

PRENATAL TANIDA KORYON VİLLUS BİYOPSİSİ UYGULAMA VE AVANTAJLARI

Dr. Volkan BALTACI x
Dr. Aysun BALTACI xx
Dr. Sinan SÖNMEZ x

ÖZET :

Günümüz tıbbının hızla ilerleyen prenatal tanı yöntemleri arasında koryon villus biyopsisi pratik olması ve kısa sürede sonuca ulaştırması nedeniyle oldukça yaygın şekilde uygulanır duruma gelmiştir.

Bu makalede koryon villus biyopsi yöntemleri, elde edilen koryonik villus dokularının sitogenetik analiz metodları, yöntemin uygulama endikasyonları ile yöntemle ilişkin sorunlar tartışılmış, sonuç olarak yöntemin yaygınlaştırılmasıyla sağlıklı bebek doğum oranlarına etkileri gözden geçirilmiştir.

GİRİŞ :

Günümüzde, prenatal tanı yöntemlerinin oldukça geliştirilmiş olması, doğuştan anomalili bebek doğumlarının azalması yolunda büyük ilerlemeler sağlamıştır. Ultrasonografinin birçok tıp merkezinde yaygın olarak kullanıma girmesi, pekçok hastalığın doğum öncesi teşhisini mümkün kılmıştır. Ultrasonografik analiz fetal bazı anomalilerin direkt olarak teşhislerini sağlamaktan öte, amniosentez, koryon villus biopsisi, kordosentez ve fetal organ biyopsisi gibi prenatal tanı işlemlerinde vazgeçilmez bir rehber olmuştur.

Uygulama kolaylığı nedeniyle amniosentez ve koryon villus biyopsisi (KVB) diğerlerine göre daha sıklıkla kullanılmakta olup, KVB son zamanlarda oldukça yaygın bir hal almıştır.

KVB'nin endikasyonları diğer prenatal tanı yöntemlerinden pek farklılık göstermemekle birlikte kısaca şöyle özetlenebilir.

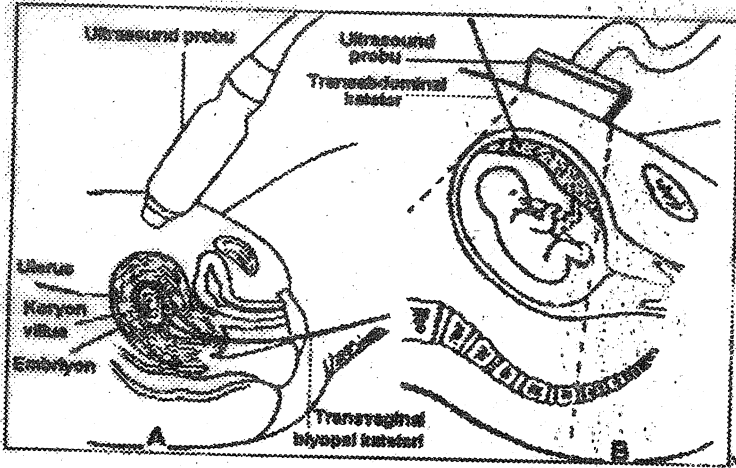
- İleri yaş gebelikleri (Gebellikle 35 yaş ve üzerindeki kileri kapsar).
- Kromozom anomalili bebek doğurma öyküsü mevcudiyeti.
- Eşlerden birinin veya kisinin birden dengeli translokasyon taşıyıcısı olması.

x Atatürk Üni. Tıp. Fak. Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.B.D. Araş. Görevlisi
xx Ankara SSK Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi Araş. Görevlisi

- X'e bağılı hastalık riski nedeniyle fetal cinsiyet tayini.
- Bazı metabolizma kusurları yanı sıra hemoglobino patiler, kistik fibrozis, müsküler distrofiler, hemofili ve öteki bazı X-linked mutasyonların prenatal tanılarında DNA analizi için materyel sağlanması.

MATERYEL METOD

Erken embriyonel gelişmenin özellikleri daha ayrıntılı olarak anlaşılınca kor-yon villus  meklemesi işlemi gündeme gelmiş ve önemi günden güne artmıştır; zira embriyo ya da fetusu saran zarlar (fetal zarlar) tamamen fetusu yansıtmaktadırlar. Bu hem embriyonun hem de onu  vreleyen doku katman-larının aynı çekirdekten gelişmeleri sonucudur. Dolayısıyla fetal yapılacak  mekleme farklı olmayacaktır (1,2). Koryon villus doku  meklemesi günümüzde ultrasonografi kılavuzluğunda transservikal veya transabdominal yolla yapılmaktadır (şekil 1 A - 1 B).



řekil : 1 A - 1 B. Transvaginal yolla (A) ve transabdominal yola (B) koryon villus biyopsi uygulaması

Plasentanın uterus  n ve yan duvarlarında yerleşmiş olduğu olgularda tran-sabdominal, arka duvar lokalizasyonlarında ise transservikal yol tercih edilmelidir. Bazı yazarlarca 10. gebelik haftasından sonra ve ileri maternal yaş gebeliklerinde transabdominal yol önerilmektedir (3).

Transservikal aspirasyon plastik ya da metal kateterler ile yapılabilmektedir. Ençok Portex-Tropkocan tipi kateterler kullanılmaktadır. Transservikal biyopsi uygulaması 2 ya da 3 girişimi geçmemelidir; zira girişim sayısının artması ile en-feksiyonun yanı sıra fetal kayıp oranlarının arttığı bildirilmektedir. (6,7).

Transabdominal yöntem aynı zamanda amniosentez avantajını da beraberinde getirmektedir. En erken 9. gebelik haftasında uygulanabilir olmasına karşın 2 ve 3. trimesterlerde de yapılabilir (8,9).

Sağlıklı bir sitogenetik analiz için koryon villus biyopsisi ile alınan doku miktarı minimal 10 mg kadar olmalıdır (10). Bu miktar doku kanül ile plasentaya girildikten sonra enjektör ile 10 ml'lik sabit negatif basınç, uygulanmak suretiyle alınabilir.

Alınan koryonik doku örnekleri içlerinde 5 ml kadar Hank'ın steril transport solüsyonu bulunan kapaklı plastik tüplere aktarılaraq en geç, 1-2 saat içinde kromozom analizinin yapılacağı sitogenetik laboratuvarına ulaştırılmalıdır.

Koryon villus doku örnekleri ilk olarak inverted mikroskop altında ince uçlu pensler ve pastör pipetleri kullanılarak maternal villus dokularından ve diğer yabancı dokulardan ayıklanır. Maternal doku kontaminasyonu riskini minimize edebilmek için ileride tekrar bahsedileceği üzere bu ayıklama işlemine büyük dikkat gösterilmelidir. Elde edilen fetal koryonik villuslar Hank solüsyonunda 2 kez yıkandıktan sonra sitogenetik analiz için şu aşamalar uygulanır (11-13).

—Koryonik dokular fetal calf serumu içermeyen ve içinde 3 ml RPMI 1640 solüsyonu bulunan küçük petri kutularına aktarılaraq 24 saat süre ile 37 C derece etüvde kısa süreli kültüre tabi tutulurlar.

—Bu süre sonunda ortalama son konsantrasyonu 0.04 mikrogram/ml olacak şekilde kolsemid eklenir ve tekrar 2 saat süre ile 37 C derece etüvde bekletilir.

—Besi ortamı pastör pipetiyle uzaklaştırılarak ortama 3 ml hipotonik solüsyon (0.075 M KCL) eklenir ve 20 dakika 37 C etüvde bekletilir.

—Hipotonik solüsyon atılır ve bu defa ortama 3 kısım etanol ve 1 kısım glasiyel asetik asitten oluşturulmuş fiksatiften 3 ml konularak 5-10 dakika beklenir. Bu fiksatif aşaması 3 kez tekrarlanır.

—Son fiksatif atılır, 5 dakika villusların kuruması beklendikten sonra ortama 0.5 ml % 60'lık glasiyel asetik asit eklenir. Bu aşamanın amacı villuslarda sinitiyotrofoblast hücrelerinin dökülerek sitotrofoblast hücrelerinin açığa çıkmasını sağlamaktır.

—Son olarak ortama ilave edilmiş olan % 60'lık glasiyel asetik asit hiç çekilmeden villuslar 40 C derecelik hot plate'de kurutulmuş lamlara ucu kıvrık pastör pipetiyle ile yavaş yavaş yayılır.

—Preparatlar 1-2 saat oda ısısında kurutulduktan sonra giemsa-tripsin band yöntemiyle boyanarak kromozomal analiz yapılır.

TARTIŞMA

Gebeliğin devam ettirilmesi ya da sonlandırılmasını belirleyecek KVB işlemi gerek biyopsiyi yapan kadın hastalıkları ve doğum uzmanına gerekse laboratuvar-da bu dokuya değerlendirip kısa sürede teşhis koyacak olan genetikçiye büyük sorumluluklar yüklemektedir. bu sebeple yönetime ilişkin bazı önemli sorunlar daima gözönünde tutulmalıdır.

Koryon villus biyopsi işlemi bir cerrahi müdahale olması nedeniyle gebe ve fetus açısından yaratabileceği komplikasyonlar (enfeksiyon, fetal kayıp vs) gözardı edilemez. Endikasyon obstetrisyen, pediatrist ve genetik uzmanından oluşan bir ekip tarafından değerlendirilmeli ve işlem bu ekibin koordine çalışmasıyla yürütülmelidir.

Sitogenetik analiz yönteminden kaynaklanan maternal kontaminasyon ekarte edilmeye çalışılmalıdır. Bu maternal villus dokularının inverted mikroskop altından tam olarak ayıklanamaması ve fetal villus dokularıyla birlikte kültüre girmesi sonucu oluşur (13,14). Bazı yazarlar kısa süreli hücre kültürü yöntemiyle (24-48 saat süreli) maternal kontaminasyon riskinin minime indirildiğini savunmaktadırlar (15,16). Bunun sebebi fetusa ait olan sitotrofoblastların spontan mitoz göstermeleri, oysa sinsityotrofoblastlarda spontan mitoz göstermeleri, oysa sinsit-yotrofoblastlarda spontan mitozun yok ya da çok az olması, bu nedenle kısa süreli kültür yapıldığında sadece fetal sitotrofoblastlara ait metafaz plaklarının elde edilebileceğidir (15,16).

Diğer önemli bir sorun kontrol amacıyla uzun ve kısa süreli kültürün beraber uygulandığı gebelerde iki yöntemin sonuçları arasında uyumsuzlukların gözlenmesidir. Böyle durumlarda her iki yönetime ait sonuçlar sonradan bizzat fetal dokulardan yapılan kromozom analizleri ile karşılaştırıldıklarında, sıklıkla, uzun süreli kültür sonuçlarının fetal doku sonuçları ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle birçok yazar uzun süreli kültür metodunun fetusu daha doğru bir şekilde yansıttığı fikrindedirler (16,17).

SONUÇ

Gebeliklerin normal ve sağlıklı bebek doğumlarıyla sonlanması ve doğuştan anomalili bebek doğumlarının önlenmesi ya da en az düzeye indirilmesi kuşkusuz toplum sağlığı açısından temel amaçlardandır. Günümüzde prenatal tanı yöntemleri ile bu amaca yaklaşma sürecine girilmiştir. Aralarında intra uterin gelişme geriliği, oligohidroamnioz, polihidroamnioz, omphalosel, kardiyak defektler ve obstrüktif üropatinin bulunduğu pek çok fetal malformasyonlarda % 40-50'ye varan oranlarda sitogenetik düzensizlik bildirilmesi, bu tür vak'alarda prenatal sitogenetik analizin önemini vurgulamaktadır (18).

Prenatal tanı yöntemlerinden koryon villus biyopsisi kısa sürede fetus hakkında bilgi vermesi ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

İlgili klinik dallarının entegre çalışmasıyla ülkemizde prenatal tanı yöntemlerinin hızla yaygınlaştırılabileceği, bu yolla sağlıklı bebek doğum oranının artacağı düşünülmüştür.

SUMMARY

APPLICATION AND USEING OF CVS IN PRENATAL DIAGNOSIS

The chorionic villus sampling (CVS) was become very widely aplyed method, since it can be applied easily and the results can be obtained in a short time.

In this paper, techniques of chorionic biopsy, cytogenetic analysis of chorionic villus samples and problems of CVS methods have been rewieved.

As a result, the effect of prenatal diagnosis on rate of healthy babies to be born has been discussed.

KAYNAKLAR

1. Kerse I: İnsan embriyolojisine giriş. 3. Baskı Ankara, 1981.
2. Hamilton WJ and Mossman HW: Human Embryology: Prenatal Development of Form and Function. 4th ed. Heffer and Sons. Cambridge. 1972
3. Jahoda MGJ, Pijpers L, Reuss A, Brandenburg II, Cohen-Overbeg TE, Los FJ, Sachs ES, Wladimiroff W: Transabdominal villus sampling in earl ysecond trimester: A safe sampling metod for women of advanced age. Prehatal diagnosis Vol. 10, P. 307-311, 1990
4. Tron and Steel Co. : Fetal Sex Prediction by sex chromatin of chorionic villi cells during early pregnancy. chin Med J. 1: 117, 1975.
5. Horwell DH, Loeffler FE, Coleman DV: Assesment of a transcervical aspiation technique for chorionic villus biopsy in the first trimester of pregnancy. Br. J. Obstet Gynaecol, Vol. 90: P. 196-98, 1983
6. Ward RHT: Technixues of chorionic villus sampling. In: Bailler's Clinical Obstrics and Gynaecology, Vol. f, No. 3, P. 489-511, 1987.
7. Ellas S, Simpson JL, Martin AO, Sabbagha RE, Gerbie AB, Keith LG: Chronic villus sampling for first trimester prenatal diagnosis: Northwestern University Pogram. Am. J? Obstet. Gynecol. Vol. 152 No: 2, May 15 1985
8. Szabo J, Szemere G: Optimal timing of chorionic biopsy and its application in second trimester of pregnancy. First Trimester Fetal Diagnosis, Edited by: Fraccaro M. Berlin. Heidelberg, 1985

9. Holzgreve W, Miny P, Schloo R: "Late CVS" international registry compilation of data from 24 centres. *Prenatal Diagnosis*, Vol. 10, P. 159-67, 1990
10. Terzoli G, Simoni G: First trimester fetal karyotyping by direct method. *Contr. Gynec. obstet.* Vol. 15 pp 61-69, 1986
11. Romagnano A, Featherstone T, Sun L, Crane JP, Cheung SW: Direct preparations from chorionic villi relationship between villous morphology and mitotic index. *Prenatal Diagnosis*. Vol. 9, P. 385-91, 1989
12. Goldberg JD and Golbus MS: Chorionic villus sampling Chapter 1, San Francisco, California, 1986
13. Eiben B, Schübbe I, Hansann I: A cytogenetic study directly from chorionic villi of 140 spontaneous abortions. *Hum Genet* 77; 137-41, 1987
14. Gueneri S, Bettio D, Simoni G, Brambati B, Lanzani a, Franccaro M: Prevalence and distribution of chromosome abnormalities in as sample of first trimester internal abortions *hum Reprod* 2; 735-39, 1987
15. Ohno M, Maeda T, Matsunobu A: A cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. *Obstetrics and Gynecology* Vol. 77; No. 3 P. 394-98, 1991
16. Schlesinger C, Raabe G, Miller K: Discordant findings in chorionic villus direct preparation and long term culture-mosaicism in the fetus. *Prenatal Diagnosis*, Vol. 10, P. 609-612, 1990
17. Breed ASPM, Mantingh A, Beekhuist JR, Kloosterman MD, Ten Bolscher H and anders GJPA: The predictive value of cytogenetic diagnosis after CVS: 1500 cases. *Prenatal Diagnosis*, Vol. 10, P. 101-110. 1990
18. Holzgreve W and Miny P: Genetic aspects of fetal disease. *Seminars in Perinatology*, Vol. 13, No. 4, P. 360-77, 1989