

Małgorzata Perenc

# Diagnostyka prenatalna wad rozwojowych i genetycznych

## – metody inwazyjne i nieinwazyjne

Diagnostyka prenatalna stanowi jedno z największych osiągnięć współczesnej perinatologii. Dzięki niej lekarz położnik może we wczesnym okresie ciąży uzyskać informacje o zagrożeniach dla płodu i podjąć racjonalne działania prewencyjne bądź lecznicze, a przyszłe matki mają możliwość wykluczenia poważnych wad genetycznych i rozwojowych płodu oraz uzyskania informacji dotyczących jego rozwoju.

Ze względu na obciążenia związane z procedurami diagnostycznymi metody diagnostyki prenatalnej można podzielić na inwazyjne i nieinwazyjne.

Do nieinwazyjnych należą:

- badania ultrasonograficzne wykonywane w pierwszym lub drugim trymestrze ciąży,
- badania biochemiczne markerów produkowanych przez jednostkę płodowo-łożyskową w surowicy matki,
- analiza komórek płodowych krążących w krwiobiegu matki.

Do metod inwazyjnych zalicza się:

- biopsję trofoblastu,
- amniopunkcję,
- kordocentezę.

Wzrost zapotrzebowania na diagnostykę prenatalną wynika ze zmian demograficznych w krajach wysoko rozwiniętych, takich jak starszy wiek matek i mniejsza liczba potomstwa w rodzinie. Wiadomo powszechnie, że ciąży u starszych kobiet uzyskiwane często za pomocą technik wspomaganego rozrodu są ciążami wysokiego ryzyka, obciążonymi

jednocześnie większym prawdopodobieństwem wystąpienia trisomii u płodu.

### Wady rozwojowe

Wrodzoną wadą rozwojową nazywa się morfologiczną nieprawidłowość wewnętrzną lub zewnętrzną, powstającą w okresie życia płodowego, niezależnie od etiologii, patogenezы i momentu rozpoznania. Pojęcie to dotyczy także anomalii morfologicznych obecnych przy urodzeniu, a niewykrytych bezpośrednio po porodzie. Nie obejmuje natomiast zaburzeń funkcjonalnych, takich jak niektóre choroby metaboliczne (np. bloki metaboliczne), które nie współlistnieją z nieprawidłowościami morfologicznymi.

Etiologia większości wad rozwojowych pozostaje nieznana, przyczyn rozwoju innych upatruje się w czynnikach genetycznych bądź środowiskowych (tab. 1.). Przyjmuje się, że występowanie większości wad rozwojowych jest uwarunkowane wieloczynnikowo. Czynniki egzogenne mogą odgrywać znaczną rolę w ekspresji zmutowanego genu bądź genów.

Wady rozwojowe dotyczyć mogą wszystkich układów i narządów. Do najczęstszych należą wady:

- układu krążenia,
- ośrodkowego układu nerwowego (OUN),
- moczowego,
- narządów płciowych,
- układu pokarmowego, w tym rozszczep wargi i podniebienia.

### Wady genetyczne

Wadami genetycznymi nazywa się nieprawidłowości genomu, które są zarówno wynikiem dziedziczenia, jak i te, które mogą powstawać *de novo*.

Klinicznym wyrazem tych nieprawidłowości są choroby, które mogą być następstwem mutacji

Etiologia	Proc.
nieustalona	60
wieloczynnikowa	20
jednogenowa	7,5
aberracje chromosomowe	6
choroby matki	3
wrodzone infekcje	2
leki, alkohol, promieniowanie X	1,5

Tab. 1.  
Etiologia wrodzonych wad rozwojowych [36]

pojedynczych genów, takie jak fenylketonuria, mukowiscydoza, choroba Huntingtona, dystrofia mięśniowa typu Werdnigera-Hoffmana bądź zespoły chorób genetycznych spowodowane strukturalnymi lub liczbowymi aberracjami chromosomowymi.

Do najczęściej występujących liczbowych aberracji chromosomowych zalicza się aneuploidie chromosomów płciowych (częstość występowania 0,39 proc.), takie jak np. zespół Turnera, zespół Klinefeltera oraz autosomalne trisomie – głównie chromosomów pary 13 (zespół Patau), 18 (zespół Edwardsa) i 21 (zespół Downa) (częstość występowania 0,14 proc.) [1]. Aberracje chromosomowe stanowią przyczynę ok. 50–60 proc. poronień samonistnych, występują u 1/120 noworodków (częstość występowania 0,83 proc.), są również przyczyną 5–7 proc. zgonów w okresie noworodkowym i niemowlęcym [1]. Zawsze wiążą się one z dużymi wadami rozwojowymi, upośledzającymi funkcjonowanie organizmu i prowadzącymi do przedwczesnej śmierci.

## Nieinwazyjne metody diagnostyki prenatalnej

### Badania ultrasonograficzne

Badania ultrasonograficzne w diagnostyce prenatalnej mają blisko 30-letnią tradycję. Pierwszym sukcesem tych badań było rozpoznanie bezmózgowia u płodu w 1972 r. Obecnie stanowią one nieocenioną i najbardziej dostępną metodę oceny rozwoju płodu, a ich przydatność zmienia się w różnych okresach ciąży.

W I trymestrze pozwalają na dokładne określenie wieku ciążowego, żywotności płodu oraz patologii trofoblastu. Duże znaczenie ma w tym okresie pomiar tzw. przezierności karkowej (*nuchal translucency NT*), tj. hipoechoge-

nicznej przestrzeni w okolicy potyliczno-karkowej płodu, której poszerzenie wskazuje na poważne zagrożenie trisomią chromosomów pary 18 lub 21 [2]. Pomiar ten jest wykonywany pomiędzy 10. a 14. tyg. ciąży i przez wielu autorów uważany jest za najczulsze badanie przesiewowe w diagnostyce zespołu Downa.

W II trymestrze ultrasonografia służy głównie diagnostyce wad rozwojowych. Optymalnym okresem do wykonania ultrasonograficznego badania przesiewowego jest 16.–18. tydz. ciąży. Stwarza ono możliwości wykrycia większości wad ośrodkowego układu nerwowego oraz zagrożeń aneuploidią chromosomową. Służy temu tzw. *USG genetyczne*, które polega na poszukiwaniu nieprawidłowości anatomicznych charakterystycznych dla zespołu Downa i innych aneuploidii wg określonego, zdefiniowanego schematu.

W III trymestrze ultrasonografia pozwala ocenić postęp wzrastania oraz wielkość i położenie płodu, co ma istotne znaczenie dla przebiegu porodu.

### Badania surowicy krwi kobiet ciężarnych

Podstawowym badaniem surowicy krwi kobiety ciężarnej jest tzw. test potrójny. Badanie to wykonywane jest pomiędzy 14. a 21. tyg. ciąży i polega na jednoczesnym oznaczeniu stężeń 3 parametrów:  $\alpha$ -fetoproteiny, gonadotropiny kosmówkowej (*human chorionic gonadotropin hCG*) lub jej podjednostki  $\beta$  oraz niezwiązanego estriolu. Ich stężenia w ciąży fizjologicznej ulegają charakterystycznym zmianom w kolejnych tygodniach ciąży. Obraz tych zmian ulega zakłóceniu w sposób typowy dla określonych patologii płodu, co jest istotą diagnostycznej wartości testu potrójnego.

Dla wiarygodnej interpretacji testu potrójnego konieczne jest

określenie wieku ciąży w oparciu o badanie ultrasonograficzne [3, 4] oraz dane z wywiadu położniczego i internistycznego, takie jak ciężar ciała [4, 5, 6], nałóg palenia tytoniu [5, 7], cukrzyca insulinozależna [8], które modyfikują stężenia badanych markerów. Informacje powyższe podane analizie komputerowej określają ryzyko (prawdopodobieństwo) wystąpienia trisomii chromosomu 18 i 21 oraz otwartych wad ośrodkowego układu nerwowego u płodu.

Wartości odcinające (graniczne) dla ryzyka wystąpienia zespołu Downa u płodu są wyznaczone arbitralnie w różnych ośrodkach i zazwyczaj zawierają się w przedziale od 1:190 do 1:300. Wartości ryzyka wyższe od wartości odcinających stanowią wskazanie do przeprowadzenia inwazyjnych badań prenatalnych. W przypadkach ciąży z trisomią chromosomu 21 u płodu, stężenia badanych parametrów ulegają charakterystycznym zmianom: stężenia  $\alpha$ -fetoproteiny i niezwiązanego estriolu ulegają obniżeniu do wartości poniżej 0,6–0,7 wielokrotności mediany, natomiast stężenia całkowitej hCG i wolnej  $\beta$ -hCG wzrastają powyżej 2,5 wielokrotności mediany [9, 10]. W przypadkach zespołu Edwardsa diagnozowanych prenatalnie stężenia wszystkich 3 badanych parametrów w surowicy matki ulegają obniżeniu: stężenia  $\alpha$ -fetoproteiny i niezwiązanego estriolu do wartości poniżej 0,6 wielokrotności mediany, natomiast stężenia całkowitej hCG i wolnej  $\beta$ -hCG poniżej 0,3 wielokrotności mediany [11]. Otwarte wady ośrodkowego układu nerwowego u płodu powodują wzrost stężenia  $\alpha$ -fetoproteiny w surowicy matki powyżej 2,5 wielokrotności mediany. Wykrywalność zespołu Downa u płodu przy pomocy testu potrójnego jest uzależniona od wieku kobiety ciężarnej.

Ryzyko urodzenia dziecka z trisomią chromosomu 21 wzrasta wraz z wiekiem matki; np. dla kobiety 20-letniej wynosi ono 1:1 800, natomiast dla 38-letniej 1:200. Czulość testu potrójnego (wykrywalność trisomii chromosomu 21 u płodu) jest wprost proporcjonalna do wieku matki. Wynika to z konstrukcji wzorów matematycznych, stosowanych w programie komputerowym służących do obliczania ryzyka. Dla kobiet 25-letnich czulość testu potrójnego wynosi ok. 60 proc., natomiast dla kobiet 38-letnich 80 proc. [10, 12]. Wraz ze wzrostem czulości testu spada jego swoistość, co powoduje wzrost odsetka wyników fałszywie dodatnich u ciężarnych powyżej 35. roku życia. Z tego też względu, mimo ogromnej przydatności klinicznej test potrójny ma swoje ograniczenia, jego wykonywanie zalecane jest u kobiet ciężarnych, które nie ukończą 39. roku życia w chwili porodu. U starszych matek ze względu na duże ryzyko urodzenia dziecka z trisomią chromosomu 21 zaleca się inwazyjne techniki diagnostyki prenatalnej.

Do markerów trisomii chromosomu 21 u płodu należy także dimeryczna inhibina A – glikoproteina wytwarzana we wczesnej ciąży przez ciało żółte i trofoblast. Jej stężenie w surowicy kobiety ciężarnej, podobnie jak stężenie całkowitej hCG i wolnej  $\beta$ -hCG, wzrasta w przypadkach trisomii chromosomu 21 u płodu do 2,06 [13] – 2,6 wielokrotności mediany [14]. Włączenie dimerycznej inhibiny A jako czwartego, dodatkowego markera do testu potrójnego zwiększa wykrywalność zespołu Downa do 78 proc. [15].

Dimeryczna inhibina A znalazła również zastosowanie jako marker trisomii chromosomu 21 w I trymestrze – pomiędzy 11. a 13. tyg. ciąży, stężenie jej wzra-

sta wtedy do 2,46 wielokrotności mediany. Oznaczanie wyłącznie tego parametru pozwala uzyskać 65-procentową wykrywalność zespołu Downa przy 4 proc. przypadków fałszywie dodatnich [16].

Do parametrów biochemicznych w surowicy kobiety ciężarnej oznaczanych pod koniec I trymestru ciąży należą także: wolna  $\beta$ -hCG oraz osoczowa ciążowa proteina A (PAPP-A). Stężenie wolnej  $\beta$ -hCG, podobnie jak stężenie całkowitej hCG i całkowitej  $\beta$ -hCG wzrasta do wartości 2,09 wielokrotności mediany [17]. Stężenie PAPP-A w ciąży z zespołem Downa u płodu jest obniżone jedynie w I trymestrze, w II trymestrze nie wykazuje różnic w porównaniu z ciążą fizjologiczną [18, 19]. Pomiędzy 8. a 12. tyg. ciąży stężenie PAPP-A obniża się do wartości 0,31 wielokrotności mediany [20]. Wykrywalność trisomii chromosomu 21 przy wykorzystaniu oznaczeń stężeń PAPP-A wynosi 71,2 proc., natomiast łączne oznaczanie stężeń PAPP-A i wolnej  $\beta$ -hCG pozwala uzyskać czulość 78,9 proc. [20].

### **Analiza komórek płodowych krążących w krwiobiegu matki**

Komórki płodowe krążące w krwiobiegu matki wydają się najprostszym źródłem pozyskiwania materiału genetycznego do badań płodu. Okazuje się jednakże, że trudności związane z ich identyfikacją i izolowaniem stwarzają poważne problemy metodyczne. Do badań prenatalnych wykorzystuje się płodowe, jądrowe krwinki czerwone (*nucleated red blood cell – NRBC*) [21]. NRBC są najwcześniej wytwarzanymi komórkami hematopoetycznymi płodu i w krwiobiegu matki obecne są już w 6 tyg. ciąży. Posiadają one konieczne do badań genetycznych jądra oraz charakteryzują się ograniczoną

zdolnością namnażania i krótkim okresem przeżycia, dzięki czemu nie pozostają w krwiobiegu matki do następnej ciąży.

Płodowe NRBC izoluje się z krwi matki techniką cytofluorymetrii przepływową lub separacji magnetycznej. Cytofluorymetria przepływowa pozwala na uzyskanie czystszej populacji komórek NRBC niż separacja magnetyczna. Wykorzystuje ona 3 cechy NRBC: obecność jądra, hemoglobiny płodowej oraz ekspresję receptorów powierzchniowych CD71, podczas gdy separacja magnetyczna opiera się jedynie na ekspresji CD71 [22, 23]. Pomimo tego obie metody obarczone są zawsze zanieczyszczeniami badanej próbki przez komórki pochodzenia matczynego. Zidentyfikowane i wyizolowane pojedyncze komórki NRBC mogą być wydobywane z próbki, a ich materiał genetyczny poddawany reakcji PCR. Procedura ta daje duże możliwości wykonywania badań genetycznych płodu w kierunku chorób uwarunkowanych mutacjami genowymi [24, 25]. Wykryto, że w przypadkach istniejącej aneuploidii u płodu liczba komórek płodowych w krwiobiegu matki jest większa w porównaniu do ich liczby w ciąży prawidłowej, większa jest także gęstość receptorów powierzchniowych CD71 [26, 27]. Daje to możliwość łatwiejszego wykrywania aneuploidii u płodu. Analiza aneuploidii płodowych – głównie chromosomów X, Y, 13, 18 i 21 jest przeprowadzana przy użyciu fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (*FISH – fluorescent in situ hybridization*) lub poprzez analizę molekularną z wykorzystaniem markerów DNA (mikrosatelitów bądź krótkich powtarzających się sekwencji ułożonych tandemowo – *short tandem repeats STR*).

Podejmowane próby badania innych komórek płodowych



z krwiobiegu matki niż jądrowe krwinki czerwone okazały się bardziej zawodne. Komórki trofoblastu były znacznie trudniejsze do identyfikacji i izolowania [28]. Natomiast płodowe krwinki białe posiadające zdolność długiego przeżycia – nawet do 27 lat po porodzie [29], stanowiły zagrożenie fałszywych rozpoznania, spowodowanych izolowaniem komórek płodowych pochodzących z poprzedniej ciąży.

Ze względu na opisane trudności techniczne wydaje się mało prawdopodobne, aby badania komórek płodowych izolowanych z krwiobiegu matki zastąpiły inwazyjne techniki diagnostyki prenatalnej. Można jednak przypuszczać, że będą one nadal pełnić rolę badań uzupełniających [30].

### Inwazyjne metody diagnostyki prenatalnej

Inwazyjne techniki diagnostyki prenatalnej są badaniami, które ingerują we wnętrze jednostki płodowo-łożyskowej i wiążą się z ryzykiem utraty ciąży. Wykonywane są zawsze pod nadzorem ultrasonograficznym. Każda z metod pobierania materiału płodowego: biopsja trofoblastu (*chorionic villus sampling – CVS*), amniopunkcja i kordocenteza posiada ściśle określone zastosowanie. Najwcześniej stosowaną techniką jest biopsja trofoblastu, przeprowadzana pomiędzy 9. a 12. tyg. ciąży. Polega ona na przezpłótkowym bądź przezszyjkowym pobraniu kosmków bardzo aktywnej mitotycznie kosmówki kosmatej za pomocą igły bądź giętkiego cewnika. Pobrane kosmki mogą być poddane bezpośredniej analizie po hodowli krótkoterminowej, bądź przekazane do hodowli długoterminowej. W materiale uzyskanym dzięki hodowli oceniany jest kariotyp płodu. Obecnie CVS jest metodą z wyboru w przypadkach, w których

zachodzi konieczność analizy DNA. Najczęstszym powikłaniem po biopsji trofoblastu jest krwawienie występujące u ok. 40 proc. kobiet poddanych zabiegowi. Ryzyko poronienia po biopsji przezpłótkowej wynosi 1,33 proc. [31], natomiast po biopsji przezszyjkowej 2,2 proc. [32]. Istnieje także możliwość zanieczyszczenia bioptatu materiałem maczynym, jeśli nie dokona się dokładnej separacji kosmków od błony doczesnej. Utrudnia to interpretację wyniku kariotypu płodu w hodowli długoterminowej.

Drugim sposobem pozyskiwania materiału płodowego jest amniopunkcja, polegająca na przezbrzuszej aspiracji płynu owodniowego za pomocą specjalnej, cienkiej igły. Z komórek płynu owodniowego – amniocytów zakłada się hodowlę, która służy do oceny kariotypu płodu. Wykonuje się także badania biochemiczne płynu owodniowego. Ze względu na okres wykonywania badania amniopunkcję dzieli się na wczesną (wykonywaną pomiędzy 11. a 14. tyg. ciąży) oraz klasyczną (wykonywaną pomiędzy 15. a 20. tyg. ciąży). Wczesna amniopunkcja daje możliwość wcześniejszego uzyskania wyniku kariotypu płodu. W porównaniu do amniopunkcji klasycznej wiąże się jednak z większym ryzykiem poronienia, wystąpienia stopy końsko-szpotawej u noworodków, pozabiegowego odpłynięcia płynu owodniowego i nieudanych hodowli komórkowych [33]. Amniopunkcja klasyczna stanowi obecnie najczęściej stosowaną technikę pobierania materiału płodowego w diagnostyce prenatalnej. Ryzyko utraty ciąży wynosi 0,5 proc. [34]. Zabieg polega na pobraniu ok. 15–20 ml płynu owodniowego. Wynik hodowli komórek płynu owodniowego – kariotyp płodu uzyskuje się po ok. 2 tyg. W pły-

nie owodniowym pobranym od kobiet ciężarnych z otwartymi wadami ośrodkowego układu nerwowego płodu obserwuje się wzrost stężenia  $\alpha$ -fetoproteiny, podwyższoną aktywność acetylocholinoesterazy i obecność patologicznego prążka acetylocholinoesterazy po barwieniu metodą Fast-Red.

Kordocenteza polega na przezskórnym nakłuciu sznura pępowinowego w pobliżu jego przyłączenia do łożyska i pobraniu ok. 0,5–1,0 ml krwi pępowinowej. Zabieg ten wykonuje się od 20. tyg. ciąży aż do czasu porodu. Hodowla limfocytów krwi pępowinowej służy ocenie kariotypu płodu. Ryzyko obumarcia płodu po kordocentezie wynosi ok. 2 proc. [34, 35]. Wykonywana jest ona w tych przypadkach, gdy w badaniu ultrasonograficznym stwierdza się wady rozwojowe u płodu przy współistniejącym małowodziu lub bezwodziu.

### Podsumowanie

W podsumowaniu należałoby odpowiedzieć na pytanie, u których kobiet ciężarnych powinno się wykonywać badania prenatalne? Odpowiedź na to pytanie wskazuje na wszystkie kobiety ciężarne. U tych, które nie ukończyły 35. roku życia i nie mają obciążonego wywiadu położniczego powinno się przeprowadzić 2 badania nieinwazyjne pomiędzy 16. a 20. tyg. ciąży: test potrójny i badanie ultrasonograficzne. U pozostałych kobiet zaleca się przeprowadzenie badań inwazyjnych wg wskazań przedstawionych w tab. 2.

Współczesne techniki diagnostyki prenatalnej charakteryzują się coraz wyższymi wskaźnikami bezpieczeństwa. Jednakże wciąż pojawia się pytanie: jakie warunki powinny spełniać obecnie stosowane metody diagnostyczne? Zarówno metody inwa-

Tab. 2.  
Wskazania  
do przeprowadzenia  
inwazyjnej  
diagnostyki  
prenatalnej

1. Wiek matki w chwili porodu 35 i więcej lat.
2. Występowanie u jednego lub obu rodziców zrównoważonych strukturalnych aberracji chromosomowych.
3. Urodzenie w przeszłości dziecka z aberracją chromosomową.
4. Urodzenie w przeszłości dziecka z wadą ośrodkowego układu nerwowego.
5. Występowanie w rodzinie chorób uwarunkowanych dziedziczeniem jednogennym, np. mukowiscydozy, fenyloketonurii.
6. Występowanie w rodzinie chorób sprzężonych z płcią, np. dystrofii mięśniowej typu Duchenne'a, hemofilii.
7. Nieprawidłowy wynik testu potrójnego.
8. Nieprawidłowości w badaniu ultrasonograficznym płodu wskazujące na aberrację chromosomową.

zyjne, jak i nieinwazyjne powinny być metodami prostymi, które w najkrótszym czasie pozwalają uzyskać wynik badania w oparciu o możliwie najmniejszą ilość materiału biologicznego, przy wysokiej czułości i swoistości. Korzystny argument stanowi także możliwość jak najwcześniejszy okres ciąży do przeprowadzania badań. Jeżeli metoda diagnostyczna stanowi jedynie test przesiewowy, powinna być wykonywana w odpowiednio wczesnym okresie ciąży, aby w razie wątpliwości można było wykonać pełną diagnostykę. Niska swoistość testów przesiewowych (tj. wysoki odsetek wyników fałszywie dodatnich) jest przyczyną wysokich kosztów finansowych, spowodowanych częstszym stosowaniem technik inwazyjnych. Z kolei ich niska czułość wiąże się z kosztami emocjonalnymi ze strony rodziców dziecka z wadą genetyczną.

Jest zrozumiałe, że medycyna współczesna poszukuje nieustannie nowych, bardziej doskonałych metod diagnostycznych, które z jednej strony dawałyby możliwość wiarygodnej oceny rozwoju płodu, rozpoznawania wad genetycznych i rozwojowych, a z drugiej nie byłyby obciążone ryzykiem poronienia.

### Piśmiennictwo

- McKinlay Gardner RJ, Sutherland GR. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. Oxford University Press, New York 1996, Oxford. (Elements of Medical Cytogenetics pp: 3-18).
- Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. *Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters*. New Eng Jour of Med, 12 Aug 1999; Vol. 341, No 7: 461-7.
- Reynolds TM. *Practical problems in Down syndrome screening: What should we do about gestation dating? What is the effect of assay precision on risk factors?* Commun Lab Med 1992; Vol. 2: 31-8.
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Kennard A, Smith D. *Maternal serum screening for Down's syndrome: the effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight*. Br J Obstet Gynaecol, February 1992; Vol. 99: 144-9.
- Bartels I, Hoppe-Sievert B, Bockel B, Herold S, Caesar J. *Adjustment formulae for maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated oestriol to maternal weight and smoking*. Prenatal Diagnosis 1993; Vol. 13: 123-130.
- Reynolds TM, Penney MD, Hughes H, John R. *The effect of weight correction on risk calculations for Down's syndrome screening*. Ann Clin Biochem 1991; Vol. 28: 245-9.
- Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE, Canick JA, Wald NJ, Kennard A. *Cigarette smoking and levels of maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG: impact on Down syndrome screening*. Obstetrics & Gynaecology, May 1993; Vol. 81, No 5, Part 1: 675-8.

- Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE. *Human chorionic gonadotropin and unconjugated oestriol measurements in insulin-dependent diabetic pregnant women being screened for fetal Down syndrome*. Prenatal Diagnosis 1994; Vol. 14: 65-8.
- Cuckle H. *Improved parameters for risk estimation in Down's syndrome screening*. Prenatal Diagnosis 1995; Vol. 15: 1057-65.
- Phillips OP, Elias S, Shulman LP, Andersen RN, Morgan CD, Simpson JL. *Maternal serum screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol: a prospective 2-year study*. Obstetrics & Gynaecology, September 1992, Vol. 80, No 3, Part 1: 353-8.
- Greenberg F, Schmidt D, Darnule AT, Weyland BR, Rose E, Alpert E. *Maternal serum beta-fetoprotein, beta-human chorionic gonadotropin, and unconjugated estriol levels in mid-trimester trisomy 18 pregnancies*. Am J Obstet Gynecol 1992; Vol. 166, No 5: 1388-92.
- Goodburn SF, Yates JR, Raggatt PR, Carr C, Ferguson-Smith ME, Kershaw AJ, Milton PJD, Ferguson-Smith MA. *Second trimester maternal serum screening using alpha-fetoprotein, human chorionic gonadotropin, and unconjugated oestriol: experience of a regional programme*. Prenatal Diagnosis 1994; Vol. 14: 391-402.
- Aitken DA, Wallace EM, Crossley JA, Swanston IA, Van Pareren Y, Van Maarle M, Groome NP, Macri JN, Connor J. M. *Dimeric inhibin A as a marker for Down's syndrome in early pregnancy*. The New Engl J of Med, May 9, 1996; Vol. 334, No 19: 1231-6.
- Wallace EM, Swanston IA, McNeilly AS, Ashby JP, Blundell G, Calder AA, Groome NP. *Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A*. Clin Endocrin 1996; 44: 17-21.
- Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. *Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker*. Prenatal Diagnosis 1996; Vol. 16: 143-53.
- Wallace EM, Grant VE, Swanston IA, Groome NP. *Evaluation of maternal serum dimeric inhibin A as a first-trimester marker of Down's syndrome*. Prenatal Diagnosis 1995; Vol. 15: 359-62.
- Krantz DA, Larsen JW, Buchanan PD, Macri JN. *First-trimester Down*

- syndrome screening: Free  $\beta$ -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein A. *Am J Obstet Gynaecol* 1996; Vol. 174, No 2: 612-6.
18. Bersinger NA, Zakher A, Huber U, Pescia G, Schneider H. A sensitive enzyme immunoassay for pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A): a possible first trimester method of screening for Down syndrome and other trisomies. *Arch Gynaecol Obstet* 1995; 256: 185-92.
  19. Bersinger NA, Brizot ML, Johnson A, Snijders RJM, Abbott J, Schneider H, Nicolaides KH. First trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein A and pregnancy-specific  $\beta$ 1-glycoprotein in fetal trisomies. *Br J Obstet Gynecol* 1994; Vol. 101: 970-4.
  20. 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. *Prenatal Diagnosis* 1994; Vol. 14: 1043-7.
  21. Bianchi DW. Prenatal diagnosis by analysis of fetal cells in maternal blood. *J Pediatr* 1995; 9: 217-9.
  22. Ganshirt-Ahlert D, Barejesson-Stoll R, Burschik M, et al. Detection of fetal trisomies 21 and 18 from maternal blood using triple gradient and magnetic cell sorting. *Am J Reprod Immunol* 1993; 30: 194-201.
  23. Zheng YL, Demaria M, Zhen D, et al. Flow sorting of fetal erythroblasts using intracytoplasmic anti-fetal haemoglobin: preliminary observations on maternal samples. *Prenatal Diagnosis* 1995; 15: 897-905.
  24. Sekizawa A, Kimura T, Sasaki M, et al. Prenatal diagnosis of Duchenne muscular dystrophy using a single fetal nucleated erythrocyte in maternal blood. *Neurology* 1996; 46: 1350-3.
  25. Cheung MC, Goldberg JD, Kan YW. Prenatal diagnosis of sickle cell anaemia and thalassaemia by analysis of fetal cells in maternal blood. *Nat Genet* 1996; 14: 264-8.
  26. Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, et al. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 822-9.
  27. Zheng YL, Zhen DK, Demaria MA, et al. Search for the optimal fetal cell antibody: results of immunophenotyping studies using flow cytometry. *Hum Genet* 1997; 100: 35-42.
  28. Sargent IL, Johansen M, Chau S, et al. Clinical experience: Isolating trophoblasts from maternal blood. *Ann NY Acad Sci* 1994; 731: 154-61.
  29. Bianchi DW, Zickwolf GK, Weil GJ, et al. Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years post-partum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 705-8.
  30. Holzgreve W, Sant R, Garvin A, Hahn S. Diagnostyka prenatalna z użyciem komórek płodowych izolowanych z krwi matki: czy spełnią się nadzieje? *Ginekologia po Dyplomie* 1999; Tom 1, Nr 3: 25-31.
  31. Alfirevic Z, Gosden CM, Neilson JP. Chorion villus sampling versus amniocentesis for prenatal diagnosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2000 (2).
  32. Borrell A, Fortuny A, Lazaro L, Costa D, Seres A, Pappa S, Soler A. First trimester transcervical chorionic villus sampling by biopsy forceps versus mid-trimester amniocentesis: a randomized controlled trial project. *Prenatal Diagnosis*, 1999 Dec; 19 (12): 1138-42.
  33. CEMAT group: Randomized trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *Lancet* 1998; 351: 242-7.
  34. Friedman JM, Dill FJ, Hayden MR, McGillivray BC. *Genetyka*. 1997, Wrocław, Urban & Partner, Wyd. 1. *Diagnostyka prenatalna*: 235-49.
  35. Orlandi F, Damiani G, Jakil C, Lauricella S, Bertolino O, Maggio A. The risks of early cordocentesis (12-21 weeks): analysis of 500 procedures. *Prenatal Diagnosis*, 1990 Jul, 10 (7): 425-8.
  36. Connor JM, Ferguson-Smith MA. *Essential Medical Genetics*. Blackwell Scientific Publications, London 1993.

dr med. Małgorzata Perenc  
Pracownia Biologii Molekularnej  
Klinika Chorób Dzieci  
Instytut Pediatrii  
Akademii Medycznej  
w Łodzi  
kierownik Pracowni  
dr hab. med. Henryk Witas  
kierownik Kliniki  
prof. dr hab. med. Jerzy Bodalski