



Bölgemizde ilk trimester tarama testi parametrelerinin medyan düzeylerinin belirlenmesi

Dilek Beker Şanlı, Kazım Kartkaya

Eskişehir Devlet Hastanesi Klinik Biyokimya Bölümü, Eskişehir

Özet

Amaç: Bu çalışmada amacımız gebelikte kullanılan ilk trimester tarama testi belirteçlerinin bölgemize ait medyan değerlerini belirleyerek mevcut meydanların uygun olup olmadığını saptamak ve şu anda kullanılan Prisca medyan değerlerine göre riskli saptanan vakaları yeni belirlenen medyanlara göre tekrar değerlendirerek sonuçları karşılaştırmak.

Yöntem: Bu çalışmada biyokimya laboratuvarımıza 2005-2010 yılları arasında ilk trimester tarama testi için başvuran, 11-13 gebelik haftaları arasında bulunan toplam 1,613 gebede serbest beta insan koryonik gonadotropini (serbest β -hCG) ve gebelik ilişkili plazma protein A (PAPP-A) değerleri geriye dönük olarak incelendi.

Bulgular: Serbest β -hCG ve PAPP-A için 11-13 haftalar arası medyan değerler her bir haftaya göre yeniden hesaplandı. 11-13. haftalarda Prisca medyan değerleri ile yeni hesaplanan bölgesel medyanlar karşılaştırıldığında; serbest β -hCG düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p>0.05$), PAPP-A düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark görüldü ($p<0.05$).

Sonuç: İlk trimester tarama testlerinde bölgesel medyanların hesaplanması ya da mevcut meydanların uygunluk açısından değerlendirilmesinin anne ve fetus açısından riskli olabilecek girişimsel işlemlere ihtiyacı azaltacağına inanmaktayız.

Anahtar sözcükler: Down sendromu, ilk trimester tarama testi, bölgesel medyan.

Determination of the median levels of first trimester screening test parameters in our region

Objective: In this study our purpose was to determine the median values of the first trimester screening parameters in pregnancy in our region to decide whether Prisca medians are appropriate or not and reevaluate risky pregnancies according to prisca medians by the way of the new regional median values and compare results.

Methods: In this study we evaluated serum free beta-human chorionic gonadotropin (free β -hCG) and pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) values of 1,613 pregnant women who admitted to our biochemistry laboratory for the first trimester screening test between 2005-2010.

Results: β -hCG and PAPP-A median values were calculated for each week between 11-13th gestational weeks. When regional medians calculated by Prisca median values on 11-13th weeks are compared, statistically no significant difference was found on free β -hCG levels ($p>0.05$) as there was statistically a significant difference on PAPP-A levels ($p<0.05$).

Conclusion: We believe that calculating regional median values or determining appropriateness of used medians can decrease the need for invasive diagnostic procedures which carries risk for both mother and fetus.

Key words: Down syndrome, first trimester screening, regional median.

Giriş

Fetal aneuploidi riski yüksek hastaların erken tespit edilmesi, daha ileri testler için zaman kazanılmasını sağlama ve fetus için karar aşamasında daha fazla seçenek sunma açısından tercih edilen bir durumdur.^[1] Fetal kromozom anomalilerinin taranmasında son yıllarda

önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu gelişmeler tarama ile ilgili tartışmaları artırmakla beraber çiftlere daha etkin tarama seçenekleri sağlamıştır. 1970'lerin başında Down sendromu taraması için anne yaşı tek yöntem olarak kullanılmıştır. Bu yöntemle trizomi 21'li fetüslerin üçte birinden azı saptanabilmiştir ve anne ya-

Yazışma adresi: Dr. Dilek Beker Şanlı, Eskişehir Devlet Hastanesi, Eskişehir.
e-posta: dilekbeker@yahoo.com

Geliş tarihi: Aralık 20, 2011; **Kabul tarihi:** Ocak 19, 2012

Bu yazının çevrimiçi İngilizce sürümü:
www.perinataljournal.com/20120201002
doi:10.2399/prn.12.0201002
Karekod (Quick Response) Code:



şının yetersiz bir tarama yöntemi olduğu görülmüştür. Özellikle 35 yaş ve üzeri olup yüksek riskli olarak kabul edilen hastalarda daha erken tarama yöntemleri ile aneuploidi ve diğer doğumsal defektler için belirlenen risk, tarama testi yapılmamış 20 yaşında bir hastadan daha düşük olabilmektedir.^[2] Down sendromu riskinin hesaplanmasında tek başına anne yaşı yerine biyokimyasal testlerin de kullanılması daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlamıştır. Günümüzde tüm gebelere tercihen NT ve biyokimyasal taramayı içeren ilk trimester taraması (kombine test) önerilmektedir, olanak yoksa ikinci trimester biyokimyasal tarama yapılabilir.^[3]

Kullanmakta olduğumuz ilk trimester tarama protokolleri maternal serum analitleri ve ultrasonografik değerlendirmeyi içermektedir. En belirleyici ilk trimester maternal serum analitleri serbest beta insan koryonik gonadotropini (serbest β -hCG) ve gebelikle ilişkili plazma protein A'dır (PAPP-A).^[1] Trizomi 21 tespit edilen gebelerde PAPP-A düzeylerinde azalma (ortalama 0.4 MoM), serbest β -hCG düzeylerinde ise artma gösterilmiştir (ortalama 1.8 MoM). Artmış aneuploidi riski taşıyan gebelerde yapılan çalışmalarda; artmış nukal saydamlık (NT) değerleri ile kromozomal defektler arasında ilişki gösterilmiştir. Nukal saydamlık fetüs boynunun arka kısmında deri altında sıvı ile dolu sonolüsent bir boşluktur. Vakaların %95'inde transabdominal ultrasonografik inceleme ile 11-14. gestasyonel haftalarda başarılı olarak ölçülebilir.^[4] İlk trimesterda sadece NT ile yapılan tarama, uygun program kullanılmışsa Down sendromu tanısında %70 ve üzeri duyarlılığa sahiptir.^[5] NT ölçümleri "multiple of median" (MoM) olarak ifade edildiğinde ve serum analitleri ile maternal yaş ilişkili riskleri kapsayan bir algoritmaya dahil edildiğinde tarama etkinliğinin belirgin olarak arttığı görülmüştür.^[1] Amniyosentez, koryon villus örnekleme ve kordosentez gibi girişimsel testler tanılal araçlardır ve tarama testi değildirlir. Fetal aneuploidi tanısında bu testler %100'e yakın doğruluğa olanak sağlamaktadır fakat beraberinde gebelik kaybı riski de taşımaktadır. Bu nedenle aneuploidi taraması için biyokimyasal ve ultrasonografik tarama yöntemleri tercih edilmektedir.^[6] Bu durum 35 yaş ve üzeri hastalar için amniyosentez oranının azalması ile sonuçlanmış ve aynı zamanda tüm gebeliklerde görülen %2-3 doğumsal defekt riskini paylaşan daha genç hastalar için de tarama yöntemlerini ulaşabilir hale getirmiştir. Daha etkin tarama yöntemleri; girişimsel incelemelere bağlı normal fetüs kaybında azalma ve kaynakların daha etkin kullanımı anlamına gelmektedir.^[2]

Tarama testlerinin klinik uygulamalarının ve yayınlanmış literatürün anlaşılması için tarama testinde kullanılan analit değerlerinin normalize edilmesinde kullanılan MoM istatistiğinin anlaşılması gereklidir. MoM değerlerinin hesaplanmasında her bir gebelik haftası için medyan değer seti oluşturulur. Daha sonra her bir test sonucu uygun gebelik haftası için belirlenen medyan değere bölünerek o test sonucuna karşılık gelen MoM değeri belirlenir. Ayrıca MoM değerlerinde analit düzeylerini etkileyen diğer maternal faktörler (örneğin maternal yaş, kilo, sigara kullanımı ve maternal ırk) de dikkate alınarak ayarlamalar yapılabilir. MoM değerleri şu anda fetal aneuploidi riskinin hesaplanmasında biyokimyasal analit değerlerini yorumlanabilir bir birime dönüştürmede yaygın olarak kullanılmaktadır.^[3] Tarama sonuçları açısından laboratuvar performansını etkileyen en yaygın nedenlerden biri doğru olmayan medyan değerlerin kullanılmasıdır. Kullanılan medyan değerlerin doğruluğundan emin olunması tarama laboratuvarının en önemli sorumluluklarından biridir.^[3]

Bu çalışmada Eskişehir bölgesinde ilk trimester tarama testi belirteçlerinin bölgesel medyan değerlerini belirleyerek mevcut meydanların uygun olup olmadığını saptamayı ve test sonuçları daha önce Prisca programı medyan değerlerine göre riskli çıkan vakaları, yeni belirlenen medyan değerlere göre tekrar değerlendirmeyi hedefledik.

Yöntem

Bu çalışmada 2005-2010 yılları arasında Eskişehir Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi laboratuvarına ilk trimester tarama testi için başvuran, gebelik yaşı 11 hafta 0 gün ile 13 hafta 6 gün arasında bulunan, Eskişehir ve çevresinde yaşayan toplam 1,613 gebe yer almıştır. Gebelerden alınan serum örneklerinde serbest β -hCG ve PAPP-A düzeyleri IMMULITE® 2000 cihazında (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, ABD) kemilüminesans yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Gebelik haftasının belirlenmesinde ise serum örneğinin alındığı tarihte yapılan ultrasonografik başpopo mesafesi (crown-rump length, CRL) ölçümleri esas alınmıştır. Vakalardan elde edilen serum numunelerinde ölçülen serbest β -hCG ve PAPP-A değerleri, vakaların diğer demografik verileri ile birlikte (maternal yaş, kilo, sigara içimi, diyabet, ikiz gebelik vb) PRISCA 4.0 (Prenatal Risk Hesaplama, TYPOLOG Software/GmbH, Hamburg, Almanya) programı ile değerlendirilmiştir. Her bir vakada ölçülen serbest β -hCG ve

PAPP-A hormon düzeyleri, aynı gebelik haftası için Prisca programında normal popülasyona göre belirlenmiş olan serbest β -hCG ve PAPP-A medyan değerleri ile karşılaştırılarak MoM değerleri hesaplanmıştır. Bölgesel medyan değerlerinin hesaplanabilmesi için Prisca programı ile değerlendirme sonucu riskli çıkan vakalar ve ikiz gebelikler çalışma dışında bırakılmıştır. Geriye kalan 1,613 gebeden elde edilen veriler çalışmada kullanılmıştır. İlk trimester tarama testinde riskli vakaların belirlenmesinde eşik değer Down sendromu için 1/250, trizomi 18 için 1/100 olarak kabul edilmiştir. Belirlenen yeni bölgesel medyan değerlere göre daha önce Prisca programında riskli çıkan vakalar yeniden değerlendirilerek MoM değerleri yeniden hesaplanmıştır ve eski MoM değerleri ile istatistiksel olarak karşılaştırılmış, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. İlk trimester tarama testi Prisca programı medyanlarına göre riskli çıkan gebelerin biyokimyasal testlerinin MoM değerleri, bölgesel medyanlara göre belirlenen MoM değerleri ile karşılaştırılırken, SPSS paket programı kullanıldı. Veriler normal dağılım göstermediği için nonparametrik testlerden Mann-Whitney U testi kullanıldı. Eskişehir bölgesi ilk trimester tarama testleri meydanları ile Prisca programı medyan değerleri karşılaştırılırken, Minitab 15 Paket programı kullanılarak sign test for median ile veriler arasındaki farklılıklar değerlendirildi. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya alınan gebelerin (n:1,613) demografik verileri **Tablo 1**'de görülmektedir. Çalışmaya kabul edilen 11-13 gebelik haftası arasında bulunan gebelerde serbest β -hCG ve PAPP-A için haftalara göre yeni medyan değerleri hesaplanmıştır. Serbest β -hCG dü-

zeylerinde 11, 12 ve 13. haftalarda Prisca medyan değerleri ile yeni hesaplanan bölgesel medyanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$). 11, 12 ve 13 haftalarda PAPP-A medyan değerlerinin Prisca'ya göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) (**Tablo 2**). Çalışmaya başlarken Prisca programında kullanılan eski medyan değerlere göre yapılan hesaplamada riskli olduğu için çalışma dışı bırakılan vakaların yeni hesaplanan bölgesel medyan değerlere göre serbest β -hCG ve PAPP-A düzeyleri yeniden değerlendirilmiş ve yeniden MoM değerleri hesaplanmıştır. Yeni hesaplanan MoM değerleri eskileri ile karşılaştırıldığına; 11, 12 ve 13. haftalarda serbest β -hCG ve PAPP-A MoM ları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p > 0.05$) (**Tablo 3**).

Tartışma

Tarama testlerinin amacı sağlıklı popülasyon içerisinde spesifik tanısal değerlendirme için yeterli düzeyde risk taşıyan daha küçük bir grubu kabul edilebilir doğrulukta belirlemektir.^[1] Gebelik sırasında tarama testleri, amniyosentez ve diğer obstetrik girişimlerin önerilebileceği gebelerin belirlenmesinde kullanılır. Prenatal tarama testlerinin kullanım alanı; fetal kromozom anomalilerinin, nöral tüp defekti riski taşıyan fetüslerin ve aynı zamanda gebelerde 3. trimester obstetrik komplikasyonlarının belirlenmesini kapsamaktadır. Maternal serum tarama programları erken tanı olanağı sağlayarak ve aileleri doğum stratejisi ile ilgili uygun kararları vermeleri için bilgilendirerek fetal morbidite ve mortalite potansiyelini azaltmaktadır.^[7] Tarama testi sonucu pozitif çıkan ailelere, Down sendromu ve kesin tanı için uygulanacak girişimsel işlemlerin kompli-

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen gebelere ait demografik veriler ve serum parametreleri.

N=1,613	Minimum	Maksimum	Ortalama	Standart sapma
Yaş	15.95	41.14	27.15	4.688
Gebelik haftası	11w 0days	13w 6days	12.48	0.705
Ağırlık (kg)	38	130	62.51	11.569
CRL	39	83	61.90	9.566
NT	0.10	3.50	1.58	0.482
NT (MoM)	0.07	2.33	1.00	0.305
Serbest β -hCG	6.43	181	42.09	24.464
Serbest β -hCG (MoM)	0.19	3.84	1.07	0.593
PAPP-A	0.39	15.5	3.08	2.003
PAPP-A (MoM)	0.15	3.95	1.06	0.610

Tablo 2. Eskişehir bölgesi ilk trimester tarama testleri medyanları ile Prisca programı medyan değerlerinin karşılaştırılması.

Test	Hafta	Grup	N	Medyan	p
Serbest β -hCG	11	Eskişehir	403	42.9	p>0.05
		Prisca	403	42.8	
Serbest β -hCG	12	Eskişehir	722	37.2	p>0.05
		Prisca	722	37.8	
Serbest β -hCG	13	Eskişehir	488	29.9	p>0.05
		Prisca	488	30.9	
PAPP-A	11	Eskişehir	403	1.64	p>0.05
		Prisca	403	1.53	
PAPP-A	12	Eskişehir	722	2.54	p<0.001
		Prisca	722	2.32	
PAPP-A	13	Eskişehir	488	3.72	p<0.001
		Prisca	488	3.19	

kasyonları hakkında yeterli bilgi ve danışmanlık hizmeti verilmelidir.^[8] Prenatal tarama yapan laboratuvarların en önemli sorumluluklarından biri kit spesifik ve popülasyon spesifik medyan değerleri taramada kullanılan her bir analit için belirlemek ya da başka bir kaynaktan elde edilen meydanların uygunluğunu tespit etmektir. Medyan değerlerindeki oldukça küçük hataların hesaplanan riskin doğruluğu ve tarama pozitif olarak belirlenen gebe sayısı üzerinde etkisi oldukça yüksektir.^[3] Prenatal tanı yöntemlerinde bölgesel medyan ve MoM değerlerindeki farklılıklara göre değerlendirme yapıldığında daha doğru sonuçlar elde edildiği gösterilmiştir.^[9] Biz laboratuvarımızın başlangıç pozitiflik

oranlarının yüksek bulunması ve bu durumun en önemli nedenlerinden biri uygun olmayan medyan değerlerin kullanılması olduğu için çalışmamızda bölgesel medyan değerleri kullanarak ilk trimester tarama riskinin daha doğru hesaplamayı hedefledik. PAPP-A için bölgesel medyan değerleri ile Prisca meydanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.05) ancak serbest β -hCG için bölgesel medyanlar ve prisca meydanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (p>0.05). Tek başına PAPP-A meydanlarındaki farklılık, daha önce riskli olarak tespit edilen vakaların risk durumunda istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. Kagan ve ark.'nın

Tablo 3. İlk trimester tarama testi Prisca programı medyanlarına göre riskli çıkan gebelerin biyokimyasal testlerinin MoM değerlerinin, yeni hesaplanan bölgesel medyanlara göre belirlenen MoM değerleri ile karşılaştırılması.

Test	Week	Group	N	MoM	25%	75%	p
Serbest β -hCG	11	Eskişehir	61	1.720	1.159	2.611	p>0.05
		Prisca	61	1.724	1.163	2.621	
Serbest β -hCG	12	Eskişehir	110	1.736	1.169	2.639	p>0.05
		Prisca	110	1.709	1.151	2.597	
Serbest β -hCG	13	Eskişehir	55	1.438	0.806	2.585	p>0.05
		Prisca	55	1.391	0.779	2.501	
PAPP-A	11	Eskişehir	61	0.493	0.371	0.728	p>0.05
		Prisca	61	0.496	0.397	0.781	
PAPP-A	12	Eskişehir	110	0.404	0.266	0.643	p>0.05
		Prisca	110	0.441	0.291	0.702	
PAPP-A	13	Eskişehir	55	0.362	0.229	0.568	p>0.05
		Prisca	55	0.423	0.258	0.647	

çalışmasında trizomi 21 için maternal yaş, fetal NT, serbest β -hCG ve PAPP-A'nın baz alındığı kombine taramada pozitif vakaları belirleme oranı %3, yanlış pozitiflik oranı ile birlikte yaklaşık %90 bulunmuştur.^[10] NT değerinin olduğundan yüksek ya da düşük ölçülmesi trizomi 21'in belirlenme oranında düşmeye neden olmaktadır. Tarama pozitifliği için sabit bir cut-off değeri alındığında fetal NT'nin olduğundan düşük ölçülmesi trizomi 21'in belirlenme oranını düşürürken, NT'nin olduğundan yüksek ölçülmesi ise yanlış pozitiflik oranını artırmaktadır. Tarama performansının yüksek olması için fetal NT ölçümünün doğru şekilde yapılması gerekmektedir.^[11] Wortelboer ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada zaman içerisinde ilk trimester tarama testlerinin performansının arttığı görülmüştür. NT ölçümlerinin daha doğru olarak yapılması bu durumun nedeni olarak gösterilirken, biyokimyasal parametreler için medyan değerlerinin doğru şekilde kullanılmasının da testin belirleme oranında artışa katkıda bulunabileceği gösterilmiştir.^[12] Ardawi ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada fetal NT, serbest β -hCG, PAPP-A için Suudi gebelerde MoM değerlerinin dağılımı incelenmiş; anne kilosu, sigara içimi, ikiz gebelik, etnik köken gibi faktörlerin 1. trimester tarama testleri sonuçları için önemli değişkenler olduğu görülmüştür.^[13] Alfa fetoprotein (AFP) ve insan koryonik gonadotropin gibi 2. trimester biyokimyasal belirteçlerine benzer şekilde 1. trimesterde PAPP-A ve serbest β -hCG'nin anormal serum konsantrasyonlarının plasental disfonksiyonla yakın ilişkili olan obstetrik komplikasyonlarla ilişkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda tartışmalı sonuçlar elde edilmiştir.^[14] Goetzinger ve ark.'nın yaptığı çalışmada ilk trimesterde düşük PAPP-A düzeylerinin preeklampsi gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.^[15] Spencer ve ark.'nın çalışmasında ise preeklampsi gelişen hastalarla kontrol grubu karşılaştırılmış; preeklampsi gelişen grupta PAPP-A, serbest β -hCG, aktivin A ve inhibin A'nın maternal serum düzeyleri belirgin olarak artmış bulunmuştur.^[16] Kirkegaard ve ark.'nın yaptığı çalışmada düşük PAPP-A ve düşük serbest β -hCG düzeyleri ile preterm doğum (<37 hafta) arasında anlamlı ilişki bulunmuştur.^[17] Erken doğum riski ile PAPP-A düzeyleri arasındaki ilişkiye rağmen PAPP-A'nın prediktif değerinin yüksek olmaması nedeni ile yaygın bir klinik tarama aracı olarak kullanılmamaktadır.^[18] İlk trimester sırasında yapısal defektlerin daha erken belirlenmesi yönündeki eğilim ultrason rezolüsyonu ve 3D multiplanar ultrasondaki gelişmelerle şüphesiz devam edecektir.^[2]

Sonuç

İlk trimester tarama testi ile değerlendirme sonrası riskli tespit edilen hastalara amniyosentez, koryon vil-lus biyopsisi gibi girişimsel ve risk taşıyan işlemler önerilmektedir. Sonuç olarak farklı bölgeler için, geniş vaka gruplarında bölgesel medyan değerlerinin hesaplanarak kullanılmasının ya da mevcut meydanların uygunluğunun araştırılmasının anne ve fetus açısından risk taşıyan girişimsel işlemlerin sıklığını azaltacağına ve tarama testlerinin performansını artıracığına inanmaktayız.

Çıkar Çakışması: Çıkar çakışması bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Gilstrap LC. Prenatal diagnosis and fetal therapy. In: Wenstorm KD, editor. Williams obstetrics. 22nd ed. New York: McGraw Hill; 2005. p. 323-8.
2. Nyberg DA, Hyett J, Johnson JA, Souter V. First-trimester screening. *Ultrasound Clin* 2006;1:231-55.
3. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Clinical chemistry of pregnancy. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders; 2006. p. 2168-76.
4. Creasy RK, Resnik R. Prenatal diagnosis of congenital disorders. In: Iams JD, editor. Maternal-fetal medicine: principles and practice. St. Louis: Saunders; 2004. p. 241-4
5. Cuckle HS, Lith JMM. Appropriate biochemical parameters in first-trimester screening for Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999;19:505-12.
6. James DK, Steer PJ, Weiner CP. Erken Prenatal Bakım. In: Güner H, editor. Yüksek riskli gebelikler. Yönetim seçenekleri. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2008. p. 65.
7. Rose NC, Mennuti MT. Maternal serum screening for neural tube defects and fetal chromosome abnormalities. *West J Med* 1993;159:312-7.
8. Cuckle H. Biochemical screening for Down syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92:97-101.
9. Yılmaz A. Erzurum bölgesinde üçlü tarama testi parametrelerinin medyan değerlerinin belirlenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2009;7:37-41.
10. Kagan KO, Etchegaray A, Zhou Y, Wright D, Nicolaidis KH. Prospective validation of first-trimester combined screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;34:14-8.
11. Kagan KO, Wright D, Etchegaray A, Zhou Y, Nicolaidis KH. Effect of deviation of nuchal translucency measurements on the performance of screening for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2009;33:657-64.
12. Wortelboer EJ, Koster MP, Stoutenbeek P, Elvers LH, Loeber JG, Visser GH, et al. First-trimester Down syndrome

- screening performance in the Dutch population; how to achieve further improvement? *Prenat Diagn* 2009;29:588-92.
13. Ardawi MS, Nasrat HA, Rouzi AA, Qari MH, Al-Qahtani MH, Abuzenadah AM. Maternal serum free-beta-chorionic gonadotrophin, pregnancy-associated plasma protein-A and fetal nuchal translucency thickness at 10-13(+6) weeks in relation to co-variables in pregnant Saudi women. *Prenat Diagn* 2007;27:303-11.
 14. Morssink LP, Kornman LH, Hallahan TW, Kloosterman MD, Beekhuis JR, de Wolf BT, et al. Maternal serum levels of free beta-hCG and PAPP-A in the first trimester of pregnancy are not associated with subsequent fetal growth retardation or preterm delivery. *Prenat Diagn* 1998;18:147-52.
 15. Goetzinger KR, Singla A, Gerkowicz S, Dicke JM, Gray DL, Odibo AO. Predicting the risk of pre-eclampsia between 11 and 13 weeks' gestation by combining maternal characteristics and serum analytes, PAPP-A and free β -hCG. *Prenat Diagn* 2010;30:1138-42.
 16. Spencer K, Yu CK, Savvidou M, Papageorghiou AT, Nicolaides KH. Prediction of pre-eclampsia by uterine artery Doppler ultrasonography and maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A, free beta-human chorionic gonadotropin, activin A and inhibin A at 22 + 0 to 24 + 6 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2006;27:658-63.
 17. Kirkegaard I, Uldbjerg N, Petersen OB, Tørring N, Henriksen TB. PAPP-A, free β -hCG, and early fetal growth identify two pathways leading to preterm delivery. *Prenat Diagn* 2010;30:956-63.
 18. Goetzinger KR, Cahill AG, Macones GA, Odibo AO. Association of first-trimester low PAPP-A levels with preterm birth. *Prenat Diagn* 2010;30:309-13.