

2. BÖLÜM

FETAL DEFEKTLERİ BELİRLEMEK AMACIYLA KULLANILAN MATERNAL TARAMA TESTLERİ

Brock ve arkadaşları, 1970'li yılların başlarında, anensefali ve spina bifida gibi açık nöral tüp defekti bulunan bebek taşımakta olan gebelerden alınan amnion sıvılarında AFP konsantrasyonunun yüksek olduğunu gösterdi⁽¹⁾. Ardından bu gebelerde, ikinci trimestrde maternal serum AFP konsantrasyonunun da yüksek olduğu tespit edildi⁽²⁾. Ortalama değerleri belirgin şekilde farklı olmasına rağmen, nöral tüp defekli ve sağlıklı bebek taşıyan gebelerin bir kısmında, serum AFP konsantrasyonları örtüşebildiğinden bu testin kesin teşhis amacıyla olmasa bile, açık nöral tüp defekli bebek doğurma riski yüksek olan gebeleri belirlemeye yönelik bir tarama testi olarak kullanılabileceği düşünüldü. İngiltere'de gerçekleştirilen çok merkezli bir araştırmanın, 1977 yılında *Lancet* dergisinde yayınlanan raporunda, ikinci trimestrde anne kanından AFP ölçümü yapılmasının fetüsteki açık nöral tüp defektlerini belirlemek açısından faydalı bir uygulama olabileceği bildirildi⁽³⁾.

Anne veya baba tarafında nöral tüp defekti öyküsü bulunması, nöral tüp defekli bebek sahibi olma riskini 5-15 kat artıran bir durum olduğu halde, nöral tüp defektiyle doğan bebeklerin %90 kadarında böyle bir öykü veya risk yüksekliğini düşündürecek başka bir özellik yoktur^(4,5). Bu nedenle, *Lancet* dergisinde yayınlanan raporun ardından geliştirilen, ikinci trimestrde anne kanından elde edilen AFP ölçüm sonucunu, nöral tüp defekli bebek doğurma riskini rakamsal olarak belirlemek amacıyla kullanma olanağı veren değerlendirme yöntemi büyük bir ilgiyle karşılandı⁽⁶⁾. Açık nöral tüp defektlerinin taranması amacıyla anne kanından AFP ölçümü yapılması, 1980'li yıllarda Amerika Birleşik Dev-

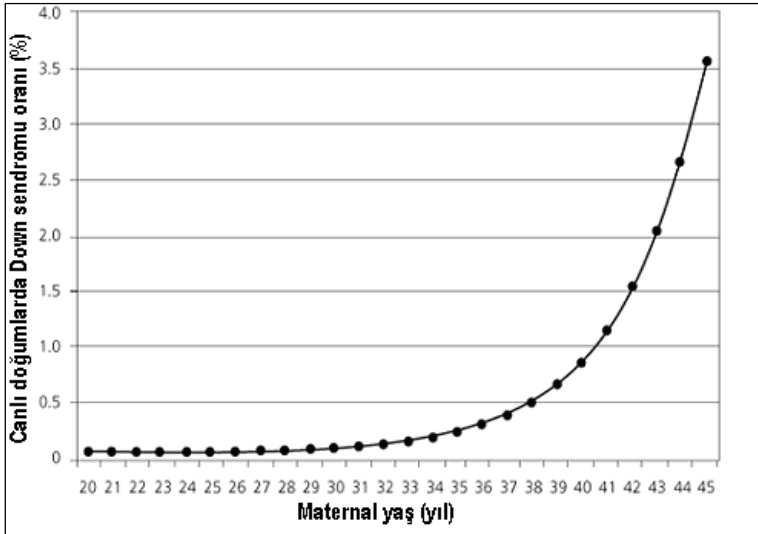


letleri'nde standard bir uygulama haline geldi. American College of Obstetricians and Gynecologists, American Society of Human Genetics ve American Academy of Pediatrics bu testin yaygın şekilde kullanılmasını destekleyen bildiriler yayınladı⁽⁷⁻¹⁰⁾.

Doğum öncesi biyokimyasal tarama çalışmaları konusunda çok önemli bir gelişme sağlayan, maternal serum AFP konsantrasyonu ile fetal Down sendromu arasında ilişki bulunduğunu gösteren ilk araştırmanın sonuçları 1984 yılında yayınlandı⁽¹¹⁾. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, Down sendromlu fetüs taşıyan annelerin kanındaki AFP konsantrasyonu, sağlıklı fetüs taşıyanlara göre %25 oranında daha düşük bulunuyordu.

Anne yaşının artmasıyla birlikte Down sendromu riskinde artma meydana geldiği çok açık bir şekilde dökümanite edilmiş olduğundan, bu tespitten önce Down sendromu ile ilişkili tek tarama parametresi olarak anne yaşı kullanılıyor, doğum yapacağı sırasında yaşı 35 ve üzerinde olacak gebelere amniosentez ve karyotip analizi öneriliyordu. Bu konudaki değerlendirmenin yapıldığı dönemde 35 yaş üzerinde doğum yapan kadınların oranının %5 olmasına rağmen, Down sendromlu bebeklerin yaklaşık %20'sinin bu kadınlar tarafından doğurulması dikkat çekmiştir. Bu değerlendirme her ne kadar yaşın Down sendromu riskini artırıcı etkisini ortaya koyuyorsa da aynı zamanda Down sendromlu bebeklerin çok büyük kısmının, 35 yaş altındaki kadınlar tarafından doğurulduğu gerçeğini de göz önüne sermektedir.

Anne yaşı ve annenin serum AFP konsantrasyonu gibi iki bağımsız parametrenin beraberce kullanılması Down sendromu riskinin değerlendirilmesinde yeni bir uygulamayı başlatmış, analit konsantrasyonu yerine risk oranının rapor edilmesi önemli bir yenilik olmuştur. Bu yöntemi kullanarak gerçekleştirilen, geniş kapsamlı ve çok merkezli bir çalışma, genç yaştaki gebelerde de serum AFP ölçümüne dayalı Down sendromu taraması uygulamasının etkinliğini göstermiştir⁽¹²⁾.



Şekil 2.1. Anne yaşı ile Down sendromu riski arasındaki ilişki.

Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerin serumunda ölçülen bir protein konsantrasyonunun düşük olması, bilim adamlarını fetüsteki patolojiden benzer şekilde etkilenebilecek ve dolayısıyla ilave bilgiler sağlayacak yeni analiz parametrelerini araştırmaya yöneltmiştir. Kısa bir dönem içinde denenen pek çok parametre arasında yalnızca iki tanesinin bu açıdan kullanışlı olabileceği belirlenmiştir. Fetoplasental üniteye üretilen unkonjuge estriol (uE3)'ün, Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerde ortalama

%25 civarında düşük⁽¹³⁾, korionik gonadotropinin ise ortalama 2 kata yakın oranda yüksek bulunması⁽⁸⁾, bu parametrelerin de Down sendromu taraması amacıyla kullanılabileceğini düşündürmüştür. İlk kez 1988 yılında, anne yaşı ile birlikte AFP, uE3 ve hCG parametrelerini beraberce Down sendromu taraması amacıyla kullanmayı amaçlayan ve üç analiz neticesine dayandığı için üçlü test (triple test) olarak adlandırılan uygulama önerilmiştir⁽¹⁴⁾. Bu test, değerlendirmeye tabi tutulan kadınların %5'ine pozitif netice vererek Down sendromlu gebeliklerin %60'ını belirlemeyi hedefleyecek şekilde tasarlanmıştır. 1992 yılında yayınlanan iki büyük deneme araştırmasının sonuçları, üçlü testin kullanılabilirliğini kanıtlamıştır^(15,16). Dördüncü bir parametre olarak DIA'nın, Down sendromlu gebeliklerin belirlenme oranını %8-%10 oranında artırabileceği bildirilmiş ve iki önemli araştırma bu testin performansını teyit etmiştir⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Dörtlü test (quadrupe test) olarak yapılan uygulama gün geçtikçe daha yaygın bir uygulama alanı bulmaktadır. College of American Pathologists tarafından organize edilen dış kalite kontrol programına 2003 yılında katılan laboratuvarların yalnızca % 25 kadarı dörtlü testi kullandığı halde, bu oran günümüzde %50 civarına ulaşmıştır. Gebeliğin ikinci üç ayı içinde başka analiz parametrelerinin de kombine edilebileceğinin bildirilmekte olmasına rağmen, bunların hiçbirini yaygın kabul görmemiştir.

Trizomi 18'in Down sendromundan farklı bir üçlü test paterni oluşturduğunun belirlenmiş olması, prenatal taramanın kapsamını genişletmiştir⁽²⁰⁾. Trizomi 18'li fetüs taşıyan gebelerde de Down sendromunda olduğu gibi AFP ve uE3 konsantrasyonları düşük bulunmakta, ancak Down sendromunda görülenin tersine hCG konsantrasyonu da düşük bulunmaktadır. Bu nedenle bu iki kromozomal anomalinin birbirine karışma ihtimali çok düşüktür. Üçlü tarama testini trizomi 18 taraması amacıyla kullanmaya yönelik bir risk hesabı algoritması geliştirilmiş ve yapılan deneme çalışmaları ile bu uygulamanın geçerliliği teyit edilmiştir⁽²¹⁾.

Her ne kadar üçlü tarama testi başlıca nöral tüp defektleri, Down sendromu ve trizomi 18 taraması amacıyla kullanılmaktay-

sa da analiz parametrelerindeki değişikliklerin oluşturduğu bazı paternler, daha başka konjenital anomalilerin ipuçlarını verebilir. Risk değerlendirme programları riskli netice vermese bile, tek tek analiz parametrelerinin konsantrasyonlarındaki değişiklikler dikkatli bir şekilde değerlendirilmeli, bu türden değişikliklerin karşılık gelebileceği diğer olasılıklar da mümkün olabildiğince gözden kaçırılmamalıdır.

Tablo 2.1. Bazı patolojik durumlarda ve konjenital anomalilerde üçlü test paternleri.

Anomali	A-fetoprotein	uE3	hCG
Trizomi 21	Düşük	Düşük	Yüksek
Trizomi 18	Düşük	Düşük	Düşük
Molar gebelik	Düşük	Düşük	Yüksek
Gebelik yaşının yüksek hesaplanması	Düşük	Düşük	Yüksek
Çoğul gebelik	Yüksek	Yüksek	Yüksek
Fetüsün ölmüş olması	Yüksek	Düşük	Düşük
Nöral tüp defekti	Yüksek	Normal/düşük	Normal
Gastroshisis	Yüksek	Normal	Normal
X-kromozomuna bağlı ihtiyozis	Normal	Çok düşük	Normal

PRENATAL TARAMANIN KLİNİK UYGULAMASI

İkibinüç yılından önce doğum uzmanlarının, doğum sırasında 35 yaşın üzerinde olacak kadınlara amniosentez önermeleri standart bir uygulama olarak kabul ediliyordu. Anne yaşına ek olarak biyokimyasal parametrelere dayanılarak risk taraması uygulamasının yararının kanıtlanması nedeniyle, günümüzde bütün yaş gruplarındaki gebelere üçlü test önerilmektedir. Ancak olaya daha temkinli yaklaşan hekimlerin halen 35 yaşını aşan



gebelere doğrudan doğruya amniosentez önerdikleri görülmektedir. Son dönemlerde 35 yaş üzerinde doğum yapanların oranının belirgin derecede artması, bu uygulamanın gözden geçirilmesi konusunda bir zorlama yaratmaktadır. Eski yıllarda bebeklerin yalnızca %5 kadarı 35 yaş üzerindeki anneler tarafından doğurulurken, günümüzde gelişmiş batı ülkelerinde bu oranın %15'e yaklaştığı görülmektedir. Eski dönemde Down sendromlu bebeklerin %20 kadarı 35 yaş üzerindeki anneler tarafından doğurulurken, bu oran günümüzde %50'ye yaklaşmıştır⁽²²⁾. Teorik olarak yaşı 35'in üzerindeki annelerin tümüne amniosentez uygulanması durumunda, ortalama olarak 180 amniosentez işlemi başına bir Down sendromlu fetusun belirlenmesi mümkün olabilir. Oysa anne yaşına ek olarak, maternal tarama testlerinin kullanılması halinde amniosentez uygulamasının etkinliğini artırmak ve 50 amniosentez işlemi başına bir Down sendromlu fetus belirlenmesinin mümkün olabileceği görülmektedir⁽¹⁵⁾.

Üçlü tarama testi Down sendromu yanında trizomi 18 olasılığı ile ilişkili olarak da değerlendirme olanağı sağlar. Trizomi 18'li fetus taşıyan annelere yapılan üçlü tarama testinde AFP, hCG ve uE3 parametrelerinin her üçü de düşük bulunur⁽²⁰⁾. Uygun bir algoritmayı kullanarak trizomi 18 için risk değerlendirmesi yapan hesaplama programları sayesinde %0.3 yalancı pozitiflik oranı ile trizomi 18 vakalarının %60 kadarının belirlenmesi mümkündür⁽²³⁾. İkinci trimesterde trizomi 18 risk oranı 1:100'den fazla olarak hesaplanan her 16 kadından birinin bu defekte sahip fetus taşıdığı bildirilmektedir.

PRENATAL TARAMANIN MATEMATİKSEL PRENSİPLERİ

Nöral tüp defekti riskinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan hesaplama:

İlk kez 1977 yılında yayınlanmış olan UK Collaborative Study isimli çok önemli araştırmada kullanılan hesaplama metodu, daha sonra her türlü risk değerlendirme programlarına uygulanmıştır⁽³⁾. Bu araştırmada, nöral tüp defekti ve anensefali vakalarının maternal serum AFP konsantrasyonu ölçümüne dayanılarak

belirlenmesi hedeflenmiş olmakla birlikte, geliştirilen metot Down sendromu vakalarını belirlemeye yönelik tarama programlarında da aynen kullanılmaktadır. Bu hesaplama metodunda **birinci aşamada**, elde edilen kantitatif ölçüm neticeleri kısaca MoM olarak adlandırılan multiple of median birimine çevrilir. MoM değeri, gebe bir kadından elde edilen analiz neticesinin, gebelik haftasının medyan değerine bölünmesiyle hesaplanır. Böylece kantitatif ölçüm neticesinin normalize edilmiş olması yani normal değere göre durumunun kolaylıkla görülebilir ve yorumlanabilir hale gelmesi sağlanır. Laboratuvarın, bir analiz parametresi için MoM hesabı yapabilmesi için, sahip olduğu analiz sistemini kullanılarak, hizmet verdiği toplum için geçerli medyan değerlerini önceden belirlemiş olması gerekir. Prenatal tarama kapsamındaki parametrelerin gebelik süresince belirgin derecede değişiklik göstermesi nedeniyle medyan değerlerin, testlerin uygulandığı her bir hafta için ayrı ayrı hesaplanma gereksinimi vardır. Başlangıçta yalnızca laboratuvarlararası metot farklılıklarının sebep olabileceği karışıklıkları gidermek amacıyla geliştirilen bir kavram olmasına rağmen MoM, pratikte sağladığı pek çok ilave yararının bulunması sebebiyle günümüzün vazgeçilemez kavramlarından biri haline gelmiştir.

MoM kavramının kullanılması sayesinde:

- Ölçüm neticelerinin genel popülasyona ait medyan değere göre durumu kolaylıkla değerlendirilebilir.
- Her bir gebelik haftası için, kantitatif ölçüm neticesine göre farklı cut-off değerlerinin belirlenmesi ihtiyacı ortadan kalkar. (maternal serum AFP konsantrasyonu her hafta, bir önceki haftaya göre yaklaşık %10-15 civarında artış gösterir.)
- Laboratuvarların kendi koşullarında elde ettikleri sonuçları değerlendirirken, literatürde yayınlanmış olan konsantrasyon dağılım bilgilerinden yararlanması mümkün hale gelir. Aksi halde, her bir laboratuvarın, değerlendirmeye tabi tutulan her bir anomali için (nöral tüp defekti, Down



sendromu, Trizomi 18), kendi koşulları için geçerli sınırları belirlemesi gerekecekti.

- Neticenin MoM birimine dönüştürülmesi, farklı metotları ve birimleri kullanan laboratuvarların elde ettikleri sonuçların mukayese edilebilmesine olanak verir.
- Test neticelerinin gebelik haftasına göre düşük, normal veya yüksek olduğunun hekimler tarafından kolaylıkla değerlendirilmesi ve yorumlanması olanağı sağlanmış olur.
- Annenin vücut ağırlığı, ırkı, insüline bağımlı şeker hastalığı gibi özellikleri için düzeltme işlemlerinin çok daha kolay bir şekilde uygulanması mümkün olur.
- Takip ihtiyacının olması halinde, zaman içindeki değişimin izlenmesi daha kolay hale gelir.

Analiz neticesinin MoM birimi ile karşılığı belirlendikten sonra, **ikinci aşamada**, maternal serumda ölçülen tarama testi parametreleri üzerine etkisi olan faktörlere göre düzeltmeler yapılır. Bu aşamada dikkate alınması gereken, maternal vücut ağırlığı, insüline bağımlı diyabet bulunup bulunmaması, sigara içimi, ikiz gebelik bulunup bulunmaması gibi faktörler için yapılan düzeltme işlemleri, bu bölümün sonraki kısmında açıklanmıştır.

Üçüncü aşamada, normal popülasyon ve açık nöral tüp defektli popülasyon için belirlenmiş olan AFP MoM değerlerinin Gauss dağılımlarından faydalanılması gerekir. Bu dağılımlarla ilgili iki parametrenin bilinmesi gerekir. Bunlar $\log(\text{AFPMoM})$ ve $\log(\text{standart sapma})$ parametreleridir. Bu parametreler, normal ve hastalıktan etkilenen gruplardaki AFP konsantrasyonlarının durumunu gösterir. Bu şekilde, AFP MoM değerleri için belirlenmiş olan farklı cut-off değerlerinin vakaları isabetli olarak belirleme ve yalancı pozitiflik oranlarının hesaplanabilmesi mümkün olur. Bu sayede, testin uygulandığı popülasyonun özelliğine göre en uygun cut-off değerleri seçilebilir. Günümüzde pek çok merkez ve değerlendirme programı, nöral tüp defekti için cut-off değerini 2.0

veya 2.5 olarak kabul eder. Tablo 2.2’de de görüldüğü gibi, normal fetüs taşıyan grupta AFP MoM değeri bütün gebelik haftalarında 1.0 iken, açık spina bifidalı fetüs taşıyan grupta gebelik haftasına göre 2.78 ile 4.04 arasında, anensefali’li fetüs taşıyan grupta ise 4.23 ile 7.17 arasında bulunmaktadır.

Tablo 2.2. Çeşitli fetal anomalilerde maternal serum AFP ve hCG parametrelerinin MoM ve logMoM değerleri.

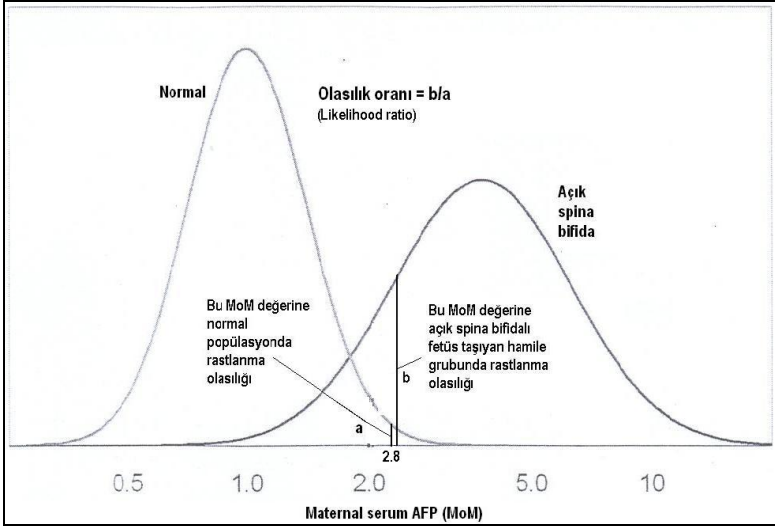
		Log (MoM)	
	Medyan(MoM)	Medyan	SD
Vücut ağırlığına göre düzeltilmiş maternal AFP			
<i>Son adet tarihine göre</i>			
Normal gebelik	1,00	0,0000	0,1976
Down sendromlu fetüs	0,72	-0,1427	0,2052
Açık spina bifida 15.hafta	2,87	0,4581	0,2697
16.hafta	3,61	0,5579	0,2697
17.hafta	4,04	0,6063	0,2697
18.hafta	4,01	0,6034	0,2697
19.hafta	3,54	0,5491	0,2614
20.hafta	2,78	0,4434	0,2614
Anensefali 15.hafta	4,23	0,6262	0,3342
16.hafta	5,64	0,7510	0,3342
17.hafta	6,72	0,8274	0,3342
18.hafta	7,17	0,8554	0,3342
19.hafta	6,84	0,8349	0,2585
20.hafta	5,83	0,7660	0,2585
Trizomi 18’li fetüs	0,60	-0,2218	-
Omfalosele	4,54	0,6571	-
Gastroschisis	7,83	0,8938	-
<i>Ultrasonografi ile ölçülen BPD değerine göre</i>			



Gebelikte Laboratuvar Testleri

Normal gebelik	1,00	0,0000	0,1806
Down sendromlu fetüs	0,72	-0,1427	0,1838
Açık spina bifida 15.hafta	4,11	0,6134	0,2697
16.hafta	5,17	0,7132	0,2697
17.hafta	5,78	0,7617	0,2697
18.hafta	5,72	0,7567	0,2697
19.hafta	5,06	0,7044	0,2614
20.hafta	3,97	0,5987	0,2614
Vücut ağırlığına göre düzeltilmiş maternal hCG			
Son adet tarihine göre			
Normal gebelik	1,00	0,0000	0,2419
Down sendromlu fetüs	2,01	0,3023	0,2681
Ultrasonografi ile ölçülen BPD değerine göre			
Normal gebelik	1,00	0,0000	0,2372
Down sendromlu fetüs	2,01	0,3023	0,2638

Açık spina bifida görülme sıklığı 1:1000 olan bir toplumda, cut-off olarak 2.5 MoM değerinin seçilmesi halinde spina bifida vakalarının %70'i doğru bir şekilde belirlenebilirken yalancı pozitiflik oranı %2 civarında olmaktadır. 10.000 kişiden oluşan bir popülasyonda 10 tane açık spina bifida vakası beklenir. Bu durumda bu 10 vakanın 7'si doğru bir şekilde belirlenirken 200 vakaya yalancı pozitif netice verilecektir. Buna göre, pozitif neticenin gerçekten açık spina bifida bulunduğunu gösterme olasılığının ya da pozitif prediktif değerinin 7:200 yani 1:30 olduğunu söyleyebiliriz.



Şekil 2.2. Hastaya özgü risk olasılık oranının (likelihood ratio) hesaplanması.

Dördüncü aşama, hastaya özgü risk olasılık oranının rakamsal olarak belirlenmesidir. Bu aşamada şahsın MoM değerine sahip popülasyonda hangi olasılıkla açık nöral tüp defektine rastlandığı belirlenir. Bu hesaplamanın yapılabilmesi için hastanın düzeltilmiş logMoM değerinin, açık spina bifidalı bebek taşıyan gebe grubunda ve genel popülasyonda, hangi olasılıkla rastlandığının bilinmesi gerekir. Bir şahsın MSAFP MoM değerinin hangi olasılıkla açık nöral tüp defekti düşündürmesi gerektiğinin hesaplanması için, bu grafikte sahsa ait MoM değerinin bulunduğu noktadan geçen düşey bir doğru çizilir. Bu doğrunun yatay eksenden, hasta ve normalleri içeren alan sınırını kestiği noktaya kadar olan uzaklığının (grafikteki **a** mesafesinin uzunluğu), yine yatay eksenden hastalara ait dağılım eğrisini kestiği noktaya kadar olan uzaklığı (grafikteki **b** mesafesinin uzunluğu) belirlenerek birbirine oranlanır. Bu orana olasılık oranı (likelihood ratio) denir. MSAFP konsantrasyonunun 2.8 MoM olduğunu varsaya-

rak bu hesabı yaparsak olasılık oranı 7 olarak hesaplanır. Bu oran bize AFP MoM değeri 2.8 olan bir gebe kadının açık nöral tüp defektli bir fetüs taşıma olasılığının, genel popülasyona göre 7 kat fazla olduğunu gösterir. Genel popülasyonda açık nöral tüp defektine rastlanma olasılığı 1:1000 ise, söz konusu kadının taşıdığı fetüste açık nöral tüp defekti bulunma olasılığı 7:1000 yani 1:140 olacaktır.

Hesaplama algoritmasının bu şekilde özetlenmesi mümkünse de her bir hasta için risk hesabının manuel olarak yapılması günlük uygulamada mümkün olmadığından laboratuvarların bu işlemleri, bu amaç için yazılmış özel programları kullanarak bilgisayar ortamında yapmaları gerekir. Down sendromu riskinin hesaplanması, birden fazla analiz parametresinin işaret ettiği olasılık oranlarının kombine edilmesini gerektirdiğinden, nöral tüp defekti riski hesabına göre çok daha karmaşık matematiksel işlemler gerektirir. Laboratuvarımızda kullanılmakta olan risk değerlendirme programının olasılık oranı hesabı için kullandığı hesaplama algoritması aşağıda sunulmuştur.

Likelihood Ratio

1. Calculation of $\log_{10}(MoM_{AFP})$, $\log_{10}(MoM_{HCG})$, $\log_{10}(MoM_{E_1})$

2. Definition of Triple Test Vectors, (Double Test in { } brackets)

$$\text{Measurements } x = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \log(MoM_{AFP}) \\ \log(MoM_{HCG}) \\ MoM_{E_1} \end{pmatrix}, \left\{ x = \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \log(MoM_{AFP}) \\ \log(MoM_{HCG}) \end{pmatrix} \right\}$$

$$\text{Population mean } \mu = \begin{pmatrix} \mu_{x_1} \\ \mu_{x_2} \\ \mu_{x_3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} Mean(\log(MoM_{AFP})) \\ Mean(\log(MoM_{HCG})) \\ Mean(MoM_{E_1}) \end{pmatrix}, \left\{ \mu = \begin{pmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \log(MoM_{AFP}) \\ \log(MoM_{HCG}) \end{pmatrix} \right\}$$

$$\text{Population standard deviation } \sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{x_1} \\ \sigma_{x_2} \\ \sigma_{x_3} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} StDev(\log(MoM_{AFP})) \\ StDev(\log(MoM_{HCG})) \\ StDev(MoM_{E_1}) \end{pmatrix},$$

$$\left\{ \sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{x_1} \\ \sigma_{x_2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} StDev(\log(MoM_{AFP})) \\ StDev(\log(MoM_{HCG})) \end{pmatrix} \right\}$$

and covariances

$$V = \begin{pmatrix} \sigma_{x_1}^2 & \rho_{x_1 x_2} \sigma_{x_1} \sigma_{x_2} & \rho_{x_1 x_3} \sigma_{x_1} \sigma_{x_3} \\ \rho_{x_1 x_2} \sigma_{x_1} \sigma_{x_2} & \sigma_{x_2}^2 & \rho_{x_2 x_3} \sigma_{x_2} \sigma_{x_3} \\ \rho_{x_1 x_3} \sigma_{x_1} \sigma_{x_3} & \rho_{x_2 x_3} \sigma_{x_2} \sigma_{x_3} & \sigma_{x_3}^2 \end{pmatrix}, \left\{ V = \begin{pmatrix} \sigma_{x_1}^2 & \rho_{x_1 x_2} \sigma_{x_1} \sigma_{x_2} \\ \rho_{x_1 x_2} \sigma_{x_1} \sigma_{x_2} & \sigma_{x_2}^2 \end{pmatrix} \right\},$$

with $\rho_{x_i x_j}$ = correlation coefficient $x_i x_j$

3. Calculation of Gaussian height

$$f(x) = f \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{pmatrix} = (2\pi)^{-3/2} |V|^{-1/2} \cdot e^{-1/2((x-\mu)^T \cdot V^{-1} \cdot (x-\mu))}$$

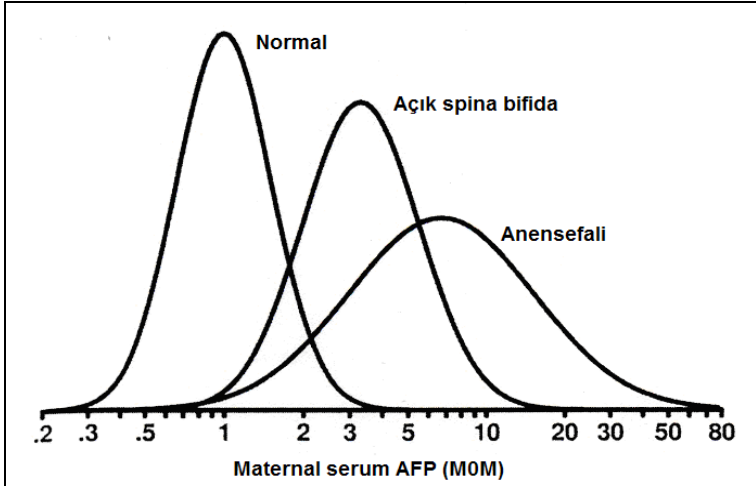
for normals $f_n(x)$ and for Downs $f_d(x)$.

4. Calculation of likelihood ratio

$$L(x) = \frac{f_n(x)}{f_d(x)}$$

5. Risk calculation

$R = a \cdot L(x)$, with a =a priori age risk.



Şekil 2.3. Maternal serum AFP MoM (MSAFP) değerlerinin normal, açık spina bifida'lı ve anensefali'li fetüs taşıyan gebelerde dağılımı.

Maternal serum AFP konsantrasyonuna dayanılarak nöral tüp defekti taraması:

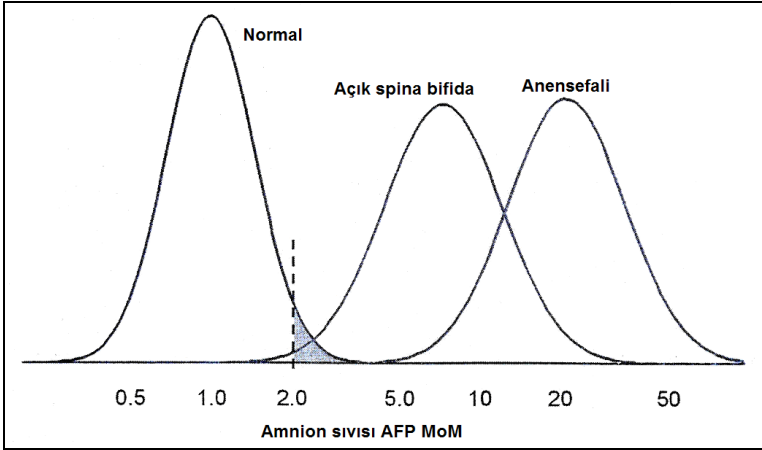
Anne serumundan AFP analizi yapılarak bebekte açık nöral tüp defekti bulunma olasılığını değerlendirmeye yönelik toplum taramaları, 1970'li yılların son döneminde başlamıştır. Araştırmalar, maternal serum AFP konsantrasyonuna dayanılarak açık nöral tüp defekti taramasının, en iyi performansı gebeliğin 16. haftasının sonu ile 18. haftanın sonu arasında kalan dönemde gösterdiğini ortaya koymaktaysa da, mevcut risk değerlendirme programlarının çoğu 14. haftanın sonundan 20. haftaya kadar olan dönem için risk değerlendirmesi yapabilmektedir. Mevcut programlar, hastaya özgü rakamsal risk olasılığını hesaplamaktaysa da, hekimler genellikle AFP MoM değerinin belirli bir sınırı (cut-off) aşıp aşmamasını da dikkate alırlar.

Cut-off MoM değeri 2.0 olarak kabul edildiğinde yalancı pozitiflik oranı %3-5 arasında, 2.5 olarak kabul edildiğinde yalancı pozitiflik oranı %1-3 arasında değişmektedir. Gebelik haftasının

biparietal çap ölçümüne dayanılarak ultrasonografik inceleme ile belirlenmesi durumunda yalancı pozitiflik oranı, yukarıda verilen aralıkların alt sınırına daha yakın olmaktadır. Çünkü , gebelik haftasının gerçek haftadan dk olarak tanımlanması, ikiz gebelik mevcudiyeti ve fetüsün ölümü gibi neticeyi etkileyen durumlar ultrasonografik değerlendirme ile tespit edilebilir. Cut-off MoM değerinin 2.0 olarak kabul edilmesi halinde açık nöral tüp defekti vakalarının %80-85 kadarının, 2.5 olarak kabul edilmesi halinde ise %70-75 kadarının belirlenmesi mümkün olabilmektedir⁽³⁾. Yapılan bir anket alışması, Amerika Birleşik Devletlerinde bu hizmeti veren laboratuvarların %52 kadarının cut-off değeri olarak 2.5 MoM değerini, %30 kadarının 2.0 MoM değerini, diğer kısmının ise bu iki değer arasında başka bir değeri kabul ettiğini göstermiştir⁽²⁴⁾.

Nöral tüp defekti taraması sonucu pozitif çıkan gebelerin takibi:

Maternal serum AFP konsantrasyonuna dayalı olarak yapılan açık nöral tüp defekti taraması sonucunun yüksek riske işaret etmesi durumunda, öncelikle AFP yksekliliğine sebep olabilecek diğer faktörlerin gözden geçirilmesinde yarar olacaktır. Bu amaçla öncelikle gebelik haftasının hesaplama programına doğru olarak girildiği ve ikiz gebelik olmadığı teyit edilmelidir. Bazı merkezler ve uzmanlar, özellikle AFP MoM değerinin 2.0-3.0 arasında bulunmuş olması durumunda, ikinci kez kan rneği alınarak çalışmanın tekrarlanmasını önerir . İkinci kez alınan kan rneği de risk yksekliliğini teyit eder ve AFP yksekliliğini izah eden herhangi bir sebep bulunamazsa, amniyon sıvısında AFP konsantrasyonu, asetilkolinesteraz aktivitesi ölümü ve yüksek çözünürlüklü ultrasonografik inceleme gibi ileri değerlendirmelere ihtiyaç duyulur.



Şekil 2.4. Amnion sıvısında AFP MoM değerlerinin normal, açık spina bifida'lı ve anensefali'li fetus taşıyan gebelerde dağılımı. (Şekil 2.3'teki grafiklerle mukayese edildiğinde, amniyon sıvısından yapılan AFP ölçümünün açık nöral tüp defektlerini belirleme gücünün, maternal serumdan yapılan ölçüme göre daha yüksek olduğu görülmektedir.)

Amniyon mayiinden yapılan AFP ölçüm neticesinin, açık nöral defektli fetus taşıyan anneleri belirlemek açısından değeri, serumdan yapılan ölçüm neticesine göre çok daha yüksektir⁽²⁵⁾. Ancak, amniyon sıvısında AFP yüksekliği, kesin teşhis için tek başına yeterli değildir. Amniyon sıvısının çok az miktarda fetus kanı ile dahi kontamine olması AFP konsantrasyonunda belirgin derecede artışa sebep olur. Bu nedenle amniyon sıvısında AFP konsantrasyonu yüksekliği durumunda, sensitivitenin artırılması için, asetilkolinesteraz aktivitesi mevcudiyetinin de gösterilmesi gerekir. Amnion sıvısında AFP yüksekliği ile birlikte asetilkolinesteraz aktivitesi varlığının gösterilmesi, açık nöral tüp defekti teşhisi için yeterli kabul edilir^(25,26). Ancak amnion mayiinde asetilkolinesteraz aktivitesinin ölçümü ile ilişkili kolay ulaşılabılır laboratuvar hizmetleri her yerde mevcut olmadığı için, ülkemizde açık nöral tüp defekti olasılığının yüksekliğini düşündüren

tarama testi sonuçlarının elde edildiği durumlarda, teşhisin teyidi için daha çok ultrasonografik inceleme sonuçlarından yararlanılır.

Biyokimyasal analizlerle belirlenebilen açık nöral tüp defektleri, ultrasonografik inceleme ile de çoğu zaman kolaylıkla tespit edilebilir. Anensefali, maternal serum AFP konsantrasyonunda belirgin yükselmeye sebep olduğu gibi, ultrasonografik inceleme ile de gözden kaçması mümkün olmayan bir görüntü oluşturur. Anensefali dışındaki açık nöral tüp defektlerinin mevcudiyetinde kafa yapısında meydana gelen tipik değişiklikler ultrasonografik inceleme ile teşhisi kolaylaştırır. Arnold-Chiari malformasyonu adı verilen yapısal değişiklikler sonucunda, normalde yumurta şeklinde görünmesi gereken kafa yapısı limon şeklini alır ve frontal bölgede büzüşme meydana gelir. Bu görünüme “büzüşmüş (pinched) kafatası” denir. Diğer yandan kafatasının transvers çapındaki daralma iki serebellar hemisferin yay şeklinde görünmesine sebep olur. Ultrasonografik incelemede bu görünüm “muz işareti” olarak adlandırılır^(27,28). Ultrasonografik inceleminin nöral tüp defektlerinin tespitindeki yüksek derecedeki başarısı sebebiyle, çoğu zaman teşhisin teyidi amacıyla amniyon sıvısından yapılan inceleme sonuçlarının beklenmesine gerek görülmez.

Maternal serum analizine dayanılarak Down sendromu taraması:

Günümüzde ikinci trimesterde maternal serum analizine dayalı Down sendromu taraması amacıyla, anne yaşına ek olarak AFP, uE3 ve hCG parametreleri kullanılır. Dördüncü parametre olarak dimerik inhibin A'nın (DIA) taramanın performansını artırdığını bildiren araştırmaların mevcudiyetine rağmen, bu parametrenin tam otomatize analiz sistemlerine adapte edilmemiş olması ve dünyada yalnızca iki üretici tarafından üretilen analiz kiti ile çalışma yapılması zorunluluğu, yaygın şekilde kullanılmasını engellemektedir.



Bu parametrelere ait analiz sonuçları elde edildikten sonra sonuçlar, gebelik haftasına uyan medyan değer ile bölünerek MoM değeri elde edilir. Aynen nöral tüp defektleri riskinin hesaplanması işleminde olduğu gibi, vücut ağırlığı, insüline bağımlı diyabet bulunup bulunmaması, sigara içilip içilmemesi gibi annenin özelliğine uyan düzeltmeler uygulandıktan sonra, bilgisayar programları aracılığı ile uygun hesaplama algoritmaları kullanılarak risk hesabı yapılır.

Maternal serum analizine dayalı Down sendromu taraması testinin vaka belirleme ve yanlış pozitiflik oranlarını etkileyen başlıca faktörler, seçilen cut-off değeri, gebelik yaşının ultrasonografik inceleme veya son adet tarihine göre belirlenmiş olması ve teste tabi tutulan kişinin yaşıdır. 2000 yılında gebe kalan Amerikalı kadınların yaş ortalaması dikkate alınarak diğer faktörlerin testin performansını hesaplayan bir araştırmada elde edilmiş olan sonuçlar Tablo 2.3.'te özetlenmiştir⁽¹⁷⁾.

Günümüzde, dünyanın pek çok yerinde ve ülkemizde, maternal serum analizine dayalı Down sendromu taraması programlarında genellikle cut-off olarak 35 yaşındaki bir gebenin yaşından dolayı maruz kaldığı risk seviyesinin kullanılması tercih edilir. Bu sınır, ikinci trimester için 1:270, term için 1:350'dir. Tabloda da görüldüğü gibi, gebelik yaşının belirlenmesinde son adet tarihinin kullanılması durumunda Down sendromu vakalarının %70 kadarının %6.6 yalancı pozitiflik oranı ile belirlenmesi mümkün olabilmektedir. Böyle bir durumda, pozitif bir neticenin gerçekten Down sendromlu fetüsü belirleme oranı ortalama 1:69 olmaktadır. Gebelik yaşının belirlenmesinde ultrasonografik değerlendirilmenin esas alınması durumunda ise yalancı pozitiflik oranında anlamlı bir artış olmamasına karşın Down sendromlu fetüslerin %74'ünün belirlenmesi mümkün olabilmektedir. Aynı araştırma raporunda, üç analiz parametresine dimerik inhibin A'nın da eklenmesi, yani taramanın dördüncü test olarak uygulanması durumunda, %5.1'lik yalancı pozitiflik oranı ile vakaların %78 kadarının belirlenebildiği gösterilmiştir.

Tablo 2.3. İkinci Trimestr Down sendromu tarama uygulamasının klinik performans parametreleri

Risk Cut-off 2.trimestr (term)	Down sendromu Belirleme oranı (%)		Yalancı pozitiflik oranı (%)		Pozitif sonucun doğru olma olasılığı (1:n)	
	LMP	US	LMP	US	LMP	US
150 (200)	61	67	3.6	3.7	43	40
190 (250)	65	70	4.6	4.7	51	49
270 (350)	70	74	6.6	6.5	69	64

Down sendromu tarama testi sonucu pozitif olan gebelerin takibi:

Maternal serum analizine dayalı Down sendromu taraması sonucunun pozitif bulunması, yani cut-off üzerinde bir risk değerinin belirlenmiş olması durumunda öncelikle gebelik haftasının doğruluğundan emin olunması ve neticeyi etkileyebilecek diğer bazı durumların bulunup bulunmadığının belirlenmesi amacıyla ultrasonografik inceleme yapılması düşünülebilir. Gebelik haftasının gerçek değerden daha ileri olarak belirlenmiş olması, risk oranının olması gerekenden daha yüksek hesaplanmasına yol açan en önemli hata kaynaklarından biridir. Çok saygın bir uzman grubu tarafından gerçekleştirilmiş bir araştırmanın, tarama testi neticesi pozitif bulunmuş ve gestasyon yaşı son adet tarihine göre belirlenmiş gebelerin yaklaşık olarak üçte birinde, ultrasonografik inceleme sonrasında neticenin anlamlı derecede değişikliğe uğradığını göstermiş olması konunun önemini göstermektedir⁽¹⁵⁾. Yapılan kontrollerin değerlendirmeye esas alınan bilgilerin doğruluğunu teyit etmesi durumunda, riski oranı yüksek bulunan gebelere amniyosentez işlemi önerilir. Her ne kadar ense kıvrım kalınlığı, femur ve humerus uzunluğu gibi ultrasonografik inceleme parametrelerinin, Down sendromu riski-



ni değerlendirmede yararlı olduğu bilinse de, bu parametrelerin normal sınırlar içinde bulunması genellikle ileri inceleme kararından vazgeçilmesi için yeterli bir neden olarak kabul edilmez⁽²⁹⁾. Down sendromu kesin teşhisinin tek yolu fetüse ait hücrelerden karyotip analizi yapılmasıdır. Ancak fetüse ait hücrelerin elde edilmesi amacıyla yapılan amniyosentez işleminin enfeksiyon, fetüse zarar verme ve düşüğe neden olma gibi risklerinin bulunması, bu kararın dikkatli bir şekilde verilmesini gerektirmektedir. Testin uygulanmasından beklenen yararın, maruz kalınan riskten ağır bastığının düşünülmesi durumunda amniosentez işleminin yapılmasına karar verilir. Merkezden merkeze farklılık gösterebilmekle birlikte, bu konuda tecrübeli uzmanlar tarafından, ultrasonografi eşliğinde yapılan amniyosentez işleminin yaklaşık olarak 200'de bir oranında fetüs kaybı riski taşıdığı bildirilmektedir⁽³⁰⁾.

Maternal serum analizine dayanılarak Trizomi 18 taraması:

Trizomi 18, Down sendromuna göre çok daha seyrek olarak rastlanan, ancak çok daha ağır defektlere sebep olan bir anomali. Görülme sıklığı Down sendromu sıklığının yaklaşık 10'da biri kadardır. Aynı zamanda canlı doğum olasılığını belirgin derecede azaltan bir anomali olduğundan, yalnızca bu anomalinin araştırılmasına yönelik özel tarama programları uygulanmaz. Nöral tüp defekti ve Down sendromu riskini değerlendirmek amacıyla yapılan maternal tarama testi parametrelerinin değerlendirilmesi, Trizomi 18 riski hakkında da yeterince yönlendirici bilgiler sağlar. Trizomi 18'li fetüs taşıyan gebelerin serumlarından yapılan analizlerde tipik olarak AFP, uE3 ve hCG konsantrasyonları beraberce ve belirgin derecede düşük bulunur⁽²¹⁾.

Mevcut risk değerlendirme programlarında risk sınırı olarak 1:100 kabul edilmektedir. Bu koşullarda vakaların %60'ının yaklaşık %0.5 yalancı pozitiflik oranı ile belirlenebildiği bildirilmektedir. Böyle bir uygulama ile risk oranı yüksek bulunan yaklaşık

olarak her 16 gebenin birinde amniyosentez neticesinde Trizomi 18'li fetüs tespit edilmektedir⁽²³⁾.

Trizomi 18 tarama testi sonucu pozitif olan gebelerin takibi:

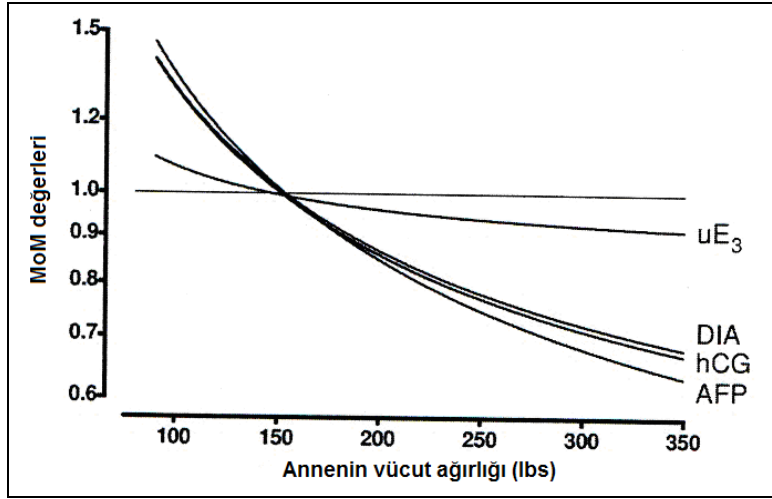
Hatalı gestasyon yaşının, Down sendromu riskinin hesaplanmasında olduğu kadar önemli yanlışlığı kaynağı olmaması nedeniyle, uzmanların çoğu trizomi 18 riskinin yüksek bulunması halinde ultrasonografik inceleme ile gebelik haftasının teyidinin gerekli olmadığını düşünmektedir^(21,31). Down sendromu ile mukayese edildiğinde çok daha ağır bir tablo olması sebebiyle, ultrasonografik inceleme ile trizomi 18 olasılığını destekleyen ilave bilgiler temin edebilir⁽³²⁾. Trizomi 18'li fetüslerde kalp defektlerinin çok daha sık görüldüğü ve ellerin pençeye benzer bir görünüm sergilediği bilinse de kesin teşhis için yine amniyosentez ve karyotip analizi yapılması gereklidir.

ÇEŞİTLİ FAKTÖRLERİN, MATERNAL TARAMA TESTİ PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Maternal vücut ağırlığının analiz parametreleri üzerine etkisi:

Maternal vücut ağırlığının artmasıyla analiz parametrelerinin ortalama konsantrasyonlarında düşme meydana gelmektedir. Bu değişikliğin, sabit miktardaki analitin daha fazla maternal plazma içinde dağılması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu durumda, maternal vücut ağırlığı dikkate alınmadan yapılacak değerlendirmelerde, MoM değerlerinin vücut ağırlığı fazla olan kadınlarda gerçek değerlerin altında, vücut ağırlığı düşük olan kadınlarda ise gerçek değerlerin üzerinde hesaplanacağı sonucu ortaya çıkmaktadır. Vücut ağırlığının maternal AFP, hCG ve dimerik inhibin A konsantrasyonları üzerine olan etkileri daha belirgin olduğu halde, uE3 konsantrasyonu üzerine olan etkisi nispeten daha azdır.

Bu bilgilere dayanılarak, nöral tüp defekti riskinin vücut ağırlığı fazla olan kadınlarda gerçek değerden daha az, vücut ağırlığı düşük olan kadınlarda ise gerçek değerden daha fazla hesaplanacağı söylenebilir.



Şekil 2.5. İkinci trimester Down sendromu tarama testi parametrelerinin maternal vücut ağırlığı ile ilişkisi (100lbs≈45kg, 200lbs≈90kg, 300lbs≈136kg).

Diğer yandan, açık spina bifida'lı çocuk doğurma riskinin obez kadınlarda 3-4 kat yüksek olduğu dikkate alınır, bu konuda hassasiyet gösterilmesinin önemi daha iyi anlaşılabilir⁽³³⁾. Annenin vücut ağırlığı ile Down sendromu riski arasında ise herhangi bir ilişki olmadığı bildirilmektedir.

Tablo 2.4 . Vücut ağırlığına göre düzeltme yapılırken kullanılan değişkenlerin değerleri.

Parametre	A	B
AFP ⁽¹⁾	0,28152	48,38095
hCG ⁽¹⁾	0,41667	39,21723
uE3 ⁽¹⁾	0,73482	17,78367
Free Beta HCG ⁽²⁾	0,67272	19,654
PAPP-A ⁽²⁾	-0,19119	74,646

Kaynaklar: (1)Neveux LM. Refinements in managing maternal weight adjustment. Prenatal Diagnosis 1996,16:1115-1119. (2) De Graaf. Early pregnancy screening for fetal aneuploidy. Prenatal Diagnosis 1999,19:458-462

Risk değerlendirme programlarında vücut ağırlığı ile ilişkili düzeltme işlemi aşağıdaki matematiksel denkleme uygun olarak yapılır:

$$\text{Düzeltilmiş MoM} = 1 / [(a+b/\text{Ağırlık}_{\text{Kg}})] * \text{MoM}$$

Bu formüldeki a ve b parametreleri için kullanılacak değerlerin, laboratuvar tarafından kendi koşullarına uygun şekilde belirlenebileceği belirtilse de genellikle program yazarları tarafından literatür bilgisine dayanılarak seçilmiş bilgiler kullanılır. Laboratuvarımızda kullanılmakta olan risk değerlendirme programında a ve b değişkenleri için kullanılan değerler Tablo 2.4'te verilmiştir.

İrk faktörü:

Amerikan toplumunda yapılan değerlendirmeler, AFP ve hCG konsantrasyonlarının Afrika kökenlilerde, Avrupa kökenlilere göre %15-20 kadar daha yüksek bulunduğunu göstermektedir⁽³⁴⁾. Buna karşılık sarı ırkta bu parametreler çok daha az oranda fark gösterir. uE3 konsantrasyonu ise, Afrika kökenlilerde anlamlı bir fark göstermediği halde, sarı ırka mensup gebelerde %10'a yakın oranda yüksek bulunur.

Tablo 2.5. Irk faktörüne göre düzeltme yapılırken kullanılan katsayılar (K).

Parametre	Irak	Vücut ağırlığı düzeltilmesi sonrası	Vücut ağırlığı düzeltilmesi öncesi
AFP ⁽¹⁾	Afrikalı	1,15	1,17
	Sarı ırk	0,94	1,02
hCG ⁽¹⁾	Afrikalı	1,18	1,12
	Sarı ırk	1,06	1,12
uE3 ⁽¹⁾	Afrikalı	1,00	0,99
	Sarı ırk	1,07	1,11
Free beta hCG ⁽²⁾	Afrikalı	1,21	1,19
	Sarı ırk	1,04	1,19
PAPP-A ⁽²⁾	Afrikalı	1,57	1,48
	Sarı ırk	1,17	1,35

Kaynaklar: (1) Health Technology Assessment 1998;Vol.2, No:1. (2)Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Nicolaides KH. The influence of ethnic origin on first trimester biochemical markers of chromosomal abnormalities.

Irak faktörünün birinci trimesterde uygulanan Down sendromu tarama parametreleri üzerine olan etkisinin daha belirgin olduğu görülmektedir. Vücut ağırlığına dayalı düzeltme yapılmamış halde free beta hCG konsantrasyonu her iki ırk grubunda da %19 oranında, PAPP-A konsantrasyonu ise Afrika kökenlilerde %48, sarı ırkta %35 oranında yüksek bulunmaktadır. Vücut ağırlığına göre düzeltme yapıldığında, beyaz ırka göre olan farklar, siyah ırkta daha belirgin hale gelirken, sarı ırkta daha düşük bir seviyeye inmektedir. Tablo 2.5'te ırka dayalı düzeltme yapılması sırasında kullanılmakta olan katsayılar görülmektedir. Düzeltilmiş



MoM değerinin hesaplanması için, hasta için belirlenen MoM değeri tabloda verilen katsayıya bölünür.

$$\text{Düzeltilmiş MoM} = (1/K) * \text{MoM}$$

Mevcut bilgiler yeterli olmadığından veya aksini gerektirecek yeterli bilgi birikimi bulunmadığından, halen kullanılmakta olan değerlendirme programlarında diğer ırklar ve etnik gruplar için düzeltme faktörü uygulanmamaktadır.

Down sendromu'na rastlanma sıklığında ırka bağlı farklılıkların bulunmamasına karşın, açık nöral tüp defektli bebek doğurma riskinin, aynı coğrafi bölgede yaşayan beyaz ırka mensup kadınlarda, siyah ırka mensup kadınlara göre yaklaşık iki kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu farklılık nedeniyle açık nöral tüp defektli riski değerlendirilirken siyah ırka mensup kadınlar için risk sınırı (cut-off) değeri biraz daha yüksek tutulabilir.

Annele insüline bağımlı diyabet bulunmasının etkisi:

Konuyla ilgili ilk raporlarda gebelik öncesinde insüline bağımlı diyabeti olan kadınlarda, gebelik sırasında serum AFP konsantrasyonlarının yaklaşık %20 civarında düşük bulunduğu bildirilmiştir⁽³⁴⁾. Bu bilgiye dayanılarak mevcut programlarda, hesaplanarak bulunan AFP MoM değeri düzeltme işlemine tabi tutulmaktadır. Laboratuvarımızda kullanılan risk değerlendirme programında insüline bağımlı diyabeti olanlar için yapılan düzeltme işleminde, hesaplanarak bulunan AFP MoM değeri 0.78'e bölünmektedir.

$$\text{MoM AFP}$$

$$\text{Düzeltilmiş AFP MoM} = \frac{\text{MoM AFP}}{0.78}$$

Kaynak: Henriques CU, Damm P, Tabor A, Pedersen JF, Pedersen LM. Decreased AFP in amniotic fluid and maternal serum in diabetic pregnancy. Obstet Gynecol 1993;82:960-964.

Nispeten daha yeni bir araştırmada ise insüline bağımlı diyabeti olan gebelerde, serum AFP konsantrasyonunun sanıldığı gibi düşük bulunmadığı tespit edilmiş ve günümüzde kan glukoz



konsantrasyonlarının eskiye göre çok daha iyi bir şekilde kontrol edilmesinin bu farkı ortadan kaldırdığı ileri sürülmüştür⁽³⁵⁾. Aynı araştırmanın raporunda dikkatli bir şekilde izlenen ve kan glukoz konsantrasyonu arzu edildiği şekilde kontrol altında tutulan gebeler için herhangi bir düzeltici işleme gerek olmadığı şeklinde bir öneri getirildiği görülmektedir. Bu nedenle düzeltme faktörünün uygulanmasına gerek olup olmadığını şahsı izlemekte olan hekime danışarak belirlemekte yarar olacaktır.

Mevcut bilgilere göre gebelik öncesinde insüline bağımlı diyabeti olmayıp, gebelik sırasında insülinle tedavi edilmek zorunda kalan hastalar için herhangi bir düzeltme işlemine gerek yoktur.

İnsüline bağımlı diyabeti olan gebelerde serum uE3 konsantrasyonunun ortalama %8, serum hCG konsantrasyonunun ise ortalama %7 civarında daha düşük bulunduğunun belirlenmiş olmasına karşın, bu değişikliklerin birbirini dengelemesi nedeniyle, Down sendromu riskinin değerlendirilmesi sırasında bu parametreler için bir düzeltme işlemi yapılmasına gerek görülmektedir. İnsüline bağımlı diyabetin, gebelik sırasında dimerik inhibin A konsantrasyonu üzerine etkisi hakkındaki araştırmalarda ise birbiri ile uyumlu olmayan neticelerin elde edilmiş olduğu görülmektedir. Mevcut araştırmalarda, bu grupta yer alan gebelerde dimerik inhibin A'nın ortalama MoM değerinin 0.91 ile 1.17 arasında değiştiği, ağırlıklı ortalamanın 1.06 olduğu ve bu nedenle de herhangi bir düzeltici işleme gerek olmadığı bildirilmektedir⁽³⁶⁾.

İnsüline bağımlı diyabeti olan kadınların Down sendromlu bebek doğurma risklerinin normal popülasyondan anlamlı derecede fark göstermediği bilindiği halde, nöral tüp defektli bebek doğurma sıklığının beş kattan daha fazla olduğu bildirilmektedir^(37,38). Bu nedenle, insüline bağımlı diyabeti olan gebelerde açık nöral tüp defekti riski değerlendirilirken AFP MoM değeri için risk sınırının daha düşük tutulması önerilmektedir.

Annenin sigara içmesinin etkisi:

Mevcut araştırmaların, maternal serum analizine dayalı risk değerlendirme parametrelerinin sigara içiminden etkilendiğini göstermesi nedeniyle, risk hesabı yapılırken sigara içiminin de bir faktör olarak dikkate alınması önerilmektedir

Tablo 2.6. Annenin sigara içmesi halinde düzeltme yapılırken kullanılan katsayılar.

Parametre	Katsayı (K)
AFP ⁽¹⁾	1,03
hCG ⁽¹⁾	0,785
uE3 ⁽¹⁾	0,97
Free beta hCG ⁽²⁾	1,00
PAPP-A ⁽²⁾	0,85

Kaynaklar: (1)Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE, Canick JA, Wald NJ, Kennard A. Cigarette smoking and levels of maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated estriol, and hCG: impact on Down syndrome screening. Obstet Gynecol 1993;81:675-678. (2)Spencer K. The influence of smoking on maternal serum PAPP-A and free beta hCG levels in the first trimester of pregnancy. Prenat Diagn 1999;19:1065-1066.

Laboratuvarımızda kullanılan risk değerlendirme programında, sigara içiminin söz konusu olması durumunda Tablo 2.6'da verilen katsayılar kullanılarak gereken düzeltme işlemi uygulanmaktadır.

$$\text{Düzeltilmiş MoM} = (1/K) * \text{MoM}$$

Tabloda da görüldüğü gibi, birinci trimestrde PAPP-A, ikinci trimestrde ise hCG, sigara içiminden en çok etkilenen analiz parametrelerini oluşturmaktadır. İkinci trimestrde ölçülen hCG değerinin belirgin derecede düşük olmasına rağmen, birinci trimestrde ölçülen free beta hCG'nin sigara içmeyenlerde fark göstermemesi dikkat çekicidir.

Tarama testinin ikiz gebeliklerde açık nöral tüp defekti riskini belirleme performansı:

Tek fetüslü gebeliklerle mukayese edildiğinde, ikiz gebeliklerde maternal AFP konsantrasyonunun yaklaşık 2 kat arttığı, yani ortalama MoM değerinin 2 civarında olduğu bildirilmektedir⁽³⁴⁾. Spina bifidalı fetüs taşımakta olan tekiz gebelerde serum AFP MoM değeri ortalamasının 3.5 olduğu dikkate alınır⁽³⁾, ikiz gebeliklerde fetüslerden yalnızca birinde açık spina bifida bulunması halinde MoM değerinin, 4.5 civarında olması beklenir (3.5 MoM spina bifidalı bebekten, 1 MoM normal bebekten olmak üzere). Böyle bir durumda toplam değer her bir fetüse eşit olarak paylaştırılması halinde, tarama testinin etkilenen ve etkilenmeyen fetüsleri ayırt etme gücünün azalacağı açıktır. İkiz gebeliklerde rastlanan nöral tüp defektlerinin %95 sıklıkla yalnızca bir fetüsü etkilediği dikkate alınır⁽³⁾, böyle durumlarda testin performansında belirgin derecede düşme olduğu söylenebilir.

İkiz gebeliklerde Down sendromu riskini belirleme performansı:

Prenatal risk değerlendirmesinin yüksek bir performans ile yapılabilmesi için, her bir analiz parametresinin defektten etkilenen ve etkilenmeyen bebeklerdeki dağılımının belirlenmiş olması gerekir. Uygun cut-off seçimi ise değerlendirmeye konu olan defektin o popülasyondaki sıklığının doğru bir şekilde bilinmesi ile mümkündür. Analiz parametrelerinin konsantrasyon dağılımı ve dolayısıyla medyan değerleri ile ilgili olarak, her iki fetüsün de normal olduğu ikiz gebelikler için, yeterli bilgi birikimi bulunduğu halde, Down sendromlu fetüs taşıyan ikiz gebe kadınlar için mevcut bilgi birikimi aynı seviyede yeterli değildir. Her iki fetüsün de normal olduğu gebeliklerde ortalama MoM değerleri, AFP için 2.0, uE3 için 1.7, hCG için 1.9, DIA için 2.0 olarak bildirilmektedir⁽³⁴⁾. İkiz gebeliklerde uE3'ün oransal olarak diğer parametrelere göre daha düşük olması, kısmen annenin metabolizmasına bağlı olması ile izah edilmektedir.

İkiz gebeliklerin yaklaşık üçte birinin monozigotik, üçte ikisinin dizigotik olduğu dikkate alınarak yapılan teorik hesaplamalar, ikiz gebeliklerde Down sendromlu bebek doğurma riskinin %67 daha yüksek olabileceğini düşündürse de, mevcut yayınlar gerçek yaşamda oranın bu kadar yüksek olmadığını göstermektedir. Yayınlardan birinde bu oranın tekiz gebeliklere göre yalnızca %20 oranında yüksek olduğu bildirilirken⁽³⁹⁾, bir başka yayında ise anlamlı bir fark bulunmadığı bildirilmektedir⁽⁴⁰⁾. Bu durum, her biri düşük riskini artıran iki özellik olan Down sendromu ve ikiz gebeliğin bir araya gelmesinin, canlı doğum olasılığını azaltması ile izah edilmektedir. Monozigotik ikiz gebeliklerde her iki fetüs de etkilendiği halde, dizigotik ikiz gebeliklerde yalnızca bir fetüs etkilenebilir. Yalnızca bir fetüsün Down sendromlu olup, diğerinin normal olması, testin performansını belirgin derecede azaltmaktadır. Bütün bu sorunlar nedeniyle ikiz gebelikler için yapılan Down sendromu riski hesaplaması sonucu “yaklaşık risk” veya “psödorisk” olarak adlandırılmakta ve neticenin rapor edilmesi sırasında bu ifadelerin kullanılması önerilmektedir. İkiz gebelikler için yapılan değerlendirmenin zaafiyetleri göz önüne alınırsa, üçüz hatta dördüz gebelikler için yapılacak değerlendirmelerin çok daha az güvenilir olacağı açıktır.

İkiz gebeliklerde risk değerlendirmesi

Mevcut risk değerlendirme programlarında ikiz gebelikler için risk hesabı yapılırken, birinci aşamada, tek fetüslü gebe popülasyonu kullanılarak hesaplanmış olan mevcut medyan değerler kullanılarak MoM değerleri belirlenir. İkinci aşamada, aşağıdaki Tablo 2.7’de verilen katsayılar kullanılarak her bir analiz parametresi için MoM değerinde gereken düzeltme işlemi uygulanır. Bundan sonra ise hesaplama aynen tek fetüslü gebeliklerde olduğu gibi sürdürülür. Elde edilen risk oranları değerlendirilirken, tek fetüslü gebelikler için belirlenmiş olan cut-off değerlerine dayanılarak karar verilir.

Tablo 2.7. İkiz gebeliklerde düzeltme yapılırken kullanılan katsayılar

Parametre	Katsayı (K)
AFP ⁽¹⁾	2,13
hCG ⁽¹⁾	1,84
uE3 ⁽¹⁾	1,67
Free beta hCG ⁽²⁾	2,167
PAPP-A ⁽²⁾	1,86

Kaynaklar: (1)Wald N, Cuckle H, Wu TS, George L. Maternal serum unconjugated oestriol and human chorionic gonadotrophin levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's syndrome. Br J Obstet Gynecol 1991;98:905-908. (2)Spencer K, Salonen R, Muller F. Down's syndrome screening in multiple pregnancies using alpha-fetoprotein and free beta hCG Prenat Diagn 1994;14:537-542.

Down sendromu için prenatal risk değerlendirmesi amacıyla kullanılabilecek diğer analiz parametreleri:

İkinci trimestrde prenatal Down sendromu riski taraması amacıyla AFP, hCG ve uE₃'e ek olarak kullanılabilecek çok sayıda analiz parametresinin önerilmiş olmasına rağmen, bunlardan yalnızca serum dimerik inhibin A (DIA) ölçümünün, testin performansı üzerine olumlu katkıda bulunabileceği bildirilmektedir^(17,41). Kanda hCG'in serbest alfa ve beta alt üniteleri^(8,42,43) ve β 1-glikoprotein⁽⁴⁴⁾, idrarda ise hCG'in bir metaboliti olan üriner gonadotropin peptit ve invazif trofoblast antijen (ITA), üzerinde en çok çalışılan parametreler olmuştur. Üriner gonadotropin peptit ile ilişkili ilk araştırmalarda %5'lik yalancı pozitiflik oranına karşın %80'lik sensitiviteye ulaşılabilmesinin iddia edilmesine karşın^(24,45), sonraki araştırmalarda bu performans düzeyinin teyit edilebilmesi mümkün olmamıştır. Aynı şekilde invazif trofoblast antijen için de ilk araştırmalarda rapor edilen yüksek performans düzeyinin⁽⁴⁶⁾, daha sonraki araştırmalarda tekrarlanamadığı görülmüştür⁽⁴⁷⁾. Kısa bir zaman önce yayınlanan retrospektif bir

araştırma raporunda mevcut çok parametrelili risk değerlendirme programlarında yer alan hCG veya serbest β -hCG subünitesi yerine invazif trofoblast antijeninin kullanılmasının performansı daha fazla artırdığının gösterilmiş⁽⁴⁸⁾ olmasına rağmen, bu konuda nihai bir karara varılabilmesi için halen devam etmekte olan prospektif bir araştırmanın neticesinin beklenmesi gerekecektir.

GEBELİĞİN BİRİNCİ TRİMESTRİNDE DOWN SENDROMU TARAMASI

Genel olarak ikinci trimestrdeki prenatal taramanın 16-18. haftalar arasında uygulanması tavsiye edildiği halde, mevcut risk değerlendirme programları 15-20 ve hatta daha ileri haftalar için de risk hesaplaması yapabilme olanağı vermektedir. Tarama neticesinin pozitif çıkması halinde yapılacak işlemlerin de ilave vakit gerektirmesi ve ilerleyen haftalarda karar verme sürecinin daha da zor hale gelmesi, birinci trimestrde uygulanabilecek tarama testlerinin geliştirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmıştır.

Bazı ultrasonografik değerlendirme bulgularının ve bazı serum parametrelerinin, birinci trimestrde Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerin belirlenmesine yardımcı olabileceği bilinmektedir. Normal gebelerle mukayese edildiğinde, Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerin serumundan 10-13. haftalar arasında yapılan analizlerde, PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein-A) konsantrasyonu düşük, free β -hCG konsantrasyonu ise yüksek bulunur⁽⁴⁹⁾.

Serum PAPP-A konsantrasyonu gebelik sırasında birinci trimestrde süratli bir artış gösterir. Mevcut araştırmalardan birinde, gebeliğin 9. haftasında 402.5 mIU/L olan PAPP-A medyan konsantrasyonunun 13. haftada 4034 mIU/L'ye yükseldiği belirlenmiştir⁽⁴⁹⁾. Gebelik haftasına göre değişiklik göstermekle birlikte, Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerde PAPP-A için ortalama MoM değerinin genellikle 0.5'ten düşük bulunduğu görülmektedir⁽⁵⁰⁾. Gebeliğin 11. haftasında tek başına Down sendromunu



belirleme oranı %58 olduğu halde, 13. haftada yaklaşık yarı yarıya düşerek %27'ye iner (Tablo 2.8).

İkinci trimestr Down sendromu taramasında kullanılan bir parametre olan intakt hCG'nin tek başına belirleme gücü 11. haftada çok düşük (%5) olduğu halde, 13. haftada makul bir seviyeye (%41) yükselir (Tablo 2.8). İntakt hCG ile mukayese edildiğinde serbest haldeki β hCG alt ünitesinin belirleme gücünün daha yüksek olduğu görülmektedir. Free β -hCG'nin tek başına Down sendromlu fetüsleri belirleme oranı 10. haftada %19 olduğu halde, 13. haftada %44'e ulaşmaktadır (Tablo 2.8.). Serum free β hCG konsantrasyonu, birinci trimestr boyunca lineer bir düşme gösterir. Araştırmalardan birinde 9. haftada 37.0 $\mu\text{g/L}$ olan free β hCG konsantrasyonunun 13. haftada 18.2 $\mu\text{g/L}$ 'ye indiği bildirilmektedir⁽⁴⁹⁾.

Birinci trimestrde Down sendromu taraması amacıyla kullanılabilecek en uygun maternal serum parametrelerinin PAPP-A ve free beta-hCG olduğu bildirilmektedir. Çeşitli araştırmalar, bu kombinasyon ile %5'lik yalancı pozitiflik oranıyla, Down sendromu vaklarının %60-68 arasında değişen kısmının belirlenebileceğini göstermiştir⁽⁵⁰⁻⁵⁴⁾.

Tablo 2.8. Birinci trimestrin değişik haftalarında, çeşitli parametrelerin tek başlarına Down sendromunu belirleme performansı (%)

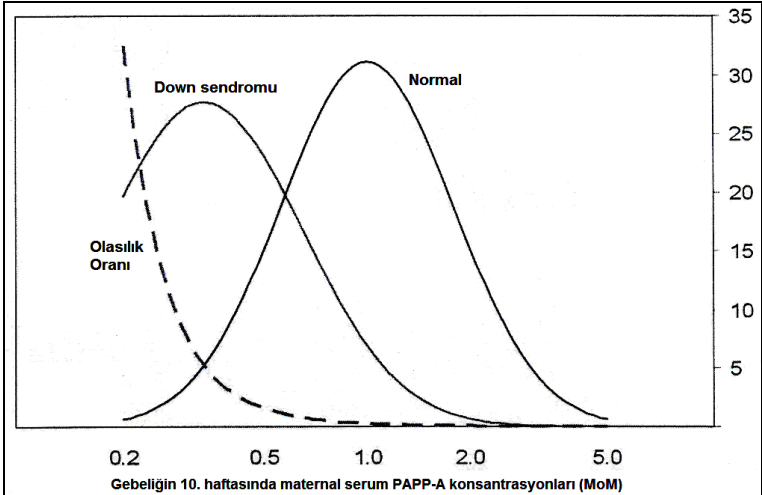
Parametre	10.hafta	11.hafta	12.hafta	13.hafta
NT	51	59	62	62
Serum uE3	13	21	29	37
Serum total hCG	5	15	26	41
Serum free beta hCG	19	28	35	44
Serum DIA	5	16	30	46
Serum PAPP-A	58	45	35	27

Kaynak: Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine, and Ultrasound Screening Study (SURUSS). J Med Screen 2003;10:56-104.

Diğer yandan, ense saydamlığı (nuchal translucency) olarak adlandırılan, fetüsün servikal omurgası ile cilt altı arasındaki mesafenin de Down sendromlu fetüslerde arttığı ve yalnızca bu ölçüm neticesine dayanılarak Down sendromu vakalarının %60'a yakın kısmının %5 yalancı pozitiflik oranı ile belirlenebileceği bildirilmiştir⁽⁵⁵⁾. Yalnızca Down sendromuna spesifik bir bulgu olmamakla birlikte, bu bilgi bize ense saydamlık ölçümünün Down sendromu taramasında tek başına en yüksek belirleme gücüne sahip parametre olduğunu göstermektedir. Ultrasonografi bulgularının ve kan analiz neticelerinin, Down sendromu riskinin araştırılması amacıyla, tek başlarına arzu edilen performans düzeyine ulaşamaması nedeniyle bu iki grup bulgunun bir arada kullanılması denenmiştir. Wald ve Hackshaw isimli araştırmacıların 1997 yılında yayınladıkları araştırmanın sonuçları, birinci trimesterde ultrasonografik inceleme ve biyokimya bulgularının beraberce kullanılması halinde Down sendromu taramasında %85 belirleme oranına ulaşılabilirliğini ve yalancı pozitiflik oranının ise yine %5 civarında kalacağını göstermiştir⁽⁵⁵⁾. Başlangıçta daha çok Avrupa ülkelerinde kullanılan birinci trimester Down sendromu taraması, günümüzde Amerika Birleşik Devletlerinde ve dünyanın diğer kısımlarında gittikçe artan bir yaygınlıkla kullanılmaktadır.

Down sendromu taramasının erken dönemde yapılmasının sağladığı önemli avantajlar bulunsa da, uygulama ile ilgili bazı kısıtlılıklar da mevcuttur. NT ölçümü, rutin ultrasonografik incelemeye göre daha fazla hassasiyet gerektiren bir işlemdir. Uzman hekimlerin önemli bir kısmı bu ölçümü daha güvenilir ve standartlara uygun olarak gerçekleştirmek amacıyla meslek içi

eğitim faaliyetlerine katılmaktaysa da, ülkenin her yerinde bu ölçümü yeterince güvenilir şekilde yapabilecek hekim bulmak bazen mümkün olmayabilir. Yalnızca NT ölçümü için bu konuda uzmanlaşmış bir hekimden hizmet alınması tarama işleminin maliyetini artıran bir unsur olarak kabul edilmektedir.

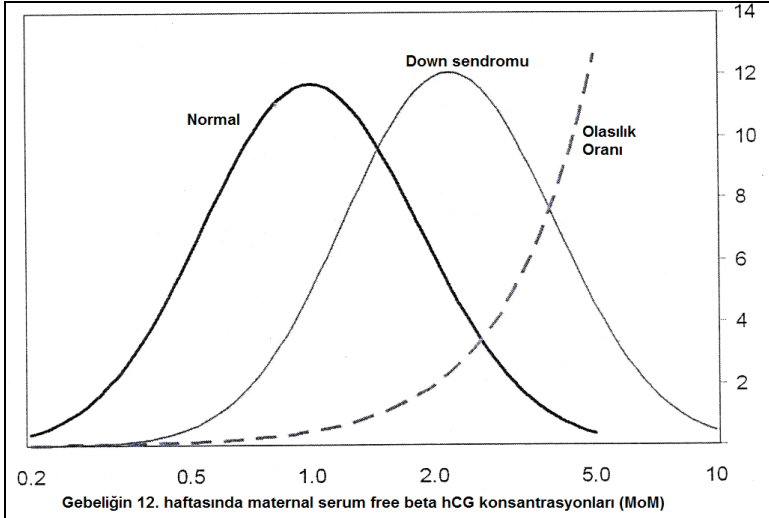


Şekil 2.6. Gebeliğin 10. haftasında maternal PAPP-A konsantrasyonunun normal ve Down sendromlu fetus taşıyan gruplardaki dağılımı ve PAPP-A MoM değerlerinin, Down sendromu riski açısından karşılık geldiği olasılık oranları.

Birinci trimestrde uygulanan tarama testinin, karyotip analizine geçilmesini gerektirecek bir netice vermesi durumunda, numunenin korionik villus biyopsisi ile alınması ihtiyacı ortaya çıkacaktır. İkinci trimestrde uygulanan amniosentez işlemi ile mukayese edildiğinde korionik villus biyopsisi daha fazla risk taşımaktadır⁽⁵⁶⁾. Diğer yandan, korionik villus biyopsisi konusunda yeterli tecrübe birikimine sahip uzman sayısı da daha azdır.

NT değeri yüksek olan Down sendromlu fetus taşıyan gebelerde, NT değeri normal olan Down sendromlu fetus taşıyan ge-

belere göre spontan düşük daha sık görülür⁽⁵⁷⁾. Bu nedenle hadiseye canlı olarak doğacak Down sendromlu bebeklerin belirlenmesi açısından bakacak olursak, birinci trimestrde uygulanan tarama testinin gerçek performansının beklenenden daha düşük olduğunu söylemek mümkündür^(58,59).



Şekil 2.7. Gebeliğin 12. haftasında maternal free beta hCG konsantrasyonunun normal ve Down sendromlu fetus taşıyan gruplardaki dağılımı ve free beta-hCG MoM değerlerinin, Down sendromu riski açısından karşılık geldiği olasılık oranları.

İkinci trimestrde yapılan taramada, Down sendromu riski ile birlikte açık nöral tüp defekti riski de değerlendirilmektedir. Oysa uygulamanın birinci trimestrde yapılması halinde, açık nöral tüp defekti riskinin değerlendirilmesi amacıyla ikinci trimestrde anne kanından AFP çalışması yapılması gerekli olacaktır. İkinci trimestrde yapılan tarama işlemi ile mukayese edildiğinde, bazı kısıtlılıkları bulunsa da, daha erken dönemde ve daha yüksek sensitivite ile risk değerlendirmesi yapma olanağı vermesi nede-



niyle birinci trimestr Down sendromu taraması gün geçtikçe daha yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Birinci ve ikinci trimestrde yapılan taramaların integre edilerek tek bir test olarak kullanılması:

Birinci ve ikinci trimestrde uygulanan tarama testlerinin bera-berce değerlendirilmesi durumunda, tek başına kullanılmalarına göre daha yüksek duyarlılık ve daha düşük yalancı pozitiflik oranı ile değerlendirilme yapılabileceği düşüncesi ilk kez, 1999 yılında Wald ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür. Bu araştırma grubu, birinci trimestrde PAPP-A ve NT ölçümü, ikinci trimestrde ise AFP, uE3, hCG ve DIA ölçümü yapılmasından sonra bu altı parametreye ait sonuçların entegre edilerek tek bir risk oranı belirlenmesi halinde, Down sendromu vakalarının %85'inin %1 yalancı pozitiflik oranı ile belirlenebileceğini ileri sürmüştür. Daha sonra bu projenin üyelerinin de aralarında bulunduğu bir araştırma grubu tarafından gerçekleştirilen ve SURUSS olarak adlandırılan bir araştırmanın sonuçları, klinik uygulama koşullarında da bu hedefe ulaşılabilceğini göstermiştir⁽⁶⁰⁾.

MATERNAL SERUM ANALİZLERİNE DAYANILARAK YAPILAN TARAMA TESTLERİNDE KULLANILAN PARAMETRELER

1. ALFA FETOPROTEİN

Molekül ağırlığı, albümin gibi yaklaşık 70,000 civarında olan alfa-fetoprotein (AFP), ilk kez 1956 yılında fetüs serumu kullanılarak yapılan protein elektroforezi çalışması sonucunda, Bergstrand ve Czar isimli araştırmacılar tarafından tanımlanmıştır⁽⁶¹⁾. Fetal yaşamda serum proteinlerinin önemli bir komponentini oluşturması ve protein elektroforezinde alfa fraksiyonunda yer alması sebebiyle bu şekilde isimlendirilen alfa-fetoproteini kodlayan gen, 4. kromozomda albümini kodlayan genin çok yakınında bulunur⁽⁶²⁾.

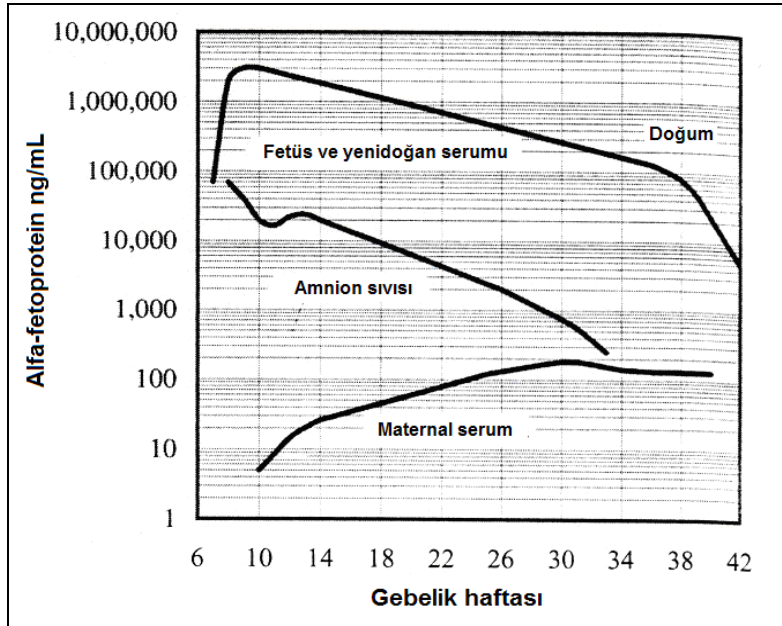
Fetal yaşam dışında, hepatosellüler karsinomalı hasta serumlarında da bulunan, glikoprotein yapısındaki AFP'in 591 amino asitten oluşan protein kısmı her zaman aynı kaldığı halde, molekülün yaklaşık olarak %4'ünü oluşturan karbohidrat yapısındaki kısmın içeriği, üretimi yapan organa, içinde bulunulan gebelik haftasına göre değişkenlik gösterebilir. Aynı şekilde, fetüs serumunda ve amniyon sıvısında bulunan alfa-fetoproteininin karbohidrat içeriğinde de değişkenlik görüldüğü bildirilmektedir⁽⁶³⁾.

Fetal yaşamda AFP üretimi yolk sac'te başlar, bu yapının dejenere olarak ortadan kalkmasının ardından üretim çok daha yüksek miktarda karaciğer tarafından sürdürülür. Embriyonik yaşamın ilk haftalarında çok süratli bir artış gösteren serum AFP konsantrasyonu, maksimum seviyeye, gebeliğin 9. haftasında ulaşır. Bu dönemde yaklaşık olarak 3 g/L konsantrasyonuna ulaşıldığı halde, bu dönemden itibaren düzenli bir şekilde düşüş başlar. Doğuma yakın dönemde, fetal serumda AFP konsantrasyonu 20 mg/L'ye kadar geriler⁽⁶⁴⁾. Doğumdan sonra serum konsantrasyonunun yetişkin konsantrasyonuna gerilemesi yaklaşık 10 aylık bir dönemde gerçekleşir⁽⁶⁵⁾.

Amniyon sıvısındaki AFP konsantrasyonunun fetal serum konsantrasyonu ile paralellik göstermesine rağmen, gebelik haftasına bağlı olarak arada 100-1000 katlık bir fark bulunur. Bu nedenle fetal dolaşımdan çok küçük miktardaki bir sızıntı bile amniyon sıvısındaki AFP konsantrasyonunu çok belirgin şekilde yükseltir. Gebeliğin yaklaşık olarak 8. haftasından itibaren amniyon sıvısında AFP ölçümü yapılabilir. 11. hafta civarındaki ani düşmeyi 13. hafta civarındaki yükselme izler. Bu dönemden itibaren, fetal serum konsantrasyonundaki düşüşe paralel olarak süratli bir düşme eğilimi görülür.

Maternal serumdaki AFP konsantrasyonunun değişimi, fetal serumdaki ve amniyon sıvısındaki değişimden farklılık gösterir. Maternal serumda AFP konsantrasyonunun ölçülebilir düzeye gelişi, fetal serumda ve amniyon sıvısında düşme eğiliminin baş-

ladığı 10. haftada gerçekleşir. Gebeliğin 25. haftasına kadar geçen dönemde düzenli bir artış meydana gelerek 16. haftada yaklaşık 35 $\mu\text{g/L}$, 25. haftada ise yaklaşık 180 $\mu\text{g/L}$ konsantrasyonuna ulaşılır⁽⁶⁶⁾. 25. haftadan doğuma kadar geçen süre içinde ise yavaş, ancak düzenli bir düşüş görülür. Doğumun gerçekleşmesinden çok kısa bir süre sonra ise gebelik öncesi konsantrasyona geriler. Molekölün serumdaki yarılanma süresi 4-6 gün civarındadır.

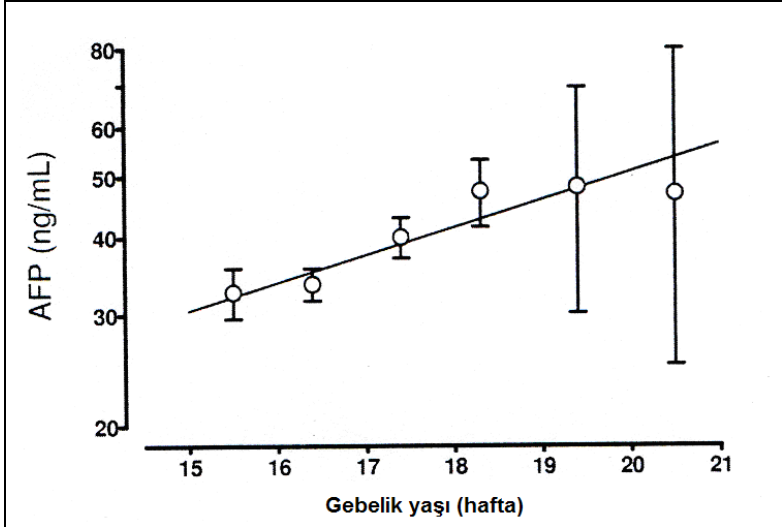


Şekil 2.8. Fetüs serumunda, amnion sıvısında ve maternal serumda AFP konsantrasyonlarının gebelik dönemi boyunca değişimi.

Kaynak: Gitlan D. Normal biology of alpha-fetoprotein. Ann NY Acad Sci 1975;259:7-16.

Açık nöral tüp defektlerinin %85-95 kadarında maternal serum AFP konsantrasyonu belirgin derecede yüksek bulunur⁽³⁾.

Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerde ise gebelik haftasına uyan medyan değerin yaklaşık %30 kadar altında bir AFP konsantrasyonu ölçülür⁽¹¹⁾. Maternal serumda ölçülen AFP konsantrasyonu değerlendirilirken, gebelik haftasına ek olarak, maternal vücut ağırlığı, insüline bağımlı diyabet bulunup bulunmaması da dikkate alınarak gereken düzeltmelerin yapılması gerekir. Fetüs sayısı, maternal serumdaki AFP konsantrasyonunu etkileyen çok önemli bir faktör olarak dikkate alınır. Fetüsün, proteinüriye sebep olan renal hastalıkları ve yine başta kapanma defektleri olmak üzere fetüse ait yapısal anomaliler maternal AFP konsantrasyonunu artıran çok önemli faktörler olarak sayılabilir.



Şekil 2.9. Gebeliğin ikinci trimestirinde maternal serum AFP konsantrasyonunun (logAFP) gebelik haftalarına göre değişimi.

Maternal serumda AFP ölçümü yapmak amacıyla örnek alınması sırasında açlık koşuluna uyulması gerekmez. Standard venöz kan alma tekniğine uyulması yeterlidir. Stabil bir molekül olması sebebiyle standart transport koşullarından etkilenmez.



Buzdolabında 1 hafta boyunca, -20°C 'de yıllarca muhafaza edilebilir.

Tablo 2.9. Maternal serumda AFP konsantrasyonunda artışa neden olarak nöral tüp defektleri açısından yalancı pozitifliğe sebep olan başlıca durumlar.

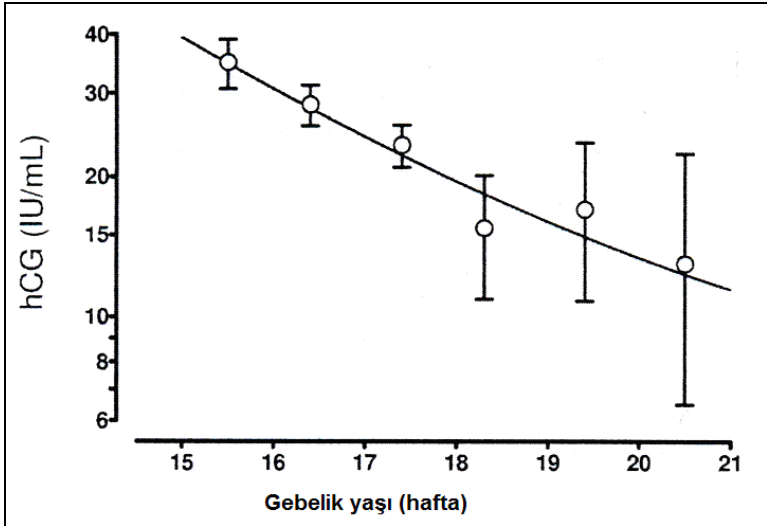
- Gebelik haftasının yanlış olarak belirlenmesi
- Fetüs sayısının birden fazla olması
- Fetal nefroz (konjenital nefrotik sendrom)
- Ösofageal veya Duodenal atrezi
- Omfalosel, gastroschisis, sakrokoksigeal teratom
- Fetal-maternal spontan transfüzyon
- Spontan abortus
- Maternal hepatosellüler karsinoma, germ hücreli tümör, hepatit, siroz

2. KORİYONİK GONADOTROPİN (hCG)

Bölüm 1'de açıklandığı gibi serum hCG konsantrasyonu ölçümü, çok uzun yıllardan beri, gebeliğin teşhisinde, erken dönemde gebelik haftasının belirlenmesinde, ektopik gebelik ve molar gebelik gibi olasılıkların araştırılmasında kullanılmaktadır. Ayrıca bazı malinitelerin teşhis ve takibinde de kullanılır. 1987 yılında Down sendromlu fetüs taşıyan annelerin serumlarında hCG konsantrasyonunun normal fetüs taşıyan annelere göre anlamlı derecede yüksek olduğunun gösterilmesi, bu parametre için yeni bir kullanım alanını ortaya çıkarmıştır. Birinci trimesterde Down sendromu taramasında free β -hCG tercih edildiği halde, ikinci trimesterde intakt hCG'nin kullanılmaktadır.

hCG molekülü, kimyasal olarak glikoprotein yapısında α ve β olarak adlandırılan alt ünitelerden oluşan bir heterodimer. Biyolojik aktivite için bu iki monomerin bir arada bulunması gerekir. Gebelik süreci boyunca, hCG'nin karbohidrat içeriğinde değişme meydana geldiğinden, molekül ağırlığı da buna uygun olarak

değişim gösterir. Gebeliğin başlangıç döneminde karbohidrat içeriği daha fazla olduğundan molekül ağırlığı da daha büyüktür. Molekülün yaklaşık 41-42,000 civarında olan ağırlığa sahip olan bu şekline hiperglikolize-hCG adı verilir⁽⁶⁷⁾. Daha sonraki dönemde karbohidrat içeriğinin azalması ile molekül ağırlığı 36-37,000 civarına iner. Diğer insan hormonları ile mukayese edildiğinde hCG, karbohidrat içeriği en fazla olan hormon olarak dikkati çeker.



Şekil 2.10. Gebeliğin ikinci trimestirinde maternal serum hCG konsantrasyonunun (log hCG) gebelik haftalarına göre değişimi.

hCG'nin α alt ünitesi 92 amino asitten oluşan protein zinciri ve buna bağlı karbohidrat yapısında iki yan zincirden oluşur. Toplam 14,900 olan molekül ağırlığının 10,200'lük kısmını protein zinciri oluşturur. β alt ünitesi ise 145 amino asitten oluşan bir protein zinciri ve buna bağlı altı karbohidrat yan zincirinden oluşur. β zincirinin molekül ağırlığı ise 23,000 civarındadır.

Gebelik döneminde hCG sentezi plasentanin sinsityotrofoblast hücrelerinde gerçekleşir. Hipofiz bezinde de çok az miktarda hCG sentezi yapıldığı tespit edilmiştir. hCG'yi oluşturan α ve β alt ünitelerinin genleri farklı kromozomlarda bulunur. Altıncı kromozomda bulunan α alt ünitesi geni, yalnızca hCG'nin değil aynı zamanda TSH, FSH ve LH hormonlarının α alt ünitelerinin sentezini de kontrol eder. β alt ünitesinin sentezi ise 19. kromozomda bulunan 7 farklı gen tarafından kontrol edilir⁽⁶⁸⁾. Bu şekilde farklı genlerin aktivitesi sonucunda üretilen α ve β alt üniteleri sekrete edilmeden önce kaba granüllü endoplazmik retikulumda kombine edildikten sonra maternal dolaşıma sekrete edilir.

Gebelik döneminde hCG β alt ünitesi sentezinin maksimum seviyede olduğu dönem, 8-10. haftalar arasındır. Araştırmalar plasenta tarafından hCG β alt ünitesi sentezinin sitotrofoblastlar tarafından üretilen inhibin tarafından stimule edildiğini ve sitotrofoblast sayısının da bu dönemde en yüksek seviyede olduğunu göstermektedir⁽⁶⁹⁾. Buna karşılık α alt ünitesinin sentezi ve dolayısıyla maternal serumdaki konsantrasyonu bu dönemden sonra da artmaya devam eder. hCG α alt ünitesinin maternal serum konsantrasyonu plasentanın kitlesini tahmin etmede yararlı bir parametre olarak kabul edilmektedir.

hCG α alt ünitesinin TSH, FSH ve LH'nin alt ünitesi ile çok büyük oranda benzerlik göstermesine karşılık, β alt ünitesinin yalnızca LH'nin β alt ünitesi ile dikkat çekici oranda benzerliği vardır. LH β alt ünitesi 115 amino asitten oluşurken, hCG β alt ünitesi 145 amino asitten oluşmaktadır. Bu iki hormonun ilk 115 amino asitten oluşan kısımları %80 oranında birbirine uyar⁽⁷⁰⁾. LH ile bu belirgin derecedeki benzerlik, plasenta tarafından yeterince progesteron üretiminin yapılamadığı erken gebelik haftalarında hCG'nin overlerdeki corpus luteum'u uyarmasını sağlar. Spesifik reseptörü bulunmayan hCG, corpus luteumdaki LH reseptörlerine bağlanarak aktive edici etkisini meydana getirir.

Maternal serum hCG analizi için kan örnekleri açlık koşulu aranmaksızın standart venöz kan alma prosedürü uygulanarak alınır. Ayrılan serum örneği standart transport koşullarından etkilenecek derecede stabildir. Buzdolabında yani 4-8°C'de bir hafta boyunca saklanabilir. Numunenin daha uzun süre saklanması gerektiğinde dondurulması gerekir.

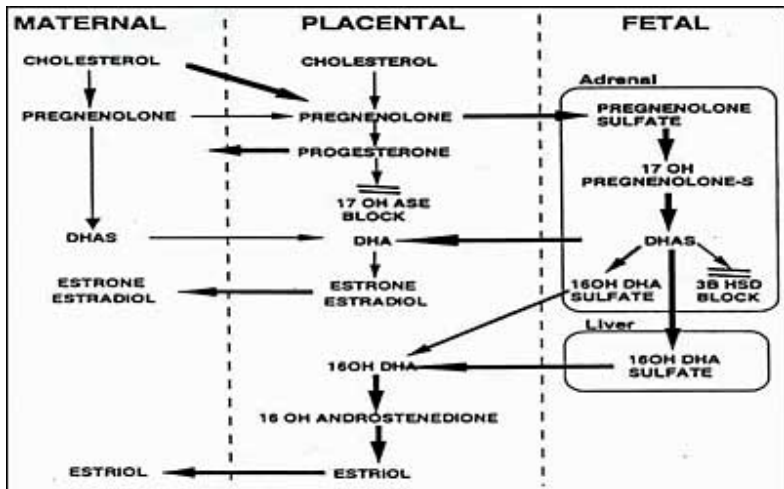
3. SERBEST ESTRIOL

Geçmiş dönemlerde, idrarda ve serumda total estriol ölçümünün fetüsün genel olarak sağlamlık halinin değerlendirilmesinde yararlı bir test olduğu düşünülmüştü. Ancak bu amaca yönelik kullanım günümüzde hemen hemen tamamen terk edilmiştir⁽⁷¹⁾. Anne kanından serbest haldeki estriol seviyesinin ölçümü günümüzde yalnızca ikinci trimesterde Down sendromu ve trizomi 18 riskini belirlemeye yönelik tarama testlerinde kullanılmaktadır.

Estriol, kimyasal yapı itibarıyla 3, 16 ve 17. karbon atomlarında -OH grubu bulunan bir östrojendir. Sistemik kimyasal isimlendirme tekniğine göre molekül, 1,3,5(10)-estriene-3,16- α ,17- β -triol olarak adlandırılır. Gebe olmayan kadınlarda çok düşük miktarda bulunduğu halde, gebeliğin son döneminde, anne kanında konsantrasyonu en yüksek olan östrojen haline gelir. Anne kanındaki total estriol'ün çok büyük kısmı, glukuronat ve sülfat konjugatları şeklinde bulunur. Karaciğerde meydana gelen konjugasyon işlemi sonucunda molekülün suda çözünmesi ve dolayısıyla idrarla atılması mümkün hale gelir. Serbest halde bulunan estriol, total estriol'ün yalnızca %9 kadarını teşkil eder. Moleküler yapı özellikleri nedeniyle, düşük çözünürlüğe sahip olduğundan, serbest estriol kanda SHBG'e bağlı olarak dolaşır.

En büyük miktarda estriol üretimi, gebeliğin son trimestrinde gerçekleşir. Üretimin yeterince gerçekleşebilmesi için, fetüsün adrenal korteksinin, karaciğerinin ve plasantanın yeterli bir şekilde fonksiyon görmesi gerekir. Yüksek miktarda estriol üretimi ihtiyacını karşılamak üzere, yetişkinden farklı olarak fetüsün surrenal korteksinde, steroid üretimi için farklı bir tabaka bulunur.

Bu tabaka, surrenal bezin ağırlığının yaklaşık olarak %80 kadari-
nı teşkil eder. Üretimin yüksek miktarda gerçekleşebilmesi
için, düşük dansiteli lipoproteinler surrenal beze yüksek

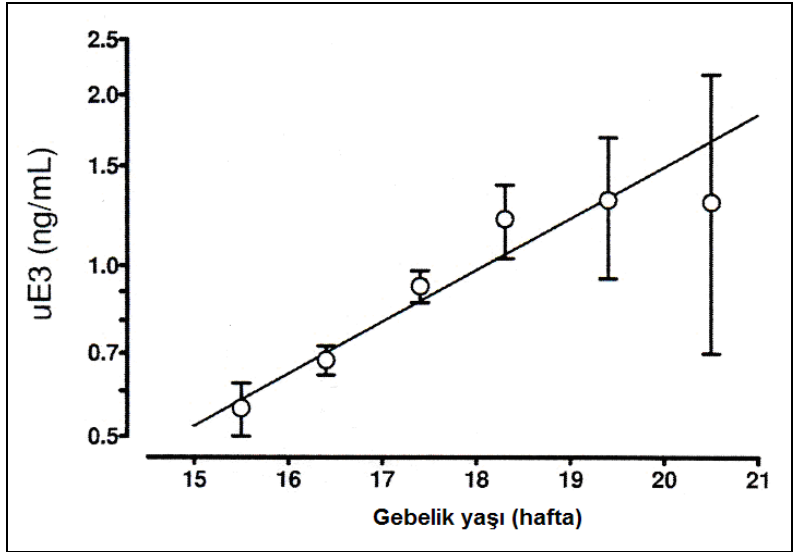


Şekil 2.11. Maternal serumdaki Estriol'ün esas kaynağı fetoplasental ünite olmakla birlikte, maternal metabolizmanın da katkısı vardır.

avidite ile bağlanarak içerdiği kolesterolü aktarır. Surrenalde kolesterolden, steroid sentezinin iki major ara metaboliti olan pregnanolon sülfat ve dehidroepiandrosteron-sülfat üretilir ve fetal dolaşıma sekrete edilir. Sonraki aşamada, fetüs karaciğeri tarafından, 16 α -hidroksilaz enziminin katalizlediği reaksiyonla dehidroepiandrosteron-sülfat, 16 α -hidroksi-dehidroepiandrosteron-sülfata dönüştürülür ve yeniden dolaşıma verilir. Son aşamada ise 16 α -hidroksi-dehidroepiandrosteron-sülfat plasentada estriole dönüştürülür. Maternal serumda bulunan serbest estriol'ün yaklaşık olarak %90 kadari bu yolla elde edilir. Çok küçük bir kısmın kaynağı ise maternal overlerdir.

Üçlü tarama testinin bir komponenti olarak ölçülen serbest estriol konsantrasyonu maternal kanda her hafta, bir önceki haftaya göre %20-25 oranında artma gösterir⁽⁶⁶⁾.

Estriol biyosentezinin herhangi aşamasındaki bir defekt, maternal unkonjuge estriol konsantrasyonunda düşmeye neden olur. Kromozom anomalilerine ek olarak fetal anensefali, plasental sulfataz aktivitesi düşüklüğü, fetüs ölümü, molar gebelik ve Smith-Lemli Opitz sendromu maternal uE3 konsantrasyonunda düşüklüğe yol açan en önemli sebeplerdir^(72,73). Plasental sulfataz aktivitesi düşüklüğü, bebeklerde X kromozomuna bağlı ihtiyozise sebep olur. Bu defekt, erkeklerde yaklaşık olarak 2000'de bir sıklıkla görülür. Bu özelliğe sahip fetüs taşıyan gebelerde uE3 konsantrasyonunun düşüklüğü, doğum eyleminin başlamasında gecikmeye sebep olur. Bu nedenle çoğu zaman doğumun sezaryan sectio ile gerçekleştirilmesi gerekir. Smith-Lemli Opitz sendromu, 7-dehidrosterol-7-redüktaz enzimindeki defekt sonucunda ortaya çıkan, dolayısıyla kolesterol sentezinde duraksamaya sebep olan, nadir görülen ancak ciddi sonuçlara yol açan genetik bir hastalıktır.



Şekil 2.12. Gebeliğin ikinci trimestirinde maternal serum uE3 konsantrasyonunun (log uE3) gebelik haftalarına göre değişimi.

uE3 , diğer üçlü tarama testi parametrelerinde olduğu gibi açıklık koşulu gerektirmez. Üçlü tarama testi parametreleri arasında stabilitesi en düşük olan parametredir. Oda sıcaklığında ve hatta buzdolabında uzun süre beklemesi durumunda konjuge formların serbest hale gelmesi nedeniyle konsantrasyonunda yükselme meydana gelebilir⁽⁷⁴⁾. Bu nedenle kan numunesinin alınmasından sonra fazla vakit geçirmeden santrifüj edilmesi, serumun ayrılması ve analize kadar buzdolabında muhafaza edilmesi önerilir. Numunenin 2-4 °C'de 7 günden, oda sıcaklığında ise 4 günden fazla bekletilmesinin uE3 konsantrasyonunda, Down sendromu riski değerlendirmesinde yanılgıya sebep olacak derecede değişikliğe neden olabileceği bildirilmektedir.

4. DİMERİK İNHİBİN A

İnhibinler, inhibin A, inhibin B, aktivin A, B ve AB'nin de dahil olduğu, transforme edici growth faktör β ailesine ait proteinlerdir. İnhibin, erkeklerde ve kadınlarda FSH salgısının negatif feed-back düzenleyicisidir. Plasenta da FSH'yı suprese eden, büyük miktarda inhibin A üretir.

İnhibin molekülü, ilk kez 1932 yılında testis venlerinden hazırlanan serum ekstraktlarında ön hipofizden FSH hormonu salgısını inhibe edici bir etkinin tespit edilmesinden sonra tanımlanmıştır⁽⁷⁵⁾. Overlerde de inhibin aktivitesinin bulunduğu 1975 yılında gösterilmiştir⁽⁷⁶⁾.

Kimyasal olarak glikoprotein yapısında olan inhibinler, birbirinden farklı ve birbirine disülfid köprüleri ile bağlı α ve β alt ünitelerinden oluşur. β alt ünitesinin birbirine benzer yapıya sahip, β_A ve β_B olarak adlandırılan iki formu mevcuttur. Bu formların hangisinin yapıya dahil olduğuna bağlı olarak, dimerik inhibin A ($\alpha \beta_A$) ve dimerik inhibin B ($\alpha \beta_B$) kombinasyonları oluşur. Daha büyük molekülü ve biyolojik aktivitesi daha düşük olan prekürsör moleküllerin bölünmeye uğramasından sonra ortaya çıkan olgun formdaki inhibinlerin molekül ağırlıkları yaklaşık olarak 30,000 civarındadır. Folikül sıvısında ve serumda prekürsör moleküller, olgun formlar ve farklı molekül ağırlığına sahip ara formlar bir arada bulunur⁽⁷⁷⁾. Aynı protein ailesine ait olmakla birlikte FSH salgısını uyarıcı etkiye sahip aktivinler ise yalnızca β alt ünitelerini içeren dimer yapısında proteinlerdir.

İnhibinler, kadınlarda overlerin granuloza hücreleri tarafından, erkeklerde ise Sertoli hücreleri tarafından salgılanır. Kadınlarda menstruel siklusun farklı dönemlerinde farklı inhibin A ve inhibin B profilleri bulunur. Foliküler fazın başlangıcında en düşük seviyesinde bulunan inhibin A, midfoliküler dönemde küçük bir pik yapar, ovulasyonla birlikte süratli bir artış göstererek luteal fazın ortasında maksimal seviyesine ulaşır. İnhibin B konsantrasyonu ise foliküler fazın erken safhasında yükselmeye başlayarak midfoliküler dönemde maksimum seviyeye ulaşır. Ovulasyon

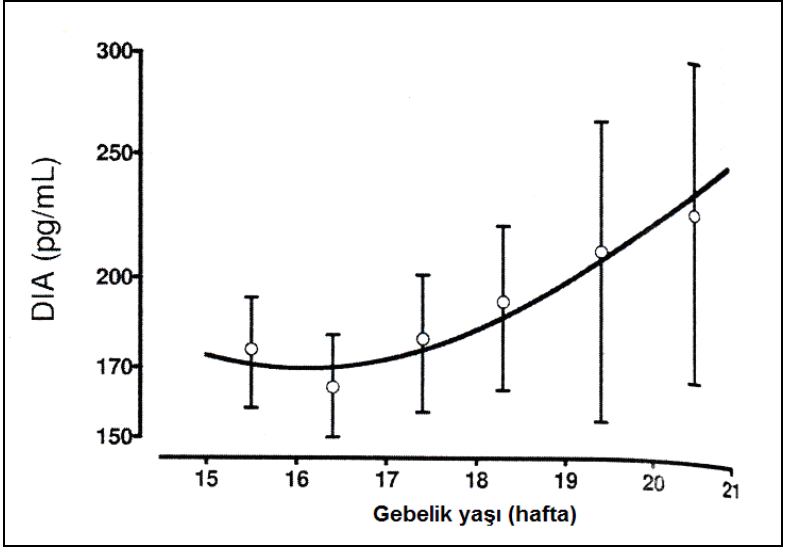


sırasında rüptüre olan folikülden açığa çıkan inhibin B'nin etkisiyle meydana gelen kısa süreli ani yükselme dışında, azalma eğilimi luteal fazın sonuna kadar devam eder.

Menapoz sonrası dönemdeki kadınlarda her iki formdaki inhibinin de serum konsantrasyonları çok düşük bir seviyede (5 ng/L'nin altında) bulunur⁽⁷⁸⁾. Erkeklerde yalnızca inhibin B üretimi mevcuttur.

Down sendromlu fetüs taşıyan gebelerden ikinci trimestrde alınan serum örneklerinde, total inhibin konsantrasyonunun normal fetüs taşıyan gebelere göre yaklaşık 2 kat yüksek olduğu ilk kez 1992 yılında Van Lith isimli araştırmacı tarafından gösterilmiştir⁽⁷⁹⁾. Daha sonra total inhibin yerine dimerik inhibin A kullanılarak yapılan çalışmalar bu parametrenin de tarama programlarına eklenmesinin performansı artırıcı bir etki meydana getirdiğini göstermiştir⁽⁸⁰⁻⁸²⁾. Gebe kadınların serumlarında her iki tip inhibin ve aynı aileye ait diğer proteinler bulunduğu halde, günümüzde bunlardan yalnızca dimerik inhibin A (DIA) Down sendromu taramasında ilave bir parametre olarak kullanılır.

Gebeliğin başlangıç döneminden itibaren fetoplasental ünite tarafında üretilmeye başlanan dimerik inhibin A, 8-10. haftalar arasındaki dönemde en



Şekil 2.12. Gebeliğin ikinci trimestirinde maternal serum DIA konsantrasyonunun (log DIA) gebelik haftalarına göre değişimi.

yüksek serum konsantrasyonuna ulaşır ve bundan sonra düşme eğilimine girerek 17. haftada en düşük seviyeye geriler. Gebeliğin ikinci trimestirinde serum konsantrasyonu 50-400 ng/L arasında değişebilmekle birlikte, 17. haftadaki ortalama konsantrasyon 175 ng/L civarındadır. Bu haftadan terme kadar geçen dönemde ise serum DIA konsantrasyonunda yeniden yükselme eğilimi görülür. Diğer tarama parametreleri ile mukayese edildiğinde, DIA'nın serum konsantrasyonunun 15-20. haftalar arasında nispeten daha düşük derecede değişim gösterdiği söylenebilir.

İkinci trimestrde Down sendromu taraması amacıyla kullanılan diğer analiz parametreleri gibi DIA analizi için de numunenin açıkta alınması gerekmez. Standard venöz kan alma koşullarına uyulması yeterlidir. Bu parametre de oldukça stabildir. DIA analizi için ayrılan maternal serum numuneleri 4-8 °C'de 7



gün boyunca anlamlı bir değişikliğe uğramadan muhafaza edilebilir.

5. GEBELİKLE İLİŞKİLİ PLAZMA PROTEİN A (PAPP-A)

PAPP-A ilk kez 1974 yılında gebelerin serumundan izole edildiğinden gebelikle ilişkili plazma protein-A olarak adlandırılmış, çinko bağlayan büyük molekül ağırlığına sahip, tetramer yapısında bir glikoproteindir⁽⁸³⁾. Başlangıçta plasenta kaynaklı, homotetramer yapılı bir protein olduğunun düşünülmüş olmasına rağmen, daha sonra yapılan araştırmalar, gerçek PAPP-A molekülünün homodimer yapısına sahip olduğunu ve yine dimer yapısındaki eozinofil major bazik proteinin proformu (proMBP) ile kovalent bağlı olarak bulunduğunu ortaya koymuştur⁽⁸⁴⁾. Her iki protein de plasentada ancak farklı hücrelerde sentez edilir. RT-PCR tekniği kullanılarak yapılan araştırmalar, PAPP-A ve proMBP mRNA'larının plasenta ile mukayese edildiğinde çok daha düşük miktarlarda olmakla birlikte, çeşitli başka dokularda da bulunduğunu göstermiştir⁽⁸⁵⁾. Osteoblastlar, kemik iliğinin stromal hücreleri, overlerin granuloza hücreleri ve vasküler düz kas hücreleri, PAPP-A üretimi yapan diğer hücreler olarak sayılabilir.

PAPP-A, proteolitik aktiviteye sahip bir metalloproteinazdır. İnsülin Like Growth Faktör'lerin (IGF) biyolojik aktivitelerini gösterebilmeleri için serbest hale geçebilmelerini sağlamak üzere bağlı bulundukları IGFBP'lerden ayrılmaları gerekir. PAPP-A, IGF-I ve II ile bağlı IGFBP-4'ün parçalanmasını sağlayarak aktif hale gelmelerini sağlar⁽⁸⁶⁾.

Klinik uygulamada en önemli kullanım alanı birinci trimestrde Down sendromu taraması olmakla birlikte, bunun dışındaki fetal anomalilerde de düşük bulunabildiği, intrauterin gelişme geriliği, düşük ve erken doğum gibi komplikasyonlarla karşı karşıya kalan gebelerde de düşük seviyede bulunabildiği gösterilmiştir. Gebelikle ilgili bu kullanım alanları dışında, PAPP-A

ölçümünün koroner kalp hastalığı olan kişilerde miyokardial hasarın değerlendirilmesi amacıyla kullanım potansiyeli taşıdığı da düşünülmektedir^(87,88).

Referanslar

- 1-Brock DHJ, Sutcliffe RG. Alpha-fetoprotein in the antenatal diagnosis of anencephaly and spina bifida. *Lancet* 1972;2(7770):197-9.
- 2-Brock DHJ, Bolton AE, Monaghan JM. Prenatal diagnosis of anencephaly through maternal serum alpha-fetoprotein measurement. *Lancet* 1973;2(7835):923-4.
- 3-Wald NJ, Cuckle H, Brock JH, Peto R, Polani PE, Woodford FP. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy. Report of U.K. collaborative study on alpha-fetoprotein in relation to neural tube defects. *Lancet* 1977;1(8026):1323-32.
- 4-130-Frey L, Hauser WA. Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia* 2003;44 Suppl 3:4-13.
- 5-Toriello HV, Higgins JV. Occurrence of neural tube defects among first, second, and third degree relatives of probands: results of a United States study. *Am. J Med Genet* 1983;15:601-6.
- 6-Wald NJ, Cuckle HS. Estimating an individual's risk of having a fetus with open spina bifida and the value of repeat alpha-fetoprotein testing. *J Epidemiol Community Health* 1982;36:87-95.
- 7-American College of Obstetricians and Gynecologists. Preconceptional care. ACOG Technical Bulletin No.205. Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists.
- 8-Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987;7:623-30.
- 9-American Society of Human Genetics. Policy statement for maternal serum alpha-fetoprotein screening programs and quality control for



laboratories performing maternal serum and amniotic fluid alpha-fetoprotein assays. *Am J Hum Genet* 1987;40:75-82.

10-American Academy of Pediatrics Committee on Genetics: Maternal serum α -fetoprotein screening. *Pediatrics* 1991;88:1282-3.

11-Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum α -fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:886-94.

12-New England Regional Genetics Group Prenatal Collaborative Study of Down Syndrome Screening: Combining maternal serum α -fetoprotein measurements and age to screen for Down syndrome in pregnant women under age 35. *Am J Obstet Gynecol* 1989;160:575-81.

13-Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE, Cuckle HS, Wald NJ. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down's syndrome. *Br J Obstet Gynecol* 1988;95:330-3.

14-Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297:883-7. *Erratum in BMJ* 1988;297:1029.

15-Haddow JE, Polamaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992;327:588-93.

16-Phillips OP, Elias S, Shulman LP, Andersen RN, Morgan CD, Simpson JL. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in women less than 35 years of age using α -fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol: a prospective 2-year study. *Obstet Gynecol* 1992;80:353-8.

17-Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Foster DL, Neveux LM. Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *J Med Screen* 1998;5:115-19.

18-Benn PA, Fang M, Egan JF, Horne D, Collins R. Incorporation of inhibin-A in second trimester screening for Down syndrome. *Obstet Gynecol* 2003;101:451-4.



- 19-Wald NJ, Huttly WJ, Hackshaw AK. Antenatal screening for Down's syndrome with the quadruple test. *Lancet* 2003;361:835-6.
- 20-Canick JA, Palomaki GE, Osathanondh R. Prenatal screening for trisomy 18 in the second trimester. *Prenat Diagn* 1990;10:546-8.
- 21-Palomaki GE, Knight GJ, Haddow JE, Canick JA, Saller DN Jr, Panizza DS. Prospective intervention trial of a screening protocol to identify fetal trisomy 18 using maternal serum alpha-fetoprotein, unconjugated oestriol, and human chorionic gonadotropin. *Prenat Diagn* 1992;12:925-30.
- 22-Knight GJ, Palomaki GE. Epidemiologic monitoring of prenatal screening for neural tube defects and Down syndrome. *Clin Lab Med* 2003;23:531-51.
- 23-Palomaki GE, Haddow JE, Knight GJ, Wald NJ, Kennard A, Canick JA. Risk-based prenatal screening for trisomy 18 using alpha-fetoprotein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin. *Prenat Diagn* 1995;15:713-23.
- 24-Canick JA, Kellner LH, Saller DN Jr, Palomaki GE, Walker RP, Osathanondh R. Second-trimester levels of maternal urinary gonadotropin peptide in Down syndrome pregnancy. *Prenat Diagn* 1995;15:739-44.
- 25-Wald N, Cuckle H, Nanchahal K. Amniotic fluid acetylcholinesterase measurement in the prenatal diagnosis of open neural tube defects. Second report of the Collaborative Acetylcholinesterase Study. *Prenat Diagn* 1989;9:813-29.
- 26-Rasmussen-Loft AG, Leedham P. Amniotic fluid acetylcholinesterase in prenatal diagnosis of open neural tube defects and abdominal wall defects: a comparison of gel electrophoresis and monoclonal antibody immunoassay. *Prenat Diagn* 1990;10:449-59.
- 27-Courcy-Wheeler RH, Pomeranz MM, Wald NJ, Nicolaides KH. Small fetal transvers cerebellar diameter: ascreening test for spina bifida. *Br J Obstet Gynecol* 1994;101:904-5.



28-Nicolaides KH, Campbell S, Gabbe SG, Guidetti R. Ultrasound screening for spina bifida: cranial and cerebellar signs. *Lancet* 1986;2(8498):72-4.

29-Shipp TD, Benacerraf BR. Second trimester ultrasound screening for chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn* 2002;22:296-307.

30-Seeds JW. Diagnostic mid trimester amniocentesis: How safe? *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:608-16.

31-Feuchtbaum LB, Currier RJ, Lorey FW, Cunningham GC. Prenatal ultrasound findings in affected and unaffected pregnancies that are screen-positive for trisomy 18: the California experience. *Prenat Diagn* 2000;20:293-9.

32-Waller DK, Mills JL, Simpson JL, Cunningham GC, Conley MR, Lassman MR. Are obese women at higher risk for producing malformed offspring? *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:541-8.

33-Bahado-Singh RO, Choi SJ, Oz U, Mendilcioglu I, Rowther M, Persutte W. Early second-trimester individualized estimation of trisomy 18 risk by ultrasound. *Obstet Gynecol* 2003;101:463-8.

34-Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Canick JA. Variables which influence levels of AFP, uE3, and hCG and/or risk for Down syndrome. Foundation for Blood Research handbook Vol II: screening for Down syndrome. Scarborough Me: Foundation for Blood Research, 1988: section 21;21-1 to 21-48.

35-Sancken U, Bartels I. Biochemical screening for chromosomal disorders and neural tube defects (NTD): is adjustment of maternal alpha-fetoprotein still appropriate in insulin-dependant diabetes mellitus? *Prenat Diagn* 2001;21:383-6.

36-Wald NJ, Watt HC, George L. Maternal serum inhibin-A in pregnancies with insulin-dependant diabetes mellitus: implications for screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1996;16:923-6.

37-Janssen PA, Rothman I, Schwartz SM. Congenital malformations in newborns of women with established and gestational diabetes in Washington State, 1984-91. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1996;10:52-63.



- 38-Adams MJ, Windham GC, James LM, Greenberg F, Clayton-Hopkins JA, Reimer CB. Clinical interpretation of maternal serum alpha-fetoprotein concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:241-54.
- 39-Gronowski Wald NJ, Cuckle H, Wu TS, George L. Maternal serum unconjugated oestriol and human chorionic gonadotrophin levels in twin pregnancies: implications for screening for Down's syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:905-8.
- 40-Doyle PE, Beral V, Botting B, Wale CJ. Congenital malformations in twins in England and Wales. *J Epidemiol Community Health* 1991;45:43-8.
- 41-Wenstrom KD, Owen J, Chu DC, Boots L. Elevated second-trimester dimeric inhibin A levels identify Down syndrome pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:992-6.
- 42-Macri JN, Kasturi RV, Krantz DA, Cook EJ, Moore ND, Young JA. Maternal serum Down syndrome screening: free β -protein is a more effective marker than human chorionic gonadotropin. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1248-53.
- 43-Wald NJ, Denham JW, Smith D, Klee GG. Four marker serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1994;14:707-16.
- 44-Bartels I, Lindemann A. Maternal levels of pregnancy-specific beta 1-glycoprotein (SP-1) are elevated in pregnancies affected by Down's syndrome. *Hum Genet* 1988;80:46-8.
- 45-Cuckle HS, Iles RK, Chard T. Urinary beta-core human chorionic gonadotrophin: a new approach to Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 1994;14:953-8.
- 46-Cole LA, Shahabi S, Oz UA, Bahado-Singh RO, Mahoney MJ. Hyperglycosylated human chorionic gonadotropin (invasive trophoblast antigen) immunoassay: a new basis for gestational Down syndrome screening. *Clin Chem* 1999;45:2109-19.
- 47-Cuckle HS, Shahabi S, Sehmi IK, Jones R, Cole LA. Maternal urine hyperglycosylated hCG in pregnancies with Down syndrome. *Prenat Diagn* 1999;19:918-20.



48-Polamaki GE, Neveux LM, Knight GJ, Haddow JE, Pandian R. Maternal serum invasive trophoblast antigen (hyperglycosylated hCG) as a screening marker for Down syndrome during the second trimester. *Clin Chem* 2004;50:1804-8.

49-Forest JC, Masse J, Moutquin JM. Screening for Down syndrome during first trimester: a prospective study using free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy associated plasma protein A. *Clin Biochem* 1997;30:333-8.

50-Haddow JE, palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Miller WA, Johnson A. Screening of maternal serum for fetal Down's syndrome in the first trimester. *N Engl J Med* 1998;338:955-61.

51-Krantz DA, Larsen JW, Buchanan PD, Macri JN. First trimester Down syndrome screening: free beta-human chorionic gonadotrpın and pregnancy-associated plasma protein A. *Am J Obstet Gynecol* 1996;174:612-6.

52-Orlandi F, Damiani G, Hallahan TW, Krantz DA, Macri JN. First trimester screening for fetal aneuploidy: biochemistry and nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997;10:381-6.

53-Wald NJ, Kennard A, Hackshaw AK. First trimester serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1995;15:1227-40.

54-Wald NJ, Goerge L, Smith D, Densem JW, Petterson K. Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. International Prenatal Screening Research Group. *Br J Obstet Gynecol* 1996;103:407-12.

55-Wald NJ, Hackshaw AK. Combining ultrasound and biochemistry in first trimester screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1997;17:821-9.

56-The Canadian Early and Mid-trimester Amniocentesis Trial (CEMAT) Group. Randomised trial to assess safety and fetal outcome of early and midtrimester amniocentesis. *Lancet* 1998;351:242-7.

57-Pajkrt E, Mol BW, Bleker OP, Bilardo CM. Pregnancy outcome and nuchal translucency measurements in fetuses with a normal karyotype. *Prenat Diagn* 1999;19:1104-8.



- 58-Cuckle H. Down syndrome fetal loss rate in early pregnancy. *Prenat Diagn* 1999;19:1177-9.
- 59-Cuckle HS, Sehmi IK, Jones RG, Mason G. Low maternal serum PAPP-A and fetal viability. *Prenat Diagn* 1999;19:787-92.
- 60-Wald NJ, Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J, Chitty L, Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine, and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003;10:56-104.
- 61-Bergstrand CG, Czar B. Paper electrophoretic study on human fetal serum proteins with demonstration of a new protein fraction. *Scand J Clin Lab Invest* 1957;9:277-86.
- 62-Harper ME, Dugaiczky A. Linkage of evolutionary-related serum albumin and α -fetoprotein genes within q11-22 of human chromosome 4. *Am J Hum Genet* 1983;35:565-72.
- 63-Dallaire L, Belanger L, Smith CJP, Kelleher PC. Origin of amniocentesis-induced rises of alpha-fetoprotein concentrations in maternal serum. *Br J Obstet Gynecol* 1980;87:856-9.
- 64-Gitlan D. Normal biology of alpha-fetoprotein. *Ann NY Acad Sci* 1975;259:7-16.
- 65-Wu JT, Roan Y, Knight JA. Serum AFP levels in normal infants: their clinical and physiological significance. In: J Mizejewski G, Porter IH, eds. Alpha-fetoprotein and congenital disorders. Orlando, Fla: Academic Press, 1985:111-21.
- 66-Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Canick JA. Variables which influence levels of AFP, uE3, and hCG and/or risk for Down syndrome. Foundation for Blood Research handbook Vol II: screening for Down syndrome. Scarborough Me: Foundation for Blood Research, 1988: section 19;19-1 to 19-34.
- 67-O'Connor JF, Ellish N, Kakuma T, Schlatterer J, Kovalevskaya G. Differential urinary gonadotrophin profiles in early pregnancy and early pregnancy loss. *Prenat Diagn* 1998;18:1232-40.



68-Policastro P, Ovitt CE, Hoshina M, Fukuoka H, Boothby MR, Boime I. The β subunit of human chorionic gonadotropin is encoded by multiple genes. *J Biol Chem* 1983;258:11492-9.

69-Petraglia F, Sawchenko P, Lim AT, Rivier J, Vale W. Localisation, secretion, and action of inhibin in human plasenta. *Science* 1987;237:187-9.

70-Talmadge K, Vamvakopoulos NC, Fiddes JC. Evolution of the genes for the β subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. *Nature* 1984;307:37-40.

71-Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF. The placental hormones. In Williams Obstetrics. 18th ed. Norwalk, Conn: Appleton&Lange, 1989;67-85.

72-Bradley LA, Canick JA, Palomaki GE, Haddow JE. Undetectable maternal serum unconjugated estriol levels in the second trimester: risk of preinatal complications associated with placental sulfatase deficiency. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:531-5.

73-Tint GS, Irons M, Elias ER, Batta AK, Frieden R, Chen TS. Defective cholesterol biosynthesis associated with the Smith-Lemli-Opitz syndrome. *N Engl J Med* 1994;330:107-13.

74-Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Canick JA. Variables which influence levels of AFP, uE3, and hCG and/or risk for Down syndrome. Foundation for Blood Research handbook Vol II: screening for Down syndrome. Scarborough Me: Foundation for Blood Research, 1988: section 22;22-1 to 22-49.

75-McCullagh DR. Dual endocrine activity of testis. *Science* 1932;76:19-20.

76-Vale W, Rivier C, Hsueh A. Chemical and biological characterization of the inhibin family of protein hormones. *Rec Progress Horm Res* 1988;44:1-34.

77-Thirunavukarasu P, Stephenson T, Forray J, Stanton PG, Groome N, Wallace E. Changes in molecular weight forms of inhibin A and pro-alpha C in maternal serum during human pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:5794-804.



- 78-Lockwood GM, Muttukrishna S, Ledger WL. Inhibins and activins in human ovulation, conception and pregnancy. *Hum Reprod Update* 1998;4:284-95.
- 79-Van Lith JM, Pratt JJ, Beekhuis JR, Mantingh A. Second trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1992;12:801-806.
- 80-Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 1996;16:143-153.
- 81-Cuckle HS, Holding S, Jones R, Groome NP, Wallace EM. Combining inhibin A with existing second-trimester markers in maternal serum screening for Down's syndrome. *Perinat Diagn* 1996;16:1095-1100.
- 82-Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Foster DL, Neveux LM. Second trimester screening for Down's syndrome using maternal serum dimeric inhibin A. *J Med Screen* 1998;5:115-119.
- 83-Lin TM, Galbert SP, Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol*. 1974;118:223-36.
- 84-Oxvig C, Sand O, Kristensen T, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L. Circulating human pregnancy-associated plasma protein A is disulfide bridge to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 1993;268:12243-6.
- 85-Overgaard MT, Oxvig C, Christiansen M, Lawrence JB, Conover CA, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L, Haaning J. Messenger Ribonucleic Acid Levels of Pregnancy-Associated Plasma Protein-A and the Proform of Eosinophil Major Basic Protein: Expression in Human Reproductive and Nonreproductive Tissues. *Biol Reprod* 1999;61:1083-9
- 86-Conover CA, Kiefer MC, Zapf J. Posttranslational regulation of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-4 in normal and transformed human fibroblasts. *J Clin Invest* 1993;91:1129-37.



87-Bayes-Genis A, Conover CA, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR. Pregnancy associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2001;345:1022-9.

88-Lund J, Quin QP, Ilva T, Petterson K, Voipio-Pulkki LM, Porela P. Circulating pregnancy associated plasma protein A (PAPP-A) predicts outcome in patients with acute coronary syndromes but no troponin I elevation. *Circulation* 2003;108:1924-6.