

Maternal Kanda Hücre Dışı Fetal DNA (cffDNA) ile “Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)”

Uzman Görüşü

Katkıda bulunanlar (Soyadı sırasına göre); ASLAN Halil, BAKSU Başak, BAŞARAN Seher, BAŞGÜL Alin, BATUKAN Cem, ERMİŞ Hayri, GÜL Ahmet, HAS Recep, KALELİOĞLU İbrahim, PEKİN Oya, ŞAHİNOĞLU Zeki, ULUDOĞAN Mehmet, TUĞRUL Semih, YAZICIOĞLU Fehmi, YILDIRIM Gökhan, YÜKSEL Atıl

Yayınlanma tarihi: Ocak 2014

Fetal kromozomal hastalıklar için tarama programları 30 yıl önce biyokimyasal testler olarak başlamış, daha sonraları ultrasonografi ve biyokimyasal testlerin birlikte kullanımı şeklinde devam etmiştir. Aynı dönemde maternal kandan elde edilen fetal hücrelerde prenatal tanı çalışmaları yapılmış ancak klinik uygulamaya geçecek bir başarı elde edilememiştir. Lo YM ve arkadaşları¹, 1997 yılında maternal kanda hücre dışı serbest fetal DNA (cffDNA) tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Son 15 yılda, özellikle 2011-2012 yıllarında cffDNA çalışmaları artmış ve klinik uygulamaya girmeye başlamıştır. Önümüzdeki yıllarda günlük klinik kullanımının giderek artması beklenmektedir.

Maternal kandaki cffDNA oranı 11-13 gebelik haftalarında yaklaşık %10 iken, ilerleyen gebelik haftası ile artmakta ve genel olarak %3-20 arasında değişmektedir^{2,3}. Doğum sonrası maternal kandaki düzeyi hızla azalmakta ve postpartum iki saat sonra ise tespit edilememektedir. Başlangıçta maternal kanda *prenatal tanı* sözcüğü kullanıldı ise de, testin pozitifliği durumunda amniyosentez (AS) ve koryon villus biyopsisi (KVB) gibi yöntemlerle elde edilen fetal hücrelerde geleneksel kromozom analiz tekniklerinin uygulanması gerektiğinden ve henüz %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığından, yöntem *ileri tarama testi* olarak kabul edilmektedir ve genel olarak “*non-invasive prenatal test*” (NIPT) olarak adlandırılmaktadır^{4,5}. “cffDNA ile prenatal tarama”, “Fetal DNA (fDNA) ile prenatal tarama”, “Maternal kandan fDNA ile prenatal tarama” olarak da adlandırmak mümkündür. Henüz tarama testi ise de, önümüzdeki yıllarda tanı testi olması beklenmektedir.

NIPT, genel olarak Trizomi 21 (T21), Trizomi 18 (T18), Trizomi 13 (T13) gibi daha sık görülen kromozom anomalileri için ileri tarama testi olarak kullanılmaktadır⁴⁻⁶. cffDNA ile NIPT T21 ve T18’de görece daha başarılıdır, tespit etme oranı (*Detection rate: DR*)>%99 ve yanlış pozitiflik (False positivity: FP) <%1, T13’de ise DR %80 olarak bildirilmektedir^{5,6}. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda yanlış negatiflik nadiren bildirilmişirse de konu henüz tam bir netlik kazanmamıştır. Vakaların %2.2’de, cffDNA miktarı % 4’den daha az ve ayrıca %2.6’sında test başarısız olduğundan vakaların % 4-5’de NIPT ile sonuç elde edilememektedir⁴.

cffDNA’nın kaynağı trofoblast hücreleri olduğundan %1-1,5 oranında plasentada gözlenen plasenta ile sınırlı mozaizmin yanlış pozitif ya da yanlış negatif tanıya yol açabileceği kabul edilmektedir⁷. Yeterli deneyim sağlandıktan sonra bu tespit etme oranları ile

KVB ve AS gibi girişimlerin belirgin olarak azalması beklenmektedir ve hatta şimdiden azalmaya başlamıştır. Çoğul gebeliklerde de tekiz gebeliklere benzer şekilde kullanılmaya başlanmıştır ancak veriler şu aşamada sınırlıdır⁸. Şu ana kadar olan elde edilen verilere göre ikiz eşinde fetal ölüm veya kaybolan ikizlerde de NIPT uygulanabileceği gösterilmiştir.

Rh uygunsuzluğunda da cffDNA ile fetal Rh tayini yapmak mümkündür ve son 15 yılda giderek artan bir hızla klinik pratikte uygulanmaya başlanmıştır. Fetal Rh tayini için tarama programlarının maliyet-etkinlik sorunu olduğundan henüz rutin fetal Rh taraması yapılmamaktadır. Bu aşamada, NIPT'in ancak immünize Rh durumunda kullanılması önerilmektedir⁹.

Önümüzdeki yıllarda, cffDNA materyalinde array çalışmalarında yeterli başarı oranları yakalandığında tüm kromozom anomalilerinin araştırılabilmesi mümkün olacaktır. Çalışma tekniklerinin geliştirilmesi ve özgüllüğünün artması ile monogenik otozomal resesif ve dominant ile X'e bağlı geçiş gösteren hastalıklar, preterm doğum, preeklampsi, intrauterin büyüme kısıtlılığı ve benzeri obstetrik sorunlarda kullanılacağı düşünülmektedir.

NIPT ile ilgili bir çok firma, genetik laboratuvarı ülkemizde hizmet vermeye başlamıştır. Bunlara yönelik henüz bir düzenleme bulunmamaktadır. Tüm serbest DNA (MPSS), hedeflenmiş DNA (DANSR) ve hedeflenmiş "single-nucleotide polymorphism" (SNP) gibi farklı yöntemler ile çalışma yapılabilmektedir. SNP yöntemini kullanan testlerde babadan da kan alınması gerekmekte ve ayrıca akraba evliliği, ovum donasyonu ile gebelik durumlarında çalışma yapmak veya sonuca gitmek mümkün olmayabilmektedir. NIPT'in rutin klinik uygulama girinceye kadar, seçilmiş vakalarda ve yeterli bilgilendirme ve gerekirse genetik danışma alınarak uygulanması, bu testin yalnızca T21, T18, kısmen T13 ve cinsiyet kromozom anomalileri için yapıldığı, diğer kromozom anomalilerini (diğer trizomiler, translokasyon, insersiyon ve delesyon vb.) tanınmasının beklenmediği ve ayrıca tarama testinin pozitif olması durumunda KVB, AS benzeri girişimler ile tanının kesinleştirilmesi gerektiğinin hastaya anlatılması ve yazılı onam formunun alınması testin doğru kullanımını sağlayarak etkinliğini arttıracak, bir çok sorunun ortaya çıkmasını engelleyecektir. Ayrıca bazı mikrodelesyon sendromları için de NIPT çalışmaya başlanmıştır ancak henüz yeterli veri yoktur. Test öncesi, aileye ayrıca maliyet hakkında da bilgi verilmelidir. Şu aşamada NIPT maliyeti rutin tarama için yüksektir. Ancak önümüzdeki yıllarda maliyetin düşmesi beklenmektedir.

Tüm dünyada yeni bir uygulama olan NIPT ile ilgili komite ve uzman görüşleri ve hangi endikasyonlarda kullanılacağı bildirilmeye başlanmıştır. ***Bu aşamada henüz cffDNA ile NIPT rutin tarama programı yoktur.*** İleri tarama testi olarak kabul edilmeli, ***geleneksel günlük rutin tarama testlerine devam edilmelidir.*** Karyotip analizi gerektiren majör fetal anomalilerde ise fetal karyotipleme yapılması gerekmektedir.

NIPT, güncel olarak aşağıda sıralanan olası kullanım alanlarında ve sadece T21 ve T18 ve kısmen T13 açısından yüksek riskli gebeliklerde önerilmektedir^{10,11}. ***Düşük risk grubunda önerilmemektedir.*** Bu aşamada ***rutin tarama testi olarak kabul edilmemektedir.*** Endikasyonu olan vakalarda, imkan ve sınırlamaları ailelere anlatılarak uygulanmalıdır.

cffDNA ile NIPT'nin olası kullanım alanları:

- ✓ **Maternal yaşın 35 ve üstünde olması.**
- ✓ **Trizomi 21 / Trizomi 18 için ultrasonografik belirteçlerin varlığında ve aile girişim istemiyorsa.**
- ✓ **Trizomi 21 ve 18'li fetus / bebek doğum öyüsünde.**
- ✓ **Trizomi tarama testlerinin pozitif olması durumunda.**
- ✓ **Parental dengeli Robertsonian Trizomi 21 ve Trizomi 13 translokasyonu.**

Sonuçlar:

1. NIPT ileri tarama testidir ve T21 ve T18 için DR > %99, FP <%1 olarak bildirilmektedir.
2. NIPT pozitif bulunduğunda, KVB ya da AS ile elde edilen fetal hücrelerde geleneksel tanı testi olarak kabul edilen fetal karyotip analizi gerekmektedir.
3. Bu aşamada henüz düşük risk grubuna önerilmemektedir.
4. Fetal ultrasonografi ile anomali saptandığında, artmış NT gibi belirteçlerin varlığında ya da yapısal dengesiz kromozom anomalisi beklenen dengeli taşıyıcıların gebeliklerinde KVB ya da AS ile fetal karyotipleme yapılmalıdır.
5. Kötü obstetrik öyküsü olan çiftlerde öncelikle parental kromozom analizi önerilmeli, kromozom analizi normal sonuçlarırsa NIPT alternatif olarak düşünölmelidir.
6. Günümüzde kullanılan tarama testlerine devam edilmelidir. NIPT, günümüzdeki kullanılan tarama testlerinin ve invazif girişimlerle elde edilen materyallerden yapılan fetal karyotiplemenin yerine kullanılmamaktadır.
7. NIPT, immünize Rh durumunda kullanılabilir.
8. Gelecek yıllarda kromozomal anomalileri ve monogenik hastalıklar için tanı testi olması beklenmektedir.
9. NIPT'in negatif bulunması durumunda kromozomal ve genetik hastalıkların tamamının dışlanması beklenmediğı, imkan ve sınırlamaları gebelere mutlaka anlatılmalıdır.
10. Rutin uygulamaya girinceye kadar NIPT'in hastaların bilgilendirilmesi ve / veya genetik danışmanlık alınarak yapılması olası sorunların önlemesi açısından yararlı olacaktır.

Kaynaklar

1. Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sgaernt IL, Redman CWG, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-7.
2. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 26–32.
3. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. Genome-Wide Fetal Aneuploidy Detection by Maternal Plasma DNA Sequencing (MELISSA Study Group). *Obstet Gynecol* 2012;119:890–901.
4. Nicolaides KH, Syngelaki A, Ashoor G, Birdir C, Touzet G. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:374.e1-6.
5. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy. Committee Opinion No.545. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2012;120:1532-4.
6. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Birdir C, Nicolaides KH. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:322.e1-5.
7. Benn P, Cuckle H, and Pergament E. Non-invasive prenatal diagnosis for Down syndrome: the paradigm will shift, but slowly. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 39: 127–130.
8. Canick JA, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE, Ehrich M, van den Boom D, Bombard AT, Deciu C and Palomaki GE. DNA sequencing of maternal plasma to identify Down syndrome and other trisomies in multiple gestations. *Prenatal Diagnosis* 2012, 32, 730–734.
9. Szczepura A, Osipenko L, Freeman K. A new fetal RHD genotyping test: Costs and benefits of mass testing to target antenatal anti-D prophylaxis in England and Wales. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2011; 11:5.
10. Ashoor G, Syngelaki G, Wang E, Struble C, Oliphant A, Song K and Nicolaides KH. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 21–25.
11. Nicolaides KH, Syngelaki A, Gill M, Atanasova V and Markova D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenatal Diagnosis* 2013, 33, 575–579.