

بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری

دکتر منیره پورجواد^{۱*}، دکتر سلمه دادگر^۲، دکتر محمد تقی شاکری^۳، دکتر محمود محمودی^۴

۱. استاد گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲. متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳. دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۴. استاد گروه ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۶/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱۱/۷

خلاصه

مقدمه: تشخیص زودرس آنومالی ها در اوایل بارداری و ختم آن ها می تواند از به دنیا آمدن نوزادان معلول که سربار خانواده و جامعه می باشند، جلوگیری نماید. هدف از مطالعه حاضر این است که با انجام تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه (Median) سرم مارکرها آنومالی های مادرزادی را در سه ماهه اول بارداری تشخیص داد. **روش کار:** این مطالعه آینده نگر بر روی ۱۲۷ نفر از زنان باردار با سن حاملگی ۱۱ هفته تا ۱۳ هفته و ۶ روز مراجعه کننده به درمانگاه های مامایی بیمارستان اختصاصی زنان ام البنین در سه ماهه اول بارداری از بهمن ماه ۸۷ لغایت اردیبهشت ۸۸ انجام شد. همگی بیماران توسط یک نفر متخصص سونوگرافی در بیمارستان ام البنین^(س) سونوگرافی شده و CRL (طول نشسته جنین) و NT (Nuchal Translucency) آن ها اندازه گیری شد و در فرم پرسشنامه بررسی نتایج تست سه گانه ثبت گردید. سپس Free β -hCG و PAPP-A در سرم این مادران اندازه گیری و نتایج در فرم پرسشنامه ثبت می شد.

یافته ها: میزان NT بین ۱/۱-۲/۷ میلی متر با میانگین ۱/۶۲ میلی متر بود. در این مطالعه مشخص شد که میزان NT در مادران مسن (≥ 35) بالاتر از سایر گروه های سنی است. سطح سرمی Free β -hCG و PAPP-A با افزایش سن مادر ارتباطی نداشت. از روی نتایج آزمایشگاهی سرم مارکرها برای Free β -hCG و PAPP-A میانه آن ها محاسبه شد. میانه برای Free β -hCG، ۱۲۷/۳۰ ng/mL و میانه PAPP-A، ۲۴/۶۸۸ mg/L به دست آمد. **نتیجه گیری:** می توان از نتایج این مطالعه و داشتن شاخص میانه های Free β -hCG و PAPP-A، با محاسبه MoM و NT برای هر بیمار و با در نظر گرفتن سن مادر، سن حاملگی و سایر متغیرها ریسک پایه برای بروز آنومالی جنینی را به دست آورده و با بهره گیری از نرم افزارهای اختصاصی، آنومالی های مادرزادی را در سه ماهه اول بارداری تشخیص داد.

کلمات کلیدی: تست غربالگری؛ سه ماهه اول بارداری؛ Free β -hCG؛ PAPP-A؛

Nuchal Translucency؛ سندرم داون

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر منیره پورجواد؛ مشهد، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س)؛ تلفن و نمابر: ۰۵۱۱-۲۲۳۱۴۴۴؛ پست الکترونیک: pourjavadm@mums.ac.ir

مقدمه

از آن جایی که آنومالی های مادرزادی نظیر سندرم داون، (تریزومی ۲۱، ۱۸ و ۱۳) بار اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی زیادی را برای خانواده ها و جامعه در پی دارد، بنابراین تشخیص زودرس آنومالی ها در سه ماهه اول بارداری و در نتیجه ختم این گونه بارداری ها می تواند از این عوارض جلوگیری نماید. بیماری سندرم داون یا تریزومی ۲۱ برای اولین بار توسط یک پزشک انگلیسی به نام John Langdon Down در سال ۱۸۶۵ کشف شد. سندرم داون یک بیماری ژنتیک غیر ارثی (در اکثر موارد) می باشد (۱). در ۹۵٪ از موارد این بیماری حاصل عدم جدا شدن کروموزوم ها در تقسیمات میوز اووسیت می باشد. میزان بروز این بیماری، یک نفر از هر ۸۰۰ تولد می باشد. این بیماری علاوه بر ایجاد شکل ظاهری خاص باعث عقب ماندگی ذهنی فرد مبتلا نیز می شود. اغلب جنین های مبتلا به تریزومی ۲۱ به پایان دوره حاملگی نمی رسند و فقط ۲۵٪ از این جنین ها تا پایان دوره بارداری زنده می مانند. از علایم و مشخصات بیمار مبتلا به سندرم داون می توان موارد زیر را ذکر نمود: عقب ماندگی ذهنی، تأخیر در رشد، ابتلای زودرس به بیماری آلزایمر، مشکلات مادرزادی قلبی، از دست دادن شنوایی، مشکلات چشمی و غیره (۲).

غربالگری سه ماهه اول بارداری در جهت تشخیص سندرم داون اولین بار در سال ۱۹۹۰ توسط FMF^۱ لندن شروع و در سال ۲۰۰۲ شاخه آلمان FMF شروع به این غربالگری نمود و سپس هر دو مرکز با هم ادغام شده و نرم افزار مخصوص برای این غربالگری به دست آمد (۳).

بسیاری از مطالعات گزارش کرده اند که میزان بروز سندرم داون با سن مادر در هنگام بارداری ارتباط مستقیمی دارد (۱). میزان بروز این بیماری با سن مادر در هنگام بارداری تا سن ۳۰ سالگی ارتباط خطی مستقیم داشته و پس از سنین بالاتر، از یک ارتباط خطی به یک ارتباط تصاعدی مستقیم تبدیل می شود. با این وجود، ۶۰٪ از فرزندان مبتلا به سندرم داون از مادران زیر ۳۵ سال به دنیا می آیند. بنابراین برای

تشخیص قبل از تولد نمی توان فقط بر روی خانم های باردار بالای ۳۵ سال تمرکز نمود (۱).

این مطالعه با نمونه گیری به طور تصادفی بر روی خانم های باردار مراجعه کننده به درمانگاه های مامایی بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) و با هدف تعیین نتایج تست های سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه^۲ سرم مارکرها در سه ماهه اول بارداری انجام گردید. از این نتایج می توان به منظور تعیین میزان آنومالی های مادرزادی در مطالعات بعدی استفاده کرد.

روش کار

این مطالعه به صورت آینده نگر و بر روی ۱۲۷ نفر از زنان باردار با سن حاملگی ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز مراجعه کننده به درمانگاه های مامایی بیمارستان اختصاصی زنان ام البنین^(س) در سه ماهه اول بارداری از بهمن ماه ۸۷ لغایت اردیبهشت ۸۸ انجام شد. این مطالعه، به تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد رسید. در ابتدا شرایط مطالعه به طور کامل برای تمامی بیماران توضیح و از آن ها رضایت نامه کتبی گرفته شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل پر نمودن فرم رضایت آگاهانه شرکت در طرح تحقیقاتی و حاملگی در سه ماهه اول بارداری بود.

تمام بیماران توسط متخصص سونوگرافی واحدی در بیمارستان ام البنین^(س) بررسی شده و CRL (طول نشسته جنین)، NT^۳ آن ها اندازه گیری شد و در فرم پرسشنامه بررسی نتایج تست سه گانه ثبت گردید. سپس جهت انجام آزمایش خون، ابتدا در آزمایشگاه بیمارستان ام البنین^(س) نمونه خون بیماران گرفته و فریز می شد و در پایان هر هفته نمونه به آزمایشگاه ایمونولوژی بیمارستان امام رضا^(ع) ارسال می گردید. سپس Free β -hCG و PAPP-A^۴ اندازه گیری و در فرم پرسشنامه ثبت می شد. در این پرسشنامه سن مادر، پاریته، وزن مادر، چند قلوئی، سابقه به دنیا آوردن نوزاد با آنومالی مادرزادی، استعمال دخانیات و سن حاملگی نیز ثبت می شد.

^۲ Median

^۳ Nuchal Translucency

^۴ Pregnancy Associated Plasma Protein A

^۱ Fetal Medicine Foundation

نتایج

در این مطالعه تعداد ۱۲۷ نفر زن باردار با سن حاملگی بین ۱۱ تا ۱۳ هفته و ۶ روز که در سه ماهه اول بارداری قرار داشتند، تحت بررسی قرار گرفتند.

پس از انجام آزمایشات و گردآوری مجموع اطلاعات، با استفاده از نتایج آزمایشگاهی حاصله از سرم مارکرها، شاخص آماری میانه برای Free β -hCG و PAPP-A محاسبه شد.

محاسبه میانه به این صورت است که ابتدا مقدار سرمی Free β -hCG و PAPP-A ۱۲۷ نفر مورد مطالعه را به طور صعودی مرتب نموده و سپس فرد وسط به عنوان میانه توزیع (نفر ۶۳) انتخاب و مقدار Free β -hCG این فرد به عنوان شاخص میانه برای Free β -hCG (۱۲۷/۳ ng/mL) و هم چنین مقدار PAPP-A وی به عنوان شاخص میانه برای PAPP-A (۲۴/۶۸ mg/L) محسوب می شود.

جدول ۱ تعداد و درصد شرکت کنندگان در مطالعه را برحسب گروه های سنی نشان می دهد و بیان گر انتخاب بیماران مورد مطالعه از تمام گروه های سنی است. همان طور که جدول ۲ نشان می دهد، در بیماران مورد مطالعه میزان NT بین ۱/۱-۲/۷ (با میانگین ۱/۶۲) می باشد.

جدول های ۳ و ۴ بیان گر این مسأله است که سطح سرمی PAPP-A و Free β -hCG ارتباطی با افزایش سن مادر ندارد. در جدول ۵، متغیر NT برحسب گروه های سنی مادر محاسبه شده و نشان می دهد که در مادران مسن، میانگین آن بیش تر از سایر گروه های سنی می باشد.

جدول ۱- شرکت کنندگان در بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری در بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) (۱۳۸۷-۸۸)

گروه های سنی	تعداد	درصد
کم تر از ۲۰ ساله	۹	۷/۰۸
۲۴-۲۰	۳۸	۲۹/۸۲
۲۹-۲۵	۴۲	۳۳/۰۷
۳۴-۳۰	۲۴	۱۹/۰۰
۳۹-۳۵	۱۴	۱۱/۱۰
جمع کل	۱۲۷	۱۰۰/۰۰

جدول ۲- شاخص های آماری متغیرهای مورد نظر شرکت کنندگان در بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری در بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) (۱۳۸۷-۸۸)

متغیر	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
سن حاملگی	۱۲/۴۲	۰/۷۷	۱۱	۱۳ هفته و ۵ روز
CRL (mm)	۶۱/۰۵	۱۳/۳۱	۳۷	۸۶
NT (mm)	۱/۶۲	۰/۱۹	۱/۱	۲/۷
Free β -hCG*	۱۵۵/۹۷	۱۱۱/۹۰	۱۷/۰۶	۵۶۷/۱۲
PAPP-A**	۲۹/۸۹	۱۹/۴۶	۲/۶۸	۹۲/۵۲

* واحد ها بر اساس ng/mL است
** واحد ها بر اساس mg/L است

جدول ۳- توزیع PAPP-A برحسب گروه های عمده سنی در بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری در بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) (۱۳۸۷-۸۸)

گروه بندی سنی	تعداد	میانگین (mg/L)	انحراف معیار (mg/L)
کم تر از ۲۰ ساله	۹	۴۰/۲۶	۲۴/۲۳
۲۴-۲۰	۳۸	۳۱/۲۸	۲۰/۳۰
۲۹-۲۵	۴۲	۲۹/۴۹	۱۷/۵۰
۳۴-۳۰	۲۴	۲۳/۷۹	۱۶/۴۴
۳۹-۳۵	۱۴	۳۱/۰۹	۲۳/۲۵
کل	۱۲۷	۲۹/۸۹	۱۹/۴۶

جدول ۴- توزیع Free β -hCG بر حسب گروه های عمده سنی در بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری در بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) (۱۳۸۷-۸۸)

گروه بندی سنی	تعداد	میانگین (ng/ml)	انحراف معیار (ng/ml)
کم تر از ۲۰ ساله	۹	۲۰۳/۷۷	۱۴۸/۲۵
۲۴-۲۰	۳۸	۱۷۳/۹۱	۱۲۲/۲۶
۲۹-۲۵	۴۲	۱۴۰/۴۶	۹۴/۹۹
۳۴-۳۰	۲۴	۱۴۲/۴۷	۱۰۱/۵۱
۳۹-۳۵	۱۴	۱۴۶/۲۵	۱۲۲/۰۱
کل	۱۲۷	۱۵۵/۹۷	۱۱۱/۹۱

جدول ۵- توزیع NT بر حسب گروه های عمده سنی در بررسی نتایج تست سه گانه و به دست آوردن شاخص میانه سرم مارکرها جهت تشخیص زودرس آنومالی های جنینی در سه ماهه اول بارداری در بیمارستان اختصاصی زنان حضرت ام البنین^(س) (۱۳۸۷-۸۸)

گروه بندی سنی	تعداد	میانگین (mm)	انحراف معیار (mm)
کم تر از ۲۰ ساله	۹	۱/۶۶	۰/۲۱
۲۴-۲۰	۳۸	۱/۵۸	۰/۱۶
۲۹-۲۵	۴۲	۱/۶۳	۰/۲۳
۳۴-۳۰	۲۴	۱/۶۰	۰/۱۵
۳۹-۳۵	۱۴	۱/۷۱	۰/۱۷
کل	۱۲۷	۱/۶۲	۰/۱۹

بحث

به دنیا آمدن نوزادان با آنومالی های مادرزادی، بار اقتصادی، اجتماعی و فرهنگی برای خانواده ها و جامعه در بردارند. در رأس این بیماری ها سندرم داون قرار دارد که یک بیماری ژنتیک بوده که در اکثر موارد غیر ارثی می باشد. در حال حاضر در امریکا حدود ۳۵۰۰۰ نفر به این بیماری مبتلا می باشند (۲).

با توجه به این که ما آمار دقیقی نداریم اگر میزان شیوع در کشور خودمان را معادل کشور امریکا در نظر بگیریم، به نظر می رسد حدود یک صد هزار نفر مبتلا به سندرم داون در کشور ما زندگی می کنند.

خطر داشتن یک فرزند مبتلا به سندرم داون در سن ۲۵ سالگی حدود ۱ در ۱۳۰۰، در ۳۵ سالگی ۱ در ۳۶۵ و در ۴۵ سالگی ۱ در ۳۰ تولد زنده می باشد. با وجود این که سن مادر در هنگام بارداری ارتباط مستقیم با داشتن فرزند مبتلا به سندرم داون دارد، اما بیش تر از ۶۰٪ از فرزندان مبتلا به این بیماری از مادران زیر ۳۵ سال به دنیا می آیند (۲). لذا برای تشخیص زودرس بیماری های مادرزادی نمی توان فقط روی خانم های باردار بالای ۳۵ سال تمرکز نمود. به همین دلیل نمونه گیری در مطالعه حاضر از همه گروه های سنی انجام شده است.

در مطالعه ای مشابه با مطالعه حاضر که در سال ۲۰۰۸ در FMF لندن انجام شده است نشان داده شده است که غربالگری در سه ماهه اول بارداری فقط برای تشخیص تریزومی ۲۱ نیست، بلکه کلیه آنومالی های جنینی را می تواند تشخیص دهد. در این مطالعه ابتدا مقدار NT و سرم مارکرها (شامل Free β -hCG و PAPP-A) در ۵۶۷۷۱ حاملگی نرمال تک قلو اندازه گیری گردیده و سپس MoM^1 به دست آمده و ریسک پایه محاسبه شده و با توجه به متغیرهای سن حاملگی، سن مادر، پاریته، روش پیشگیری، استعمال سیگار، نژاد و وزن مادر، آنومالی های کروموزومی با استفاده از نرم افزارهای مخصوص محاسبه گردیده است (۵و۴).

در مطالعه حاضر نیز ابتدا میانه سرم مارکرها (شامل Free β -hCG و PAPP-A) در بیماران مورد مطالعه

تعیین شد تا در مطالعات بعدی از این عدد جهت به دست آوردن MoM (جواب آزمایش خون بیمار) و ریسک پایه استفاده شود و با در نظر گرفتن متغیرهای مورد نظر میزان آنومالی مادرزادی در بیمار مشخص گردد.

در مطالعه ای که در نوامبر ۲۰۰۶ در سوئد انجام شد نشان داده شد که اندازه گیری NT، PAPP-A و Free β -hCG و یا اندازه گیری توتال β -hCG اواخر سه ماهه اول بارداری برای تشخیص سندرم داون تفاوت قابل ملاحظه ای را نشان نمی دهد (۷و۶). در مطالعه ما، فقط محاسبه Free β -hCG در سه ماهه اول انجام شد و β -hCG اندازه گیری نشد.

مطالعه ای که روی ۱۰۹۸ خانم حامله یک قلو در دسامبر ۲۰۰۶ در اسلووانی انجام شد، تأیید نمود که غربالگری برای تریزومی ۲۱ در خانم های حامله در سه ماهه اول بارداری با اندازه گیری PAPP-A و Free β -hCG و Inhibin A سرم و سونوگرافی برای اندازه گیری NT بسیار مؤثر می باشد. در این مطالعه پس از آنالیز سطح تومورمارکهای سرم در حاملگی های خودبه خودی و حاملگی هایی که با استفاده از روش های کمک باروری ایجاد شده بود، نشان داد در این حاملگی ها MoM در مورد PAPP-A کاهش و در مورد Inhibin A افزایش نشان می دهد، ولی علی رغم این تغییرات میزان تشخیص تریزومی ۲۱ افزایش معنی داری نشان نداد (۸-۱۰). در جدول شماره ۳ نتایج نشان می دهد که میزان PAPP-A و در نتیجه شاخص میانه و نهایتاً MoM در مطالعه ما تغییر مشخصی ندارد.

در دانشگاه Landspitali بین سال های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۰ در خانم های ۳۵ ساله و مسن تر، از ترکیب اندازه گیری NT در هفته های ۱۱ تا ۱۳ حاملگی و سن مادر، ریسک جنین با آنوپلوئیدی را بررسی کردند و این غربالگری توانست جنین های با آنومالی تریزومی ۱۸، ۱۳ و ۲۱ را به خوبی تشخیص دهد. البته نتایج این غربالگری در خانم های حامله سیگاری کمی تفاوت دارد (۱۱-۱۳). در مطالعه ما نیز میانگین NT در مادران مسن، بالاتر است و مطمئناً بررسی مادران مسن در مطالعات آینده، میزان آنومالی های آنوپلوئیدی

¹ Multiple of the Median

نیز تشخیص داد (۱۹).

لازم به ذکر است که مقاله حاضر نتیجه یک طرح تحقیقاتی است که بدواً مقرر بود به صورت برون دانشگاهی انجام پذیرد؛ با کشور آلمان هماهنگ شده بود که قسمت دوم مطالعه - که استفاده از این غربالگری جهت تشخیص آنومالی ها می باشد- را انجام دهد. اما متأسفانه این امر مورد پذیرش قرار نگرفت و چون آزمایشگاه ایمونولوژی بیمارستان امام رضا(ع) نرم افزارهای مورد نظر را نداشت، لذا فقط به محاسبه شاخص میانه سرم مارکرها جهت محاسبه MoM اکتفا نمودیم تا در آینده از آن در مطالعات تکمیلی با در نظر گرفتن سایر متغیرها، ریسک پایه را محاسبه نموده و از آن در تشخیص زودرس آنومالی های مادرزادی استفاده نماییم.

نتیجه گیری

می توان با داشتن شاخص میانه ، Free β -hCG و PAPP-A و محاسبه MoM و NT برای هر بیمار و با مدنظر گرفتن سن مادر، سن حاملگی، سابقه آنومالی مادرزادی و سایر متغیرها، ریسک پایه را به دست آورد و نهایتاً با استفاده از نرم افزارهای اختصاصی آنومالی های مادرزادی را در سه ماهه اول بارداری تشخیص داده و با خاتمه دادن به حاملگی هایی که نیاز به ختم بارداری دارند، از به دنیا آمدن نوزادان معلول که سربار خانواده و جامعه می باشد جلوگیری نمود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله حاضر بر خود لازم می دانند که از بخش سونوگرافی و آزمایشگاه بیمارستان ام البنین^(س) که در انجام سونوگرافی بیماران و نمونه گیری خون، همکاری صمیمانه داشته اند، کمال تشکر و قدردانی خود را ابراز دارند.

بیش تری را مشخص خواهد نمود. در بعضی مراکز در این حاملگی ها، Double test انجام می دهند؛ یک بار در هفته ۸ حاملگی، NT اندازه گیری و در همان روز اندازه گیری های سطح مارکرهای سرم نیز انجام می شود. سپس یک بار دیگر در هفته ۱۱ تا ۱۳ این تست ها تکرار می شود (۱۴ و ۱۵).

در مطالعه مشابهی در ایسلند تمام خانم های مراجعه کننده به درمانگاه مامایی در بیمارستان دانشگاهی Landspítali را در هفته های ۱۰ تا ۱۵ جهت غربالگری و تشخیص بیماری های آنوپلوئیدی (تریزومی ۲۱، ۱۸ و ۱۳) مورد بررسی قرار دادند. تمام این خانم ها ابتدا تحت سونوگرافی قرار گرفته و NT اندازه گیری می شد و سپس برای انجام آزمایش خون و اندازه گیری PAPP-A و Free β -hCG اقدام و سپس با استفاده از نرم افزار مخصوص در مدت زمان کوتاهی نتایج این بررسی توانست ۹۵٪ جنین های مبتلا به آنوپلوئیدی را تشخیص دهد. چنانچه تست، مثبت بود جهت نمونه برداری از جفت و آمنیوسنتز اقدام می شد (۱۶). در مطالعه ما نیز دقیقاً از این روش استفاده شد تا در مطالعات تکمیلی درصد دقیق آنوپلوئیدی را مشخص نماید.

در دو مطالعه ایسلند و آلمان با استفاده از یک نرم افزار اختصاصی ریسک آنومالی های مادرزادی (تریزومی ۱۳، ۱۸ و ۲۱) را با استفاده از پارامترهای سن مادر، طول نشسته جنین (CRL) و NT و سرم مارکرها محاسبه کردند و نشان دادند که با استفاده از همه متغیرها میزان آنومالی هایی که یافت می گردد بیش تر از مطالعاتی است که از هر کدام از پارامترها به تنهایی مورد استفاده قرار می گیرند (۱۷ و ۱۸). با این استناد، ما نیز در این مطالعه از چندین متغیر استفاده نمودیم .

امید محققان بر آن است که در آینده ای نه چندان دور بتوان جنس جنین را در غربالگری سه ماهه اول بارداری

منابع

1. Simpson JL. Genetic counseling and prenatal diagnosis. In: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL. Obstetrics: normal and problem pregnancies. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2007. p. 187-219.
2. Farndon PA, Kilby MD. Genetics, risks, and genetics counseling. In: James DK, Steer PJ, Weiner CP, Gonik B. High risk pregnancy. 3rd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005. p. 43-63.

3. Schmidt P, Hormansdorfer C, Staboulidou I, Hillemanns P, Schart A. Using "Degree of Extremeness" instead of "Multiples of Median" in first trimester risk assessment for Down syndrome-an improved method or just a gimmick in face of political motivations?. *Arch Gynecol Obstet* 2008;278(2):119-24.
4. Kagan KO, Wright D, Baker A, Sahota D, Nicolaides KH. Screening for trisomy 21 by maternal age, fetal nuchal translucency thickness, free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31(6):618-24.
5. Cowans NJ, Stamatopoulou A, Spencer K. The effect of Rhesus status on first-trimester pregnancy screening markers free beta human chorionic gonadotropin, pregnancy-associated plasma protein-A and nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008;31(5):493-502.
6. Conner P, Marsk A, Kublickas M, Almström H, Gustafsson S, Westgren M. Prenatal screening for chromosome abnormalities--time to change strategy. *Lakartidningen* 2006;103(41):3060-1. [Article in Swedish]
7. Canick JA, Lambert-Messerlian GM, Palomaki GE, Neveux LM, Malone FD, Ball RH, et al. Comparison of serum markers in first-trimester down syndrome screening. *Obstet Gynecol* 2006;108(5):1192-9.
8. Tul N, Novak-Antolic Z. Serum PAPP-A levels at 10-14 weeks of gestation are altered in women after assisted conception. *Prenat Diagn* 2006;26(13):1206-11.
9. Kagan KO, Wright D, Spencer K, Molina FS, Nicolaides KH. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2008;87(9):975-8.
10. Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. The effect of a 'vanishing twin' on biochemical and ultrasound first trimester screening markers for Down's syndrome in pregnancies conceived by assisted reproductive technology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;144(2):140-5.
11. Harðardóttir H. Fetal nuchal translucency measurements in women aged 35 and older. Results from 1.1.99-31.12.00. *Laeknabladid* 2001;87(5):455-7. [Article in Icelandic]
12. Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. First trimester Down's syndrome screening marker values and cigarette smoking: new data and a meta-analysis on free beta human chorionic gonadotrophin, pregnancy-associated plasma protein-A and nuchal translucency. *Prenat Diagn* 2009;29(5):505-7.
13. Gajewska J, Ceran A, Chelchowska M, Borowski D, Ambroszkiewicz J, Jaczyńska R, et al. Effect of maternal smoking on concentrations of the pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) and free beta subunit of chorionic gonadotropin (beta hCG) in the first trimester of pregnancy. *Przegl Lek* 2008;65(10):479-82. [Article in Polish]
14. Schiøtt KM, Christiansen M, Petersen OB, Sørensen TL, Ulbjerg N. The Consecutive Combined Test--using double test from week 8 + 0 and nuchal translucency scan, for first trimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2006;26(12):1105-9.
15. Barken SS, Skibsted L, Jensen LN, Sperling L, Zingenberg H, Brøndum-Nielsen K. Diagnosis and prediction of parental origin of triploidies by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 11-14 weeks of gestation. *Hum Reprod* 2009;24(1):55-62.
16. Harðardóttir H. Risk assessment for fetal trisomy 21 based on nuchal translucency measurement and biochemical screening at 11-13 weeks. *Laeknabladid* 2001;87(5):443-5. [Article in Icelandic]
17. Haraldsdóttir KR. Risk assessment for fetal aneuploidy after nuchal translucency measurement. *Laeknabladid* 2001;87(5):422-3. [Article in Icelandic]
18. Schaelike M, Kossakiewicz M, Kossakiewicz A, Schild RL. Examination of a first-trimester Down syndrome screening concept on a mix of 11,107 high- and low-risk patients at a private center for prenatal medicine in Germany. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;144(2):140-5.
19. Cowans NS, Stamatorulou A, Mai ZN, Spencerk, Nice lialdes KH. The impact of fetal gender on first trimester nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A MoM in normal and trisomy 21 pregnancies. *Prenat Diagn* 2009;29(6):578-81.