

Artigo de Revisão/Review Article

Rastreio de cromossomopatias: novas teorias e velhos conceitos II

Screening of chromosomal anomalies: new theories and old concepts II

Carla Ramalho*

Hospital de São João, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

ABSTRACT

During the last years, extensive research has identified biochemical and ultrasonographic markers associated with trisomy 21. Different methods for screening have been developed. It is now possible to identify fetuses with trisomy 21, with a detection rate of up to 94% for a false-positive rate of 5%. This second article reviews the use of screening methods for trisomy 21.

RASTREIO E DIAGNÓSTICO

O rastreio é a aplicação sistemática, numa população aparentemente saudável, de um teste ou inquérito, com o objectivo de identificar indivíduos com um risco suficientemente importante de contrair doença específica, de modo a beneficiarem de avaliação complementar ou acção preventiva directa¹.

O objectivo de um teste de rastreio é seleccionar um grupo dentro de toda a população, com um risco suficientemente elevado, ao qual será depois aplicado um teste de diagnóstico. O teste de diagnóstico será pois efectuado apenas num grupo restrito, pois acarreta riscos e tem custos elevados.

Para que se implemente um teste de rastreio, alguns princípios têm de estar assegurados. A patologia que se pretende rastrear tem de ser suficiente grave, condicionando morbilidade e mortalidade importantes

e a prevalência na população tem de ser significativa. Deve existir métodos de diagnósticos e a possibilidade de actuação clínica subsequente. O teste tem de ser aceite pela população, ser fiável (reprodutível), sensível e com uma relação custo-benefício razoável.

A Síndrome de Down satisfaz todos estes requisitos, pela frequência da patologia na população, pela morbilidade que condiciona e pelas implicações sociais e económicas que acarreta. É por este facto que, quando os vários autores se referem a rastreio de cromossomopatias estão sobretudo a pensar em rastreio de Síndrome de Down.

RASTREIO PELA IDADE MATERNA

O primeiro teste de rastreio utilizado para o Síndrome de Down foi a **idade materna**. Às mulheres que apresentavam risco acrescido era oferecida a

*Assistente Hospitalar do Serviço de Ginecologia e Obstetrícia, Hospital de São João E.P.E.

Docente Voluntária do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

possibilidade de realizar um teste invasivo para diagnóstico (amniocentese ou biópsia das vilosidades). Quando nos finais dos anos 70, nos EUA, se definiram regras para a realização dos testes diagnósticos, o consenso foi no sentido de realização de amniocentese apenas às mulheres com 35 anos ou mais na altura do parto². Este limiar foi escolhido porque nesta idade o risco de perda fetal decorrente da técnica é aproximadamente igual ao risco de nascimento de uma criança com Síndrome de Down.

No início dos anos 70 cerca de 5% das grávidas tinham 35 anos ou mais, contendo este grupo 30% dos fetos com trissomia 21. O rastreio com base na idade materna, tendo como limiar para definir o grupo de risco os 35 anos, está associado a uma taxa de falsos positivos de 5% com uma taxa de detecção de 30%.

Num estudo publicado por Youings e colaboradores, foi avaliada a eficácia da idade materna como método de rastreio de trissomia 21. Durante os três anos em estudo (1986-8), os partos em mulheres com 35 anos ou mais constituíram 8,1% do total. A taxa de detecção de trissomia 21 em mulheres com 35 ou mais anos, depois da correcção para a letalidade esperada, foi de 53%. Durante este período nasceram 108 recém-nascidos com Síndrome de Down, 78% dos quais em mulheres com menos de 35 anos³.

Actualmente, com o aumento verificado na idade das grávidas na maioria dos países ocidentais, o grupo dos 35 anos ou mais constitui 16% das grávidas⁴, correspondendo a mais de 40% dos fetos com trissomia 21. A utilização do mesmo limiar para a realização de técnicas invasivas acarreta uma taxa de falsos positivos de 15% com uma taxa de detecção de 40%.

PROBLEMAS DA UTILIZAÇÃO DA IDADE

Um dos problemas da utilização da **idade materna** como teste de rastreio para cromossomopatias, é a impossibilidade de detecção de Síndrome de Down em filhos de mulheres com menos de 35 anos, que constituíam 70% nos anos 70 e actualmente constituem 60% dos fetos afectados.

Outro dos problemas, decorrente da elevada taxa de falsos positivos, consiste na taxa de perdas fetais associadas às técnicas invasivas, perfeitamente

definida como 1%⁵, o que condiciona um elevado número de perdas fetais.

RASTREIO BIOQUÍMICO DO 2º TRIMESTRE

Em 1984 Merkatz e colaboradores descreveram uma relação estatística entre níveis séricos de **alfa-fetoproteína (AFP)** baixos e fetos afectados por trissomia 21⁶. A avaliação dos níveis séricos de AFP em 61 grávidas com fetos com trissomia 21 e em 36652 grávidas com fetos normais, confirmou a presença de níveis mais baixos de AFP na presença de fetos com trissomia 21, de 0,72 múltiplos da mediana (MoM). A utilização da idade materna associada aos níveis séricos de AFP como método de rastreio teria uma taxa de detecção de 21% para 5% de falsos positivos⁷. Utilizando dados de 68 fetos com trissomia 21 e 36645 fetos não afectados, a combinação da idade materna com o nível sérico da AFP obtém uma taxa de detecção de 28% com uma taxa de falsos positivos de 2,8%, ou seja, uma diminuição de 50% na taxa de falsos positivos para a mesma taxa de detecção, se apenas se utilizasse a idade materna⁸. A avaliação do risco pelos níveis séricos de AFP permitiu rastrear para Síndrome de Down também as mulheres com menos de 35 anos. Um grande estudo prospectivo, com 77273 grávidas com menos de 35 anos, realizado em oito centros em Inglaterra, confirmou que a AFP associada à idade materna pode detectar 25% dos Síndromes de Down em mulheres com menos de 35 anos⁹.

Depois da descoberta da associação do Síndrome de Down com níveis séricos maternos baixos de AFP, a investigação destinada a encontrar outras hormonas eventualmente associadas a aneuploidias continuou. Foi descoberto que nas grávidas com fetos afectados por trissomia 21, o nível da **hormona gonadotrofina coriónica (hCG)** é mais elevado (2,5 MoM)¹⁰ e o nível de **estriol não conjugado (uE3)** é mais baixo (0,79 MoM)¹¹. Numa avaliação retrospectiva a AFP, a hCG e o uE3 mostraram-se predictores independentes do Síndrome de Down, e também independentes da idade materna. Deste modo, a sua utilização conjunta no rastreio é possível, sendo estimada uma taxa de detecção de 60% para uma taxa de falsos positivos de 5%¹². Vários estudos pros-

pectivos foram realizados para avaliar a eficácia da utilização deste método de rastreio, conhecido como **teste triplo**. Num desses estudos, Haddow e colaboradores, através da avaliação de 25207 grávidas, obtiveram uma taxa de detecção de 58% e concluíram como útil a incorporação do teste triplo nos cuidados pré-natais¹³. As mulheres com 35 anos ou mais continuavam a ser aconselhadas a realizar testes diagnósticos, pelo que Haddow e colaboradores realizaram um estudo prospectivo para avaliar a utilidade da realização do rastreio bioquímico nestas mulheres. Em 5385 mulheres que iam efectuar amniocentese, com base apenas na idade materna, foi efectuado o teste triplo. Se a amniocentese fosse apenas efectuada quando o risco fosse superior a 1 em 200, a taxa de detecção era de 89% com 25% de falsos positivos, com uma redução do número de amniocenteses e de perdas relacionadas de 75%¹⁴. O teste triplo foi amplamente implementado, sendo actualmente o método de rastreio mais utilizado nos EUA, continuando alguns centros apenas a oferecer o teste duplo (AFP e hCG).

Em 1992 Van Lith e colaboradores descreveram a associação entre a inibina sérica e o Síndrome de Down. O valor da inibina em 10 casos de Síndrome de Down era 1,9 MoM superior ao valor em 80 controlos¹⁵. A inibina é uma hormona glicoproteica dimérica, constituída por sub-unidades α e β A (inibina-A) ou por α e β B (inibina B), produzida pela placenta. Como os produtos placentares podem estar aumentados na gravidez associada a Síndrome de Down, alguns autores tentaram avaliar o valor da utilização da **inibina-A** como método de rastreio. Wald e colaboradores avaliaram retrospectivamente a utilização da inibina-A como método de rastreio, que estava aumentada 1,79 MoM nas grávidas com fetos com trissomia 21 (77 casos) em relação às grávidas com fetos normais (385 controlos)¹⁶. A utilização conjunta dos quatro marcadores séricos, AFP, uE3, total hCG e inibina A, com a idade materna, constitui o **teste quádruplo**, que tem uma taxa de detecção de 70% para uma taxa de falsos positivos de 5%¹⁶. Um estudo prospectivo, no qual foram avaliadas 1256 grávidas, pretendeu avaliar a utilidade da utilização da inibina-A e da fracção livre da β -hCG, em associação com os marcadores do teste triplo, no

rastreio de trissomia 21. A associação da inibina-A ao teste triplo (teste quádruplo) identifica 23% mais de casos de trissomia 21¹⁷.

A **fracção livre da β -hCG** está presente no sangue materno no 2º trimestre numa concentração muito inferior à da hCG total (1:200). A sua utilização no rastreio de trissomia 21 é considerada superior à da hCG por vários autores. Macri e colaboradores avaliaram 29 casos de Síndrome de Down e 450 controlos, obtendo uma taxa de detecção de 66,7% para 5% de falsos positivos¹⁸. Num trabalho publicado em 1994, em que estão englobados estudos retrospectivos e prospectivos, envolvendo 480 casos de trissomia 21, o valor da fracção livre da β -hCG é superior ao da hCG (2,64 MoM versus 2,07 MoM)¹⁹. A utilização como método de rastreio da fracção livre da β -hCG associada à AFP, em 44272 mulheres com menos de 35 anos, obteve uma taxa de detecção de 69% com 3,8% de falsos positivos¹⁹. Quando Wald e colaboradores avaliaram a introdução da inibina-A no rastreio bioquímico do 2º trimestre, avaliaram também a utilização da fracção livre da β -hCG, em vez da hCG, com resultados similares¹⁶. No estudo prospectivo realizado por Wenstrom e colaboradores que pretendeu avaliar a utilização da inibina-A e da fracção livre da β -hCG, em associação com os marcadores do teste triplo, no rastreio de trissomia 21, a fracção livre da β -hCG não foi superior à hCG¹⁷. Extermann e colaboradores compararam nas mesmas amostras três combinações diferentes de dois ou três marcadores (hCG, AFP, estriol não conjugado; fracção livre da β -hCG, AFP, estriol não conjugado e fracção livre da β -hCG, AFP), tendo concluído que a utilização da fracção livre da β -hCG diminui a taxa de falsos positivos²⁰.

Um estudo multicêntrico foi realizado com o objectivo de avaliar a eficácia do rastreio do segundo trimestre, envolvendo 46193 mulheres em 14 hospitais. Foi considerado rastreio positivo a partir de um risco maior ou igual a 300. Os autores concluíram que o rastreio quádruplo é o melhor método de rastreio do segundo trimestre, com uma taxa de detecção de 81% com 7% de falsos positivos²¹.

Os valores dos marcadores bioquímicos variam com a idade gestacional²², pelo que na avaliação do risco na realização do rastreio bioquímico é fundamental

considerar a idade gestacional. Quando Macri e colaboradores avaliaram a utilização da fracção livre da β -hCG e da AFP, como método de rastreio do 2º trimestre abaixo dos 35 anos, obtiveram uma taxa de detecção de 73% entre as 14 e as 16 semanas e de 63% entre as 17 e as 22 semanas (com 3,8% de falsos positivos)¹⁹. Wald e colaboradores, quando avaliaram a utilidade da introdução da inibina-A no teste quádruplo, demonstraram que para 5% de falsos positivos, a taxa de detecção passava de 70% para 77%, se a gravidez fosse datada por ecografia¹⁶. A necessidade de conhecer a idade gestacional na altura da determinação do valor dos marcadores bioquímicos, implica a realização de ecografia com o objectivo de datar correctamente a gravidez^{23,24}.

RASTREIO BIOQUÍMICO DO 1º TRIMESTRE

Depois da demonstração da utilidade da fracção livre da β -hCG no rastreio de trissomia 21 no 2º trimestre, foi demonstrado o seu aumento no 1º trimestre em grávidas cujos fetos têm trissomia 21. Macri e colaboradores determinaram o valor da fracção livre da β -hCG em 38 casos de Síndrome de Down, e compararam-nos com controlos, sendo 2.20 MoM mais elevada nos casos de trissomia 21²⁵. A fracção livre da β -hCG tem utilidade no rastreio do 1º trimestre, ao contrário da hCG total, que não tem qualquer utilidade no 1º trimestre.

No primeiro trimestre a **proteína plasmática associada à gravidez (PAPP-A)**, uma glicoproteína específica da gravidez produzida pela placenta, está diminuída 0,27 MoM nas grávidas com fetos com trissomia 21. Esta associação da PAPP-A com trissomia 21 pode permitir a sua utilização como método de rastreio do 1º trimestre, com uma taxa de detecção de 60% com 5% de falsos positivos²⁶. A avaliação conjunta da utilização da PAPP-A e da fracção livre da β -hCG, no primeiro trimestre, em 13 gravidezes com fetos com trissomia 21 e em 89 com fetos normais, demonstrou uma taxa de detecção de 78,9% para 5% de falsos positivos²⁷. A avaliação conjunta da utilização da PAPP-A e da fracção livre da β -hCG numa amostra mais larga (22 trisomias 21 e 483 controlos), confirmou os estudos prévios, com uma taxa de detecção de 63%

para 5% de falsos positivos²⁸. A utilização conjunta da PAPP-A e da fracção livre da β -hCG constitui o **rastreio bioquímico do 1º trimestre**. A variação destes marcadores séricos com a idade gestacional (diminuição da PAPP-A e aumento da fracção livre da β -hCG) obriga à realização de ecografia para datação correcta da gravidez.

TRANSLUCÊNCIA DA NUCA

A **translucência da nuca (TN)** foi referida pela primeira vez por Nicolaidis e colaboradores em 1992²⁹ e corresponde à acumulação de líquido na parte posterior do pescoço, que se traduz ecograficamente por uma zona hipoecogénica (Figuras 1 e 2). O risco para trissomia 21 está relacionado com a idade materna e com o tamanho da TN²⁹. Para a avaliação da TN é necessário utilizar um ecógrafo de alta resolução com função “video-loop” e calipers que permitam a medição de décimas de mm. A TN pode ser medida com sucesso por via abdominal em 95% dos casos, sendo necessário recorrer à via transvaginal nos outros casos. Deve adoptar-se um corte sagital do feto, correspondente ao corte para a medição do comprimento cranio-caudal, com o feto em posição neutra, com uma ampliação máxima de modo que a cabeça e o pescoço



Figura 1 Ecografia às 12 semanas de um feto com TN normal e com ossos do nariz presentes

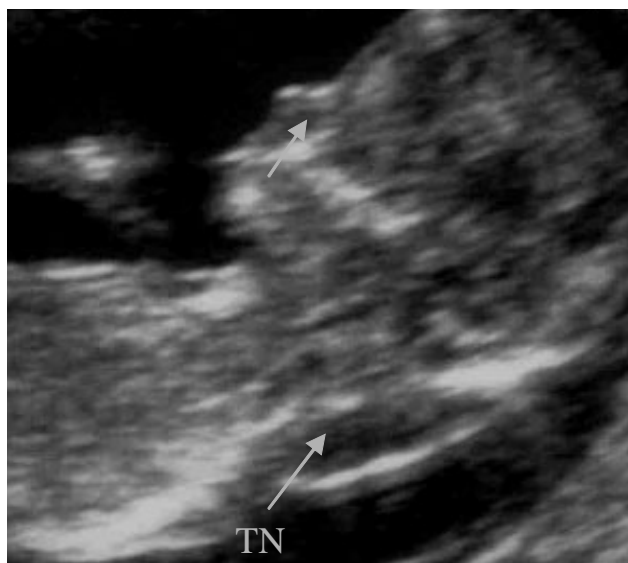


Figura 2: Ecografia às 12 semanas de um feto com TN aumentada e com ossos do nariz ausentes

ocupem toda a imagem (Figuras 1 e 2). Deve ser medida a espessura máxima da acumulação de líquido na parte posterior do pescoço²⁹, com os calipers colocados nas linhas que definem esse espaço (Figura 1). A TN pode ser medida entre as 11 e as 13 semanas e 6 dias, isto é, para valores de comprimento cranio-caudal entre 45 e os 84 mm.

No estudo pioneiro em que foram avaliados 560 fetos com TN ≥ 3 mm, a incidência de aneuploidias estava aumentada 4 \times quando a TN era igual a 3 mm, e estava aumentada 29 \times quando a TN era >3 mm³⁰. O risco do feto estar afectado por trissomia 21 aumenta com o valor da translucência da nuca. Num estudo com 1015 fetos com translucência da nuca (TN) aumentada, o número de trissomias (13, 18 e 21) em fetos com TN de 3 mm, 4 mm, 5 mm e ≥ 6 mm era 3 \times , 18 \times , 28 \times e 36 \times superiores ao risco base determinado pela idade³¹. Num estudo prospectivo multicêntrico envolvendo 20804 mulheres, foi avaliada a eficácia da utilização da idade materna e da translucência da nuca, medida entre as 10 e as 14 semanas de gestação, no rastreio de trissomia 21. Considerando o rastreio positivo quando superior a 1 em 300, foi obtida uma taxa de detecção de 80% para uma taxa de falsos positivos de 5%³².

Os primeiros trabalhos consideraram translucência da nuca aumentada se o valor da TN fosse maior ou

igual a 3 mm²⁹. Como a translucência da nuca varia com a idade gestacional, com uma mediana e um percentil 95, para comprimento cranio-caudal de 45 mm, de 1,2 e 2,1 mm e para comprimento cranio-caudal de 84 mm, de 1,9 e 2,7 mm, respectivamente, foi posteriormente considerado que a translucência da nuca estava aumentada quando acima do percentil 95 para a idade gestacional³³.

Vários estudos experimentais avaliaram prospectivamente a implementação da medição da translucência da nuca como método de rastreio de cromossopatias. Englobando 200868 grávidas, a translucência da nuca foi avaliada com sucesso em 99,8% das situações, com uma taxa de detecção global de 76,8% com uma taxa de falsos positivos de 4,2%. A variação encontrada entre as várias taxas de detecção e de falsos positivos é explicada pela diferença etária das grávidas estudadas e pela diferença de “cut-off” utilizado³⁴. Num desses estudos, realizado em 22 centros na Grã-Bretanha, envolvendo 100311 mulheres (“follow-up” em 96127), foi obtida uma taxa de detecção de 77% para uma taxa de falsos positivos de 5%³³.

As indicações técnicas sobre a avaliação da TN foram propostas pela Fetal Medicine Foundation³⁵, que também desenvolveu um programa de treino e um processo de acreditação e de controlo de qualidade.

RASTREIO COMBINADO

A avaliação da PAPP-A e da translucência da nuca em 87 fetos com aneuploidias e 248 controlos normais, confirmou que no grupo dos fetos com cromossopatias o valor da PAPP-A era mais baixo e mostrou que não se verificava associação significativa entre a PAPP-A e a TN³⁶. A avaliação da hCG e da fracção livre da β -hCG séricas e da translucência da nuca em 83 grávidas com fetos com cromossopatias e em 394 controlos normais, confirmou que a hCG total ou a fracção livre da β -hCG são mais elevadas nos fetos com cromossopatias, e mostrou que não existe associação entre estas hormonas e a translucência da nuca³⁷. Como não há associação entre a translucência da nuca e os marcadores séricos do 1º trimestre, podem ser utilizados de forma combinada para o rastreio (**rastreio combinado**)³⁸. Num estudo retrospectivo

envolvendo 210 grávidas com fetos com trissomia 21 e 946 grávidas com fetos normais, a utilização combinada da idade materna, translucência da nuca, PAPP-A e fracção livre da β -hCG séricas materna, obteve uma taxa de detecção de 89% com uma taxa de falsos positivos de 5%³⁸. A análise de seis estudos prospectivos que efectuaram o rastreio utilizando a combinação da idade materna, translucência da nuca, PAPP-A e fracção livre da β -hCG séricas materna, na totalidade de 44613 grávidas, confirma a utilidade do rastreio combinado, com uma taxa de detecção global de 87%³⁴.

A possibilidade de obter o doseamento da PAPP-A e da fracção livre da β -hCG 30 minutos após a colheita de sangue materno, utilizando técnicas de imunoensaio rápidas, permite a comunicação imediata à grávida do risco combinado entre a TN e estes marcadores. Bindra e colaboradores publicaram um estudo prospectivo realizado em 15030 gravidezes únicas, nas quais foi avaliada a TN e doseados o PAPP-A e a fracção livre da β -hCG séricas através de técnicas de imunoensaio rápidas. Para uma taxa de falsos positivos fixa de 5%, a taxa de detecção obtida foi 90,2%³⁹.

RASTREIO SEQUENCIAL E INTEGRADO

Com o aumento das opções disponíveis para a realização do rastreio de Síndrome de Down, começaram a surgir várias combinações entre os vários marcadores.

Platt e colaboradores avaliaram a realização do rastreio do 1º trimestre seguida da realização do rastreio do 2º trimestre (**rastreio sequencial**)⁴⁰. As grávidas realizavam o rastreio combinado, era-lhes comunicado o resultado e optavam por realizar ou não técnica invasiva. As que não realizavam técnicas de diagnóstico efectuavam o rastreio bioquímico triplo. As grávidas são rastreadas em várias alturas, tendo um resultado depois de cada teste. Este método de rastreio tem uma taxa de detecção de 98%, à custa do aumento da taxa de falsos positivos para 17%⁴⁰.

Wald e colaboradores propuseram em 1999 um novo método de rastreio, com avaliações obtidas no 1º e no 2º trimestre que são integradas de modo a estimar um único risco: **rastreio integrado**⁴¹. Os autores

utilizam dados de estudos publicados compreendendo a avaliação da translucência da nuca e doseamento de PAPP-A no 1º trimestre, e o doseamento de AFP, estriol não conjugado, hCG e inibina-A no 2º trimestre. Para uma taxa de falsos positivos de 5% a taxa de detecção obtida foi de 94%, e para uma taxa de falsos positivos de 1% a taxa de detecção obtida foi de 85%⁴¹. Sem a utilização da translucência da nuca (**rastreio bioquímico integrado**), a taxa de detecção obtida foi de 85%, para 5% de falsos positivos⁴¹. A utilização do rastreio integrado permite a diminuição da taxa de falsos positivos para 1%, mantendo uma taxa de detecção elevada (85%), o que corresponde a uma redução de 80% no grupo de mulheres consideradas de risco, às quais seria indicado realizar um teste de diagnóstico invasivo⁴¹.

O SURUSS (the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study)⁴² avaliou os marcadores de trissomia 21 mais frequentemente utilizados, bem como as suas combinações possíveis. Trata-se de um coorte com 47053 grávidas que inclui 101 síndromes de Down. Para uma taxa de detecção de 85%, o melhor método de rastreio é o rastreio integrado, com uma taxa de falsos positivos de 1,2%. Se não tiver sido avaliada a translucência da nuca, o rastreio bioquímico integrado, com uma taxa de falsos positivos de 2,7%, é o método a preferir. Quando a grávida pretende um teste do primeiro trimestre, o melhor é o rastreio combinado, com uma taxa de falsos positivos de 6,1%. Quando a grávida apenas recorre à consulta no 2º trimestre, os autores recomendam o rastreio bioquímico quádruplo, com uma taxa de falsos positivos de 6,2%⁴² (Tabela I).

Maymon e colaboradores avaliaram em 2004 um modelo (**rastreio contingente**) no qual após a realização da TN e da PAPP-A as grávidas eram divididas em três grupos de acordo com o risco. Determinaram um “cut-off” acima do qual é improvável o teste integrado dar negativo para definir um grupo para avaliação precoce do cariótipo (risco elevado), e usaram regressão logística para definir um grupo de baixo risco que não necessitava de mais testes. As restantes tinham o seu risco reavaliado após a determinação dos marcadores do 2º trimestre. Esta estratégia permitiu detectar 60% (13/22) das trissomias 21 no 1º trimestre, sem aumento dos falsos positivos.⁴³

Tabela I Eficácia e segurança dos testes recomendados pelo estudo SURUSS (42) e pelo NICE 99)

Grávida que chega no 1º trimestre:
Rastreio integrado (TD 85%, TFP 1,2%)

Grávida que chega no 1º trimestre, mas não tem TN:
Rastreio bioquímico integrado (TD 85%, TFP 2,7%)

Grávida que chega no 2º trimestre:
Teste quádruplo (TD 85%, TFP 6,2%)

Grávida que quer resultado no 1º trimestre:
Rastreio combinado (TD 85%, TFP 6,1%)

TD = taxa de detecção; TFP = taxa de falsos positivos

Comparando o rastreio contigente com o rastreio integrado, usando os dados do SURUSS, para uma taxa de detecção de 85%, o rastreio contigente tem uma taxa de detecção 0,5% superior⁴⁴.

O ensaio FASTER (First- And Second-Trimester Evaluation of Risk)⁴⁵ foi desenhado com o objectivo de avaliar numa mesma população os rastreios do 1º trimestre, do 2º trimestre e os realizados simultaneamente nos dois trimestres. Foram avaliadas 38167 grávidas, que efectuaram translucência da nuca, doseamento no 1º trimestre de PAPP-A e fracção livre da β hCG, e doseamento no 2º trimestre de AFP, estriol não conjugado, hCG e inibina-A. Para uma taxa de 5% de falsos positivos, a taxa de detecção do rastreio combinado do 1º trimestre é 87%, 85% e 82%, conforme efectuado às 11, 12 ou 13 semanas. A taxa de detecção do rastreio quádruplo é de 81%. A taxa de detecção no rastreio bioquímico integrado é de 88%, 86% e 85% e no rastreio integrado é de 96%, 95% e 94%, conforme a primeira colheita é efectuado às 11, 12 ou 13 semanas⁴⁵. Malone e colaboradores avaliaram também o **rastreio sequencial por etapas** (“stepwise”), no qual é efectuado rastreio combinado com atribuição do risco em todos os casos seguido de teste invasivo nos casos positivos. Nos outros é realizado rastreio quádruplo no 2º trimestre, sendo o risco avaliado com a inclusão dos resultados obtidos no 1º trimestre. Comparando o rastreio sequencial por etapas com o rastreio integrado, para 95% de taxa de detecção, verifica-se apenas um ligeiro aumento da taxa de falsos positivos (4,9% e 4% respectivamente). O rastreio

sequencial por etapas permite obter resultados no 1º trimestre nas mulheres com teste positivo, com resultados sobreponíveis aos do rastreio integrado, sem o aumento da taxa de falsos positivos verificada no rastreio sequencial (taxa de falsos positivos de 11% para 94% de taxa de detecção)⁴⁵.

MARCADORES ECOGRÁFICOS DO 2º TRIMESTRE

Uma série de marcadores ecográficos do 2º trimestre têm sido associados com Síndrome de Down, nomeadamente anomalias major^{46,47}, prega da nuca^{46,48}, fémur e úmero curto^{48,49,50}, dilatação pielocalicial⁵¹, intestino hiperecogénico⁵², ventriculomegalia⁴⁶, hipoplasia da falange média do 5º dedo⁵³, foco hiperecogénico intracardíaco⁵⁴ e cisto dos plexos coroideus⁵⁵.

Em 1992 Benaceraff e colaboradores definiram um índice para a detecção pré-natal de anomalias cromossómicas, que englobava prega da nuca (2), defeitos major (2), fémur curto (1), úmero curto (1) e a dilatação pielocalicial (1). O rastreio era considerado positivo quando o índice era maior ou igual a 2. A utilização deste índice tem uma sensibilidade de 81% e uma taxa de falsos positivos de 4,4% na detecção de Síndrome de Down⁵⁶.

Para além destes, outros marcadores ecográficos do 2º trimestre têm sido definidos, nomeadamente braquicefalia, face plana, defeito septal auriculo-ventricular, atresia duodenal, membros curtos, “sandal gap” e clinodactilia do 5º dedo.

Já em 1995 Nyberg e colaboradores defenderam que a presença ou ausência de vários marcadores podiam ser associados ao rastreio prévio, aumentando ou diminuindo o risco anterior determinado⁵⁷. A presença de pelo menos um marcador de cromossomopatia está presente em 50-70% dos fetos com trissomia 21, pelo que a presença ou ausência destes marcadores modifica substancialmente o risco de Síndrome de Down⁵⁸.

Nyberg e colaboradores efectuaram ecografia do 2º trimestre a 186 fetos com trissomia 21 e a 8728 fetos normais e avaliaram o grau de risco de seis marcadores usando “likelihood ratios” (LR). A prega da nuca (LR de 11) e o intestino hiperecogénico (LR de 6,7) evidenciam a maior associação com trissomia 21 enquanto marcadores isolados, seguidos pelo úmero curto (LR de 5,1), foco hiperecogénico intracardíaco (LR de 1,8), fémur curto (LR de 1,5) e dilatação pielocalicial (LR de 1,5)⁵⁹. Depois da constatação da associação entre trissomia 21 e não visualização de ossos do nariz na ecografia do 1º trimestre⁶⁰, Cicero e colaboradores observaram também que a hipoplasia do osso do nariz, avaliada no 2º trimestre, tem também um papel importante na avaliação do risco de trissomia 21. O “likelihood ratio” (LR) para trissomia 21, da hipoplasia do osso do nariz é 50,5 enquanto o LR dado pela presença de osso do nariz é de 0,38⁶¹. Bromley e colaboradores observaram 164 fetos com trissomia 21 e 656 fetos normais e avaliaram o grau de risco de seis marcadores usando “likelihood ratios”. A ausência de qualquer marcador confere um LR de 0,2 diminuindo o risco de Síndrome de Down em 80%. A presença de anomalias estruturais tem um LR de 3,3. O LR para a presença de 1, 2 ou 3 quaisquer marcadores é 1,9, 6,2 e 80 respectivamente⁶².

A presença ou ausência de vários marcadores podem pois ser associados ao rastreio prévio, multiplicando o LR destes marcadores pelo risco anteriormente definido.

MARCADORES ECOGRÁFICOS DO 1º TRIMESTRE

Com a descoberta da translucência da nuca e com a antecipação do rastreio para o 1º trimestre, tentaram definir-se outros marcadores ecográficos de cromossomopatias no 1º trimestre.

OSSOS DO NARIZ

A constatação de que os indivíduos portadores de Síndrome de Down têm o nariz pequeno já tinha sido efectuada por Down quando descreveu a Síndrome⁶³. Cicero e colaboradores avaliaram a presença ou ausência dos ossos do nariz em 701 gravidezes que iam efectuar teste invasivo por rastreio positivo com base na translucência da nuca. Os ossos do nariz estavam ausentes em 72,9% dos fetos que depois se confirmou terem trissomia 21 e em 0,5% dos fetos normais. A ausência dos ossos do nariz é independente da translucência da nuca, pelo que os dois marcadores podem ser usados simultaneamente, com aumento da taxa de detecção de 75% para 93% com 5% de falsos positivos, ou de 57% para 86% com 1% de falsos positivos⁶⁰. A avaliação da presença ou ausência dos ossos do nariz tem regras semelhantes à avaliação da translucência da nuca (Figuras 1 e 2), também estabelecidas pela Fetal Medicine Foundation (35). Devem observar-se, movendo ligeiramente a sonda, três linhas distintas, em que as duas proximais são paralelas, lembrando o “sinal igual”. A superior representa a pele e a inferior, mais espessa e mais ecogénica, representa os ossos do nariz. A 3ª linha, praticamente em continuidade com a pele, representa a ponta do nariz. A ausência da linha inferior do “sinal igual” traduz a ausência dos ossos do nariz.

Um estudo retrospectivo, caso-controlo, foi efectuado às 11-14 semanas, em 100 fetos com trissomia 21 e em 400 fetos normais para avaliar a independência dos ossos do nariz. A translucência da nuca e os níveis séricos de PAPP-A e da fracção livre da β -hCG são independentes da presença ou ausência dos ossos do nariz, podendo portanto ser combinados para o cálculo de risco de trissomia 21. A utilização combinada destes marcadores tem uma taxa de detecção de 97% para 5% de falsos positivos ou uma taxa de detecção de 90% para 0,5% de falsos positivos⁶⁴. Um estudo posteriormente publicado, englobando um maior número de gravidezes (7638 fetos normais, 142 com trissomia 21, 34 com trissomia 18 e 12 com trissomia 13), confirmou a utilidade dos ossos do nariz. O rastreio combinado com ossos do nariz tem uma taxa de detecção de 90,2% com uma taxa de

falsos positivos de 1%⁶⁵. A incidência de ausência dos ossos do nariz é maior nos fetos de origem africana do que nos caucasianos, aumenta com a translucência da nuca e decresce com o comprimento craniocaudal⁶⁶, pelo que estes parâmetros têm que ser considerados no cálculo de risco.

DUCTO VENOSO

A presença de fluxo anormal no ducto venoso está relacionada com insuficiência cardíaca precoce, que é uma das hipóteses etiopatogénicas para a translucência da nuca aumentada^{67,68}. A possibilidade de utilização do padrão do fluxo sanguíneo no ducto venoso no rastreio de cromossomopatias foi avaliada através da análise de 586 grávidas antes da realização da amniocentese. Estas grávidas haviam sido seleccionadas pela idade materna e pela translucência da nuca aumentada. Em 90,5% dos fetos com aneuploidias havia fluxo ausente ou invertido durante a contracção auricular no ducto venoso⁶⁹. Estes resultados sugerem o interesse do ducto venoso como método de rastreio de 2º nível de trissomia 21. A utilização do ducto venoso nas gravidezes com risco elevado para cromossomopatia (aquelas que fora rastreadas como positivas no rastreio do 1º trimestre), resultaria na redução das técnicas invasivas apenas com ligeira redução de sensibilidade^{69,70}.

Prefumo e colaboradores publicaram em 2005 um estudo observacional prospectivo envolvendo 628 fetos que foram submetidos a biópsia das vilosidades coriônicas (BVC) por risco aumentado para trissomia 21. Antes da realização da BVC foi avaliada a translucência da nuca, a presença dos ossos do nariz e o padrão do fluxo no ducto venoso. Todos os parâmetros analisados se mostraram independentes. A adição dos ossos do nariz e do ducto venoso permite aumentar a taxa de detecção da Síndrome de Down 2-4% ou diminuir a taxa de falsos positivos para metade⁷¹.

FREQUÊNCIA CARDÍACA FETAL

A frequência cardíaca aumenta até às 9 semanas de gestação devido ao desenvolvimento morfológico do coração e ao predomínio da actividade miogénica

intrínseca. Decresce depois das 10 às 14 semanas, em consequência da maturação do sistema parasimpático.

Hyett e colaboradores avaliaram prospectivamente a frequência cardíaca fetal (FCF) no exame ecográfico de 1º trimestre. Nos 85 fetos com trissomia 21 a FCF era significativamente mais elevada do que nos 6903 fetos normais. Para 5% de falsos positivos a sensibilidade do rastreio do 1º trimestre com base na idade materna e na translucência da nuca aumenta de 76% para 83% com a inclusão da frequência cardíaca fetal⁷².

REGURGITAÇÃO TRICÚSPIDA

Na avaliação ecocardiográfica de 262 fetos com risco aumentado para cardiopatias, a presença de regurgitação tricúspida esteve mais frequentemente associada a cromossomopatias⁷³. A presença de regurgitação tricúspida parece constituir um marcador de cromossomopatias, mesmo na ausência de cardiopatia⁷³. Com o objectivo de avaliar o “likelihood ratio” para trissomia 21 da regurgitação tricúspida, foram estudados 742 fetos entre as 11 e as 13 semanas e 6 dias. A presença de regurgitação tricúspida está associada a maior risco de Síndrome de Down. A prevalência de regurgitação tricúspida aumenta com a translucência da nuca e com a presença de anomalias cardíacas e diminui com o comprimento craniocaudal⁷⁴. Num estudo prospectivo envolvendo 77 trissomias 21 e 232 controlos normais, foram avaliadas duas estratégias de rastreio: uma na qual se englobou a avaliação da TN, da regurgitação tricúspida, da fracção livre da β -hCG e a PAPP-A e outra em duas etapas, na qual a regurgitação tricúspida só foi avaliada nos fetos com risco entre 1 em 100 e 1 em 1000. O rastreio englobando os quatro marcadores permite uma taxa de detecção de 90% para uma taxa de falsos positivos de 2-3%. Quando se faz o rastreio em dois níveis, a taxa de detecção obtida foi de 91% para 2,6% de falsos positivos⁷⁵. A grande vantagem da regurgitação tricúspida é a sua utilização como método de rastreio de 2º nível, em grávidas com risco intermédio, nas quais a presença de fluxo normal pode ser suficientemente tranquilizador.

OUTROS MARCADORES ECOGRÁFICOS DO 1º TRIMESTRE

Vários outros marcadores ecográficos do 1º trimestre foram estudados, como o comprimento do maxilar⁷⁶, o tamanho das orelhas⁷⁷, o diâmetro do cordão umbilical⁷⁸, a artéria umbilical única⁷⁹, o comprimento do fémur e do úmero⁸⁰, a braquicefalia, mas sem que nenhum se mostrasse útil no rastreio. Mais recentemente está em estudo a avaliação do ângulo frontomaxilar da face, que quando aumentado sugere a existência de trissomia 21⁸¹.

RASTREIO DO 1º TRIMESTRE EM DOIS NÍVEIS (PATIENT-ORIENTED, 2-STAGE, FIRST TRIMESTER SCREENING)

Na conferência “Down’s Syndrome Screening Programme” efectuada em Janeiro de 2006, Nicolaides propôs a realização do rastreio do 1º trimestre efectuada em dois níveis⁸². Todas as grávidas efectuem rastreio combinado com avaliação imediata do risco. Aquelas que têm um baixo risco (menor que 1 em 1000) não são submetidas a mais nenhuma investigação. As que têm um risco elevado (igual ou superior a 1 em 100) realizam biópsia das vilosidades coriônicas. Às que têm um risco intermédio (entre 1 em 100 e 1 em 1000) é avaliado o ON, o DV e a regurgitação tricúspida, com nova avaliação de risco e realização de BVC nos casos positivos. Este método de rastreio tem uma taxa de detecção de 90% com 2,5% de falsos positivos⁸².

OUTROS MARCADORES BIOQUÍMICOS

Vários marcadores urinários têm sido estudados sem que até ao momento algum se tenha mostrado útil para o rastreio da Síndrome de Down. O **fragmento β-core** é o principal metabolito da hCG na urina, que está aumentada no 2º trimestre nas grávidas de fetos afectados por trissomia 21⁸³. O seu poder discriminatório é baixo, pelo que é improvável que venha a ser útil no rastreio⁸⁴.

Cole e colaboradores demonstraram que a **hCG hiperglicosilada ou ITA (invasive trophoblast**

antigen) está aumentada nas grávidas com fetos portadores de trissomia 21⁸⁵. Num estudo prospectivo envolvendo 39 fetos com trissomia 21 e 1448 fetos normais foi avaliada a utilidade da ITA no rastreio de Síndrome de Down. A ITA nos casos de Síndrome de Down é 9,5 MoM superior ao normal, podendo a sua utilização detectar 80% dos indivíduos afectados com 5% de falsos positivos. A ITA em associação com o fragmento β-core, com a AFP sérica e com a idade materna tem uma taxa de detecção de 96% com 5% de falsos positivos⁸⁶. Vários marcadores urinários foram avaliados no estudo SURUSS: ITA, fragmento β-core, hCG total e fracção livre da β-hCG. Dos marcadores urinários o melhor para o rastreio de trissomia 21 foi o ITA, com um valor muito modesto (40% de taxa de detecção), não justificando a sua utilização, podendo a sua determinação sérica vir a ser útil⁴². Os resultados preliminares de um estudo prospectivo, com 28 fetos com síndrome de Down e com 2023 fetos normais, confirmou o aumento do ITA nas gravidezes afectadas (4,33 MOM), tendo sido documentada uma taxa de detecção de 59%. Adicionando o ITA ao teste triplo a taxa de detecção aumentava de 69 para 81% para uma taxa de falsos positivos de 5%⁸⁷. A possibilidade de utilização da **determinação sérica do ITA** no rastreio foi avaliada em 45 casos com fetos com trissomia 21 e em 238 fetos normais. O valor do ITA é superior nos fetos com trissomia 21 (3 MoM) e correlaciona-se muito com hCG e com a fracção livre da β-hCG, podendo substituí-las nos testes múltiplos⁸⁸. A utilização de **sd-ITA (sialic acid-deficient invasive trophoblast antigen)**, pode aumentar a sensibilidade do rastreio de Síndrome de Down⁸⁹. A possibilidade de utilização do **ITA sérico no 1º trimestre** tem também sido estudada, mostrando-se um marcador útil que eventualmente poderá substituir a fracção livre da β-hCG⁹⁰.

A **ADAM 12 (A Disintegrin And Metalloprotease, meltrin á)** é produzida pela placenta e os seus níveis séricos aumentam durante a gravidez de 180 µg/L às 8 semanas para 670 µg/L às 16 semanas, alcançando 12000 µg/L a termo⁹¹. Num estudo envolvendo 18 trissomias 21 e 154 controlos normais, a concentração sérica de ADAM 12 no 1º trimestre está diminuída no caso de fetos portadores de trissomia

21 (MoM 0,14)⁹¹. O rastreio combinando a IM, TN, free ãhCG, PAPP-A e ADAM12 pode atingir uma taxa de detecção de 92,4% com 0,8% de falsos positivos⁹¹. A ADAM 12 poderá vir a ser útil no rastreio de cromossomopatias, antes das 11 semanas, eventualmente em associação com PAPP-A, sobretudo nas populações que não têm acesso à TN. É, no entanto, importante ressaltar a necessidade incontornável de datar a gravidez correctamente por ecografia, para não introduzir erros na avaliação bioquímica.

SATISFAÇÃO

Com a variedade de testes de rastreio disponíveis, vários autores questionaram qual seria a preferência das grávidas.

Uma das grandes interrogações refere-se à opção entre o rastreio do primeiro e do segundo trimestre. Num estudo realizado na Austrália, em que foram efectuadas entrevistas a cem mulheres na 1º consulta, 70% optavam pelo rastreio do 1º trimestre, mesmo informadas de que desse modo alguns dos Síndromes de Down identificados iriam naturalmente ser abortados. As mulheres queriam saber se o feto estava afectado por Síndrome de Down, independentemente do resultado da gravidez, valorizando conhecer a causa do abortamento, quando este ocorria⁹². Na continuação deste estudo, foi avaliada a preferência pelo resultado do rastreio de Síndrome de Down através da comunicação do risco no início da gravidez (no momento da realização da amniocentese) ou do risco no momento do parto, através do inquérito realizado a 115 grávidas. A maioria das grávidas, 80, prefere receber o resultado do rastreio simultaneamente pelo risco no momento da realização do teste e pelo risco no momento do parto⁹³. A preferência pelo rastreio do primeiro trimestre estava relacionada com a realização da biópsia das vilosidades, o que permitia o resultado do diagnóstico precocemente. Quando o teste diagnóstico efectuado fôr a amniocentese, como esta é efectuado às 16 semanas, a vantagem da realização do rastreio no 1º trimestre não se coloca.

Com o aparecimento de novos métodos de rastreio, foi possível, não só, continuar a aumentar a taxa de detecção, para um valor fixo de falsos positivos de

5%, como surgiu a oportunidade de diminuir a taxa de falsos positivos, para uma determinada taxa de detecção. A diminuição da taxa de falsos positivos permite diminuir as perdas fetais secundárias à realização de técnicas invasivas e a ansiedade associada aos falsos positivos. Com o objectivo de avaliar a preferência das grávidas por um teste de rastreio com maior taxa de detecção mas uma alta taxa de falsos positivos ou por um teste de rastreio com uma menor taxa de falsos positivos e com menor taxa de detecção, foram realizadas 120 entrevistas. A maioria das grávidas escolhe realizar um teste com uma menor taxa de falsos positivos em vez de efectuar um teste com a maior taxa de detecção, justificando com o desejo de minimizar a perda de um feto normal e acreditando que uma taxa de detecção de 80 a 90% é aceitável⁹⁴. No grupo das grávidas com mais de 37 anos os testes com maior taxa de detecção foram os escolhidos, justificando estas grávidas que preferem perder um feto normal do que não detectar um feto com Síndrome de Down⁹⁴.

CUSTO/BENEFÍCIO

Wald e colaboradores, no estudo SURUSS, avaliaram também os custos dos vários testes analisados, tendo mostrado que os custos económicos do rastreio integrado eram inferiores aos do teste quádruplo ou do teste combinado⁴². Apesar de englobar mais determinações, tem uma maior taxa de detecção (menos nascimentos de indivíduos com Síndrome de Down) e menor taxa de falsos positivos (menor número de testes invasivos)⁴².

Harris e colaboradores efectuaram um estudo com o objectivo de avaliar a validade económica da utilização de um limiar baseado na idade ou no risco para oferecer a realização de testes de diagnóstico. Concluíram que o diagnóstico pré-natal de cromossomopatias tem vantagens em termos de custo-eficácia, independentemente da idade ou do risco, não existindo qualquer evidência económica que suporte o estabelecimento de um risco a partir do qual o diagnóstico deveria ser efectuado⁹⁵. Estes autores defendem a importância de respeitar as preferências das grávidas e a necessidade de as informar correctamente de modo a que estas possam decidir⁹⁵.

Em 2005 Odibo e colaboradores publicaram um estudo realizado nos EUA que pretendeu avaliar qual a estratégia de rastreio de Síndrome de Down tinha melhor custo-eficácia. Avaliaram nove estratégias (idade materna, translucência da nuca, rastreio combinado, rastreio integrado e rastreio sequencial, entre outras), tendo incluído nos custos, para além do preço dos testes, os recursos decorrentes do nascimento de uma criança com Síndrome de Down⁹⁶. O rastreio bioquímico integrado foi o que apresentou a melhor relação custo-eficácia. Se o preço da translucência da nuca baixasse os 57 dólares ou se uma ecografia morfológica for incluída nas estratégias de rastreio do 2º trimestre, então o rastreio combinado torna-se a melhor estratégia em termos de custo-eficácia⁹⁶.

RECOMENDAÇÕES ACTUAIS SOBRE RASTREIO E DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

As principais instituições ou sociedades, recomendam oferecer a possibilidade de realizar teste de rastreio a todas as grávidas antes das 20 semanas, independentemente da idade⁹⁷.

Jacob Canick, no editorial do Journal of Medical Screening onde foi publicado o estudo SURUSS, escreveu que os profissionais de Saúde tinham a obrigação de oferecer a realização do método de rastreio mais eficaz e mais seguro, cuja evidência no momento mostra ser o rastreio integrado⁹⁸.

Não existe ainda consenso sobre qual o melhor teste de rastreio a realizar, mas algumas instituições começam já a definir orientações.

Após a publicação dos resultados do estudo SURUSS⁴², o Antenatal Subcommittee of the UK National Screening Committee (NSC), recomendou a implementação de programas de rastreio com uma taxa de detecção superior a 60% e com uma taxa de falsos positivos inferior a 5% até Abril de 2004 e com uma taxa de detecção superior a 75% e com uma taxa de falsos positivos inferior a 3% até Abril de 2007⁹⁹. Em 2003 o National Institute of Clinical Excellence (NICE) publica as recomendações sobre cuidados pré-natais e reforça as indicações do NSC sobre rastreio de Síndrome de Down¹⁰⁰. Recomendam como métodos

de rastreio, para se obterem os resultados esperados, o rastreio combinado ou o rastreio integrado^{99,100}. Para as grávidas que apenas procuram os cuidados pré-natais no 2º trimestre, o método de rastreio recomendado é o teste quádruplo¹⁰⁰ (Tabela I).

O American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) em Janeiro de 2007 publicou as suas recomendações sobre rastreio de anomalias cromossómicas⁹⁷. O ACOG considera como método eficaz o rastreio combinado (recomendação de Nível A), com a vantagem das grávidas com rastreio positivo poderem optar pela realização de biopsia das vilosidades coriônicas⁹⁷. O rastreio integrado tem maior sensibilidade e menor taxa de falsos positivos do que o rastreio combinado (recomendação de Nível B). O rastreio bioquímico integrado é útil nos casos em que não é possível determinar a translucência da nuca (recomendação de Nível B)⁹⁷.

BIBLIOGRAFIA

1. John M. Last. A dictionary of Epidemiology. Oxford University Press, Oxford, 2001, pag 165
2. National Institute of Child Health and Human Development. Antenatal diagnosis: report of a consensus development conference, Bethesda: US Department of Health Education and Welfare, Public Health Service, National Institute of Health, 1979
3. Youings S, Gregson N, Jacobs P. The efficacy of maternal age screening for Down's syndrome in Wessex. Prenat Diagn 1991; 11: 419-425
4. INE, Estatísticas Demográficas, 2005
5. The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. Lancet 1998; 351: 242-7
6. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. Am J Obstet Gynecol 1984; 148: 886-894
7. Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement: a screening test for Down syndrome. Lancet 1984; 28: 926-9
8. Cuckle HS, Wald NJ, Thompson SG. Estimating a woman's risk of having a pregnancy associated with Down's syndrome using her age and serum a-fetoprotein level. Br J Obstet Gynaecol 1987; 94: 387-402
9. New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome Screening. Combining maternal serum a-fetoprotein measurements and age to screen for Down syndrome in pregnant women under age 35. Am J Obstet Gynecol 1989; 160: 575-81
10. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. Prenat Diagn 1987; 7: 623-30

11. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynecol* 1988; 95: 330-333
12. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, Canick JA. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297: 883-7
13. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA, Saller DN, Bowers GB. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal markers. *N Engl J Med* 1992; 327: 588-93
14. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Cunningham GC, Lustig LS, Boyd PA. Reducing the need for amniocentesis in women 35 years of age or older with serum markers for screening. *N Engl J Med* 1994; 330: 1114-1118
15. Van Lith JM, Pratt JJ, Beekhuis JR; Mantingh A. Second-trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1992; 12: 801-806
16. Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 1996; 16: 143-53
17. Wenstrom KD; Owen J, Chu DC, Boots L. Prospective evaluation of free b-subunit of human chorionic gonadotropin and dimeric inhibin A for aneuploidy detection. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 887-92
18. Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA; Cook EJ, Moore ND, Young JA; Romero K, Larsen JW Jr. Maternal serum Down syndrome screening : free beta protein is a more effective marker than the human chorionic gonadotropin *AJOG* 1990; 163: 1248-53
19. Macri JN, Spencer K, Garver K, Buchanan PD, Say B, Carpenter NJ, Muller F, Boué A. Maternal serum free beta hCG screening: results of studies including 480 cases of Down Syndrome. *Prenat Diagn* 1994; 14: 97-103
20. Extermann P, Bischof P, Marguerat P, Mermillod B. Second-trimester maternal serum screening for Down's syndrome: free b-human chorionic gonadotrophin (HCG) and a-fetoprotein, with or without unconjugated oestriol, compared with total HCG, a-fetoprotein and unconjugated oestriol. *Human Reproduction* 1998; 13: 220-223
21. Wald NJ, Huttly WJ, Hackshaw AK. Antenatal screening for Down's syndrome with the quadruple test. *Lancet* 2003; 361: 835-6
22. Spencer K, Crossley JA, Aitken DA, Nix ABJ, Dunstan FDJ, Williams K. Temporal changes in maternal serum biochemical markers of trisomy 21 across the first and second trimester of pregnancy. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 567-576
23. Persson PH. Ultrasound dating of pregnancy – still controversial? *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14: 9-11
24. Nguyen TH, Larsen T, Engholm G, Moller H. Evaluation of ultrasound-estimated date of delivery in 17450 spontaneous singleton birth: do we need to modify Naegele's rule? *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14: 23-28
25. Macri JN, Spencer K, Aitken D, Garver K, Buchanan PD, Muller F, Boue A. First-trimester free beta (hCG) screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1993; 13: 557-62
26. Brambati B, Macintosh MC; Teiner B, Maguiness S, Shrimanker K, Lanzani A, Bonacchi I, Tului L, Chard T, Grudzinskas JG. Low maternal serum levels of pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) in the first trimester in association with abnormal fetal karyotype. *Br J Obstet Gynecol* 1993; 100: 324-6
27. Brambati B, Tului L, Bonacchi I, Shrimanker K, Suzuki Y, Grudzinskas JG. Serum PAPP-A and free beta-hCG are first-trimester screening markers for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1994; 14: 1043-7
28. Krantz DA, Larsen JW, Buchanan PD, Macri JN. First-trimester Down syndrome screening: Free b-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 612-6
29. 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; 867-9
30. Pandya P, Brizot M, Kuhn P, Snijders RJ, Nicolaides KN. First-Trimester Fetal Nuchal Translucency Thickness and risk for trisomies. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 420-3
31. Pandya PP, Kondylis A, Hilbert L, Snijders RJM, Nicolaides KH. Chromosomal defects and outcome in 1015 fetus with increased nuchal. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5: 15-9
32. Pandya PP, Snijders RJ, Johnson SJ, Brizot M, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal traslucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *BJOG* 1995; 102: 957-62
33. Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH: UK multicentre Project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet* 1998; 352: 343-6
34. Nicolaides KH. Nuchal tranlucency and others first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *AJOG* 2004; 191, 45-67
35. <http://www.fetalmedicine>
36. Brizot ML, Snijders RJ, Bersinger NA, Kuhn P, Nicolaides KH. Plasma Protein A and Fetal Nuchal Translucency Thickness for the Prediction of Fetal Trisomies in Early Pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 918-22
37. Brizot ML, Snijders RJ, Butler J, Bersinger NA, Nicolaides KH. Maternal serum hCG and fetal nuchal translucency thickness for the prediction of fetal trisomies in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1995; 102: 127-32
38. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free b-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13: 231-237
39. Bindra R, Heath V, Liao A, Spencer K, Nicolaides KH. One-stop clinic for assessment of risk for trisomy 21 at 11-14 weeks: a prospective study of 15030 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20: 219-225
40. Platt LD, Greene N, Johnson A, Zachary J, Thom E, Krantz D, Simpson JL, Silver RK, Snijders RJM, Goetzl L, Pergament E, Filkins K, Mahoney J, Hogge WA, Wilson RD, Mohide P, Hershey D, MacGregor S, Bahado-Singh R, Jackson G, Wapner R. Sequential Pathways of testing after first-trimester sreening for trisomy 21. *Obstet Gynecol* 2004; 104: 661-6
41. Wald NJ; Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 1999; 341: 461-7
42. Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the result of the Serum, Urine and Ultrasound Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003; 10: 56-104
43. Maymon R, Betser M, Dreazen E, Padoa A, Herman A. A model for vdisclosing the first trimester part of an integrated Down's syndrome screening test. *Clin Genet* 2004; 65: 113-9
44. Wright D, Bradbury I, Benn P, Cuckle H, Ritchie K. Contigent screening for Down syndrome is a efficient alternative to non-

- disclosure sequential screening. *Prenat Diagn* 2004; 24: 762-6
45. Malone FD, Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, Bukowski R, Berkowitz RL, Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Dukes K, Bianchi DW, Rudnicka AR, Hackshaw AK, Lambert-Messerlian G, Wald NJ, D'Alton ME. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353: 2001-11
 46. Nyberg DA, Resta RG, Luthy DA, Hickok DE, Mahony BS, Hirsch JH. Prenatal sonographic findings of Down syndrome: review of 94 cases. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 370-7
 47. Nicolaides K, Shawwa M, Brizot M, Snijders R. Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1993; 3: 56-69
 48. Benacerraf BR, Gelman R, Frigoletto FD Jr. Sonographic identification of second-trimester fetus with Down's syndrome. *N Engl J Med* 1987; 317: 1317-6
 49. Nyberg DA, Resta RG, Hickok DE, Hollenbach KA, Luthy DA, Mahony BS. Femur length shortening in the detection of Down syndrome: is prenatal screening feasible. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 1247-52
 50. Nyberg DA, Resta RG, Luthy DA, Hickok DE, Williams MA. Humerus and femur length shortening in the detection of Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 534-8
 51. Benacerraf BR, Mandell J, Estroff JA, Harlow BL, Frigoletto FD Jr. Fetal pyelectasis: a possible association with Down syndrome. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 58-60
 52. Nyberg DA, Resta RG, Mahony BS, Dubinsky T, Luthy DA, Hickok DE, Luthardt FW. Fetal hyperchogenic bowel and Down's syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1993; 3: 330-3
 53. Benacerraf BR, Harlow BL, Frigoletto FD Jr. Hypoplasia of the middle phalanx of the fifth digit. A feature of the second trimester fetus with Down's syndrome. *J Ultrasound Med* 1990; 9: 389-94
 54. Bromley B, Lieberman E, Laboda L, Benacerraf BR. Echogenic intracardiac focus. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 998-1001
 55. Chan L, Hixson JL, Laifer SA, Marchese SG, Martin JG, Hill LM. A sonographic and karyotypic study of second-trimester fetal choroid plexus cysts. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 703-6
 56. Benacerraf BR, Neuberger D, Bromley B, Frigoletto FD Jr. Sonographic scoring index for prenatal detection of chromosomal abnormalities. *J Ultrasound Med* 1992; 11: 449-58
 57. Nyberg DA, Luthy DA, Cheng EY, Sheley RC, Resta RG, Williams MA. Role of prenatal ultrasonography in women with positive screen for Down syndrome on the basis of maternal serum markers. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1030-5
 58. Nyberg DA, Souter VL. Sonographic markers of the fetal trisomies: second trimester. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 655-74
 59. Nyberg DA, Souter VL, El-Bastawissi A, Young S, Luthardt F, Luthy DA. Isolated sonographic markers for detection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med* 2001; 20: 1053-63
 60. Cicero S, Curcio P, Papageorghiou A, Sonek J, Nicolaides KH. Absence of nasal bone in fetus with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet* 2001; 358: 1665-7
 61. Cicero S, Sonek JD, Mickenna DS, Croom CS, Johnson L, Nicolaides KH. Nasal bone hypoplasia in trisomy 21 at 15-22 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 21: 15-18
 62. Bromley B, Lieberman E, Shipp TD, Benacerraf BR. The genetic sonogram: a method of risk assessment for Down syndrome in the second trimester. *J Ultrasound Med* 2002; 21: 1087-96
 63. Down JH. Observations on an ethnic classification of idiots. *London Hosp Clin Lect Rep* 1866; 3: 259-262
 64. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, Nicolaides KH. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, 65. Cicero S, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Nicolaides KH. Maternal biochemistry at 11-13+6 weeks in relation to the presence or absence of the nasal bone on ultrasonography in chromosomally abnormal fetuses: an update analysis of integrated ultrasound and biochemical screening. *Prenat Diagn* 2005; 25: 977-983
 66. Cicero S, Longo D, Rembouskos G, Sacchini C, Nicolaides KH. Absent Nasal bone at 11-14 weeks of gestation and chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22:31-35
 67. Montenegro N, Matias A, Areias JC, Castedo S, Barros H. Increased fetal nuchal translucency: possible involvement of early cardiac failure. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10: 265-268
 68. Matias A, Montenegro N, Areias JC. Anomalous fetal venous return associated with major chromosomal in the late first trimester of pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997;209-213
 69. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities at 10-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 380-4
 70. Matias A, Montenegro N. Ductus venosus blood flow in chromosomally abnormal fetuses at 11-14 weeks of gestation. *Seminars in Perinatology* 2001; 25: 32-37
 71. Prefumo F, Sethna F, Sairam S, Bhide A, Thilaganathan B. First-trimester ductus venosus, nasal bones, and Down Syndrome in a high-risk population. *Obstet Gynecol* 2005; 105: 1348-54
 72. Hyett JA, Noble PL, Snidjers RJM, Montenegro N, Nicolaides KH. Fetal heart rate in trisomy 21 and others chromosomal abnormalities at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7: 239-244
 73. Huggon IC, DeFigueiredo 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
 74. Faiola S, Tsoi E, Huggon IC, Allan LD, Nicolaides KH. Likelihood ratio for trisomy 21 in fetus with tricuspid regurgitation at the 11 to 13 + 6 -week scan. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 26: 22-7
 75. Falcon O, Auer M, Gerovassili A, Spencer K, Nicolaides KH. Screening for trisomy by fetal tricuspid regurgitation, nuchal translucency and maternal serum free beta-hCG and PAPP-A at 11+0 to 13+6 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006; 27: 151-5
 76. Cicero S, Curcio P, Rembouskos G, Sonek J, Nicolaides KH. Maxillary length at 11-14 weeks of gestation in fetuses with trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 24: 19-22
 77. Sacchini C, El-Sheikhah A, Cicero S, Rembouskos G, Nicolaides KH. Ear length in trisomy 21 fetuses at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22: 460-3
 78. Rembouskos G, Cicero S, Papadopoulos V, Tripsanas C, Nicolaides KH. Umbilical cord diameter at 11-14 weeks of gestation: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 237-9
 79. Rembouskos G, Cicero S, Longo D, Sacchini C, Nicolaides KH. Single umbilical artery at 11-14 weeks' gestation: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 22: 567-70
 80. Longo D, DeFigueiredo D, Cicero S, Sacchini C, Nicolaides KH. Femur and humerus length in trisomy 21 fetuses at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 143-7
 81. Sonek J, Borenstein M, Dagklis T, Persico N, Nicolaides KH. Frontomaxillary facila angle in fetuses with trisomy 21 at 11-13(6) weeks. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 271-4
 82. Nicolaides K. Screening for aneuploidy at 11-13+6 weeks. In "Down's Syndrome Screening Programme" conference. 2006. <http://www.screening.nhs.uk/downs/Kypros.pdf>

83. Cuckle HS, Iles RK, Chard T. Urinary b-core human chorionic gonadotrophin: a new approach to Down's syndrome screening. *Prenatal Diagnosis* 1994; 14: 953-8
 84. Cuckle HS, Canick JA, Kellner LH and The Collaborative Study Group. Collaborative Study of maternal urine b-core human chorionic gonadotrophin screening for Down Syndrome. *Prenatal Diagnosis* 2003; 19: 911-7
 85. Cole LA, Cermik D, Bahado-Singh RO. Oligosaccharide variants of hCG-related molecules: potential screening markers for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1997; 17: 1188-90
 86. Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Bahado-Singh RO, Mahoney MJ. Hyperglycosylated Human Chorionic Gonadotropin (Invasive Trophoblast Antigen) Immunoassay: a new basis for gestational Down syndrome screening. *Clinical Chemistry* 1999; 45:2109-2119
 87. Palomaki GE; Knight GJ, Roberson MM, Cunnigham GC, Lee JE, Strom CM, Pandian R. Invasive Trophoblast Antigen (Hyperglycosylated Human Chorionic Gonadotropin) in second-trimester maternal urine as a marker for Down syndrome: preliminary results of an observational study on fresh samples. *Clinical Chemistry* 2004; 50: 182-9
 88. Palomaki GE; Neveux LM, Knight GJ, Haddow JE, Pandian R. Maternal serum Invasive Trophoblast Antigen (Hyperglycosylated hCG) as a screening marker for Down syndrome during the second trimester. *Clinical Chemistry* 2004; 50: 1804-1808
 89. Sialic acid-deficient invasive trophoblast antigen (sd-ITA): a new urinary variant for gestational Down syndrome screening. Sutton JM; Cole LA. *Prenat Diagn* 2004; 24: 194-7
 90. Palomaki GE; Knight GJ, Neveux LM, Pandian R, Haddow JE. Maternal serum Invasive Trophoblast Antigen and first-trimester Down syndrome screening. *Clinical Chemistry* 2005; 51: 1499-504
 91. Laigaard J, Sorensen T, Frohlich C, Pedersen BN, Christiansen M, Schiott K, Uldbjerg N, Albrechtsen R, Clausen HV, Ottesen B, Wewer UM. ADAM12: a novel first-trimester maternal serum marker for Down syndrome. *Prenat Diagn* 2003; 23: 1086-91
 92. Mulvey S, Wallace EM. Women's knowledge of and attitudes to first and second trimester screening for Down's syndrome. *BJOG* 2000; 107: 1302-5
 93. Mulvey S, Pham T, Tyzack K, Wallace EM. Women's preferences for reporting of Down's syndrome screening results. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 2002; 42: 504-7
 94. Mulvey S, Zachariah R., McIlwaine K, Wallace EM. Do women prefer to have screening tests for Down syndrome that have the lowest screen-positive rate or the highest detection rate? *Prenat Diagnosis* 2003; 23: 828-832
 95. Harris RA, Washington AE, Nease RF Jr, Kuppermann M. Cost utility of prenatal diagnosis and the risk-based threshold. *Lancet* 2004; 363: 276-82
 96. Odibo AO, Stamilio DM, Nelson DB, Sehdev HM, Macones GA. A cost-effectiveness analysis of prenatal screening strategies for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2005; 106: 562-8
 97. ACOG Practice Bulletin N° 77: Screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 217-27
 98. Canick J. Safety first: choices in antenatal screening for Down's syndrome. *J Med Screen* 2003; 10: 55
 99. www.libraries.nelh.nhs.uk/screening
 100. www.nice.org.uk
-