

Serbest Fetal DNA dönemine girerken ilk trimester kombine tarama testlerine analitik bir bakış

Dr.Semir **Köse**

Yard.Doç.Dr.Dilek **Çımrın**

Dr.Nuri **Yıldırım**

Dr.Özge **Aksel**

Prof.Dr.Pembe **Keskinoğlu**

Doç.Dr.Elçin **Bora**

Doç.Dr.Tufan **Çankaya**

Prof.Dr.Sabahattin **Altunyurt**



Giriş

İlk trimester kombine tarama testi (İTKT)

ACOG Eylül 2015 tarihli **640** numaralı Komite Görüşü

Geleneksel tarama testlerinin halihazırdaki güçlü performansları (**>90% DR**)

Serbest fetal DNA taramasındaki performans kısıtlılıkları (**~ 50% PPV**) ve düşük riskli toplum taramasındaki maliyet analizlerine ait yeterli data yokluğu birlikte düşünüldüğünde

Geleneksel tarama testleri (İTKT ve Dörtlü test ile entegrasyonlar)

Genel obstetrik popülasyonda

İlk tercih/ ilk basamak tarama testi olarak kalmaya devam etmektedir.

Amaç

İTKT nin ihtiyaçları nelerdir?

SF-DNA hangi sorunlarını çözebilir ?

İTKT sonuçlarını gözden geçirmek

İTKT sonuçlarını yeni modellere ait risk skorlarına göre **kategorize etmek**

İTKT ile yakalanan T21 olgularının marker profillerini bulmak

İTKT sonuçları karşısında **gebelerin/ailelerin** cevaplarını değerlendirmek

İnvaziv tanı önerilerini kabul ve red oranlarına bakmak

İnvaziv tanı önerilerini kabul ve red oranlarının risk skorlarına göre değişimini incelemek

Ve bu yolla elde edilen bilgilerle

Pratikte/ Günlük uygulamamızda **İTKT nin güçlü ve zayıf yönlerini bulmak**

İTKT ve **serbest fetal DNA ikincil taramasının nasıl eklemleneceğini** bulmaya çalışmak / bu konudaki çabalara katkıda bulunmak

Yöntem ve Gereçler

Retrospektif bir çalışma- Arşiv taraması

1 Ocak 2009 -1 Ocak 2014 tarihleri arasında DEÜTF Hastanesinde uygulanan İTKT çalışıldı.

Merkez Laboratuvar İTKT sonuçlarını sağladı.

Tıbbi Genetik A.B.D İnvaziv tanısal girişim (CVS-AS) önerilerine cevapları, test öncesi ve test sonrası danışmanlık formlarından ve yazılı onam formlarından sağladı. Perinatoloji B.D kayıtları ile doğrulandı/birleştirildi.

İnvaziv tanı testlerini (CVS ve AS) kabul eden olgularda **Karyotip sonuçları** derlendi.

İTKT standart yaklaşım 1:300 cutoff üzerinden Danışmanlık olarak İnvaziv tanı testlerini kabul veya red için yazılı onam formları tutulmuştur.

YALNIZCA Ultrasonografik ölçümler, Laboratuvar analizleri, Test öncesi ve sonrası Genetik Danışmanlık, İnvaziv girişim ve Sitogenetik Analiz **işlemlerinin tümü DEÜTF de uygulanan olgular** çalışmaya dahil edildi.

Tarama ve maternal serum örnekleme 11⁰ to 13⁶ dışında gerçekleşen olgular dışlandı. (CRL 40-44 mm olguları)

Serum analizleri Endokrin Laboratuvarında **Immulite XPi 2000** (Siemens Healthcare Diagnostics, USA) cihazı ile yapılmış ve risk skoru hesaplamaları **Prisca 5.0 (Typology)** yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.

1 Ocak 2009 başlangıç = Tıbbi Genetik A.B.D önerisi Genetik Danışmanlık Sisteminin tam işler hale geldiği tarih

1 Ocak 2014 bitiş= Serbest fetal DNA ile gebelerin/ailelerin/hekimlerin doğrulama yapmaya başladığı ve invaziv tanı testi kabul kararının etkilenmeye başladığı tarih

Sonuçlar

4804 İTKT ve **276** İnvaziv tanısal işlem sonucu derlendi.

Ortalama anne yaşı 29.2 ± 5.1 years (15-48), ortalama CRL 60.6 ± 8.9 mm (45-84), ortalama NT 1.44 ± 0.44 mm (0.1-6.0)

Yanlış pozitiflik oranı %1.94 ve cutoff 1:300 olarak seçildiğinde **T21 saptama oranı (DR) %90.9** idi.

İTKT sonuçları risk skor gruplarına (RSG) kategorize edildiğinde

Olgular

%1.8 $\geq 1:100$ RSG çok yüksek risk

%86.7 $\geq 1:1001$ RSG orta düzey risk sonu /düşük risk başlangıcı (Contingent Screening Concept öncesi)

Bu rakamlar çalışma grubunun düşük riskli bir popülasyon olduğunu göstermiştir.

Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25(3):221-6.

NT dağılımında 1.01-2.00 mm arasında bir yığılma mevcuttu ve T21 olgularının 6/11 i bu aralıkta idi.

35 yaş

< 35 yaş : 4042 (%84.1) invaziv girişimlerin %44.6 sı bu yaş grubunda uygulanmıştı.

Aynı RSG larında ($\geq 1:300$) 35 yaş altı ve üstünde invaziv giriş kabul ve red oranları benzer idi. (p:0.705)

5 yıl

4804 test

İTKT ile **saptanan T21 olgu sayısı: 11**

4 olguda (%36.4) Anne yaşı <35

7 olguda (63.6%) Anne yaşı \geq 35

T21 olgularının genel görünümü

Median PAPPA **0.41** MoM

f β -hCG **1.92** MoM

Median NT **1.89** MoM

Ortalama Anne Yaşı **34.4** yıl

Table 1. Invasive diagnostic test ratios and results according to their combined test scores

Risk score groups n (%)	Invasive diagnostic test approved or requested n (%)		Cytogenetic results n (%)					
			Normal karyotype		T21		OCA	
≥1:100 88 (1.8%)	48	(54.5 %)	37	(77.0%)	7	(14.6%)	4	(8.3%)
≥1:200 156 (3.2%)	81	(51.9 %)	68	(83.9%)	8	(9.8%)	5	(6.2%)
≥1:300 230 (4.8%)	109	(47.3 %)	93	(85.3%)	10	(9.2%)	6	(5.5%)
≥1:1000 639 (13.3%)	181	(28.3 %)	164	(90.6%)	11	(6.0%)	6	(3.3%)
1:1001-1:3000 766 (15.9%)	56	(7.3%)	54	(96.4%)	0	(0.0%)	2	(3.6%)
>1:3001 3399 (70.8%)	39	(1.1%)	39	(100%)	0	(0.0%)	0	(0.0%)

Ek 72 invaziv işlem
Kazanç: 1 T21

OCA: Other Cytogenetic Abnormalities with phenotypic and clinical significance

Table 2. Combined test characteristics of Trisomy 21 cases detected via first trimester combined test.

Case number	CT T21 risk group	GA	MA	NT	PAPPA (MoM)	f-βHCG (MoM)	Karyotype	Parental Decision
1	>1:100	13	23	4.30	0.85	2.69	<i>47,XY+21</i>	TOP
2	>1:100	12	36	1.50	0.24	2.45	<i>47,XX+21</i>	TOP
3	>1:200	12	37	1.36	0.40	3.60	<i>47,XY+21</i>	TOP
4	1:300- 1:1000	11	31	1.10	0.41	2.25	<i>47,XY+21</i>	TOP
5	>1:300	12	36	1.00	0.24	0.98	<i>47,XX+21</i>	TOP
6	>1:300	12	33	1.30	0.45	2.53	<i>47,XX+21</i>	TOP
7	<i>≥1:100</i>	12	40	2.10	0.38	1.08	<i>47,XX+21</i>	TOP
8	<i>≥1:100</i>	13	39	1.50	0.68	6.32	<i>47,XY+21</i>	TOP
9	>1:100	12	36	2.40	0.43	1.00	<i>47,XY+21</i>	TOP
10	>1:100	13	36	3.09	0.28	0.70	<i>47,XY+21</i>	TOP
11	>1:100	11	31	1.20	0.22	1.92	<i>47,XX+21</i>	TOP

3 olguda **3** marker anormal
6 olguda **2** marker anormal
2 olguda **2.** marker anormal sınırda

**Klasik –Eski cutoff
≥1:300**

**Contingent Screening
Yeni Genişletilmiş Orta Risk
1:1001-1:3000**

Table 3. Frequencies of abnormal components in two critical cut off score groups and the cytogenetic results of the invasive diagnostic tests in each category

Abnormal component of	≥1:300	1:1001-1:3000	p value
FCT	n:230 (4.8%)	n:766 (15.9%)	
Maternal age≥35			
n (%)	92 (40.0%)	223 (29.1%)	0.001
	45 IDT: 35 NK, 7 T21, 3 OCA	39 IDT:39 NK	
NT>2.5mm			
n (%)	46 (20.0%)	13 (1.7%)	<0.001
	22 IDT:18 NK, 2 T21, 2 OCA	2 IDT:2 NK	
PAPP-A<0.40MoM			
n (%)	83 (39.5%)	91 (11.9%)	<0.001
	35 IDT: 25 NK, 6 T21, 4 OCA	3 IDT:3 NK	
Fβ-hCG>1.90MoM			
n (%)	137 (59.6%)	268 (34.9%)	<0.001
	69 IDT: 62 NK, 5 T21, 2 OCA	11 IDT:11 NK	

Table 4. Marker pairs in two critical cut off score groups

+

Marker pairs	$\geq 1:300^a$ n:230 (4.8%)	1:1001-1:3000 ^b n:766 (15.9%)	p value
Advanced MA+ increased NT n (%)	8 (3.5%) (1 T21,1 OCA)	3 (0.4%)	<0.05
Advanced MA+ low PAPP-A n (%)	27 (11.7%) (5 T21, 1 OCA)	8 (1.0%)	<0.001
Advanced MA+ high f β -hCG n (%)	46 (20.0%) (3 T21, 2 OCA)	30 (3.9%)	<0.001
Increased NT+ low PAPP-A n (%)	10 (4.3%) (1 T21, 1 OCA)	1 (0.1%)	<0.001
Increased NT+ high f β -hCG n (%)	18 (7.8%) (1 T21)	1 (0.1%)	<0.001
Low PAPP-A+ high f β -hCG n (%)	34 (14.8%) (2 T21, 1 OCA)	0 (0.0%)	<0.001

^a Numbers of Cytogenetic abnormalities found in each subgroup are presented

□

İTKT ile yakalanabilen T21

T21 fetus+ gebeliklerin **ÇOĞUNDA** plasental endokrin disfonksiyon vardır. Bu plasental endokrin disfonksiyon nedeni ile

PAPPA STB hücrelerinden düşük düzeyde sekrete edilir.

HCG sentezi normal hatta düşük düzeyde olmasına rağmen plasental klirensi düşük olduğu için maternal serum düzeyleri yüksektir.

Palomaki GE, Lambert-Messerlian GM, Canick JA. A summary analysis of Down syndrome markers in the late first trimester. Adv Clin Chem 2007;43:177-210.

Cole LA. hCG, five independent molecules. Clin Chim Acta 2012;413(1-2):48-65.

İTKT ile saptanabilen T21 olguları

T21 saptanan gebeliklerde

Engels et al. Median PAPPV MoM: 0.42 / Palomaki et al. Median PAPPV MoM: 0.41 / bu çalışmada Median PAPPV MoM: 0.41

PAPPV düşük ise T21 işareti

0.40 +++

0.60 ++

0.70 +

0.80 = 25.percentile 100 gebeden 25 indeki değer Her 4 gebeden 1 i SF-DNA adayı

Hartwig et al. 1:300-1:1000 RSG

yanlış negatif / orta düzey risk

T21 saptanan olgularda median PAPPV 0.63 MoM

Engels MA, Heijboer AC, Blankenstein MA, van Vugt JM. Performance of first-trimester combined test for Down syndrome in different maternal age groups: reason for adjustments in screening policy? Prenat Diagn 2011;31(13):1241-1245.

Hartwig TS, Sørensen S, Jørgensen FS. Are there characteristics of the false-negative cases from the first trimester combined screening programme for Down syndrome? Curr Opin Obstet Gynecol 2014;26(2):110-116.

1:1001-1:3000 ile <1:3001 karşılaştırması
genişletilmiş orta düzey risk – düşük risk

Anne yaşı daha yüksek (31.3 vs 28.1)

f β -hCG düzeyleri daha yüksek (1.71 MoM vs 1.01 MoM)

Ortalama NT farkı 0.1 mm (1.48 \pm 0.40 vs 1.38 \pm 0.35)

PAPP-A her iki grupta da 1.0 MoM a yakın (**0.89 \pm 0.56 vs 1.17 \pm 0.65**)

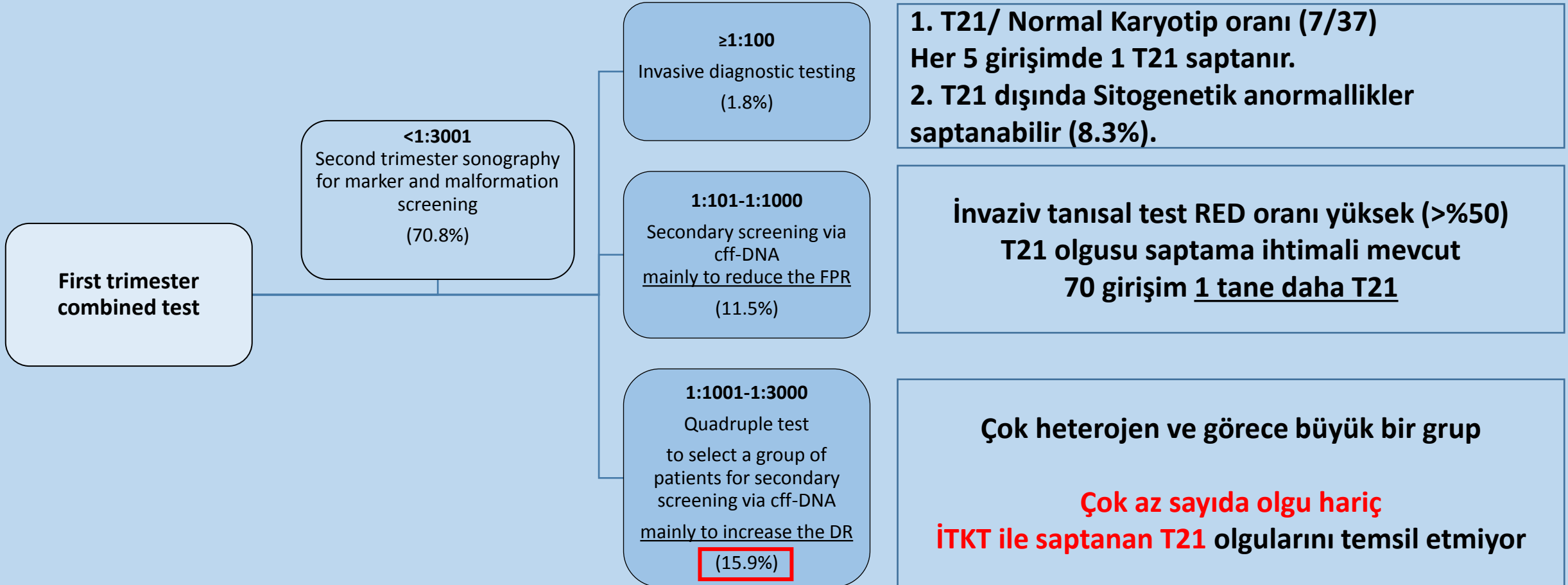
(p<0.001).

~40.P - %40

= Bir gebe **0.1 mm NT farkı** ile düşük risk grubu ya da genişletilmiş orta risk grubuna girebilir

İstatistiksel anlamlılık vs Klinik anlamlılık tartışması

Figure 1. An algorithm for the management of first trimester combined test results



Çıkarımlar

İTKT 1:1001 sınırından sonra olguların PAPPa ve NT komponentindeki değişim nedeni ile T21 olgularını ayırteıcı özelliğini tamamen ya da büyük oranda kaybeder.

Ülkemizde invaziv tanısal girişim red oranı en yüksek risk grubunda bile yüksektir (%45). Buna karşın T21 saptanan tüm olgularda terminasyon kabul edilmiştir.

1:101 sınırından sonra CVS/Amniyosentez başına T21 oranı azalır,
1:300 sınırından sonra 1:70 e iner: İnvaziv girişimlere karşı güvensizlik

1:1001-1:3000 RSG içinden

1:3001-1:5000 RSG içinde olandan daha fazla T21 çıkabilir, çıkmayabilir.

Ancak bu İstatistik-Epidemiyolojik bilgi

tüm 1:1001-1:3000 RSG na SF-DNA önerilmesi için endikasyon oluşturmaz.