

Prenatal Tanıda Koryon Villus Biyopsisinin Yeri

Dr. Fulya TEKŞEN*

Son 20 yılda obstetrik ve genetikte yaygın olarak uygulanan prenatal tanının amacı, herhangi bir genetik hastalık için risk taşıdığı düşünülen fetusun gerçekten etkilenip etkilenmediğinin saptanmasıdır (1-3).

Prenatal tanı yöntemlerinden biri olan koryon villus biyopsisi (CVS) sitogenetik amaçlı olarak ilk kez 1983 yılında Simoni ve ark (4) tarafından uygulanmaya başlanmıştır.

KORYON VİLLUS BİYOPSİSİ ENDİKASYONLARI

1. Kromozom anomalisi için yüksek risk taşıyan çiftler.

- Anne yaşı (>35 veya <16) (3,5,6).
- Eşlerden birinin resiprokal veya Robertsonian translokasyon taşıyıcısı olması (6).
- Çiftin daha önce kromozom anomalili bebek sahibi olması.

2. 16.-18. haftalarda yapılan üçlü tarama testi sonucu maternal serum veya amniyon sıvısı alfa-fetoprotein, beta human koryonik gonadotropin (phCG) veya serbest östriol düzeylerinin normalden düşük veya yüksek olması (7,8).

3. Patolojik ultrason bulgusu (6,9,10).

4. Gebeliği sırasında kokain, alkol, ilaç kullanan, radyasyon ya da kimyasal maddelere maruz kalan veya sitomegalovirus, toksoplazma gibi enfeksiyon görülen kişilere prenatal tanı uygulanabilir. Burada teratojene maruz kalınan süre ve miktar göz önüne alınmalıdır (3,11,12).

5. Ailede anomalili doğum ve/veya mental retardasyon hikayesinin olması (6).

6. X'e bağlı genetik hastalıklar için risk taşıyan gebeliklerde var ise spesifik prenatal tam testi (om, DNA analizi) uygulanır, aksi takdirde fetusun cinsiyeti tayin edilmektedir.

7. Anamnezinde 2'den fazla nedeti bilinmeyen ölü doğumu olan çiftlerde.

8. Galaktozemi, Tay Sachs, Nieman-Pick, Gaucher gibi metabolizma hastalıkları için riskli gebeliklerde fetal hücre kültüründe enzim tayini yapılmaktadır.

9. Çevrelerinde fiziksel veya mental özürli bireyler bulunan kişiler gebe kadınlarında anksiyete problemiyle prenatal tanı istemiyle başvururlardır (3).

10. Bazı genetik hastalıklar belli etnik gruplarda daha yüksek insidansla görülmektedir. Örneğin, orak hücre anemisi: Afrika popülasyonunda, Tay-Sachs: Yahudilerde, Beta-talasemi: Akdeniz ve Hint popülasyonunda daha sık gözlenir.

11. Maternal patoloji: Epilepsi veya insüline bağlı diyabeti olan kişilerde anomalili doğum riski artmaktadır.

12. Ailede kistik fibrozis, hemofili, Duchenne ve Becker müsküler distrofileri, orak hücre anemisi gibi Mendelyen genetik hastalıkların bulunması (13).

KORYON VİLLUSUN YAPISI

Ekstraembryonik trofoblast hücreleri implantasyon sırasında sitotrofoblast ve sinsiyotrofoblast olarak farklılaşırlar.

Konsepsiyon 12.-14. gününde sitotrofoblastların sinsiyotrofoblastlar içerisine proliferasyonu ile primer villuslar oluşur.

15. günde trofoblast, mezzenşimal doku ile bir araya gelerek (mezzenşimal kore) sekonder villusları oluşturur ve nihayet 3 hafta (21.günde) sekonder villuslara kapiller damarların eklenmesi ile tersiyer koryon villus ortaya çıkar.

Koryon villi erken gebelik haftalarında tüm gebelik kesesini sararken 7. veya 8. haftarda koryon frondozunu ve koryon leave olarak kaybederler. Daha sonra koryon leave defansu olarak, koryon frondozum plasentalayı oluşturur.

* Ankara Univ. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD.
ANKARA

Bugün prenatal tanıda incelenen tersiyer villus olup, 3 bölümden oluşmaktadır,

- A. Sinsisyotrofoblast
- B. Sitotrofoblast
- C. Mezenşimal bölge (villus stroması) (3,5)

En dıştaki sinsisyotrofoblast hücrelerinin bölünme özelliği yoktur, buna karşın hormonal aktivite yüksektir.

Bu tabakanın altındaki sitotrofoblast kesimi mitotik aktivitesi çok yüksek olan Langhans hücrelerinden oluşmakta olup, bu nedenle direkt preparasyonda kullanılmaktadır.

En içteki mezenşimal bölgede ise mezenşim, fibroblast, retikulum hücreleri gibi fetal bağ dokusu hücreleri ve damarlar bulunmaktadır. Koryon villus dokusundan yapılan uzun süreli kültürde üreyen hücreler bu hücrelerdir.

CVS ASPIRASYONU

Bugün kullanılan 3 yöntem vardır (1,7).

1. Transservikal (Erken CVS): Ultrason eşliğinde serviksten plastik veya metal kateter kullanılarak girilmek suretiyle negatif basınç uygulanarak içinde 5 ml besleyici bulunan enjektöre doku alınır. 9-12. haftalar işlem için en uygun dönemdir. 9.haftadan önce yapılan işlemlerde kol, bacak ekstremitelerine anomalilere rastlandığı bazı merkezlerce bildirilmiş olup bu nedenle yapılmaması önerilmektedir (13,14). Hatta Burton ve ark. 9.5-11. haftalar arasında yapılan işlem sonrasında da ekstremitelerine anomalilere normalden sık rastladıklarını bildirmişlerdir (15). İlk girişte yeterli doku elde edilemez ise 3'ü geçmemek üzere işlem tekrarlanabilir. Ancak girişim sayısının artması ile fetal kayıp oranının arttığı da gözönünde tutulmalıdır (5).

2. Transabdominal (Geç CVS): 1984 yılından beri birçok merkezde uygulanmaktadır. Özellikle genital herpes, servikal polipi, retroverted uterusu olan gebelerde tercih edilir. Plasentanın lokalizasyonunun uygun olmadığı, oligo ve polihidramnion olduğu durumlarda 1. trimestrenin yanısıra 2. ve 3. trimestrede de uygulanabilmesi mümkündür (16). Ayrıca 2. ve 3. trimestrede villus ile desiduanın anatomik olarak ilişkisinin daha az olması nedeniyle maternal hücre kontaminasyonu riski azalmaktadır (17).

3. Transvaginal CVS: Çok ender olarak posterior plasenta ve retroverted uterus nedeniyle kateterin servikal kanaldan ilerleme olanağı yoktur. Bu durumda transvaginal olarak myometriumdan plasentaya girilerek örnek alınır (7).

Koryon Villusun Sitogenetik Analizi

Aspire edilen koryon villus içinde besiyeri bulunan steril petri kutusuna alınarak inverted mikroskop altında desidua, kan ve mukustan ayrılır. Sitogenetik inceleme 2 şekilde yapılmaktadır.

1. Direkt preparasyon
2. Kültür yöntemi

1. Direkt preparasyon; mitotik aktivitenin yüksek olduğu sitotrofoblast (Langhans hücreleri) hücrelerinden elde edilen fetüse ait kromozomlar incelenmektedir. Yöntemin esası; 3-56 saat süren kısa süreli inkübasyonu takiben kolşisin eklenmesi ve daha sonra hipotonik (%1'lik sodyum sitrat), Carnoy's fiksatifli, sulu asetik asit (%60) ile muamele edilerek kromozom elde edilmesi şeklinde özetlenebilir (4,18,19).

Kısa sürede sonuç elde edilmesi (dolayısıyla annenin ve özellikle annenin psikolojik olarak rahatlaması), maternal kontaminasyonun az oluşu, mikrobiyal kontaminasyon (17) riskinin olmayışı, maliyetin ucuz olması avantajlarıdır.

2. Kültür yöntemi; Villus stromasında bulunan mezenşim, fibroblast, retikulum hücreleri 8-20 gün kültüre edilerek kromozom elde edilir. Özetle; aspire edilen villus örnekleri inverted mikroskopta ayırdıktan sonra enzimle (genellikle kollagenaz) muamele edilir ve steril petri kutusunda Chang, RPMI, Ham's F10 gibi vasatlardan biri kullanılarak kültüre edilir, inverted mikroskopla üreme takip edilir, fibroblast hücreleri yeterli sayı ve mitotik aktiviteye ulaştığında kolşisin eklenerek kültür sallandırılır ve kromozom elde edilip bantlama yapılarak sitogenetik inceleme yapılır (4).

Çeşitli teknik koşullara (ısı, nem, CO₂ miktarının değişimi), bazen hücrelerin özelliklerine ve açıklanamayan nedenlere bağlı olarak uzun süreli kültürle de yeterli üreme olmaz. Örneğin non-immün hidrops fetalis (NIH) veya intrauterin gelişme geriliği (IUGR) olgularında üreme çok yavaş olabilir. Bu durumda kültür ortamına özel üreme faktörleri eklenebilir (6).

Avantajları mitoz kalitesinin ve sayısının daha yüksek olması ve yanlış negatif tanı oranının daha düşük olmasıdır.

Her iki yöntemin de avantaj ve dezavantajları gözönüne alındığında tanısal hataları önlemek amacıyla birlikte kullanılmaları gereği ortaya çıkmaktadır. Nitekim bugün dünyanın büyük merkezlerindeki uygulama da bu yöndedir (18).

Her iki yöntem ile elde edilen karyotipte sayısal ve yapısal anomaliye rastlandığında mutlaka amniyosentez veya kordosentez ile tekrar inceleme yapılmalı, ondan sonra kesin karar verilmelidir (20,21).

CVS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tüm cerrahi işlemler gibi koryon villus biyopsisi de anne için; kanama, Rh izoimmunizasyon, erken membran rüptürü (5,22) enfeksiyon gibi fetus için de ölü doğum, prematürite, intrauterin gelişme geriliği, düşük doğum ağırlığı, neonatal ölüm ve fetal ölüm gibi riskleri beraberinde getirmektedir.

Koryon villus biyopsisi işlemine bağlı olarak ortaya çıkan fetal kayıp oranının değerlendirilmesi güç olup, çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilen oranlar %1 ile %7 arasında değişmektedir (12,13,18,22-25). Alınan materyalin miktarı, işlemi gerçekleştiren ekibin deneyim derecesi, işlemin yapıldığı gebelik haftası, materyeli almak için uygulanan girişim sayısı spontan aboius oranını etkileyen faktörlerdir (26).

Koryon villus sonuçlarının değerlendirilmesinde karşılaşılan sitogenetik problemlerden biri özellikle uzun süreli kültürlerde %0.1-%27.6 oranında ortaya çıkan maternal hücre kontaminasyonudur (3,5,6,11).

Kontaminasyonu önlemek için anneye ait dokunun iyi temizlenmesi, besiyeri olarak Chang mediumun kullanılması (3) ve dişi fetus saptandığında fetal kromozomlar ile anne kromozomlarının floresans polimorfizm ile karşılaştırılması günümüzde uygulanan yöntemlerdir (11).

CVS'de sitotrofoblast (direkt preparasyon), villus stroması (kültür yöntemi) ve fetustan elde edilen karyotip farklılıkları yani mozaizm %0.7-4.3 oranında bildirilmektedir (11,12,27-29).

Özellikle plasentanın anormal, fetusun ise normal karyotipe sahip olduğu plaseenta ile sınırlı mozaizm olgusuna (plasental mozaizm) sıklıkla rastlanmaktadır.

Böyle durumlarda karar verilmeden önce mutlaka amniyosentez veya kordosentez uygulanmalı, aynı anormal karyotipe rastlanırsa hastalığın tipi, tedavisi, riskleri detaylı olarak hastaya anlatılmalı ve ne yapılması gerektiğine birlikte karar verilmelidir. Gebelik sonlandırıldığı takdirde fetal doku veya kandan, doğarsa bebek kanından örnek alınarak karyotip tayini yapılmalıdır. Ayrıca plasental mozaizm görülen vakalarda spontan abortus oranının yüksek olduğu (27,29,30) ve intrauterin gelişme geriliğine daha sık rastlandığı (30) bildirilmiştir.

Özetle, koryon villus biyopsisi tekniği, amniyosenteze kıyasla daha erken dönemde ve kısa sürede sonuç alınabilmesi nedeniyle annenin psikolojik olarak rahatlaması açısından büyük avantaj sağlamaktadır. Yöntem, uygun teknik koşullarda ve uzman bir ekip tarafından uygulandığı takdirde (31) gerek birinci gerek ikinci ve üçüncü trimestre için güvenilir bir prenatal tanı yöntemi olarak kabul edilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Simpson JL, Golbus MS. Genetics in Obstetrics and Gynecology. Mexico; WB Saunders Company, 1992:201-21.
2. Emery AE. Principles and Practice of Medical Genetics. Great Britain: William Clowes Ltd, 1991:1959-93.
3. Aydın K. Prenatal Tanı ve Tedavi. In: Aydın K, ed. İstanbul: Prestij Matbaası, 1992:1-90.
4. Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rossella F, Terzoli GL, Ferrari M, Fraccoro M. Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Hum Genet 1983; 63:349-57.
5. Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA. Prenatal Diagnosis and Screening. Hong Kong: Longman Group UK Ltd, 1992:25-38.
6. Lilford R. Prenatal Diagnosis and Prognosis. Great Britain: Courier Int Ltd, 1990:93-208.
7. Evans M. Reproductive Risks and Prenatal Diagnosis. USA: Appleton&Lange, 1992:175-90,
8. Lieppman RE, Williams MA, Cheng EY, Resta R, Zingheim R, Hickok DE, Luthy DA. An association between elevated levels of human chorionic gonadotropin in the mid trimester and adverse pregnancy outcome. Am J Obstet Gynecol 1993; 168:1852-7.
9. Erdem M, Erdem A, Yıldız A, Güner H. Konjenital malformasyonların prenatal tanısında ultrasonografinin yeri. T Klin Jinekolo Obst 1992; 2:93-9.
10. Carlson Drue E, Piatt LD, Medeasls AL. The ultrasound triad of fetal hydramnios, abnormal hand posturing, and any other anomaly predicts autosomal trisomy. Obstet Gynecol 1992;79(5):731-4.
11. Mlyn P, Ba^aran S, Pawlowitzki IH, Horst J, Westendorg A, Nleder W, Holzgieve W. Validity of cytogenetic analysis from trophoblast tissue through gestation. Am J Med Genet 1989; 33:136-41.
12. Green JE, Dartmann A, Janes SL, Bender S, Pattun L, Schulman JD. Chorionic Villus Sampling: Experience with an initial 940 cases. Obstet Gynecol 1988; 71:208-12.
13. Kuliev AM, et al. Risk evaluation of CVS. Prenat Diagn 1993; 13:197-209.
14. Report of National Institute of Child Health and Human Development Workshop on Chorionic Villus Sampling and Limb and Other Defects, Oct 20, 1992. Am J Obstet Gynecol 1993; 169:1-6.
15. Burton BK, Scholz CJ, Eurd LI. Limb anomalies associated with chorionic villus sampling. Obstet Gynecol 1992; 79:726-30.
16. Hallok M, Johnson MP, Pryde PG, Isado NB, Zador IE, Evans MI. Chorionic Villus Sampling: Transabdominal versus transservical approach in more than 4000 cases. Obstet Gynecol 1992; 80(3):1349-52.
17. Ahlert GD, Pohlschmidt M, Gal A, Horst J, Ming P, Holzgreve W. Transabdominal placental biopsy in the second and third trimesters of pregnancy: What is the risk of maternal contamination in DNA diagnosis? Obstet Gynecol 1990; 75:320-3.
18. Simonl G, Gimelli G, Cuocol, Romliti L, Terzoli G, Gueneri S, Rosella F, Pascotto L, Pezzola A, Porta S, Srambati B, Porro E, Froccoro M. First trimester fetal karyotyping: One thousand diagnoses. Hum Genet 1986; 72:203-9.

19. Şaylı BS, Yıldız A, Gül D, imirzalıoğlu N. Gülhane Genetik Bilim Dalında geliştirdiğimiz koryon biyopsi materyalinden kromozom hazırlama yöntemi. GATA Bülteni 1989; 31:353-6.
20. Crane JP, Cheung SW. Am embryogénié model to explain cytogenetic inconsistencies observed in chorionic villus versus fetal tissue. Prenat Diagn 1988; 8:119-29.
21. Leschot NJ, Kanhai HHH, Asperen VCJ, Wolf H, Boer K, Knegt VP, Christiaens GCML, Verjaol M, Briet E. An evaluation of 75 terminations of pregnancy based on abnormal laboratory findings at first trimester CVS. Clin Genet 1990; 38:211-7.
22. Crone JP, Beaver HA, Chemrig SW. First trimester chorionic villus sampling versus mid-trimester genetic amniocentesis: Preliminary results of a controlled prospective trial. Prenat Diagn 1988; 8:355-6.
23. Muggah H, Hunter AGW, Ivey B, Cox DM. Difficulties encountered in a randomization trial of CVS versus amniocentesis for prenatal diagnosis. Clin Genet 1987; 32:235-9. •
24. Gatz G, Rauskolb R, Werner L, Gellert G, Eiben B, Bartels I. Simultaneous placentocentesis and amniocentesis for prenatal karyotyping: Report on 250 cases prenatal diagnosis 1990; 19:365-75.
25. Ward H, Rodeck C. Comparison of amniocentesis and transabdominal and transcervical chorionic villus sampling. Lancet 1993; 341:186-7.
26. Rhoads GG, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. New Engl J Med 1989; 320:609-17.
27. Wang TBB, Rubin HC, Williams J. Mosaicism in chorionic villus sampling. An analysis of incidence and chromosomes involved in 2612 consecutive cases. Prenat Diagn 1993; 13:179-90.
28. Breed ASPM, Mantingh A, Breekhtrts JR, Kloosterman MD, Bolscher HT, Anders JJPA. The predictive value of cytogenetic diagnosis after CVS 1500 cases. Prenat Diagn 1990; 10:101-10.
29. Johnson A, Wapner RJ, Davis GH, Jackson LG. Mosaicism in chorionic villus sampling: An association with poor perinatal outcome. Obstet Gynecol 1990; 75:573-7.
30. Kalousek DK, Dill FJ, Pantzar T, Mc Gillivroy BC, Yong SL, Wilson DR. Confined chorionic mosaicism in prenatal diagnosis. Hum Genet 1987; 77:163-7.
31. Boehm FH, Salyer SL, Reed GW. Chorionic villus sampling: Quality control-A continuous improvement model. Am J Obstet Gynecol 1993; 168:1766-7.