

BÖLÜM 23

PRENATAL GENETİK TARAMA (MATERNAL KANDA SERBEST FETAL DNA ANALİZİ İLE ANÖPLOİDİ TARAMASI)

Sevim TUNCER CAN¹

Barış SEVER²

GİRİŞ

Non-invaziv prenatal genetik taramanın temelleri 1997 yılında Lo ve ark. (1) tarafından, Y kromozomuna özgü DNA ve RhD'nin varlığını gösteren maternal plazmadaki fetal DNA'nın saptanmasıyla oldu. Non-invaziv doğum öncesi tarama olarak adlandırılan serbest fetal DNA (cffDNA) plasentadan kaynaklanır ve apoptotik trofoblastlardan alınır (2). Ayrıca bazı yayınlarda ise, maternal hematopoetik hücrelerin fetal eritroblastların apoptozisi sonucu oluşan fragmanların maternal dolaşıma salınarak serbest DNA (cfDNA)'nın kaynağını oluşturduğu yazmaktadır (3). Fetal DNA fragmanları ile maternal DNA fragmanları arasındaki uzunluk farkı, fetal DNA'nın tespitini sağlar (4). cffDNA, doğumdan hemen sonra maternal dolaşımdan temizlenir (1). Böylece gelecekteki gebelik, bir önceki gebelikten etkilenmez.

TEST BAŞARISIZLIĞININ NEDENLERİ

Güvenilir bir tarama için fetal fraksiyonun minimum %4 olması gerekir. 10'uncu gestasyonel haftadan sonra fetal fraksiyon %10' un üzerindedir (5). Gestasyonel yaş ve düşük fetal fraksiyon ilişkisi, erken haftalarda plasental volümün az olmasıyla açıklanmaktadır (6). Pergament ve ark. (7) yaptıkları çalışmada testin başarısızlık oranını 9 hafta altı gebeliklerde 26/95 (% 27.4), 9-10 hafta arası gebeliklerde 6/50 (%12,5) ve 10 haftadan sonra da 53/900 (%5.9) olarak saptadı. Aynı çalışmada test sonucu başarısız olan grupta anöplöidi insidansının arttığı 20/86 (%23.3) görüldü.

¹ Op. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Perinatoloji Kliniği, drsevimtuncer@hotmail.com

² Op. Dr., Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD., Perinatoloji Kliniği, drbarissever@gmail.com

Anne ağırlığı ve vücut kitle indeksi arttıkça fetal fraksiyon azalır. Bu ters ilişki, obezitesi olan hastaların plazma hacminde artış nispeten sabit miktarda fetal cfDNA'nın seyrelmesine ve ayrıca anne ağırlığı arttıkça anneden türetilen cfDNA miktarındaki artışa bağlanmıştır (8). 10'nuncu ve 20'inci gebelik haftaları arasında öploid fetüslerde ortalama %10-20 arasında olan fetal fraksiyon, trizomi 21'li fetüslerde % 13-15, trizomi 18'li fetüslerde % 9 civarındadır. Bu durum, trizomi 21'in saptanma oranının trizomi 18'den daha yüksek olmasına neden olur. Diğer anormal karyotip sonuçları için daha az veri vardır, ancak hem trizomi 13 hem de Turner sendromundaki fetal fraksiyonların da öploid fetüslerden daha düşük olduğu görülmektedir. Triploid fetüsler son derece düşük fetal fraksiyonlara sahiptir ve genellikle % 4'ün altındadır (9,10).

Düşük fetal fraksiyonun diğer nedenleri uygun olmayan şartlarda örnek alımı, gebeliğin 20. haftasından önce düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımı, invitro fertilizasyon yoluyla gebe kalma ve ikiz gebelik olarak sayılabilir (11-14).

KULLANIM ALANI VE ETKİNLİĞİ

cfDNA analizi, Tr21/Tr18 ve Tr13 için en sensitif ve en spesifik tarama seçeneğidir. Çoklu metaanalizlere dayanarak trizomi 21 tespit etme oranı %99.5, yanlış pozitiflik oranı %0.05, trizomi 18 tespit etme oranı %97.7, yanlış pozitiflik oranı %0.04, trizomi 13 tespit etme oranı %96.1, yanlış pozitiflik oranı %0.06'dır (15-18).

Gill ve ark. (19), ikiz gebeliklerde trizomi 21 için cfDNA testinin performansının, tekil gebeliklerde bildirilenlere benzer olduğu, ayrıca 1. trimester kombine testinden ve 2. trimester biyokimyasal testinden üstün olduğunu saptamıştır. Fakat yapılan çalışmalarda Trizomi 18 ve Trizomi 13 vakalarının sayısının cfDNA testinin öngörücü performansının doğru bir şekilde değerlendirilmesi için yeterli olduğunu rapor etmişlerdir.

Fetal cinsiyetin noninvazif doğum öncesi tespiti; ambigus genitale, X'e bağlı geçişli hastalıkların ve konjenital adrenal hiperplazi gibi tek gen bozuklukları için şu anda altın standart olan invaziv sitogenetik incelemeye önemli bir alternatif sağlayabilir. Gebeliğin 7. haftasından itibaren cfDNA analizi ile fetal cinsiyet belirlenmesi başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Çalışmalar arasındaki değişkenliğe rağmen, birçok çalışmada sensitivite %95.4 ve spesifisite %98.6 olarak saptanmıştır (20).

ACOG(Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Derneği) ve ACMG(Amerikan Medikal Genetik Derneği) anöploidi taraması önerilen ve anöploidi riski artmış kadınlara non-invaziv prenatal testi bir tarama seçeneği olarak tavsiye edilmesini öner-

mehtedir. Risk artışı olan hastalar şunlardır: a) 35 yaş üstü kadınlar b) anöploidi için fetal ultrason belirteçleri ve yapısal anomalisi olanlar c) önceki gebeliğinde trizomi öyküsü olanlar ç) trizomi 21 veya trizomi13 için riskli ailesel Robertson translokasyonu olan hastalar (21-22).

Pozitif veya yüksek riskli bir cffDNA sonucu, invaziv testlerle doğrulanmalıdır. Trizomi 21 için cffDNA sonucu pozitif olması durumunda, tanı testi olarak koryonik villus örnekleme yapılabilir. Trizomi 18 ve trizomi 13 vakalarında pozitif sonuç alındıktan sonra ayrıntılı bir ultrason muayenesi yapılmalı ve bu trizomilerle ilişkili karakteristik anomaliler saptanırsa, koryonik villus örnekleme yapılabilir. Taramada herhangi bir anomali tespit edilmezse, sınırlı plasental mozaizm nedeniyle hatalı bir sonuçtan kaçınmak için tercih edilen teşhis testi amniyosentez olmalıdır (23).

ANALİZ SONUCUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Fertilizasyon sırasında, normal kromozomlara sahip döllenmiş yumurtalar, tekrarlanan hücre bölünmesi sürecinde kromozomal anormallikler geliştirebilir. Bölünme evresinin aşamasına göre mozaik tipi kromozomal anormallikler plasentaya sınırlı olabilir veya sadece fetüste görülebilir. Eğer mozaizm plasentaya sınırlı ise, cffDNA testinin yanlış pozitif çıkmasına, ancak fetüste görülmesinde ise sonucun yanlış negatif çıkmasına neden olur (24).

Kaybolan ikizler yanlış pozitif sonuca neden olabilir. Bunun nedeni ölen fetüsün plasentasının test sırasında hala mevcut olması ve fetal ölümden haftalar sonra DNA dökmeye devam etmesidir (25).

Organ transplantasyonunda, nakledilen doku (kemik iliği veya organlar) bir erkek donörden elde edilirse, donör organlardan annenin dolaşım sistemine erkek cfDNA salınması nedeniyle, cffDNA testi dişi fetüsü erkek olarak yanlış tanımlayabilir (26). Yanlış pozitiflik nedenleri arasında maternal mozaizm, maternal kanser, maternal anöploidi, kan alımından 4 hafta önce erkek donörden yapılan maternal kan transfüzyonu da bulunmaktadır (27).

SONUÇ

Prenatal tarama testlerinin riskleri, faydaları ve alternatif yöntemleri hakkında tüm hastalar bilgilendirilmelidir. Ailede genetik hastalığın olması, fetüste yapısal anomalinin olması durumunda bakılacak cffDNA testinin negatif olması sonucun normal olduğunu göstermeyeceği konusunda danışmanlık verilmesi önemlidir. cffDNA sık görülen anöploidiler, özellikle trizomi 21 için etkin bir tarama testi alternatifidir. Gebeliğin 10. haftasından itibaren yapılabilir.

KAYNAKLAR

1. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain P, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350:485-487.
2. Carlson LM, Vora NL. Prenatal Diagnosis: Screening and Diagnostic Tools. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2017 Jun;44(2):245-256. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.004.
3. Sekizawa A, Samura O, Zhen DK, et al. Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood. *Prenat Diagn*. 2000 Nov;20(11):886-9. doi: 10.1002/1097-0223(200011)20:11.
4. Zhao Q, HuoJiaBieKe J, Du S. The influence of fetal gender and maternal characteristics on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2019;48(8):653-656. doi:10.1016/j.jogoh.2019.07.001.
5. Dar P, Shani H, Evans MI. Cell-free DNA: Comparison of Technologies. *Clin Lab Med*. 2016;36(2):199-211. doi:10.1016/j.cll.2016.01.015.
6. Hartwig TS, Ambye L, Werge L, et al. Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) in pregnancies with trisomy 21, 18 and 13 performed in a public setting - factors of importance for correct interpretation of results. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2018;226:35-39. doi:10.1016/j.ejogrb.2018.04.042.
7. Pergament E, Cuckle H, Zimmermann B, et al. Single-nucleotide polymorphism-based non-invasive prenatal screening in a high-risk and low-risk cohort. *Obstet Gynecol*. 2014;124(2 Pt 1):210-218. doi:10.1097/AOG.0000000000000363.
8. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, et al. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn*. 2013;33(7):667-674. doi:10.1002/pd.4126.
9. Nicolaides KH, Syngelaki A, del Mar Gil M, et al. Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood. *Fetal Diagn Ther*. 2014;35(3):212-217. doi:10.1159/000355655.
10. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative?. *Prenat Diagn*. 2015;35(3):289-293. doi:10.1002/pd.4541.
11. Grömminger S, Erkan S, Schöck U, et al. The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women. *Prenat Diagn*. 2015 Nov;35(11):1155-7. doi: 10.1002/pd.4668.
12. Burns W, Koelper N, Barberio A, et al. The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction. *Prenat Diagn*. 2017 Nov;37(11):1125-1129. doi: 10.1002/pd.5152.
13. Nakamura N, Sasaki A, Mikami M, et al. Non reportable rates and cell-free DNA profiles in noninvasive prenatal testing among women with heparin treatment. *Prenat Diagn*. 2020 Jun;40(7):838-845. doi: 10.1002/pd.5695
14. Lee TJ, Rolnik DL, Menezes MA, et al. Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions. *Hum Reprod*. 2018;33(4):572-578. doi:10.1093/humrep/dey033
15. Palomaki GE, Chiu RWK, Pertile MD, et al. International Society for Prenatal Diagnosis Position Statement: cell free (cf)DNA screening for Down syndrome in multiple pregnancies. *Prenat Diagn*. 2021;41(10):1222-1232. doi:10.1002/pd.5832.
16. Taylor-Phillips S, Freeman K, Geppert J, et al. Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndromes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2016;6(1):e010002. Published 2016 Jan 18. doi:10.1136/bmjopen-2015-010002.
17. Mackie FL, Hemming K, Allen S, et al. The accuracy of cell-free fetal DNA-based non-invasive prenatal testing in singleton pregnancies: a systematic review and bivariate meta-analysis. *BJOG*. 2017;124(1):32-46. doi:10.1111/1471-0528.14050.
18. Iwarsson E, Jacobsson B, Dagerhamn J, et al. Analysis of cell-free fetal DNA in maternal blood for detection of trisomy 21, 18 and 13 in a general pregnant population and in a high risk population - a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2017;96(1):7-18. doi:10.1111/aogs.13047.

19. Gil MM, Quezada MS, Revello R, Akolekar R, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):249-266. doi:10.1002/uog.14791.
20. Gil MM, Galeva S, Jani J, et al. Screening for trisomies by cfDNA testing of maternal blood in twin pregnancy: update of The Fetal Medicine Foundation results and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019 Jun;53(6):734-742. doi: 10.1002/uog.20284.
21. Devaney SA, Palomaki GE, Scott JA, et al. Noninvasive fetal sex determination using cell-free fetal DNA: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2011 Aug 10;306(6):627-36. doi: 10.1001/jama.2011.1114.
22. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstet Gynecol.* 2012;120(6):1532-1534. doi:10.1097/01.AOG.0000423819.85283.f4.
23. Gregg AR, Gross SJ, Best RG, et al. ACMG statement on noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy. *Genet Med.* 2013;15(5):395-398. doi:10.1038/gim.2013.29.
24. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, et al. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Sep;50(3):302-314. doi: 10.1002/uog.17484. Epub 2017 Jul 27.
25. Samura O, Okamoto A. Causes of aberrant non-invasive prenatal testing for aneuploidy: A systematic review Taiwan. *J Obstet Gynecol.* 2020 Jan;59(1):16-20. doi: 10.1016/j.tjog.2019.11.003.
26. Curnow KJ, Wilkins-Haug L, Ryan A, et al. Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(1):79.e1-79.e799. doi:10.1016/j.ajog.2014.10.012
27. Bianchi DW, Parsa S, Bhatt S, et al. Fetal sex chromosome testing by maternal plasma DNA sequencing: clinical laboratory experience and biology. *Obstet Gynecol.* 125 (2) (2015) , s. 375 - 382. doi: 10.1097/AOG.0000000000000637
28. Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, et al. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) - a systematic review. *Prenat Diagn.* 2017;37(6):527-539. doi:10.1002/pd.5049.