji s ranim biokemijskim biljezima.
3. Trudnicama, u kojih je ustanovljen visoki rizik kombiniranim testom, treba preporučiti genetsko savjetovanje i omogućiti postavljanje konačne dijagnoze (biopsija korionskih resica, rana amniocenteza).

4. Mjerenje nuchalnog nabora mora biti provedeno isključivo u centrima i od liječnika-ultrasoničara koji su završili subspecijalistički tečaj za rani ultrazvuk te mjerenja izvode na vrhunskoj opremi i u skladu sa zahtjevima FMF-a (The Fetal Medicine Foundation).
5. Trudnicama koje se odluče za kombinirani probir u prvom tromjesečju treba ponuditi probir za oštećenja neuralne cijevi u drugom tromjesečju trudnoće.

Zahvala

Zahvaljujemo svim liječnicima i medicinskom osoblju na pomoći u prikupljanju podataka o tijeku i ishodu trudnoća. Profesorici Dubravki Mužinić i osoblju Citogenetskog laboratorija, Zavoda za genetiku i bolesti metabolizma, KBC »Rebro«, zahvaljujemo na kontinuiranom nadopunjavanju podataka o provedenim dijagnostičkim postupcima.

Literatura

1. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *New Engl J Med* 1999;341:461–7.
2. Herman A, Dreazen E, Tovbin J, Weinraub Z et al. Comparison between disclosure and non-disclosure approaches for trisomy 21 screening tests. *Hum Reprod* 2002;17:1358–62.
3. Wright D, Bradbury D, Benn P et al. Contingent screening for Down syndrome is an efficient alternative to non-disclosure sequential screening. *Prenat Diagn* 2004;24:762–6.
4. Platt LD, Greene N, Johnson A et al. Sequential pathways of testing after first-trimester screening for trisomy 21. *Obstet Gynecol* 2004;104:661–6.
5. Christiansen M, Larsen SO. An increase in cost-effectiveness of first-trimester maternal screening programmes for fetal chromosome anomalies is obtained by contingent testing. *Prenat Diagn* 2002;22:482–6.
6. Ball RH, Caughey AB, Malone FD et al. First- and second-trimester evaluation of risk for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2007;110:10–17.
7. Brajenović-Milić B, Tišlarić D, Bačić J et al. Screening for Down's syndrome and neural tube defect in Croatia: A regional prospective study. *Fetal Diagn Ther* 1998;13:367–71.
8. Huderer-Đurić K, Škrablin S, Kuvačić I et al. The triple marker test in predicting fetal aneuploidy: A compromise between sensitivity and specificity. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 2000;88:49–55.
9. Tišlarić-Medenjak D. Probir dvostrukim biokemijskim testom. *Gynaecol Perinatol* 2003;12(suppl.1):67–71.
10. Tišlarić-Medenjak D, Košec V, Kos M et al. Kombinirani ultrazvučno-biokemijski probir fetalnih aneuploidija od 10.–14. tjedna trudnoće: prvi rezultati primjene testa u Hrvatskoj. *Gynaecol Perinatol* 2008;17:195–200.
11. Nicolaides KH, Spencer K, Avigdou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies; results of estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:221–6.
12. Barclay L, Lie D. New guidelines recommend universal prenatal screening for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2007;109:217–28.
13. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G et al. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal translucency, absent fetal nasal bone, free β -hCG and PAPP-A at 11 to 14 weeks. *Prenat Diagn* 2003;23:306–10.
14. Borrel A, Gonce A, Martinez JM et al. First trimester screening for Down syndrome with Ductus venosus Doppler studies in addition to nuchal translucency and serum markers. *Prenat Diagn* 2005;25:901–5.
15. Huggon IC, De Figuereido DB, Allan LD. Tricuspid regurgitation in the diagnosis of chromosomal anomalies in the fetus at 11–14 weeks of gestation. *Heart* 2003;89:1071–3.
16. Borenstein M, Persico N, Strobl I, Sonek J, Nicolaides KH. Frontomaxillary and mandibulomaxillary facial angles at 11+0 to 13+6 weeks in fetuses with trisomy 18. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;3:928–33.
17. Nicolaides KH, Snijders RJ, Cuckle RS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal translucency screening. *Prenat Diagn* 1998;18:519–23.
18. Maymon R, Bergman M, Segal S et al. Sequential first and second trimester screening tests: correlation of the markers' levels in normal versus Down syndrome affected pregnancies. *Prenat Diagn* 2001;21:1175–9.
19. Malone FD, Canick JA, Ball RH et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *New Engl J Med* 2005;353:2001–11.
20. Wright D, Bradbury I, Cuckle H et al. Three-stage contingent screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006;26:528–34.
21. Benn PA, Campbell WA, Zelop CM et al. Stepwise sequential screening for fetal aneuploidy. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:312.e1–5.
22. Macintosh MC, Wald NJ, Chard T et al. The selective miscarriage of Down's syndrome from 10 weeks of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:1172–3.
23. Scott F, Peters H, Bonifacio M et al. Prospective evaluation of a first trimester screening program for Down syndrome and other chromosomal abnormalities using maternal age, nuchal translucency and biochemistry in an Australian population. *Australian New Zealand J Obstet Gynecol* 2004;44:205–9.
24. Wøjdemann KR, Shalmi AC, Christiansen M et al. Improved first-trimester Down syndrome screening performance by lowering the false-positive rate: a prospective study of 9941 low-risk women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25:227–33.
25. Soergel P, Pruggmayer M, Schwerdtfeger R et al. Screening for trisomy 21 with maternal age, fetal nuchal translucency and maternal serum biochemistry at 11–14 weeks: A regional experience from Germany. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:264–8.
26. De Graaf IM, Cuckle SH, Pajkrt E et al. Co-variables in first trimester serum screening. *Prenat Diagn* 2000;20:186–9.
27. Liao AW, Heath V, Kametas N, Spencer K, Nicolaides KH. First trimester screening for trisomy 21 in singleton pregnancies achieved by assisted reproduction. *Hum Reprod* 2001;16:1501–4.
28. Tul N, Novak-Antolić Ž. Serum PAPP-A levels at 10–14 weeks of gestation are altered in women after assisted conception. *Prenat Diagn* 2006;26:1206–11.
29. Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Papademetriou D, Nicolaides KH. The influence of fetal sex in screening for trisomy 21 by fetal nuchal translucency, maternal serum free β -hCG

and PAPP-A at 10–14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 2000;20:673–5.

30. Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Nicolaides KH. The influence of parity and gravidity on first trimester markers of chromosomal abnormality. *Prenat Diagn* 2000;20:792–4.

31. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003;10:56–104.

32. Wald NJ, Jonathan PB, Morris JK. Cross-trimester marker ratios in prenatal screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006;26:514–23.

33. Brajenović-Milić B, Tišlarić D, Žuvić-Butorac M et al. Elevated second trimester free beta-hCG as an isolated finding and pregnancy outcomes. *Fetal Diagn Ther* 2004;19:483–7.

34. Đurić K, Škrablin S, Lešin J et al. Second trimester total human chorionic gonadotropin and unconjugated estriol in predicting pregnancy complications other than fetal aneuploidy. *Eur J Obstet Gynaecol Reprod Biol* 2003;110:12–5.

35. Cuckle H, Arbutova S, Spencer K et al. Frequency and clinical consequences of extremely high maternal serum PAPP-A levels. *Prenat Diagn* 2003;23:385–8.

36. De Biasio P, Canini S, Crovo A et al. Early vaginal bleeding and first trimester markers for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2003;23:470–3.

37. Tul N, Pušenjak, S Osredkar J et al. Predicting complications of pregnancy with first trimester maternal serum free-β-hCG, PAPP-A and inhibin-A. *Prenat Diagn* 2003;23:990–6.

38. Spencer K, Cowans NJ, Avigdou K et al. First-trimester biochemical markers of aneuploidy and the prediction of small-for-gestational age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31:15–9.

39. Nicolaides KH, Chervenak FA, McCullough LB et al. Evidence-based obstetric ethics and informed decision-making by pregnant women about invasive diagnosis after first-trimester assessment of risk for trisomy 21. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:322–6.

40. Weisz B, Pandya P, Chitty L et al. Practical issues drawn from implementation of the integrated test for Down syndrome screening into routine clinical practice. *Br J Obstet Gynaecol* 2007;114:493–7.

41. Gekas J, Gagnè G, Bujold E et al. Comparison of different strategies in prenatal screening for Down's syndrome: cost effectiveness analysis of computer simulation. *Br Med J* 2009;338:b138doi10.1136/bmj.b138

Članak primljen: 18. 06. 2009.; *prihvaćen:* 17. 08. 2009.

Adresa autorice: Dr. sc. Dubravka Tišlarić-Medenjak, Endokrinološki laboratorij, Klinika za nuklearnu medicinu i onkologiju, KB »Sestre milosrdnice«, Vinogradska 29, 10 000 Zagreb.



**VIJESTI
NEWS**

Hrvatski liječnički zbor
Hrvatsko društvo za perinatalnu medicinu
organizira

**XVII. SAVJETOVANJE O PERINATALNOM MORTALITETU
REPUBLIKE HRVATSKE**

**Hrvatski liječnički dom, Šubićeva 9
Zagreb, 7. XI. 2009.**

1. Ante Dražančić, Urelija Rodin, Hrvoje Kniewald: Perinatalni mortalitet u Republici Hrvatskoj u 2008. godini.
2. Urelija Rodin i sur.: Uzroci perinatalnih smrti u Hrvatskoj u 2008. godini.
3. Boris Filipović-Grčić i sur.: Mortalitet novorođenčadi u Republici Hrvatskoj u 2008. godini.
Rasprava
4. Urelija Rodin: Projekat »Strengthening Health System to Improve Maternal and Neonatal Health in South-Eastern Europe«
5. Snježana Škrablin: Smjernice RCOG-a za »Prijevremeno prerano prsnuće vodenjaka – PRVP«
Rasprava
6. Emilija Juretić: Europske smjernice za liječenje neonatalnog sindroma respiratornog distresa
Rasprava

Sastanak će se održati u Hrvatskom liječničkom domu, Šubićeva 9, u subotu 7. studenoga 2009. s početkom u 10,00 sati.

Kotizacija za sastanak iznosi 100,00 Kn.

Sastanak će biti bodovan po pravilniku Hrvatske liječničke komore.