



Biokemisk Screening

Kursus i Føtal Medicin 2009
Minikursus i klinisk genetik 20 oktober

Lennart Friis-Hansen

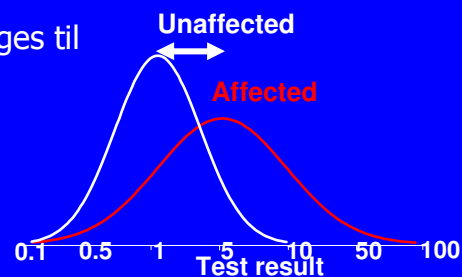
Dept. of Clinical Biochemistry
Rigshospitalet
University of Copenhagen
Denmark



Biokemisk Screening

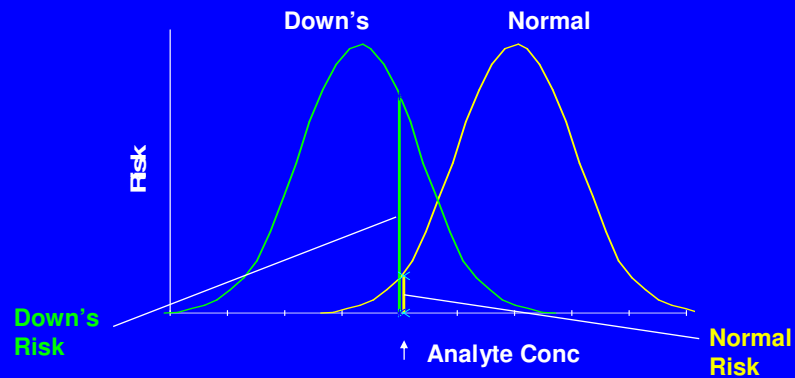
Den bagvedliggende ide

- Kromosom forandringer og/eller udviklings anomalier ændrer sekretionen af peptider/proteiner fra placenta
- Den maternale plasma koncentration af disse analyter kan måles
- Disse resultater kan bruges til
Screening
Diagnosik





Basis for risiko beregningen



$$LR = \frac{\text{Højde af distribution i Down's}}{\text{Højde af distribution i raske}}$$



Forudsætninger

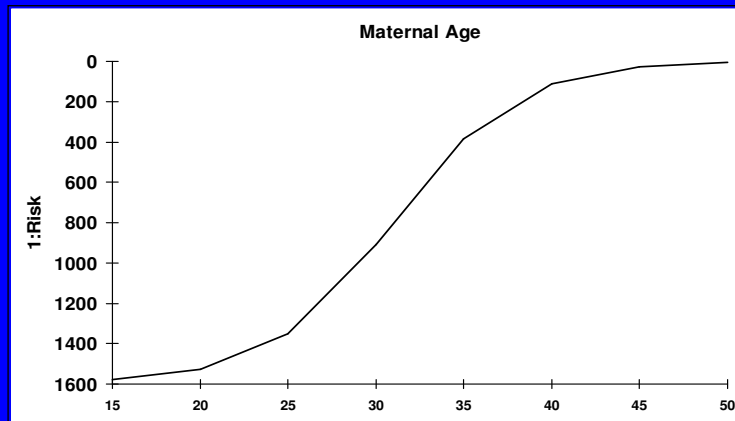
- Baggrunds risikoen det man undersøger for skal være kendt
- Parametrene skal være uafhængige af hinanden
- Den analytiske variation skal være så lille at det hele ikke drukner i usikkerhed
- Derfor skal der være et strikt kvalitetskontrol system



Biokemisk Screening



Alders afhængig risiko for Downs



København, 21. oktober, 2008
page 5



Biokemisk Screening



1st trimester **Typer af tests**

- Kombineret test ("Double test" + NT) (Serum + Ultrasound)
Nakkefold (NT), måling af frit β -human chorionic gonadotrophin (β -hCG), pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) og maternal alder

2nd trimester

- Triple test (serum only)
Måling af AFP, unconjugeret uE3, og hCG (eller total hCG eller frit β -hCG) og maternal alder.

1st + 2nd trimester

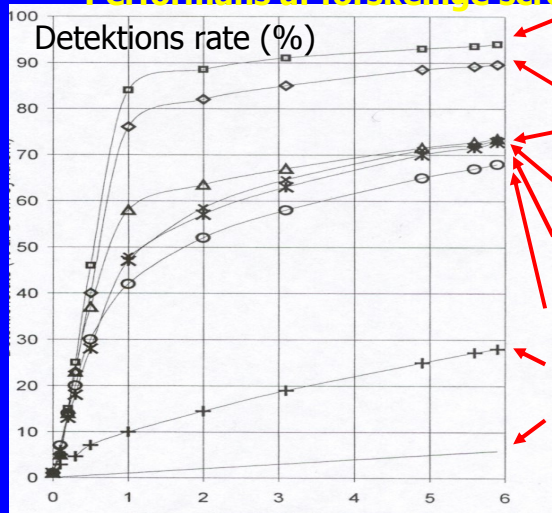
- Udgået.
Lav tilslutning til 2. trimester screening
Sene aborter er generelt uønskede.

København, 21. oktober, 2008
page 6



Biokemisk Screening

Performans af forskellige screeningsstrategier



- Integreret (1+2 trim)
- NT + doubletest (1 trim)
- NT (1 trim)
- Doubletest (1 trim)
- Quadrupletest (2 trim)
- Triplettest (2 trim)
- Alder > 34 år (1 trim)
- Ingen test

Screenings positive (%) Simulation udført af H. Cuckle

København, 21. oktober, 2008
page 7



Biokemisk Screening

Kombineret test: Første Trimester Serum + NT

- Pregnancy Associated Plasma Protein A (PAPP A)
- Frit β hCG
- Used with the ultrasound marker - Nuchal Translucency (NT)
- Detection rates with 5% screen positive rate:
 - Down syndrome – 90%,
 - Trisomy 18 – >90%

*ACOG Committee Opinion *Obstet Gynecol* 2004 Jul;104(1):215-7

København, 21. oktober, 2008
page 8



Biokemisk Screening



PAPP-A

- IGF4BP protease
- Secerneret af trophoblasten
- Frigives direkte til de maternale serum (findes ikke i amnion væsken)
- Kan måles fra ~ 6 grav uge
- Fordobles hver 6 dag
- Når et plateau ved 14 grav uge
- Konc er nedsat ved Downs (0.3 -0.4 MoM)



Biokemisk Screening



Lav konc af PAPP-A

- Trisomi 21
- Trisomi 18
- Trisomi 13
- Andre kromosom abnorm
- Aneuploidi
- Forestående fosterdød
- Hæmmet tilvækst
 - Preterm fødsel
 - Lav fødselsvægt

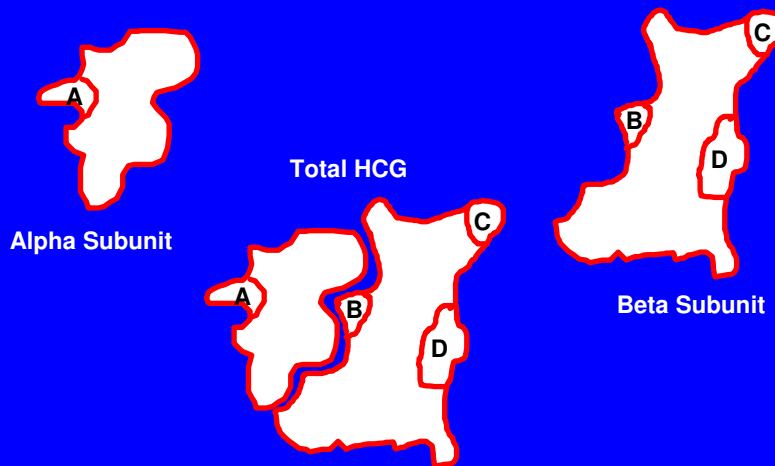
Høj konc af PAPP-A

- Ingen patologisk betydning



Biokemisk Screening

β -hCG



Biokemisk Screening

Free β -subunit hCG

- Glycoprotein hormon
- Secerneret af placenta trophoblast
- β subunit fremkommer ved elastase aktivitet på total HCG
- Detekterbar fra 10 dages post ovulation
- Fordobles initialt hver 1.5 – 2 dage
- Når et peak ved 8 grav uge
- Findes forhøjet ved Downs (2.0 -2.5 MoM)

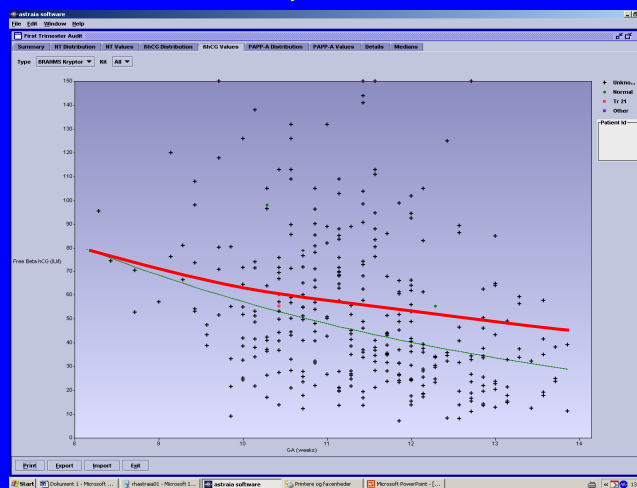


Faktorer der har indflydelse på marker performance

- **Maternal vægt**
(ved prøvetagning – ikke ved ultralyd)
- Rygning
- Diabetes mellitus
- **Tvillinger**
- Etnicitet
- Konceptions måde



β -hCG





Biokemisk Screening

Multiples of median MoMs

$$\text{MoM (analyt A)} = \frac{\text{Målt koncentration af A ved gest. alder}}{\text{Median koncentration af A ved gest. alder}}$$

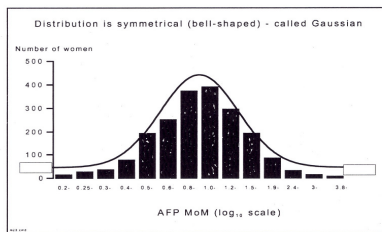
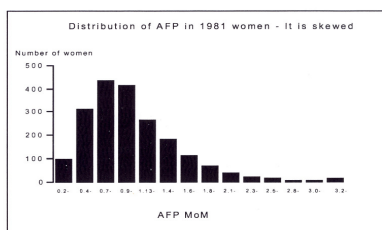
MoM ~ "fraktion af normal"

**MoMs er uafhængig af gestational alder
og koncentrations enhed**



Biokemisk Screening

LogMoM værdier bruges til
beregningerne da de har en
Gaussisk fordeling



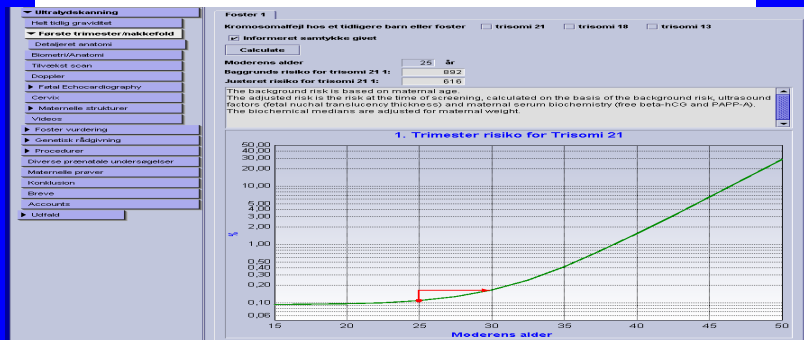


Biokemisk Screening



Univariate Risiko beregning

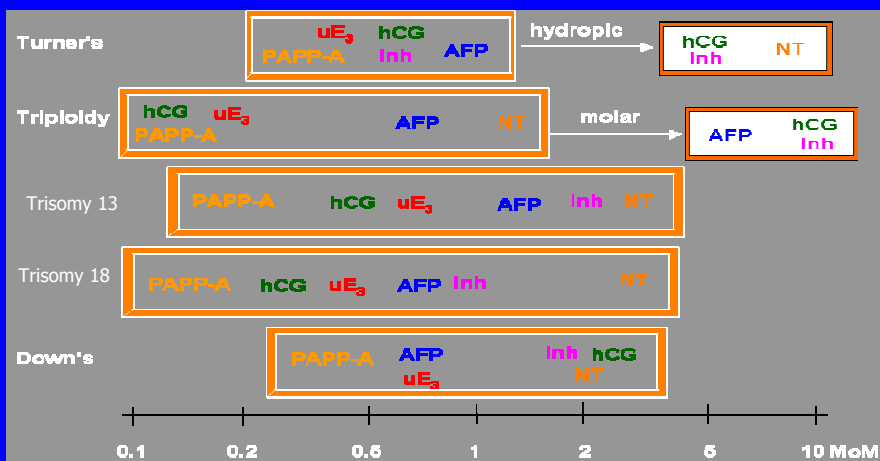
$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \cdot \exp\left(-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right)$$



Biokemisk Screening



Karakteristiske MoM-værdier ved forskellige syndromer



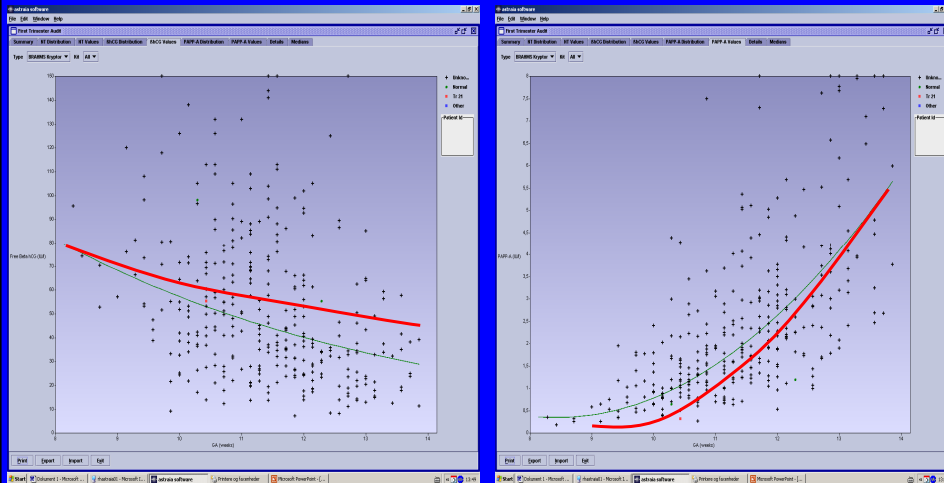


Biokemisk Screening



bhCG

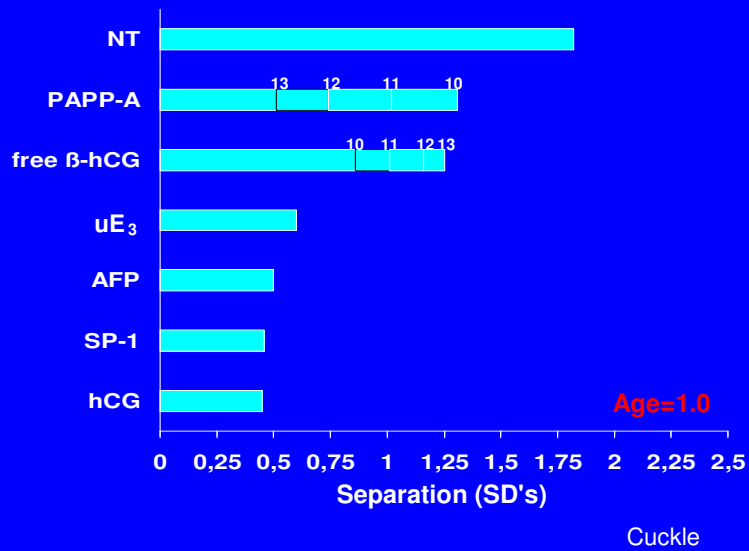
PAPP-A



København, 21. oktober, 2008
page 19



Biokemisk Screening





Biokemisk Screening



Bent, Howard and Michaels ide: jo tidligere – jo bedre

PRENATAL DIAGNOSIS
Prenat Diagn (2008)
 Published online in Wiley InterScience
 (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/pd.2057

Improved performance of first-trimester combined screening for trisomy 21 with the double test taken before a gestational age of 10 weeks

Ida Kirkegaard^{1*}, Olav Bjørn Petersen¹, Niels Uldbjerg¹ and Niels Tørring²

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Aarhus University Hospital, Skejby, Aarhus, Denmark
²Department of Clinical Biochemistry, Aarhus University Hospital, Skejby, Aarhus, Denmark

	< 10 + 0 weeks	> 10 + 0 weeks
— GA		
— N	53 (54)	44
— Detected	53 (53)	34
— Missed	0 (1)	10
— DR	100% (0.94–1.00)	77% (0.65–0.90)

København, 21. oktober, 2008
 page 21



Biokemisk Screening



FMF QC krav

Free Beta hCG	Within Day CV %	Between Day CV %
85iu/l	3.0	5.0
20iu/l	3.0	5.0
8iu/l	4.0	6.0
PAPP-A	Within Day CV %	Between Day CV %
0.30 iu/l	4.0	6.0
1.50 iu/l	4.0	6.0
4.00 iu/l	3.0	5.0

Performance skal vurderes både mod såvel den enkelte som gennemsnittet af alle metoder (ALTM) som deltager i UKNEQAS QC program for First Trimester Down Syndrome Screening.

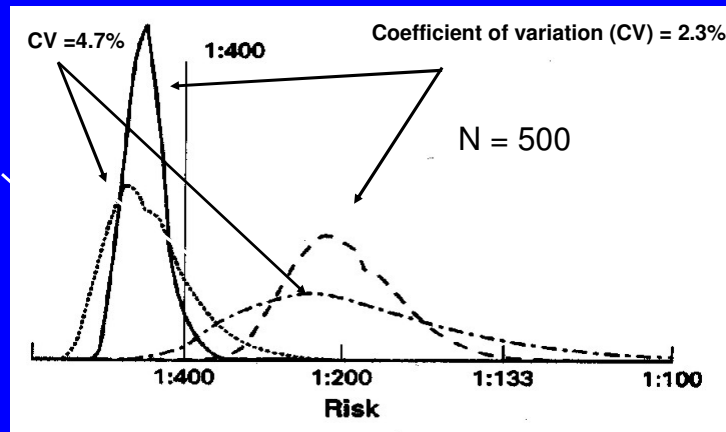
(Biologisk variation for MoMs er 20-30%)

København, 21. oktober, 2008
 page 22



Biokemisk Screening

Analytisk variation – påvirker risiko beregningen



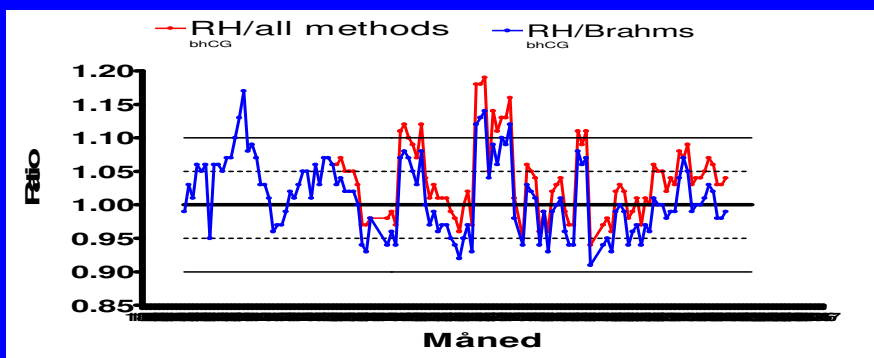
Christiansen M & Larsen S.O., *J Med Screen* 8:61-64, 2001

København, 21. oktober, 2008
page 23



Biokemisk Screening

Konc og MoM er metodeafhængige



- De faktiske målte værdier og MoM'er er metode afhængige => man skal vide hvilken maskine der har produceret analyse resultatet.

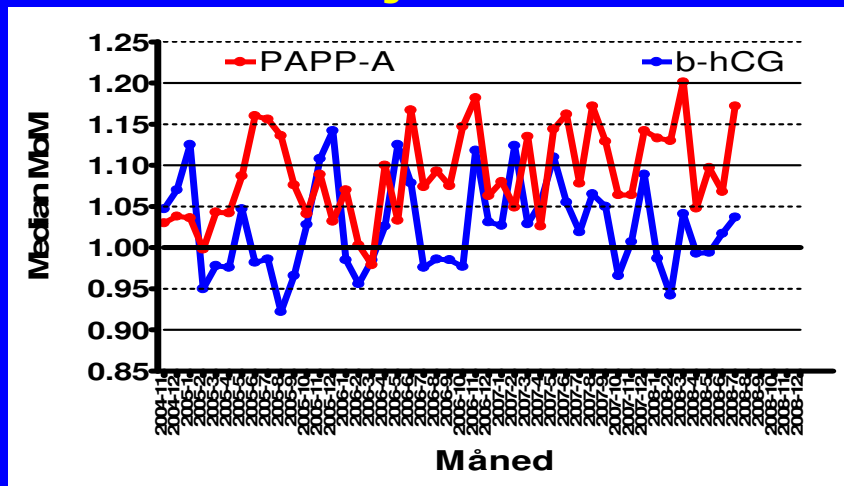
København, 21. oktober, 2008
page 24



Biokemisk Screening



Månedlig Median MoM



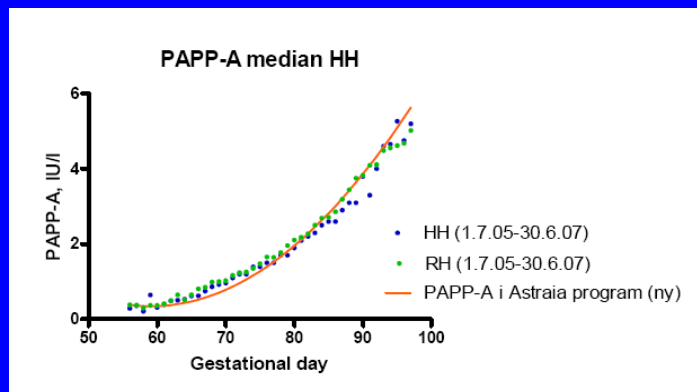
København, 21. oktober, 2008
page 25



Biokemisk Screening



Cph vs London medians

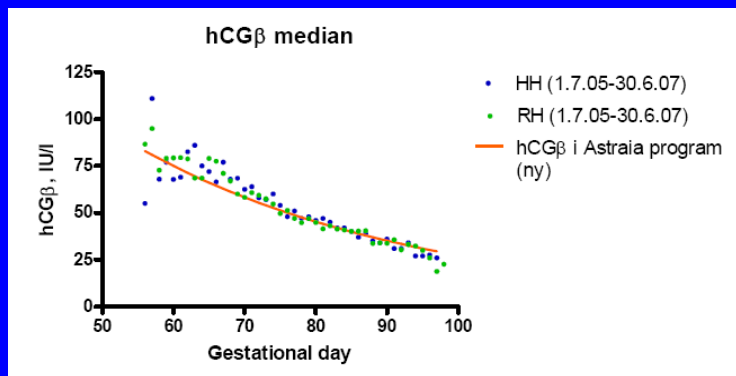


København, 21. oktober, 2008
page 26



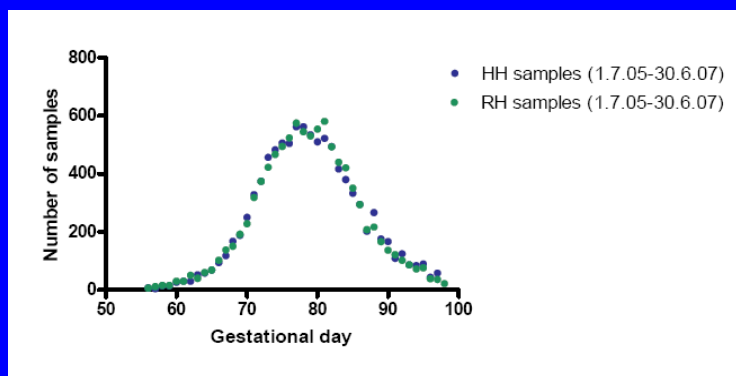
Biokemisk Screening

Cph vs London medians



Biokemisk Screening

Blood sampling GA





Trippel testen

- Analyter (+ maternal alder):
 - Alpha-fetoprotein (AFP)
 - Ukconjugeret estriol (uE3)
 - Beta-Human Chorionic Gonadotropin (b-HCG)
- Detektions rate/screen-positiv rate varierer fra laboratorium til laboratorium
- Detektions rate, 5% screen-positive rate
 - Down syndrom: 60-70%
 - Trisomi 18: 60%
 - NTD: 75-80%



AFP

- Føtalt glycoprotein produceret i den embryonale bløddesæk, og fostrets gastrointestinal kanal og lever
- Fetal serum AFP binder og transporterer multiple ligander including bilirubin, fede syrer, og steroider
- Regulerer vækst hos fostret
- Har formentlig ingen normal funktion hos voksne
- Forhøjet konc. hos voksne med fx hepatocellular carcinom, cirrhose, hepatitis eller germ cell carcinoma



uE3

- uE3 is produced by the placenta from the fetal precursor molecule 16 alpha-hydroxy-dehydro-epiandrosteronesulfate (DHEAS).
- In Down syndrome pregnancies, both uE3 and DHEAS appear to be lower than normal in the fetal liver, placental tissue, and maternal serum
- This indicates that Down syndrome pregnancies are characterized by a diminished supply of DHEAS.
- UE3 is thought to stimulate the endometrium and augment uterine blood flow



Konklusioner

- Successen bag første trimester screening programet skyldes
- Vel karakteriseret baggrunds risiko
 - Vel karakteriserede markører (alder, NT, PAPP-A og β hCG)
 - Præcise og akkurate analyser
 - Effektive kvalitetskontrol
 - Stor patient opmærksomhed mod problematikken og godt informationsniveau
 - Vel definerede mål
 - Accepterede "end points"



Konklusioner

- Den kombinerede Ultralyd og Biokemisk Screening for Down's Syndrome har givet en øget detektionsrate og en lavere CVS/AC rate compared to Screening based on Age – intelligent selection for CVS.
- Det er nu muligt at finde de fleste af Down grav hos kvinder < 35 år.
- Kvinder >35 år og lav risiko kan vælge at undlade CVS/AC.
- Systemet har vist sig robust og kvaliteten er lig med eller bedre hvad der er ellers opnået.

- Fremtidige forbedringer
 - Repeated measurements integreret in til en risiko beregning vil øge detektion og sænke falskt positive
 - Nye markører



Fremtiden

- **Dobbel-dobbel-testen**
- **Analyse af føtele celler I serum**
- **Forudsigelse af fx præeklampsi**



Biokemisk Screening



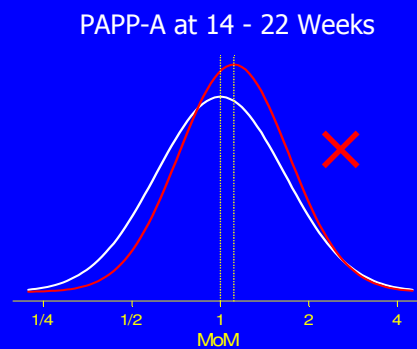
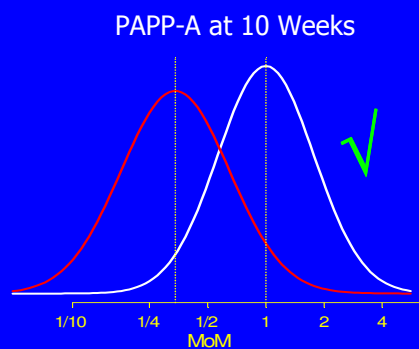
Principal features of the development of screening tests

- Markers are identified on the basis of 'univariate' discriminatory value
- High correlations are a sign of redundancy
- Best combination = combination of best

D Wright, 2006



Markers are identified on the basis of 'univariate' discriminatory value



D Wright, 2006



Biokemisk Screening



PAPP-A at 10 Weeks

DR 85%

FPR 17%

PAPP-A at 14-22 Weeks

DR 85%

FPR 65%



Highly correlated

PAPP-A at 10 Weeks &
14-22 Weeks

DR 85%

FPR 2%

PAPP-A in second
trimester is a very poor
marker

Not a combination of
the best markers

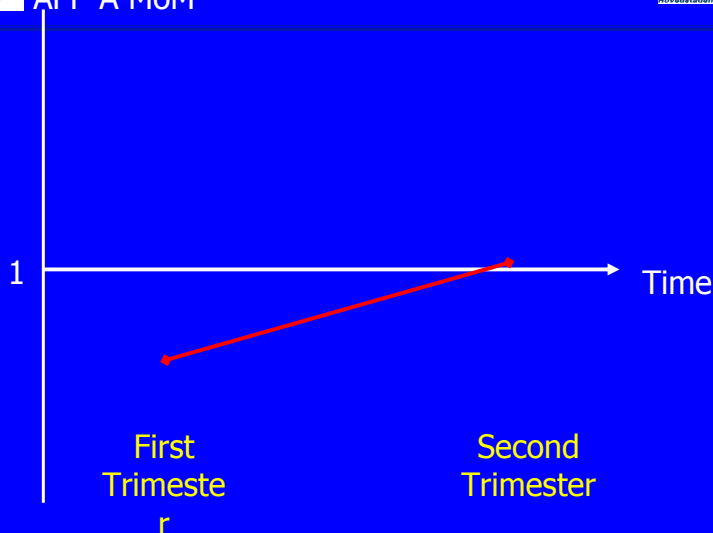
D Wright, 2006



Biokemisk Screening



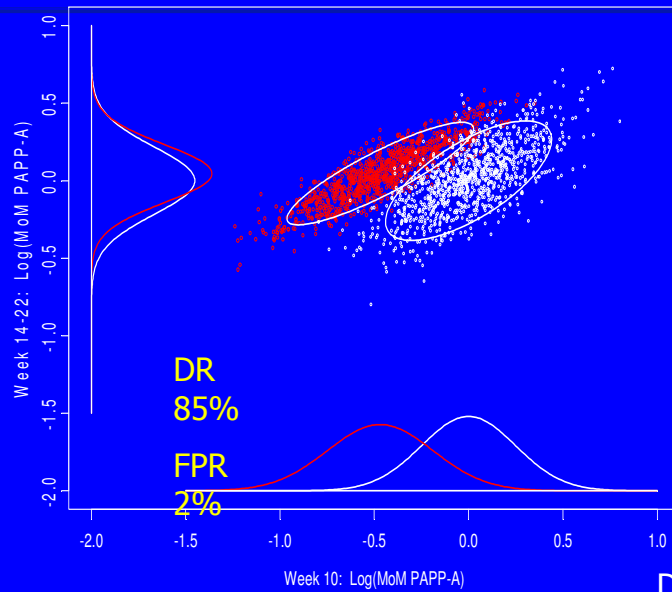
PAPP-A MOM



D Wright, 2006



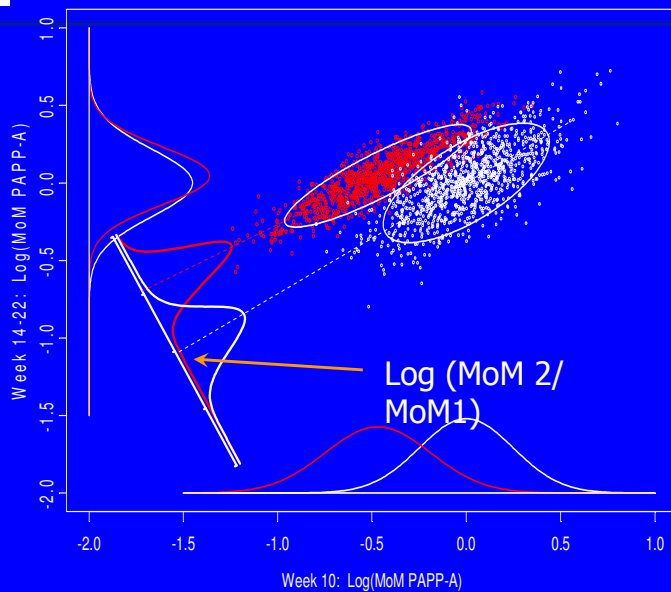
Biokemisk Screening Illustration



D Wright, 200



Biokemisk Screening



D Wright, 200



False Positive Rate for an 85% Detection Rate



	Markers included	False positive rate
First Trimester Combined Test	NT, Free β hCG, PAPP-A	6.1%
Second Trimester Quadruple Test	AFP, uE3, hCG, Inhibin	6.2%
Two measures	AFP ²	41%
	UE3 ²	17%
	Total hCG ²	13%
	Free β CG ²	21%
	PAPP-A ²	2.3%
	Inhibin-A ²	12%
Four measures	Total hCG ² + PAPP-A ²	1.1%
	Total hCG ² + Inhibin-A ²	5.7%
	Total hCG ² + uE3 ²	5.4%
	PAPP-A ² + Inhibin-A ²	1.0%
	PAPP-A ² + uE3 ²	0.5%
Six measures	PAPP-A ² + Total hCG ² + Inhibin-A ²	0.7%
	PAPP-A ² + Total hCG ² + uE3 ²	0.5%
	PAPP-A ² + Inhibin-A ² + uE3 ²	0.3%
Four Measures + NT	PAPP-A ² + Total hCG ² + NT	0.6%
	PAPP-A ² + Inhibin-A ² + NT	0.6%
	PAPP-A ² + uE3 ² + NT	0.3%

Results for gestational age of 10 weeks and 14 to 22 weeks
D Wright, 20