

## Molar Gebeliğin Ayırıcı Tanısında Genetik Yöntem

### The Genetic Method in the Differential Diagnosis of Molar Pregnancies

İbrahim GÜLHAN,<sup>a</sup>  
Gülşah SELVİ DEMİRTAŞ,<sup>a</sup>  
Altuğ KOÇ,<sup>b</sup>  
Taha Reşid ÖZDEMİR,<sup>b</sup>  
Varol GÜLSEREN,<sup>a</sup>  
Muzaffer SANCİ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği,  
<sup>b</sup>Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi,  
İzmir Tepecik Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi,  
İzmir

Geliş Tarihi/Received: 09.04.2016  
Kabul Tarihi/Accepted: 14.07.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:  
İbrahim GÜLHAN  
İzmir Tepecik Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi,  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmir,  
TÜRKİYE/TURKEY  
drigulhan@yahoo.com

**ÖZET** Genetik yöntemler gestasyonel trofoblastik hastalıkların (GTH) tanısında son yıllarda giderek artan bir şekilde yer almaktadır. Komplet hidatiform molün parsiyel hidatiform molde ve non-molar gebelik materyalinin molar gebelik materyalinden doğru şekilde ayrılması, bu hastalıkların izlem ve tedavisinde büyük önem arz etmektedir. Ancak, sadece morfolojik kriterlere göre ayırıcı tanı yapılmaya çalışılması, bazı zorlukları da beraberinde getirebilmektedir. p57 immün boyama komplet molü parsiyel molde ayırmada kullanılmakla birlikte, bu yöntemin de yeterli olmadığı durumlar söz konusudur. Genomda bulunan polimorfik tekrar bölgelerine özgü belirteçlerin araştırılması, “short tandem repeat” (STR) genotiplendirme olarak adlandırılmaktadır. STR analizi morfolojik tanıda yetersiz kalınan durumlarda tanıya yardımcı bir genetik yöntemdir ve son zamanlarda molar gebeliklerin değerlendirilmesinde rutin bir yaklaşım haline gelmeye başlamıştır. Bu çalışmada, tanısında güçlük çekilen, ancak STR genotiplendirme ile tanısı kesinleştirilen ve izlem sırasında persistan trofoblastik hastalık gelişen bir olgu, GTH’de genetik tanı yöntemlerine dikkat çekmek amacıyla sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Hidatiform mol; genotipleme teknikleri

**ABSTRACT** Genetic methods have an expanding place in the diagnosis of gestational trophoblastic diseases (GTD) in recent years. It has a great importance in the treatment and surveillance of these diseases to distinguish complete hydatiform mole from partial hydatiform mole and material of molar conceptus from material of nonmolar conceptus correctly. However trying to make a differential diagnosis only based on the morphologic criteria, may bring some challenges. Although p57 immunostaining is used to distinguish complete mole from partial mole, in some cases this method can be insufficient. Investigation of polymorphic repetition area specific markers in a gene denominated as “short tandem repeat” (STR) genotyping. STR analysis is an ancillary method for the situations failed to diagnose and recently it is started to become a routine approach in assessment of molar pregnancies. We wanted to draw attention to genetic methods of diagnosis in GTD with a case whose diagnosis revealed difficulty and whose diagnosis was confirmed by STR genotyping and whom developed persistent trophoblastic disease in the follow-up period in our department.

**Keywords:** Hydatiform mole; genotyping techniques

Gestasyonel trofoblastik hastalık (GTH) tanımlaması; komplet (KM) ve parsiyel mol (PM), invaziv mol, koryokarsinom ve plasental site trofoblastik tümör olmak üzere başlıca dört klinikopatolojik durumu ifade etmektedir. GTH’nin tanısının doğru olarak yapılması, bu hastalıkların izlem ve tedavisinde yaşamsal bir önem arz etmektedir. GTH’nin tanısında geleneksel olarak ultrasonografi (USG), insan koryonik gonadot-

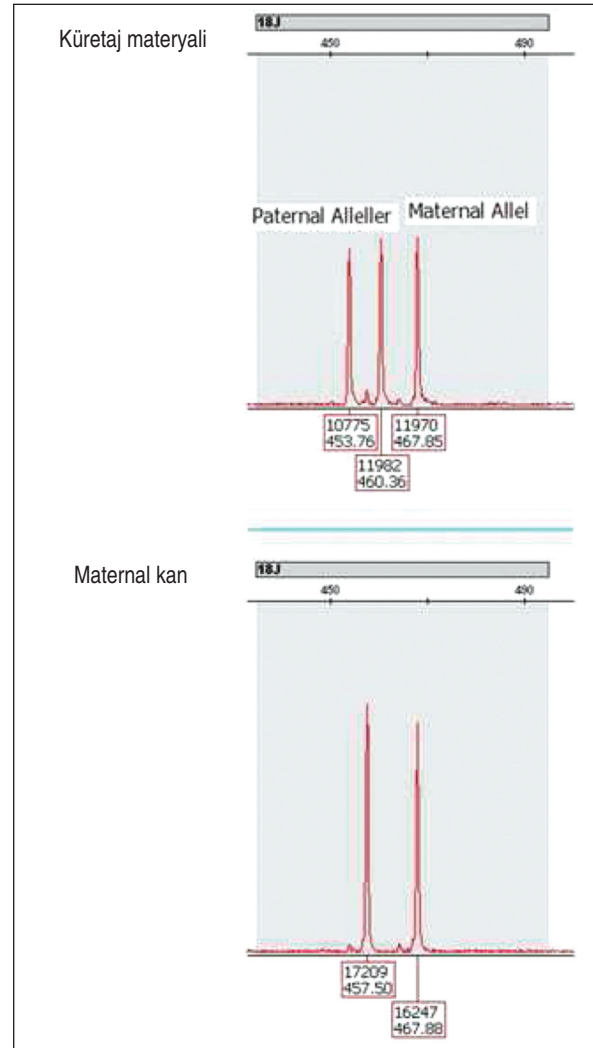
ropin [human chorionic gonadotropin (hCG)] ve doku elde edilebildiği durumlarda patolojik inceleme kullanılmaktadır. Ancak son yıllarda genetik tanı yöntemleri giderek artan bir şekilde tanı sürecinde yer almaktadır. Zira GTH'nin kendine has bazı özellikleri, genetik yöntemlerin tanıda kullanılabilmesini kolaylaştırmaktadır. KM'deki androjenetik diploidi ve PM'deki diandrik triploidi kromozom yapısı genetik tanıyı mümkün kılan başlıca özelliklerdir. İmmünohistokimyasal yöntemlerden p57 ekspresyonu KM'yi PM'den ayırbilmekle birlikte, PM'nin nonmolar dokudan ayrımında kullanılamaz.<sup>1</sup> Çünkü, p57 maternal olarak eksprese olan paternal olarak imprinted olan bir gen olduğundan KM'de bulunmaz, ancak hem PM'de hem de nonmolar spesimenlerde bulunur. Polimorfik allellerin parental kaynağını belirleyebilen "short tandem repeat" (STR) genotiplendirme yöntemi; androjenetik diploidy, diandrik triploidi ve biparental diploidyı saptayarak yukarıdaki üç durumu birbirinden ayırabilmektedir.<sup>2</sup>

Bu çalışma, morfolojik kriterlere göre tanısında zorluk çekilen ancak daha sonra genetik ile PM tanısı kesinleştirilen ve izlemde GTH'ye dönüşen bir olgunun, GTH'de STR analizinin önemine ve yerine dikkat çekilmesi amacıyla sunulmuştur.

## OLGU SUNUMU

Kanama şikâyetiyle acil servisimize başvuran 17 yaşındaki olgu, yapılan ilk muayene ve değerlendirmeyi takiben inkomplet abortus ön tanısıyla yatırılarak revizyon küretaj yapıldı. Olgunun başvuru sırasındaki hCG değeri 118.961 mIU/mL idi. Müdahale sonrası ikinci gün taburcu edilen olgunun küretaj materyalinin patolojik incelemesi abortus olarak rapor edildi. Olgu ilk müdahaleden yaklaşık iki ay sonra kanama şikâyetiyle tekrar polikliniğe başvurdu. Bu sıradaki hCG değeri 6.319 mIU/mL idi ve USG'de rest plasentayla uyumlu görünüm mevcuttu. Yapılan değerlendirmede daha önce molar gebelik öyküsü olmadığı için olguda rest-plasenta düşünülerek ikinci kez revizyon küretaj yapıldı. Ancak, olgunun hCG değerinin beklenenin üzerinde olması nedeni ile GTH'den şüphelenilip küretaj materyali genetik incelemeye de gönderildi. 13, 18, 21, X ve Y kromozomları ve

12 STR belirteci kullanılarak yapılan genetik inceleme sonucu, ekstra haploid seti paternal kaynaklı olan 69XXY-triploidi ve olgunun PM ile uyumlu olduğu rapor edildi (Şekil 1). Bu kez patolojik inceleme de PM olarak değerlendirildi. Olgu PM olarak izlem altına alındı ve izlem sırasında hCG düzeylerinin plato yapması üzerine persistan GTH olarak kabul edildi (Tablo 1). Kadın Hastalıkları ve



**ŞEKİL 1:** Küretaj materyali ve anneye ait periferik kan örneğinde "short tandem repeat" (STR) belirtecinin modeli (x aksı= baz çifti cinsinden uzunluk; y aksı= floresan parlama şiddeti).

Küretaj örneğinde STR belirtecin allellere ait 3 dalga tepesi (453bç, 460bç, 467bç) 1:1:1 oranında görülmektedir. Bu bulgu 18. kromozomdan 3 kopya olduğunu göstermektedir. Ayrıca, dalga tepelerinden bir tanesi 467bç uzunluğundadır; hem anne kanında hem de küretaj örneğinde bulunmaktadır; bu dalga tepesi anneden geçen alleli belirler. Fakat geriye kalan 2 dalga tepesi (453bç ve 460bç) anneye bulunmamaktadır. Bu durum, bu 2 allelin babadan geldiğini gösterir. Figürde 18. kromozoma ait bir STR belirteci örnek olarak gösterilmektedir. Triploidi ve allel geçişlerinin gösterilebilmesi için 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarına ait toplam 12 STR belirteç kullanılmıştır.

**TABLO 1:** hCG seviyeleri.

Tarih	hCG (mIU/mL)
18/01/2016	0,1
11/01/2016	0,15
06/01/2016	2,51
04/01/2016	3,65
01/01/2016	13,69
30/12/2015	22,75
28/12/2015	24,17
22/12/2015	19,97
15/12/2015	23,06
07/12/2015	34,6
30/11/2015	63,08
23/11/2015	214,3
16/11/2015	1.033
05/11/2015	1.509
27/10/2015	2.434
21/10/2015	4.302
15/10/2015	6.913
19/08/2015	118.961

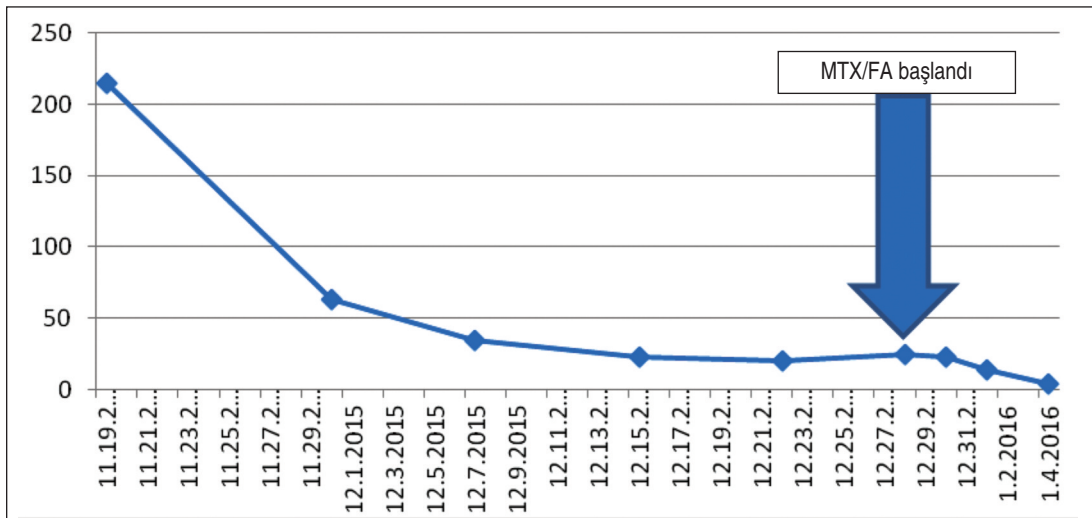
hCG: "human chorionic gonadotropin"

Doğum Federasyonu [International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO)] skorlama sistemine göre düşük skorlu (<7) olan olguya tek ajan kemoterapi (metoteraksat 50 mg/folinik asit 15 mg, dönüşümlü olarak dört doz) başlandı (Şekil 2). İlk kürün sonunda hCG değerleri normale (<4) inen olguya ekstra iki kür tedavi daha verilerek izlem altına alındı.

## TARTIŞMA

GTH tanısında en çok kullanılan klasik tanı yöntemleri; hCG, USG ve patolojik değerlendirmedir. Ancak, birçok durumda patolojik değerlendirmenin deneyimli patoloğlar açısından bile zorlukları bulunabilmektedir. Oysa tanının doğru olarak konulması daha sonraki izlem açısından son derece önemlidir. Zira KM'den sonra %15-20, PM'den sonra %0,2-4 oranında persistan GTH görülme olasılığı bulunmaktadır. Bunların çok büyük kısmı invaziv mol olup, %3-5 kadarı ise koryokarsinom hastalarıdır.<sup>3</sup> Ayrıca, son zamanlarda PM'den sonra da koryokarsinom ya da plasental site trofoblastik tümör görülebildiğini kanıtlayan çalışmalar da yayınlanmıştır.<sup>3</sup>

Morfolojik olarak KM kriterleri genişlemiş ödematöz villuslar, trofoblastik hiperplazi, sitolojik atipi, santral sistem formasyonu ve trofoblastik inklüzyonlardır.<sup>4</sup> PM'nin morfolojik kriterleri ise geniş, irregüler ve hidropik villuslar ile küçük, immatür ve fibrotik villuslardan oluşan iki ayrı villus popülasyonunun varlığı, bazı genişlemiş villuslarda sistemler, stromal trofoblastik inklüzyonlar ve hafif trofoblastik hiperplazi olarak sayılabilmektedir.<sup>4</sup> Morfolojik özelliklerin iyi geliştiği ve belirgin olduğu olgularda mol tanısı genellikle patolojik olarak konulabilmektedir. Ancak molar

**ŞEKİL 2:** Olgunun en son hCG değerlerini ve platoyu gösteren grafik.

hCG: İnsan koryonik gonadotropin; MTX: Metoteraksat, FA: Folinik asit.

gebeliği düşündüren bazı nonmolar hastalarda hidatiform molün ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Anormal villus morfolojisi (AVM)'nin olduğu gebelik materyali, bariz trofoblastik hiperplazinin bulunduğu erken abortuslar, hidropik abortuslar ve mozaik/kimerik gebelikler bunlar arasında yer almaktadır. Bunun dışında olgumuzda olduğu gibi, revizyon küretaj materyallerinde geride kalan doku morfolojik tanı için yeterli olmayabilmektedir. Hidropik abortuslarda villöz ödem olmakla birlikte, trofoblastik proliferasyon görülmemektedir. Erken abortuslarda ise molar gebeliği düşündürecek düzeyde trofoblastik proliferasyon görülmekte, ancak molar gebeliğin diğer özellikleri bulunmamaktadır. AVM, PM'yi düşündüren bazı özelliklere sahip çok iyi tanımlanmamış bir durumdur. Mozaik/kimerik gebeliklerde de molar gebeliği düşündüren bazı morfolojik değişiklikler bulunabilmektedir.

Morfolojik değerlendirmedeki olası tanı güçlüklerini önlemenin yollarından biri de p57 immün boyamadır. p57, maternal olarak eksprese ve paternal olarak imprinte olan *CDKN1C* geninin ürünüdür. *CDKN1C*, 11. kromozomda lokalize olan siklin-bağımlı kinaz inhibitörüdür<sup>1</sup>. KM hastaları, erken formları da dâhil olmak üzere androjenetik diploidi özelliği gösterdiğinden ve dolayısıyla maternal katkı olmadığından p57 ekspresyonu negatif ya da çok sınırlıdır. Oysa diandrik triploidi özelliği gösteren PM ve biparental diploidi özelliği gösteren nonmolar gebelik materyallerinde p57 ekspresyonu görülmektedir. Ancak p57 ekspresyonu KM'yi PM ve nonmolar gebelik materyalinden ayırabilir iken, PM'yi nonmolar gebelikten ayıramamaktadır. Ayrıca, p57 immün boyamanın yalancı pozitif ve yalancı negatif olduğu nadir durumlar da vardır.

GTH tanısında son yıllarda genetik yöntemler de giderek artan bir oranda yer almaya başlamıştır. GTH'nin spesifik genetik özellikleri, genetik tanı yöntemlerinin kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Sitogenetik analiz (karyotip tayini), flow sitometri ile ploidi belirlenmesi, floresan in situ hibridizasyon [fluorescent in situ hybridization (FISH)] ve STR genotiplendirme başlıca genetik

tanı tekniklerindedir. Bu tekniklerin çoğu maternal ve paternal katkıyı belirleyemezken, STR genotiplendirme paternal ve maternal katkıyı belirleyebilmektedir. Konseptus materyalinde bulunan, polimorfik, özgün, kısa DNA tekrar bölgelerinin (STR), polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması ve oluşan ürünlerin fragman uzunluklarının ebeveyn örnekleriyle kıyaslanması "STR analizi veya genotiplendirmesi" olarak adlandırılmaktadır. STR'ler toplumda yüksek derecede polimorfik olan tekrarlayıcı DNA dizileridir. Bu dizilerin kişiye özgü olması, genetik belirteçler olarak kimlik tespitinde, adli tıp araştırmalarında, babalık testinde, kimerizm çalışmalarında kullanılmalarını sağlamıştır. STR analizi, polimorfik allellerin parental kaynağını saptayarak androjenetik diploidi, diandrik triploidi ve biparental diploidiyi birbirinden ayırabilmektedir.<sup>5</sup> Başka bir deyişle KM, PM ve nonmolar gebelik materyalini birbirinden ayırabilmektedir. Çünkü kromozom yapıları değerlendirildiğinde; nonmolar gebelik materyalinin tipik olarak bir maternal ve bir paternal kaynaklı kromozom setinden (biparental diploidi), KM'nin iki paternal kaynaklı kromozom setinden (androjenetik diploidi) ve PM'nin de iki paternal ve bir maternal kaynaklı kromozom setinden (diandrik triploidi) geliştiği görülmektedir. Bazı nonmolar spesimenler "digynic" triploidi, yani iki maternal ve bir paternal kromozom seti taşıyabilmesine rağmen, bunlarda PM'nin morfolojik özellikleri bulunmamaktadır. Mozaik/kimerik gebeliklerde ise çeşitli genetik varyasyonlar olmakla birlikte, sıklıkla androjenetik diploid ve biparental diploid hücreler aynı villus içinde görülebilmektedir. Ronnett ve ark.nın molar gebeliklerin ayırıcı tanısındaki önerdikleri algoritmaya göre, molar gebelik şüphesi olan bütün durumlarda önce p57 immün boyama yapılmalıdır.<sup>5</sup> Buna göre eğer p57 negatif ve morfoloji yeterli ise KM tanısı konulmalı, ancak p57 pozitifse moleküler genotiplendirme yapılmalıdır. p57 pozitif olan bu grupta, PM veya nonmolar gebelik ayırıcı tanısı ise genotiplendirme sonucuna göre konulmalıdır.

Sonuç olarak molar gebeliği düşündüren, ancak morfolojik bulgularla kesin tanının konulmadığı durumlarda, ayırıcı tanı için genetik yön-

temler kullanılabilir. Günümüzde molar gebeliklerin tanısında giderek yaygınlaşan yaklaşım; morfoloji, p57 immün boyama ve STR analizinin hastanın kliniğiyle örtüşecek şekilde birlikte kullanılması şeklindedir.

#### **Çıkar Çatışması**

*Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması veya finansal destek bildirmemiştir.*

#### **Yazar Katkıları**

**Fikir/Kavram:** İbrahim Gülhan, Gülşah Selvi Demirtaş, Altuğ Koç; **Tasarım:** İbrahim Gülhan, Altuğ Koç; **Denetleme/Danışmanlık:** İbrahim Gülhan, Altuğ Koç, Muzaffer Sancı; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Gülşah Selvi Demirtaş, Varol Gülseren; **Analiz ve/veya Yorum:** Altuğ Koç, Taha Reşid Özdemir, İbrahim Gülhan; **Kaynak Taraması:** İbrahim Gülhan, Gülşah Selvi Demirtaş, Varol Gülseren; **Makalenin Yazımı:** İbrahim Gülhan Altuğ Koç; **Eleştirel İnceleme:** Muzaffer Sancı.

## KAYNAKLAR

1. LeGallo RD, Stelow EB, Ramirez NC, Atkins KA. Diagnosis of hydatidiform moles using p57 immunohistochemistry and HER2 fluorescent in situ hybridization. *Am J Clin Pathol* 2008;129(5):749-55.
2. McConnell TG, Murphy KM, Hafez M, Vang R, Ronnett BM. Diagnosis and subclassification of hydatidiform moles using p57 immunohistochemistry and molecular genotyping: validation and prospective analysis in routine and consultation practice settings with development of an algorithmic approach. *Am J Surg Pathol* 2009;33(6): 805-17.
3. Seckl MJ, Sebire NJ, Fisher RA, Golfier F, Massuger L, Sessa C; ESMO Guidelines Working Group. Gestational trophoblastic disease: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013;24(Suppl 6):vi39-50.
4. Sebire NJ, Makrydimas G, Agnantis NJ, Zagorianakou N, Rees H, Fisher RA. Updated diagnostic criteria for partial and complete hydatidiform moles in early pregnancy. *Anticancer Res* 2003;23(2C): 1723-8.
5. Ronnett BM, DeScipio C, Murphy KM. Hydatidiform moles: ancillary techniques to refine diagnosis. *Int J Gynecol Pathol* 2011;30(2): 101-16.