



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TEPECİK EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ**

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

**NON-İNVAZİV PRENATAL TANI TESTİ UYGULANMIŞ VE
SONUCU BELİRSİZ OLARAK RAPOR EDİLMİŞ GEBELERDE
EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLER**

Dr. Hamdiye Kasapoğlu Sayın

İZMİR / 2019



T.C.

**SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ TEPECİK EĞİTİM VE
ARAŞTIRMA HASTANESİ**

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

**NON-İNVAZİV PRENATAL TANI TESTİ UYGULANMIŞ VE
SONUCU BELİRSİZ OLARAK RAPOR EDİLMİŞ GEBELERDE
EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLER**

Dr. Hamdiye Kasapoğlu Sayın

Prof. Dr. Mehmet Özeren

(UZMANLIK TEZİ)

İZMİR / 2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin hazırlanması süresince bana destek veren, bilgi ve becerisini benimle paylaşan tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Özeren’e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Kadın hastalıkları ve doğum uzmanlık eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübesinden faydalandığım Doç. Dr. Cüneyt Eftal Taner’e teşekkür ederim.

Hayatımın her anında desteğini, ilgisini, sevgisini hissettiğim; bana mükemmeli yaşatan eşim Özkan Sayın’a çok teşekkür ederim. Hayatımıza katılmasıyla çok daha mutlu bir aile olmamızı sağlayan, onunla beraber olduğumuz her anı bizim için eşsiz kılan oğlum Deniz Alp’e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR.....	iii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
GRAFİK LİSTESİ	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
PRENATAL TANI YÖNTEMLERİ	3
İnvaziv Prenatal Tanı Yöntemleri	3
Amniyosentez	3
Koryon villüs örnekleme.....	4
Kordosentez.....	5
Non-invaziv prenatal tanı yöntemleri	5
Sonografik tarama.....	5
Biyokimyasal testler	6
Hücre Dışı Serbest Fetal DNA Taraması.....	8
Fetal DNA'nın Klinik Tanıda Kullanım Alanları	9
Cell-free DNA Tarama Testi Endikasyonları[23,24].....	13
Düşük fetal fraksiyon nedenleri	14
Yanlış pozitif test sonucunun nedenleri	15
Yanlış negatif test sonucunun nedenleri	16
Cell-Free Fetal DNA Taraması İçin ACOG Önerileri[32]	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
İstatiksel Analiz	20
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA	30
6. SONUÇLAR	33
7. KAYNAKÇA	34
8. ÖZGEÇMİŞ.....	40
9. EKLER.....	41

KISALTMALAR

NİPT:	Noninvaziv prenatal test
CVS:	Koryonik villus örneklemesi
NT:	Ense saydamlığı
hCG:	Human koryonik gonadotropin
PAP-A:	Gebelik ile ilişkili plazma proteini A
NTD:	Nöral tüp defekti
MSAFP:	Maternal serum alfa fetö protein
uE3:	Unkonjuge östriol
cfDNA:	Hücre dışı serbest DNA
cffDNA:	Hücre dışı serbest fetal DNA
PCR:	Polimeraz zincir reaksiyonu
İeo	İntrakardiyak ekojenik odak

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Majör Fetal Anomaliler	6
Tablo 2: Down Sendromlu Fetuslarla İlişkili İkinci Trimester Belirteçleri veya “Soft Marker’lar”	6
Tablo 3: Seçili fetal sendromlarda maternal serum marker paternleri	8
Tablo 4: Çalışma grubu sayısal değişkenlerin tanımlayıcı bulguları	21
Tablo 5: Çalışma grubunda Trizomi dağılımı	21
Tablo 6: Trizomilerin kişi bazında dağılımı.....	22
Tablo 7: Çalışma grubunda DMAH, Folik asit ve Aspirin kullanım durumu	23
Tablo 8: Çalışma grubunda ilaç kullanım durumu.....	24
Tablo 9: Çalışma grubunda ek hastalık durumu	25
Tablo 10: İkili test sonuçlarının dağılımı	26
Tablo 11: Anne, fetüs, eş kan gruplarının dağılımı (n=108).....	27
Tablo 12: Üçlü tarama testi sonuçlarının dağılımı	28
Tablo 13: Usg bulgularının dağılımı	29

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Amniyosentez.....	4
Şekil 2: Transabdominal CVS	4
Şekil 3: Transservikal CVS	4
Şekil 4: Kordosentez.....	5
Şekil 5: Clarigo iş akış şeması.....	19



GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1: Çalışma grubunda Trizomi belirsiz ve negatif değerlendirilen vakaların sayısı.....	22
Grafik 2: Trizomilerin kişi bazında sayısı	23
Grafik 3: Çalışma grubunda DMAH, Folik asit ve Aspirin kullanım durumu	24
Grafik 4: Çalışma grubunda ilaç kullanım durumu	25
Grafik 5: Çalışma grubunda ek hastalık dağılımı	26
Grafik 6: İkili test sonuçlarının dağılımı (n=108).....	26
Grafik 7: Üçlü tarama testi sonuçlarının dağılımı	28
Grafik 8: USG bulgusu durumu.....	29

ÖZET

NON-İNVAZİV PRENATAL TANI TESTİ UYGULANMIŞ VE SONUCU BELİRSİZ OLARAK RAPOR EDİLMİŞ GEBELERDE OLASI EPİDEMİYOLOJİK ÖZELLİKLER

**Hamdiye Kasapoğlu Sayın, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tepecik Eğitim ve
Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,
hamdiyekasapoglu@gmail.com**

AMAÇ: Prenatal tanıda invaziv ve noninvaziv yöntemler kullanılabilmektedir, fakat invaziv tetkiklerin enfeksiyon, abortus gibi potansiyel riskleri mevcuttur. Noninvaziv bir yöntem olan, anöploidilerin erken tanılanması için kullanılan maternal plazmada serbest fetal DNA tarama testinin pratikte kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Bu test gebeliğin 8.haftasından itibaren yapılabilir. NİPT testi trizomi 21, trizomi 18, trizomi 13 ve cinsiyet kromozom anomalileri için duyarlılığı ve özgüllüğü en yüksek tarama testidir. Fakat NİPT testinde %1 ile %8 arasında sonucun rapor edilememe sorunu vardır. En önemli sebepleri düşük fetal fraksiyon ve laboratuvar uygulamasındaki başarısızlıklardır. Biz çalışmamızda NİPT test sonucu belirsiz olarak rapor edilmiş gebelerin epidemiyolojik özelliklerini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM: Retrospektif tanımlayıcı tipteki araştırmaya 2016-2018 yılları arasında hastanemizde NİPT testi yapılmış 108 gebe dahil edilmiştir. 18 yaş altı gebeler, VKİ 35 ve üzeri olanlar, çoğul gebelikler ve son üç ay içinde kan transfüzyonu öyküsü olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya dahil elden hastaların epidemiyolojik özellikleri sistemden ve kişiler tek tek aranarak elde edilmiştir. NİPT testi için alınan kanlar Clarigo kiti ile çalışılmıştır.

BULGULAR: NİPT test sonucu belirsiz olarak raporlanmış 108 gebenin epidemiyolojik özelliklerini incelediğimiz çalışmada ortalama yaş 34,40, ortalama fetal fraksiyon %5,26, ortalama BMI 25,97m²/kg bulunmuştur. 86(%79,6) hastanın herhangi bir ilaç kullanım öyküsü yoktu. En sık kullanılan ilacın DMAH olduğu görüldü. Kan grupları arasındaki dağılım anne ve fetüste benzer oranlarda bulundu. 10(%9,26) gebede tespit edilen koroid pleksus kisti en sık eşlik eden sonografik bulgudur.

SONUÇ: NİPT test sonucunun belirsiz olarak raporlanmasının maliyet ve süre açısından önemli dezavantajları vardır. Daha geniş hasta serilerinde başka epidemiyolojik özelliklerinde sorgulandığı çalışmalar planlanabilir. Çalışmamızdaki epidemiyolojik özelliklerin sıklığı ülkemizdeki ve diğer ülkelerdeki çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: fetal fraksiyon, anöploidi, hücre dışı serbest fetal DNA



ABSTRACT

POSSIBLE EPIDEMIOLOGICAL FEATURES IN PREGNANCIES FOR WHICH NON-INVASIVE PRENATAL DIAGNOSIS TESTS YIELDED INCONCLUSIVE RESULTS

OBJECTIVE: Invasive and noninvasive methods can be used for prenatal diagnosis. However, invasive tests carry the potential risks of infection and abortion. The method of screening cell-free fetal DNA in maternal plasma, which is a non-invasive method used for early diagnosis of aneuploidies, is on the rise. This test can be done from the 8th week onwards of pregnancy. NIPT is the most sensitive screening test for trisomy 21, trisomy 18, trisomy 13 and sex chromosome abnormalities. However, NIPT yields inconclusive results in 1 - 8% of the cases. The most important reasons for this are low fetal fraction and failures in laboratory practices. In our study, we aimed to investigate the epidemiological features of pregnant women for which NIPT results were inconclusive.

METHOD: In this retrospective descriptive study, 108 pregnant women that underwent NIPT and received inconclusive results are included. Patients under 18 years of age, patients with BMI 35 and above, cases of multiple pregnancies and patients that received blood transfusion in the last three months were not included in this study. The epidemiological characteristics of the patients included in this study were obtained from the database used by the hospital, as well as calling the patients one by one over the phone. The blood taken for NIPT was studied with the Clarigo kit.

FINDINGS: In this study that included 108 pregnancies for which NIPT yielded inconclusive results, the mean age was 34.40, mean fetal fraction was 5.26%, and the average BMI was 25.97 m²/kg. 86 (79.6%) patients did not report any history of medicinal drug use. The most commonly used drug was reported to be LMWH. The distribution of blood types was observed to be similar in mothers and fetuses. The choroid plexus cyst detected in 10 (9.26%) pregnant women was the most common accompanying sonographic marker.

Keywords: fetal fraction, aneuploidy, cell-free fetal DNA

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tarama testlerinde amaç herhangi bir hastalık açısından yüksek risk taşıyan ve ileri inceleme yöntemlerine başvurulacak kişileri, sağlıklı gebelerden ayırt etmektir[2]. Bu sebeple tarama testlerinde tanı amaçlanmaz. Buna karşılık, maliyet olarak yüksek, riskli invaziv tanı işlemlerinin uygulanma sayısını azaltmayı ve tedavi maliyetlerini azaltmayı amaçlar. Tanı testleri ise kişide araştırılan hastalığın varlığını ya da yokluğunu tespit etmek için kullanılır.

Prenatal tanı, gebelik sürecinde fetus veya embriyodaki olası anomalilerin öngörülmesi durumudur. Prenatal genetik testler, kromozomal değerlendirme sağlayan sitogenetik incelemeleri ve DNA düzeyindeki mutasyonları analizinde kullanılan moleküler testlerden oluşur.

Kromozomal anormalliklerin prenatal tanısı için yaklaşık 50 yıldır çalışılmaktadır. Down sendromu en sık endikasyon olarak gösterilmekle birlikte, prenatal tanının ufukları sürekli genişletilmekte ve daha hızlı, daha az maliyetli, anne ve bebek için en az zararlı tekniklerin geliştirilmesi için uğraşılmaktadır[1]. Doğum öncesi tanıda asıl amaç olabildiğince erken tanı koyabilmek ve sonuca göre uygun kararı almaktır.

Prenatal tanıda invaziv olmayan yöntemler üzerinde yapılan çalışmalarda (1997) anne plazmasında serbest fetal nükleik asitlerin (fetal DNA ve RNA) saptanması yeni çalışmaları gündeme getirmiştir. Maternal kanda fetal hücreler ve fetal DNA gün geçtikçe daha büyük önem kazanmaktadır. Hamile kadınların plazmasında bulunan hücre dışı serbest fetal DNA'yı kullanarak yapılan non-invaziv prenatal tarama testi, fetal anöploidilerin taranmasına yönelik kullanılmaktadır [3]. NİPT testi 2011 yılından beri klinik olarak kullanımdadır ve prenatal tarama için yeni teknolojilerin odağındadır.

Kromozom bozuklukları arasında en sık rastlanan, ciddi bir sorun olan anöploidinin doğum öncesi tanısında girişimsel işlemlerin kullanılması abortus ve enfeksiyonlara yol açabilmektedir[21]. Bu komplikasyonların elimine edilebilmesi için invaziv testlere alternatif olarak non-invaziv prenatal testlerden biri olan hücre dışı serbest fetal DNA testi geliştirilmiştir. Bu test yüksek riskli gebelerde gebeliğin

8. haftasından sonra gebenin kan örneğinin alınması ve maternal plazmadaki serbest fetal DNA' nın rölatif miktarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır [22,23]. Test sonucu ile cinsiyet kromozom bozuklukları, 21, 18 ve 13. kromozomlara ait anöploidiler elde edilen serbest fetal DNA'nın miktarına dayanılarak, fetusun Down Sendromu, Edward Sendromu veya Patau Sendromuna sahip olup olmadığı konusunda bilgi edinilmektedir.

Hücre dışı serbest DNA, trizomi 21, 18 ve 13 için en hassas tarama seçeneğidir. NİPT testinin performansı trizomi çeşidi ve metodolojiye göre değişiklik gösterir; ancak yüksek ve düşük riskli kadınlarda benzerdir [4]. Sonuçları raporlanmayan (belirsiz veya yorumlanamaz olan) serbest fetal DNA test başarısızlık oranları %0 – 10 olarak bildirilmiştir [5] ve laboratuvarlar arasındaki bu değişkenliği açıklamak zordur. Bu duruma standart bir yaklaşım olmamakla birlikte; cffDNA testini tekrarlamak veya daha öncesinde yapılmamışsa standart bir serum tarama testine geçmek sık rastlanan bir uygulamadır. Yüksek riskli olduğu düşünülen gebeliklerde; hastalar genetik danışmanlık almalı ve hastalara anöploidi riskinin artmış olması nedeniyle invaziv girişim ile tanı testleri önerilmelidir. Testin sonuç verememe nedenleri teknik problemler ve düşük fetal fraksiyondur. Düşük fetal fraksiyona bağlı sonuç verilememesi durumunda kromozom anomalisi olasılığının arttığı akılda tutulmalıdır.

Çalışmamızda, NİPT test sonucu belirsiz olarak raporlanmış olan gebelerin belirli ortak epidemiyolojik özellikleri olabileceği hipotezini ortaya koyduk ve bu epidemiyolojik özelliklerin belirlenmesini amaçladık. Tamamlayıcı tipte bir araştırma kurgusu olsa dahi, bu alanda yapılan çalışma sayısının kısıtlılığı göz önüne alındığında, NİPT test sonucu belirsiz gebelerin epidemiyolojik özelliklerinin belirlenmesi, mevcut durumu saptaması ve daha sonra bu konuda yapılacak araştırmalara yol gösterici olması açısından faydalı olacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Prenatal tanı, kromozomal anomaliler ve nöral tüp defektleri için rutin tarama testlerini, koryon villüs örnekleme, kordosentez ve amniyosentez gibi girişimsel tanısal testleri, spesifik kalıtsal hastalık riski yüksek kişilere önerilen ek tarama ve tanı testlerini, özelleşmiş ultrasonografi ve diğer fetal görüntüleme teknikleri ile yapısal malformasyonların tanınmasını kapsar.

Prenatal tanıda amaç, kısa ve uzun dönemde prognoz, tekrarlama riski ve olası tedavi seçenekleri ile ilgili doğru bilgiyi sağlayarak danışmanlık hizmetlerinin geliştirilmesi ve sonuçların iyileştirmesidir. Prenatal tanı, kalıtsal geçiş gösteren hastalıkların moleküler veya biyokimyasal tekniklerle tanı almasına, mümkünse doğum öncesinde tedavisine ve doğum sonrasında gerekli tedbirlerin alınmasına, tedavinin planlanmasına ve gebeliğin istenirse yasal süre içinde sonlandırılmasına imkan sağlar[6]. Prenatal tanı için invaziv ve non-invaziv yöntemler kullanılmaktadır. Prenatal tanıda seçilecek uygulamanın non-invaziv olması tercih edilmelidir.

PRENATAL TANI YÖNTEMLERİ

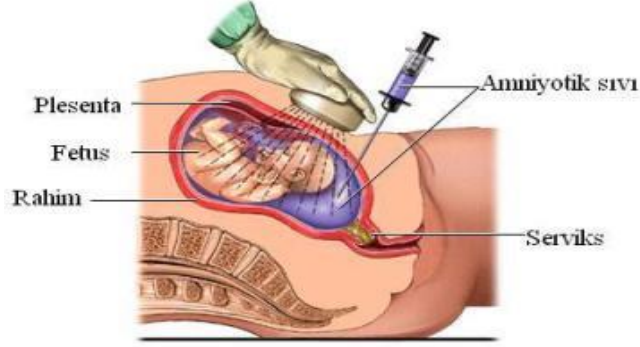
İnvaziv Prenatal Tanı Yöntemleri

Fetüs ve eklerine yapılan girişimsel müdahale yöntemlerini içermektedir. Bu teknikler; amniyosentez, koryon villüs örnekleme (CVS) ve fetal kan örnekleme (Kordosentez) dir.

Amniyosentez

Transabdominal yoldan amniyon sıvının elde edilmesi halen fetal anöploidi ve diğer genetik bozuklukların tanısında en sık kullanılan yöntemdir. Çoğunlukla 15 ve 20. gebelik haftaları arasında yapılır, fakat daha ileri haftalarda da yapılabilir. Amniyon sıvısında bulunan fetal cilt, gastrointestinal ve solunum sistemlerinden dökülen hücrelerin kültür ile çoğaltılmasından sonra karyotiplendirmenin yapılması esasına dayanır. Fetal karyotipin değerlendirilebilmesi için öncesinde amniyositlerin kültür ile çoğaltılması gerektiğinden sonuç 7-10 günde elde edilir. Mümkünse plasentadan geçmeden, fetus ve umbilikal kord korunarak iğne uygun amniyotik cebe yönlendirilir. Aspire edilen sıvının ilk 1 veya 2 mL'si maternal hücrelerle bulaş

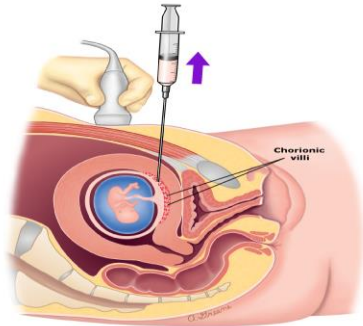
olasılığı olduğu için atılır. Yaklaşık 20 mL sıvı fetal karyotiplendirme için yeterlidir. İkinci trimester amniyosentezi takiben işleme bağlı gebelik kaybının 1/300 ile 1/500 arasında olduğu bildirilmektedir[8].



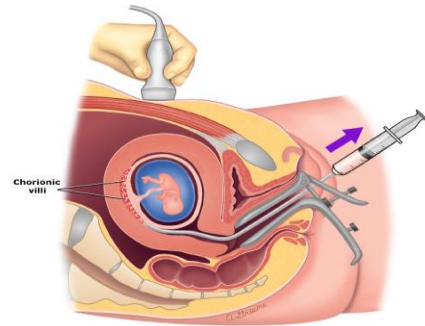
Şekil 1: Amniyosentez

Koryon villüs örneklemesi

Koryon villüs örneklemesi çoğunlukla 10 ile 13. Gebelik haftaları arasında uygulanır. Koryonik villüsler transservikal veya transabdominal yolla elde edilebilir. Trofoblastik doku ve fetus aynı embriyolojik kökene sahiptir. Tek gen hastalıkları için aile öyküsünün pozitif olduğu durumlarda özellikle tercih edilir. Çünkü elde edilen dokudan kültür yapılmadan da moleküler inceleme için DNA elde etmek mümkündür. CVS'nin avantajı daha erken dönemde uygulanabilmesidir; koryon fetal kaynaklı bir dokudur, genetik olarak fetüsü yansıtır ve 1. trimestirde kolaylıkla ulaşılabilir. Yöntemin dezavantajları ise amniyosenteze göre teknik olarak daha zor olması, elde edilen hücrelerin doğrudan fetal hücreler olmaması ve sitogenetik incelemede yalancı mozaizm gibi durumların daha sık görülmesidir.



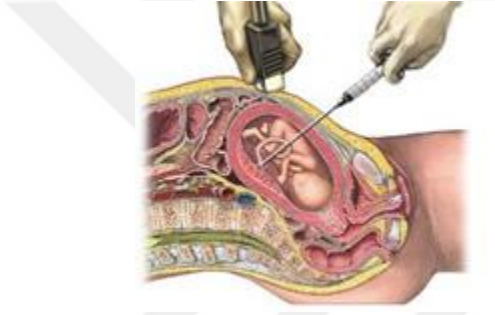
Şekil 2: Transabdominal CVS



Şekil 3: Transservikal CVS

Kordosentez

Umbilikal arter veya venden iğne ile girilerek kan alınmasıdır. Kordosentez için en uygun dönem 18-22. gebelik haftasıdır. Özellikle amniyosentez ve CVS sonrası mozaikizm tanımlanan olgularda fetal karyotipin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. 24 ile 48 saat gibi kısa sürede sonuç alınması nedeniyle özellikle gecikmiş olgularda tercih edilmektedir. Daha erken haftalarda umbilikal damarların yapısı nedeniyle kanama riski yüksektir; teknik olarak plasentanın yerleşimi çok önemlidir ve bu dönemde yapılan uygulamalar sonrası fetal kayıp oranı % 1-2 olarak bildirilmiştir[7]. Kordosentez işlemi ile alınan materyal doğrudan fetal hücreleri içerdiğinden tanı değeri diğer yöntemlerden daha fazladır.



Şekil 4: Kordosentez

Non-invaziv prenatal tanı yöntemleri

Sonografik tarama

USG bulguları ile fetal anomalilerin %50'sinin başka bir yöntemle gerek kalmadan tanısının konabildiği gösterilmiştir[9]. Majör anomaliler ve minör sonografik belirteçler anöploidi taramasına önemli katkılarda bulunurlar. Herhangi bir majör anomali fetal karyotip analizi amaçlı invaziv test önerilmesi için yeterince yüksek anöploidi riski ile ilişkilidir. İn utero dönemde letal olması olası trizomi 18, 13 triploidi gibi anöploidilere sahip çoğu fetusta genellikle ikinci trimesterde sonografik olarak izlenebilen anomaliler vardır. Ancak, Down sendromlu fetusların yalnızca %25-30'unda ikinci trimesterde sonografik olarak tanımlanabilecek majör malformasyonlar vardır. Bu sonografik belirteçler genellikle 15 ile 22. Gebelik haftaları arasında kullanılır.

Tablo 1: Majör Fetal Anomaliler

Kistik higroma Ventrikülomegali Holoprozensefali Dany- Walker malformasyonu Yarık damak- dudak Kardiyak defektler Diyafagma hernisi Özofagus atrezisi Duodenal atrezi Gastroşizis Omfalosele Clubfoot
--

Tablo 2: Down Sendromlu Fetuslarla İlişkili İkinci Trimester Belirteçleri veya “Soft Marker’lar”

Brakisefali veya kısalmış frontal lop Klinodaktili, beşinci parmağın orta falanksının hipoplazisi Ekojenik bağırsak Düz yüz Ekojenik intrakardiyak odak Nazal kemik yokluğu veya hipoplazisi Nükal fold kalınlığı Hafif renal pelvis dilatasyonu Sandal gap Kısa kulak uzunluğu Tek transvers palmar çizgi Tek umbilikal arter Kısa femur Kısa humerus Genişlemiş iliak açısı

Biyokimyasal testler

İkili tarama testi

11 ile 14. Haftalar arasında yapılır. NT ile serum serbest hCG ve PAP-A ölçümünü kombine eden en sık kullanılan ilk trimester tarama protokolüdür. Biyokimyasal ve ultrasonografik belirteçlerin beraber değerlendirilmesinden dolayı bu test, ikili tarama testi olarak adlandırılmaktadır.

NT, fetal boynun arkasında, cilt ile fetal vertebrayı örten yumuşak doku arasındaki cilt altı saydam alanın en büyük kalınlığıdır. NT ölçümü CRL 38-84 mm arasında iken yapılır. Artmış NT ölçümünün işaret ettiği risk serum belirteçlerinden

bağımsızdır, NT ölçümünün serum belirteçleri ile kombine edilmesiyle anöplöidi saptama oranları belirgin şekilde artar[10].

2'li tarama testinde kullanılan serum belirteçleri PAPP-A ve serbest beta hCG'dir. Down Sendromlu bir fetüste serbest beta hCG düzeyleri yüksek, yaklaşık 2,0 MoM, PAPP-A düzeyleri düşüktür, yaklaşık 0,5 MoM. Her iki serum belirtecinin düzeyi trizomi 18 ve 13 varlığında düşüktür[11].

Test 13 yerine 11. haftada yapılırsa testin duyarlılığı yaklaşık %5 daha yüksektir[12]. Sonografik ve biyokimyasal belirteçlerin birlikte kullanılması Down Sendromu yakalama oranı % 90'lara kadar çıkarken yanlış pozitiflik oranı yaklaşık % 3-5'tir[13].

İkili tarama testinin Down Sendromu yakalama oranının üçlü tarama testine oranla daha yüksek olması ve yüksek risk durumunda erken gebelik haftalarında uygulanabilen girişimsel prenatal tanı yöntemi olan koryon villüs biyopsisini mümkün kılması en önemli avantajıdır.

Üçlü tarama testi

Bu tarama testinde Down Sendromu ve Trizomi 18 gibi kromozom anomalilerinin yanı sıra Nöral Tüp Defekti (NTD) açısından da risk belirlenebilmektedir[20].

Üçlü tarama testinde risk MSAFP, serbest hCG ve uE3 ile maternal yaş göz önüne alınarak hesaplanır. Bu biyokimyasal belirteçlerin değerleri, aynı gebelik haftasındaki anne serumunda ölçülen değerlerin ortalamasıyla hesaplanan çoklu ortalama ("Multiple of median", MOM) olarak belirtilir[15]. Down Sendrom'lu gebeliklerde MSAFP değeri, ortalama 0,74 MOM'a düşer. Serbest hCG ortalama 2,06 MOM'un üzerine çıkarken, uE3 de AFP gibi düşüktür ve ortalama 0,75 MOM veya altındadır. Tüm bu belirteçler, anne yaşına bağlı riskle kombine edildiğinde Down Sendromu yakalama oranı yaklaşık % 65 ve yanlış pozitiflik oranının % 5 olduğu belirtilmektedir. Trizomi 18 tanılı gebeliklerde her 3 belirteç de düşük değerdedir ve yakalama oranı yaklaşık % 70'tir.

Diğer üç belirtece İnhibin-A eklenmesiyle dördümlü test oluşmuştur. Dördümlü belirteç İnhibin-A düzeyi Down Sendromlu gebeliklerde artmıştır. Dördümlü test,

anöploidi taramasında en sık kullanılan ikinci trimester serum testidir. Dörtlü testin birinci trimester taraması ile kombine edilmesi daha yüksek anöploidi saptama oranları sağlar.

Tablo 3: Seçili fetal sendromlarda maternal serum marker paternleri

Genetik bozukluk	İkinci trimester belirteçleri				Birinci trimester belirteçleri		
	AFP	uE3	Serbest Beta HCG	İnhibin A	NT	PAPP-A	Serbest Beta HCG
Down Sendromu	↓	↓	↑	↑	↑↑	↓↓	↑
Trizomi 18	↓	↓↓	↓↓	↔	↑↑	↓↓	↓↓
Trizomi 13	↔	↔	↔	↔	↑	↓↓	↓
45X, hidrops ile	↓	↓	↑	↑	↑	↑↓	↑↓
45X, hidropsuz	↓	↓	↓	↓	↑	↑↓	↑↓
Triploidi (paternal)	↔	↓	↑	↑	↑	↑↓	↑↑
Triploidi (maternal)	↔	↓	↓	↓	↑	↑↓	↓↓
Smith-Lemli-Opitz sendromu	↓	↓↓	↓	NR	NR	NR	NR
Cinsiyet kromozomu anöploidisi	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔

↑ : artmış; ↓ : azalmış; ↔ : değişmemiş; ↑ ↓ : değişken; NR: bildirilmemiş; AFP: alfa-fetoprotein; uE3: unkonjuge estriol; hCG: insan koryonik gonadotropini; NT: ense saydamlığı; PAPP-A: gebelik ilişkili plazma proteini A

Hücre Dışı Serbest Fetal DNA Taraması

Maternal plazmadaki nükleik asitler

cfDNA'nın gelişim süreci dolaşımında trofoblastlar gözlemlediğini bildirmesine kadar uzanmaktadır. Lo ve ark.'ı (1997) anne plazma ve serumunda serbest fetus DNA'sını göstermeyi başarmaları maternal plazmadaki fetus DNA'sının analizi ile farklı duyarlıklarda fetus cinsiyetinin belirlenmesine yol açmıştır. İnvaziv olmayan bu yöntemle fetus cinsiyetinin belirlenmesi X'e bağlı hastalık riski taşıyan fetuslerde girişimsel yöntemlerin (tahlile, daha ileri inceleme gibi) uygulanıp uygulanmayacağı konusunda yol gösterici olmuştur. Anne kanında fetuse ait hücrelerin tespiti ile trizomi 18, trizomi 21 tanılarına varmak olanaklı hale

gelmiştir. Gelinen bugün ki noktada invaziv olmayan yöntemler üzerine çalışmalar devam etmektedir.

.Maternal dolaşımdaki en baskın fetal DNA kaynağının plasenta olduğu pek çok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Konsepsiyon sonrası 28-30 günden önce fetomaternal dolaşımın belirlenememesi, fetal DNA'nın trofoblastlardan köken aldığını düşündürmektedir. Serbest fetal DNA'nın plasentadan köken aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir[16]. Serbest fetal DNA'nın plasentada çok fazla miktarda bulunmasının yanında, tek kaynağın plasenta olmadığı düşünülmektedir.

cfDNA hem anne hem de fetoplasental ünite tarafından üretilir. Anne kanında maternal ve fetal cfDNA bir arada mevcuttur. Total cfDNA'nın %2-20 kadarı fetusa aittir. Maternal dolaşımdaki fetal cfDNA plasantanın sitotrofoblastik hücrelerinden ve fetal eritroblastların apoptozisi sonucu salınır. Bu fragmanlar plasentayı geçerek maternal dolaşıma girebilir. Maternal cfDNA hematopoetik sistemden ve adipositlerin apoptozisi sonucu salınır. Hücre dışı fetal DNA, doğumdan sonra anne kanından dakikalar içinde temizlenir. Sağlıklı gebe kadınlarda yaklaşık bir saattir ve doğumdan iki gün sonra tüm fetal cfDNA'lar elimine edilir.

Fetal cfDNA 7. Haftadan itibaren maternal kanda tespit edilebilir ve dolaşımdaki hücre dışı DNA'nın %3-6'sını oluşturur. Gebelik ilerledikçe bu oran artar. Fetal cfDNA fraksiyonu 10. ve 20. gestasyonel haftalar arasında haftada %0,1 artar. 20. gebelik haftasından sonra terme kadar ise fetal cfDNA fraksiyonu haftalık %1 artar[9].

Fetal DNA'nın Klinik Tanıda Kullanım Alanları

Rh D genotip değerlendirmesi

Anne kanından fetal Rh D genotipi değerlendirmenin birkaç potansiyel yararı vardır. Rh D-negatif fetus taşıyan Rh D-negatif anneye anti-D immün globülin verilmesi önlenabilir. Rh D alloimmünizasyon durumunda, Rh-D negatif fetüsün erken belirlenmesi gereksiz amniyosentez ve seri fetal orta serebral arter doppler değerlendirmesinden kaçınmayı sağlar. Geniş sayıdaki hasta serileriyle yapılan pek çok çalışma ile invaziv olmayan prenatal RhD genotiplemesinin doğruluğu kabul edilmiştir[17]. Teorik bir kaygı yanlış negatif test sonucu çıkan kadınların anti-D

immün globulin alamayacakları ve bunun da Rh D alloimmünizasyonunda potansiyel bir artışa yol açacağıdır.

Fetal cinsiyet tayini

Genetik hastalık açısından, fetusta X-bağılantılı bozukluk varsa, doğum öncesi cinsiyet tespiti klinik olarak yararlı olabilir. Hücre dışı fetal DNA'nın cinsiyet belirlemedeki duyarlılığı hamileliğin 7-12. haftaları arasında %95'i ve 20. haftadan sonra %99'u bulmuştur[18]. Testin her iki zaman diliminde %99 olan özgüllü hücre dışı fetal DNA'nın seçilmiş olgularda invaziv testlere mantıklı bir alternatif olduğunu düşündürür.

Anöploidiler

Fetal Down Sendromu ve diğer otozomal trizomiler maternal plazmadan büyük ölçekte paralel dizileme veya kromozomlara özel bölgeleri hedefleyen dizileme yoluyla saptanabilir[19]. Araştırmacılar aynı anda milyonlarca DNA parçasının dizilerini belirleyerek bir kromozomda parçaların oranının beklenenden daha fazla olup olmadığını bulabilirler. Fetal DNA dizilerinin her kromozoma özel olmasından dolayı, Down Sendromlu olanlardan alınan örneklerde 21. kromozomun DNA dizilerinin oranı daha yüksektir. NİPT'in trizomi 21,18 ve 13'ü yaklaşık %98 oranda saptadığı ve yanlış pozitiflik oranının %0,5 ve daha altında olduğu bulunmuştur[20].

Down Sendromu (trizomi 21)

Down sendromu canlı doğumlarda en sık izlenen kromozomal anomalidir. Yüksek bir fetal kayıp oranı vardır. Triomi 21'li fetusların %30'u 12 ve 40. gebelik haftaları arasında kaybedilir[33]. Down sendromlu kadınlar fertildir. Down sendromlu erkekler ise azalmış spermatogenez sebebiyle neredeyse hemen her zaman infertildir. Çeşitli dismorfik özellikler ve konjenital malformasyonlar ile karakterizedir.

Düz yüz profili, katlanmış kulaklar, Brushfield lekeleri(irisin periferinde görülen gri lekeler), çıkıntılı dil, kısa boyun, anormal dişler, 5. parmakta hipoplastik orta falanks, sandal gap, hipotoni, eklemlerde aşırı esneklik Down sendromunun karakteristik dismorfik bulgularıdır. Hastaların yaklaşık yarısında konjenital kalp

hastalığı vardır. Komplet atriyoventriküler septal defekt, VSD ve ASD sırasıyla en sık görülen kalp anomalileridir. Duodenal atrezi, özofagus atrezisi ve Hirschsprung hastalığı gibi gastrointestinal anomalilerin görülme oranı %7'dir[34]. Down sendromlu çocuklarda sık görülen sağlık problemleri işitme kaybı, optik kırma kusurları, katarakt, tiroid hastalıkları, genel popülasyona kıyasla yüksek oranda görülen lösemidir. Mental gerilik hafif ve orta düzey arasında değişiklik gösterir. Ortalama IQ 35 ile 70 arasındadır.

Trizomi 21 için yüksek riskli gebeliklerin erken tespiti, doğum öncesi anöploid taramasının birincil hedefidir. Prenatal tanı, etkilenmiş bir çocuğun doğumu veya gebeliğin sonlandırılması için aileye seçenek sunar. Hastalara danışmanlık verilirken temel prensip, bilinçli, tercihlere dayalı tarama ve tanı testi kararları almalarında yol gösterici olmaktır.

Edwards Sendromu (trizomi 18)

Edwards sendromu canlı doğumlarda ikinci en sık gözlenen otozomal trizomidir. Yaklaşık olarak 5500 canlı doğumda 1 görülür[34]. Trizomi 18'li fetusların %85'i, 10. hafta ile miad arasında kaybedilir. Canlı doğan bebeklerde sağkalım oranları da düşüktür. 1 yıllık sağkalım oranı ancak %2'dir.

Trizomi 18'in klinik spektrumu tüm organ sistemlerini etkileyebilir. Başlıca fenotipik özellikleri intrauterin büyüme geriliği, hipertoni, mikrognat, at nalı böbrek ve imperfore anüsdür. Omfalosel oldukça sık görülür. Hastaların %95'inde kardiyak defektler eşlik eder. En sık ventriküler septal defekt izlenir. Ekstremit ve kranyal malformasyonlar sık izlenir. Çilek şeklinde kranyum, koroid pleksus kistleri, parmakların üst üste binmesiyle sıkılı el "clenched hand", radyal kemik aplazisi, beşik ayak (rockerbottom) veya clubfoot (yumru ayak) bunlardandır.

Patau Sendromu (trizomi 13)

Trizomi 13'ün sıklığı yaklaşık 12000 canlı doğumda 1'dir. Oldukça fatal olan Patau sendromunda çoğu fetus 10 hafta ile miad arasında kaybedilir. 1 yıllık sağkalım oranı sadece %3'tür.

Patau sendromlu gebeliklerin %80'inin sebebi trizomi 13'tür. Diğerlerinde ise neden 13. ve 14. kromozomlar arasındaki robertsonian translokasyondur.

Hemen her organ sistemi etkilenebilir. Holoprozensefali etkilenmiş fetusların 3'te 2'sinde görülen spesifik bulgulardan biridir. Ciddi çoklu konjenital anomaliler ile karakterizedir. Klasik triadı mikro/anoftalmi, yarık dudak ve /veya damak ve postaksiyal polidaktilidir. Korpus kallozum agenezisi, serebral hipoplazi ve sefalosel gibi karakteristik santral sinir sistemi defektlerinin prenatal sonografik belirteçleri, bu tanıyı düşündüren en yaygın fetal bulgulardır.

Trizomi 13, anne için artmış preeklamps riskiyle ilişkilendirilmiş tek anöploididir. 2. trimesterin ilerisine ulaşabilmiş gebelerde yaklaşık %50 oranında preeklamps ve hiperplasentozis görülür. Trizomi 13'lü fetusların plasentalarında ve preeklampsili gebelerin kanında sFlt-1 proteininin artmış ekspresyonu tespit edilmiştir[36].

Diğer Trizomiler

Trizomi 21,18 ve 13 dışındaki otozomal trizomilerin eğer mozaizm yoksa canlı bir doğum ile sonuçlanması çok ender görülür. Trizomi 9 ve trizomi 22 ile canlı doğan vakalar bildirilmiştir. İlk trimester kayıplarında en sık izlenen trizomi 16'tır. Trizomi 1 ise hiç bildirilmemiştir.

Preeklamps

Preeklampsili gebelerde hücre dışı DNA fraksiyonlarında artış izlendiği ve preeklamps tanısında plazmadaki serbest DNA düzeylerinin kullanılabilir bir belirteç olduğu belirtilmiştir.[21]. Preeklampsinin fizyopatogenezi halen tam anlaşılamamıştır. Uterin damarlardaki bozulmaya bağlı villüs trofoblastlarının zarar görmesi ve sonuçta hücrelerde hasar veya apoptoz meydana gelerek DNA'nın maternal dolaşıma geçtiği tahmin edilmektedir. Maternal dolaşımdaki serbest fetal DNA'nın plasental hasarın bir göstergesi olarak preeklampsinin şiddetiyle serbest fetal DNA konsantrasyonları arasındaki ilişkisinin araştırılması sonucunda serbest fetal DNA düzeyi ile proteinüri ve hipertansiyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir[21].

Hemoglobinopatiler

En sık izlenen ve ciddi bir problem olan tek gen hastalıkları arasında talasemi gelmektedir. Beta talaseminin tanısında moleküler genetik teknikler kullanılmaktadır. DNA incelenmesine dayalı yöntemler; DNA'nın kaynağı olarak amniyon sıvısı, koriyonik vilüs örneği veya fetal kan örneğini kullanmaktadır. Prenatal tanıda fetal DNA elde etmek için kullanılan tetkiklerin invaziv olması ve bunların % 0,5-1 oranında komplikasyon riski oluşturması nedeniyle bu yöntemlerin non-invaziv olanlarla yer değiştirmesi gerektiği düşüncesini öne çıkarmıştır. Bu yaklaşımdan dolayı fetusa ait hücrelerle yapılan araştırmalarda, maternal plazmadan izole edilmiş fetal eritroblastlarla tek hücre PCR yöntemi kullanılmıştır[22].

Plazma DNA Kimerizmi

Plazma DNA kimerizmi, tümörden köken alan DNA veya fetus kaynaklı DNA gibi yabancı genetik materyallerin, bazı kişilerin dolaşımında tespit edilmesinden beri yeni bir kavram olarak görülmektedir. DNA kimerizmi kavramı, mesane kanseri ve böbrek transplant hastalarının idrarındaki DNA'yı saptama sırasında geliştirilmiş ve kişide genetik olarak farklılık taşıyan hücrelerin bulunmasıyla tanımlanmıştır[25,26]. Günümüze dek, insan dolaşımında çok çeşitli plazma DNA kimerizmleri bulunmuştur. Bu kimerizmlerin kökeni tümör ve fetal kaynaklı olup ayrıca 1998'de bildirilen karaciğer ve böbrek transplant hastalarının plazmalarında bulunan verici kaynaklı DNA'lardır[27]. Plazmadaki DNA kimerizm bulguları hastalığın tanı ve takibinde belirteç olarak kullanıldığından beri, klinik kullanımlarda özel bir önem kazanmıştır.

Cell-free DNA Tarama Testi Endikasyonları[23,24]

1. 35 yaş ve üstü gebelikler
2. Sonografik incelemede anöploidi riskinin yüksek olması
3. Kromozom anomalisi olan bebek öyküsü
4. Annede biyokimyasal tarama testlerinde risk saptanması
5. Maternal veya paternal kromozomal bozukluk
6. Anamnezde iki ve üzeri nedeni bilinmeyen ölü doğum öyküsü
7. Ailede genetik geçişli hastalık öyküsü olması

Düşük fetal fraksiyon nedenleri

Fetal fraksiyon= fetal DNA / (fetal DNA + maternal DNA) olarak hesaplanmaktadır.

Güvenilir bir test sonucu için yeterli miktarda fetal cfDNA olmalıdır. Bazı faktörler fetal fraksiyonu sistematik olarak azaltarak sonucun belirsiz veya yanlış negatif olarak raporlanmasına neden olabilir.

Erken gebelik haftası: Fetal fraksiyon 10. gebelik haftasından önce önemli miktarda düşük elde edilebildiğinden; çoğu laboratuvar test için yeterli fetal fraksiyon (%3-4) için 10. gebelik haftasından sonra maternal kanı değerlendirir. Cell-free fetal DNA geç birinci trimester ve ikinci trimesterde total cell free DNA'nın yaklaşık %13'ünü oluşturur. Termde ise maternal dolaşımdaki total hücre dışı DNA'nın yaklaşık yüzde 50'sini içerir.

Suboptimal numune toplama: Uygun numune toplama ve DNA stabilizasyonu fetal fraksiyonu korumak için son derece önemlidir. Numune standart bir EDTA'lı tüpte toplanmalı ve altı saat içinde santrifüj edilmelidir. Elde edilen plazma -80 C derin dondurucuda saklanır. Alternatif olarak, numuneyi oda sıcaklığında 5 güne kadar stabilize eden özel bir DNA toplama tüpü kullanılabilir; bu tüpler işlenene kadar soğutulmamalı ve dondurulmamalıdır.

Eksik numune laboratuvar tarafından reddedilebilir veya yetersiz fetal fraksiyon nedeniyle daha yüksek test başarısızlığı ile sonuçlanabilir.

Obezite: VKİ arttıkça fetal fraksiyon oranı azalır. Bu ters ilişki, obez kadınların daha büyük maternal plazma hacminde nispeten sabit miktarda fetal cfDNA'nın dilüe olmasına ve ayrıca maternal ağırlık arttıkça maternal olarak üretilmiş cfDNA konsantrasyonunun artmasına bağlanmıştır. Obez olan kadınlarda maternal cfDNA'daki artış kronik inflamasyon ve apoptozisteki artıştan kaynaklanabilir[28].

Biyokimyasal tarama testlerinin aksine, laboratuvar maternal ağırlığı düzeltmek için sonucu matematiksel olarak ayarlayamaz.

Fetal karyotip: trizomi 13 ve Turner Sendromunda fetal fraksiyonun euploid fetuslardan daha düşük olduğu görülmektedir. Triploid fetüslerin aşırı düşük fetal fraksiyonları vardır[29].

Ek olarak in vitro fertilizasyon, ikiz gebelikler ve 20. Gebelik haftasından önce düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımı düşük fetal fraksiyona neden olmaktadır.

Yanlış pozitif test sonucunun nedenleri

Fetus etkilenmemiştir; ancak cfDNA testi kromozomal anormalliği gösterir.

Kapalı plasental mozaizm: Fetal cfDNA'ların majör kaynağı sinsityotrofoblastlardır. Test plasental doku ile uyumlu sonuç vereceğinden fetal doku ile uyumsuz olabilir. Bu durumda test analitik olarak doğru; ancak klinik olarak yanlıştır.

Kayıp ikiz eşi: Ölen ikizden kaynaklı plasenta test sırasında hala mevcuttur ve fetal ölümden haftalar sonra dahi dolaşıma DNA katkısı devam etmesidir.

Maternal mozaizm: Çoğu cfDNA testi annenin normal bir karyotipi olduğunu kabul eder, ancak bu her zaman doğru değildir. Kadınlarda artan yaşla beraber hücrelerin küçük bir yüzdesi X kromozomunu kaybeder. Böylece fenotipik olarak normal kadınlarda, düşük X kromozomu sinyali fetusa atfedilir ve fetal Turner sendromu olarak bildirilir.

Maternal kanser: Malignitesi olan kadınlarda ölçülebilir düzeylerde hücre dışı serbest tümör DNA'sı dolaşıma dökülebilir[31]. Tümörü olan gebe bir kadında, hücre dışı maternal ve fetal DNA'nın yanı sıra dolaşımdaki tümör DNA'sı da toplam cfDNA'ya katkıda bulunur.

Maternal kopya numarası varyasyonları: cfDNA analizi için metodoloji, her kadının belirli bir kromozom üzerinde aynı oranda genetik materyal taşıdığını varsayar. Ancak kromozomların (kalıtsal veya de novo) kopya sayısı varyasyonları nedeniyle bireyler arasında hafif değişkenliğe uğradığı varsayılır. Bu değişiklik ilgilenilen bir kromozomda meydana geldiğinde (örneğin, kromozom 21) test pozitif bir sonuç verebilir.

Şans: Yanlış pozitif sonuçlar, istatistiksel testin sonucu da olabilir. Çünkü pozitif test için standart sapma +3 olarak ayarlanmıştır. Bu nedenle, 1000 euploid fetüsün 1 veya 2'sinin tek başına şans eseri yanlış pozitif bir sonucu olabilir.

Transplant Alıcısı: Bir erkek vericiden gebeye doku veya organ nakledildiğinde, donör organdan maternal dolaşıma geçen erkek cfDNA, dişi bir fetusu erkek olarak tanımlayabilir.

Kan transfüzyonu: 4 haftadan kısa süre önce erkek bir donörden yapılan kan transfüzyonu varsa, dişi bir fetüs erkek olarak yanlış raporlanabilir.

Yanlış negatif test sonucunun nedenleri

Sınırlı plasental mozaizm: Maternal dolaşımdaki fetal cfDNA'nın esas kaynağı bir plasental hücre olan sinsityotrofoblastlardır. Plasentanın karyotipi bunu yansıtmasa da fetüsün anöploidik olması mümkündür.

Sınırdaki düşük fraksiyon: Düşük ancak yeterli fetal fraksiyon(%3-5) normal referans ile çalışılan kromozom fragmanlarının yüzdesi arasında çok küçük bir farkla sonuçlanır. Yeterli sayıda parça sıralanmazsa, bu fark tanımlanmayacak ve sonuçlar yanlış olarak negatif rapor edilecektir.

Teknik konular: Teknik test sorunları bazı anöploidilerin tanınmasını zorlaştırır. Örneğin, kromozom 13 sonuçları, düşük guanin-sitozin oranı nedeniyle diğer anöploidilerden daha düşük tespit oranları ile sonuçlanır.

Negatif sonuç, fetüsün test panelindeki anöploidilerden birine sahip olma riskinin azaldığı anlamına gelir; ancak tarama testi olduğu tanı testi olmadığı için etkilenmiş bir fetüs olasılığını ortadan kaldırmaz.

Cell-Free Fetal DNA Taraması İçin ACOG Önerileri[32]

- Hastaların tümüne, prenatal tanı ve tarama testlerinin alternatifleri, olası riskleri ve yararları hakkında ayrıntılı bilgi verilmelidir. Herhangi bir testin yapılmaması durumunda muhtemel riskler için hastaya açıklanmalıdır.
- Nöral tüp defektleri ve batin ön duvar defektleri gibi yapısal anomalileri serbest fetal DNA testi ile değerlendirmek mümkün

değildir. Hastalara bu anomaliler için maternal serumda alfa fetoprotein taraması ve sonografik inceleme önerilmelidir.

- Negatif test sonucunun sağlıklı bir hamileliği garanti edemeyeceği hastalara açıklanmalıdır.
- Çoğul gebeliklere cell-free fetal DNA testi önerilmemektedir.
- Cell-free fetal DNA testinin sınırlılıkları, rutinde kullanılan tarama yöntemlerinin başarısının yüksekliği ve bu testin yüksek maliyeti nedeniyle tüm gebelere önerilmesi uygun bir yaklaşım değildir.
- Diğer tarama testlerinin beraber veya eş zamanlı kullanılması önerilmemektedir ve maliyet-etkin değildir.
- Her hastanın kromozomal anomaliler için uygulanan tüm tarama ve tanı testlerini reddetme hakkı vardır.
- Mikrodelesyon sendromları için cell-free fetal DNA testi rutin olarak önerilmemektedir.
- Cell-free DNA testi amniyosentez veya koryon villüs biyopsisi gibi tanı testlerinin bir alternatifi değildir.
- Cell-free DNA testi ile trizomi 21,18 ve 13 ile cinsiyet kromozom anomalileri taranabilmektedir.
- Test sonucu pozitif raporlanmış olan her gebeye invaziv tanısal bir yöntem önerilmelidir.
- Gebeliğin sonlandırılması kararı yalnızca cell- free DNA testinin sonucuna göre verilemez.
- Riskinden bağımsız olarak tüm gebelerin cell-free DNA testini yaptıрма hakkı vardır; fakat gebeye bu testin ve diğer yöntemlerin avantajları ve dezavantajları hakkında danışmanlık verilmelidir.
- Sonografik incelemede yapısal majör anomali tespit edilirse, cell-free DNA testi yerine hasta tanı testine yönlendirilmelidir.
- Test sonucu belirsiz veya yorumlanamaz olarak rapor edilmiş gebelere genetik danışmanlık verilmeli ve bu hasta grubuna artmış anöploidi riskine bağlı ayrıntılı ultrasonografik inceleme ve tanı testleri önerilmelidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından 25.04.2018 tarihinde 2018/ 5-8 karar numarası ile bilimsel olarak onaylanmış ve Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapılmıştır.

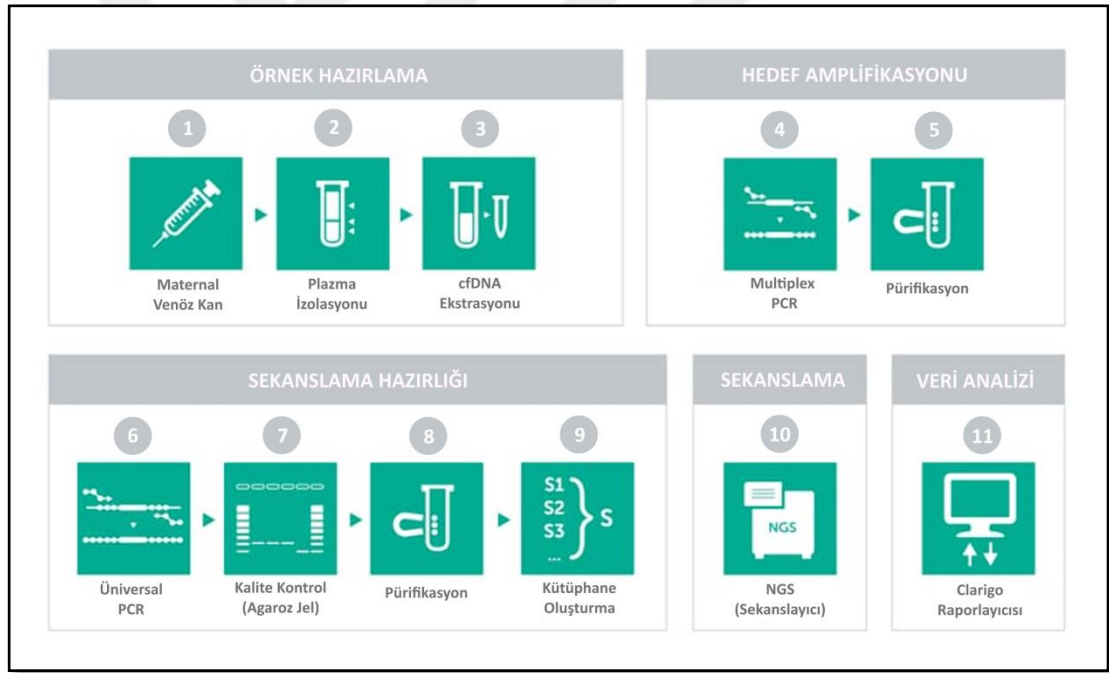
Retrospektif tanımlayıcı tipteki araştırmada; 2016-2018 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde NİPT testi yapılan ve sonucu belirsiz olarak rapor edilen tüm gebelere ulaşılmaya çalışılmış ve örnek seçimi yapılmamıştır. Çalışmamıza 108 gebe dahil edilmiştir.

18 yaş altı gebeler, NİPT testinde fetal fraksiyon oranı %3'ün altında olarak raporlanan vakalar, VKİ 35 ve üzerinde olan hastalar, çoğul gebelikler, test öncesi son üç ay içerisinde kan transfüzyonu, kök hücre tedavisi, transplantasyon, immünoterapi ve radyoterapi öyküsü bulunanlar araştırmaya dahil edilmemiştir. 35 yaş ve üzeri tekil gebelikler, 2. Trimester USG incelemesinde fetal anöploidi için minör belirteçlerin (koroid pleksus kisti, ekojenik intrakardiyak focus, piyelektazi, ekojenik bağırsak, nukal fold kalınlığı, tek umbilical arter) var olduğu vakalar; 2'li tarama testinde trizomi risk artışı (kombine trizomi 21 riski 1/300 – 1/1000 arasında olması, yaş riskinin veya biyokimyasal trizomi 21 riskinin 1/300'den yüksek olması) bulunan gebeler; 3'lü tarama testinde risk artışı (yaş riskinin veya trizomi 21 biyokimyasal riskinin 1/300'den yüksek olması) bulunan gebeler; VKİ 35'in altında olan hastalar, NİPT testinde fetal fraksiyon oranı %3 ve üstünde raporlanmış hastalar çalışmamıza dahil edilmiştir.

Kriterlere uygun olan hastaların yaş, obstetrik öykü, non-invaziv prenatal tarama testindeki fetal fraksiyon oranı, gebeliğinde antikoagülan, folik asit, asetilsalisilik asit kullanım öyküsü, VKİ, gebenin eşi ile arasında akrabalık öyküsü, gebede tanı almış kronik hastalık mevcudiyeti, USG'de anormal bulgu varlığı, non-invaziv prenatal tarama testinin yapıldığı gebelik haftası, 2'li ve 3'lü tarama testi sonuçları, gebe, eş ve bebek kan grubu bilgileri Probel sistemi üzerinden elde edilmiştir. Probel sisteminde kayıtlı olmayan bilgiler için hastalar sistemdeki telefon numaralarından aranmış ve bilgilerine tam olarak ulaşılabilen hastalar çalışmaya dahil edilmiştir,

Öncelikle perinatoloji kliniğinde değerlendirilen hastalar, NİPT endikasyonları göstermeleri durumunda tıbbi genetik bölümüne yönlendirilmektedir.

Bu çalışmaya dahil edilen vakalarda NİPT testi Multiplicom şirketinin (Multiplicom N.V. Galileilaan 18 2845 Niel Belçika) bir ürünü olan Clarigo kiti kullanılarak yapılmıştır. Maternal kandan elde edilen cfDNA kullanılarak kromozom 21, 18 ve 13'ün fetal anöploidi durumunu taramaya yönelik bir testtir. Söz konusu teknoloji polimeraz zincir reaksiyonu prosedürünü takiben Illumina MiSeq, HiSeq veya NextSeq sistemlerinde masif paralel dizilemenin (MPS) kullanıldığı, maternal kanda bulunan cfDNA'nın hedef amplifikasyonuna dayanmaktadır. Oluşturulan dizileme verileri, kromozom 21, 18 ve 13'ün ploidi durumunun, fetal fraksiyonun ve tercihe bağlı olarak fetus cinsiyetinin belirlendiği veri analizi için Clarigo raporlayıcı yazılımına yüklenir.



Şekil 5: Clarigo iş akış şeması

Test, plasental mozaizm, fetal kimerizm, kısmi fetal kromozomal anöploidi, kaybolan ikiz, %4'ün altında fetal fraksiyon ve fetal triploidi durumlarında fetal ploidiyi doğru şekilde belirleyemez. Gestasyon yaşının 8 haftanın altında olması, ebeveynlerde kromozom anomalisi, çoğul gebelikler, oosit donasyonu ile oluşmuş gebelik, son 3 ayda kan nakli, immünoterapi, kök hücre tedavisi, transplantasyon

veya radyasyon tedavisi görmüş olan kişilerden alınan örnekler geçerli bir şekilde test edilemez.

Kanın Streck (cell free DNA BCT) tüplerinde alınması zorunludur. Kan örneğinin oda sıcaklığında saklanması ardından, plazma 48 saat içinde izole edilmelidir. Daha sonra işlemler sırasıyla cfDNA ekstraksiyonu, multipleks PCR, universal PCR, Illumina sistemleri üzerinde dizileme ve tüm verilerin yazılımsal analiz edilmesi şeklinde devam etmektedir.

İstatiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS versiyon 20 yazılımı kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı bulgular sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma ile kategorik değişkenler için frekans ve yüzde ile sunuldu.

4. BULGULAR

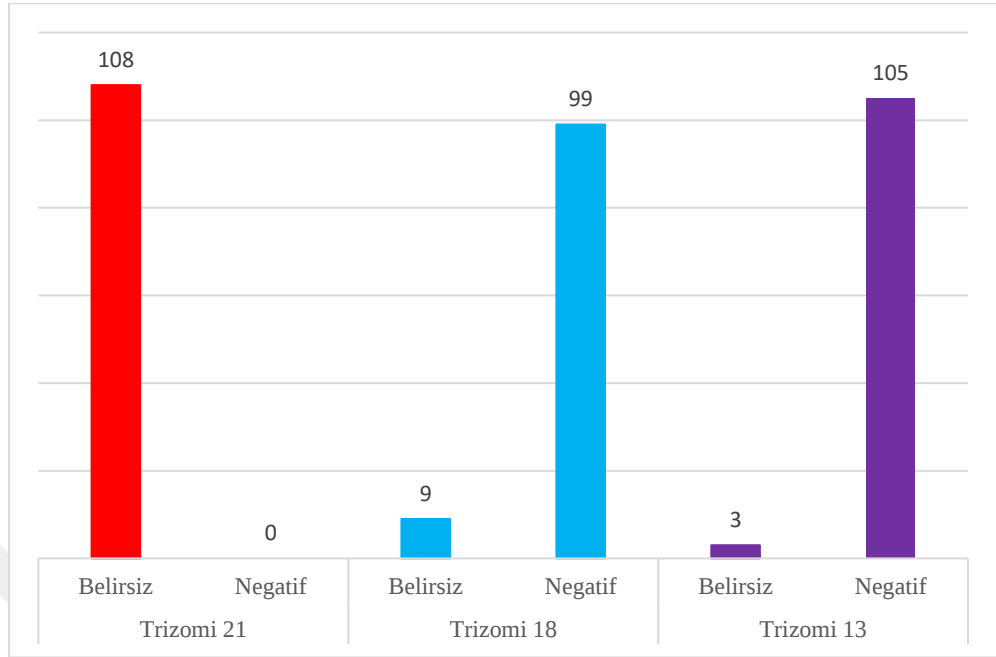
Çalışmamızda NİPT test sonucu belirsiz olarak rapor edilmiş 108 hastanın epidemiyolojik özellikleri incelenmiştir. Toplam 108 gebenin yaş ortalaması standart sapmayla beraber 34.4 ± 5.57 olarak saptandı. Fetal fraksiyon değerlerinin ortalaması 5,26, BMI ortalaması 25.9, gebelik haftası ortalaması 16.2 olarak saptandı (Tablo 4).

Tablo 4: Çalışma grubu sayısal değişkenlerin tanımlayıcı bulguları					
	N	Minimum	Maximum	Ortalama	Standart sapma
Yaş	108	20,0	44,0	34,40	5,57
Fetal Fraksiyon (%)	108	3,10	10,30	5,26	1,72
BMI (m²/kg)	108	19,12	34,20	25,97	3,51
Gebelik Hafta	108	11,0	24,0	16,23	3,20

Çalışma grubundaki 108 gebenin tamamı Trizomi 21 açısından belirsiz, Trizomi 18 açısından %8,3'ü belirsiz, Trizomi 13 açısından %2,8'i belirsiz olarak değerlendirildiği görülmektedir (Tablo 5, Grafik 1).

Tablo 5: Çalışma grubunda Trizomi dağılımı			
		Sayı	Yüzde (%)
Trizomi 21	Belirsiz	108	100,0
	Negatif	0	0,0
Trizomi 18	Belirsiz	9	8,3
	Negatif	99	91,7
Trizomi 13	Belirsiz	3	2,8
	Negatif	105	97,2

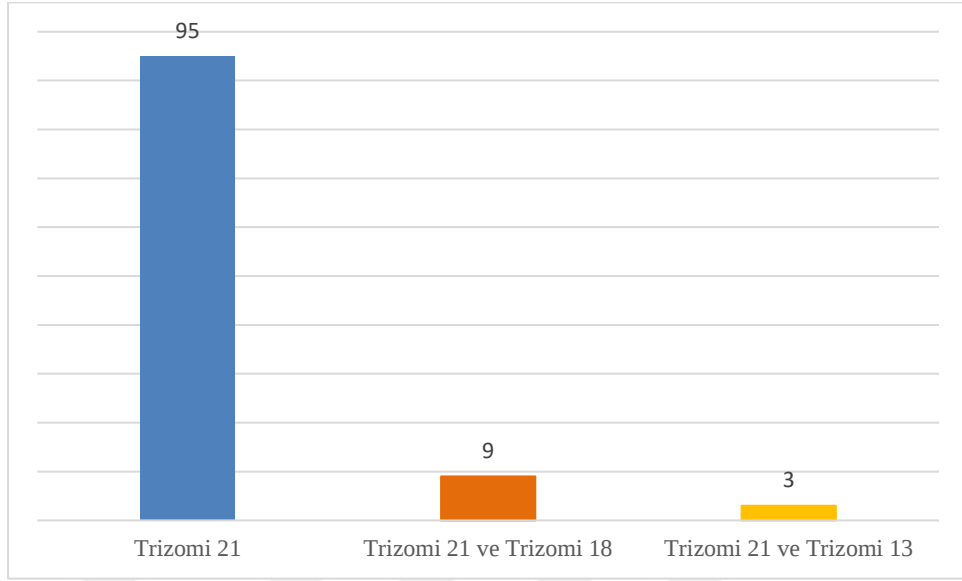
Grafik 1: Çalışma grubunda Trizomi belirsiz ve negatif değerlendirilen vakaların sayısı



Trizomi değerlendirmesinde 95 gebede sadece Trizomi 21, dokuzunda Trizomi 21 ve Trizomi 18, üçünde Trizomi 21 ve Trizomi 13 belirsiz olarak saptanmıştır (Tablo 6, Grafik 2).

Tablo 6: Trizomilerin kişi bazında dağılımı		
	Sayı	Yüzde (%)
Trizomi 21	95	88,0
Trizomi 21 ve Trizomi 18	9	8,33
Trizomi 21 ve Trizomi 13	3	2,77
Toplam	108	100,0

Grafik 2: Trizomilerin kişi bazında sayısı

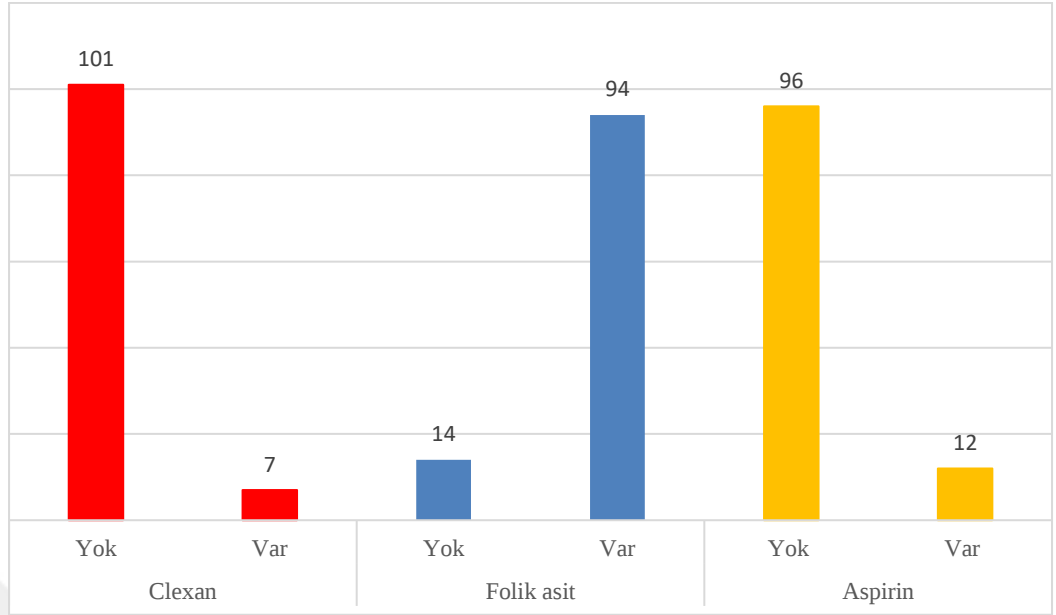


Çalışma grubundaki 108 gebenin; %6,5'i DMAH, %87'si Folik asit, %11,1'inin Aspirin kullandığı gözlenmiştir (Tablo 7, Grafik 3).

Tablo 7: Çalışma grubunda DMAH, Folik asit ve Aspirin kullanım durumu

		Sayı	Yüzde (%)
DMAH	Yok	101	93,5
	Var	7	6,5
Folik asit	Yok	14	13,0
	Var	94	87,0
Aspirin	Yok	96	88,9
	Var	12	11,1

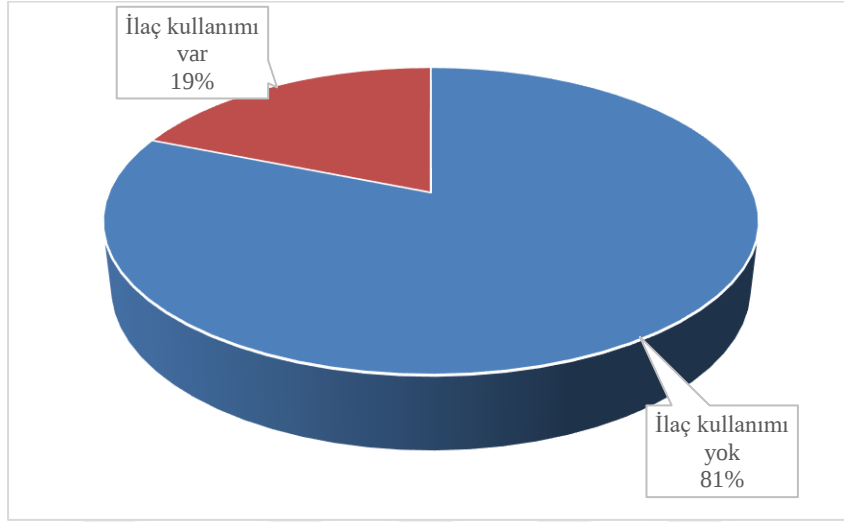
Grafik 3: Çalışma grubunda DMAH, Folik asit ve Aspirin kullanım durumu



Toplam 108 gebenin 86 (%79,6)'sının ilaç kullanmadığı saptanmıştır. İlaç kullananlara bakıldığında ise Eutrox sekiz kişi, İnsülin beş kişi, DMAH ve Tablo 4.'de görülen diğer ilaçlar (Tarda, Lamictal, Kortizon, Diaformin, Alfamed) birer kişi tarafından kullanılmaktadır (Tablo 8, Grafik 4).

Tablo 8: Çalışma grubunda ilaç kullanım durumu			
		Sayı	Yüzde (%)
İlaç kullanımı yok		86	79,63
İlaç kullanımı var	DMAH	7	6,48
	Eutrox	6	5,56
	İnsülin	4	3,70
	Tarda	1	0,93
	Lamictal	1	0,93
	Kortizon	1	0,93
	Diaformin	1	0,93
	Alfamed	1	0,93
Toplam		108	100,0

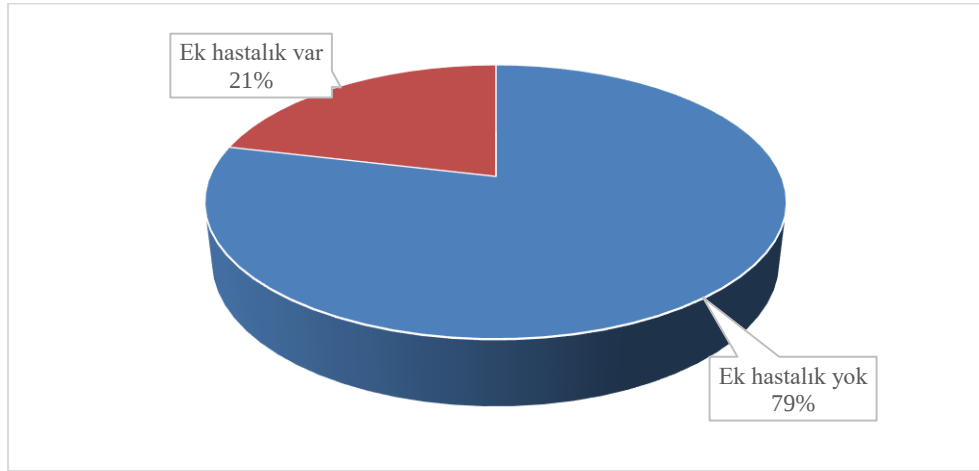
Grafik 4: Çalışma grubunda ilaç kullanım durumu



Toplam 108 gebenin 85 (%78,7)'sının ek hastalığı saptanmıştır. Ek hastalığı olanlara bakıldığında ise 10 kişide hipotiroidi, dört kişide Tıp 2 DM, üç kişide Gestasyonel DM, iki kişide Hipertansiyon ve Tablo 5.'de görülen diğer ek hastalıklar (GHT, F5 leiden mut.,epilesi, AS+FMF) birer kişide görülmektedir (Tablo 9, Grafik 5).

Tablo 9: Çalışma grubunda ek hastalık durumu			
		Sayı	Yüzde (%)
Ek hastalık yok		85	78,7
Ek hastalık var	HİPOTİROİDİ	10	9,3
	TİP 2 DM	4	3,7
	GDM	3	2,8
	HT	2	1,9
	GHT	1	0,9
	F5 LEİDEN MUT	1	0,9
	EPİLEPSİ	1	0,9
	AS + FMF	1	0,9
Toplam		108	100,0

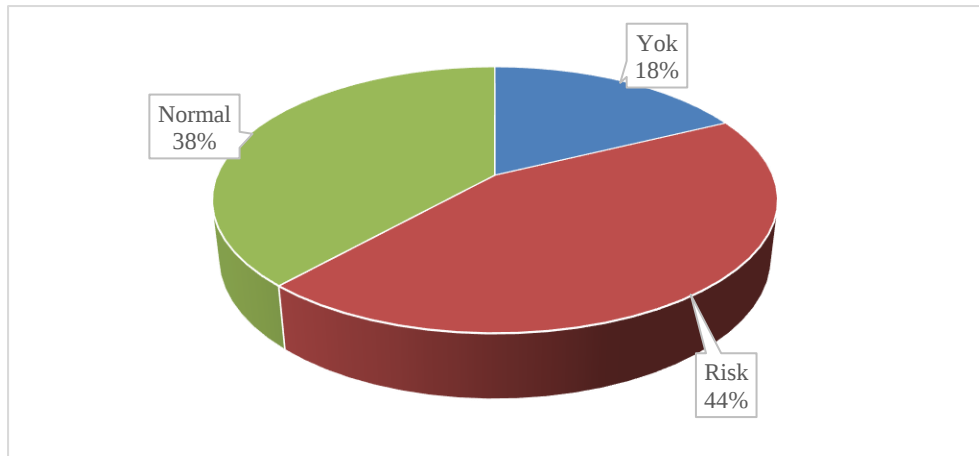
Grafik 5: Çalışma grubunda ek hastalık dağılımı



Toplam 108 gebede ikili test; 19 (%17,6)'unda bulunmamakta, 47 (%43,5)'si riskli, 41 (%38)'inde normal olarak değerlendirilmiştir (Tablo 10, Grafik 6).

Tablo 10: İkili test sonuçlarının dağılımı			
		Sayı	Yüzde (%)
İkili test	Yok	19	17,6
	Risk	47	43,5
	Normal	42	38,9
Toplam		108	100,0

Grafik 6: İkili test sonuçlarının dağılımı (n=108)



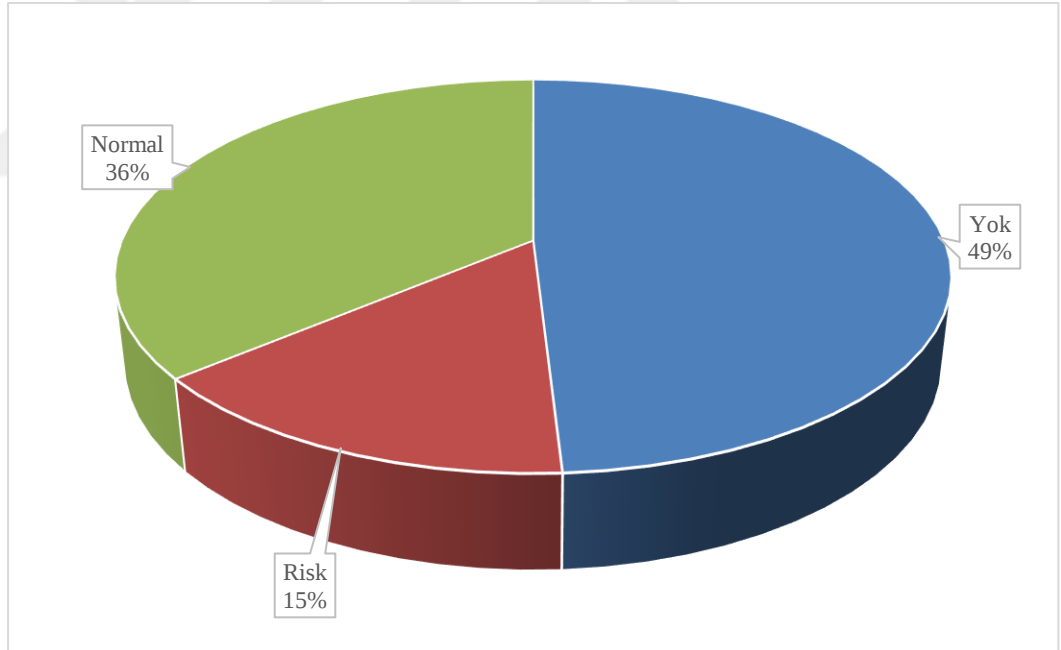
Kan grupları anne, fetüste A Rh +, O Rh +, B Rh + olarak benzer sıklıkta saptanmıştır (Tablo 11).

Tablo 11: Anne, fetüs, eş kan gruplarının dağılımı (n=108)			
		Sayı	Yüzde (%)
Anne kan grup	O RH +	38	35,2
	A RH +	37	34,3
	B RH +	15	13,9
	AB RH +	8	7,4
	A RH -	6	5,6
	AB RH -	3	2,8
	O RH-	1	0,9
Fetüs kan grup	A RH +	53	49,1
	O RH +	32	29,6
	B RH +	15	13,9
	O RH-	2	1,9
	AB RH +	2	1,9
	A RH -	2	1,9
Eş kan grup	A RH +	49	45,4
	O RH +	31	28,7
	B RH +	12	11,1
	A RH -	7	6,5
	O RH-	7	6,5
	AB RH +	2	1,9

Toplam 108 gebede üçlü test; 53 (%49,1)'ünde bulunmamakta, 16 (%14,8)'sı riskli, 39 (%36,1)'unda normal olarak değerlendirilmiştir (Tablo 12, Grafik 7).

Tablo 12: Üçlü tarama testi sonuçlarının dağılımı		
	Sayı	Yüzde (%)
Yok	53	49,1
Risk	16	14,8
Normal	39	36,1
Toplam	108	100,0

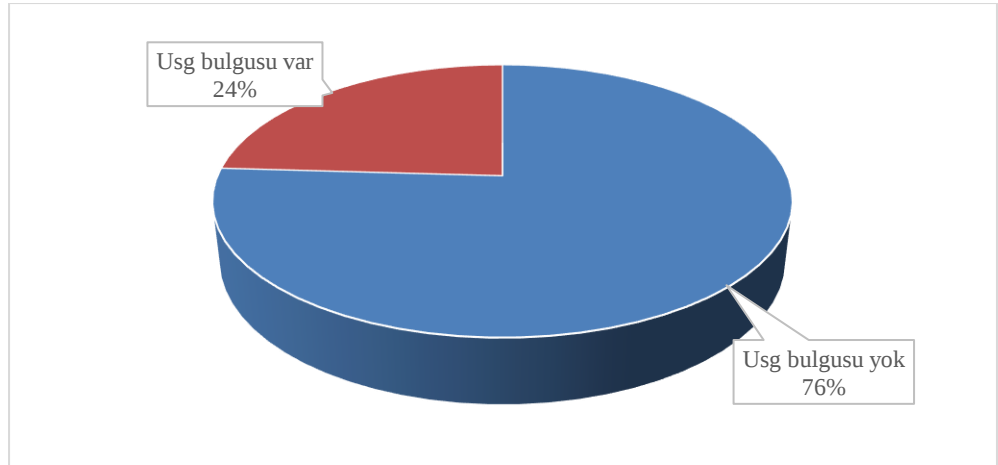
Grafik 7: Üçlü tarama testi sonuçlarının dağılımı



Toplam 108 gebenin %24'ünde ultrason bulgusu bulunmakta, %76'sında bulunmamaktadır. Usg bulgularının açıklaması *Tablo13* 'te sunulmaktadır.

Tablo 13: Usg bulgularının dağılımı			
		Sayı	Yüzde (%)
Usg bulgusu yok		82	75,93
Usg bulgusu var	Koroid pleksus kisti	10	9,26
	İeo	2	1,85
	Piyelektazi	4	3,70
	İki ve üzeri minör belirteç	4	3,70
	Bilateral plv artışı	1	0,93
	Extremitelerde hipoplazi	1	0,93
	İb ekojenite artışı	1	0,93
	Nt 6mm	1	0,93
	Nukal fold kalınlık artışı	1	0,93
	Polidaktili	1	0,93
	Tek umbilical arter	1	0,93
	Yarık dudak	1	0,93
Toplam		108	100,00

Grafik 8: USG bulgusu durumu



5. TARTIŞMA

Materyal dolaşımdaki serbest fetal DNA'nın trizomi 21, trizomi 18, trizomi 13 ve cinsiyet kromozom anöploidileri taraması için değerlendirilmesi giderek daha popüler bir seçenek haline gelmiştir. Hücre dışı serbest fetal DNA testi, diğer prenatal tarama testleri ile kıyaslandığında özgüllüğü ve duyarlılığı daha yüksek olan bir yöntemdir. Örneğin, trizomi 21 için duyarlılığının %98,6 ile %99 arasında olduğu bildirilmiştir[57,58,59]. Fakat diagnostik bir test olmadığından, pozitif test sonucunun mutlaka invaziv bir tanı yöntemi ile doğrulanması gerekmektedir. Test sonuçları belirsiz olarak rapor edilen gebeler, genetik danışmanlık almalı ve bu hastalara anöploidi riskinin artmasına bağlı invaziv bir tanı testi önerilmelidir.

Bu çalışmada non-invaziv prenatal tanı testi uygulanmış; ancak sonucu belirsiz olarak rapor edilmiş gebelerdeki epidemiyolojik özellikler araştırılmıştır.

Çalışmaya katılan 108 gebenin özellikleri incelendiğinde minimum yaşı 20, maksimum yaşı 44 olduğu görüldü. Yaş ortalaması 34.4 ± 5.57 olarak bulundu; ancak çalışmamıza 18 yaş altı hastalar dahil edilmedi. Ölçülen fetal fraksiyon en az %3,10 en fazla da %10,30 olarak ölçülmüş olup, ortalama $5,26 \pm 1,72$ 'dir. Hastaların VKİ hesaplanmıştır ve minimum VKİ 19,12 maksimum VKİ 34,20, ortalama VKİ $25,97 \pm 3,51$ olarak bulunmuştur. VKİ 35 ve üzeri olan hastalara NİPT testi uygulanmamaktadır. Hastalara hücre dışı serbest fetal DNA testi 11. ve 24. gebelik haftaları arasında yapılmış olup ortalama gebelik yaşı $16,23 \pm 3,20$ olarak bulunmuştur. 4594 gebenin anöploidi sonuçlarının değerlendirildiği diğer bir çalışmada %3,2(n=139) hastaya trizomi 21 için test sonucu belirsiz olarak rapor edilmiştir, bu çalışmada yaş ortalaması 32,3 olarak bulunmuştur, ancak bu çalışmaya bizim çalışmamızdan farklı olarak 18 yaş altı gebeler de dahil edilmiştir. Bu çalışmada testin uygulandığı ortalama gebelik haftası 16,2 hafta ve ortalama VKİ 25,5 bulunmuş olup, sonuç değerleri çalışmamızda bulduğumuz değerler ile benzerlik göstermektedir.[37]. Biz ortalama fetal fraksiyonu $5,26 \pm 1,72$ (n:108) bulduk ve çalışmamıza %3 üzeri fetal fraksiyonu ölçülmüş hastaları dahil etmiştik. Diğer çalışmada 4594 gebenin fetal fraksiyon ortalaması %6,2 olarak bulunmuş ve fetal fraksiyon oranları minimum %0,1 maksimum %20,5 olan daha geniş bir aralıkta çalışılmış[37]. Fetal fraksiyon arasındaki bu fark diğer çalışmadaki çalışılan fetal

fraksiyon aralığının daha geniş olmasından kaynaklanabilir. Maternal dolaşımdaki hücre dışı serbest fetal DNA'nın oranı anöploidik bir fetusun tanımlanması için önemli bir parametredir[38]. Fetal fraksiyon düzeylerini etkileyen faktörleri ve bunun NİPT testi sonucuna etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 140377 hastada ölçülen ortalama fetal fraksiyon %9,47, testin yapıldığı ortalama gestasyon haftası 13,10 ve BMI ortalaması 25,66 bulunmuş[53]. Anne ve fetal karakteristiklerinin hücre dışı fetal DNA fraksiyonu üzerine etkilerinin bakıldığı 23067 hastanın dahil edildiği bir araştırmada ortalama BMI 22,5 ve ortalama yaş 30,9 olarak bulunmuştur[54].

Çalışmamızdaki tüm hastalarda trizomi 21 sonucu belirsiz rapor edilmiş olup, %8,3(n:9) hastada trizomi 18, %2,8(n:3) hastada trizomi 13 için de sonuç verilememiştir.

Yapılmış diğer çalışmalarda özellikle düşük fetal fraksiyona bağlı başarısız NİPT testi sonuçlarında enoksaparin sodyum kullanılan antikoagülan tedavi dikkat çekmiştir[39,40]. Antikoagülan tedavinin apoptozisi inhibe ettiği ve buna bağlı fetal fraksiyon düşüklüğü nedenli başarısız test sonucuna yol açtığı düşünülmektedir[41]. Çalışmamızdaki 108 hastanın %6,5(n:7)'inde clexan kullanımı mevcuttu, toplam 15(%13,89) hasta diğer bir hastalık için ilaç tedavisi almaktaydı ve sadece 1(%0,9) hastada otoimmün hastalık öyküsü vardı. NİPT test sonucu raporlanamayan 58 hastanın incelendiği başka bir çalışmada gebelerin 15(%25,9)'inde enoksaparin kullanımı bulunmuş ve 14(%24,1) hasta başka bir hastalık için tedavi almaktaymış, 7(%12,1) hastada ise tanısı konmuş otoimmün hastalık mevcutmuş[48]. NİPT testine refere edilme nedenleri, 40(%70,0) hastada ikili tarama testinde risk artışı, 10(%17,2) hastada üçlü tarama testinde risk artışı olmasıydı. Bizim çalışmamızda ise 47(%43,5) hastada ikili tarama testinde risk artışı ve 16(14,8) hastada üçlü tarama testinde risk artışı rapor edilmişti.

2126 hastanın 39'unda NİPT test sonucu anormal olarak raporlanmış bir çalışmada, sonucu anormal raporlanmış 39 hastanın %69,2(n:27)'sinde anormal USG bulguları olduğu bildirilmiştir[42]. Çalışmamızda %24,07(n:26) hastada anomali lehine sonografik bulgu izlenmiştir. Araştırmamızda en sık görülen anomali %9,26(n:10) olan koroid pleksus kisti diğer araştırmada sadece %2,6(n:1) olarak

bulunmuştur. Hastaların %3,70(n:4)'sinde piyelektazi, %3,70(n:4)'sinde iki ve üzeri minör sonografik belirteç, %2(n:2) intrakardiyak ekojenik odak, her birinden %1(n:4)'er olarak da ekstremitelerde hipoplazi, ince bağırsaklarda ekojenite artışı, nukal fold kalınlık artışı, polidaktili, tek umbilical arter, yarı damak ve ılımlı ventrikülomegali izlenmiştir. Diğer çalışmada en sık %51,3(n:20) oranında iki ve üzeri sonografik belirteç bizim çalışmamızda %3,70(n:4) olarak bulunmuştur. %12,8(n:5) intrakardiyak ekojenik odak, %12,8(n:5) piyelektazi, %5,1(n:2) ventrikülomegali, %5,1(n:2) umbilical kord anormallikleri raporlanmıştır[42].

NİPT testinden sonuç alamayan hastalarda olumsuz hamilelik sonuçlarında, anomalilerde risk artışı görülmüştür[43]. Bu hasta grubunda plasental fonksiyon testleri ek bilgi sağlamak için ileriki çalışmalarda incelenebilir. Bu gebeler için prenatal tanı testi istenmeli ve daha sıkı doğum öncesi izleme alınmalıdır. NİPT testinin sonuç veremediği 123 hastanın incelendiği bir araştırmada 25(%20,0) hastada gestasyonel diyabet, 12(%9,8) hastada preeklampsi, 14(%11) gelişmiş[43]. Bizim araştırmamızda ise 3(%2,8) hasta gestasyonel diyabet tanısı almıştır.

6. SONUÇLAR

Çalışmalarda sonucun rapor edilememe oranları %1-%8 aralığında değişkenlik göstermektedir ve önemli bir sorundur. Üç nedene bağlıdır. Fetal fraksiyonun düşük olması, testte teknik başarısızlık ve maternal kanın laboratuvara ulaşma aşamasında yapılan hatalardır. Testin temel problemleri sonuç rapor edilememe olasılığı, sonuç için beklenmesi gereken sürenin uzunluğu ve yüksek maliyetidir.

NİPT testinde sonucun belirsiz olarak rapor edilmesinin hem maliyet hem de süre açısından önemli negatif etkileri vardır. Daha fazla hasta grubunda diğer epidemiyolojik özelliklerin de sorgulandığı çok merkezli olarak planlanacak yeni araştırmaların faydalı olacağını düşünüyoruz. Farklı ticari kitlerle çalışılmış NİPT testlerinin sonuçları ve epidemiyolojik özelliklerini amaçlayan yeni çalışmalar yapılarak, çalışmamızın sonuçları ile karşılaştırılabilir.

Çalışmamızdaki gebelerin epidemiyolojik özellikleri, ülkemizdeki ve diğer ülkelerdeki araştırmalarla benzer olarak bulunmuştur.

7. KAYNAKÇA

1. Ogilvie CM. Prenatal diagnosis for chromosome abnormalities: Past, present, future. *Pathol Biol* 2003;51:156-60
2. Fuchs KM, Peipert JF. First trimester Down Syndrome screening: Public health implications. *Semin Perinatol* 2005.
3. Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 640. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2015;126(3):e31-7
4. Bianchi DW, Chiu RWK. Sequencing of Circulating Cell-free DNA during Pregnancy. *N Engl J Med* 2018; 379:464
5. Gil MM, Accurti V, Santacruz B vd. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2017; 50: 302.
6. Yüreğir Ö. Ö, Büyükkurt S, Koç F, et al. Prenatal Tanı. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2012;21:1.
7. Yazarbaş K, Ilgın-Ruhi H. Prenatal tanı. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*.2006; 26:666-74.
8. Uğurlu T. Fetal kromozomal anomalilerin QF-PCR (Kantitatif floresan polimeraz zincir reaksiyonu) ile tespiti ve etkinliğinin aminoasit kültürleri ile karşılaştırılması. İzmir, Ege Doğumevi ve Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi , 2007.
9. DeVore GR, Romero R. Genetic sonography: An option for women of advanced maternal age with negative triplemarker maternal serum screening results. *J Ultrasound Med* 2003;22:1191-9
10. Spencer K, Ong C, Skentou H, et al: Screening for trisomy 13 by fetal nuchal translucency and maternal serum free beta hCG and PAPP-A at 10-14 weeks of gestation. *Prenat Diagn* 20:411, 2000
11. Cuckle H, Benn P, Wright D: Down syndrome screening in the first and/or second trimester: model predicted performance using meta-analysis parameters. *Semin Perinatol* 29(4):252, 2005
12. Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al: First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 353(19):2001, 2005b

13. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results nad estimation of of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005; 25:221-6.
14. Discroll DA, Gross SJ. Screening for fetal aneuploidy and neural tube defects. *Genet Med* 2009; 11:818-21.
15. 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, LambertMesserlian G, Wald NJ, D'Alton ME. First- and SecondTrimester Evaluation of Risk (FASTER) Research Consortium. First-Trimester or Second-Trimester Screening or Both, for Down Syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353(19):2001-11.
16. Masuzaki H, Miura K, Yoshiura K, Yoshimura S, Niikawa N, Ishimaru T. Detection of cell free placental DNA in maternal plasma: direct evidence from three cases of confined placental mosaicism. *J Med Genet.*2004; 41:289-92
17. Sekizawa A, Purwosunu Y, Matsuoka R, Koide K, Okazaki S, Farina A et al. Recent advances in non-invasive prenatal DNA diagnosis through analysis of maternal blood. *Am J Obstet Gyn Res.* 2007; 33:747-64
18. Devaney SA, Palomaki GE, Scott JA, et al: Noninvasive fetal sex determination using cell-free fetal DNA: asystematic review and meta analysis. *JAMA* 306(6):627, 2011
19. Sparks AB, Wang ET, Struble CA, et al: Selective analysis of cell-free DNA in maternal blood for evaluation of fetal trisomy. *Prenat Diagn* 32(1): 3, 2012
20. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, et al: Genom-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstet Gynecol* 119(5):890, 2012
21. Sekizawa A, Purwosunu Y, Matsuoka R, Koide K, Okazaki S, Farina A et al. Recent advances in non-invasive prenatal DNA diagnosis through analysis of maternal blood. *Am J Obstet Gyn Res.* 2007; 33:747-64

22. Chiu RWK, Lau TK, Leung TN, Chow KK, Chui DHK, Lo YMD. Prenatal exclusion of β thalassemia major by examination of maternal plasma. *Lancet*.2002; 360(9338):998-1000.
23. <http://nsgc.org/page/abnormal-non-invasive-prenatal-testing-results>. Eriřim Tarihi: 3 Eylöl 2015.
24. <http://www.acog.org/About-ACOG/News-Room/PracticeAdvisories/ACOG-Practice-Advisory-on-Cell-Free-DNAScreening> Eriřim Tarihi:28 Ağustos 2015.
25. Li Y, Naro ED, Vitucci A, Zimmermann B, Holzgreve W, Hahn S. Detection of paternally inherited fetal point mutations for β -thalassemia using size-fractionated cell-free DNA in maternal plasma. *JAMA*.2005;293:843-9.
26. Dulaimi E, Uzzo RG, Greenberg RE, Al Saleem T, Cairns P. Detection of bladder cancer in urine by a tumor suppressor gene hypermethylation panel. *Clin Cancer Res*.2004;10:1887-93
27. Lo YMD. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*.1997; 350:485-7
28. Hachiac M, Vora NL, Basu S, et al. Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women. *Obesity (Silver Spring)* 2012, 20:2213
29. 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, 35:212
30. Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, et al. Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative? *Prenat Diagn* 2015, 35:289
31. Bianchi DW, Chudova D, Sehnert AJ, et al. Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies, *JAMA* 2015; 314:162
32. Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy. Committee Opinion No. 640. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2015; 126(3):e31-7
33. Snijders RJ, Sundberg K, Holzgreve W, et al: Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 13(3):167, 1999

34. Rankin J, Tennant PWG, Bythell M, et al: Predictors of survival in children born with Down syndrome: a registry-based study. *Pediatrics* 129(6):e1373,2012
35. Kosho T, Nakamura t, Kawame H, et al. Neonatal management of trisomy 18: clinical details of 24 patients receiving intensive treatment. *Am J Med Genet A* 2006, 140:937
36. Silasi M, Rana S, Powe C, et al: Placental expression of angiogenic factors in trisomy 13. *Am J Obstet-Gynecol* 204(6):546.el, 2011
37. Koc A, Ozer Kaya O, Ozyilmaz B, et al. Targeted fetal cell –free DNA screening for aneuploidies in 4,594 pregnancies: Single center study. *Mol Genet Genomic Med.*2019;e678
38. Benachi A, Letourneau A, Kleinfinger P, Senat MV, Gautier E, Favre R, et al. Performance and indications of noninvasive prenatal testing using cell free circulating fetal DNA (cffDNA) for the detection of fetal trisomy 21, 18 and 13 in France [Performance et indication du dépistage des trisomies 21, 18 et 13 en France par l'analyse de l'ADN foetal dans le sang maternel.]. *Journal de Gynécologie, Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2016;45(6):633-40.
39. Burns W, Koelper N, Barberio A. 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
40. Gromminger S, Erkan S, Schöck U. The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women. *Prenat Diagn* 2015 Nov;35(11):1155-7
41. Burns W, Koelper N, Barberio A. The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics, and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction. *Prenat Diagn* 2017 Nov;37(1125)-1129
42. Jessica Lu, Devereux N. Saller, Investing Pregnancy outcomes after abnormal cell free DNA test result, *Journal of Genetic Counseling, Inc.*2018
43. N Chan, M-E Smet, R Sandow Implications of failure to achieve a result from prenatal maternal serum cell-free DNA testing: a historical cohort study DOI:10.1111/1471-0528.15006
44. R. Revello, L.Sarno, A. Ispas, R. Akolekar and H. Nicolaides screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of a failed result. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 698-704

45. Glenn E. Palomaki, PhD and Edward M. Kloza, MS, CGC Prenatal cell-free DNA screening test failures: a systematic review of failure rates, risks of Down syndrome, and impact of repeat testing. American College of Medical Genetics and Genomics
46. E.S. Taglauer, L. Wilkins-Haug and D.W. Bianchi Review: Cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease placenta 2014 February; 35(Suppl): S64-S68.
Doi:10.1016/j.placenta 2013.11.014.
47. M. M. GIL, V. ACCURTI, B. SANTACRUZ, H. NICOLAIDES Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis Ultrasound Obstetr Gynecol 2017; 50:302-314
48. Yohann Dabi, Sarah Guterman, Jacques C. Jani Autoimmune disorders but not heparin are associated with cell-free fetal DNA test failure Dabi et al. J Transl Med (2018) 16:335
49. Anthony R. Gregg, MD, MBA, Brian G. Skotko, MD, MPP, Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics, Genetics in Medicine
50. Diana W. Bianchi and Louise Wilkins-Haug Integration of Noninvasive DNA Testing for Aneuploidy into Prenatal Care: What happened Since the Rubber Met the Road? Published in final edited form as: Clin Chem, 2014 January; 60(1):78-87.
51. Sebastian Grömminger, Sanli Erkan, The influence of low molecular weight heparin medication on plasma DNA in pregnant women Prenatal Diagnosis, 2015
52. L. Hui, M. Bethune Repeated failed non-invasive prenatal testing owing to low cell-free fetal DNA fraction and increased variance in a women with severe autoimmune disease
53. Sarah L. Kinnings, Jennifer A. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing, Prenatal Diagnosis, DOI: 10. 1002/pd.4625
54. Yi Zhou, MD, Zhongyi Zhu, Effects of Maternal and Fetal Characteristics on Cell-Free DNA Fraction in Maternal Plasma Reproductive Sciences 1-7 The Author(s) 2015
55. SMFM Consult Series, Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA

56. Non-invasive Prenatal Testing for Chromosomal abnormality using Maternal Plasma DNA, Scientific Impact Paper No. 15, March 2014
57. Ashoor, G., Syngelaki, A., Wagner, M., Birdir, C., & Nicolaides, K. (2012). Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 206(4), 322.e321–322.e325.
58. Bianchi, D. W., Platt, L., Goldberg, J., Abuhamad, A., Sehnert, A., & Rava, R. (2012). Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing. *Obstetrics and Gynecology*, 119(5), 890–901.
59. Palomaki, G., Kloza, E., Lambert-Messerlian, G., Haddow, J., Neveux, L., Ehrich, M., et al. (2011). DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: an international clinical validation study. *Genetics in Medicine*, 13(11), 913–920.

8. ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı	Hamdiye Kasapoğlu Sayın
Doğum Yeri	Kırcaali - 1986
Uyruğu	TC
Medeni Durumu	Evli
İletişim adresi ve telefonu	İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği hamdiyekasapoglu@gmail.com 0554-6590511
Yabancı Dili	İngilizce - Almanca

II. Eğitimi

Öğrenim Kurumu	Mezuniyet Yılı
İzmir Anadolu Lisesi	2004
Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi	2011
Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği	2019

9. EKLER

Ek 1- Etik kurul onamı



SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
İzmir Tepecik Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi
Girişimsel olmayan Etik Kurulu



Etik KOMİSYONUNUN ADI	SBÜ İzmir Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	SBÜ İzmir Tepecik SUAM
TELEFON	0 232 469 69 69 - 6128 / 6708
FAKS	
E-POSTA	

BASVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☒ AKADEMİK AMAÇLI ☐
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ KODU	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI VE UZMANLIK ALANI	Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN Kadın Hastalıkları ve Doğum Asistan Dr. Hamdiye KASAPOĞLU SAYIN Kadın Hastalıkları ve Doğum
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZLİ ☐

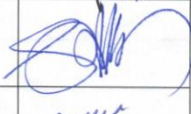
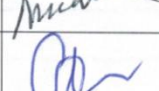
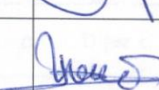
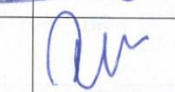
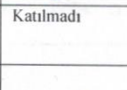
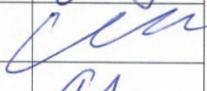
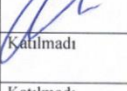
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2018/ 5-8	Tarih: 24/05/2018
Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN ve Asistan Dr. Hamdiye KASAPOĞLU SAYIN 'ın sorumlusu olduğu "Non-İnvaziv Prenatal Tanı Testi Uygulanmış ve Sonucu Belirsiz Olarak Rapor Edilmiş Gebelerde Epidemiyolojik Özellikler" isimli araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.		

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	SBÜ İzmir Tepecik SUAM Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İy Klinik Uygulamaları Kılavuzu.
---------------	---

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkili mi?		İmza
Prof. Dr. Mehmet ÖZEREN	Perinatoloji	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Erhan DEMİRHAN	K.B.B Hastalıkları	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. İbrahim UYAR	Kadın Hastalıkları ve Doğum	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Yeliz PEKÇEVİK	Radyoloji	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Hülya PARILDAR	Aile Hekimliği	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Muhammet Ali KANIK	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Eda KARADAĞ ÖNCEL	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Sibel DEMİRAL SEZER	İç Hastalıkları	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Mustafa İNCESU	Ortopedi ve Travmatoloji	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç. Dr. İnanç KARAKOYUN	Tıbbi Biyokimya	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Murat YEŞİLARAS	Acil Tıp	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Ülkü KÜÇÜK	Tıbbi Patoloji	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Işıl KÖSE GÜLDOĞAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	SBÜ Tepecik SUAM	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç. Dr. Burçin ABUD	Kalp Damar Cerrahisi	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç. Dr. Zafer KOZACIOĞLU	Üroloji	SBÜ Tepecik SUAM	Erkek	E ☐	H ☒	Katılmadı