



**UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**DR. RIDVAN EGE HASTANESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**NON-İNVAZİF PRENATAL TEST (NIPT) TEKNİĞİNDE,  
MATERNAL KANDAKİ FETAL DNA (cffDNA) FRAKSİYONU  
YÜZDESİ (%) ÜZERİNE ETKİ ETMESİ MUHTEMEL  
FAKTÖRLERİN RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Mahmut YILMAZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**ANKARA-2023**



**UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**DR. RIDVAN EGE HASTANESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**NON-İNVAZİF PRENATAL TEST (NIPT) TEKNİĞİNDE,  
MATERNAL KANDAKİ FETAL DNA (cffDNA) FRAKSİYONU  
YÜZDESİ (%) ÜZERİNE ETKİ ETMESİ MUHTEMEL  
FAKTÖRLERİN RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Mahmut YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Emre Göksan PABUÇCU**

**ANKARA-2023**

## ÖNSÖZ

Tezimin hazırlanması sürecinde değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren **Prof. Dr. Emre Göksan Pabuçcu**'ya teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Kadın hastalıkları ve doğum uzmanlık eğitimim boyunca her türlü bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım hem iyi bir hekim hem de iyi bir kadın doğum uzmanı olmamda üzerimde çok emeği olan ve mesleğimi daha çok sevmeme vesile olan değerli hocam **Prof. Dr. Recai Pabuçcu**'ya en içten minnet ve saygılarımı sunuyorum.

Asistanlık sürecimde üzerimde emeği olan değerli hocalarım **Prof. Dr. Sevim Dinçer Cengiz**, **Prof. Dr. Gamze Sinem Yücel**, **Prof. Dr. Aslı Yarcı Gürsoy**, **Doç. Dr. Mine Kiseli** ve **Uzm. Dr. Tufan Arslanca**'ya en içten minnet ve saygılarımı sunuyorum.

Bugünlere gelmemde emeği olan, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan ve her zaman maddi ve manevi desteğini hissettiğim, bu hayattaki en büyük şansım olan başta eşim **Pınar Ünal Yılmaz**, hayat akışımda bana her zaman doğru dokunuşlar yaparak bugünlere gelmemde büyük emeği olan abim **Bülent Yılmaz** ve **aileme** sonsuz teşekkürler.



## KISALTMALAR

<b>ACOG</b>	: American Congress Of Obstetriciand And Gynecologists
<b>AFP</b>	: Alfa Feto Protein
<b>AS</b>	: Amniosentez
<b>BMI</b>	: Body Mass İndex
<b>cfDNA</b>	: Hücre Dışı DNA
<b>cffDNA</b>	: Hücre Dışı Fetal DNA
<b>CRL</b>	: Baş Popo Mesafesi
<b>CVS</b>	: Koryon Villus Örneklemesi
<b>DMAH</b>	: Düşük Molekül Ağırlıklı Heparin
<b>FF</b>	: Fetal Fraksiyon
<b>uE3</b>	: Ankonjuge Östriol
<b>MRG</b>	: Magnetik Rezonans görüntüleme
<b>MPS</b>	: Massively Parallel Sequencing
<b>t-MPS</b>	: Targeted Massively Parallel Sequencing
<b>DR</b>	: Belirleme oranı
<b>FPR</b>	: Yalancı Pozitiflik Oranı
<b>NPV</b>	: Negative Predictive Values
<b>Mom</b>	: Çoklu Dağılım
<b>NB</b>	: Nasal Bone
<b>NIPT</b>	: Non İnvaziv Prenatal Test
<b>NT</b>	: Nuchal Transluensi
<b>IEO</b>	: İntrakardiyak ekojenik odak
<b>PAPP-A</b>	: Pregnancy-Associated Plasma Protein A
<b>PCR</b>	: Polimeraz Chain Reactions
<b>S-BHCG</b>	: Serbest Human Koryonik Gonadotropini
<b>SPSS</b>	: Statistical Package For Social Sciences
<b>SNP</b>	: Single Nükleotit Polimorfizim
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>SGA</b>	: Small Gestasyonel Age
<b>Tri18</b>	: Trizomi 18
<b>Tri21</b>	: Trizomi 21
<b>VKİ</b>	: Vücut Kitle Endeksi
<b>NGS</b>	: Yeni nesil dizileme

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Yüksek Down sendromu riski olan kadınlarda cffDNA'nın ikincil tarama için kullanımı [24].....	15
--	----



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Non-invaziv prenatal tarama testleri ve invaziv tanı testleri [22].....	3
<b>Tablo 2.</b> Down Sendromu için tarama testlerinin başarı oranları [13].....	6
<b>Tablo 3.</b> Ülkemizde bulunan cffDNA testleri, kullandıkları genetik metodlar ve ticari isimleri [21]. .....	12
<b>Tablo 4.</b> Farklı maternal yaş gruplarındaki serbest fetal DNA (cffDNA) testlerinin performans özelliklerini açıklamak için Eylül 2015 tarihli ACOG yönergesinden uyarlanmış bir özet aşağıda verilmiştir .....	14
<b>Tablo 5.</b> Demografik ve Klinik Veriler-1 .....	24
<b>Tablo 6.</b> Demografik ve Klinik Veriler-2 .....	24
<b>Tablo 7.</b> Fetal DNA'nın maternal, fetal dermografik ve klinik özelliklerine göre karşılaştırılması.....	27
<b>Tablo 8.</b> Fetal DNA'nın Maternal, Fetal Dermografik Ve Klinik Özelliklerine Göre Korelasyon Analizi .....	28
<b>Tablo 9.</b> Fetal DNA'nın Maternal, Fetal Dermografik Ve Klinik Özelliklerine Göre Linner Regresyon Analizi.....	28

## ÖZET

**Amaç:** Bu tez çalışmamızda Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümünde takip edilen gebelere uygulanan non-invaziv prenatal test (NIPT) tekniğinde, maternal kandaki fetal DNA fraksiyonu yüzdesi (%) üzerine etki etmesi muhtemel faktörlerin retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Bu tez çalışmasına Aralık 2015 ve Şubat 2022 tarihleri arasında Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğinde takipli kromozomal anomalilerin tarandığı gebeler dahil edilmiştir. 230 gebeye ait maternal ve paternal veriler incelenmiş, 42 gebe çalışmaya dahil edilme kriterleri sağlayamadığı için çalışmadan çıkarılmış ve geriye kalan 188 gebe çalışmaya dahil edilmiştir.

Tez çalışmamıza dahil edilen gebelere ait maternal vücut kitle indeksi (VKİ), gebelik haftası, gebelik yaşı, maternal yaş, baba yaşı, NIPT için kanın alındığı gebelik haftası, fetüs cinsiyeti, spontan ve/veya invitro fertilizasyon gebelik olması, USG ile NT ölçümü alınan gebelik haftası, antikoagülan kullanımı, immünoterapi, antikor tedavisi, kök hücre tedavisi, organ transplantasyonu, ultrasonda anomali, ilaç kullanımı, anormal reproduktif öykü, malign/benign tümör öyküsü, kan/diğer kan ürünleri transfüzyonu ait veriler elektronik veri tabanından elde edilmiştir. Tekil gebeliği olan ve NIPT uygulanan, canlı doğum yapan gebelere ait maternal plazmanın analizinden elde edilen veriler incelenmiştir

Tez çalışmamıza ait verilerinin değerlendirilmesinde Statistical Package For Social Sciences (SPSS) MAC version 21 (IBM, Armonk, NY, USA) yazılım programı kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi %95 güven aralığında p değerinin 0,05 ve 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edilmiştir.

**Bulgular:** Çalışma grubunun genel yaş ortalaması  $35,2\pm 4,7$  olarak saptandı. Fetal DNA bakılanların ortalama gebelik haftası  $14,3\pm 2,8$  ve gebelik aralığı 10-24 hafta ve ortalama fetal DNA fraksiyon düzeyi  $8,64\pm 3,20$  (referans aralığı 3,54-22,53) olarak tespit edilmiştir.

Antikoagülan kullanan gebelerin ortalama fetal fraksiyon oranı  $8,56\pm 2,83$ , kullanmayanların ise  $8,71\pm 3,48$  olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,049$ ). VKİ 25'ten küçük olan gebelerin ortalama fetal fraksiyon oranı  $9,41\pm 3,48$ , VKİ 25'ten yüksek olanların ise  $7,70\pm 2,53$  olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,0001$ ). Maternal serumda bakılan fetal DNA fraksiyonu, fetüs cinsiyetinin erkek olmasıyla daha yüksek ilişkili bulunmuştur.

**Sonuç:** Maternal serumda bakılan fetal DNA fraksiyonu yüzdesi, maternal kilo ve vücut kütle indeksi ile istatistiksel olarak anlamlı ve ters ilişkili olduğu görüldü. Vücut kitle indeksi 25'ten büyük olan gebelerde maternal kan örneğinin daha geç gebelik haftasında alınması yolu ile yetersiz fetal fraksiyon (FF) oranından uzaklaşarak yeterli ve/veya yüksek bir FF oranına ulaşılabilir.

Antikoagülan kullanan gebelerin ortalama fetal fraksiyon oranı, kullanmayan göre daha düşük olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Çalışmamıza göre NIPT uygulanmadan önce düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanımından kaçınılması önerilir.

Çalışmamızda maternal serumda bakılan fetal cfDNA fraksiyonu, fetüs cinsiyetinin erkek olmasıyla daha yüksek ilişkili bulunmuştur. Ancak literatürde yapılan incelemede FF kız fetüslü gebeliklerde daha yüksek bulunmuştur. Bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Fetal DNA fraksiyonu, non-invaziv prenatal test, fetal cfDNA

## ABSTRACT

**Objective:** The purpose of this thesis is retrospectively investigate the factors that ,likely to affect the percentage of fetal DNA fraction in maternal blood in the non-invasive prenatal test (NIPT) technique applied to pregnant women followed in the Ufuk University Faculty of Medicine, Doctor Rıdvan Ege Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology.

**Materials and Methods:** Pregnant women who were followed up in the Obstetrics and Gynecology outpatient clinic of Ufuk University Medical Faculty Doctor Rıdvan Ege Hospital between December 2015 and February 2022 were included in the study. Maternal and paternal data of 230 pregnant women were examined, 42 pregnant women who did not meet the inclusion criteria were excluded from the study; and the remaining 188 pregnant women were included.

Maternal body mass index (BMI), gestational week, gestational age, maternal age, paternal age, gestational week when blood sample was taken for NIPT, fetus gender, spontaneous and/or in vitro fertilization pregnancy, gestational week when NT measurement by using USG , anticoagulant use, immunotherapy, antibody treatment, stem cell therapy, organ transplantation, anomaly in ultrasound, drug use, abnormal reproductive history, malignant/benign tumor history, blood/other blood product transfusion were obtained from the electronic database. The data obtained from the analysis of maternal plasma of pregnant women who had a singleton pregnancy and underwent NIPT and had a live birth were examined.

Statistical Package For Social Sciences (SPSS) MAC version 21 (IBM, Armonk, NY, USA) software program was used to evaluate the data of our thesis study. The statistical significance level was accepted as the p value being less than 0.05 and 0.05 at the 95% confidence interval.

**Results:** The average age of the study group was found to be  $35.2\pm 4.7$ . December 20, 2016 The mean gestational week of fetal DNA subjects was determined as  $14.3\pm 2.8$  and the gestational interval was 10-24 weeks and the mean fetal DNA fraction level was  $8.64\pm 3.20$  (reference December 3.54-22.53).

The average fetal fraction rate of pregnant women using anticoagulants was found to be  $8.56\pm 2.83$ , and those who did not use it was  $8.71\pm 3.48$ , and this difference was

statistically significant ( $p=0.049$ ). The average fetal fraction ratio of pregnant women with BMI less than 25 was found to be  $9.41\pm 3.48$ , and those with BMI higher than 25 were found to be  $7.70\pm 2.53$ , and this difference was statistically significant ( $p=0.0001$ ). The fetal DNA fraction examined in maternal serum was found to be more highly associated with the male sex of the fetus.

**Conclusion:** It was found that the percentage of fetal DNA fraction examined in maternal serum was statistically significantly and inversely related to maternal weight and body mass index. In pregnant women with a body mass index greater than 25, a sufficient and/or high FF rate can be achieved by moving away from the insufficient fetal fraction (FF) rate by taking a maternal blood sample later in the gestational week.

The average fetal fraction rate of pregnant women using anticoagulants was found to be lower than those who did not use them, and this difference was statistically significant. According to our study, it is recommended to avoid the use of low molecular weight heparin (DMAH) before applying NIPT.

In our study, the fetal cfDNA fraction examined in maternal serum was found to be more highly associated with the male sex of the fetus. However, in a review conducted in the literature, FF was found to be higher in pregnancies with female fetuses. More research needs to be done on this issue.

**Keywords:** Fetal DNA fraction, non-invasive prenatal test, fetal cfDNA

## 1. GENEL BİLGİLER

Sağlıklı varsayılan toplumlar içerisinde belirli bir hastalığa yönelik risk taşıyan bireyleri tanımlamak amacıyla tarama testleri gerçekleştirilmektedir. Tarama testinin sonuçları olumlu çıktığında, hastalığın erken teşhisinden faydalanılarak bireyler daha fazla tanı testine yönlendirilebilmektedir. Kolay uygulanabilir ve ekonomik bir tarama testi, geniş kitleleri tarayabilme olanağı sunar [1], [2]. Gebelik dönemi boyunca da benzer ilkeler doğrultusunda prenatal tarama testleri sıkça kullanılmaktadır [3].

Maternal kanda ‘‘Alfa Fetoprotein’’(AFP) [3] seviyesinin nöral tüp defektiyle ilişkilendirilmesi sonucunda, 1970'lerde prenatal tarama testleri kullanılmaya başlanmıştır [3]. Maternal serum içinde düşük AFP [3], yüksek human koryonik gonadotropin (hCG) [4] ve düşük ankonjuge östriol (uE3) [5] seviyelerinin Down sendromuyla (DS) ilişkilendirilmesi ise 1980'lerde üçlü test olarak adlandırılan ikinci trimester testinin kullanılmasına yol açmıştır [6]. 1990'ların başlarında, gebelikle ilişkili plazma protein A (pregnancy-associated plasma protein A/PAPP-A) ve serbest beta hCG seviyelerinin yanı sıra fetal ense kalınlığının ultrasonografik bir belirteç olarak Down Sendromuyla ilişkilendirilmesi, birinci trimester kombine testinin uygulanmasını sağlamıştır [7]. Üçlü test parametrelerine maternal serum dimerik inhibin A seviyesi de eklenerek dördümlü test geliştirilmiştir [8]. Bu gelişmelerin ardından, 1997'de maternal plazmada fetal DNA varlığı keşfedilmiştir [9] ve sonrasında 2011'den itibaren fetal cfDNA testi (Non Invazif Prenatal Tarama, NIPT) klinik olarak kullanılmıştır [10] [11].

"Geleneksel/konvansiyonel" testler terimi, hücre dışı fetal DNA (cell free fetal DNA, cffDNA) temelli tarama testlerinden farklı olarak kullanılmakta olup, alışılmış prenatal tarama testlerini tanımlamak için kullanılır. Geleneksel testlerde, maternal kandaki hormon seviyeleri ölçülürken, diğer türde DNA fragmanları analiz edilerek genetik inceleme yapılır [12]. Geleneksel prenatal tarama testleri; birinci trimester tarama (kombine) testi (NT+hCG+PAPP-A) ve ikinci trimester tarama testini (üçlü-dördümlü test) (AFP+hCG+uE3±İnhibin A) içerir [13]. Prenatal tarama testlerinin Down Sendromu tespit oranları karşılaştırıldığında, geleneksel prenatal tarama testlerinden üçlü testin %69, dördümlü testin %81 olduğu; kombine test ve dördümlü testin tek raporda birleştirildiği entegre testin ise %96 olduğu gözlenmiştir (%5 yanlış pozitiflikle). Hücre dışı fetal DNA

ile gerçekleştirilen prenatal taramanın %99 saptama oranıyla Down Sendromu için en yüksek orana sahip olduğu belirlenmiştir [13].

Kromozomal anormallikler tüm gebeliklerin %0,4'n etkiler. Bu oranın %50'sini Trizomi 21 (Down sendromu), %15'ini Trizomi 18 (Edward's sendromu) ve %5'ini Trizomi 13 (Patau sendromu) oluşturur [14].

Daha önce yapılan çalışmalarda, NIPT'nin yalnızca yüksek riskli gebeliklerde kullanılması önerilmiş olsa da [15], [16], son araştırmalarda NIPT'nin Trizomi 21, Trizomi 18 ve Trizomi 13 gibi düşük anöploidi risklerini tespit etkilili olduğu belirtilmiştir [17], [18]. NIPT, düşük riskli grupta kombine birinci trimester taramasına göre önemli ölçüde daha iyi performans sergilemektedir [17]. Bu nedenle, düşük riskli gebeliklerde NIPT uygulamasının faydaları göz önüne alındığında, Uluslararası Kuruluřlar NIPT nerilerini, NIPT tercihinin artması yönünde değiştirmiştir [18], [19].

Fetal Fraksiyon (FF) olarak bilinen fetüse ait hücresiz DNA (cffDNA) oranının, NIPT'nin performansını etkileyen temel bir faktör olduğu düşünülmektedir [20]. Yapılan alışmalar, %3-4'n altındaki bir FF oranının yanlış negatif oranlarını artırabileceğini göstermiştir [10], [11], [21].

## **1.1. PRENATAL TARAMA VE TANI TESTLERİ**

Prenatal test yöntemleri, iki temel grupta toplanmaktadır: invaziv olmayan prenatal tarama testleri ve invaziv prenatal tanı testleri [22].

**Tablo 1.** Non-invaziv prenatal tarama testleri ve invaziv tanı testleri [22].

Non-invaziv Prenatal Tarama Testleri		İnvaziv Tanı Testleri	
<b>Fetüs görüntüleme</b>	Fetüsün ultrason değerlendirmesi	Fetüs Görüntüleme	Fetoskopi
	Fetal endokardiyografi		Embriyoskopi
	Magnetik Rezonans görüntüleme (MRG)	Fetal doku örnekleriyle	Amniyosentez
	Röntgenogram	kromozom veya moleküler inceleme	Koryon villus doku incelemesi
<b>Biyokimyasal tarama testleri (Anne serum örneğinde)</b>	İkili tarama testi		Kordosentez
	Üçlü tarama testi		Organ (Kas, karaciğer böbrek, vb.) biyopsileri
	Dörtlü tarama testi		
<b>Ardışık basamaklı test</b>	Birinci trimester tarama testi →(+)invaziv tanı testi		
<b>Ardışık koşullu test</b>	→(-) ikinci trimester tarama testi sonuç tek rapor		
<b>Entegre test</b>	Birinci trimester tarama testi risk sonucu →yüksek--invaziv tanı tes →orta risk-ikinci trimester tarama →düşük risk-başka test yapılmaz		
	İkili tarama testi + Dörtlü tarama testinin tek raporda birleştirilmesi		
<b>Maternal serumda fetüse ait hücrelerin analizi (cffDNA testi)</b>			

### 1.1.1. Non-İnvaziv Prenatal Tarama Yöntemleri

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneği (American College of Obstetricians and Gynecologists- ACOG), tarama testlerinin tüm gebelere gebeliğin 20. haftasından önce sunulması ve gebeliğin yaşına bakılmaksızın tanı testi yapma hakkının verilmesi gerektiği önerisinde bulunmaktadır. Ultrasonografi (USG) bulgularına bakılmaksızın gebenin

serumuyla yapılan biyokimyasal testler (ikili test, üçlü ya da dörtlü test) ilk tercih tarama testi olmalıdır. Maternal kandan elde edilen fetal DNA örneği ile yapılan non-invasiv prenatal tarama testleri getirdiği önemli maddi yük nedeniyle birincil olarak yapılmamalıdır [23].

#### **1.1.1.1. Birinci Trimester Tarama Testi - Kombine Test (Serum Belirteçleri + NT)**

Anne serumundaki toplam/serbest hCG, PAPP-A düzeyleri ile birlikte ultrasonografiyle ölçülen fetal ense kalınlığı (NT) değeri kullanılarak risk değerlendirilmesi gerçekleştirilir. Bu testin en büyük avantajlarından biri, gebeliğin erken döneminde (11+1 ile 13+6 haftalar arasında) uygulanabilme olanağıdır. NT ölçümü, baş-popo mesafesi ("Crown-rump length", CRL) değeri 38/45-80 mm aralığındaysa gerçekleştirilir ve 2.5 mm'nin altındaysa normal kabul edilir.

Başlangıçta Nicolaides tarafından yüksek NT değeri anöploidiyle ilişkilendirildi ve sadece NT ölçümünün Down Sendromu tespit oranının %70'e %5 yanlış pozitiflikle arttığını belirtti [24]. NT değeri; anöploidi dışındaki kalıtsal kalp kusurları, diyafram fitiği, karın duvarı defektleri gibi kalıtsal fetal anormalliklerde ve diğer kromozomal anormalliklerde de artabilir [25]. Birinci üç aylık dönemde gerçekleştirilen ultrasonografi, yapısal anormalliklerin erken teşhisini sağlarken potansiyel gebelik komplikasyonları (preeklampsi, büyüme geriliği vb.) hakkında da erken bilgi sağlayabilir [26].

#### **1.1.1.2. İkinci Trimester Tarama Testi**

Gebeliğin 15-22. haftaları arasında uygulanabilen ikinci üç aylık dönem tarama testi için en uygun zaman dilimi 16-18. haftalar arasındadır. Bu testin en önemli avantajı, Trizomi 21, Trizomi 18 ve nöral tüp defektlerine yönelik risk hesaplamalarının yapılabilmesidir. Üçlü test (AFP+hCG+uE3) ile Down Sendromu tespit oranı %69 iken, dörtlü test (AFP+hCG+uE3+İnhibin A) ile bu oran %81'dir [27].

Down Sendromu tespit edilen gebeliklerde AFP ve östriol değerleri %25-30 azalırken (~0.7 MoM), inhibin A ve hCG değerleri yaklaşık olarak 2 kat artar (2 MoM). Trizomi 18 durumunda ise AFP-hCG-östriol değerlerinin üçünde de düşüş görülür (<0.5

MoM). İzole düşük östriol seviyeleri ile ilişkilendirilen Smith Lemli Opitz sendromu, bazı risk hesaplama programlarında tanımlanmıştır ve istenirse raporlanabilir. İkinci üç aylık dönemde test yapılmayan gebelerde nöral tüp defekti açısından 16-18. haftalar arasında maternal serum AFP ölçümü ve/veya 18-22. haftalar arasında ultrasonografi değerlendirmesi yapılmalıdır. Gebeliğin 17. haftasında, maternal serum AFP MoM değeri 2.5 iken açık omurilik kusurunun tespit oranı %86'dır (yanlış pozitiflik oranı %0.3) [28].

### **1.1.1.3. Kombine Birinci ve İkinci Trimester Taraması**

Anöploidi tarama testlerinin etkinliği, birinci ve ikinci üç aylık dönem tarama test sonuçlarının birleştirilmesiyle artırılabilir. Birinci üç aylık dönem taraması için başvuran gebelere, birinci ve ikinci üç aylık dönem taramalarının birleştirildiği kombine tarama yöntemleri önerilmektedir [29].

Birinci ve ikinci üç aylık dönem tarama testlerinin kombinasyonları; "entegre", "ardışık basamaklı" ve "ardışık koşullu" olarak adlandırılmaktadır. Entegre test, birinci ve ikinci üç aylık dönem tarama testlerinin uygun haftalarda uygulanarak tek bir rapor halinde Down Sendromu riskini sunan bir formattır. Bu yaklaşımda, yanlış pozitiflik oranı %2-5 aralığındayken Down Sendromu tespit oranı %90-96 seviyelerine yükselmektedir. Ancak, bu yöntemde birinci üç aylık dönemde başlayan testin sonuçlarının ikinci üç aylık dönemde verilmesi nedeniyle sonuç beklemesi süresi oldukça uzun olup, pozitif sonuç alan gebeler için birinci üç aylık dönemdeki prenatal tanı seçeneklerinin kullanılamaması en büyük dezavantajdır. Bu nedenle pratikte sınırlı kullanılmaktadır [13].

Ardışık basamaklı testte, birinci üç aylık dönem tarama testi sonucunda risk pozitif çıkarsa hasta girişimsel tanı testine yönlendirilirken, risk bulunmadığında ikinci üç aylık dönem taraması yapılarak sonuç tek bir rapor olarak sunulur. Ardışık koşullu testte ise birinci üç aylık dönem tarama sonuçları yüksek, orta ve düşük risk gruplarına ayrılarak değerlendirilir. Yüksek risk grubu doğrudan girişimsel tanı testine, orta risk grubu ise ikinci üç aylık dönem tarama testine yönlendirilirken düşük risk grubuna ek test önerilmez. Ardışık tarama yöntemleriyle tespit oranı %88-94 arasında, yanlış pozitiflik oranı %5 olarak belirtilmiştir [13].

**Tablo 2.** Down Sendromu için tarama testlerinin başarı oranları [13].

<b>Tarama testi</b>	<b>Sensitivite (%)</b>	<b>Yanlış pozitiflik (%)</b>
<b>İlk üç aylık</b>		
• NT ölçümü	64-70	5
• İkili Tarama	82-87	5
<b>İkinci üç aylık</b>		
• Üçlü Tarama	69	5
• Dörtlü Tarama	81	5
<b>Kombine birinci ve ikinci üç aylık dönem</b>		
• Entegre	94-96	5
• Ardışık (basamaklı, koşullu)	94-98, 95	8, 3-5
<b>cffDNA</b> (cell free fetal DNA)	99,3	< 0,1-1

#### **1.1.1.4. Fetal Anöploidilerin Sonografik Belirteçleri**

Prenatal sonografi sırasında fetüsün gestasyonel haftası, sonografik incelemenin amacı, saptanan görüntülerin kalitesi, izlenen kromozomal anomalinin türü ve operatörün tecrübesi fetal anöploidi belirteçlerinin saptanmasında etkili faktörlerdir [30].

##### **a. İkinci Trimester Nuchal Fold (Ense Kıvrımı) Kalınlık Artışı**

Ense kıvrımı kalınlık artışı, nuchal saydamlıktan farklı olarak ikinci trimesterde ölçülmektedir. Günümüzde down sendromu için ikinci trimester taramada kullanılan en hassas ve spesifik sonografik markırdır. Nuchal fold ölçümdeki artış sıklıkla anöploidi ile ilişkilendirilmektedir. Günümüzde nuchal fold kalınlığının 18. haftaya kadar 5 mm'den, daha sonra ise 6 mm'den fazla olması patolojik olarak kabul edilmektedir [31].

## **b. Kistik Higroma**

Kistik higroma lenfatik sistemin konjenital bir malformasyonu olup, lenfatik ve venöz yollar arasındaki obstrüksiyon sonucu fetal boyunda juguler lenfatik keseciklerde lenf birikimi ile karakterizedir [32].

Birinci trimester kistik higromalar genellikle trizomiler ile ilişkili iken; ikinci trimester kistik higromalar monozomi X ile ilişkili olabilmektedir [33]

## **c. Burun kemiği Yokluğu ve Hipoplazisi**

15 ile 24. haftalar arasında gerçekleştirilen ultrasonografi incelemeleri, Down Sendromlu bireylerin %65'inde burun kemiğinin eksik veya kısa olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde, Down Sendromlu vakaların %60-70'inde, Trizomi 18 vakalarının %50'sinde ve Trizomi 13 vakalarının %30'unda burun kemiği bulunmamaktadır [34].

Fetal nasal kemik gebeliğin 11-13+6 haftalarında ultrasonografi ile görüntülenebilmektedir. İkinci trimesterde nazal kemiğin izlenmemesi down sendromlu fetüslerde %30-40, normal fetüslerde ise %0,3-0,7 oranında görülmektedir (44).

## **d. Hiperekojen Bağırsak**

Hiperekojen bağırsak ilk kez 1993 yılında down sendromu için bir sonografik belirteç olarak gösterilmiştir [35]. Ultrasonografide bağırsağın etrafındaki kemikler ile dansitesinin benzer veya daha fazla ekojenitede olması hiperekojen barsak olarak tanımlanmaktadır. Bazı çalışma sonuçları akciğer veya karaciğer ekojenitesine ile karşılaştırmayı önermektedir [36]. Ultrason cihazına ve ultrason probunun özelliklerine göre değişiklik gösterebilen hiperekojen bağırsağın tanımlanması subjektiftir. Hiperekojen bağırsak ilk trimesterde görülse de sıklıkla ikinci trimesterde saptanmaktadır. Hiperekojen bağırsağın down sendromunu saptama hassasiyeti yanlış pozitiflik oranının oldukça düşük (%1'den az) olmasından dolayı önemli bir belirteç olarak kabul edilmektedir [37].

## **e. Piyelektazi (Hafif Şiddette Hidronefroz)**

Piyelektazi, fetusta renal pelvis çaplarının geniş olması olarak tanımlanmaktadır. İkinci trimesterde fetüsteki renal pelvisin genişlik derecesi 4-6,9 mm, 7-10 mm ve >10 mm olduğunda sırasıyla hafif piyelektazi, orta derecede piyelektazi ve şiddetli piyelektazi olarak sınıflandırılmaktadır [38]. Piyelektazi tespit edilen fetüste pelvis renalis ölçümü

uygun planda doğru yapılmalıdır. Ayrıntılı ultrasonografi ile eşlik eden anomali olup olmadığı aranmalı ve fetal kalp incelenmelidir [39].

#### **f. Ventrikülomegali**

Fetal beyinde, lateral ventriküllerin genişliği normalde 7-8,2 mm arasında değişir. Lateral ventrikül atria bölgesinin genişliği 10 mm üzerine çıktığında, bu durum ventrikülomegali olarak adlandırılır. Ventrikülomegali, nöronal migrasyon ve proliferasyon bozuklukları, korpus kallozum agenezisi, holoprosensefali veya yıkıcı lezyonlar gibi nedenlerle beyin omurilik sıvısının anormal dolaşımı sonucu meydana gelir [40].

Hafif ventrikülomegali vakalarıyla kromozom anomalileri arasında güçlü bir ilişki bulunduğundan, hafif ventrikülomegali vakaları tarama testlerinde alınan düşük riskli sonuçlara bakılmaksızın yüksek riskli olarak kabul edilmelidir. Bu vakalarda fetal karyotip analizi önerilmektedir [41].

#### **g. Kısa Femur ve Kısa Humerus**

Kısa femur ve kısa humerus durumları, gebelik haftasına göre femur veya humerus uzunluğunun <2.5, 5 veya 10 persentil değerlerinin altında olması olarak tanımlanır. Ölçülen veya beklenen femur uzunluğu <0.90 ve humerus uzunluğu <0.89 değerlerinin altındaysa kısa femur ve kısa humerus tanısı konur. Kısa femur veya humerus durumunda, fetüste anöploidi, iskelet displazisi, intrauterin gelişme kısıtlılığı (SGA - small gestational age) bebek, yapısal kısa femur/humerus ve olumsuz perinatal sonuçlar gibi durumlar göz önünde bulundurulmalıdır [42].

Kısa femur varlığının Down Sendromu için duyarlılığı %16-50 arasında değişirken, yanlış pozitiflik oranları %4-7 arasındadır. Kısa humerus varlığının Down Sendromu için duyarlılığı %50 olarak belirlenmiş, yanlış pozitiflik oranları ise %5-6 aralığındadır. İzole kısa femur ve izole kısa humerus durumlarında, temel risk sırasıyla 3.72 ve 4.81 kat artmaktadır [42].

#### **ı. İntrakardiyak Ekojenik Odak**

İntrakardiyak ekojenik odak (IEO), fetüsün kalbinde ventriküller içinde bulunan küçük, ekojen yapılar olarak tanımlanır; bu yapılar fetal kemikle kıyaslandığında benzer yoğunlukta ekojenlik gösterir [43].

IEO düşük riskli grupta %1.5-5 arasında görülme sıklığına sahipken, yüksek riskli grupta %15-18 oranında görülür. IEO en iyi apikal 4 odacık görüntüleme açısında gözlemlenir. İzole IEO durumunda, düşük riskli grupta invaziv müdahale endikasyonu oluşturmaz. Ancak ek anomalilerin varlığı veya birinci üç aylık dönem tarama testlerinde yüksek riskli sonuçlar elde edilirse, invaziv tanı testi önerilebilir [44].

#### **h. Koroid Pleksus Kisti**

Koroid pleksus kistleri (KPK), beyin omurilik sıvısının koroid pleksus içinde hapsolmesi sonucu oluşan, tek veya birden fazla, unilateral veya bilateral, 2 mm'den büyük kistlerdir ve %1 sıklıkla görülür. Gebelik haftalarının ilerlemesiyle birlikte, stroma azalır ve kistler çoğu zaman kendiliğinden kaybolur. Bu nedenle, ikinci üç aylık dönemin sonunda bu kistlerin %95'i kaybolmuş olur [45].

Koroid pleksus kistleri, Trizomi 18 riskini artırsa da Down Sendromu riskini artırmaz [46]. KPK kalıcı olsa bile, genellikle postnatal izlem gerektirmez. Aileler KPK'lerinin içinde kanama riski olabileceği konusunda bilgilendirilmelidir. Eğer KPK bulunan fetüste fetal büyüme kısıtlılığı varsa, bu durum Trizomi 18 ile ilişkili olabileceği için bu tür vakalarda invaziv müdahale düşünülebilir [47].

#### **i. Diğer Ultrasonografik Belirteçler**

Sandal boşluk parmak, kısa kulak ve klinodaktili down sendromlu fetüslerde daha yaygın görülse de normal fetüslerde izlenmektedir. Klinodaktili normal fetüslerde %18, down sendromlu fetüsler da ise %75 oranında görülmektedir. Down sendromunun tespitinde sandal boşluk parmağın sensitivitesi %3 gibi oldukça düşük bir oran olup çok kullanışlı bir belirteç değildir [48].

Bir diğer sonografik belirteç olan iliak uzunluk ölçümü down sendromunu saptamada düşük prediktif değere sahiptir. Mikrognati fazla sayıda kromozomal ya da kromozomal olmayan sendromlarda da karşılaşılan bir özelliktir [49]. Down sendromlu fetüslerde (%24), anormal sağ subklaviyen arter normal fetüslere (%1) oranla daha sık gözlenmesine rağmen izole bir bulgu olarak kabul edilmemektedir [49]. Kulak uzunluğu down sendromlu yenidoğanların %85'inde 3 persantilin altındadır [49]. Brakisefali down sendromlu yenidoğanlarda sık izlenmektedir. Ancak, sefalik indeks kullanılarak yapılan birkaç çalışmada ikinci trimester da down sendromlu fetüs ve normal fetüslerin sefalik indeksleri arasında fark bulunmamıştır [50]. İzole tek umbilikal arter neden olduğu

anöploidi oranı bilinmemekle beraber ek fetal malformasyonlar saptandığında artmış bir anöploidi riskinden bahsedilebilmektedir [33].

#### **1.1.1.5. Maternal Plazmada Nükleik Asitler ve Serbest Fetal DNA**

Serbest fetal DNA'nın dolaşımında izlenmesinin kaynağı hakkında çeşitli teoriler bulunmaktadır. Plasenta, fetal hematopoetik hücreler ve fetüsün kendisi plazmadaki serbest fetal DNA'nın olası kaynakları olarak düşünülmektedir [51]. Plasenta, maternal dolaşımdaki en baskın fetal DNA kaynağı olarak kabul edilir ve pek çok araştırmacı tarafından desteklenir. Fetal DNA'nın konsepsiyon sonrası 28-30 gün boyunca fetal-maternal dolaşımında belirlenmemesi, bu DNA'nın trofoblastlardan kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu bağlamda, yapılan çalışmalar serbest fetal DNA'nın plasentadan türetildiğini göstermiştir [52]. Bununla birlikte, serbest fetal DNA'nın tek kaynağının plasenta olmadığı da öne sürülmektedir. Fetal hematopoetik hücreler de serbest fetal DNA havuzuna katkıda bulunur. Araştırmalar, fetal eritrosit hücrelerinin gebelerin plazmasında var olduğunu göstermiştir [53]. Maternal dolaşımdaki fetal eritrosit hücreleri, serbest fetal DNA'nın maternal plazmaya geçişi konusunda bir gösterge olarak değerlendirilmektedir [54].

Maternal plazmadaki serbest fetal DNA'nın ilk belirleyici işareti olarak kromozom 18 üzerinde yer alan maspin geni tanımlanmıştır [55]. Maternal serumdaki serbest DNA, her parçası 50-200 baz çifti aralığında parçalanmış durumda bulunur. Bu parçalanmış serbest DNA desenleri, maternal ve fetal kaynaklı olmalarına göre farklılık gösterir. Fetal/plasental cfDNA, başlangıcı beşinci haftada olmak üzere genellikle dokuz haftadan itibaren maternal kandan izole edilebilmektedir [56]. Gebeliğin 10-20. haftaları arasında fetal cfDNA'nın göreceli konsantrasyonu haftada %0,1'e; gebeliğin 20. haftasından term gebeliğe kadar ise daha hızlı olacak bir şekilde artmaktadır [57].

Güvenilir bir non-invaziv prenatal test sonucu elde etmek için fetal/plasental cfDNA yeterli miktarda olmalıdır. Yeterli miktarda fetal fraksiyonun olmaması tetkik başarısızlığına neden olduğu gibi tetkik yanlış bir negatif sonuçla da sonuçlanabilmektedir. Erken gestasyonel haftada fetal fraksiyon 10. haftadan önce anlamlı ölçüde daha düşüktür bu nedenle, birçok laboratuvar test için yeterli bir fetal

fraksiyonun sağlanması amacıyla 10. gebelik haftası ve üstündeki gebelik haftalarında tarama yapılması önermektedir [58],[11],[59].

Maternal serumdan elde edilen fetal cfDNA'nın, maternal serumdaki toplam cfDNA'ya oranı fetal fraksiyon olarak adlandırılır ve analiz yapılabilmesi için bu oranın %4 ve üstünde olması gereklidir . Maternal ağırlık arttıkça, fetal fraksiyon sistematik olarak azalmaktadır. Bir araştırmada, yetersiz fetal fraksiyon oranı 60 kg'ın altındaki gebelerde %0.2 olarak bulunmuşken, bu oran 110 kg'ın üzerinde kiloya sahip gebelerde %10.5 olarak tespit edilmiştir. Bütün gebe hasta grubu analiz edildiğinde %1.1'ne yakın kısmında FF yetersiz olarak gözlenmiştir [60].

Fetal ve plasental genetik yapıdaki bozuklukların da fetal fraksiyon üzerine etkisi olduğu gösterilmiştir. Gebeliğin 10-20. haftalarında öploid fetüslerde, maternal dolaşımdaki tüm serbest DNA'nın yaklaşık %13'ünü oluşturan fetal cfDNA; Down sendromlu (Trizomi 21) fetüslarda yaklaşık %15'ini, Edwards sendromlu (Trizomi 18) fetüslerde yaklaşık %9'unu oluşturur [61]. Patau (Trizomi 13) ve Turner (Monozomi X) sendromlu fetüslerde ise öploidlere yakın olmakla birlikte daha düşük fetal cfDNA oranları bulunmuştur [62],[63]. Klinik açıdan bakıldığında, herhangi bir ek risk faktörü olmayan hastalarda çok düşük fetal fraksiyon oranlarının rapor edilmesi, özellikle triploidi gibi anöploidiler açısından uyarıcı olmalıdır [61].

#### **a. Cell Free DNA Test Metotları**

Bilindiği üzere çeşitli firmalar farklı adlarla tanıttıkları cfDNA test alternatifleri sunmaktadır. Bu testler, cfDNA'nın tespiti için farklı yöntemleri kullanmaktadır ve genel yaklaşım maternal kanda bulunan cfDNA'nın hangi kromozomdan ne kadar oranda geldiğini belirlemektir. Eğer anne ve fetüs öploid durumdaysa, bu oranlarda genellikle değişiklik beklenmez. Ancak fetal anöploidi durumunda, bu oranlar fetal fraksiyona bağlı olarak değişebilir.

Serbest DNA fragmanlarının hangi kromozoma ait olduğunu belirlemede en yaygın kullanılan yöntem "dizileme" (sequencing) metodudur [9]. Bu bağlamda, cfDNA çalışmalarında genellikle yeni nesil dizileme teknolojileri kullanılmaktadır. Anöploidi tespiti için yeni nesil dizileme temelli üç yaklaşım öne çıkmaktadır [10],[64].

1. Masif Paralel Dizileme (Massively Parallel Sequencing - MPS)
2. Hedeflenmiş Masif Paralel Dizileme (Targeted MPS - t-MPS)
3. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP) [64].

Bu yöntemler, cfDNA analizlerinde kromozomal anöploidiyi belirlemek için kullanılan farklı stratejileri temsil etmektedir.

### **b. Serum Bazlı Serbest DNATestlerinin Performans Özellikleri Ve İstatistiksel Karakteristikleri**

Birçok tarama testinde olduğu gibi, serbest fetal DNA testinin değerlendirilmesinde temel parametreler "belirleme oranı" (detection rate - DR) ve "yalancı pozitiflik oranı" (false positive rate - FPR) olarak kullanılır. Bu parametreler, serbest fetal DNA testinin tarama performansını değerlendirmede yeterlidir. Yüksek bir DR ve düşük bir FPR, bir tarama testinin başarılı olduğunu gösterir ve bu nedenle serbest fetal DNA testi başarılı bir tarama testi olarak kabul edilebilir. Ancak, serbest fetal DNA testinin %1-5 arasında oranlarda sonuçsuz kalabileceği dikkate alınmalıdır. Bunun yanı sıra, cinsiyet kromozomu anöploidilerine karşı daha az başarılı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır [61].

**Tablo 3.** Ülkemizde bulunan cffDNA testleri, kullandıkları genetik metodlar ve ticari isimleri [61].

<b>Testin genetik metodu</b>	<b>cffDNA testi ticari adı</b>
Kromozom seçici squencing (hedefli squencing )	Harmony
Tam genom squencing	Tranquility
	Prena test
	MaterniT21
Kitlesel paralel dizileme (yeni nesil squencing)	Verifi
	Nace
	NIFTY
Tek Nükleotid polimorfizmleri metodu	Panorama

cffDNA: Serbest fetal DNA

Fetal fraksiyonun düşük (<%4) olması, serbest fetal DNA testlerinin sonuçsuz kalma durumunun en önemli nedenidir ve bu durumların %50'sinden sorumlu olduğu bilinmektedir. Diğer nedenler genellikle cffDNA (dolaşımdaki serbest fetal DNA) çalışan laboratuvarların kullanılan metodolojisine ve önceliklerine bağlıdır [65].

cffDNA test sonucunun elde edilemediği durumda ne yapılacağı konusunda henüz standart bir yaklaşım belirlenmemiştir ve bu durum hala belirsizliğini koruyan tartışmalı bir konu olarak devam etmektedir. Bu tür durumlar için çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır. Bu yaklaşımlardan biri, cffDNA testinin tekrarlanması olabilir. Ayrıca, daha önce gerçekleştirilmemişse birinci veya ikinci trimesterde standart serum tarama testlerinin uygulanması da düşünülebilir [66]. Tüm tarama testlerinde olduğu gibi, cffDNA test sonuçları da kesin tanı test sonuçlarıyla uyumlu olmayabilir. Bu nedenle, test sonuçlarının ve olası sonuçsuz kalma durumlarının tıbbi uzmanlar tarafından dikkatlice değerlendirilmesi önemlidir [66].

### **c. Serbest Fetal DNA Testinin Klinikte Kullanımı ve Yorumlanması**

Belirleme oranı (detection rate - DR) ve yalancı pozitiflik oranı (false positive rate - FPR) gibi parametreler bir tarama testinin performansını değerlendiren istatistiksel özelliklerdir. Bu parametreler, hastalığın toplumdaki yaygınlığından ve risk gruplarından etkilenmeyen ölçümlerdir. Sensitivite (DR), bir toplumda hastalığın kaçında testin pozitif sonuç verdiğini ifade eder. Ancak klinik kullanımda, test sonucu pozitif çıkan kişilerin ne kadarının gerçekten hasta olduğu daha değerlidir. Bu oran, pozitif prediktif değer (positive predictive value - PPV) olarak adlandırılır. Benzer şekilde, test sonucu negatif çıkan kişilerin ne kadarının gerçekten sağlıklı olduğu negatif prediktif değer (negative predictive value - NPV) olarak ifade edilir. PPV ve NPV, hastalık yaygınlığına ve risk gruplarına göre değişebilir [61].

Fetal anöploidi yaygınlığı düşük olduğundan NPV genellikle %99,9 veya daha yüksektir [65]. Yüksek özgüllük (spesifisite) ve NPV, gereksiz invaziv tanısal prosedürlerin oranını önemli ölçüde azaltabilir ve hastalar ile hekimleri rahatlatır. cffDNA testleri, kombine test gibi standart serum tarama testlerine kıyasla daha yüksek DR ve PPV'ye sahiptir ve günümüzde en güvenilir tarama testi olarak kabul edilir [66].

**Tablo 4.** Farklı maternal yaş gruplarındaki serbest fetal DNA (cffDNA) testlerinin performans özelliklerini açıklamak için Eylül 2015 tarihli ACOG yönergesinden uyarlanmış bir özet aşağıda verilmiştir

	DR (%)	Spesifite (%)	25 yaş için PPV (%)	40 yaş için PPV (%)
<b>Patau sendromu</b>	91,6	99,9	9	57
<b>Edward's sendromu</b>	97,4	99,8	13	68
<b>Down Sendromu</b>	99,3	99,8	33	87

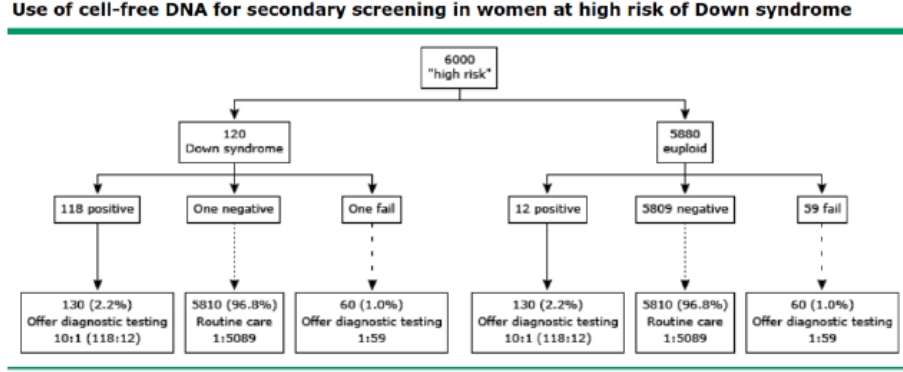
DR: Belirleme oranı, PPV: Pozitif prediktif değer,

Tarama testleri klinik pratikte genellikle iki aşamada kullanılır. Birincil aşama olan "primer tarama," hastalığın genel nüfus içindeki yaygınlığını belirlemek ve riskli grupları tanımlamak amacıyla kullanılır. Bu aşamada tarama testi genellikle daha yaygın ve daha az maliyetli bir yöntemdir. İkincil aşama olan "sekonder tarama," primer tarama sonucunda yüksek riskli grupta pozitif sonuç veren bireyleri daha hassas ve özgül bir testle daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirmek amacıyla kullanılır. Bu aşamada amaç, yanlış pozitif sonuçları azaltmak ve kesin bir teşhis koymak değil, riski yüksek olanları daha yakından incelemektir.

cffDNA testi primer tarama amaçlı toplum tabanlı kullanımı genellikle önerilmemektedir. Bu testin yüksek doğruluk oranına sahip olmasına rağmen, kesin teşhis koymak için yeterli değildir ve sonuçlar klinik durumla uyumsuz olabilir. Bu nedenle, genellikle yüksek riskli grupları belirlemek ve daha sonra daha kesin tanı testleri yapmak için kullanılır [65].

Nicolaides grubu, primer tarama için ilk trimester kombine testini önermektedir. Bu test yüksek riskli grupları belirlemek için kullanılır. Yüksek riskli gruptaki gebelere invaziv tanı testi önerilirken, orta riskli gruptakilere cffDNA testi düşünülebilir. Düşük riskli grupta ise ek testler yapmadan takip önerilebilir. Bu şekilde, farklı risk gruplarına uygun yaklaşımlar belirlenmiştir. Maliyet ve ülkenin sağlık politikaları da karar verilirken dikkate alınması gereken faktörlerdendir [67].

Unutulmaması gereken en önemli nokta, tarama testlerinin sonuçlarının uzman bir sağlık profesyoneli tarafından değerlendirilmesi ve doğru bir klinik yorumunun yapılmasıdır [67].



**Şekil 1.** Yüksek Down sendromu riski olan kadınlarda cffDNA'nın ikincil tarama için kullanımı [68]

Bugünün şartlarında, cfDNA testleri bazı mikrodelsiyon/duplikasyon sendromlarının taramasında da potansiyel olarak kullanılabilir. Ancak, bu sendromlar için vaka sayıları sınırlıdır, takip edilmesi zordur ve prevalansları belirsizdir, bu yüzden güvenilir olarak belirleme oranları (DR), yanlış pozitiflik oranları (FPR) ve pozitif tahmin değerleri (PPV) hesaplanamamaktadır. Bu nedenle, cfDNA testlerinin bu sendromların taramasında rutin kullanımını destekleyen hiçbir resmi kuruluş tavsiyesi yoktur [65].

Günümüz koşullarında, cfDNA testi tamamen aile tercihiyle ilgili bir seçenektir ve danışmanlık alındıktan sonra uygulanması gereken maliyetli fakat etkili bir tarama testidir. cffDNA testi, tüm genetik sendromlar ve anöploidileri değil, belirli kromozomlara özgü patolojileri taramak için kullanılır. Sonuç olarak, patolojinin varlığını veya yokluğunu değil, hastanın düşük veya yüksek riskli grupta olduğunu belirtir. Kesin tanı için ise Amniyosentez veya CVS gibi invaziv tanı işlemlerine ihtiyaç vardır. Testin performansı ikiz gebeliklerde, tek fetüslü gebelikler kadar olmasa da tatminkâr seviyededir. Ancak bazı organizasyonlar, örneğin ACOG, çoğul gebelikler için cffDNA testini henüz önermemektedir [61].

Hastalar, testin maliyeti (özel/kamu sigortaların kapsamı), sonuç almanın süresi (genellikle 7-10 gün) ve olası tesadüfi sonuçlar (örneğin maternal kanser veya anöploidi gibi) gibi konularda detaylı olarak bilgilendirilmelidir. Özellikle, 80 kilogramın

üzerindeki anne adaylarına test sonuçsuzluğu riskinin artabileceği vurgulanmalıdır. Sağlık profesyonelleri ise tercih edilen laboratuvarı ve testin genetik yöntemini, bu yöntemin klinik amaçlara uygunluğunu, avantaj ve dezavantajlarını, raporlama şeklini, test sonuçsuzluk oranlarını ve içeriğini bilinçli bir şekilde anlamalıdır. Ayrıca, ticari etkilerden ve testlerin tıbbi olmayan kullanımlarından (örneğin fetal cinsiyet belirleme) kaçınılmalıdırlar [61].

#### **d. Serbest Fetal DNA Klinik Tanıda Nerelerde Kullanılır**

Bilimsel çalışmalar neticesinde cffDNA'nın başta kanser, kadın hastalıkları ve doğum olmak üzere hemen hemen tüm alanlarda büyük önem arz edeceği düşünülmektedir. cffDNA testine daha kolay ve ucuz ulaşılabildiği zaman hastalıklar ve bu hastalıkların geriye dönük tayininde genetikçiler sınırsız olanaklara sahip olabileceklerdir [69]. cffDNA testi; Fetal cinsiyet tayini, fetal rhd genotiplemesi, hemoglobinopatiler, preeklampsi, fetal anöploidilerin tespiti için kullanılabilir [70]

#### **1.1.1.6. Serbest Fetal DNA ile Taradığımız Anomaliler**

##### **a. Trizomi 21 (Down Sendromu )**

Down sendromu, 1866 yılında ilk kez İngiliz doktor John Langdon Down tarafından tanımlanan bir durumdur. Genetik bir özellik taşıyan Down sendromu yaşam boyu süren bir etkiye sahiptir ve hastalık değil bir durumdur. Normalde iki adet olması gereken 21. kromozomun üç adet olduğu bebekler trizomi 21 veya Down sendromu olarak adlandırılırlar. Bu fazla kromozom, çocuğun zihinsel ve fiziksel gelişiminde gecikmelere yol açar ve zihinsel engelliliğin en yaygın nedenlerinden biridir [5].

Down sendromu, her yaş ve sosyoekonomik grupta görülebilirken, ileri yaşta olan anne adaylarının gençlere göre DS'lu fetüs doğurma ihtimali daha yüksektir [5]. Ülkemizde Down sendromlu bebeklerin doğum oranı 8-10 / 10000'dir [71].

Down sendromlu fetüslerin %25-30'unun ikinci trimesterde ultrason görüntülemelerinde tespit edilebilen büyük anomalileri bulunmaktadır [72]. Down sendromu genellikle kalıtsal değildir; genellikle fetüsün erken gelişim aşamasında hücre bölünmesindeki bir hatadan kaynaklanır. Bununla birlikte, ebeveynlerden çocuklara translokasyon tipi Down sendromu geçebilir. Anne yaşının ileri olması, genetik

translokasyon taşıyıcısı olma durumu ve daha önce Down sendromlu bir çocuğunun olması risk faktörleri arasındadır [73].

Günümüzde mevcut tüm testler kullanıldığında, Down sendromlu bireylerin yaklaşık %95'i teşhis edilebilmektedir. Ancak bu fırsatlara rağmen, kadın doğum doktorlarına karşı açılan davalara da rastlanmaktadır [74].

### **b. Edwards Sendromu (Trizomi 18)**

Trizomi 18 (Edwards Sendromu), ilk kez 1960 yılında Edward tarafından tanımlanmış olup, hastalığın oluşumunda genetik ve çevresel etkenlerin birleşik etkisinin rol oynadığı düşünülmektedir. Trizomi 18, fazladan bir 18. kromozomun varlığıyla ortaya çıkan, çoklu doğuştan anomalilerle belirlenen bir sendromdur [73]. Trizomi 18 prevalansı, her 2000 gebelikten birinde görülür. Canlı doğumlar arasında Down sendromundan sonra en yaygın trizomi sendromudur [75].

Intrauterin gelişme geriliği, mikrognati, mikrosefali, düşük kulaklar, kardiyak anomaliler (özellikle ventriküler septal defekt), üriner sistem anomalileri, gastrointestinal sistem anomalileri ve ekstremiteler sorunları, Edwards sendromunun yaygın klinik belirtileridir [76].

### **c. Patau Sendromu (Trizomi 13)**

Klaus Patau tarafından hastalık 1960 yılında tanımlanmıştır [77]. Patau sendromu, merkezi sinir sistemi, kalp, orta hatta defektler, ürogenital sistem anomalileri ve motor zihinsel retardasyon gibi özelliklerle beliren bir kromozomal hastalıktır [78].

Bu hastalığın ortaya çıkmasında en önemli etken, ilerlemiş anne yaşı olarak bilinir [79]. Trizomi 13, artmış preeklampsi riski taşıyan tek fetal anöploididir. İkinci trimesterde sona eren gebeliklerin yarısında preeklampsi ve hiperplasentozis gibi durumlar gelişebilir [80].

### **cffDNA Tarama Testinin Kullanım Alanları**

- 35 yaşın üzerindeki gebelikler,
- Fetal ultrasonografi sonuçlarında yüksek anöploidi riski,
- Ebeveynlerin önceki çocuklarında saptanmış kromozomal anormallikler (örneğin Patau veya Down sendromu gibi),

- Ebeveynlerde (maternal ve/veya paternal) yapısal kromozom bozuklukları veya bazı durumlarda X-kromozomal hastalık öyküsü,
- Birinci ve ikinci üç aylarda elde edilen cffDNA test sonuçlarının pozitif olması,
- Maternal kan tarama sonucunda yüksek risk saptama,
- Anamnezde nedeni belirlenemeyen iki veya daha fazla ölü doğum veya anormal bebek doğumu hikayesi olan gebelikler [81].

## **1.2. İNVAZİV PRENATAL TANI TESTLERİ**

Başlıca invaziv prenatal tanı yöntemleri, amniyosentez, koryonik villus örnekleme ve kordosentez olarak gruplandırılmaktadır [82]. Prenatal tanı için invaziv test endikasyonları, anne yaşının 35 veya üstü olması, fetal ultrasonda anomali tespiti, maternal serum tarama testlerinde risk saptanması, ebeveynlerde denge translokasyon taşıyıcılığı öyküsü, anöploidi olan bir çocuğun daha önce doğmuş olması veya doğumda anomali görülmesi, kötü obstetrik ve genetik aktarım öyküsünün ailede bulunması, ebeveynlerde taşıyıcılık veya bilinen tek gen hastalığı öyküsü ve maternal anksiyete gibi durumları içerebilir. İnvaziv testler planlandığında, aileye sunulacak genetik danışma sürecinde yapılacak testin niteliği, sınırlamaları, hastalık risk hesaplamaları ve alternatif yöntemler açıklanmalıdır [22].

### **1.2.1. Koryon Villus Örnekleme**

Genellikle gebeliğin 11-14. haftaları arasında uygulanabilen koryon villus örnekleme (CVS), ilk olarak 1975 yılında Çin'de kaydedilmiştir [83]. Amniyosentez ile kıyaslandığında, CVS sonucunda gebelik kaybı riskinin biraz daha yüksek olduğu gözlemlenmiş olmasına rağmen, bunun CVS'in erken gebelik haftalarında uygulandığı durumlarda spontan abortus oranının daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkiz gebeliklerde fetal kayıp oranında bir artış gözlenmemiştir. Sitogenetik tanıda başarı oranı %99,7 olarak belirlenmiştir [84].

### **1.2.2. Amniyosentez**

Amniyosentez (AS) fetüse ait gastrointestinal sistem, solunum sistemi ve deriden dökülen hücrelerin ayrılarak ve hücre kültürlerinde çoğaltılarak karyotipleme yapılması işlemidir. İlk defa 1960'lı yıllarda uygulanmıştır. En fazla uygulanan invaziv prenatal tanı yöntemi olan AS 15-20. haftalar arasında yapılmakta ve 'Altın Standart' olarak kabul edilmektedir. Karyotip sonucu ortalama 2 haftada alınmaktadır. Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile 13, 18, 21 ve cinsiyet kromozom sonuçları 24-48 saat içinde elde edilmektedir. Son yıllarda amniyosentez işlemine bağlı gebelik kaybı oranları düşük seviyelerde (örneğin 1/1600 gibi) bildirilmiştir. Erken gebelik haftalarında (11-14. gebelik haftaları arasında) gerçekleştirilen amniyosentez işleminde daha yüksek gebelik kaybı riski bulunmaktadır. Bu nedenle, 15. gebelik haftasından önce amniyosentez yapılması önerilmemektedir [84].

### **1.2.3. Kordosentez (Fetal Kan Örnekleme)**

Kordosentez, ilk olarak 1984 yılında ultrasonografi eşliğinde uygulanmıştır. Daha sonra fetal kanın asfiksi, karyotip tayini ve intrauterin enfeksiyonun tespit edilmesinde kullanılmıştır. Gebeliğin 18-22. haftaları arası kordosentez işlemi için en uygun zaman olarak belirlenmiştir. CVS ve AS işlemleri için ileri gebelik haftasında olan ya da CVS ve AS işlemi başarısızlık ile sonuçlanan gebelere uygulanmaktadır. Bu yöntem ile fetüse ait kandaki lökositler kullanılarak karyotip analizi 24-48 saat gibi kısa sürede elde edilmektedir. Kordosentez işleminde direkt tanı için karyotipleme yapılabildiği için amniosenteze göre tanısal değeri oldukça yüksektir [85].

## 2. ÇALIŞMANIN AMACI

Bu tez çalışmamızda Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümünde takip edilen gebelere uygulanan non-invaziv prenatal test tekniğinde, maternal kandaki fetal DNA fraksiyonu yüzdesi üzerine etki etmesi muhtemel faktörlerin retrospektif olarak araştırılması amaçlanmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Non-invaziv prenatal test (NIPT) tekniğinde maternal kanındaki fetüse ait DNA parçalarının yüzdelik oranı üzerine etki etmesi beklenen faktörlerin retrospektif olarak değerlendirildiği bu tez çalışmasına Aralık 2015 ve Şubat 2022 tarihleri arasında Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğinde takipli kromozomal anomalilerin tarandığı bir retrospektif analizdir.

Helsinki Deklarasyonu etik kuralları rehberliğinde gerçekleştirilecek olan çalışmamıza Üsküdar Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınarak başlanılmıştır (Etik Kurul Tarihi:22.02.2023; sayı:61351342/Şubat 2023-50). Üniversite hastanesi ile anlaşmalı olan ileri düzey genetik hastalıklar değerlendirme merkezi tarafından serbest fetal DNA fraksiyon yüzdesi (cffDNA) ile kromozomal anomali taranmasına yönelik numune veren gebelere ait verilerin araştırma amacıyla kullanılmasına ilişkin yazılı onamlar gebelere önceden imzalatılmıştır.

#### **Dahil Edilme Kriterleri:**

- Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda antenatal takipleri yapılan,
- NIPT tekniği önerilen ve uygulanmasını kabul eden gebeler,
- NIPT test tekrarı yapılmamış,
- Yüksek riskli tarama testi veya elektif cffDNA analizi yapılan,
- Yeni nesil dizileme [Next Generation Sequencing (NGS)] yöntemi ile cffDNA kromozom analizi yapılmış,
- Maternal ve paternal verileri bulunan,
- Gebeliği devam edip, canlı doğum yapmış gebeler olarak belirlenmiştir.

#### **Dahil Edilmeme Kriterleri:**

- Yeni nesil dizileme (NGS) yöntemi ile yapılan NIPT tekniği uygulanmamış,
- Yetersiz fetal fraksiyon (FF) yüzdesi bulunan,
- Laboratuvar tarafından yetersiz fetal fraksiyon (FF) yüzdesi bulunan (<%3),

- Çoğul gebeliği olan,
- Çoğul devam eden gebeliği olan,
- Kaybolan ikiz sendromu bulunan,
- Maternal ve/veya paternal tek gen hastalığı bulunan gebeler ise çalışma kapsamı dışında bırakılmıştır.

Tez çalışmamıza dahil edilen gebelere ait maternal vücut kitle indeksi (BMI), gebelik haftası, gebelik yaşı, maternal yaş, baba yaşı, NIPT için kanın alındığı gebelik haftası, fetüs cinsiyeti, spontan ve/veya invitro fertilizasyon gebelik olması, USG ile NT ölçümü alınan gebelik haftası, antikoagülan kullanımı, immünoterapi, antikor tedavisi, kök hücre tedavisi, organ transplantasyonu, ultrasonda anomali, ilaç kullanımı, anormal reproduktif öykü, malign/benign tümör öyküsü, kan/diğer kan ürünleri transfüzyonu ait veriler elektronik veri tabanından elde edilmiştir.

Tekil gebeliği olan ve NIPT uygulanan gebelere ait maternal plazmanın analizinden elde edilen veriler incelenmiştir. Maternal yaş, ırksal köken, gebe kalma yöntemi (spontan veya yardımcı üreme teknikleri) maternal özellikler ve tıbbi öykü, gebelikte sigara kullanılması (evet veya hayır), gebenin kilosu ve boyu gibi verilerin cffDNA fraksiyonu yüzdesi üstüne etkileri araştırılmıştır.

USG ile canlı fetüs varlığı teyit edilen, fetal baş-popo uzunluğu (CRL) ölçümü yardımı ile gebelik haftası belirlenen (son adet tarihi veya transfer tarihine göre hesaplanan gebelik haftası ile karşılaştırılması), herhangi bir majör fetal anormallik tespiti olmayan ve fetal ense (NT) kalınlığı ölçümü yapılan fetüsler değerlendirilmiştir.

Anöploid riskinin yüksek olduğu düşünülen gebelere önerilen koryon villus örnekleme veya fetal karyotipleme için amniyosenteze ait demografik özellikler, ultrasonografik ölçümler, ilgili biyokimyasal karyotip (genetik laboratuvarlarından elde edilen) ve gebelik sonuçları bilgisayar veri tabanına kaydedilen kayıtlardan alınmıştır. Elde edilen tüm parametrelerin cffDNA yüzdesine etkisinin anlamlı olup olmadığı araştırılmıştır.

cffDNA elde etme yöntemi olarak BGI klinik laboratuvarları tarafından Non-Invasive Fetal Trisomy testi (NIFTY®) kullanılmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm gebeler, referans genetik merkezinde NIPT testine tabi tutulmuş, aydınlatılmış onam

alınmış ve uygun şartlarda numune alınmıştır (Genoks Genetik Hastalıklar ve Değerlendirme Merkezi Ankara).

### **İstatistik Veri Analizi**

Tez çalışmamıza ait verilerinin değerlendirilmesinde Statistical Package For Social Sciences (SPSS) MAC version 21 (IBM, Armonk, NY, USA) yazılım programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler, kategorik değişkenler için sayı ve yüzdeler, sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma (ort±ss), median, minimum, maximum değer olarak sunulmuştur. Homojenite Levene testine göre yapılmış ve  $p>0,05$  homojen olarak kabul edilmiştir. Sürekli değişkenlerin dağılımının normale yakın dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov normalite ve Shapiro-Wilk normalite testi ile  $p>0,05$  normal dağılım olarak değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenler için normal dağılım varsayımı sağlandığı durumlarda, iki grup karşılaştırmalar için Independent T testi, üçlü bağımsız grup karşılaştırmalarında ise One Way Anova Testi kullanılmıştır. Nominal değişkenler Pearson'un Ki-kare testi ile incelenmiştir. Fetal DNA (cffDNA) fraksiyonu yüzdesi sonuçları ve değişkenler arasında pearson veya spearman korelasyon analizi uygulanmıştır. Bağımsız faktör analizleri linner regresyon analizi ile yapılmıştır. Tüm parametrelerin cffDNA yüzdesine etkisinin univariate regresyon ile incelenmiştir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi %95 güven aralığında p değerinin 0,05 ve 0,05'ten küçük olması durumu olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya Aralık 2015 ve Şubat 2022 tarihleri arasında Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Doktor Rıdvan Ege Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğinde takipli kromozomal anomalilerin tarandığı gebeler çalışmaya dahil edilmiştir. 230 gebeye ait maternal ve paternal veriler incelenmiş, 42 gebe çalışmaya dahil edilme kriterleri sağlayamadığı için çıkarılmış ve geriye kalan 188 gebe çalışmaya dahil edilmiştir.

### 4.1. ÇALIŞMADAKİ HASTALARA AİT DEMOGRAFİK VERİLER

Çalışma grubunun genel yaş ortalaması  $35,2\pm 4,7$  olarak saptandı. Fetal DNA bakılanların ortalama gebelik haftası  $14,3\pm 2,8$  ve gebelik aralığı 10-24 hafta ve ortalama fetal DNA fraksiyon düzeyi  $8,64\pm 3,20$  (referans aralığı 3,54-22,53) olarak tespit edilmiştir. Çalışmaya ait demografik ve klinik veriler Tablo 6 ve 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Demografik ve Klinik Veriler-1

	Ortalama±standart sapma	Minimum değer	Maksimum değer
Yaş (yıl)	$35,2\pm 4,7$	21,0	50,0
Gebelik haftası	$14,3\pm 2,8$	10,0	24,0
Fetal fraksiyon yüzdesi (%)	$8,64\pm 3,20$	3,54	22,53
Maternal boy (cm)	$164,2\pm 5,5$	150,0	180,0
Maternal Kilo (kg)	$68,1\pm 12,6$	46,0	133,0
Maternal beden kitle indeksi ( $\text{kg/m}^2$ )	$25,3\pm 4,3$	16,9	41,0
Baba yaşı (yıl)	$37,9\pm 5,9$	21,0	61,0
Gebelik sonlanma haftası	$37,6\pm 2,2$	25,0	42,0

**Tablo 6.** Demografik ve Klinik Veriler-2

	n (%)
<b>NIPT Sonuç</b>	
Düşük risk	185 (98,4)
45,X	2 (1,1)
47,XXY	1 (0,5)
<b>Konsepsiyon</b>	
Spontan	111 (59,0)
IVF/ICSI	77 (41,0)
<b>Fetüs Cinsiyeti</b>	
Kız	91 (48,4)
Erkek	97 (51,6)

**Tablo 6.(devam) Demografik ve Klinik Veriler-2**

<b>Anne Kan Grubu</b> Yok 0 A AB B	5 (2,7) 64 (34) 76 (40,3) 12 (6,4) 31 (16,5)
<b>Antikoagülan Kullanımı</b> Yok Var	103 (54,8) 85 (45,2)
<b>Sigara</b> İçiyor İçmiyor	180 (95,7) 8 (4,3)
<b>Anneye Ait Hastalıklar</b> Yok Diğer Gestasyonel hipertansiyon Hipotriodi İnsülin Direnci Trombofili	107 (56,9) 10 (5,5) 16 (8,5) 23 (12,2) 5 (2,7) 27 (14,4)
<b>Babaya Ait Hastalıklar</b> Yok Astım Azospermi Diyabet Ailevi Akdeniz Ateşi Hipotiroidi Hipertansiyon Multiple Skleroz Takayasu Arteriti	173 (92) 1 (0,5) 1 (0,5) 1 (0,5) 1 (0,5) 1 (0,5) 7 (3,7) 2 (1,1) 1 (0,5)
<b>Anne/Babada Kromozomal Anomali</b> Yok Babada İnversiyon 9 P11,Q13 Babada Klinefelter Sendromu	185 (98,3) 1 (0,5) 2 (1)
<b>İkili Test</b> Yüksek Risk Yaş Riski Düşük Riskli Yapılmamış	29 (15,4) 70 (37,2) 83 (44,1) 6 (3,2)
<b>Üçlü/Dörtlü Test</b> Yüksek Risk Yaş Riski Düşük Riskli Yapılmamış	8 (4,3) 37 (19,7) 43 (22,9) 100 (53,2)

**Tablo 6.(devam)** Demografik ve Klinik Veriler-2

<b>Ayrıntılı USG</b> Anormal bulgu yok 1 bulgu var >1 bulgu var	179 (95,2) 7 (3,5) 2 (1,1)
<b>Fetal Eko</b> Normal Damar Transpozisyonu	187 (99,5) 1 (0,5)
<b>OGTT</b> GDM Normal Yapılmamış	28 (14,9) 134 (71,2) 26 (13,8)
<b>Gebelik Sonucu Fetüs</b> Normal Metabolik hastalık (Fenilketüri) Anöploidi (Klinefelter Sendromu) Diğer (Hidrocefali, Korpus Kallusum Agenezisi, Serebral Palsi)	185 (98,4) 1 (0,5) 1 (0,5) 1 (0,5)
<b>Doğum Şekli</b> Sezaryen Vajinal Doğum	176 (93,6) 12 (6,4)

Kısaltmalar: NIPT: Non invaziv prenatal test;

#### 4.2. GRUPLAR ARASI KARŞILAŞTIRMALAR

Antikoagülan kullanan gebelerin ortalama fetal fraksiyon oranı  $8,56 \pm 2,83$ , kullanmayanların ise  $8,71 \pm 3,48$  olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,049$ ). VKİ 25'ten küçük olan gebelerin ortalama fetal fraksiyon oranı  $9,41 \pm 3,48$ , VKİ 25'ten yüksek olanların ise  $7,70 \pm 2,53$  olarak saptandı ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p = 0,0001$ )(Tablo 8 ).

**Tablo 7.** Fetal DNA'nın maternal, fetal dermografik ve klinik özelliklerine göre karşılaştırılması

		Ort±SS	P
Fetüs Cinsiyeti	Kız	7,99±2,81	0,081 <sup>1</sup>
	Erkek	9,25±3,42	
Anne Rh	Negatif	8,60±3,19	0,988 <sup>1</sup>
	Pozitif	8,61±3,14	
Maternal Kan Grubu	0	8,58±2,58	0,701 <sup>2</sup>
	A	8,39±3,36	
	B	9,19±3,72	
	AB	8,72±3,05	
Antikoagülan Kullanımı	Yok	8,71±3,48	<b>0,049<sup>1*</sup></b>
	Var	8,56±2,83	
Sigara	Yok	8,68±3,23	0,440 <sup>1</sup>
	Var	7,89±2,30	
Maternal Hastalık	Yok	8,68±3,10	0,204 <sup>2</sup>
	Trombofili	8,99±3,10	
	Hipotroidi	8,96±4,20	
	GHT	7,2±2,51	
	İnsülin Direnci	7,21±1,55	
	Diğer	9,91±3,71	
İkili Test	Düşük Risk	8,74±3,21	0,413 <sup>2</sup>
	Yaş Riski	8,25±2,96	
	Yüksek Risk	9,11±2,88	
Üçlü/Dörtlü Test	Düşük Risk	8,67±3,35	0,393 <sup>2</sup>
	Yaş Riski	8,30±2,24	
	Yüksek Risk	7,18±2,53	
Ayrıntılı USG	Normal	8,60±3,80	0,398 <sup>1</sup>
	Anomali	9,58±5,46	
OGTT	Normal	8,95±3,1	0,373 <sup>1</sup>
	GDM	8,38±3,1	
Gebelik Sonucu Fetüs	Normal	8,63±3,21	0,859 <sup>1</sup>
	Anomali	9,64±2,99	
Yaşgrup	35 yaş altı	9,1±3,38	0,133 <sup>1</sup>
	35 yaş üstü	8,30±2,99	
BMIgroup	<25	9,41±3,48	<b>0,0001<sup>1*</sup></b>
	>25	7,70±2,53	

Ort: Ortalama; SS: Standart sapma; <sup>1</sup>Independent Sample T Testi; <sup>2</sup>One-Way Anova \*: İstatistiksel Anlam Varlığı

Kısaltmalar: GHT: Gestasyonel Hipertansiyon, GDM: Gestasyonel Diyabet, BMI: Body Mass Index

### 4.3. KORELASYON ANALİZİ

Korelasyon ve regrasyon analizin sonuçları Tablo 7 ve 8'de özetlenmiştir. Maternal serumda bakılan fetal DNA fraksiyonu, maternal kilo ve BMI ile istatistiksel

olarak anlamlı olarak ters ilişkiliydi, Buna ek olarak maternal serumda bakılan fetal DNA fraksiyonu, fetüs cinsiyetinin erkek olmasıyla daha yüksek ilişkili bulunmuştur.

**Tablo 8.** Fetal DNA'nın Maternal, Fetal Dermografik Ve Klinik Özelliklerine Göre Korelasyon Analizi

Yaş	<i>r</i>	-,119
	<i>p</i>	0,104
Gebelik Haftası	<i>r</i>	,045
	<i>p</i>	0,540
Maternal Boy	<i>r</i>	,030
	<i>p</i>	0,682
Maternal Kilo	<i>r</i>	-,291
	<i>p</i>	<b>0,0001*</b>
Maternal BMI	<i>r</i>	-,362
	<i>p</i>	<b>0,0001*</b>
Baba Yaşı	<i>r</i>	-,109
	<i>p</i>	0,136
Gebelik Sonlanma Haftası	<i>r</i>	,108
	<i>p</i>	0,142

*r*: Pearson Korelasyon Kat Sayısı \* : İstatistiksel Anlam Varlığı

Kısaltmalar: BMI: Body Mass Index

**Tablo 9.** Fetal DNA'nın Maternal, Fetal Dermografik Ve Klinik Özelliklerine Göre Linner Regresyon Analizi

Model		Standartize Edilmemiş Katsayılar		Standartize Edilmiş Katsayılar	t	P
		B	Std. Error			
	Yaş	-0,081	0,049	-0,119	-1,63	0,104
	Gebelik Haftası	0,052	0,084	0,045	0,613	0,540
	Boy	0,018	0,043	0,030	0,411	0,682
	Kilo	-0,074	,018	-0,291	-4,133	<b>0,0001*</b>
	BMI>35	-1,71	0,454	-0,533	-3,75	<b>0,0001*</b>
	Baba Yaşı	-,001	,056	-,002	-,018	0,986
	**Cinsiyet	1,27	0,460	0,396	2,75	<b>0,007*</b>
	Anti Koagülan Kullanımı	-0,151	0,471	-0,0473	-0,321	0,748
	Sigara Kullanımı	-0,789	1,157	-0,247	-0,681	0,496
	İkili Tarama					
	Yaş Riski	-0,490	0,522	-0,153	-0,939	0,349
	Yüksek Risk	0,366	0,693	0,114	0,529	0,598
	Üçlü/Dörtlü					
	Yaş Riski	-0,372	0,723	-0,1163	-0,514	0,608
	Yüksek Risk	-1,497	1,233	-0,4681	-1,214	0,226
	Fetal Anomali	0,981	1,157	0,307	0,848	0,398
	GDM	-0,567	0,668	-0,177	-0,849	0,397
	Gebelik Sonucu	1,01	1,865	0,317	0,544	0,587
	>35 yaş	-0,703	0,467	-0,220	-1,51	0,133

\*\*Referans:Kız; Linner Regresyon Analizi \* : İstatistiksel Anlam Varlığı

Kısaltmalar: GDM:Gestasyonel Diyabet, BMI: Body Mass Index

## 5. TARTIŞMA

Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniği'nde takipli, canlı ve tekil doğum yapmış, cffDNA testi uygulanmış gebelerde fetal fraksiyon yüzdesi (%) üzerine etki etmesi muhtemel faktörleri araştırmak için yapılan bu rektospektif araştırmada, maternal serumda bakılan fetal DNA fraksiyonu yüzdesi, maternal kilo ve vücut kütle indeksi ile istatistiksel olarak anlamlı ( $p=0,0001$ ) ve ters ilişkili olduğu görüldü.

Vücut kitle endeksi (BMI - Body Mass Index), bir kişinin boy ve kilo ölçümlerine dayanarak vücuttaki yağ oranını hesaplamak için kullanılan bir ölçüttür. Fetal DNA fraksiyonu yüzdesi, maternal ağırlık arttıkça sistematik olarak azalmaktadır. Bu ters ilişki, VKİ 25'ten büyük olan gebelerin daha büyük maternal plazma hacmine sahip olmasına rağmen sabit miktarda fetal cfDNA'nın elde edilmesine ve ayrıca maternal ağırlık arttıkça maternal olarak artmış cfDNA konsantrasyonuna bağlı olduğunu varsayıyoruz. Obez olan gebelerde maternal kandan sağlanmış maternal cfDNA'daki artışın kronik inflamasyon ve hücre ölümünden kaynaklanabileceği ve buna bağlı olarak FF yüzdesinin düşük olmasını etkilediği düşünmekteyiz. Yapılan bir çalışmada, obez gebelerin adipoz dokusunun aktif olarak yeniden şekillenmesinin, maternal kaynaklı cfDNA'nın maternal dolaşıma daha fazla salınmasıyla sonuçlandığını [86] bildirerek bu hipotezimizi desteklemektedir. Güvenilir bir non-invaziv prenatal test sonucu elde etmek için FF yüzdesinin yeterli miktarda (FF %  $>3-4$ ) olmalıdır. Bu nedenler ile VKİ 25'ten büyük olan gebelerde maternal kan örneğinin daha geç gebelik haftasında alınması yolu ile yetersiz FF oranından uzaklaşılarak yeterli ve/veya yüksek bir FF oranına ulaşılabilir.

Antikoagülan tedavisi alan hamilelerin ortalama fetal fraksiyon oranı, tedavi almayanlara kıyasla daha düşük bulundu ve bu fark istatistiksel olarak önemliydi ( $p=0,049$ ). Bu konudaki literatürler incelendiğinde antikoagülan kullanımı olan gebelerde fetal fraksiyon oranı önemli bir oranda düşük olduğuna ilişkin çalışmalar mevcut olup bizim çalışmamız bu sonuçlarla kolerasyon göstermektedir. Bizim çalışmamızda antikoagülan olarak düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanımı mevcut olup, antikoagülan olarak asetilsalisilik asit (ASA) kullanımı istatistiksel olarak değerlendirilemeyecek kadar az sayıda olduğu için yok kabul edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, antikoagulan kullanımı bağlı FF yüzdesinin önemli bir oranda düşük olduğu ve non invaziv prenatal test sonuçsuzluğunun daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada yalnızca ASA kullanan gebelerde FF yüzdesi daha düşük, ancak NIPT sonuçsuzluğu oranında anlamlı bir fark izlenmemiştir [87]. Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanımının hücrede apoptozisi indükleyerek maternal cfDNA miktarını fetal cfDNA miktarına göre artırarak bu sonucu oluşturdukları hipotezi kurulmuştur. Ancak başka bir çalışmada, düşük molekül ağırlıklı heparinin yeni sitokeratin epitopları, nükleozom DNA oluşumu, E-cadherin ekspresyonu ve diğer mekanizmaları azaltarak trofoblast hücre apoptozisini azalttığı ve trofoblast hücre sağkalımını arttırdığı gösterilmiştir [88]. Bununla birlikte, in vitro deneyler, gebelerde DMAH yerine otoimmün hastalıkların test sonuçsuzluğunun bağımsız belirleyicileri olduğunu göstermiştir. DMAH ve NIPT sonuçsuzluğunun arasındaki etkileşimin tam mekanizması henüz aydınlatılmamıştır [30]. Bizim çalışmamızda otoimmün hastalıklar ile FF oranı ve NIPT sonuçsuzluğu arasında istatistiksel anlamlı bir sonuç yoktur. Literatür ve çalışmamızda gösterdiği üzere NIPT uygulanmadan önce DMAH kullanımından kaçınılması önerilir.

Çalışmamızda maternal serumda bakılan fetal cfDNA fraksiyonu, fetüs cinsiyetinin erkek olmasıyla daha yüksek ilişkili bulunmuştur. Ancak literatürde yapılan incelemede bulunan, Miltoft C at all. çalışmasında FF kız fetüslü gebeliklerde daha yüksek bulunmuştur [89]. Bu konuda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Herkesçe bilindiği üzere, çeşitli ticari isimlerle piyasaya sunulan fetal cfDNA test alternatifleri farklı firmalar tarafından sunulmaktadır. Bu testler, fetal cfDNA'yı tespit etmek için çeşitli yöntemler kullanmayı amaçlar. "Dizileme" (sequencing) yöntemi, serbest DNA fragmanlarının hangi kromozoma ait olduğunu belirlemede en sık kullanılan yaklaşım olarak öne çıkar. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte, "tüm genom dizileme" [whole genome sequencing (WGS)] ve "yeni nesil dizileme" [next generation sequencing (NGS)] gibi yöntemler günümüzde daha sıkça kullanılan yaklaşımlar haline gelmiştir [61]. "Kitlesele paralel dizileme" [massively parallel sequencing (MPS)] metodu da yeni nesil dizileme teknolojileri arasında bulunur ve bu çalışmada da kullanılan bir test yöntemi olarak karşımıza çıkar.

Bir anöploid veya öploid fetüsün doğru şekilde tanımlanmasında fetal fraksiyonun rolü, kullanılan analitik yöntem (örn. sayma veya genotipleme) bağlıdır. Bir sayma veya genotipleme algoritması kullanıldığında, artan fetal fraksiyon, artan tespit oranı ile ilişkilendirilir. Çalışmamızda kitlesel paralel dizileme metodu ile çalışılan fetal cfDNA testinin fetal fraksiyon oranından etkilenmesi düzeyi litaretür ile benzerdir.

Özetle bizim çalışmamıza göre FF, maternal kilo ve vücut kütle indeksi ve antikoagülan (DMAH) kullanımı ile ters ilişkili ve fetüs cinsiyetinin erkek olması ile yüksek ilişkili bulunmuştur. Gebelik yaşı, gebelik haftası, maternal boy, maternal yaş, baba yaşı, sigara kullanımı, antenatal tarama testleri, gestasyonel diyabet, fetal anomali ve gebelik sonlanma haftası ile FF arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilememiştir.

### **5.1. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI**

Çalışmamızı kısıtlayan faktörlerin başında cfDNA testin halen çok maliyetli olması sebebi ile çok yaygın uygulanmaması ve buna bağlı klinik veri kısıtlılığıdır. Bizim çalışmamızda hasta gruplarının sayıca sınırlı ve heterojen olması FF ile ilişkilerini istatistiksel olarak değerlendirmek için yetersizdi.

FF'yi etkileyen faktörler, yıllar boyunca çeşitli araştırmacıların ilgisini çekmiştir Maternal serumda bulunan hücresiz fetal DNA NIPT'nin temelini oluşturur. FF oranı, NIPT için önemli bir kalite kontrol parametresidir. FF, maternal özellikler, fetal-plasental özellikler, laboratuvar hesaplama yöntemleri gibi birçok faktörden etkilenir. Düşük FF oranı nedeniyle NIPT sonuç vermediğinde, tetkiği isteyen kadın doğum hekimi, tıbbi genetik danışman gebeyi birlikte değerlendirmeli ve testin çalışıldığı klinik laboratuvar ile beraber bu durum yönetilmelidir. Gelecekte düşük FF'den nedeniyle NIPT başarısızlığını minimize etmek için ortak bir çabaya ve daha geniş hasta serileri ile çalışılma yapılmasına ihtiyaç vardır.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] M. Hayran, *Sağlık Araştırmaları İçin Temel İstatistik*. Ankara: Art Ofset Matbaacılık, 2011.
- [2] C. P. Price and R. H. Christenson, *Kanıtı Dayalı Laboratuvar Tıbbı*. Ankara: Palme Yayınları, 2010.
- [3] I. R. Merkatz, H. M. Nitowsky, J. N. Macri, and W. E. Johnson, “An association between low maternal serum  $\alpha$ -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 148, no. 7, pp. 886–894, Apr. 1984, doi: 10.1016/0002-9378(84)90530-1.
- [4] M. H. Bogart, M. R. Pandian, and O. W. Jones, “Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities,” *Prenat Diagn*, vol. 7, no. 9, pp. 623–630, Nov. 1987, doi: 10.1002/PD.1970070904.
- [5] P. I. Jorgensen and D. Trolle, “LOW URINARY GESTRIOL EXCRETION DURING PREGNANCY IN WOMEN GIVING BIRTH TO INFANTS WITH DOWN’S SYNDROME,” *The Lancet*, vol. 300, no. 7781, pp. 782–784, Oct. 1972, doi: 10.1016/S0140-6736(72)92144-7.
- [6] J. A. CANICK, G. J. KNIGHT, G. E. PALOMAKI, J. E. HADDOW, H. S. CUCKLE, and N. J. WALD, “Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down’s syndrome,” *BJOG*, vol. 95, no. 4, pp. 330–333, Apr. 1988, doi: 10.1111/J.1471-0528.1988.TB06601.X.
- [7] K. H. Nicolaides, G. Azar, D. Byrne, C. Mansur, and K. Marks, “Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy.,” *Br Med J*, vol. 304, no. 6831, pp. 867–869, Apr. 1992, doi: 10.1136/BMJ.304.6831.867.
- [8] E. M. Wallace *et al.*, “Second trimester screening for Down’s syndrome using maternal serum dimeric inhibin A,” *Clin Endocrinol (Oxf)*, vol. 44, no. 1, pp. 17–21, Jan. 1996, doi: 10.1046/J.1365-2265.1996.544368.X.

- [9] Y. M. Dennis Lo *et al.*, “Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum,” *The Lancet*, vol. 350, no. 9076, pp. 485–487, Aug. 1997, doi: 10.1016/S0140-6736(97)02174-0.
- [10] M. Ehrich *et al.*, “Noninvasive detection of fetal trisomy 21 by sequencing of DNA in maternal blood: a study in a clinical setting,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 204, no. 3, pp. 205.e1-205.e11, Mar. 2011, doi: 10.1016/J.AJOG.2010.12.060.
- [11] G. E. Palomaki *et al.*, “DNA sequencing of maternal plasma to detect Down syndrome: An international clinical validation study,” *Genetics in Medicine*, vol. 13, no. 11, pp. 913–920, Nov. 2011, doi: 10.1097/GIM.0B013E3182368A0E.
- [12] D. Wellesley *et al.*, “Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe,” *European Journal of Human Genetics* 2012 20:5, vol. 20, no. 5, pp. 521–526, Jan. 2012, doi: 10.1038/ejhg.2011.246.
- [13] B. D. Rink and M. E. Norton, “Screening for fetal aneuploidy,” *Semin Perinatol*, vol. 40, no. 1, pp. 35–43, Feb. 2016, doi: 10.1053/J.SEMPERI.2015.11.006.
- [14] “Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy,” *Obstetrics and gynecology*, vol. 126, no. 3, pp. e31–e37, Sep. 2015, doi: 10.1097/AOG.0000000000001051.
- [15] “Committee opinion no. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy,” *Obstetrics and Gynecology*, vol. 120, no. 6, pp. 1532–1534, Dec. 2012, doi: 10.1097/01.AOG.0000423819.85283.F4.
- [16] L. J. Salomon, Z. Alfirevic, F. Audibert, K. O. Kagan, G. Yeo, and N. Rainen-Fenning, “ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 44, no. 1, pp. 122–123, Jul. 2014, doi: 10.1002/UOG.13393.
- [17] M. E. Norton *et al.*, “Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy,” *New England Journal of Medicine*, vol. 372, no. 17, pp. 1589–1597, Apr. 2015, doi: 10.1056/NEJMOA1407349/SUPPL\_FILE/NEJMOA1407349\_DISCLOSURES.PDF.

- [18] H. Zhang *et al.*, “Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 45, no. 5, pp. 530–538, May 2015, doi: 10.1002/UOG.14792.
- [19] J. M. M. Van Lith, B. H. W. Faas, and D. W. Bianchi, “Current controversies in prenatal diagnosis 1: NIPT for chromosome abnormalities should be offered to women with low a priori risk,” *Prenat Diagn*, vol. 35, no. 1, pp. 8–14, Jan. 2015, doi: 10.1002/PD.4530.
- [20] M. S. Quezada, M. M. Gil, C. Francisco, G. Oròsz, and K. H. Nicolaidis, “Screening for trisomies 21, 18 and 13 by cell-free DNA analysis of maternal blood at 10–11 weeks’ gestation and the combined test at 11–13 weeks,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 45, no. 1, pp. 36–41, Jan. 2015, doi: 10.1002/UOG.14664.
- [21] A. J. Sehnert *et al.*, “Optimal Detection of Fetal Chromosomal Abnormalities by Massively Parallel DNA Sequencing of Cell-Free Fetal DNA from Maternal Blood,” *Clin Chem*, vol. 57, no. 7, pp. 1042–1049, Jul. 2011, doi: 10.1373/CLINCHEM.2011.165910.
- [22] P. Diagnosis *et al.*, “Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Archives Medical Review Journal Prenatal (Doğum Öncesi) Tanı,” *Archives Medical Review Journal*, vol. 21, no. 1, pp. 80–94, 2012.
- [23] G. E. Palomaki, G. J. Knight, E. R. Ashwood, R. G. Best, and J. E. Haddow, “Screening for Down Syndrome in the United States: Results of Surveys in 2011 and 2012,” *Arch Pathol Lab Med*, vol. 137, no. 7, pp. 921–926, Jul. 2013, doi: 10.5858/ARPA.2012-0319-CP.
- [24] K. H. Nicolaidis, “Screening for chromosomal defects,” *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, vol. 21, no. 4, pp. 313–321, Apr. 2003, doi: 10.1002/UOG.128.
- [25] A. P. Souka, C. S. Von Kaisenberg, J. A. Hyett, J. D. Sonek, and K. H. Nicolaidis, “Increased nuchal translucency with normal karyotype,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 192, no. 4, pp. 1005–1021, Apr. 2005, doi: 10.1016/J.AJOG.2004.12.093.

- [26] F. B. ŞİRİN, “PRENATAL TARAMA TESTLERİ VE HÜCRE DEN BAĞIMSIZ FETAL DNA,” *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, vol. 27, no. 2, pp. 254–260, Dec. 2020, doi: 10.17343/SDUTFD.605545.
- [27] N. Wald, “Neural tube defects,” *Antenatal and Neonatal Screening*, Nov. 2000, doi: 10.1093/ACPROF:OSO/9780192628268.003.0003.
- [28] M. C. Arendrup, S. Park, S. Brown, M. Pfaller, and D. S. Perlin, “Evaluation of CLSI M44-A2 disk diffusion and associated breakpoint testing of caspofungin and micafungin using a well-characterized panel of wild-type and fks hot spot mutant *Candida* isolates,” *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 55, no. 5, pp. 1891–1895, May 2011, doi: 10.1128/AAC.01373-10/ASSET/AF4ECE6B-FB10-4C9D-B848-AC78EE142BE4/ASSETS/GRAPHIC/ZAC9991098570001.JPEG.
- [29] “ACOG Practice Bulletin No. 77: Screening for Fetal Chromosom... : Obstetrics & Gynecology.”  
[https://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2007/01000/ACOG\\_Practice\\_Bulletin\\_No\\_\\_77\\_\\_Screening\\_for\\_Fetal.54.aspx](https://journals.lww.com/greenjournal/Fulltext/2007/01000/ACOG_Practice_Bulletin_No__77__Screening_for_Fetal.54.aspx) (accessed Apr. 26, 2023).
- [30] K. H. Nicolaides, R. J. M. Snijders, S. Campbell, C. M. Gosden, and C. Berry, “Ultrasonographically detectable markers of fetal chromosomal abnormalities,” *The Lancet*, vol. 340, no. 8821, pp. 704–707, Sep. 1992, doi: 10.1016/0140-6736(92)92240-G.
- [31] M. Agathokleous, P. Chaveeva, L. C. Y. Poon, P. Kosinski, and K. H. Nicolaides, “Meta-analysis of second-trimester markers for trisomy 21,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 41, no. 3, pp. 247–261, Mar. 2013, doi: 10.1002/UOG.12364.
- [32] “Fetal cystic hygroma: prenatal diagnosis and management - PubMed.”  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3292980/> (accessed Apr. 28, 2023).
- [33] L. D. (section editors), (Barss V. (deputy editor). ne, M. Benacerraf BR (author); Wilkins-Haug L, “Sonographic findings associated with fetal aneuploidy,” *UpToDate Waltham, MA. Topic 2019*, pp. 447:1–19, 2019.
- [34] S. Cicero, G. Rembouskos, H. Vandecruys, M. Hogg, and K. H. Nicolaides, “Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11–14-

- week scan,” *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, vol. 23, no. 3, pp. 218–223, Mar. 2004, doi: 10.1002/UOG.992.
- [35] D. A. Nyberg *et al.*, “Fetal hyperechogenic bowel and Down’s syndrome,” *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, vol. 3, no. 5, pp. 330–333, Sep. 1993, doi: 10.1046/J.1469-0705.1993.03050330.X.
- [36] D. A. Nyberg, T. Dubinsky, R. G. Resta, B. S. Mahony, D. E. Hickok, and D. A. Luthy, “Echogenic fetal bowel during the second trimester: clinical importance,” <https://doi.org/10.1148/radiology.188.2.8327709>, vol. 188, no. 2, pp. 527–531, Aug. 1993, doi: 10.1148/RADIOLOGY.188.2.8327709.
- [37] B. R. Benacerraf, “The history of the second-trimester sonographic markers for detecting fetal Down syndrome, and their current role in obstetric practice,” *Prenat Diagn*, vol. 30, no. 7, pp. 644–652, Jul. 2010, doi: 10.1002/PD.2531.
- [38] A. E. Havuteu, G. Nikolopoulos, P. Adinkra, and R. F. Lamont, “The association between fetal pyelectasis on second trimester ultrasound scan and aneuploidy among 25 586 low risk unselected women,” *Prenat Diagn*, vol. 22, no. 13, pp. 1201–1206, Dec. 2002, doi: 10.1002/PD.490.
- [39] T. Dagklis, W. Plasencia, N. Maiz, L. Duarte, and K. H. Nicolaides, “Choroid plexus cyst, intracardiac echogenic focus, hyperechogenic bowel and hydronephrosis in screening for trisomy 21 at 11 + 0 to 13 + 6 weeks,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 31, no. 2, pp. 132–135, Feb. 2008, doi: 10.1002/UOG.5224.
- [40] B. D. Sohl, A. L. Scioscia, N. E. Budorick, and T. R. Moore, “Utility of minor ultrasonographic markers in the prediction of abnormal fetal karyotype at a prenatal diagnostic center,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 181, no. 4, pp. 898–903, Oct. 1999, doi: 10.1016/S0002-9378(99)70322-4.
- [41] B. R. Benacerraf, D. Neuberger, B. Bromley, and F. D. Frigoletto, “Sonographic scoring index for prenatal detection of chromosomal abnormalities,” *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 11, no. 9, pp. 449–458, Sep. 1992, doi: 10.7863/JUM.1992.11.9.449.

- [42] P. Jeanty, F. Rodesch, D. Delbeke, and J. E. Dumont, “Estimation of gestational age from measurements of fetal long bones.,” *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 3, no. 2, pp. 75–79, Feb. 1984, doi: 10.7863/JUM.1984.3.2.75.
- [43] “Perinatal Dergi / Makale.” <https://www.perinataldergi.com/Archive/Article/20110192001> (accessed May 03, 2023).
- [44] “Sonographic findings associated with fetal aneuploidy - UpToDate.” <https://www.uptodate.com/contents/sonographic-findings-associated-with-fetal-aneuploidy> (accessed May 03, 2023).
- [45] B. R. Benacerraf, B. Harlow, and F. D. Frigoletto, “Are choroid plexus cysts an indication for second-trimester amniocentesis ?,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 162, no. 4, pp. 1001–1006, Apr. 1990, doi: 10.1016/0002-9378(90)91304-U.
- [46] L. Hurt *et al.*, “Prevalence of defined ultrasound findings of unknown significance at the second trimester fetal anomaly scan and their association with adverse pregnancy outcomes: the Welsh study of mothers and babies population- based cohort,” *Prenat Diagn*, vol. 36, no. 1, p. 40, Jan. 2016, doi: 10.1002/PD.4708.
- [47] R. Bronsteen, W. Lee, I. M. Vettrano, R. Huang, and C. H. Comstock, “Second-Trimester Sonography and Trisomy 18,” *Journal of Ultrasound in Medicine*, vol. 23, no. 2, pp. 241–245, Feb. 2004, doi: 10.7863/JUM.2004.23.2.241.
- [48] R. O. Bahado-Singh, U. A. Oz, I. Mendilcioglu, and M. J. Mahoney, “The Mid-Trimester Genetic Sonogram,” *Semin Perinatol*, vol. 29, no. 4, pp. 209–214, Aug. 2005, doi: 10.1053/J.SEMPERI.2005.06.005.
- [49] C. Y. Chou, F. S. Peng, F. K. Lee, and M. S. Tsai, “The Mid-trimester Genetic Ultrasound: Past, Present and Future,” *J Med Ultrasound*, vol. 17, no. 3, pp. 143–156, 2009, doi: 10.1016/S0929-6441(09)60121-1.
- [50] L. J. B. S. S. C. D. S. Cunningham FG, *Williams Obstetrik. Ed: Yıldırım G.*, 24. Baskı. 2016.
- [51] D. W. Bianchi, “Circulating Fetal DNA: Its Origin and Diagnostic Potential—A Review,” *Placenta*, vol. 25, no. SUPPL. A, pp. S93–S101, Apr. 2004, doi: 10.1016/J.PLACENTA.2004.01.005.

- [52] H. Masuzaki, K. Miura, K. I. Yoshiura, S. Yoshimura, N. Niikawa, and T. Ishimaru, "Detection of cell free placental DNA in maternal plasma: direct evidence from three cases of confined placental mosaicism," *J Med Genet*, vol. 41, no. 4, pp. 289–292, 2004, doi: 10.1136/JMG.2003.015784.
- [53] M. C. Cheung, J. D. Goldberg, and Y. W. Kan, "Prenatal diagnosis of sickle cell anaemia and thalassaemia by analysis of fetal cells in maternal blood," *Nature Genetics* 1996 14:3, vol. 14, no. 3, pp. 264–268, 1996, doi: 10.1038/ng1196-264.
- [54] J. L. Maron and D. W. Bianchi, "Prenatal diagnosis using cell-free nucleic acids in maternal body fluids: A decade of progress," *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, vol. 145C, no. 1, pp. 5–17, Feb. 2007, doi: 10.1002/AJMG.C.30115.
- [55] S. S. C. Chim *et al.*, "Detection of the placental epigenetic signature of the maspin gene in maternal plasma," *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 102, no. 41, pp. 14753–14758, Oct. 2005, doi: 10.1073/PNAS.0503335102.
- [56] J. Guibert, A. Benachi, A. G. Grebille, P. Ernault, J. R. Zorn, and J. M. Costa, "Kinetics of SRY gene appearance in maternal serum: detection by real time PCR in early pregnancy after assisted reproductive technique," *Human Reproduction*, vol. 18, no. 8, pp. 1733–1736, Aug. 2003, doi: 10.1093/HUMREP/DEG320.
- [57] E. Wang, A. Batey, C. Struble, T. Musci, K. Song, and A. Oliphant, "Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma," *Prenat Diagn*, vol. 33, no. 7, pp. 662–666, Jul. 2013, doi: 10.1002/PD.4119.
- [58] R. W. K. Chiu *et al.*, "Non-invasive prenatal assessment of trisomy 21 by multiplexed maternal plasma DNA sequencing: large scale validity study," *BMJ*, vol. 342, no. 7790, p. 217, Jan. 2011, doi: 10.1136/BMJ.C7401.
- [59] A. O. H. Nygren *et al.*, "Quantification of Fetal DNA by Use of Methylation-Based DNA Discrimination," *Clin Chem*, vol. 56, no. 10, pp. 1627–1635, Oct. 2010, doi: 10.1373/CLINCHEM.2010.146290.
- [60] J. A. Canick, G. E. Palomaki, E. M. Kloza, G. M. Lambert-Messerlian, and J. E. Haddow, "The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies," *Prenat Diagn*, vol. 33, no. 7, pp. 667–674, Jul. 2013, doi: 10.1002/PD.4126.

- [61] F. SÖYLEMEZ and D. C. KATLAN, “Prenatal Taramada Serbest Fetal DNA,” *Türkiye Klinikleri Sağlık Bilimleri Dergisi*, vol. 2, no. 3, pp. 165–173, 2017, doi: 10.5336/HEALTHSCI.2016-51564.
- [62] K. H. Nicolaides, A. Syngelaki, M. D. M. Gil, M. S. Quezada, and Y. Zinevich, “Prenatal detection of fetal triploidy from cell-free DNA testing in maternal blood,” *Fetal Diagn Ther*, vol. 35, no. 3, pp. 212–217, Nov. 2014, doi: 10.1159/000355655.
- [63] G. E. Palomaki *et al.*, “Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative?,” *Prenat Diagn*, vol. 35, no. 3, pp. 289–293, Mar. 2015, doi: 10.1002/PD.4541.
- [64] T. R. Everett and L. S. Chitty, “Cell-free fetal DNA: the new tool in fetal medicine,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 45, no. 5, pp. 499–507, May 2015, doi: 10.1002/UOG.14746.
- [65] M. G. H. J. (authors), W.-H. L. (section editor), B. V. (deputy editor). Palomaki GE, “Prenatal screening for down syndrome using cell-free DNA,” vol. 1, no. 19, p. 458, 2016.
- [66] G. E. Palomaki *et al.*, “Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative?,” *Prenat Diagn*, vol. 35, no. 3, pp. 289–293, Mar. 2015, doi: 10.1002/PD.4541.
- [67] M. M. Gil, R. Revello, L. C. Poon, R. Akolekar, and K. H. Nicolaides, “Clinical implementation of routine screening for fetal trisomies in the UK NHS: cell-free DNA test contingent on results from first-trimester combined test,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 47, no. 1, pp. 45–52, Jan. 2016, doi: 10.1002/UOG.15783.
- [68] “Down syndrome: Overview of prenatal screening - UpToDate.” <https://www.uptodate.com/contents/down-syndrome-overview-of-prenatal-screening> (accessed Jun. 01, 2023).
- [69] A. S. S. T. Pehlivan S, “Dolaşımdaki Serbest DNA ve Önemi,” vol. 16, no. 2, pp. 75–80, 2010.

- [70] Y. Beyazıt Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Bölümü, “Prenatal tanı yöntemi olarak fetal anöploidi taramasında serbest fetal DNA (cffDNA) kullanımı ve güncel yaklaşımlar,” *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, vol. 6, no. 4, pp. 414–417, 2015, doi: 10.5799/ahinjs.01.2015.04.0560.
- [71] Z. Ocak, T. Özlü, H. F. Yazicioğlu, O. Özyurt, and M. Aygün, “Clinical and cytogenetic results of a large series of amniocentesis cases from Turkey: Report of 6124 cases,” *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, vol. 40, no. 1, pp. 139–146, Jan. 2014, doi: 10.1111/JOG.12144.
- [72] A. M. Vintzileos and J. F. X. Egan, “Adjusting the risk for trisomy 21 on the basis of second-trimester ultrasonography,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 172, no. 3, pp. 837–844, Mar. 1995, doi: 10.1016/0002-9378(95)90008-X.
- [73] “Genetics, Williams Obstetrics ,” vol. 24.th, pp. 261–270.
- [74] S. KORKUT, Ş. ÖZEL, Ş. Ş. ÖZYER, C. TAYMAN, E. Ş. ÇAKAR, and Y. E. ÜSTÜN, “Down Sendromunda İzlem, Prenatal İzleminde Karşılaşılan Zorluklar,” *Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi*, vol. 15, no. 2, pp. 90–93, Apr. 2018, Accessed: Jun. 05, 2023. [Online]. Available: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/jgon/issue/51874/675324>
- [75] C. Vendola *et al.*, “Survival of Texas infants born with trisomies 21, 18, and 13,” *Am J Med Genet A*, vol. 152A, no. 2, pp. 360–366, Feb. 2010, doi: 10.1002/AJMG.A.33156.
- [76] R. F. M. Rosa *et al.*, “Trisomy 18: Experience of a reference hospital from the south of Brazil,” *Am J Med Genet A*, vol. 155, no. 7, pp. 1529–1535, Jul. 2011, doi: 10.1002/AJMG.A.34088.
- [77] H. Dolk, M. Loane, and E. Garne, “The prevalence of congenital anomalies in Europe,” *Adv Exp Med Biol*, vol. 686, pp. 349–364, 2010, doi: 10.1007/978-90-481-9485-8\_20/COVER.
- [78] M. Aksu and O. Erbaş, “Patau sendromu (Trizomi 13): Olgu sunumu,” *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi*, vol. 2, no. 1, pp. 56–59, Mar. 2016, doi: 10.5606/FNG.BTD.2016.012.

- [79] M. Geyik, M. Tekin, T. Koç, G. Özel, and Y. S. Yazar, “Nadir Görülen Bir Olgu: Patau Sendromu,” *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, vol. 4, no. 0, pp. 3–7, Jul. 2018, doi: 10.30569/ADYAMANSAGLIK.408448.
- [80] J. F. TUOHY and D. K. JAMES, “Pre-eclampsia and trisomy 13,” *Br J Obstet Gynaecol*, vol. 99, no. 11, pp. 891–894, 1992, doi: 10.1111/J.1471-0528.1992.TB14436.X.
- [81] “TMFTP DERNEĞİ, FETAL TIP-PRENATAL TANI KONGRESİ,” 2018.
- [82] M. Y. KARAOĞUZ, “İnvaziv Prenatal Testler ile Fetal Karyotipleme; Ne Zaman, Kimlere ve Hangi Yöntemle?,” *Türkiye Klinikleri Medical Genetics - Special Topics*, vol. 3, no. 1, pp. 44–47, 2018, Accessed: Jun. 14, 2023. [Online]. Available: <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-invaziv-prenatal-testler-ile-fetal-karyotipleme-ne-zaman-kimlere-ve-hangi-yontemle-81161.html>
- [83] A. KOÇ, T. YÜCE, and E. KALAFAT, “Fetal Tanısal İnvaziv Girişimler, Endikasyonları, Tekniği ve Riskleri,” *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik - Özel Konular*, vol. 10, no. 1, pp. 42–48, 2017, Accessed: Jun. 15, 2023. [Online]. Available: <https://www.turkiyeklinikleri.com/article/tr-fetal-tanisanal-invaziv-girisimler-endikasyonlari-teknigi-ve-riskleri-77668.html>
- [84] “Invasive prenatal testing for aneuploidy,” *Obstetrics and Gynecology*, vol. 110, no. 6, pp. 1459–1467, Dec. 2007, doi: 10.1097/01.AOG.0000291570.63450.44.
- [85] A. Ghidini, W. Sepulveda, C. J. Lockwood, and R. Romero, “Complications of fetal blood sampling,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 168, no. 5, pp. 1339–1344, May 1993, doi: 10.1016/S0002-9378(11)90761-3.
- [86] H. M *et al.*, “Increased death of adipose cells, a path to release cell-free DNA into systemic circulation of obese women,” *Obesity (Silver Spring)*, vol. 20, no. 11, 2012, doi: 10.1038/OBY.2012.138.
- [87] R. Shree, H. J. MacKinnon, J. Hannan, T. R. Kolarova, J. Reichel, and C. M. Lockwood, “Anticoagulation use is associated with lower fetal fraction and more indeterminate results,” *Am J Obstet Gynecol*, vol. 0, no. 0, 2023, doi: 10.1016/j.ajog.2023.07.005.

- [88] C. Deng and S. Liu, “Factors Affecting the Fetal Fraction in Noninvasive Prenatal Screening: A Review,” *Front Pediatr*, vol. 10, p. 812781, Jan. 2022, doi: 10.3389/FPED.2022.812781/BIBTEX.
- [89] C. B. Miltoft *et al.*, “Contingent first-trimester screening for aneuploidies with cell-free DNA in a Danish clinical setting,” *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, vol. 51, no. 4, pp. 470–479, Apr. 2018, doi: 10.1002/UOG.17562.



## 7. ÖZGEÇMİŞ

