

# Fetal Ense Kalınlığı, Serbest $\beta$ -HCG ve PAPP-A'nın 1. Trimester Test Sonuçlarına Etkisi

## The Effect of NT, Free $\beta$ -HCG, PAPP-A to the First Trimester Test Results

Özlem Öztürk\*

Mustafa Öztürk\*\*

Emre Kardeşahin\*\*

Mutlu Ercan\*\*

İbrahim Alanbay\*\*

Taner Özgürtaş\*

Muhittin Serdar\*

Kemal Erbil\*

Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA), Ankara

\*Biyokimya ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, \*\*Kadın Doğum Anabilim Dalı

### ÖZET

**Amaç:** Günümüzde trizomi 21 ve 18 taramalarının değerlendirilmesinde 11-14 haftalar arasında ikili test, 16-18 haftalar arasında Üçlü test kullanılmaktadır. Bu çalışmada birinci trimester değerlendirilmesinde kullanılan fetal ense kalınlığı (Nuchal Translucency, NT), anne kanında serbest insan koryonik gonadotropin (Free Beta HCG) ve gebeliğe özgü plazma protein- A (PAPP- A) ölçümlerinin tekrarlanabilirlikleri ve bunların hastanın risk değerlendirme sonuçlarına etkisi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Analitik tekrarlanabilirlik için 3 farklı serum havuzu hazırlanarak 5 ölçüm yapılmıştır. NT için ise 5 farklı uzman tarafında 9 kişinin NT değerleri ölçülmüş ve 1. trimester sonuçlarına etkileri araştırılmıştır. Serum havuzları çalışılırken serbest Beta HCG ölçümü için IMMULITE® Free Beta HCG kiti (Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited, United Kindom), PAPP-A ölçümü için IMMULITE® PAPP-A kiti (Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited, United Kindom) kullanılmıştır. Risk değerlendirilmesinde ise Prenatal tarama programı (PRISCA Typolog Software GmbH, Hamburg, Germany) kullanılmıştır.

**Bulgular:** Gün içi tekrarlanabilirlik sonuçları (min-max %CV) değerleri serbest-BHCG için %3.9-8.6, PAPP-A için %4.2-7.0, NT değerlerinin ise %4.02-17.6 saptanmıştır. Bu değişimlerin 1. trimester risk oranlarına etkileri hesaplandığında sırasıyla 3 farklı serum havuzunda serbest -BHCG değişimlerinde %0-16.3, %0-0.8, %0-16.46, PAPP-A değişimlerinde %0-9.5, %0-34.6, %8-17.15 ve NT değişimlerinde %27.4-37, %24.3-35.1, %50.7-%57.2 olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Sonuçta analitik performansları kabul edilebilir sınırlarda olmasına rağmen bu değişimlerin risk hesaplanmasını yüksek oranda etkiledikleri görülmektedir. Düşük riskli gruplarda klinik tanıyı etkilemediği ancak yüksek riskli örneklerde ve ileri yaş gebelerde klinik karar etkileyebilecek sonuçlara neden olmaktadır. Bu sonuçlar bir kez daha göstermiştir ki 1. trimester testleri için analitik performansın optimumda tutulması şarttır. Mutlaka sıkı Internal ve Eksternal Kalite Kontrol programları beraberinde yapılmalıdır. NT için mutlaka bir eğitim programına katılmak gerekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Maternal serum tarama, risk tahmini, NT ölçümü, down sendromu

Bu çalışma, VIII. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

## ABSTRACT

**Objective:** Combine test (between the 11 th and 14th weeks of gestation) and triple test (between the 16 th and 18th weeks of gestation) are being used for trisomy 21 and trisomy 18 screening. We have investigated the precision of fetal nuchal translucency (NT), free  $\beta$  HCG and pregnancy associated protein of Pregnancy – A (PAPP- A) measurements in maternal serum and the effects of their precision to the risk evaluation results of the patients.

**Materials and Methods:** To measure analytic repeatability, 3 different serum pools have been prepared, and 5 consecutive measurements were done from these serum pools. For NT measurement, 5 separate experienced obstetricians have measured NT's of 9 patients. The effects of the results from these separate measurements on the first trimester test results have been investigated. While studying the serum pools, IMMULITE® Free BetaHCG and IMMULITE® PAPP-A kit (Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited, UK) for free  $\beta$  HCG and for PAPP-A have been used. In risk evaluation, the prenatal screening program (PRISCA typolog Software GmbH, Hamburg) has been utilized.

**Results:** The same day repeatability results (min – max %CV values) 3.9-8.6%, 4.2-7.0% and respectively 4.03-17.6% for HCG, PAPP-A and NT have been found as. When the end effect of these free variations to the first trimester risk has been calculated, (using the three separate pools of serum samples), influences of 0-16.3%, 0-0.8%, 0-16.4% for free HCG results, 0-9.5%, 0-34.6%, 8-17.1% for PAPP- A results and 27.4-37%, 24.3-35.1%, 50.7-57.2% for NT measurements were found  $\beta$ .

**Conclusion:** While the analytic performances are within the acceptable ranges, the variations have been found to influence the end risk calculation significantly. The end results are not influenced in the low risk group, but in high risk population and in advanced maternal age groups, it causes the final results that could effect the clinical decision making These results once again showed us that, the analytic performance must be kept in optimum for the first trimester tests. Very strict internal and external quality control programs are a must. NT certification is critical therefore a solid training and definitive certification is crucial.

**Key Words:** Maternal serum screening, risk estimation, NT measurement, down syndrome

## GİRİŞ

Down sendromu (DS) en yaygın görülen yapısal kromozom bozukluğudur. Yaklaşık 1/700 oranında görülmektedir (1,2). Maternal yaş ve daha önceki gebelikte etkilenmiş bebek olması bu oranı daha da arttırmaktadır. Anne yaşının 35'in üzerinde olması Down sendromu riskini %30 lara kadar çıkartmaktadır ve bu hastalarda tanı çoğunlukla amniosentez ile konmaktadır (3,4).

1. Trimester tarama testi gestasyonun 11-14. haftalarında yapılan ultrasonografik bir markır olan ense kalınlığı (NT, Nuchal Translucency) ve serbest beta-human chorionic gonadotropin (free  $\beta$ -hCG), pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) gibi serum markırları ile yapılan bir testtir (5,8,9). Daha önce yapılan çalışmalara göre yalnız NT taraması %64-70 arasında dedeksiyon sağlamaktadır ve %5 yalancı pozitifliği mevcuttur (7). Bunun yanısıra DS dışında başka

kromozom anomalilerinde de NT kalınlığı artabilmektedir (8-9). Bu yüzden NT ölçümüne diğer parametreler ilave edilerek kombine test olarak bilinen 1. Trimester tarama testi ortaya çıkmıştır. 1. Trimester tarama testinde ultrasonografik NT ölçüm değeri, serum serbest  $\beta$ -hCG, PAPP-A sonuçlarına göre ve gebenin yaşına göre çeşitli yazılım programları kullanılarak fetal DS için bireysel risk hesaplanmaktadır (6).

1. Trimester risk hesaplamaları için tarama testi birçok laboratuvarla yapılmaktadır. Bu laboratuvarlar serum serbest  $\beta$ -hCG, PAPP-A ölçümleri için farklı analitik metodlar kullanmaktadırlar. Aynı zamanda her bir laboratuvar risk hesaplamaları için farklı yazılım programları kullanmakta ve kendi MOM (multiple of the median) değerlerini oluşturmaktadırlar. MoM değeri inceleme yapılan kişideki değerin normal olan popülasyonun ortalamasından ne kadar sapma gösterdiğini

belirleyen bir değerdir. Laboratuvarlarda çalışılan testlerin biyolojik ve analitik varyasyonları da bunlara ilave edilince laboratuvarlar arasında sonuçlarda anlamlı farklılıklar olmaktadır. Kombine test için ölçülen biyokimyasal parametrelerin analitik doğruluğu önemlidir ve risk hesaplanmasında yüksek varyasyonlara neden olabilmektedir. Bu varyasyonlar testin tekrarlanması ile sonuçlanmakta veya hastayı invaziv bir girişim olan ve hastada anksiyeteye yol açan amniyosenteze taşımaktadır. Test sonuçlarında ki bu varyasyonlar immünassayler arasındaki metodolojik farklılıklardan, gebelik boyunca oluşabilecek biyolojik değişikliklerden, farklı risk algoritmalarından ve kalite kontrol prosedürlerinden kaynaklanmaktadır (10). Analitik varyasyonlar bilindiği gibi bireysel risk hesaplanmasında tekrarlanabilirliği direkt olarak etkilemektedir (11,12). Bu yüzden risk hesaplamalarında sıkı kalite kontrol programlarının kullanılması önerilmektedir (13,14).

### GEREÇ VE YÖNTEM

Farklı serbest HCG ve PAPP-A MoM değerlerine sahip 3 farklı serum havuzu hazırlanmıştır.

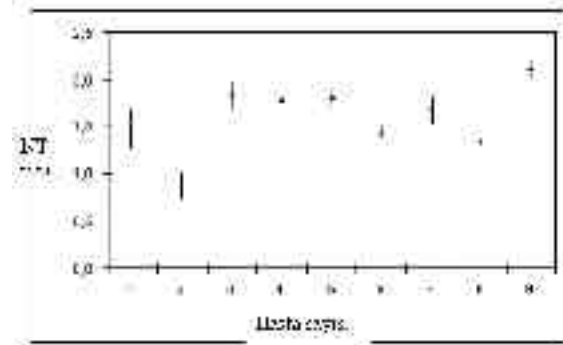
1. Düzey: düşük serbest HCG, düşük PAPP-A (Trisomi 18)
2. Düzey: yüksek serbest HCG, düşük PAPP-A (Down sendromu)
3. Düzey: normal serbest HCG, normal PAPP-A (normal)

Tüm serum havuzları aynı gün içinde 5 kez ölçülmüş ve tekrarlanabilirlikleri belirlenmiştir. Aynı zamanda 9 ayrı gebenin 5 farklı

Obstetrik ve Jinekoloji uzmanı tarafından NT ölçümleri yapılmıştır. Serum havuzları çalışılırken serbest HCG ölçümü için IMMULITE® serbest HCG kiti (Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited, United Kindom), PAPP-A ölçümü için IMMULITE® PAPP-A kiti (Siemens Medical Solutions Diagnostics Limited, United Kindom) kullanılmıştır. USG ile NT ölçümleri Siemens Anteres Sonoline Ultrasonu ile yapılmıştır. Tüm fetüsler gebeliğin 11+0 ile 13+6 hafta arasında CRL (crown-rump lengths) 45-84 mm arasında mid sagittal kesitte incelenmiştir. Risk değerlendirilmesinde ise Prenatal tarama programı (PRISCA Typolog Software GmbH, Hamburg, Germany) kullanılmıştır.

### BULGULAR

Serum havuzlarının serbest HCG ve PAPP-A konsantrasyonları Tablo 1'de gösterilmektedir. Beş farklı klinisyen tarafından ölçülen NT değerleri Şekil 1'de gösterilmektedir. Bu serum konsantrasyonları ve NT ölçümlerini içeren risk hesaplamaları Tablo 2'de gösterilmektedir.



Şekil 1. Hastaların NT (mm) değerleri.

Tablo 1. Serum Free HCG ve PAPP-A konsantrasyonları.

	f-BHCG (ng/ml)		PAPP-A (mIU/ml)	
	ortalama ± S.S	%CV	ortalama ± S.S	%CV
1. Serum Havuzu Düzeyi	24.16 ± 2.0	8.6	1 ± 0.07	7
2. Serum Havuzu Düzeyi	45.3 ± 3.5	7.8	1.98 ± 0.08	4.2
3. Serum Havuzu Düzeyi	173.8 ± 6.83	3.6	1.48 ± 0.08	5.7

**Tablo 2.** Birinci Trimester risk varyasyonları.

	f-BHCG değişken	f-BHCG sabit	f-BHCG sabit
	PAPP-A sabit	PAPP-A değişken	PAPP-A sabit
	NT sabit %CV (min-max)	NT sabit %CV (min-max )	NT değişken %CV (min-max )
1. Serum Havuzu Düzeyi	0-16.3	0-9.5	27.4-37.1
2. Serum Havuzu Düzeyi	0-0.8	0-34.6	24.3-35.1
3. Serum Havuzu Düzeyi	0-16.4	8-17.5	50.7-57.2

Gün içi tekrarlanabilirlik sonuçları (min-max %CV) değerleri serbest HCG için %3.9-8.6, PAPP-A için %4.2-7.0, NT değerlerinin ise %4.02-17.6 saptanmıştır. Bu değişimlerin 1. trimester risk oranlarına etkileri hesaplandığında üç farklı serum örneğinde serbest HCG değişimlerinde %0-16.3, %0-0.8, %0-16.46, PAPP- A değişimlerinde %0-9.5, %0-34.6, %8-17.15 ve NT değişimlerinde %27.4-37, %24.3-35.1, %50.7-%57.2 olarak saptanmıştır

## TARTIŞMA

Günümüzde modern otomatize teknikler sayesinde, birinci trimester taramalarında maternal serum örnekleri sonuçlarının analitik varyasyonları minimize edilmiştir. Aynı zamanda risk hesaplaması amacıyla bir çok maternal serum tarama programı gelişmiştir. Sonuçta analitik performans kabul edilebilir sınırlarda iken ölçümlerdeki varyasyonlar düşük riskli gruplarda risk tahmininde etkili olmazken, yüksek riskli gruplarda ve ileri maternal yaşa sahip gruplarda risk tahmininde oldukça etkili olmaktadır. Kombine test için ölçülen biyokimyasal parametrelerin analitik doğruluğu önemlidir ve risk hesaplanmasında yüksek varyasyonlara neden olabilmektedir. Bu varyasyonlar testin tekrarlanması ile sonuçlanmakta veya hastayı invaziv bir girişim olan ve hastada anksiyeteye yol açan amniyosenteze taşımaktadır. Test sonuçlarında ki bu varyasyonlar immünoasayler arasındaki metodolojik farklılıklardan, gebelik boyunca oluşabilecek biyolojik değişikliklerden, farklı risk algoritmalarından ve

kalite kontrol prosedürlerinden kaynaklanmaktadır (10).

1990 yılından bu yana çalışmalar göstermiştir ki birinci trimester de maternal serum PAPP-A seviyesinin düşüklüğü ve serbest HCG seviyesinin yüksekliği ile Down Sendromu arasında ilişki mevcuttur (15,16). Kombine test birinci trimester de maternal serumda 2 biyokimyasal parametre ve ultra sonografik bir veri olan NT ölçümünün kombinasyonundan oluşmaktadır (6). Kombine testin dedeksiyon hızı %82-87 arasında değişmektedir ve %5 oranında yalancı pozitifliği mevcuttur. Bu haliyle 2 trimesterde yapılan Üçlü teste göre daha iyi olarak bulunmuştur (7). Kombine testin avantajı 1. trimesterin sonunda yapılabilmesi ve sonuca göre CVS (chorionic villus sampling) gibi karyotipi belirleyen testlere veya erken terminasyona olanak sağlamasıdır. ACOG's (American Congress of Obstetricians and Gynecologists) 2007 klinik yönergesine göre kombine test genel popülasyonda Down Sendromu için efektif bir tarama testidir (17). 2. Trimester testlerinin analitik varyasyonlarının risk hesaplamasına etkisi bir çok çalışma ile gösterilmiştir. MacRae ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hCG, AFP and E3'ün analitik varyasyonlarının risk hesaplamasına katkısı önemsiz gibi görünse de (18) bu konu bir çok otorite için tartışma konusu olmuştur ve sonuçta verileri sınırda olan vakalarda problemlere yol açtığı konusunda fikir birliği sağlanmıştır (19-23). Fakat birinci trimester testlerinin analitik varyasyonlarının risk hesaplaması üzerine etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu sonuçlar bir kez daha göstermiştir ki 1. Trimester tarama testlerinin analitik performansı optimumda tutulmalıdır. Bunun için de deneyimli laboratuvar personeli, yüksek kalite ve en üst düzey teknikte laboratuvar ekipmanlara sahip olmak önemlidir. Bu aynı zamanda sıkı bir internal kalite kontrol programı gerektirmektedir. Bu sayede random hatalar takip edilebilmeli ve random hataya neden olabilecek nedenler kolaylıkla elimine edilebilmelidir.

Tüm bu sonuçlara rağmen hala 1. ve 2. Trimester testlerini karşılaştırmak için daha iyi analitik performansa ihtiyaç vardır. NT ölçümü ise sertifika sahibi deneyimli personel tarafından yapılarak test sonuçlarına etkisi minimale indirilmelidir. Eğer mümkünse laboratuvarlar eksternal kalite kontrol programına sahip olmalıdır. Ve performansları düzenli olarak değerlendirilmelidir.

#### KAYNAKLAR

- Korenberg JR, Chen XN, Schipper R, et al. Down syndrome phenotypes: the consequences of chromosomal imbalance. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 4997-5001.
- Shaw SW, Chen CP, Cheng PJ, et al. Gene dosage change of TPTE and BAGE2 and breakpoint analysis in Robertsonian Down syndrome. *J Hum Genet* 2008; 53: 136-43.
- Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Munson ML. Births: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2003; 52: 1-113.
- Mathews TJ, Hamilton BE. Mean age of mother, 1970-2000. *Natl Vital Stat Rep* 2002; 51: 1-13.
- Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaidis KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by First- and Second-Trimester DS Screening maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. *Lancet* 1998; 352: 343-6.
- Wald NJ, Hackshaw AK. Combining ultrasound and biochemistry in first-trimester screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 1997; 17: 821-9.
- Malone FD, Canick JA, Ball RH, et al. First-trimester or second-trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353: 2001-11.
- Cheng PJ, Chang SD, Shaw SW, Soong YK. Nuchal translucency thickness in fetuses with chromosomal translocation at 11-12 weeks of gestation. *Obstet Gynecol* 2005; 105: 1058-62.
- Shaw SW, Cheng PJ, Chueh HY, Chang SD, Soong YK. Ectopia cordis in a fetus with trisomy 18. *J Clin Ultrasound* 2006; 34: 95-
- Cavalli P. False-negative results in Down's syndrome screening. *Lancet* 1996; 347(6): 965-6.
- Williams KL, Nix BA, Dunstan FD. Effect of screening algorithm, parameter values and median smoothing on patient-specific risk estimates for Down's syndrome screening. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 165-73.
- Christiansen M, Hogdall EV, Larsen SO, Hogdall C. The variation of risk estimates through pregnancy in second trimester maternal serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 2002; 22(5): 385-7.
- Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297: 883-7.
- Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ, Williams J, Pulkkinen A, Canick JA, et al. Prenatal screening for Down's syndrome with use of maternal serum markers. *N Engl J Med* 1992; 327(9): 588-93.
- Spencer K, Macri JN, Aitken DA, Connor JM. Free beta-hCG as first-trimester marker for fetal trisomy. *Lancet* 1992; 339: 1480.
- Wald N, Stone R, Cuckle HS, et al. First trimester concentrations of pregnancy associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's syndrome. *BMJ* 1992; 305: 28.
- ACOG Committee on Practice Bulletins. ACOG Practice Bulletin No. 77: screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 2007; 109: 217-27.
- Macrae AR, Gardner HA, Allen LC, Tokmakejian S, Lepage N. Outcome validation of the Beckman Coulter Access analyzer in A second-trimester Down syndrome serum screening application. *Clin Chem* 2003; 49(1): 69-76.
- Williams KL, Nix BA, Dunstan FD. Effect of screening algorithm, parameter values and median smoothing on patient-specific risk. Estimates for Down's syndrome screening. *Ann Clin Biochem* 2000; 37: 165-73.
- Christiansen M, Hogdall EV, Larsen SO, Hogdall C. The variation of risk estimates through pregnancy in second trimester. Maternal serum screening for Down's syndrome. *Prenat Diagn* 2002; 22(5): 385-7.
- Holding S. Biochemical screening for Down's syndrome. *BMJ* 1991; 302: 1275.
- Benn PA, Collins R. Evaluation of effect of analytical imprecision in maternal serum screening for Down's syndrome. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 28-36.

Öztürk Ö. ve ark.

23. Serdar MA, Tutuncu L, Olgun A, Hasimi A, Ozgurtas T, Erbil MK. The effects of analytical factors on second trimester risk estimations. Int J Gynecol Obstet 2006; 93: 28-32.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Özlem Öztürk  
GATA, Biyokimya ve Tıbbi Biyokimya  
Anabilim Dalı, Ankara  
E-posta: drozozturk@yahoo.com

---