

# Erken Amniyosentez

## EARLY AMNIOCENTESIS

Fulya TEKŞEN\*

\* Dr.Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, ANKARA

İleri anne yaşı (>35), ailede ölü doğum ve/veya anomali doğum hikayesi, anne babada translokasyon taşıyıcılığı, a-fetoprotein, human koryonik gonadotropin (phCG), serbest östriol düzeylerindeki değişiklikler, patolojik ultrason bulgusu, X'e bağlı veya Mendelyen genetik hastalık riski taşıyan (1) gebeler prenatal tanı endikasyonu taşımaktadırlar. Bu kişilere uygulanması planlanan prenatal tanıda önemli olan nokta; hasta açısından mümkün olan en erken gebelik haftasında fetal dokunun alınması, çok kısa bir sürede laboratuvar sonucunun doğru olarak verilmesi ve bu işlemde annenin ve fetüsün zarar görmemesidir. Günümüzde uygulanan yöntemler sitogenetik (2), biyokimyasal (3,4) ve moleküler DNA düzeyinde (5) olup, hastanın durumuna göre koryon villus biyopsisi (CVS), kordosentez ve amniyosentez işlemlerinden biri tercih edilmektedir.

Amniyosentez işlemi ikinci trimestrede 15-20. gebelik haftaları arasında uygulanmaktadır ve analiz için 20 cc amniyon sıvısı alınabilmektedir. Fetal kayıp (%0.5-2) (6,7) hücre kontaminasyonu (%0.49) (8), mozaik bulgular (%0.2-0.4) (6,8) ve maternal komplikasyon oranının düşük olması ayrıca işlemin birçok kadın doğum uzmanı tarafından uygulanabilirliği sayesinde bugün Avrupa ve Amerika'da yaygın olarak Türkiye'de ise bazı merkezlerde uygulanmaktadır. Ancak uygulama zamanının oldukça geç olması ve sonucun 2-3 hafta gibi uzun sürede alınabilmesi bir takım alternatif arayışlarını ortaya çıkarmıştır. Zira gebeliğin ilerlemesi ve fetal hareketlerin başlaması ile birlikte anne bebeğe daha fazla bağlanmaktadır. Ayrıca fetusta herhangi bir patoloji saptandığı takdirde gebeliğin sonlandırılması hem fizyolojik hem de psikolojik olarak anneyi daha fazla etkilemektedir.

Bu sakıncaları ortadan kaldırmak amacıyla 11.-14. haftalarda erken amniyosentez uygulamasına başlanmıştır (7).

Geliş Tarihi: 07.06.1994

Yazışma Adresi: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD,  
ANKARA

Erken amniyosentez girişimleri; yüksek rezolüsyonlu ultrasonların kullanıma girmesi, amniyosit kültür tekniklerinin gelişmesi ve gerek laboratuvar ekibinin, gerekse sıvı alan doktorların 2.trimestr amniyosentez deneyimlerinin artması sonucunda gerçekleşmiştir. Alınan sıvı miktarı her gestasyon haftası için 1 cc olarak belirlenmiştir.

Erken amniyosentezin birtakım teknik zorlukları vardır. Şöyleki;

1. Plasenta yaygın durumdadır.
2. Amniyon sıvısı miktarı azdır.
3. Amniyotik membran uterus duvarına henüz tamamiyle yapışmamıştır (9).
4. Ekstra embriyonik çölm hâlâ görünmektedir.
5. Birim hacime düşen amniyon hücre sayısı azdır. Hücre sayısını arttırmak amacıyla filtrasyon yöntemi öne sürülmüştür (10).
6. 13.haftadan önce sıvı alma zorluğu vardır. Belki de yeni bir iğne girişi tekniği geliştirilebileceği düşünülmüştür (11).
7. Erken gebelik döneminde amniyon sıvısı yüksek oranda trofoblast hücresi içermektedir. O nedenle 12.gebelik haftasından önce uygulanan işlemlerde kültürün başarısızlık riski yüksektir (12).

## ERKEN AMNİYOSENTEZİN AVANTAJLARI

1. Fetüste patolojik bulgu saptandığı takdirde erken gebelik döneminde daha az riskli terminasyon sağlanmış olur.
2. Annenin endişeyle bekleme (yaklaşık 4 hafta) süresi azalır.
3. CVS ile elde edilen sonuçlara göre daha az maternal hücre kontaminasyonu ve yalancı mozaik bulgu gözlenmiştir.
4. 8-10. haftalarda yapılan CVS ile 15.haftada yapılan standart amniyosentez arasındaki aralığı doldurmaktadır (Transabdominal CVS ile birlikte).

5. Avrupa ve Amerika'da CVS belli merkezlerde yapılabildiği için hastaların uzun mesafeler gitmeleri gerektiği halde amniyosentez çok sayıda Kadın-Doğum uzmanı tarafından yapılabilmektedir (13). Türkiye'de de amniyosentez işlemini uygulayan doktor sayısı CVS uygulayanlara oranla daha fazladır.

6. CVS'nin kontrendike olduğu ayrı plasentalardan materyel alınmasının uygun olmadığı ikizlerde kullanılmaktadır (7,8,13).

7. Gerek klinik prosedür gerekse laboratuvar analizlerinde yeni teknik gerektirmemektedir.

8. CVS ile patolojik sonuç elde edilirse, sonucun teyid edilmesi için yapılacak amniyosentez işlemi öne alınmış olur.

9. Alınan sıvıda kromozomal bozuklukların yanı sıra nöral tüp defektlerinin tanısında önemli rol oynayan a-fetoprotein, phCG, serbest östradiol ve asetil kolin esteraz tayini yapılabilmektedir (7,8,14-16).

## ERKEN AMNİYOSENTEZİN DEZAVANTAJLARI

1. Erken gebelik döneminde amniyotik sıvıda yüksek oranda trofoblasttan köken alan hücreler bulunmaktadır. Bu hücreler, 12.gebelik haftasından önce alınan sıvılarda kültürün başarısız olmasına neden olabilmektedir (12).

2. 13.haftadan önce yapılan girişimlerde sıvı alma zorluğu vardır.

3. Bazı araştırmacılar fetal kayıp oranının standart amniyosenteze göre daha yüksek bildirmektedirler (14).

4. Hayvan çalışmaları pulmoner hipoplazi gösterirken (12,13), insanlarda da fetal distress sendromu ve pnömoni olgularının arttığı bildirilmiştir (14). Bunun yanı sıra işlem sonrası 3-5 yıl takip edilen çocuklarda astım, hyalin membran hastalığı gibi solunum komplikasyonları açısından kontrol grubuna göre artış gözlenmeyen çalışmalar da vardır (17).

5. Bir bebekte erken amniyosentez sonrası bilate ral talipes equinovarus vak'ası gözlenmiştir (13).

## AMNİYON SIVISININ SİTOGENETİK ANALİZİ

Amniotik sıvının sitogenetik olarak incelenmesi standart amniyosentez (15-20.haftalar arası)'de kullanılan yöntemin aynısıdır. Santrifüj edildikten sonra elde edilen hücreler flaska ekilerek üzerlerine besiyeri eklenir ve %5 CO<sub>2</sub>, %95 nem oranına ayarlanmış 37°C'lik etüve konur. Kullanılan vasatlar arasında Ham's F 10, RPMI, MEM, Chang sayılabilir. Bunlardan Chang besiyeri pseudomozaisizme yol açmakla birlikte (13) yine de fetal hücrelerin hızla üremelerini sağladığı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Flasklar etüve konduktan sonra ilk 4-5 gün hücrelerin yapışması için beklenir, bu dönemde flask hareket ettirilmemelidir.

Hücreler yapıştıktan sonra hergün hücrelerin üremeleri ters bakışlı (inverted) mikroskopta takip edilir. Yaklaşık 2-3 haftalık kültür süresinde hücrelerin duruma göre 2-3 kez vasat değiştirilir.

Hücreler yeterli sayıya ve büyüklüğe ulaştığında kültür sonlandırılarak flask içeriği tübe nakledilir ve standart kromozom elde etme yöntemi ile kromozom elde edilir. Bantlanarak sitogenetik inceleme yapılır (3,4,8). Her olguda en az 12-20 metafaz incelenmelidir.

**KÜLTÜR SÜRESİ:** Ailenin endişe ile bekleme süresinin minimuma indirilmesi perinatologların hedeflerinden biridir. Geleneksel amniyosentezde bildirilen kültür süreleri 7.7 ile 10.6 gün (18,19) arasında değişmekte iken, erken amniyosentezde 5-30 gün olarak bildirilmiştir (Tablo 1) (9,18-21). Bu noktadan bakıldığında iki analiz arasında kültür süreleri açısından fark görülmektedir. Farklılık, muhtemelen değişik araştırmacılar ve yöntemlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır.

**ANALİZ BAŞARISI:** Erken amniyosentezde, alınan amniyon sıvısındaki hücrelerin ürememesi %0.32-3.7 (5,9,20,23) arasında bildirilmiştir. Dolayısıyla başarı oranı %96.3-99.68 arasında değişmektedir. İşlem ikinci kez tekrarlandığında başarı oranı yükselmektedir (23). Kültürün başarılı olmamasındaki en önemli faktörlerden biri sıvının bol sayıda trofoblast içermesi (12), fetal hücre sayısının ve aktivitesinin az olmasıdır. Aktif hücre sayısının artırılması amacıyla filtrasyon tekniği geliştirilmiştir (10).

15-20.haftalarda yapılan geleneksel amniyosentez işleminin başarısı %99.5-100 (7,24) arasında değişmektedir. Ayrıca fetusun uterus içerisinde ölü olduğunun tesbit edildiği durumlarda doğduktan sonra alınan fetal dokunun üreme şansının az olduğu vakalarda doğum yapılmadan önce amniyosentez yapılarak fetüse ait karyotip elde edilebilir, zira sıvıdaki hücreler etkilenmemiştir (25).

**FETAL KAYIP:** Tablo 2'de sunulduğu üzere erken amniyosenteze bağlı fetal kayıp oranı %0-4.7 arasında bildirilmektedir (5,9,20-23,26). Burada anne yaşı ve işlemin uygulandığı gebelik haftası da önemlidir. Nitekim 13.gebelik haftasından önceki fetal kayıp oranı

Tablo 1. Erken amniyosentezde kültür süresi

Araştırmacı	Yılı	Süre (gün)
Stripparo et al.	1990	8-17
Benacerof BR et al.	1988	23-26
Frederich WH et al.	1987	7-10
Kerber S et al.	1993	8.4
Rebello MT et al.	1991	12.2
Nevin et al.	1990	10
Elejalde et al.	1990	13.7
Hanson et al.	1987	7-10
Henry et al.	1985	5-8
Hackett GA et al.	1991	8-30

Tablo 2. Erken amniyosentezde gözlenen fetal kayıp oranları

Araştırmacı	Yılı	Vaka Sayısı	Kayıp	%
Stripparo et al.	1990	505	16	3.1
Benacerrof BR et al.	1988	100	1	1
Frederich WH et al.	1987	541	—	4.7
Nevin et al.	1990	222	—	1.4
Elejalde et al.	1990	615	—	0.97
Hackett GA et al.	1991	105	2	1.8

%14.8 iken, 13.-14.gelibek haftasındaki oran %2.1 olarak bildirilmekte olup aradaki fark anlamlıdır (27). Aslında fetal kayıpların ne kadarının işleme bağılı olduğunun saptanması da oldukça zordur. CVS'teki oran %0.5-10 (7,9,26,28,29) geleneksel (25-20.hafta) amniyosentezde ise %0.5-7 (13,29-32) arasında bildirilmektedir.

**MOZAİSİZM:** Erken amniyosentez uygulanan vakalarda %0.19 ile 1.75 (9,18,19,26) oranında pseudo-mozaiik olguya rastlanmıştır. Geleneksel amniyosentezde görülen mozaikizm ise %0.2 (5) olarak bildirilmektedir.

Koryon villus biyopsisi sonuçları değerlendirilirken mozaik bulgunun gerçek mozaik mi yoksa plasenta ile sınırlı mozaikizm mi (confined placental mozaikizm) olduğu iyi ayırd edilmelidir. Zira CVS'te sık rastlanan plasenta ile sınırlı mozaikizm'de fetus normal kromozom yapısına sahip iken, ekstraembryonel dokularda meydana gelen kromozom anomalileri mozaik yapı oluşturmakta ve yanlışlıca olabilmektedir.

CVS'teki plasenta ile sınırlı mozaikizm oranı % 1.16 (9) civarında bildirilmektedir. Bu durumda mozaikizm açısından en güvenilir yöntem geleneksel amniyosentez gibi görünmektedir.

Sonuç olarak diyebiliriz ki prekonsepsiyonel ve erken embryo tedavisinin söz konusu olduğu (33) günümüzde prenatal tanı yöntemleri her geçen gün daha önem kazanmakta ve efektif hale gelmektedir. Önemli olan nokta hastanın özellikleri, gebelik haftası, laboratuvarın teknik şartları ve ekibin deneyim derecesi gözönünde tutularak uygun prenatal tanı yönteminin seçilmesidir. Geleneksel amniyosenteze alternatif olarak geliştirilen ve daha erken dönemde uygulanabilme olanağı olan CVS (koryon villus biyopsisi)'nin yanısıra erken amniyosentez de kullanılabilir bir yöntem gibi görünmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Benacerrof BR, Frigoletto FD. Amniocentesis under continuous ultrasound guidance: A series of 232 cases. *Obstet&Gynecol* 1983; 62:760-3.
2. Krawczun MS, Jenkins EC, Masia A, Kunapom S, Stark SL, Duncan CJ, Sklover SL, Rudell RD. Chromosomal abnormalities in amniotic fluid cell cultures: A comparison of &pp&vent pseudomos&iasm u\ Chang and media. *Clin Genet* 1989; 35:139-45.

3. Yüksel-Apak M, Başaran S, Aydın K, Ermiş H. Kromozom anomalilerinin prenatal tanısında ilk deneyimlerimiz. Eskişehir: Birinci Ulusal Prenatal Teşhis ve Anadolu'nun Genetik Yapısı Sempozyumu Tebliğ Özetleri, 1989:98-9.
4. Nelson MM, Emery AEH. Amniotic fluid cells: Prenatal sex prediction and culture. *Br Med J* 1970; 1:523-6.
5. Rebello MT, Hackett G, Smith J, Loeffler FE, Robsons S, Maclachlan N, Beard RW, Rodeck CH, Williamson R, Coleman DV, Williams C. Extraction of DNA from amniotic fluid cells for the early prenatal diagnosis of genetic disease. *Prenat Diagn* 1991; 11:41-6.
6. Golbus MS, Loughman WD, Epstein CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hall BD. Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocenteses. *The N Eng J Med* 1979; 300:157-63.
7. Evans M. Reproductive risks and prenatal diagnosis. USA: Appleton&Lange, 1992:175-90.
8. Wilson MG, Lin MS, Fujimoto A, Herbert W, Kaplan FM. Chromosome mosaicism in 6000 amniocentesis. *Am J Med Genet* 1989; 32:506-13.
9. Stripparo L, Buscaglia M, Longatti L, Ghisoni L, Dambrosio F, Gueneri S, Rosella F; Litanla M, Cordones M, Biaslo PD, Passamonti V, Gimelli G, Cuoco C. Genetic amniocentesis: 505 cases performed before the sixteenth week of gestation. *Prenatal Diagn* 1990; 10:359-64.
10. Kennerknecht I, Kramer S, Gcab D, Terinde R. Evaluation of amniotic fluid cell filtration. An experimental approach to early amniocentesis. *Prenat Diagn* 1993; 13:247-55.
11. Scheel DL, Drugan A, Brindley BA, Zador IE, Johnson MP, Schwartz DB, Evans MI. Combined ultrasonography and amniocentesis for pregnant women with elevated serum a-fetoprotein. *The J of Rep Med* 1990; 35:543-6.
12. Lilford R. Prenatal diagnosis and prognosis. Great Britain, Courier trt Ltd, 1990:210.
13. Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA. Prenatal diagnosis and screening. Hong Kong: Longman GRoup UK Ltd, 1992:21.
14. Golbus S. Genetics in Obstetrics&Gynecology. Mexico: Saunders Company, 1992:202-4.
15. Hogge WA, Thiagarajah S, Ferguson II JE, Schanatterly PT, Harbert GM. The role of ultrasonography and amniocentesis in the evaluation of pregnancies at risk for neural tube defects. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161:520-4.
16. Still R, Regt RH, Suntag S, Baumgarten A, Hobbins JC, Mahoney Maurice J. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein concentration and fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol* 1990; 75:994-7.
17. Calhoun B, Brehm W, Bombard AT. Early genetic amniocentesis and its relationship to respiratory difficulties in paediatric patients: A report of findings in patients and matched controls 3-5 ye.ais post procedure. *Prenat Diagn* 1994; 14:209-12.

18. Kerber S, Held KR. Early genetic amniocentesis-4 years' experience. *Prenat Diagn* 1993; 13:21-7.
19. Rebello MT, Gray CTH, Rooney DF, Smith JH, Hackett GA, Loeffler FE, Horwell DH, Beard RW, Coleman DV. Cytogenetic studies of amniotic fluid taken before the 15 week of pregnancy for earlier prenatal diagnosis: A report of 114 consecutive cases. *Prenat Diagn* 1991; 11:35-40.
20. Benacerraf BR, Greene MF, Saltzman DH, Barss VA, Pensa CA, Nadel AS, Heffner U, Stryker JM, Sandstrom MM, Frigaletto FD. Early amniocentesis for prenatal cytogenetic evaluation. *Rad* 1988:709-10.
21. Hanson WF, Zorn EM, Tennant FR, Marianos S, Samuels S. Amniocentesis before 15 weeks gestation: Outcome, risks, and technical problems. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156:1524-31.
22. Nevin J, Nevin NC, Doman JC, Sim D, Armstrong MJ. Early amniocentesis: Experience of 222 consecutive patients, 1987-1988. *Prenat Diagn* 1990; 10:79-83.
23. Elejalde BR, Elejale MM, Acuna JM, Theten D, Trujilla C, Karmann M. Prospective study of amniocentesis performed between weeks 9 and 16 of gestation: Its feasibility, risks complications and use in early genetic prenatal diagnosis. *Am J Med Genet* 1980; 35:188-96.
24. Ferguson II JE, Vick DJ, Hogge JS, Hogge WA. Transcervical chorionic villus sampling and amniocentesis: A comparison of reliability, culture findings, and fetal outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:926-31.
25. Saol HM, Rodis J, Weinbaum PJ, Dimaggio R, Teresa ML. Cytogenetic evaluation of fetal death: The role of amniocentesis. *Obstet Gynecol* 1987; 70:601 -3.
26. Hackett GA, Smith JH, Rebello MT, Gray CTH, Rooney DE, Beard RW, Loeffler FE, Coleman DV. Early amniocentesis at 11-14 weeks' gestation for the diagnosis of fetal chromosomal abnormality-A clinical evaluation. *Prenat Diagn* 1991; 11:311-5.
27. Aydınli K. In: Aydınli K, ed. *Prenatal Tanı ve Tedavi*, İstanbul: Prestij Matbaası, 1992:52-7.
28. Kullev AM, Modeli B, Jackson L, Simpson L, Brambati B, Roads G, Froster U, Verlinsky Y, Smidt-Jensen S, Holzgreve W, Ginsberg N, Ammala P, Dumez Y. Risk evaluation of CVS. *Prenat Diagn* 1993; 13:197-209.
29. Canadian collaborative CVS-Amniocentesis Clinical Trial Group: Multicentre randomised clinical trial of chorion villus sampling and amniocentesis. *The Lan* 1989; 7:1-6.
30. Hook EB, Topol BB, Cross PK. The natural history of cytogenetically abnormal fetuses detected at midtrimester amniocentesis which are not terminated electively: New data and estimates of the excess and relative risk of late fetal death associated with 47, +21 and some other abnormal karyotypes. *Am J Hum Genet* 1989; 45:855-61.
31. Tabor A, Modsen M, Obel EB, Philip J, Bang J, Pedersen BN. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *The lan* 1986; 7:1287-93.
32. Palo P, Piironen O, Honkonen E, Lakkale T, Aula P. Transabdominal chorionic villus sampling and amniocentesis for prenatal diagnosis; 5 years experience at a University centre. *Prenat Diagn* 1994; 14:157-62.
33. Schulman JD. Treatment of the embryo and the fetus in the first trimester: Current status and future prospects. *Am J Med Genet* 1990; 35:197-200.
34. Marteau TM, Kidd J, Cook R, Michle S, Johnston M, Slack J, Shaw RW. Perceived risk not actual risk predicts uptake of amniocentesis. *Br J Obstet Gynecol* 1991; 98:282-6.