

Amniyosentez ve Kordosentez İle Fetal Karyotip Tayini: 250 Olguda Sonuçlar

Murat YAYLA, Gökhan BAYHAN, Ahmet YALINKAYA, Nail ALP,
Mehmet FİDANBOY, Hüseyin İŞİ, Turgay BUDAK, A.Ceylan ERDEN

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum, Tıbbi Genetik ve Biyoloji Anabilim Dalları-Diyarbakır

ÖZET

AMNİYOSENTEZ VE KORDOSENTEZ İLE FETAL KARYOTİP TAYİNİ: 250 OLGUDA SONUÇLAR

Amaç: Yüksek riskli gebeliklerde fetal kromozom analizi sonuçlarının incelenmesi.

Yöntem: Dicle Üniversitesinde 1993-1998 yıllarında genetik amaçla amniyosentez yapılan 165, kordosentez yapılan 85 olgu endikasyon, klinik, girişim özelliği ve karyotipleme başarısı yönünden incelendi. Kromozom anomalili olgular değerlendirildi.

Bulgular: Amniyosentez serisinde endikasyonların büyük çoğunluğunu ileri anne yaşı, kötü obstetrik öykü, anormal üçlü test sonucu oluştururken, kordosentez serisinde endikasyonların %77'si ultrasonografi ile saptanan fetal anomaliler idi. Bu endikasyonlarda %7.6 - %11.1 oranında fetal kromozom anomalisine rastlandı. Amniyosentez serisinde % 92.7 başarılı kültür ile %3.6 oranında, deneysel nitelikteki ilk 25 olgunun da dahil edildiği kordosentez serisinde ise %84.7 başarılı kültür ile %8.2 oranında fetal kromozom anomalisi belirlendi. Fetal anomali grubunda trisomilere, ultrasonografik anomali saptanmayan olgularda ise translokasyon tipi kromozom anomalilerine daha sık rastlandığı gözlemlendi.

Sonuç: Bir ön çalışma niteliğindeki bu araştırmanın genelinde girişim yapılan tüm olgular değerlendirildiğinde %90 oranında fetal karyotip elde edilebilmiştir. İnvaziv girişim tecrübesi ve disiplinler arası uyum arttıkça karyotip sonucu elde etme başarısı da artmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Fetal karyotip, Amniyosentez, Kordosentez, Gebeliğin 2-3. trimesteri.

SUMMARY

FETAL KARYOTYPING WITH AMNIOCENTESIS AND CORDOCENTESIS: RESULTS OF 250 CASES

Objective: To investigate the results of fetal chromosomal analyses in high risk pregnancies.

Study Design: Observational Study.

Material-Methods: During 1993-1998, in Dicle University, 165 cases of genetic amniocentesis and 85 cases of genetic cordocentesis were evaluated.

Main Outcome Measures: Cases with fetal chromosomal abnormalities were reviewed.

Findings: The majority of indications in the amniocentesis group consisted of maternal age >34, previous poor obstetrical history and abnormal triple test result. In the cordocentesis group, 77% of the indications were ultrasonographically detected fetal malformations. Fetal chromosomal abnormality was found in 7.6-11.1% of these cases. It was 3.6% with 92.7% successful karyotyping in the amniocentesis group and was 8.2% with 84.7% successful karyotyping in the cordocentesis group, including the first experimental 25 cases. While trisomies were more common in fetal malformations, translocation type chromosomal abnormalities were more common in sonographically normal fetuses.

Conclusion: The overall success of fetal karyotyping was 90% in the whole group in this preliminary study. This success is related to the skill of the team at invasive procedures and also to the interdisciplinary harmony.

Key Words: Fetal karyotype, Amniocentesis, Cordocentesis, 2nd-3rd trimester of pregnancy.

Prenatal tanı hizmeti ülkemizde sadece bazı merkezlerde verilmektedir.

Bölgemizde şimdilik gelişmiş tek merkez olan üni-

versitemizin çeşitli bilim dalları ve üniversite dışındaki sağlık birimleri ile birlikte yapacağı ortak çalışmalar prenatal tanı konusunda gelecek için ümitli olmamızı sağlayacaktır. Bu amaca hizmet edebilmesi için, gebeliğin ikinci ve üçüncü trimesterinde yaptığımız karyotip amaçlı amniyosentez ve kordosentez girişimlerini

ve elde ettiğimiz genetik sonuçları değerlendirmek istedik.

MATERYAL-METOD

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında 1993-1998 yıllarında fetal hücre elde etmek amacı ile amniyosentez ve kordosentez girişimi yapılan ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında kromozom analizi yapılan 250 gebe, girişim endikasyonlarının dağılımı, örnekleme özelliği, anomali olgularında fetal prognoz, hücre kültürü başarısı ve genetik sonuçlar yönünden değerlendirildi.

Tüm olgular girişimden önce girişim tekniği ve olası komplikasyonlar hakkında bilgilendirildi, hepsine genetik danışmanlık hizmeti verildi. Kötü obstetrik öykü başlığı altında, önceki gebeliklerde fetusta yapısal anomali, kromozom anomalisi veya birden fazla fetus veya yenidoğan kaybı olan olgular toplandı. Olgular önceden kan grubu ve hepatit portörlüğü yönünden araştırıldı. Girişimlerde Toshiba 270-SSA ve 140-A renkli Doppler cihazları kullanıldı. Detaylı fetus ultrasonografisi yapıldıktan ve plasenta lokalizasyonu belirlendikten sonra 16-23. gebelik haftalarında klasik amniyosentez kurallarına uyularak hafta başına 1 ml amniyon sıvısı alındı (1). Kordosentez girişimleri gebeliğin 18-39. haftalarında serbest el tekniği ile yapıldı. Tüm girişimlerde 9-15-20 cm'lik 20-22 G spinal iğneler, en az 3 adet steril enjektör, kan örnekleri için antikoagulan olarak heparin, fetal kan alındığını doğrulayacak laboratuvar malzemesi ve yöntemleri kullanıldı (2). Girişim öncesi veya sonrası sedasyon, anestezi, antibiyotik, tokolitik rutin olarak uygulanmadı. İşlem sonrası tüm olgular en az 1 kere kontrol edildi.

Amniyotik hücre kültüründe, Hoehnn ve ark'nın (3) protokolü modifiye edilerek uygulandı. Amniyotik sıvının santrifüjü sonrasında çöken hücrelerin üzerine 2 ml Chang medyumunu eklendi. Süspansiyon haline gelen hücreler 20 cm²lik kültür flasklarına aktarıldı, 37 derecede %5 CO₂, %95 nemli ortamda inkübe edildi, 3-4 gün sonra kültür flaskının zeminine yapışan hücreler invert mikroskop altında izlendi. Kültür ortamında uygun sayıya ve mitotik aktiviteye ulaşan amniyotik hücreler kromozomal çalışmaya alındı. Preparatlar 6 gün 37 derecede bekletilerek kurutuldu ve GTG bant-

lama uygulandı. Her olgu için en az 20 metafaz değerlendirildi. Patolojik ve normal metafaz alanlarından en az 2'si, bilgisayar ortamında fotoğraflanarak karyotip yapıldı. Karyotip sonuçları en erken 16. en geç 21. günde alındı.

Fetal kanın sitogenetik incelemesi için, Moorhead ve ark'nın (4) geliştirmiş oldukları makrokültür tekniğinin değiştirilmiş şekli olan tüm kan tekniği ile çalışıldı (5,6). Hazırlanan preparatlar Giemsa bantlama tekniği ile boyanarak incelemeye alındı ve her olgu için yeterli olduğu kabul edilen 25-50 metafaz plağı kromozomlardaki sayısal ve yapısal düzensizlik yönlerinden değerlendirildi. Hücre kültürü süreleri ortalama 14-21 gündü. Doğumu takiben fetustan elde edilen kanda sitogenetik çalışmalarla ilk sonuçlar doğrulandı. Ki Kare testinde p<0.05 değeri istatistiksel anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Amniyosentez ve kordosentez girişimindeki endikasyonların dağılımı Tablo I'de verilmiştir. Amniyosentez grubunda ileri anne yaşı (>34), kordosentez grubunda ise anormal fetal ultrasonografi bulgusu önde gelen endikasyonlardı. Tüm grubun %25'i (n:63) kötü obstetrik öykü tarif ediyordu.

Girişimlerde gebelik haftası, girişim yolu ve örnekleme ve kültür başarısı Tablo II'de verilmiştir. İlk müdahalede fetal hücre elde etme, örnekleme ve karyotiplemede başarı şansı amniyosentez serisinde kordosentez serisine göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Genelde karyotip sonucu verebilme başarısı (225/250) %90'dır.

Kromozom anomalisi saptanan olguların özellikleri Tablo III ve Tablo IV'te verilmiştir. Kromozom anomalileri içinde amniyosentez grubunda translokasyon tipi anomaliler, kordosentez grubunda ise trisomiler ön planda görülmüştür. Tüm seride kromozom anomalisi rastlanma sıklığı (13/250) %5.2'dir.

Risk faktörlerine göre kromozom anomalisi saptanma oranı Tablo V'te verilmiştir. Bunlar içinde kötü obstetrik öykü verenlerdeki fetal kromozomal anomali oranı (%11.1), kötü obstetrik öykü vermeyenlerdeki kromozomal anomali oranından (%3.2) anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (p<0.02).

Tablo 1. Girişimlerde Kromozom Analizi Endikasyonları (%)

	AMNİYOSENTEZ (n:165)	KORDOSENTEZ (n:85)
İleri anne yaşı	43	2
Kötü obstetrik öykü	27	9
1/270 üzerinde üçlü test veya yüksek AFP	14	4
Anormal ultrasonografi bulgusu	13	77
Parental dengeli translokasyon	2	-
Parental anksiyete	1	-
IUGR	-	3
RH izoimmünizasyonu	-	3
Toksoplazmosis	-	2

Tablo 2. Girişimlerde Gebelik Haftası, Girişim Yolu, Örnekleme ve Kromozom Kültürü Başarısı

n	AMNİYOSENTEZ	KORDOSENTEZ
	165	85
Girişim Haftası	19.3±3.6 hafta	27.8±5.1 hafta
Transamniyotik girişim	% 79	% 45
Transplazental girişim	% 21	% 55
1. girişimde örnekleme başarısı	159 (%96.4)	55 (%64.7)
2. girişimde örnekleme başarısı	4 (%2.4)	18 (%21.2)
> 2 girişimde örnekleme başarısı	-	4 (%4.7)
Yetersiz-kontamine örnekleme	2 (%1.2)	8 (%9.4)
Kromozom kültürü başarısı	153 (% 92.7)	72 (%84.7)
Kromozom anomalisi	6 (%3.6)	7 (%8.2)

TARTIŞMA

Amniyosentez serimizde bulduğumuz kromozom anomalisi oranı %3.6'dır. Sjögren ve ark (7), bu oranı %2.5 Başaran ve ark (8) ise %3.5 olarak bulmuşlardır.

Amniyosentezin yapıldığı ilk serilerde %30'a ulaşan başarısız örnekleme oranı son yıllardaki geniş serilerde %1'in altına düşmüştür (1,9-11). Serimizde amniyondan fetal hücre üretme başarımlarımız %92.7'dir. Kısmen düşük olan bu oranı, serimizin hemen başlarında ortaya çıkan kontamine örneklerle bağlamaktayız. Nitekim serimizin ilk girişimlerinde %10 olan başarısız kültür oranı, son girişimlerimizde %3'e düşmüştür. Zaman içinde bu oranın kabul edilebilir bir düzeye ineceğini tahmin etmekteyiz.

Gebeliğin ikinci yarısından sonra başvuran olgularda çabuk ve güvenli karyotip sonucu alabilmek için kordosentez işlemine daha sık başvurulmaktadır. Kordosentez serimizde ortalama gebelik haftası amniyosentez serisine göre daha ileri bulunmasının nedeni erken haftalarda amniyosentez, geç haftalarda ise kordosentez girişiminin tercih edilmesidir. Çalışmamızda kordosentez yaptığımız olguların %8.2'sinde kromo-

zom anomalisi saptadık. Amniyosentez serimize göre daha riskli olgulardan oluşan bu serideki endikasyonların büyük çoğunluğunu literatürde bildirildiği gibi fetal anomaliler oluşturmuştur (12-16).

Kordosentez ile fetal karyotipleme başarısı %90 civarındadır (13). Bizim serimizde bu oran yaklaşık %85'tir. Özellikle ilk olgularımızda karşılaştığımız kültür başarısızlığımızın, örnekleme girişimleri sırasında karşılaştığımız amniyon sıvısı kontaminasyonu ve örnek saklama ve transport tekniğindeki yetersizlikten ileri geldiğini düşündük.

Fetal anomalilerde %8.9-27.1 oranında kromozom anomalisi bildirilmiştir (17-19). Bizim serimizde 86 anormal fetal ultrasonografi olgusundan 7'sinde (%8.1), anormal karyotip elde edildi.

AFP, hCG ve estriol ile yapılan üçlü testin gebelik haftası ve hasta yaşı ile karşılaştırılması sonucu ortaya çıkan risk değerlendirmesinden sonra yapılan karyotip tayinlerinde % 3.5 oranında kromozom anomalisi görülmüştür (20). Bizim serimizde kısıtlı sayı nedeni ile birlikte bu oran biraz yüksek olarak, %10 bulunmuştur.

Tablo 3. Amniyosentez Grubunda Kromozom Anomalili Olgular (n:6)

Karyotip	Yaş	G	Y	GH	Amniyosentez Endikasyonu	DH	Prognoz
1 47,XXY	34	5	3	23	Fetal anomali öyküsü	40	Hariçte sezaryen 3000g-50cm-Sağlıklı
2 46,XX,t(13:15)	35	4	1	23	Yaş	39	Vaginal doğum 3000g-50cm- 7/9 Apgar
3 46,XX,t(4:10)	31	6	0	17	Annede dengeli translokasyon	40	Sezaryen 3200g-50cm-7/9 Apgar
4 46,XY,t(2:15)	31	1	0	18	Babada dengeli translokasyon	40	Vaginal doğum 3200g-49cm-7/9 Apgar
5 46,XX,t(6:7)	40	8	4	18	Yaş	40	Vaginal doğum 3200g-50cm-8/10 Apgar
6 Poliploidi	28	4	1	16	Anormal üçlü test sonucu	17	Spontan abortus 350g-25cm

G: Gestasyon; Y: Yaşayan çocuk sayısı; GH: Gebelik Haftası ; DH: Doğum Haftası

Tablo 4. Kordosentez Grubunda Kromozom Anomalili Olgular (n:7)

Karyotip	Yaş	G	Y	GH	Amniyosentez Endikasyonu	DH	Prognoz
1 Sayı+yapı anomalisi	26	5	0	24	M. anomali	24	Ex
2 Trisomi 13	41	11	6	21	M. anomali	23	Ex
3 Trisomi 18	22	1	0	24	M. anomali	24	Ex
4 Trisomi 18	41	10	8	30	Omfalosele	35	Ex
5 Trisomi 21	32	3	2	30	Hidrotoraks	39	Vaginal doğum 3000g-47cm-7/8 Apgar
6 46, XX, 9 q+	20	4	0	20	NIH	21	Ex
7 46, XX, 9 p+	37	7	6	34	Holoprosensefali	?	?

G: Gestasyon; Y: Yaşayan çocuk sayısı; GH: Gebelik Haftası ; DH: Doğum Haftası

Tablo 5. Risk Faktörlerine Göre Kromozom Anomalili Oranları

	n	Kromozom anomalisi	%
Kötü obstetrik öykü	63	7	11.1
Anormal üçlü test sonucu	10	1	10.0
Anormal ultrasonografi bulgusu	86	7	8.1
İleri maternal yaş	79	6	7.6

İlerlemiş maternal yaş da kromozom anomalileri için predispozan bir faktördür (1). Serimizde ileri anne yaşında %7.6 oranında kromozom anomalisi saptadık. Ayrıca önceki gebeliklerinde tekrarlayan abortus, fetus veya yenidoğan ölümü tarif eden riskli gebelerde, kötü obstetrik öykü vermeyenlere göre daha fazla fetal kromozom anomalisi ile karşılaştık.

Sonuç olarak 20. gebelik haftasına kadar amniyon sıvısından, daha sonraki dönemde de kordon kanından fetal hücre elde ederek fetal genotip hakkında %90 oranında bilgi edinebildiğimizi belirledik. Beş yıllık süre içinde, önceleri girişim tekniğimize ve kısmen laboratuvara bağlı olarak ortaya çıkan başarısız fetal karyotipleme sonuçlarımızın, özellikle girişim tecrübesi ve dallar arası koordinasyon arttıkça daha yüz güldürücü olduğunu belirledik. Bölgemizde genetik ve prenatal tanı konularında tek merkez olarak hizmet veren üniversitemizde yaptığımız bir ön çalışma niteliğindeki bu serinin ileride yapılacak çalışmalar için umut verici olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Dragan A, Johnson MP, Evans MI: Amniocentesis In: Evans MI (Ed) Reproductive Risks and Prenatal Diagnosis. Appleton& Lange Connecticut 1992; pp: 191-200
2. Nicolaides KH, Snijders RJM. Cordocentesis. In Evans MI (Ed) Reproductive Risks and Prenatal Diagnosis. Appleton& Lange Connecticut, 1992; pp: 201-20
3. Hoehnn H, Bryant EM, Karp LE, Martin GM: Cultivated cells from diagnostic amniocentesis in second trimester pregnancies. I. Clonal morphology and growth potential. *Pediatr Res* .1974; 8: 746-54
4. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res*, 1960; 20: 613-6
5. Şaylı BS. Medikal Sitogenetik. Yargıçoğlu. Ankara 1986; s:168-71
6. Başaran N. Tıbbi Genetik. 5. Baskı B.Teknoloji Basımevi. İstanbul 1994; s:340-6
7. Sjögren B, Uddenberg N: Decision making during the prenatal diagnostic procedure. A questionnaire and interview study of 211 women participating in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*, 1989; 9: 263-73
8. Başaran S, Karaman B, Aydın K, Yüksel A: Amniyotik sıvı, trofoblast dokusu ve fetal kan örneğinde sitogenetik incelemeler. 527 olguluk seri sonuçları. *Jinekoloji Obstetrik Dergisi*, 1992; 6: 81-9
9. Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hall BD: Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocenteses. *N Engl J Med*, 1979; 300: 157-63
10. Nelson MM, Emery AE: Amniotic fluid cells: prenatal sex prediction and culture. *Br Med J*, 1970; 1: 523-6.
11. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, O'Bell EB et al: Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet*, 1987; 1: 1287-93
12. Den Hollander NS, Cohen Overbeek TE, Heydanus R, Stewart PA, Brandenburg H, et al: Cordocentesis for rapid karyotyping in fetuses with congenital anomalies or severe IUGR. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 1994; 53: 183-7
13. Donner C, Avni F, Karoubi R, Simon P, Vamos E, et al: Collection of fetal cord blood for karyotyping. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 1992; 21: 241-5
14. Donner C, Rypens F, Paquet V, Cohen E, Delneste D, et al: Cordocentesis for rapid karyotype: 421 consecutive cases. *Fetal Diagn Ther*, 1995; 10: 192-9
15. Başer İ, Küçük T, Ergün A, Orhon E, Dilek S, ve ark. Prenatal tanıda kordosentez. *Kadın Doğum Dergisi*, 1994; 10: 128-32
16. Ermiş H, Başaran S, İbrahimoğlu L, Yüksel A: Fetal karyotiplemede kordosentezin yeri. *Jinekoloji Obstetrik Dergisi*, 1995; 9: 24-8
17. Dallaire L, Michaud J, Melankon SB, Potier M, Lambert M: Prenatal diagnosis of fetal anomalies during the second trimester of pregnancy. Their characterization and delineation of defects in pregnancies at risk. *Prenat Diagn*, 1991; 11: 629-35
18. Rizzo N, Pittalis MC, Pilu G, Orsini LF, Perolo A, Bovicelli L: Prenatal karyotyping in malformed fetuses. *Prenat Diagn*, 1990; 10:17-23
19. Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth M: Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. *Hum Genet*, 1993; 91: 37-41
20. Ross HL, Elias S: Maternal serum screening for fetal genetic disorders. *Obstet Gynecol N Am* 1997; 33-47