

**Hoofdstuk 1** biedt een korte geschiedenis van echografie als methode om de foetus te onderzoeken. De techniek van prenatale echografie werd voor het eerst in de vroege jaren zestig gebruikt. Vervolgens wordt de overgang van echografie als onderzoeksmethode met veel beperkingen, tot het huidige gebruik als geavanceerde screenings- en diagnostische techniek besproken. Daarnaast wordt de recente ontwikkeling van driedimensionale (3D) echografie besproken, met de voordelen en beperkingen ten opzichte van de conventionele tweedimensionale (2D) techniek. Ook wordt de screeningsmethode voor het syndroom van Down (DS), de meest voorkomende trisomie in levend geboren baby's, besproken. Daarnaast wordt een overzicht gegeven van de huidige screeningsmogelijkheden in het eerste en tweede trimester. In het bijzonder wordt ingegaan op markers die in het foetale profiel te zien zijn tijdens echografisch onderzoek in het tweede trimester. Tenslotte wordt het Edwards-syndroom (ES) geïntroduceerd waarbij ingegaan wordt op incidentie, grote malformaties in de pre- en postnatale periode, prognose en screeningsopties.

In **hoofdstuk 2 en 3**, worden vier structuren in het foetale profiel, die recent als markers voor DS zijn geïntroduceerd, bekeken in een groep euploïde (chromosomaal normale) foetussen. Normaalwaarden op basis van 3D-metingen van de markers worden gemaakt, waarna vervolgens één marker, de "prenasal thickness to nasal bone length ratio" (PT-NBL ratio; verhouding huiddikte voor de neus en lengte neusbeentje), wordt getest in een kleine groep DS-foetussen.

**Hoofdstuk 2** behandelt de haalbaarheid om drie markers, de nasal bone length (NBL; neusbeenlengte), prenasal thickness (PT; huiddikte voor de neus) en fronto-maxillary facial (FMF) hoek (voorhoofd-kaak-gezichtshoek), te meten in hetzelfde 3D-gecorrigeerde profiel van euploïde tweede en derde trimester foetussen. Een scoringssysteem wordt gebruikt waarbij de beelden van de profielen worden beoordeeld op contrast en helderheid. Alleen beelden met een hoge score worden gebruikt voor verdere analyse. Elke marker werd drie keer gemeten. Het gemiddelde werd als uiteindelijke meting gebruikt. Het was significant vaker mogelijk om de NBL en PT duidelijk en volledig in beeld te krijgen (98% en 97%, respectievelijk) dan om de FMF hoek in beeld te krijgen (26%,  $p < 0.001$ ). Tevens was de intra- en interobserver variabiliteit voor de NBL en PT superieur ten opzichte van de FMF hoek. De NBL groeide significant gedurende de zwangerschap, van 3.3 mm bij 15 weken tot 9.6 mm bij 33 weken. De PT werd ook groter gedurende de zwangerschap, van 2.3 mm bij 15 weken tot 6.1 mm bij 33 weken. Normaalwaarden voor beide markers werden opgesteld. De FMF hoek lijkt niet gecorreleerd aan de zwangerschapsduur, maar door de slechte meetbaarheid van deze marker werd geen verdere analyse verricht en werd geen normaalwaarde geconstrueerd. Een interessante observatie was dat nadat we de definitie van de NBL hadden aangepast (waarbij de doorsnede van het os frontale (voorhoofdsbot) niet bij de NBL meting wordt betrokken) onze normaalwaarden bij elke zwangerschapsduur kleiner waren dan in andere gepubliceerde studies over de NBL, terwijl er gedurende de zwangerschap een gelijkvormige curve te zien was. Geconcludeerd kan worden dat de NBL en PT, gemeten op met 3D aangepaste beelden, makkelijk te gebruiken markers zijn, terwijl de FMF hoek een grotere uitdaging vormt. Daarnaast moet men er op bedacht zijn niet een deel van het os frontale in de NBL meting te includeren.

In **hoofdstuk 3** bestuderen we de PT-NBL ratio. Dit is de ratio tussen de PT en de NBL. De PT-NBL ratio werd bestudeerd in zowel DS- als euploïde foetussen in het tweede en derde trimester. De normaalwaarden voor NBL en PT resulterend uit het onderzoek in hoofdstuk 2 werden gebruikt om normaalwaarden voor de PT-NBL ratio op te stellen. De PT-NBL ratio bleef gelijk gedurende de zwangerschapsduur (gemiddelde waarde 0.61, 95% CI, 0.59 – 0.63;  $r = -0.04$ ,  $P = 0.7$ ). Het 5<sup>e</sup> en 95<sup>e</sup>

percentiel waren respectievelijk 0.48 en 0.80. Deze normaalwaarden werden vervolgens gebruikt om een kleine groep DS-foetussen mee te vergelijken. De PT-NBL ratio was significant groter in DS-foetussen ( $P < 0.001$ ), maar bleef net zoals in de groep euploïde foetussen gelijk gedurende de zwangerschap met een gemiddelde waarde van 1.50 (95% CI, 1.20 – 1.80;  $r = -0.35$ ,  $P = 0.07$ ). Alle DS-foetussen hadden een PT-NBL ratio boven het 95e percentiel. Als dit 95e percentiel werd aangehouden als afkapwaarde, dan was de detectiegraad van de PT-NBL ratio 100% (95% CI, 89 – 100%) met een fout positief percentage van 5% (95% CI, 2 – 11%). De positieve likelihood ratio was 21.2. De conclusie van deze studie is dat de PT-NBL ratio een stabiele marker is om DS op te sporen gedurende het tweede en derde trimester. Bovendien hadden alle DS-foetussen in deze studie een PT-NBL ratio boven het 95e percentiel, wat het tot een veelbelovende marker voor het opsporen van DS maakt.

In **Hoofdstuk 4 en 5** worden twee markers voor DS geïntroduceerd, de maxilla-nasion-mandible (MNM) hoek (hoek tussen mandibula, neusbrug en maxilla) en de fetal profile (FP) lijn (voorhoofdslijn). Daarnaast worden vier andere markers, de NBL, PT, PT-NBL ratio en prefrontal space ratio (PFSR; verhouding tussen mandibula en maxilla gecombineerd met de huiddikte voor de neus), getest als DS-markers in een grote groep DS-foetussen. Al deze markers zijn gelokaliseerd in het foetale profiel, met als doel de vorm van het foetale profiel te kwantificeren.

De meetbaarheid en reproduceerbaarheid van de MNM hoek en de FP lijn met de bijbehorende FP afstand (de kortste afstand tussen de FP lijn en het os frontale) wordt onderzocht in **hoofdstuk 4**. Het onderzoek werd retrospectief verricht in een groep van 138 tweede en derde trimester DS-foetussen. Metingen werden vergeleken met de normaalwaarden die in eerdere studies waren opgesteld. De MNM hoek was significant kleiner in DS-foetussen (gemiddeld  $12.9^\circ$ ) dan in euploïde foetussen (gemiddeld  $13.5^\circ$ ,  $p = 0.015$ ). In slechts in 16.9% van de DS-foetussen was de MNM hoek onder het 5e percentiel, hoewel dit wel significant vaker het geval was dan in euploïde foetussen ( $p < 0.01$ ). De MNM hoek bleef gelijk gedurende de zwangerschap ( $p = 0.48$ ). Intra- en interobserver variabiliteit werd uitgedrukt als de intra-class correlation coefficient (ICC) met waarden van 0.89 en 0.61 voor respectievelijk de MNM hoek en 1.0 en 0.76 voor de FP lijn. In het cohort met DS-foetussen had geen enkele foetus een negatieve FP lijn. 41.1% had een positieve FP lijn (significant vaker dan in euploïde foetussen,  $p < 0.001$ ) en dit was significant vaker het geval in een latere fase in de zwangerschap ( $p < 0.001$ ). Aangezien uit een eerdere studie van deze groep was gebleken dat de FP lijn nooit positief was in de periode voor 27 weken zwangerschapsduur, besloten we het cohort DS-foetussen in tweeën op te splitsen in het tweede en derde trimester. In deze twee groepen hadden respectievelijk 28.4% en 76.5% van de DS-foetussen een positieve FP lijn met een fout positieve waarde van respectievelijk 0% en 16.9%. De FP afstand nam toe gedurende de zwangerschap ( $p < 0.001$ ), met een gemiddelde van 3.1 mm. De FP afstand was niet significant groter in DS-foetussen dan in euploïde foetussen ( $p = 0.4$ ). Een kleine MNM hoek was significant gecorreleerd met een positieve FP lijn ( $p < 0.001$ ). Naar aanleiding van deze studie stellen wij voor om de FP lijn te gebruiken als nieuwe marker voor DS, waarbij in het tweede trimester een zeer lage fout positieve incidentie wordt geconstateerd. Omdat er voor de FP lijn geen kennis van referentiewaarden nodig is (de FP lijn is positief, negatief of zero), is het een gebruiksvriendelijke marker voor het opsporen van DS.

In **hoofdstuk 5**, worden de vier recent geïntroduceerde DS-markers NBL, PT, PT-NBL ratio en PFSR geëvalueerd in een grote groep tweede en derde trimester DS-foetussen. De markers zijn gemeten

in 159 DS-foetussen en uitkomsten werden vergeleken met eerder gepubliceerde normaalwaarden. De gemiddelde maternale leeftijd was 35.8 jaar, de gemiddelde zwangerschapsduur was 23+1 weken. Intra- en interobserver variabiliteit waren het beste in de NBL, PT en PT-NBL ratio, met ICC's van respectievelijk 0.98 en 0.93, 0.98 en 0.97, en 0.94 en 0.92. De PFSR had ICC's van respectievelijk 0.67 en 0.67. De grootte van de NBL en PT waren gecorreleerd aan de zwangerschapsduur ( $p < 0.001$ ), maar niet aan de PT-NBL-ratio en PFSR. Alle markers waren gecorreleerd met DS ( $p < 0.001$ ). De gemiddelde waarde van de NBL, PT, PT-NBL ratio en PFSR waren respectievelijk 5.08, 5.56, 1.26 en 0.34. Het neusbotje was afwezig in 23 (15.4%) foetussen. Als methode voor DS-screening, behaalde de PT-NBL ratio de hoogste detectiegraad met 86.2%, gevolgd door de PFSR (79.7%), PT (63.4%) en NBL (61.9%). In 33.6% van de foetussen waren alle markers afwijkend. In 4.7% van de foetussen waren alle markers normaal. De combinatie van alle vier markers samen behaalde een detectiegraad van 95.3%, gevolgd door een combinatie van de PFSR met de PT-NBL-ratio met 93.8%. Aangezien de PT en NBL worden gebruikt om de PT-NBL-ratio te berekenen, en de PT ook wordt gebruikt om de PFSR te berekenen, waren we niet verbaasd dat alleen de multiple of the median (MoM) metingen van de NBL en PFSR onafhankelijk waren van elkaar ( $p = 0.10$ ). De detectiegraad van alle markers als de MoM NBL, MoM PT, PT-NBL ratio en PFSR, waren niet gecorreleerd aan de zwangerschapsduur. Concluderend adviseren wij om in het tweede en derde trimester van de zwangerschap de PT-NBL ratio en PFSR te gebruiken in het kader van onderzoek naar DS. Niet alleen omdat deze markers een hoge detectiegraad hebben, gecombineerd 94%, maar ook omdat ze makkelijk zijn in het gebruik aangezien ze geen kennis vereisen van specifieke normaalwaarden afhankelijk van de zwangerschapsduur.

**Hoofdstuk 6** behandelt de verschillen tussen metingen die worden gemaakt met behulp van 2D-beelden of 3D-volumes. Verschillen tussen metingen van zes markers (NBL, PT, FP lijn, MNM hoek, PT-NBL ratio en PFSR) gemaakt op basis van 2D-beelden (gemaakt na het volgen van strikte criteria) of door middel van 3D-aangepaste volumes, werden geanalyseerd, alsmede hun klinische applicatie. Alle zes markers werden gemeten in 105 datasets: 75 van euploïde foetussen en 30 van DS-foetussen. 2D-beelden en 3D- volumes waren beide vervaardigd tijdens hetzelfde onderzoek van de foetus. De MNM hoek was significant één graad groter wanneer deze op 2D-beelden werd gemeten ( $p < 0.01$ ). Voor alle andere metingen was er geen significant verschil of de meting met behulp van 2D- of 3D-echografie was gemaakt. De limits of agreement (LOA) voor intra- and inter-observer variabiliteit waren kleiner na 3D-metingen voor alle markers, behalve voor de MNM hoek. Wanneer de groep DS-foetussen apart werd geanalyseerd was er geen significant verschil in detectiegraad voor DS, wanneer ze met behulp van 2D- of 3D-beelden waren geanalyseerd. Met deze studie laten we zien dat, de MNM hoek uitgezonderd, er geen significante verschillen worden gezien tussen 2D- en 3D-metingen van een aantal DS-markers. Specifiek de NBL, PT, FP lijn, PT-NBL-ratio en PFSR kunnen worden gebruikt als DS-markers in 2D-beelden, voorbehouden dat de 2D-beelden zijn gemaakt van goede mid-sagittale beelden van het foetale profiel.

**Hoofdstuk 7** evalueert herhaalde metingen van de NBL, PT, nuchal fold (NF; nekplooi), PT-NBL-ratio en PFSR in tweede en derde trimester DS-foetussen. De markers werden retrospectief geanalyseerd en vergeleken met eerder gepubliceerde normaalwaarden. In totaal werden 24 DS-foetussen geanalyseerd. De gemiddelde zwangerschapsduur was 25 weken. De gemiddelde zwangerschapsduur bij het eerste onderzoek was 20+4 weken en bij het laatste onderzoek 29+2

weken. Het gemiddelde interval tussen de metingen was 39 dagen (spreiding 14 – 98 dagen), met een gemiddeld aantal onderzoeken van 2.6 per foetus. De NBL, PT en NF namen significant toe tijdens de zwangerschap ( $p < 0.01$ ), in tegenstelling tot de PT-NBL-ratio en PFSR. In 42% van de DS-foetussen, steeg de grootte van de NF niet in minstens één opvolgende meting, tegenover 4.8% en 13.6% in het geval van respectievelijk de NBL en PT. De PT-NBL ratio was de meest stabiele marker, waarbij in 95% van de DS-foetussen de waarde stabiel bleef. In een mixed model-format werd een corresponderende trend voor herhaalde metingen vergeleken met de gemiddelde waarde van een groep euploïde foetussen. In dit format toonden de zwangerschapsduurafhankelijke markers (NBL, PT, NF) meer variatie bij een langere zwangerschapsduur. MoM-waarden bleven echter stabiel. De NF en PFSR toonden de grootste verschillen tussen metingen wanneer alle foetussen met een individuele lijn werden afgebeeld. Niettemin waren de meeste PFSR-metingen ver onder de normaallijn. Uit deze studie concluderen wij dat herhaalde metingen van de NF en PFSR een grotendeels onvoorspelbaar verloop hebben wanneer ze in één en dezelfde foetus worden gemeten. Dit wordt hoogst waarschijnlijk veroorzaakt door een lastige reproduceerbaarheid. De PFSR lijkt echter toch zijn waarde als marker voor DS te behouden, aangezien de meeste metingen ver onder de normaallijn blijven.

In **hoofdstuk 8** worden zes markers die eerder als markers voor DS zijn gebruikt, geïntroduceerd als markers voor het detecteren van het Edwards-syndroom (ES) in het tweede en derde trimester. De markers die worden beoordeeld zijn de PT, NBL, PT-NBL ratio, PFSR, MNM hoek en FP lijn. De metingen werden vergeleken met eerder gepubliceerde normaalwaarden. Om de mogelijke klinische relevantie van markers voor ES te beoordelen, werden tevens additionele bevindingen (andere markers, structurele anomalieën, groeirestrictie) gedocumenteerd. Aanvullend werd bekeken of deze additionele bevindingen reeds bij de initiële routine 20-weeken echo waren ontdekt, of pas bij het uitgebreide echografische onderzoek na verwijzing (en soms ook karyotypering). 43 ES-foetussen werden geïnccludeerd. De gemiddelde maternale leeftijd was 37 jaar en de gemiddelde zwangerschapsduur was 21+2 weken. Net als in DS bestond er een significante correlatie tussen de zwangerschapsduur en de grootte van de NBL en PT ( $p < 0.001$ ), dit gold niet voor de andere markers. Alle markers waren significant gecorreleerd aan ES. De gemiddelde NBL, MNM hoek, PT, PT-NBL ratio en PFSR waren respectievelijk 3.76, 16.67, 4.25, 1.39 en 0.87. De FP lijn was zero (normaal) in 53.7% van de foetussen en negatief (abnormaal) in 46.3% van de gevallen. Een kort neusbotje kwam vaker voor dan een verdikte PT. Dit kwam naar voren in de uiteenlopende effectiviteit van de markers: de PT-NBL ratio had de hoogste detectiegraad (88.4%), gevolgd door de NBL (83.7%), MNM angle (56.4%), FP lijn (46.3%), PT (27.9%) en de PFSR (20.5%). Het fout positieve percentage was 5% voor alle markers, behalve voor de FP lijn, waarbij het fout positieve percentage 0% was. Verschillende combinaties van de vier beste markers (NBL, FP lijn, MNM angle and PT-NBL ratio) behaalden een detectiegraad tussen de 90% en 95%. Voorts waren er geen structurele anomalieën gedocumenteerd in 22% van de foetussen bij de initiële 20-weeken echo, terwijl dat maar 2% was bij het uitgebreide echografische onderzoek. De belangrijkste conclusies die kunnen worden getrokken naar aanleiding van dit onderzoek zijn dat de PT-NBL ratio en de NBL duidelijke markers zijn voor ES in het tweede en derde trimester. Daarnaast is het ook opvallend dat een negatieve FP lijn geen fout positieve waarden heeft en dat de FP lijn de mogelijkheid heeft te differentiëren tussen ES en DS, aangezien in de laatste groep de FP lijn nooit negatief is. Tenslotte werd in bijna een

kwart van de foetussen bij de 20-weeken echo geen grote anomalie geïdentificeerd, wat het belang van echografische markers voor ES onderstreept.

## Opsomming van de meest belangrijke bevindingen

Onderzoek van markers in euploïde foetussen:

- De PT, NBL en PT-NBL ratio zijn relatief makkelijk te beoordelen en leveren betrouwbare metingen op. De FMF hoek is vaak moeilijker om retrospectief te beoordelen, mogelijk omdat de herkenningpunten die worden gebruikt (palatum, vomer), in het tweede en derde trimester van de zwangerschap vaak niet goed zijn te onderscheiden.
- Het is van belang om bij het meten van de NBL niet een deel van het os frontale in de meting te betrekken.
- De PT-NBL ratio heeft in euploïde foetussen een constante gemiddelde waarde van 0.61 en 95<sup>e</sup> percentiel van 0.80 gedurende het tweede en derde trimester van de zwangerschap.

Prestatie van markers ten opzichte van Down syndroom (DS):

- In een groep retrospectief geanalyseerde DS-foetussen, heeft 86.2% een PT-NBL waarde boven het 95<sup>e</sup> percentiel. In 94% van de DS-foetussen heeft een PT-NBL ratio boven het 95<sup>e</sup> percentiel én/of een PFSR waarde onder het 5<sup>e</sup> percentiel.
- De PT-NBL ratio en PFSR vereisen geen kennis van normaalwaarden specifiek voor de zwangerschapsduur.
- Een positieve FP lijn heeft geen fout positieve waarden in het tweede trimester.

Vergelijking tussen 2D- en 3D-echografie:

- Wanneer metingen van de markers NBL, FP lijn, MNM hoek, PT, PT-NBL ratio en PFSR, gemaakt met behulp van 2D-beelden (vervaardigd op basis van strikte criteria), worden vergeleken met metingen verkregen door middel van 3D-volumes, is er alleen voor de MNM hoek een significant verschil.
- De markers hadden in DS-foetussen niet vaker een abnormale waarde wanneer ze door middel van 2D of 3D-echografie waren gemeten.

Longitudinale analyse van DS-markers:

- De betrouwbaarheid van de NF als tweede trimester-marker is discutabel.
- Herhaalde metingen van de PFSR in dezelfde foetus is onderhevig aan substantiële verschillen.
- De PT-NBL ratio is een stabiele marker wanneer die op verschillende momenten tijdens de zwangerschap wordt gemeten.

Prestatie van markers in relatie tot Edwards syndroom (ES):

- De PT-NBL ratio en NBL zijn sterke tweede en derde trimester markers voor ES.
- Een negatieve FP lijn had in dit onderzoek geen fout positieve resultaten en biedt eventueel de mogelijkheid te differentiëren tussen ES en DS.
- Er werden in ongeveer een kwart van de ES foetussen geen structurele afwijkingen geobserveerd bij de initiële 20-weeken echo, terwijl dit bij het uitgebreide echografisch onderzoek slechts 2% was.