

481 Amniyosentez, Koryon Villus Biyopsisi ve Kordosentez Örneğinin Prenatal**Genetik Tanısı**

Ayşegül Türkyılmaz, M. Nail Alp, Turgay Budak

ÖZET

Bu çalışmada; 1999–2001 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji A.D. Prenatal Tanı Laboratuvarına sitogenetik tanı amacıyla gönderilen Koryon Villi Örnekleme(CVS), Amniyosentez (AS) ve Kordosentez (KS)'e ait toplam 481 örnek materyal değerlendirilmiştir. Toplam 24 örnekte anormal kromozom kuruluşu saptanmıştır. Bunlardan 11 örnekte Trizomi 21 (Down Sendromu), 2 örnekte 14 ve 21 nolu kromozomlar arasında Robertson tipi translokasyonlu Down Sendromu, 1 örnekte mozaik Down Sendromu, 1 örnekte dengeli translokasyon kromozomu taşıyıcılığı, 2 örnekte Turner Sendromu, 1 örnekte Triple X Sendromu, 2 örnekte Triploidi, 1 örnekte Parsiyel trizomi 3, 1 örnekte derivatif kromozom, 1 örnekte tekrarlamayan sayısal ve yapısal düzensizlik, 1 örnekte de marker kromozom kuruluşu saptanmıştır. 15 örnekte üreme olmamıştır. Yanlış pozitif -negatif sonucumuz yoktur.

Anahtar Kelimeler: Prenatal Tanı, Kromozom Analizi, Kromozomal Anomali

Prenatal Genetic Diagnosis in 481 Amniocentesis, Chorion Villi Sample and Cordocentesis Specimens

SUMMARY

In this study, we evaluated a total of 481 amniocentesis , cordocentesis and corion villi sample specimens from patients who were referred to the Prenatal Diagnostic Laboratory of Department of Medical Biology and Genetics Department of Medical Faculty of University of Dicle, between 1999 and 2001. A total of 24 specimens were found cytogenetically abnormal, of which 11 were trisomy 21 (Down Syndrome), two were Down Syndrome with Robertsonian type of translocation between chromosome 14 and 21, one was mosaic Down Syndrome , one was balanced translocated chromosome carrier, two were Turner Syndrome, one was triple X syndrome, two were triploidy, one was partial trisomy 3, one was derivative chromosome, one was nonrepetitive numerical and structural abnormality, and one was marker chromosome. Unfortunately, we could not have results in 15 of culture samples.

There were no false positive and false negative results.

Key Words: Prenatal Diagnosis, Chromosome Analysis, Chromosomal Abnormality.

GİRİŞ

Prenatal tanının amacı; daha önce anomali saptanmış bir ebeveyne gerekli bilgiyi sağlamak, yüksek riskli gruplarda endişeyi

ortadan kaldırmak, doğumsal özel defektli dünyaya gelmiş çocukların ebeveynleri için, bir hamilelik başladığında defektin varlığı veya

yokluğunu testle doğrulamak, genetik defektli çocuk sahibi olması muhtemel çiftlere fizyolojik hazırlık yapmak, doğum ve sonrasında da bakım için gerekli bilgiyi sağlamaktır. Prenatal tanı, genetik danışma, laboratuvar hizmetleri, obstetrik, ultrasonografi (USG), klinik genetik gibi pek çok servisten hizmet bekler (1,2).

Prenatal tanı ile ilgili ilk raporlar, tarihsel perspektif içinde 1950'lerden sonra ortaya çıkmıştır. Ancak prenatal tanı alanındaki en belirgin ilerlemeler, özellikle 1980'lerden sonra, USG teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak artmıştır. Bu dönemden sonra yapılan çalışmalar, katlanarak ilerlemiş, çok daha cesur, doğru ve yeterli girişimler yapılmış ve komplikasyon oranları belirgin olarak azalmıştır (2,3).

Risk unsuru taşıyan gebeliklerde, fetüsün değerlendirilmesine yönelik direkt veya indirekt analiz yöntemleri mevcuttur. Direkt incelemede, invazif teknikler, indirekt incelemede ise non-invazif yöntemler kullanılmaktadır (2).

Amniyosentez gebeliğin 16–20. haftaları arasında yapılan ve prenatal tanıda sık kullanılan invazif bir yöntemdir. Günümüzde prenatal tanı amacıyla yapılan AS'lerin büyük bölümü sitogenetik çalışmalar içindir. Koryon Villi Örnekleme (CVS); erken uygulanabilmesi (takriben hamileliğin 8. haftasında), fetüse doğrudan müdahalenin olmaması, fetal zarlara zarar verilmemesi ve özellikle DNA çalışmaları için avantaj kabul edilecek biçimde fazla materyal elde edilmesi nedeni ile tercih edilmektedir. CVS materyalinde doğrudan metafaz veya diğer aşamalarda hücreler değerlendirmeye alınabileceği gibi kültür çalışmalarını takiben sitogenetik çalışma da yapılabilir (4,5). KS veya kordon kanı örnekleme (yaklaşık 21. haftadan itibaren),

prenatal tanı ve perinatal takip çalışmalarının vazgeçilmez bir yöntemidir. Prenatal tanı için geç kalınan başvurularda ve AS ile başarısız olduğu durumlarda KS gündeme gelmektedir. KS, hızlı sonuç alınabilmesi ve birçok rutin laboratuvarında uygulanabilmesi açısından tercih edilmektedir. Heparinize edilmiş enjektör yardımıyla, USG eşliğinde umbilikal kordondan fetal kan örneğinin alınması ile yapılır (1,2)

GEREÇ VE YÖNTEM

1999 – 2001 yılları arasında, sitogenetik çalışma için Anabilim dalımıza gönderilen, prenatal tanı endikasyonu olan gebeliklerden 317'si AS, 139'u KS 25'i CVS yöntemiyle olmak üzere elde edilen toplam 481 fetal örnekten, kromozom analizi yapılmıştır. Her örnek için iki kültür yapılmış kromozom elde edilmiş ve ortalama on preparat hazırlanmıştır. Bu preparatlardan bir tanesi Giemsa ile doğrudan boyanmış, geri kalan preparatlar ise Giemsa Bantlama tekniği (GTG) ile hazırlanmıştır.

Çalışmamızda KS için Moorhead ve ark.'nın geliştirdikleri 'standart' makrokültür tekniğinin modifiye şekli olan 'tüm kan tekniği' ya da 'mikroteknik' olarak bilinen yöntem uygulanmıştır (6–9). AS ve CVS için de Brambati ve Simoni'nin (10) katkılarıyla geliştirilen kültür yöntemi kullanılmıştır. Preparasyon ve GTG bantlama aşamalarında Seabright (1971)'in yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır (1,2).

BULGULAR

Bu araştırma; 01.01.1999–31.12.2001 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Prenatal Tanı Laboratuvarına gönderilen CVS, AS ve KS örneklerinden çalışılarak hazırlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. Prenatal Tanı Laboratuvarına gönderilen CVS, AS ve KS sonuçları

	Amniyosentez	%	Koryon Villi Örnekleme	%	Kordosentez	%	Toplam	%
Düzensizlik İçeren Örnek Sayısı	14	4.4	2	8	8	5.8	24	5
Sonuç Elde Edilemeyen Örnek Sayısı	7	2.2	3	12	5	3.6	15	3
46,XX	139	43.9	11	44	59	42.5	209	43.5
46,XY	157	49.5	9	36	67	48.1	233	48.5
Toplam	317	100	25	100	139	100	481	100



Prenatal tanı laboratuvarımıza gönderilen 317 AS örneğinden 139'unda 46,XX, 157'sinde 46,XY bulunmuştur. Örneklerdeki düzensizlikler ise:

2'sinde → 45,X (Turner snd.)

1'inde → 46,XX[4] / 47,XX , + 21[16] (Mozaik Down snd.)

3'ünde → 47,XX , + 21 (Down snd.)

3'ünde → 47,XY , + 21 (Down snd.)

1'inde → 47,XY , +mar

2'sinde → 69,XXY (Triploidi)
69,XXX

1'inde → 45,XY, t (14;21) (Dengeli translokasyon)

1'inde → 46,XX, der (6) t (3;6) (q 25; q27) del (3) (q25) saptanmıştır.

Toplam 7 örnekten sonuç elde edilememiştir. Kültür başarı yüzdesi: % 97.8, saptanan anomali oranı %4.4'dür.

Prenatal tanı laboratuvarımıza gönderilen 25 CVS örneğine uzun süreli kültür uygulanmış 11'inde 46,XX, 9 örnekte 46,XY birinde farklı metafazlarda tekrarlanmayan sayısal ve yapısal düzensizlik, birinde ise 46,XY, t(14;21) (dengesiz translokasyon) sonucu elde edilmiştir. Toplam 3 örnekten ise sonuç elde edilememiştir. Kültür başarı yüzdesi: %88, saptanan anomali oranı %8'dir.

Prenatal tanı laboratuvarımıza gönderilen 139 fetal kan örneğinden 59'u 46,XX, 67'si 46,XY sonucunu vermiştir. Diğer bulunan karyotipler:

3'ünde 47,XX , + 21 (Down snd.)

1'inde 46,XX, 11 q+ (Parsiyel Trizomi 3)

1'inde 46,XX, t (14;21)

2'sinde 47,XY , + 21 (Down snd.)

1'inde 47,XXX (Triple X sendromu) saptanmıştır.

Toplam 5 örnekten sonuç elde edilememiştir. Kültür başarı yüzdesi: %96.4, saptanan anomali oranı %5.8'dir.

TARTIŞMA

Bulgular literatür bilgilerinin ışığında değerlendirildiğinde;

Ermiş H. ve ark. (11) yapmış oldukları trizomi tarama testinin rutine oturtulması çalışmalarında 1882 hamile kadını incelemişler ve bunlardan 12 sinde kromozomal anomaliye rastlamışlardır (% 0.6).

Howe D.T ve ark. (12) 1993 – 1998 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada 31259 hamile kadından 57'sinde Down sendromuna rastlamışlardır (% 0.1)

Horger E. O ve ark.(13) 1972 – 2000 yılları arasında yaptıkları 4600 hamile kadından genetik amniyosentez yapmışlar 90 vakada (% 2) anomaliye rastlamışlardır. Bunların 61 inde (% 1.3) otozomal trizomi bulunmuş oranları; 37 fetusta Trizomi 21, 18 fetusta Trizomi 18, 6 fetusta Trizomi 13, şeklinde dağılmıştır. 9 fetusta saptadıkları sex kromozom anöploidisi bulmuşlar, 3 fetusta 45,X monozomisi 3 tanede 47,XXX, 2 vakada 47,XXY ve 1 vakada XYY bulmuşlardır. 2 fetusta 69,XXX triploidisi bulmuşlardır. 9 tane mozaik karyotip bulmuşlardır. Bunlar ring veya marker içermektedir. 2 vakada dengesiz translokasyon bulmuşlar, 6 fetustada 9 nolu kromozom hariç inversiyonlara rastlamışlardır. Bunlar 1, 2, 11 ve 17 nolu kromozomlardır.

Smith K. ve ark. (14) 20527 CVS üzerinde çalışmışlar bunların 611'inde non - mozaiklik ve 91'inde de 13, 18, 21 ve seks kromozom anormaliğinin mozaikliğine rastlamışlardır. Bunlar 45,X, trizomi 13 ve trizomi 18 dir (%3). Bir vakada yanlış - negatif sonuç elde etmişlerdir. Kültür çalışmalarını direkt ve hücre kültürü şeklinde yapmışlardır.

Park SY. ve ark. (15) 1988 – 1997 yılları arasında 4907 prenatal sitogenetik vaka üzerinde çalışmışlar bunların 3913'ü amniyotik sıvı, 800'ü koryonik villi örnekleme ve 194'ü de kordon kanı örneklemeidir. Anormal fetal karyotip oranları %3.1 dir. (150 vakada). Sayısal kromozom anormalliği 87 vakada (% 1.8), yapısal kromozom anormalliği 63 vakada (%1.3) bulunmaktadır. En fazla sayısal kromozom anormalliği 36 vaka ile trizomi 21 dedir. Diğerleri 22 vakada trizomi 18, 19 vakada seks kromozom anöploidisi bulmuşlardır. Yapı kromozom değişiklikleri 5 vakada kromozom inversiyonu ki bunlar 2, 7, 17 ve Y dir. 6 vaka da kromozomal delesyon 4 vakada artış gözlemişlerdir. 47 translokasyonlu vakanın 26'sı resiprokal 21'i robertsonyan translokasyon bulmuşlardır. 41 vaka dengeli translokasyonlu 6 vaka dengesizdir. Translokasyonların 35'i aile bireylerinden birinden kalıtılmıştır. 4 vaka da 'de- novo' yeni düzenlenmiş kromozom bulmuşlardır.

Bizim çalışmalarımızda toplam 481 örnek materyal değerlendirilmiştir. 15 örnekte üreme olmamıştır (%3). Normal karyotip oranı %95 anormal karyotip oranı ise % 5'dir. Yanlış negatif, yanlış pozitif sonucumuz yoktur. Çalışmamızın kapsadığı tüm seriden alınan sonuçlar, diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldığında çelişmedikleri ve başarılı oldukları gözlenmektedir.

Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulguların, bundan sonraki çalışmalarımıza ışık tutucu, doğru yönlendirici etkisinin çok önemli olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Nussbaum RL. Thompson and Thompson Genetics in Medicine. Six edition, WB. Saunders Company, 2001; 359-372.
2. Şener T. Prenatal tanıda genel prensipler. Obstet ve Jin. Sürekli Eğitim Dergisi 1997; 1: 30-45.
3. Murray RK. Harper'in Biyokimyası, 22.baskı, Barış Kitabevi, 1993: 26-39.
4. Passarge E. Color Atlas of Genetics, Thieme Verlag Stuttgart, Thieme Medical publishers, 1995; 172-176.
5. Atasü T. Gebelikte Fetüse ve Yeni Doğana Zararlı Etkenler. Nobel Tıp Kitapları, İstanbul, 2000: 19-27.
6. Tjio JH, Levan A. The chromosome number of men. Hereditas, 42: 1: 1956.
7. Lejeune D, Levan A. Proposed standart system of nomenclature of human mitotic chromosomes. Lancet 1, 1960: 1063.
8. Steele MW, Berg WR. Chromosome analysis of human amniotic cells. Lancet, 1966; 1: 383 32-34

9. Ferguson S. Cambridge University Department of Patoloji copyright by Mosby Inc. Cambridge, 1990, England.

10. Simoni G, Brambati B. Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Hum Genet; 1983; 63: 349.

11. Ermiş H. 11-14. Gebelik haftası trizomi tarama testinin klinik rutine oturtulması. İst. Jin. ve Obst. Derg. 2000; 4: 52 - 58.

12. Howe DT. Six year survey of screening for Down's syndrome by maternal age and mid trimester ultrasound scans. BMJ, 2000, 320: 606 - 610.

13. Horger EO, Finch H, Vincent VA. A single physician's experience with four thousand six hundred genetic amniocenteses. Am. J. Obstet Gynecol, 2001, 0002-9378, 20-23.

14. Smith K. The predictive value of findings of the common aneuploidies, trisomes 13, 18 and 21, and numerical sex chromosome abnormalities at CVS experience from the ACC UK., collaborative study. Association of clinical cytogeneticists. Prenatal Diagnosis, Working Party. Prenat. Diagn, 1999, 19 (9) : 817 - 826.

15. Park SY. Frequencies of fetal chromosomal abnormalities at prenatal diagnosis: 10 years experiences in a single institution. J Korean Med Sci. 2001, 16 (3): 290 - 293.

Yazışma Adresi

Ayşegül TÜRKİYILMAZ
D.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji A.D. / Diyarbakır
E-mail: abbcn@dicle.edu.tr

