

Güncel Prenatal Tarama Testi: Hücreden Serbest Fetal DNA Analizi

Elif DOĞAN¹, Hüsnüye DİNÇ KAYA²

Current Prenatal Screening Test: Cell Free Fetal DNA Analysis

¹ İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Ebelik ABD, Ebe, Yüksek Lisans Öğrencisi

² İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü Dr. Öğr. Üyesi

ÖZ

Prenatal tarama testlerinin kullanımı 1970'li yıllarda maternal yaşın değerlendirilmesiyle başlamış; bu serüven maternal yaş, fetal ense kalınlığı ve maternal serum markerlerinin kombinasyonlu kullanımıyla devam etmiştir. Aradan geçen 50 yılın ardından prenatal tarama testlerinin geldiği son nokta ise maternal kanda hücreden serbest DNA (cfDNA)'nın analizi olmuştur. Günümüzde hala geleneksel tarama testleri rutin olarak uygulanmasına rağmen cfDNA analizi özellikle yaygın anöploidilerin saptanmasında yüksek başarı göstermekte, hatta trizomi 21 için en güvenilir test olarak değerlendirilmektedir. Yine de bu başarısını genel popülasyonda ve tüm anomalilerin taranmasında koruyamaması cfDNA'yı rutin tarama olarak kullanım dışı bırakmaktadır. cfDNA sonucunu etkileyen faktörlerin varlığı ve düşük dahi olsa yalancı pozitiflik değerinin bulunması cfDNA'nın pozitif sonuç durumlarında invaziv testlerle onaylanmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle hala hangi popülasyonda uygulanabileceği tartışması güncelliğini korumaktadır. Bu derlemenin amacı; cfDNA ile ilgili güncel literatür bilgisini paylaşmaktır.

Anahtar Kelimeler: Anöploidi, cfDNA, Hücreden serbest DNA, non invaziv prenatal test,

ABSTRACT

The use of prenatal screening tests started with the evaluation of maternal age in the 1970s and this adventure continues with the use of maternal age, fetal nuchal translucency and maternal serum markers. After 50 years, the last point that prenatal screening tests came to has the analysis of cell free DNA (cfDNA) in maternal blood. Although traditional screening tests are still routinely applied today; cfDNA analysis shows high success, especially in detecting common aneuploidies, and is even considered the most reliable test for trisomy 21. Nevertheless, cfDNA out of use as routine screening because of failure to preserve this success in general population and inability to scan all anomalies. The presence of factors affecting the cfDNA result and the rate of false positivity value, even if low, requires cfDNA to be confirmed by invasive tests in cases of positive results. Therefore, the discussion on which population it can be applied is still up to date. The purpose of this review is to share the current literature about cfDNA.

Key Words: Aneuploidy, Cell free DNA, cfDNA, non invasive prenatal testing,

Sorumlu Yazar: Dr. Öğrt. Üyesi Hüsnüye DİNÇ KAYA e-mail: husniyedinc@hotmail.com

ORCID: 0000-0002-8461-643X

Elif DOĞAN e-mail: elifdogann18@gmail.com ORCID: 0000-0003-3374-1764

Geliş tarihi: 19.01.2021

Kabul tarihi: 04.03.2021

EXTENDED ABSTRACT

The use of prenatal screening tests started in the 1970s with the evaluation of maternal age. And this adventure continued with the combination of maternal age, fetal nuchal translucency and maternal serum markers. After 50 years, the last point that prenatal screening tests came to has the analysis of cell-free DNA (cfDNA) in maternal blood.

The main purpose of cfDNA analysis is to detect fetal anomalies by examining fetal DNA fragments in maternal blood. It is the newest and most effective screening test especially for trisomy 21, and most laboratories report a sensitivity of 99% and false positivity of <0.1-1% in high-risk groups. Except for trisomy 21, it can also be used in detecting trisomy 13 and 18, sex chromosome aneuploidies. And even be used in the early diagnosis of diseases such as fragile X by sex determination in early gestational weeks and early fetal Rh determination in the maternal Rh (-) blood group.

However, fetal DNA fragments must reach a certain level in the maternal serum in order to perform the analysis. Therefore, cfDNA analysis is performed if the fetal fraction is at least 4%. Considering that the fetal fraction peaked around the 20th gestational week, the success of the analysis performed in these weeks increases. Again, eliminating the factors that will adversely affect cfDNA increases the accuracy of the analysis result. According to the literature, the main factors that can negatively affect cfDNA analysis are: Placental mosaicism, vanished twin, triploidy, fetal chromosomal translocation, maternal obesity, maternal aneuploidy (47, XXX), maternal mosaicism, certain maternal neoplasms, previous organ transplantation and using anticoagulant.

There are many studies in which cfDNA level is associated with preterm labor, intrauterine growth restriction, gestational diabetes, preeclampsia and placental dysfunction. However, it is still controversial whether the fetal fraction is low or high in these pregnancy complications. Therefore, it is not yet safe to use in detecting pregnancy complications.

Scientific organisations that known worldwide such as RCOG (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists) , ISUOG (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology), ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists), ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics), SMFM (The Society for Maternal-Fetal Medicine) and NSGC (National Society of Genetic Counselors) have decided to use cfDNA analysis only for the detection of common aneuploidies for pregnancies with increased

aneuploidy risk. The definition of increased risk is as follows: maternal age above 35, increased risk of aneuploidy on ultrasonography, positive first or second trimester screening test, trisomy 21 in previous pregnancies, increased risk of trisomy 21 and 13 due to Robertsonian translocation. They also report that it will be safe to use in pregnancies with a fetal chromosomal risk ratio between 1:100 - 1:1000. In summary, not only low-risk pregnancies, but also very high-risk pregnancies should be directed to a different screening or diagnostic test appropriate to the risk situation. Since multiple pregnancies complicate the examination of cfDNA, performing cfDNA analysis in these pregnant women is still a controversial issue.

The presence of factors affecting the cfDNA result and the false positivity value, even if it is low, requires cfDNA to be confirmed by invasive tests in cases of positive results. For this reason, the discussion on which population it can be applied is still up-to-date. Therefore, the invasive test to be performed is selected according to the gestational age: Patients with positive results in the first trimester are directed to amniocentesis especially against possible placental mosaicism. Patients in the second trimester should be directed to Chorionic Villus Sampling (CVS) test. As a result, an invasive test makes a more comprehensive genetic evaluation compared to cfDNA, as it provides a diagnosis rather than a prediction.

In summary, women's health nurses and midwives should discuss with patients about the factors that may affect the test result and should give inform to patient about test advantages/disadvantages. Patients with a positive test result should be directed to an invasive test to confirm the result. In this direction, within the scope of counseling roles of women's health nurses and midwives; Providing accurate and reliable information to parents will prevent existing anxiety and confusion.

The purpose of this review is to share the current literature about cfDNA.

GİRİŞ

Mevcut pek çok seçenek bulunmasına karşın geçmişten günümüze uzun bir süreçten geçen prenatal taramaya 1970'li yıllarda tek marker olarak maternal yaştan değerlendirilmesiyle başlamıştır. Yine transabdominal amniyosentezin kullanımının neredeyse 150 yıllık bir geçmişi olmasına rağmen, ancak 1970'li yıllarda yüksek riskli gebeliklerde genetik tanılama için yaygınlaşmaya başlamıştır. Benzer şekilde koryonik villüs örnekleme (CVS) yöntemi de 1968 yılında hayatımıza girmiş; 1980'li yıllarda CVS'nin ultrasonografi rehberliğinde gerçekleştirilmeye başlanmasıyla güvenilirliği arttığı için rutin prenatal tanı olarak kullanımı genel kabul görmüştür. Ancak invaziv testlerin abortus riskini arttırdığı tartışması daha güvenli tarama testi arayışını tetiklemekteydi. Böylece yine 1980'li yıllarda ikinci trimesterde anöploid taraması için maternal serum ve detaylı ultrasonografik değerlendirme kullanıma girmiştir. Aradan geçen 10 yılın ardından, fetal ense kalınlığı, maternal yaş ve maternal serumdaki biyokimyasal markerların kombinasyonu ile önemli anöploidilerin erken dönemlerde saptanabilmesiyle odak noktası birinci trimestere kaymıştır. Prenatal testin gelişim sürecindeki bir sonraki aşama ise hücreden serbest DNA (cfDNA)'nın fetal fragmanlarının maternal kandaki keşfi ile olmuş ve bu keşifte noninvaziv prenatal test (NIPT)'in kapıları aralanmıştır (Nicolaidis 2011; Renga 2018; Pös, Budiş ve Szemes 2019).

Bu derlemenin amacı; cfDNA'nın tarihçesi, prenatal tarama testi olarak kullanımındaki avantajları ve dezavantajları, çeşitli bilimsel örgütlerce yayımlanan hangi sınırlar içerisinde kullanılması gerektiğiyle ilgili verilen tavsiyeler hakkında güncel literatür bilgisini paylaşmaktır.

1. cfDNA Analizinin Gelişim Süreci

1959 yılındaki maternal plazmada bulunan bütünlüğü bozulmamış fetal DNA'nın keşfinden kısa bir süre sonra bu keşfin prenatal tanılamada kullanılabileceği fikri öne sürülmüştür (Pös ve ark., 2019). Ancak buradaki ana sorun bütünlüğü bozulmamış fetal DNA'nın maternal plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunmasıydı. 1997'de bu soruna çözüm bulunmuş; diğer bir DNA kaynağı olan cfDNA'nın fetal fragmanlarının da maternal kanda bulunduğu keşfedilmişti. Lo ve ark., bu başarıyı Y kromozomunu marker olarak kullanarak geleneksel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği ile elde etmişlerdi. 2011 ve 2012 yıllarında ise maternal plazmadaki cfDNA analizi klinik uygulamaya girerek bu tarihten sonra özellikle

trizomi 21 için düşük yalancı pozitiflik başarısı sayesinde kullanımını ciddi şekilde artmıştır (Gil, Accurti, Santacruz, Plana ve Nicolaidis 2017; Lo ve ark., 1997; Wilson ve ark., 2013).

2. Gebelikte cfDNA Mekanizması

Hücreler ölüp apoptoza maruz kaldığında DNA dâhil tüm hücre içi materyal dolaşım sistemine katılır ve nihayetinde parçalanarak vücutta geri dönüştürülür. Dolaşımdaki DNA fragmanları cfDNA olarak adlandırılır. Plazma cfDNA, büyük çoğunluğu kök hücrelerinden olmak üzere solid organlardan orijin alır ve cfDNA'nın genomik profili kişisel karyotipi yansıtır. Gebelikte fetal cfDNA'nın maternal plazmada da bulunması sayesinde maternal plazma aracılığıyla fetal kromozomal ve genetik anomaliler saptanabilmektedir. Esasen maternal serumdaki cfDNA plasental hücrelerden salınan cfDNA'yı içerir ve fetüse ait değildir. Plasental ve fetal hücreler fertilizasyondan 5 gün sonra farklılaşır ve kromozomal açıdan birbirinin kopyası değildir. Plazenta anöploidiyi fetüsten daha çok tolere edebildiği için anöploidili fetüste artmış spontan abortus riski varken, anöploidili plasenta üçüncü trimestera kadar yaşayabilir. Bu fenomen plasental mozaizm olarak adlandırılır (Cheng, Davis ve Sharma 2018; Goldwasser ve Klugman 2018; Renga 2018; Sieroszewski 2017). Plasental mozaizm yüksek riskli gebeliklerin %4-5'inde görülür ve plasental orijinli DNA fragmanlarına bağlı anöploidi, fetal anöploidinin saptanmasını komplike hale getirebilir (Goldwasser ve Klugman 2018; Lund ve ark., 2020; Vogel ve ark., 2020).

3. cfDNA'nın Antenatal Test Olarak Kullanımı

Maternal dolaşımdaki fetal cfDNA'nın maternal cfDNA'ya oranı fetal fraksiyon olarak adlandırılır ve analiz yapılabilmesi için bu oranın %4'ten yüksek olması gerekmektedir. Fetal fraksiyonun ilerleyen yaşla kademeli olarak artarak özellikle 20. gestasyonel hafta civarında pik değere ulaşması, bu haftalarda yapılan cfDNA analizinin verimliliğini artırır (Revello, Sarno, Ispas, Akolekar ve Nicolaidis 2016; Zhao, HuoJiaBieKe ve Du 2019; Wang ve ark., 2013).

Fetal DNA fragmanları maternal DNA fragmanlarından daha kısadır ve bu boy farkı sayesinde fetal DNA'nın tespiti sağlanır (Zhao ve ark. 2019). cfDNA testi genellikle 10. gestasyonel haftadan sonra olmak üzere istenilen her haftada yapılmaktadır. Maternal kan

örneklemeyle yapılan bu testin sonuçları genelde 7-14 gün içinde açıklanır (Goldwaser ve Klugman 2018; Palka ve ark., 2019)

4. Numune Hazırlığı ve Analizi

Genel olarak izlenen yol şu şekildedir: Maternal periferik kan 5 cc EDTA tüpe alınarak 4°C'de muhafaza edilir. Alınan kan 4 saat içinde işlenmelidir. Çift santrifüjle 10'ar dakika işleme girdikten sonra yeni tüpe alınarak -80°C'de muhafaza edilir. Çözündükten sonra çeşitli kitlerle açığa çıkarılan DNA yeniden -80°C'de muhafaza edilir ve DNA dizi analizi yöntemleriyle işlenir (Jain, Balatsky, Revina ve Samokhodskaya 2019)

Ancak cfDNA'nın işlenmesinde standart bir protokol yoktur. Sıklıkla periferik kan örneklemeyle yapılmasına rağmen bir pilot çalışma kapiller kan örneklemesinin başarısından bahsetmektedir. Çalışmada kapiller kan örnekleme parmak ucundan 2 cc kanın alınmasıyla yapılmak suretiyle daha kolay ve acısız bulunmuştur (Jain ve ark., 2019; Kazachkova, Gontar, Verlinsky, ve Ilyin 2019).

5. cfDNA Analizinin Kullanım Alanı ve Etkinliği

cfDNA analizi trizomi 21 için yapılan en yeni tarama testidir ve çoğu laboratuvar yüksek riskli gruplarda %99 oranında sensitivite ve <%0,1-1 yalancı pozitiflik bildirmektedir. Trizomi 21 dışında trizomi 18 ve 13, seks kromozom anöploidilerinin saptanmasında da biraz daha düşük sensitivite (sırasıyla 99,0, 98,2, 95,8) ile kullanılabilir (Cotarelo-Pérez ve ark., 2019; Gil, Quezada, Revello, Akolekar, ve Nicolaidis 2015; Kazachkova ve ark., 2019; Li ve ark., 2015). cfDNA sadece anöploidi taramasında değil; Rh(-) kan gruplu annede fetal Rh tayini ve erken gestasyonel haftalarda cinsiyet tayini ile X kromozomundan kaynaklanan fragil X gibi hastalıkların saptanması amacıyla da kullanılabilir. Gelecekte, cfDNA'nın diğer tek gen mutasyon hastalıklarının (fetal β -talasemi ve fetal akondroplazi gibi) tespitinde de kullanılabileceği konusunda umut vaat etmektedir (Goldwaser, T., & Klugman; Ren ve ark., 2018; Yang ve ark., 2019).

Aynı zamanda cfDNA seviyesinin gebelik komplikasyonlarıyla [preterm eylem (Herrera ve ark., 2017), intrauterin gelişme geriliği (Rolnik, da Silva Costa, Lee, Schmid ve McLennan 2018), gestasyonel diyabet (Thurik ve ark. 2016), preeklampsi (Contro, Bernabini, ve Farina 2017; Rolnik ve ark., 2018; Suzumori ve ark., 2018; Yuan ve ark., 2020) ve plasental disfonksiyon (Gerson ve ark., 2019; Norton ve ark., 2015)] ilişkili olduğuna dair pek çok

araştırma da rapor edilmiştir. Ancak bu gebelik komplikasyonlarında fetal fraksiyonun düşük mü yoksa yüksek mi olduğu konusu tartışmalıdır. Örneğin kimi araştırmacı preeklampside fetal fraksiyonun normalden yüksek olduğunu savunurken, preeklampsinin düşük fetal fraksiyonla ilişkili olduğunu savunanlar da mevcuttur. Bu nedenle gebelik komplikasyonlarının saptanmasında kullanılması zor olabilmekle birlikte tek başına belirleyici faktör olarak kullanılması şimdilik güvenilir değildir (Cheng ve ark., 2018).

6. Analiz Sonucunu Etkileyen Faktörler

cfDNA'nın düşük riskli popülasyonda uygulanması ise hala tartışmalıdır. 2014 yılında yayımlanan bir çalışmada trizomi 21 ve 18 için genel popülasyonda uygulanması geleneksel yöntemlerden daha yüksek doğruluk oranı bildirilirken (Bianchi ve ark., 2014), diğer çalışmalara göre düşük riskli gruplarda yaygın anöploidilerin saptanması birinci trimester tarama testi ile %75-95 (Manotaya ve ark., 2016; Nicolaides 2011); cfDNA ile %45,4-94,4 oranındadır (Cotarelo-Pérez ve ark., 2019). Ayrıca cfDNA'nın yüksek başarısı yaygın anöploidilere özgü olduğu için genel popülasyonda tüm anomalilerin taranmasında saptama oranı geleneksel tarama testlerine göre daha azdır. Bu nedenle daha fazla çalışma ve geliştirme yapılmadan tüm kromozomal anomalilerin saptanması için cfDNA primer tarama testi olarak kullanıma uygun değildir (Bianchi ve ark., 2014; Norton ve ark., 2015). Test hata oranı ise laboratuvaradan laboratuvara değişmekle birlikte yüksek riskli gebeliklerde %3 civarındadır ve artmış anöploidi riskli ile ilişkilidir (Gil ve ark., 2015; Palomaki ve ark., 2015).

Yalancı pozitiflik nedenleri arasında plasental mozaizm, kaybolan ikiz, triploidi, fetal kromozomal translokasyon, maternal anöploidi (47, XXX), maternal mozaizm, maternal neoplazm, geçirilmiş organ transplantasyonu ve antikoagülan kullanımı bulunmaktadır (Burns ve ark., 2017; Curnow ve ark., 2015; Goldwasser ve Klugman 2018; Palomaki ve ark., 2015; Revello ve ark., 2016; Tian ve ark., 2018). İlk kez 2013 yılında maternal neoplazm ve NIPT performansı arasında güçlü korelasyon rapor edilmesine rağmen (Osborne ve ark., 2014) tüm neoplastik sebepler anormal sonuca neden olmamaktadır. Örneğin Bianchi ve ark., yaptıkları çalışmada 10 maternal neoplazi türünün cfDNA analizini etkilediğini bildirmiştir (Bianchi ve ark., 2015). Uterin leiomyoma gibi benign tümörlerin de anormal sonuca neden olabileceğini gösteren çalışmalar mevcut olmasına rağmen (Hui 2016; Osborne ve ark., 2014) bununla ilgili daha çok çalışma sonucu ve kanıtı ihtiyaç duyulmaktadır.

Yine yeterli fetal fraksiyon da cfDNA ile anöplidilerin saptanması için gereklidir ve cfDNA testinde raporlanamayan sonuçların en büyük nedeni düşük fetal fraksiyondur (Benn, Valenti, Shah, Martin ve Demko 2018; Qiao ve ark., 2019). Erken gestasyonel haftalar ve yüksek maternal beden kitle indeksi (BKI) testin hata vermesiyle yakın ilişkilidir. Gestasyonel yaş ve düşük fetal fraksiyon ilişkisi, erken haftalarda plasental volümün az olmasıyla açıklanmaktadır. Yüksek maternal BKI'nin fetal fraksiyonu azaltması hakkında ise çeşitli görüşler mevcuttur. Yaygın kabul gören görüşe göre maternal obezitede meydana gelen hücre metabolizmasındaki artış, maternal cfDNA seviyesini iki kat arttırırken; plasental hücre metabolizmasında hızlanmanın olmaması fetal cfDNA seviyesinin sabit kalmasına neden olarak fetal fraksiyonu azaltır. Bazı çalışmalara göre ise maternal obezitede adipoz dokudaki artmış apoptoz ve nekroz fetal fraksiyonda azalmaya neden olmaktadır (Hartwig ve ark., 2018; Zhao ve ark., 2019).

Fetal fraksiyonu aynı zamanda cinsiyet durumu da etkileyebilir; bunun altında yatan temel sebep olarak ise X kromozomunun Y kromozomundan 3 kat uzun olması düşünülmektedir. Bu düşünceye paralel olarak Qiongzhen ve ark., dişi fetüslerde fetal fraksiyonu daha yüksek bulmuştur. Yine cinsiyet tayini için cfDNA'da *testis belirleyici faktör* olarak da bilinen SRY geninin marker olarak kullanıldığı bir çalışmada, cinsiyet tayini yapılamayanlar 5-6. gestasyonel haftalık gebeler olmuştur ve düşük fraksiyon ile ilişkilendirilmiştir. SRY geninin etkisinin 6. haftadan sonra artması, fetal fraksiyonun artışını da etkilemektedir (Wang ve ark., 2013). Bu nedenle test sonucunun doğruluğundan emin olmak için fetal fraksiyonu etkileyen faktörlerin göz önünde bulundurulması oldukça önemlidir (Zhao ve ark., 2019).

Düşük fetal fraksiyon aynı zamanda artmış triploidi, trizomi 21, 18 ve 13 riski ile de ilişkilidir. Triploidi (%31) en sık nedenidir ve bunu trizomi 21 takip eder (Gregg ve ark., 2016; McKanna ve ark., 2019; Norton ve ark., 2015; Uquillas, Chan, King, Randolph ve Incerpi 2017). Yine fetal fraksiyonun cfDNA örneğinin transportundan da etkilenebildiği raporlanmıştır (Suzumori ve ark., 2018).

Daha kısa olan (107-145 bp) cfDNA fragmanlarının analizi; erken gestasyonel yaş, yüksek BKI, plasental mozaizm, kaybolan ikiz gibi düşük fetal fraksiyon kaynaklı raporlanamayan sonuçları azaltmak için kullanılabileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur (Curnow ve ar., 2015; Qiao ve ark., 2019).

Yine de eğer pozitif ya da tekrarlayan raporlanamayan sonuç mevcutsa fetal bulguların doğrulanması için invaziv test mutlaka yapılmalıdır. Yapılacak olan invaziv test ise gestasyonel yaşa göre seçilir: İlk trimesterdaki pozitif sonuç alan hastalar özellikle olası plasental mozaizme karşı CVS yerine amniyosenteze yönlendirilir (Suzumori ve ark., 2021; Tian ve ark., 2018; Uquillas ve ark., 2017). Sonuç olarak bir invaziv test tahmin sunmaktan ziyade tanı koydurduğu için cfDNA ile karşılaştırıldığında daha kapsamlı genetik değerlendirme yapmaktadır.

cfDNA taraması gereksiz invaziv işlemlerini azaltarak maliyeti düşürmesine rağmen diğer anöploidi tarama testlerinden yaklaşık 3 kat daha yüksek maliyete neden olur (Goldwasser ve Klugman 2018; Hui 2016). Yapılan bir çalışmada 7 yalancı sonuç saptanmış ve her bir hasta için 600-800€ maliyet artmıştır. Yine başka çalışmalar da bunu desteklemektedir ve sonuç olarak cfDNA patolojik vakalarda maliyeti azaltmamaktadır (Cotarelo-Pérez ve ark., 2019; Kageleiry ve ark., 2017).

7. Bilimsel Kuruluşların cfDNA Hakkındaki Görüşleri

cfDNA'nın klinik olarak uygulanmaya başlamasından kısa bir süre sonra RCOG (Royal College of Obstetricians and Gynaecologists), ISUOG (International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology), ACOG (American College of Obstetricians and Gynecologists), ACMG (American College of Medical Genetics and Genomics), SMFM (The Society for Maternal-Fetal Medicine) ve NSGC (National Society of Genetic Counselors) gibi bilimsel örgütlerce cfDNA hakkında rehberler yayımlanmaya başlamıştır. Bu rehberlerdeki ortak görüş, cfDNA'nın yaygın anöploidilerin saptanması için anöploidi riski artmış gebeliklerde kullanılması yönündedir. Artmış risk tanımlaması; 35 üstü maternal yaş, ultrasonografide artmış anöploidi riski tespiti, pozitif birinci ya da ikinci trimester tarama testi, önceki gebeliklerde trizomi öyküsü ya da Robertsonian translokasyonu nedeniyle artmış trizomi 21 ve 13 riskini içermektedir. Yine de rehberlerde cfDNA'nın kısıtlılıklarına da yer verilerek, genel popülasyonda pozitif prediktif değeri daha düşük olması nedeniyle geleneksel birinci trimester tarama testi yerine geçmeyeceği bildirilmiştir. Ancak 2016'da ACMG, cfDNA'nın 9-10. gestasyonel haftalardan itibaren belirgin maternal obezite olmaması koşuluyla trizomi 21, 18 ve 13 taramasında geleneksel tarama testlerinin yerini alabileceğini bildirmiştir. Fetal kromozomal risk oranı 1:1000 altındaki düşük riskli gebeliklerde önerilmemekle birlikte, 1:100 üzeri yüksek riskli gebeliklerde invaziv prenatal tanı yöntemleri önerilir. Yani cfDNA

uygulaması için tavsiye edilen risk aralığı 1:100-1:1000'dir. İkiz gebeliklerde cfDNA taraması mevcuttur ancak bu bilimsel organizasyonlar genel olarak bunun için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini öne sürmektedir. Yine ACOG ve SMFM'nin ortak yayımladığı bildiriye göre çoklu gebeliklere önerilmemesinden dolayı cfDNA'dan önce ultrasonografi ile fetal sayı ve gestasyonel yaş tayini yapılmalıdır. Aynı zamanda çoklu gebeliklerdeki ölü fetüs testin hata payını arttırdığı için cfDNA testi yapılması kontrendikedir. Yine benzer şekilde test sonucu yüksek kromozomal anomali riski gösterdiğinde anomali yalnızca plasental hücrelerden de kaynaklı olabilir. Bu nedenle erken gestasyonel haftalarda amniyosentez ile; gebeliğin son dönemlerinde ise kordosentez ise plasental mozaizm ekarte edilebilir. Ancak şu da unutulmamalıdır ki, cfDNA ve invaziv tanı testleri aynı anda yapılamaz. Ek olarak cfDNA tanı değil tarama testi olduğu için yalnızca cfDNA sonucuna göre gebelik sonlandırılmaz (ACOG 2012; ACOG ve SMFM 2016; Benn ve ark., 2015; Gregg ve ark., 2016; RCOG 2014; Salomon ve ark., 2014; SMFM 2015; Wilson ve ark., 2013).

SONUÇ ve ÖNERİLER

cfDNA, trizomi 21 için risk grubundaki kişilere uygulanabilecek en yeni ve en etkin yöntemdir. Ancak yaygın anöploidilerin saptanmasında yüksek prediktiviteye sahip olmasına rağmen yalancı pozitiflik ve raporlanamayan sonuçlar da gösterebilmektedir. Özellikle test hataları oranının riskli popülasyondan genel popülasyona doğru gidildikçe artması, kullanımını riskli gebeliklerle sınırlandırmaktadır.

Bu test hatalarının meydana gelmesi adına cfDNA analizini etkileyen pek çok faktör literatürde tanımlanmaktadır. Olası yanlış değerlendirmeleri önlemek için eğer fetal fraksiyonu etkileyebilecek faktörler mevcutsa analiz raporuna mutlaka not düşülmelidir. Normal değerlerden düşük ya da yüksek fetal fraksiyonun gebelik komplikasyonlarıyla da ilişkilendirildiği pek çok çalışma mevcuttur. Ancak fetal fraksiyonun gebelik komplikasyonlarını saptamada kullanımını için daha çok araştırmaya ihtiyaç vardır.

cfDNA analizinin en önemli özelliklerinden birisi de 6. gestasyonel hafta gibi çok erken haftalardan itibaren kullanılabilir olmasıdır. Ancak erken gestasyonel haftalardaki düşük fetal fraksiyon raporlanamayan sonuca neden olan ana nedenlerden biridir. O yüzden bu durum göz önünde bulundurularak cfDNA analizi yöntemi 10. gestasyonel haftadan sonra önerilmelidir.

Çoğul gebelik durumu cfDNA analiz sonuçlarını olumsuz etkilediği için ultrasonografi ile fetal sayı tayini yapılarak çoğul gebelik durumu varsa bireyler farklı tarama testlerine yönlendirilmelidir.

Test sonucunu etkileyen durumlar, avantajları ve dezavantajları bireyler ile konuşularak ideal tarama testinin belirlenmesi için test öncesi danışmanlık yapmak önemlidir. Yine test sonrası beklenen olası hatalar hakkında ebeveynlere danışmanlık yapılmalıdır. Eğer pozitif sonuç mevcutsa gebelik haftasına uygun invaziv teste yönlendirilmeli; sadece cfDNA test sonucuna göre gebelik terminasyonu yapılamayacağı hakkında bilgilendirilmelilerdir. Bu doğrultuda kadın sağlığı hemşirelerinin ve ebelerin danışmanlık rolleri kapsamında; doğru ve güvenilir bilgileri ebeveynlere ulaştırması mevcut kaygı ve kafa karışıklığının önüne geçecektir.

Çıkar Çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Çalışma için finansal destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Committee on Genetics (2012). Committee Opinion No. 545: Noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidy. *Obstetrics and Gynecology*, 120(6), 1532–1534. <https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000423819.85283.f4>
- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Committee on Genetics & Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM). (2016). Practice Bulletin No. 163: Screening for Fetal Aneuploidy. *Obstetrics and gynecology*, 127(5), e123–e137. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001406>
- Benn, P., Borrell, A., Chiu, R. W., Cuckle, H., Dugoff, L., Faas, B. ... Yaron, Y. (2015). Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. *Prenatal Diagnosis*, 35(8), 725–734. <https://doi.org/10.1002/pd.4608>
- Benn, P., Valenti, E., Shah, S., Martin, K., & Demko, Z. (2018). Factors Associated With Informative Redraw After an Initial No Result in Noninvasive Prenatal Testing. *Obstetrics and Gynecology*, 132(2), 428–435. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000002728>
- Bianchi, D. W., Chudova, D., Sehnert, A. J., Bhatt, S., Murray, K., Prosen, T. L. ... Halks-Miller, M. (2015). Noninvasive Prenatal Testing and Incidental Detection of Occult Maternal Malignancies. *JAMA*, 314(2), 162–169. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.7120>
- Bianchi, D. W., Parker, R. L., Wentworth, J., Madankumar, R., Saffer, C., Das, A. F. ... CARE Study Group (2014). DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening. *The New England Journal of Medicine*, 370(9), 799–808. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1311037>
- Burns, W., Koelper, N., Barberio, A., Deagostino-Kelly, M., Mennuti, M., Sammel, M. D., & Dugoff, L. (2017). The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics, and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction. *Prenatal Diagnosis*, 37(11), 1125–1129. <https://doi.org/10.1002/pd.5152>
- Cheng, S. B., Davis, S., & Sharma, S. (2018). Maternal-fetal cross talk through cell-free fetal DNA, telomere shortening, microchimerism, and inflammation. *American Journal of Reproductive Immunology (New York, N.Y. : 1989)*, 79(5), e12851. <https://doi.org/10.1111/aji.12851>

- Contro, E., Bernabini, D., & Farina, A. (2017). Cell-Free Fetal DNA for the Prediction of Pre-Eclampsia at the First and Second Trimesters: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 21(2), 125–135. <https://doi.org/10.1007/s40291-016-0245-9>
- Cotarelo-Pérez, C., Oancea-Ionescu, R., Asenjo-de-la-Fuente, E., Ortega-de-Heredia, D., Soler-Ruiz, P., Coronado-Martín, P., & Fenollar-Cortés, M. (2019). A contingent model for cell-free DNA testing to detect fetal aneuploidy after first trimester combined screening. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X*, 1, 100002. <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2019.100002>
- Curnow, K. J., Wilkins-Haug, L., Ryan, A., Kırkızlar, E., Stosic, M., Hall, M. P. ... Gross, S. J. (2015). Detection of triploid, molar, and vanishing twin pregnancies by a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 212(1), 79.e1–79.e799. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.10.012>
- Gerson, K. D., Truong, S., Haviland, M. J., O'Brien, B. M., Hacker, M. R., & Spiel, M. H. (2019). Low fetal fraction of cell-free DNA predicts placental dysfunction and hypertensive disease in pregnancy. *Pregnancy Hypertension*, 16, 148–153. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2019.04.002>
- Gil, M. M., Accurti, V., Santacruz, B., Plana, M. N., & Nicolaides, K. H. (2017). Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 50(3), 302–314. <https://doi.org/10.1002/uog.17484>
- Gil, M. M., Quezada, M. S., Revello, R., Akolekar, R., & Nicolaides, K. H. (2015). Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology : The Official Journal of The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 45(3), 249–266. <https://doi.org/10.1002/uog.14791>
- Goldwaser, T., & Klugman, S. (2018). Cell-free DNA for the detection of fetal aneuploidy. *Fertility and Sterility*, 109(2), 195–200. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2017.12.019>
- Gregg, A. R., Skotko, B. G., Benkendorf, J. L., Monaghan, K. G., Bajaj, K., Best, R. G. ... Watson, M. S. (2016). Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in Medicine : Official Journal of The American College of Medical Genetics*, 18(10), 1056–1065. <https://doi.org/10.1038/gim.2016.97>
- Hartwig, T. S., Ambye, L., Werge, L., Weiergang, M. K., Nørgaard, P., Sørensen, S., & Jørgensen, F. S. (2018). Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) in pregnancies with trisomy 21, 18 and 13 performed in a public setting - factors of importance for correct interpretation of results. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 226, 35–39. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.04.042>
- Herrera, C. A., Stoerker, J., Carlquist, J., Stoddard, G. J., Jackson, M., Esplin, S., & Rose, N. C. (2017). Cell-free DNA, inflammation, and the initiation of spontaneous term labor. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 217(5), 583.e1–583.e8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.05.027>
- Hui, L. (2016). Noninvasive prenatal testing for aneuploidy using cell-free DNA - New implications for maternal health. *Obstetric Medicine*, 9(4), 148–152. <https://doi.org/10.1177/1753495X16652007>
- Jain, M., Balatsky, A. V., Revina, D. B., & Samokhodskaya, L. M. (2019). Direct comparison of QIAamp DSP Virus Kit and QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit regarding cell-free fetal DNA isolation from maternal peripheral blood. *Molecular and Cellular Probes*, 43, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2018.12.006>
- Kageleiry, A., Samuelson, D., Duh, M. S., Lefebvre, P., Campbell, J., & Skotko, B. G. (2017). Out-of-pocket medical costs and third-party healthcare costs for children with Down syndrome. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 173(3), 627–637. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.38050>
- Kazachkova, N., Gontar, J., Verlinsky, O., & Ilyin, I. (2019). Successful early fetal sex determination using cell-free fetal DNA isolated from maternal capillary blood: A pilot study. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X*, 3, 100038. <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2019.100038>
- Li, W. H., Wang, P. H., Chuang, C. M., Chang, Y. W., Yang, M. J., Chen, C. Y. ... Yen, M. S. (2015). Noninvasive prenatal testing for fetal trisomy in a mixed risk factors pregnancy population. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*, 54(2), 122–125. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2015.02.001>

- Lo, Y. M., Corbetta, N., Chamberlain, P. F., Rai, V., Sargent, I. L., Redman, C. W., & Wainscoat, J. S. (1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet (London, England)*, 350(9076), 485–487. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)02174-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)02174-0)
- Lund, I., Becher, N., Christensen, R., Petersen, O. B., Steffensen, E. H., Vestergaard, E. M., & Vogel, I. (2020). Prevalence of mosaicism in uncultured chorionic villus samples after chromosomal microarray and clinical outcome in pregnancies affected by confined placental mosaicism. *Prenatal Diagnosis*, 40(2), 244–259. <https://doi.org/10.1002/pd.5584>
- Manotaya, S., Xu, H., Uerpairokit, B., Chen, F., Charoenvidhya, D., Liu, H. ... Jiang, H. (2016). Clinical experience from Thailand: noninvasive prenatal testing as screening tests for trisomies 21, 18 and 13 in 4736 pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, 36(3), 224–231. <https://doi.org/10.1002/pd.4775>
- McKanna, T., Ryan, A., Krinshpun, S., Kareht, S., Marchand, K., Grabarits, C. ... Benn, P. (2019). Fetal fraction-based risk algorithm for non-invasive prenatal testing: screening for trisomies 13 and 18 and triploidy in women with low cell-free fetal DNA. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 53(1), 73–79. <https://doi.org/10.1002/uog.19176>
- Nicolaides, K. H. (2011). Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks. *Prenatal Diagnosis*, 31(1), 7–15. <https://doi.org/10.1002/pd.2637>
- Norton, M. E., Jacobsson, B., Swamy, G. K., Laurent, L. C., Ranzini, A. C., Brar, H. ... Wapner, R. J. (2015). Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *The New England Journal of Medicine*, 372(17), 1589–1597. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1407349>
- Osborne, C. M., Hardisty, E., Devers, P., Kaiser-Rogers, K., Hayden, M. A., Goodnight, W., & Vora, N. L. (2013). Discordant noninvasive prenatal testing results in a patient subsequently diagnosed with metastatic disease. *Prenatal Diagnosis*, 33(6), 609–611. <https://doi.org/10.1002/pd.4100>
- Palka, C., Guanciali-Franchi, P., Morizio, E., Alfonsi, M., Papponetti, M., Sabbatinelli, G. ... Benn, P. (2019). Non-invasive prenatal screening: A 20-year experience in Italy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X*, 3, 100050. <https://doi.org/10.1016/j.eurox.2019.100050>
- Palomaki, G. E., Kloza, E. M., Lambert-Messerlian, G. M., van den Boom, D., Ehrich, M., Deciu, C. ... Haddow, J. E. (2015). Circulating cell free DNA testing: are some test failures informative?. *Prenatal Diagnosis*, 35(3), 289–293. <https://doi.org/10.1002/pd.4541>
- Pös, O., Budiš, J., & Szemes, T. (2019). Recent trends in prenatal genetic screening and testing. *F1000Research*, 8, F1000 Faculty Rev-764. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16837.1>
- Qiao, L., Yu, B., Liang, Y., Zhang, C., Wu, X., Xue, Y. ... Wang, T. (2019). Sequencing shorter cfDNA fragments improves the fetal DNA fraction in noninvasive prenatal testing. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 221(4), 345.e1–345.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.05.023>
- Ren, Y., Zhao, J., Li, R., Xie, Y., Jiang, S., Zhou, H. ... Lu, Y. (2018). Noninvasive prenatal test for FGFR3-related skeletal dysplasia based on next-generation sequencing and plasma cell-free DNA: Test performance analysis and feasibility exploration. *Prenatal Diagnosis*, 38(11), 821–828. <https://doi.org/10.1002/pd.5334>
- Renga, B. (2018). Non invasive prenatal diagnosis of fetal aneuploidy using cell free fetal DNA. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 225, 5–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.03.033>
- Revello, R., Sarno, L., Ispas, A., Akolekar, R., & Nicolaides, K. H. (2016). Screening for trisomies by cell-free DNA testing of maternal blood: consequences of a failed result. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology: The Official Journal of The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 47(6), 698–704. <https://doi.org/10.1002/uog.15851>
- Rolnik, D. L., da Silva Costa, F., Lee, T. J., Schmid, M., & McLennan, A. C. (2018). Association between fetal fraction on cell-free DNA testing and first-trimester markers for pre-eclampsia. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology : The Official Journal of The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 52(6), 722–727. <https://doi.org/10.1002/uog.18993>

- Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG). (2014). Scientific Impact Paper No. 15: Non-invasive Prenatal Testing for Chromosomal Abnormality Using Maternal Plasma DNA. *Obstet Gynecol*, 16: 148-148. <https://doi.org/10.1111/tog.12099>
- Salomon, L. J., Alfirevic, Z., Audibert, F., Kagan, K. O., Paladini, D., Yeo, G. ... ISUOG Clinical Standards Committee (2014). ISUOG consensus statement on the impact of non-invasive prenatal testing (NIPT) on prenatal ultrasound practice. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology : the Official Journal of The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 44(1), 122–123. <https://doi.org/10.1002/uog.13393>
- Sieroszewski, P., Wielgos, M., Radowski, S., Sasiadek, M., Borowiec, M., Borowski, D. ... Moczulska, H. (2017). Cell-free fetal DNA testing in prenatal diagnosis: Recommendations of the Polish Gynecological Society and the Polish Human Genetics Society. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 214, 190–191. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2017.05.009>
- Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Publications Committee. (2015). #36: Prenatal aneuploidy screening using cell-free DNA. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 212(6), 711–716. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.03.043>
- Suzumori, N., Sekizawa, A., Ebara, T., Samura, O., Sasaki, A., Akaishi, R. ... Sago, H. (2018). Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 224, 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.03.048>
- Suzumori, N., Sekizawa, A., Takeda, E., Samura, O., Sasaki, A., Akaishi, R. ... Sago, H. (2021). Retrospective details of false-positive and false-negative results in non-invasive prenatal testing for fetal trisomies 21, 18 and 13. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 256, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.10.050>
- Thurik, F. F., Lamain-de Ruyter, M., Javadi, A., Kwee, A., Woortmeijer, H., Page-Christiaens, G. C. ... Koster, M. P. (2016). Absolute first trimester cell-free DNA levels and their associations with adverse pregnancy outcomes. *Prenatal Diagnosis*, 36(12), 1104–1111. <https://doi.org/10.1002/pd.4940>
- Tian, Y., Zhang, L., Tian, W., Gao, J., Jia, L., & Cui, S. (2018). Analysis of the accuracy of Z-scores of non-invasive prenatal testing for fetal Trisomies 13, 18, and 21 that employs the ion proton semiconductor sequencing platform. *Molecular Cytogenetics*, 11, 49. <https://doi.org/10.1186/s13039-018-0397-x>
- Uquillas, K., Chan, Y., King, J. R., Randolph, L. M., & Incerpi, M. (2017). Chorionic villus sampling fails to confirm mosaic trisomy 21 fetus after positive cell-free DNA. *Prenatal Diagnosis*, 37(3), 296–298. <https://doi.org/10.1002/pd.4992>
- Vogel, I., Vestergaard, E. M., Lildballe, D. L., Christensen, R., Hoseth, G. E., Petersen, A. C. ... Sørensen, A. N. (2020). Placental mosaicism in the era of chromosomal microarrays. *European Journal of Medical Genetics*, 63(4), 103778. <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2019.103778>
- Wang, E., Batey, A., Struble, C., Musci, T., Song, K., & Oliphant, A. (2013). Gestational age and maternal weight effects on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Prenatal Diagnosis*, 33(7), 662–666. <https://doi.org/10.1002/pd.4119>
- Wilson, K. L., Czerwinski, J. L., Hoskovec, J. M., Noblin, S. J., Sullivan, C. M., Harbison, A. ... Singletary, C. N. (2013). NSGC practice guideline: prenatal screening and diagnostic testing options for chromosome aneuploidy. *Journal of Genetic Counseling*, 22(1), 4–15. <https://doi.org/10.1007/s10897-012-9545-3>
- Yang, X., Zhou, Q., Zhou, W., Zhong, M., Guo, X., Wang, X., ... Xu, X. (2019). A Cell-free DNA Barcode-Enabled Single-Molecule Test for Noninvasive Prenatal Diagnosis of Monogenic Disorders: Application to β -Thalassemia. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 6(11), 1802332. <https://doi.org/10.1002/advs.201802332>
- Yuan, X., Zhou, L., Zhang, B., Wang, H., Yu, B., & Xu, J. (2020). Association between low fetal fraction of cell free DNA at the early second-trimester and adverse pregnancy outcomes. *Pregnancy Hypertension*, 22, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2020.07.015>
- Zhao, Q., HuoJiaBieKe, J., & Du, S. (2019). The influence of fetal gender and maternal characteristics on fetal cell-free DNA in maternal plasma. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 48(8), 653–656. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2019.07.001>