

BÖLÜM 11

PRENATAL DOWN SENDROMU TARAMALARI; GÜNCEL PERSPEKTİF

Zerrin AVUL¹

GİRİŞ

Down sendromu entelektüel yetersizliğin en yaygın nedenlerden biri olan kromozomal yapısal anomalilerden biridir. Yirmi birinci kromozomun 3 adet olması ile karakterize trisomilerin en sık görülenidir (1). Down sendromunun %95 vakada Trisomi 21 %3-4 vakada Robertsonian translokasyonlar (t14/21), %1-2 vakada isokromozomlar ya da mosaizm nedeniyle ortaya çıkar (2). Trisomi 21'e neden olan genetik disjunktionların %75'i mayoz 1'de %25' mayoz 2 de olur (3). Hastalığın trisomi 21 ile alakası ilk defa 1959'da ortaya konmuştur (3).

Down sendromu, öğrenme ve hafıza güçlüğü gibi entelektüel handikaplar dışında, konjenital kalp hastalığı, Alzeimer hastalığı, lösemi, çeşitli kanserler ve Hirschprung hastalığı gibi ağır sağlık sorunlarına neden olur (4).

Down sendromu insidansı toplumsal, ırksal ve anne yaşından etkilenen şekilde yaklaşık olarak 319-1000 canlı doğumda 1 dir (5). Bunun yanında Down sendromu düşük ve intrauterin mort riskini arttırdığı için gebelik başına insidansı yaklaşık 2 kat daha yüksektir (5).

İlk defa Longdon DOWN tarafından 1866'da (6) tanımlanan Down Sendromu, tümü aynı eş zamanlı aynı bireyde sıklıkla bulunamamakla birlikte çeşitli organ sistemlerini etkileyen birçok yapısal, gelişimsel ve metabolik sorunla birlikte (6);

Nöro-Psikiyatrik;

- Entelektüel Gerilik,
- Nörolojik Fonksiyonlarda gerilik,

¹ Op. Dr., Erciyes Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, zavul@erciyeshastanesi.com.tr

- Dil becerisinde gerilik,
- Serebellar Hipoplazi
- Alzheimer hastalığı, Epilepsi,
- Yaygın anksiyete bozukluğu ve Depresyon.

Duyusal;

- İletimsel ve sensötinoral işitme kaybı,
- Kıırma kusurları, katarakt, keratokonus ve ambliyopi.

Kraniyofasyal

- Küçük, aşağı yerleşimli kulaklar,
- Epikantik katlantı,
- Basık ya da düzleşmiş burun kökü,
- Düzleşmiş oksiput,
- Küçük ağız,
- Üst üste binen palpebral fissürler,

Kardiyovasküler;

- Konjenital kalp defektleri özellikle

Kas-İskelet Sistemi;

- Atlantoaksiyal İnsitabilite,
- Minyonluk,
- Kısa parmaklar,
- Hipotoni

Solunum Sistemi;

- Obstrüktif uyku apnesi,
- Solunum yolu enfeksiyonları

Otoimmün;

- Tiroit hastalıkları,
- Çölyak Hastalığı,
- Alopesi,
- Tip 1 diyabet,
- Psöriasis,

Diğer;

- Hematolojik bozukluklar,
- Bağışıklık sistemi disfonksiyonu,
- Barsak disfonksiyonu,
- Gastrointestinal yapısal anomaliler,
- Obesite, Erkek infertilitesi

RİSK FAKTÖRLERİ

Konsepsiyonda ileri anne yaşı ileri tüm anöploidilerde olduğu gibi, Trisomi 21 için de major risk faktörüdür. İleri anne yaşı ile birlikte homolog kromozomların mayozdaki non-disjunktion ihtimali artmıştır (7). İleri anne yaşı hem mayoz I hem de mayoz II HSA21 ayırımındaki hatalar ile alakalıdır (8). Çevresel fraktörlerde mayotik “non-disjunktion” da etkili olmakla beraber hastalar için spesifik identifikasyonu çok zordur. Bunlar arasında tütün kullanımı, folik asit kullanımı ve oral kontraseptifler sayılabilir (9).

Maternal sosyoekonomik düzey spesifik olarak maternal mayoz II deki hatalar ile alakalıdır (10). Ayrıca bazı meslek gruplarında Down sendromu sıklığının arttığı rapor edilmiştir (11).

TARİHÇE

İlk defa 1984 yılında Merkatz ve arkadaşları, trisomi 21’li fetüs taşıyan annelerin serumunda alfa fetoprotein düzeyinin 15-21 gebelik haftalarının arası dönemde sağlıklı kromozom yapısına sahip fetüs taşıyan anne serumlarındakine göre daha düşük olduğunu rapor etti (12). 1987’de serum alfa fetoprotein düzeyi maternal yaş ile birleştirilerek bir risk hesabı ortaya kondu (13). Maternal serum alfa fetoprotein taraması pozitif sonuç eşik değeri 1:270 olarak alındığında fetal trisomi vakalarının %25’ini yakalama kapasitesinde idi. 1:270 eşik değeri 35 yaşındaki bir annenin Down sendromlu çocuk sahibi olma oranıdır. Daha sonraki tarama testlerin bu değerini ve bağlı 5-yüzde yalancı pozitiflik değerinin standart eşikler olarak kullanıla gelmiştir. 1993 yılında maternal kanda alfa fetoprotein, unkonjuge estriol ve human koryonik gonadotropin analitlerinden oluşan üçlü test kullanıma girdi. 1997 yılında %85 tanı gücünde olan birinci trimester taramaları ve dördümlü test, 1999 yılında %90 tanı gücündeki birinci ve ikinci trimester taramalarını birleştiren “Kombine Test”, 2011 yılında da Non Invasiv Prenatal Test %99 güvenilirlikle kullanıma girdi.

DOWN SENDROMU TARAMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER;

Fetal anöploidiler, en sık olarak Down sendromu, ilk trimester düşüklerin %50'sinden, ikinci trimester gebelik kayıplarının yüzde 20'sinden ve ölü doğum ve bebek ölümlerinin %6-8'inden sorumludur (14,15). Kromozomal anomali olarak tanınan gebeliklerin yaklaşık yarısının trizomi 21, %15'ini trizomi 18 ve %5'ini trizomi 13 geri kalanları da sex kromozom anomalileri ve diğer yapısal kromozom anomalileri oluşturmaktadır (16). Down sendromunun prenatal tanısı, risk grubundaki gebelikleri saptamaya yarayan tarama testleri ve kültüre edilip hücreleri karyotiplemeye izin verecek invaziv tanısal yöntemler olarak iki eş güdüm yol üzerindne yürür. En sık görülen kromozomal bozukluk olması hasebiyle trisomi 21 prenatal karyotipleme uygulanan gebeliklerin %1,6-3.2'sinden olacak şekilde en sık rastlanır. (17).

Genel anlamda 2 farklı ana anöploidi tarama yöntemi vardır; geleneksel ya da serum analiti temelli yöntemler ve "cell-free" DNA temelli yöntemler.

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Cemiyeti 2017 yılında yayınladığı kılavuzda anöploidi taramaların, gerekli risk sınıflaması yapıldıktan ve ayrıntılı bilgilendirmeden sonra hasta tercihine bırakılmasını önermektedir (18).

Gerek serum analit testlerinin gerek "cell-free" DNA temelliler olsun anöploidi tarama testlerinin hepsi, maternal yaştan etkilenir. Testlerin hassasiyeti tanıma oranı "Dedection rate" olarak bilinir (19) ve tarama yapılan grupta tarama testi ile saptana bilen anöploid fetüs oranını ifade eder. Bu durumun zıttı olan, yanlış negatiflik ise tarama yapılan grupta tarama testinin atladığı anöploid fetüs sayısıdır (20). Down sendromu analit tarama testlerinin hassasiyeti zaman içinde maternal serum alfa fetoprotein ölçümünü %25 lik seviyesinden entegre ya da sekansiyal testlerin %90'lık seviyelerine yükselmiştir (21).

Bir diğer önemli istatistiksel veri, tarama yapılan grupta gerçekte olmayıp tarama testinin pozitif sonuç verdiği sağlıklı çocuklarının oranını ifade eden yanlış pozitiflik oranıdır ki birinci trimester taraması, dördüncü test, ya da entegre etest için oranı yaklaşık %5 tir (22,23). Yalancı pozitifliğin karşısı spesifitedir ve analit temelli testler sağlık çocuklarının %95 ini yakalama gücündedir anlamına gelir (24). Zaman içinde tarama testlerinin sensitivitelere artmasına rağmen yanlış-pozitiflikleri sabit kalmıştır (25).

Bununla birlikte ne sensitivite ne de yalancı-pozitiflik bireysel risk gösterir. Bireysel risk pozitif prediktif değer üzerinden daha iyi yorumlanabilir. Pozitif

prediktif değer tarama grubunda gerçekten anöploid olan fetuslar ile testin pozitif olarak sonuç verdiği vaka sayısı ararsındaki orandır ce 35 yaşın üzerinde daha da yüksektir (26). Negatif prediktif değer ise tarama grubunda anöploid olmayan fetuslar ile testin negatif sonuç verdiği vaka sayısı arasındaki orandır (26). Bu oran direk prevalanstan etkilemediğinden ve anöploidi prevalansı oldukça az olduğundan negatif prediktif değer genellikle %99 civarındadır (27).

GELENEKSEL DOWN SENDROMU TARAMA TESTLERİ;

Bu grup testler çeşitli markerler ya da analitler kullanan, ageleneksel ya da klasik testler olarak bilinen ve cell-free DNA ölçümünden farklı testlerdir. Bu grup üç farklı kategoride testleri içerir; birinci trimester taramaları, ikinci trimester taramaları ve bir ve ikinci trimester taramalarının kombinasyonu. Serum analitleri konsantrasyon öncelikli olarak konsantrasyon olarak ölçülür. Daha sonra bu konsantrasyon ölçümleri, maternal yaş, maternal kilo ve gestasyonel yaşa göre ayarlanmış “Multiple of Median” (MoM) değerlerine dönüştürülür (28).

Analit temelli anöploidid taramaları komposit “likelihood” oranı olarak hesaplanır ve yaş ile bağıntılı risk bu oranla çarpılır. Daha sonra ortaya çıkan risk eşik değer ile kıyaslanarak “Pozitif” ya da “Negatif” olarak değerlendirilir. Bu eşik değer Down sendromu için 1:270 tir. Pozitif olarak değerlendirilen test sonuçlarında, genetik danışmanlık önerilir (29).

BİRİNCİ TRİMESTER ANÖPLOİDİ TARAMALARI;

Ayrıca kombine ilk trimester taraması olarak bilinen test, insan koryonik gonadotropini ve “Pregnancy-associated plasma protein A” (PAPP-A) olacak şekilde iki serum analiti ve ense saydamlığı (NT) ölçümünün birleştirilmesini içerir. Test 11 ve 14 gestasyonel haftalar arası yapılır. Down sendromu söz konusu olduğunda serum hCG seviyesi normalden fazla PAPP-A seviyesi normalden düşüktür. Trisomi 18 ve Trisomi 13 durumunda ise her iki analitte normalden düşüktür (30).

Ense saydamlığı, boyundaki fetal omurganın üzerinde uzanan yumuşak doku ile cilt arasındaki saydam cilt altı dokunun maksimum kalınlığı olarak tarif edilir. Artmış NT bir fetal anomali olmayıp artmış risk ile birlikte dir. Ölçümü sagittal planda yapılar baş-popo mesafesi 38 ya da 45 milimetre ile 84 milimetre arasında olmalıdır (31). 3 milimetre üstü değerleri NT persentilin-

de %99 a denk gelir ve artmış olarak kabul edilir. Artmış NT, lenfomatik bir malformasyon ve septalı hipoeoik boşluklar şeklinde fetal boyunda görülen, kistik higromadan ayrılmalıdır. Kistik higroma varlığı tek başına anöploidi riskini 5 kat arttırır (32).

Artmış NT anöploidi dışında özellikle kap anomalileri olacak şekilde diğer fetal malformasyonlar ile alakalıdır. Bu sebeple anöploidi bu fetuslar ayrıntılı USG ve fetal ekokardiyografi ile değerlendirilmelidir (32).

İzole bir marker olarak kullanıldığında NT, %5'lik yanlış-pozitiflik içinde Down sendromlu bebeklerin üçte ikisini tespit edebilmektedir. NT tekiz ve ikiz gebelikler aynı dağılım paterni gösterir (33). Bunun yanında ikiz gebeliklerde serum hCG ve PAPP-A değerleri yaklaşık olarak iki kat artış gösterir.

Maternal yaş ilk trimester anöploidi taramalarının performansını etkilemektedir. Doğumda 35 yaşın altındaki kadınlar için ilk trimester taramalarının tanısız yeteneğin, tüm yaş grupları için ortalama tanısız yeteneğinden %10 daha düşük olacak şekilde, %67-75'e düşer (34). Bunun yanında doğumda yaşı 35'ten fazla olan kadınlar için ilk trimester tarama testlerinin tanı yeteneği, yüzde 15-22'lik bir yanlış pozitiflik oranına çıkarak, %90-95 lere yükselir (35).

İlk trimester tarama testlerinde kullanılan analitlerden PAPP-A'nın %5 persentil altındaki değerleri ile erken doğum, büyüme geriliği, preeklampsi ve intrauterin ölüm arasında belirgin bir ilişki vardır (36). Benzer şekilde düşük hCG seviyeleri intra uterin ölüm ile alakalıdır (37). Fakat bu testlerin pozitif prediktif değerleri klinik olarak kullanıma uygunluk için oldukça düşüktür.

İKİNCİ TRİMESTER ANÖPLOİDİ TARAMA TESTLERİ;

Güncel olarak gelişmiş ülkelerde en sık kullanılan ikinci trimester tarama testi "Dörtlü test" ya da "Quad test" olarak bilinen testtir. Test 15-21 gestasyonel haftalar arası uygulanmaktadır (38). Taramada kullanılan analitler maternal serum alfa fetoprotein, hCG, unkonjuge estriol ve dimeric inhibindir (39). Down sendromlu fetus, düşük maternal serum alfa fetoprotein, yüksek hCG, düşük estriol ve yüksek diömeric inhibin seviyeleri ile karakterizedir (40). Trisomi 18 durumunda ise inhibin hesaplamaya dahil edilmez diğer analitlerin hepsi daha düşük seviyede saptanır (41). Dörtlü testin Down sendromu tarama yeteneği, %5'lik yanlış pozitiflik ile, %81-83 aralığındadır (42). İkiz gebeliklerde bu tanıma yeteneği belirgin olarak azalmaktadır (Vink 43).

Dörtlü test, Down sendromu ve Trisomi 18 dışında diğer kromozomal anomalileri de saptayabilmektedir. Dörtlü test triploidilerde %96, Turner sendromunda %75, Trisomi 13'te %44'tür (43). İstatistiksel açıdan bakıldığında, entegre teste dahil edilmediği müddetçe, Dörtlü testin ilk trimester taramalarına bir üstünlüğü yoktur.

Dört test analitlerinden maternal serum alfa fetoprotein düzeyinin 2.5 MoM üstü değerlerinin nöral tüp testi tanısındaki yeterliliği sadece %2'dir. %98 hastada yüksek değerler nöral tüp defekti dışında bir nedeni vardır (44).

İkinci trimesterde yüksek hCG ya da dimerik inhibin alfa seviyeleri bazı kötü obstetrik sonuçları ile birlikte olabilir (45). Fakat klinik kullanımları sınırlıdır. Yüksek hCG ya da dimerik inhibin alfa ile alakalı durumlar arasında; fetal anomaliler, plasental anomaliler, erken doğum gelişme geriliği ve preeklampsi sayılabilir (46).

İkinci trimester tarama testlerinde kullanılan analitlerden bir diğeri olan serum estriol düzeyinin 0.25 MoM seviyesinden daha düşük değerleri çok önemli iki klinik durum ile alakalıdır. Bunlardan ilki, 7-dehidrokolesterol reductaz genindeki otozomal resesif geçişli bir mutasyon sonucu ortaya çıkan Smith-Lemli-Opitz sendromudur (47). SLO sendromu merkezi sinir sistemi, kalp, böbrekler, ekstremiteler anomalileri, ambigü genitalite ve fetal gelişme geriliği ile karakterizedir (47). FMF Maternal Fetal Tıp Cemiyeti unkonjuge estriol seviyesi 0.25 MoM altında saptanan gebeliklerde SLO açısından sonografik değerlendirme önermektedir (48).

Düşük estriol seviyesi ile alakalı diğer durum, X geçişli iktiyoz olarak ta bilinen sulfataz eksikliğidir (49). Sulfataz eksikliği tipik olarak isole bir durum olmakla beraber bazı gen delesyon sendromları içinde bulunabilir (49). Bu durumda sulfataz eksikliği, Kallmann sendromu, kondrodisplazi puktata ve veya mental retardasyon ile birlikte olabilir.

ENTEGRE VE SEKANSİYEL TARAMALAR

İlk trimester taramaları ikinci trimester taramaları ile birleştirildiğinde anöplöid yakalama oranları bariz artmaktadır. Bunun için 3 tip strateji mevcuttur.

- Entegre Test; ilk ve ikinci trimester sonuçlarını birleştirir. Hastaya ilk trimester sonuçları hakkında bilgi verilmez. Tarama testini NT'nin de dahil edildiği 7 parametre üzerinden yapar. %5'lik yalancı pozitiflik ile %94-96 ile en yüksek tanı yeteneğine sahiptir (48). Eğer hesaplamaya NT dahil

edilmeyip sadece serum analitlerinin kullanıldığı 6 parametrelilik serum entegre testinden bahsedilir. Serum entegre testin yeterliği %85-88 aralığındadır.

- Sekansiyel Taramalar, ilk ve ikinci trimester taramaları birleştirilirken ilk trimester sonuç hakkında hasta bilgilendirilir. Bu grup altın iki tip test stratejisi vardır.
1. Basamaklı Sekansiyel Taramada; eğer ilk trimester tarama sonucu Down Sendromu açısından risk gösteriyorsa hastaya invaziv tanısal testler önerilir. Normal risk gösteren hastalar ikinci trimester taramalara devam eder. Bu yöntem %5'lik yanlış pozitiflikle Down Sendromunu için %92'lik bir tanı yeteneğine sahiptir (50).
 2. Koşullu Sekansiyel Tarama; Bu yöntemde hastalar Down sendromu açısından, düşük, orta seviye ve yüksek riskli olarak gruplandırılır. En yüksek risk grubundaki (Tarama sonucu 1:30 ve üstü) hastalar invaziv teste yönlendirilir. Orta risk grubundaki hastalar (Tarama sonucu 1:30-1:1500) arası olan hastalar ikinci trimester taramaya gider. Tarama sonucu 1:1500 üstü olan hasta grubuna ise daha öte test önerilmez (51). Daha maliyet korumalı olan bu yöntemin % yanlış pozitiflik oranı ile tanı yeteneği %91'dir.

CELL-FREE DNA TEMELLİ TARAMALAR

2011 yılında kullanıma giren bu yöntem prenatal taramaların paradigmasını dramatik şekilde değiştirmiştir. Bu yöntem maternal serum 50-200 baz çiftlerinden oluşan fetus kökenli fragmente serbest haldeki DNA'ları kullanır (52). Temel olarak apoptotik trofoblast kaynaklı bu DNA parçaları en erken 5. Gestasyonel haftada maternal kanda saptanmaya başlar ve 9. gestasyonel haftada ise her zaman saptanır (53). Serbest fetal DNA seviyeleri 20 haftaya kadar her hafta %0.1, 20 gebelik haftasından sonra ise %1 artar (53). Obesite ve anöploidiler maternal kanda serbest fetal DNA miktarını azaltır. En bariz düşme triploidide olur (53). Bu sebeple triploidide taramasında serbest fetal DNA yöntemi kullanılmaz. Ayrıca Turner sendromunda da bu yöntem anlamlı değildir (53). Test başarısızlığının en önemli nedeni düşük fetal fraksiyonudur (53).

Oldukça düşük olmakla beraber test yalancı pozitifliğinin en sık sebepleri; plasentaya sınırlı mosaizm, ölü ikiz eşi, maternal mosaizm, maternal kanserler ve transplant hastaları (54).

İkiz gebeliklerde “Cell-Free DNA” testini tanı değeri sınırlıdır (54)

“Cell-Free DNA” testinin performansı oldukça yüksektir (54) testin Down sendromunu yakalama yeteneği %99, Trisomi 18 ve 13 için sırasıyla %96 ve %91 dir (54).

2017 yılında Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Cemiyeti Cell-Free DNA testi önerilmesi için bir kılavuz yayınlamıştır (55).

1. Doğumda 35 yaş ve üstü olacak hastalar,
2. İlk ya da ikinci trimester taramaları pozitif gelen hastalar,
3. Sonogramda minor anomali saptanan hastalar,
4. Önceki gebeliğinde trisomi hikayesi olan hastalar
5. Ebeveynlerde saptanmış Robertsonian translokasyonu bulunan hastalar,

SONUÇ

Antenatal dönemde Down sendromu ve diğer anöploidi taramalarında yüzde spesifite ve sensitivite sahip bir non invaziv test yoktur. “Cell-Free” DNA temelli yöntemler mevcut durumda en yüksek tanı değerine sahiptir.

KAYNAKLAR

1. Jones KL. Down syndrome. In: Smith's recognizable patterns of human malformation, 6th ed, Elsevier Saunders, Philadelphia 2006. p.7.
2. Epstein CJ. Down syndrome (Trisomy 21). In: The metabolic and molecular bases of inherited disease, 8th ed, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (Eds), McGraw-Hill, New York 2001. p.1223.
3. Hall B. Mongolism in newborn infants. An examination of the criteria for recognition and some speculations on the pathogenic activity of the chromosomal abnormality. Clin Pediatr (Phila) 1966; 5:4.
4. Bull MJ, Committee on Genetics. Health supervision for children with Down syndrome. Pediatrics 2011; 128:393.
5. Winders PC. Gross motor milestone statistics. In: Gross motor skills in children with Down syndrome: A guide for parents and professionals, Woodbine House, Baltimore 1997. p.228.
6. Kumin L. Speech and language skills in children with Down syndrome. MRDD Research Reviews 1996; 2:109.
7. Gruhn JR et al. Chromosome errors in human eggs shape natural fertility over reproductive life span. *Science* 365, 1466–1469 (2019).
8. Ghosh S, Feingold E & Dey SK Etiology of Down syndrome: evidence for consistent association among altered meiotic recombination, nondisjunction, and maternal age across populations. *Am. J. Med. Genet. A* 149, 1415–1420 (2009).
9. Coppede F Risk factors for Down syndrome. *Arch. Toxicol* 90, 2917–2929 (2016).
10. Hunter JE et al. The association of low socioeconomic status and the risk of having a child with Down syndrome: a report from the National Down Syndrome Project. *Genet. Med* 15, 698–705 (2013).

11. Keen C et al. The association between maternal occupation and Down syndrome: a report from the national Down syndrome project. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 223, 207–213 (2020)
12. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, et al: An association between low maternal serum α -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 148(7):886, 1984
13. DiMaio MS, Baumgarten A, Greenstein RM, et al: Screening for fetal Down's syndrome in pregnancy by measuring maternal serum alpha-fetoprotein levels. *N Engl J Med* 317(6):342, 1987
14. Cartier L, Murphy-Kaulbeck L; GENETICS COMMITTEE. Counselling considerations for prenatal genetic screening. *J Obstet Gynaecol Can.* 2012 May;34(5):489-493.
15. Stevenson DA, Carey JC: Contribution of malformations and genetic disorders to mortality in a children's hospital. *Am J Med Genet (Part A)* 126(4):393, 2004.
16. Wellesley D, Dolk H, Boyd PA, et al: Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur J Hum Genet* 20(5):521, 2012
17. Alldred SK, Deeks JJ, Guo B, et al. Second trimester serum tests for Down's Syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; :CD009925.
18. American College of Obstetricians and Gynecologists: Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 640, September 2015, Reaffirmed 2017c
19. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, et al. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003; 7:1.
20. Alldred SK, Takwoingi Y, Guo B, et al. First and second trimester serum tests with and without first trimester ultrasound tests for Down's syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 3:CD012599.
21. Norton ME, Jelliffe-Pawlowski LL, Currier RJ: Chromosomal abnormalities detected by current prenatal screening and noninvasive prenatal testing. *Obstet Gynecol* 124(5):979, 2014
22. Kazerouni NN, Currier RJ, Flessel M, et al: Detection rate of quadruple-marker screening determined by clinical follow-up and registry data in the statewide California program, July 2007 to February 2009. *Prenat Diagn* 31(9):901, 2011
23. Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al: First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 353(19):2005b
24. Natoli JL, Ackerman DL, McDermott S, Edwards JG. Prenatal diagnosis of Down syndrome: a systematic review of termination rates (1995-2011). *Prenat Diagn* 2012; 32:142.
25. Quezada MS, Gil MM, Francisco C, et al: Screening for trisomies 21, 18, and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10–11 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 45(1):36, 2015
26. Gil MM, Quezada MS, Revello R, et al: Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 45(3):249, 2015
27. Morris JK, Alberman E. Trends in Down's syndrome live births and antenatal diagnoses in England and Wales from 1989 to 2008: analysis of data from the National Down Syndrome Cytogenetic Register. *BMJ* 2009; 339:b3794.
28. Zhang H, Gao Y, Jiang F, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45:530.
29. Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2016 May. 127 (5):e123-37.
30. Odibo AO, Stamilio DM, Nelson DB, et al. A cost-effectiveness analysis of prenatal screening strategies for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2005; 106:562.
31. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *BMJ* 1992;304:867-869

32. M. Pan, Y.N. Liu, L.L. Xu, D.Z. Li, First-trimester cystic hygroma and neurodevelopmental disorders: the association to remember, *Taiwan J Obstet Gynecol*, 59 (6) (2020 Nov 1), pp. 960-962
33. Cleary-Goldman J, D'Alton ME, Berkowitz RL: Prenatal diagnosis and multiple pregnancy. *Semin Perinatol* 29(5):312, 2005
34. Savva GM, Walker K, Morris JK. The maternal age-specific live birth prevalence of trisomies 13 and 18 compared to trisomy 21 (Down syndrome). *Prenat Diagn* 2010; 30:57.
35. Cuckle H, Morris J. Maternal age in the epidemiology of common autosomal trisomies. *Prenat Diagn* 2021; 41:573.
36. Cignini P, Maggio Savasta L, Gulino FA, et al: Predictive value of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and free beta-hCG on fetal growth restriction: results of a prospective study. *Arch Gynecol Obstet* 293(6):1227, 2016
37. Goetzl L, Krantz D, Simpson JL, et al: Pregnancy-associated plasma protein A, free beta-hCG, nuchal translucency, and risk of pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 104(1):30, 2004
38. Alldred SK, Deeks JJ, Guo B, et al. Second trimester serum tests for Down's Syndrome screening. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; :CD009925.
39. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, et al. Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *J Med Screen* 1998; 5:115.
40. Wald NJ, Cuckle H, Brock JH, et al: Maternal serum-alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of UK Collaborative Study on alpha-fetoprotein in relation to neural-tube defects. *Lancet* 1(8026):1323, 1977
41. Benn PA, Leo MV, Rodis JE, et al: Maternal serum screening for fetal trisomy 18: a comparison of fixed cutoff and patient-specific risk protocols. *Obstet Gynecol* 93 (5 Pt 1):707, 1999
42. Hackshaw AK, Wald NJ. Repeat testing in antenatal screening for Down syndrome using dimeric inhibin-A in combination with other maternal serum markers. *Prenat Diagn* 2001; 21:58.
43. Sheets KB, Crissman BG, Feist CD, et al. Practice guidelines for communicating a prenatal or postnatal diagnosis of Down syndrome: recommendations of the national society of genetic counselors. *J Genet Couns* 2011; 20:432.
44. Reichler A, Hume RF Jr, Drugan A, et al: Risk of anomalies as a function of level of elevated maternal serum α -fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol* 171(4):1052, 1994
45. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, et al: Quad screen as a predictor of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 106(2):260, 2005
46. Kazerouni NN, Currier RJ, Hodgkinson C, et al. Ancillary benefits of prenatal maternal serum screening achieved in the California program. *Prenat Diagn* 2010; 30:981.
47. Craig WY, Haddow JE, Palomaki GE, Roberson M. Major fetal abnormalities associated with positive screening tests for Smith-Lemli-Opitz syndrome (SLOS). *Prenat Diagn* 2007; 27:409.
48. Craig WY, Haddow JE, Palomaki GE, et al. Identifying Smith-Lemli-Opitz syndrome in conjunction with prenatal screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006; 26:842.
49. Langlois S, Armstrong L, Gall K, et al: Steroid sulfatase deficiency and contiguous gene deletion syndrome amongst pregnant patients with low serum unconjugated estriols. *Prenat Diagn* 29(10):966, 2009
50. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *Health Technol Assess* 2003;7:1-77
51. Cuckle HS, Malone FD, Wright D, et al: Contingent screening for Down syndrome—results from the FaSTER trial. *Prenat Diagn* 28(2):89, 2008

52. Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *N Engl J Med* 2015; 372:1589.
53. Palomaki GE, Kloza EM, O'Brien BM, et al. The clinical utility of DNA-based screening for fetal aneuploidy by primary obstetrical care providers in the general pregnancy population. *Genet Med* 2017.
54. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med* 2014; 370:799.
55. Antepartum fetal surveillance. Practice Bulletin No. 229. American College of Obstetricians and Gynecologists . *Obstet Gynecol* 2021 ; 137 : 1135 – 37 .