

Gebelik Testleri

HÜSNÜ A. KİŞNİŞÇİ*

ALİ AYHAN **

TURANERGİNBAŞ ***

Anne serum veya idrarında insan koryonik gonadotropininin (HCG) varlığını ortaya koyan testlerdir¹. Bu alandaki ilk çalışmalar 1928'de Ascheim ve Zondek tarafından biyolojik olarak başlatılmış, 1961'de daha ekonomik ve kullanışlı olan immüno- lojik testler uygulamaya konmuş, 1966'larda da oldukça hassas ve özel eğitilmiş teknisyene gereksinim duyulan radyoimmünassay (RIA) yöntemleri geliştirilmiştir². Vaitukaitis ve arkadaşları 1972'de beta subünitin izolasyonunu sağlayarak luteinize edici hormon ile (LH) olan kros reaksiyonunu önleyerek bu sahada oldukça spesifik testi geliştirmişlerdir³. Son zamanlarda radyoreseptör analizleri ile bu sahada yeni bir adım daha atılmış oldu.

Bu testlerden sadece gebelik tanısında değil, aynı zamanda HCG ifraz eden tümörlerin tanı, tedaviye cevap ve takiplerinde de geniş çapta yararlanılmaktadır⁴.

İnsan koryonik gonadotropin (HCG), trofoblastik (özellikle sinsiyotrofoblast) hücrelerden salınan bir glikoproteindir. Ultrasükrüktürel ve immüno- floresan çalışmalara göre yapısal ve immüno- lojik açıdan luteinize edici hormon ile ortak yanları vardır. Luteinize edici hormondaki mannoz yerine galaktoz içermektedir. Alfa ve beta olmak üzere iki glikoprotein zinciri içerir. Beta subünitesini LH'dan ayrıcalığını ortaya koyup, sadece HCG'nin özelliğini yansıtmaktadır. Molekül ağırlığı ortalama 30.000 olup, yarılanma ömrü 1,5 gündür⁵. Gebeliğin erken devresinde, örneğin 10. günde tek bir trofoblastik hücre günde 1.4×10^{12} internasyonel ünite HCG salgılamasına karşın, bu rakam koryokarsinomda bir hücre için 5×10^{15} İÜ'dür⁶. özellikle saat 9 ve 12'de pik yapar⁷. Günlük salımlımda bu şekilde bir dalgalanma gösterir. Siklus ortası pitiiter gonadotropin pikinden 9, ovülasyondan 8 ve implantasyondan da 1 gün sonra HCG saptanabilmektedir. Gebeliğin 8-12. haftalarında (60-70. gün) HCG, 50.000 mİÜ/ml'ye kadar pik yapmakta, 100 ve 130. günler tekrar düşük seviyeye dönmekte, ancak 31.haftadan itibaren hafif

bir yükselme eğilimi göstermektedir⁸ ve terminasyonu takiben 10-14. gün testler negatif olmaktadır.

İster idrar, isterse serumla olsun bugün uygulanan testler kalitatif, yarı kalitatif (belli düzeylerde numune sulandırılarak) ve kantitatif olarak yapılmaktadır. Uygulanan testler arasında tarihi gelişimine göre, biyolojik, immüno- lojik, radyoimmünassay ve radyoreseptör assay sayılabilmektedir. Biyolojik testler geç reaksiyon vermeleri, ekonomik olmayışları, bir teste bir hayvan kurban etme gibi mahsur- ları nedeni ile pratikliğini kaybetmişlerdir. Ancak kurbağa testleri halen ülkemizde kullanılmaktadır. Biyolojik testlerin tüm özellikleri tablo l'de özet olarak sunulmuştur.

En sık kullanılan immüno- lojik testler arasında aglutinasyon inhibisyon (AI) ve direkt aglutinasyon (DA) sayılmaktadır. Aglutinasyon inhibisyonunda iki ayıraca (reagents) gereksinim vardır. İlki anti-HCG, ikincisi de HCG ile yüklü eritrosit veya lateks partikülleridir. Testin yapılışında ilk aşamada anti-HCG muayene olacak numune ile (gebe kadın idrar veya serumu) karıştırılır. Eğer numunede HCG varsa, nötralize anti — HCG oluşur. İkinci basamakta nötralize anti-HCG ile HCG yüklü eritrositler karıştırılır. Sonuçta aglutinasyon olmazsa test pozitif olarak yorumlanır. Eğer test edilen numunede HCG yoksa birinci basamakta serbest anti-HCG ortaya çıkar ve ikinci basamakta aglutinasyon olur. Bu halde test negatif olarak değerlendirilir.

Direkt aglutinasyon; anti-HCG ile yüklü partiküllerle (lateks) HCG arasındaki klasik aglutinasyon reaksiyonudur. Testin yapımında, anti-HCG ile yüklü partiküller, hasta idrar veya serumu ile karşılaştırılır. Numunede HCG varsa, aglutinasyon olur ve test pozitif olarak yorumlanır. İmmüno- lojik testler ekonomik, kısa sürede sonuca götüren, hemen hemen her yerde kullanılabilen testlerdir. Buna karşın, uygulamada sırasıyla % 0.04-4 arasında yalancı pozitif ve % 0-10 arasında da yalancı negatif sonuç vere-

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilim Dalı Öğretim Üyesi.

** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilim Dalı Öğretim üyesi

*** Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilim Dalı Araştırma Görevlisi

Tablo 1

Biolojik Testler

TEST İSMİ	KULLANILAN DENEY HAYVANI	KULLANILAN NUMUNE	BEKLEME SÜRESİ	POZİTİF TEST.	METOD DUYARLILIĞI
ASCHHEIM-ZONDEK, 1928, (Mouse Hyperemia -test)	İmmature Dişi fare	İdrar, 2 gün-de altı eşit dozda(total 2,4 ml) injecte edilir.	İlk injectiondan 4 gün sonra hayvan öldürülür.	Büyük, hiperemik ve kanama noktası içeren över.	1 — 6 IU/ml
FRIEDMAN, 1931 (Rabbit test)	Dişi olgun tavşan.	10 ml idrar kulak venine	İnjectiondan 48 saat sonra öldürülür.	Hemorajik Corpora lutea veya Uterin ağırlık artışı	10- 15 IU/ml
FRANK—BERMAN, 1941 (Rat ovarian Hyperemia)	İmmatur dişi sıçan	4 saat ara ile 5 ml idrar Subkutan injecte edilir	16-24 saat sonra öldürülür.	Kırmızı büyük kanama noktaları gösteren över	1-6 IU/ml
GALLİ—MAİNİNİ, 1947.(Male Frog- -OR Toad Test)	Rana pipiens veya Bufo americanus.	Her 10 gr için i ml. Serum ve idrar, dorsal lenf kesesine injecte edilir.	İnjectiondan 2 saat sonra Kloakal mayi muayene edilir.	Kloakal mavide Sperm varlığı.	20 - 80 IU/ml (Rana pipiens) 12-45IU/ml (Bufo americanus)

IU. İnternasyonal ünite.

ASCHHEIM—ZONDEK ve FRIEDMAN Testleri bugün kullanılmamaktadır. Ülkemizde halen GALLİ—MAİNİNİ Testi kullanılmaktadır. Ancak kullanılan idrarın pH'sı 6 olmalı ve her test için en az iki hayvan kullanılmalıdır. İdrardaki olabilecek bazı toksik maddelerin eliminasyonu için kaolin presipitasyonu önerilmektedir

Biolojik testlerin beklenen adetten iki hafta sonra güvenilirlik derecesi % 95—98 arasında değişmektedir.

bilmektedir^{8, 9, 10}. Mevcut immünolojik testlerin özellikleri tablo 2'de özet olarak verildi.

Gelişmiş testlerden hiç şüphesiz en duyarlı olanları radyoimmünassay ve radyoreseptör yöntemleri ile HCG'nin varlığını ortaya koymaktır. Bu yöntemlerden özellikle beta-HCG subünite, LH ile olan kros reaksiyonu da ortadan kaldırmaktadır. Bu testler gebelik varlığını ortaya koymaktan ziyade HCG ifraz eden tümörlerin tanı ve takiplerinde kullanılmaktadır. En çok kullanılan yöntemler çift antibody (double antibody)^{8, 12} ve dextran yüklü karbon absorpsiyon^{4, 8} teknikleridir (dextran coated absorption). Çift antibody tekniğinde test materyali (serum) ile iyot¹²⁵ veya iyot¹³¹ ile işaretli HCG karışımı 37° C'de iki saat süre ile tavşan anti-HCG'si ile inkübe edilir. Sonra 4 °C'de 15-17 saat beklenir. Karışıma koyunlarda tavşana karşı elde edilen gamma-globulin ilave edilir. Ve bu karışım 4 °C'de 6 saat bekletilir. Daha sonra santrifüj edilerek hem çözeltide, hem de çökeltide radyoaktivite hesaplanır, önceden HCG konsantrasyonları bilinen standartlarla karşılaştırılarak sonuçlar değerlendirilir. İkinci metotta ise (dextran-coated charcoal absorption) tavşan anti-HCG ile içeriği bilinmeyen örnek karıştırılır ve 37° C'de 14-18 saat inkübe edilir. Daha sonra dextran yüklü kömür süspansiyonu ilave edilip santrifüj edilir ve çözeltideki radyoaktivite hesaplanıp çift anti-

body tekniğinde olduğu gibi standartlarla karşılaştırılıp sonuçlar değerlendirilir. Bu yöntem ile implantasyondan 1 gün sonra gebelik tanısı konulabildiği gibi, güvenilirliği % 99'a kadar çıkmaktadır. Ancak bu yöntem pahalı olup özel teknisyen ve aletlere ihtiyaç göstermektedir (özellikleri kısmen tablo 2'de verildi).

Klinikte bu testler;

a) İntrauterin gebeliğin tanısında, missed ve inkomplet abortus ayırıcı tanısında, gebeliğin terminasyonunu takiben HCG ifraz eden bir tümörün gelişip - gelişmediğinin saptanmasında kullanılmaktadır, özellikle terminasyondan 1 hafta sonra test pozitif olursa ikinci hafta test mutlaka tekrarlanmalıdır.

b) Dış gebelik tanısında hem biyolojik hem de immünolojik testlerin % 15-55 arasında yalancı negatif sonuç verdiği bildirilmiştir¹¹. Bu rakamların yüksekliğinden aktif trofoblastik hücrelerin sayısı ve testin duyarlılığının rolü büyüktür. HCG beta-subünite ile dış gebelikte düşük miktarlar saptanarak tanıya gitmek mümkün olabilmektedir.

c) Gestasyonel trofoblastik hastalıkların tanı, tedaviye cevap ve takiplerinde özellikle HCG beta subünitten istifade edilmektedir.

d) Diğer HCG ifraz eden tümörlerin, över ve testis koryokarsinomlarının takiplerinde de bu testlerden yararlanılmaktadır.

Tablo 2

Radioimmünoassay Ve İmmünolojik Gebelik Testleri

TESTİN İSMİ	FİRMA	KULLANILAN METOD	METODUN DUYARLILIĞI (mIU/ml)	REAKSİYON ZAMANI
Prognosis (Slide)	Roche	AI	1500-2500	2 Dakika
Sensi-Tex (Tube)	Roche	AI	250	1 - 1/2 Saat.
Gest State (Slide)	Fisher	AI	2000-4000	2 Dakika.
IISG Test	Hyland	AI	2000-8000	2 Dakika.
Pregnosticon (Tube)	Organon	AI	750	2 Saat.
Pregnosticon (Slide)	Organon	AI	1000-2000	2 Dakika.
Pregnosticon (Dri—Dut)	Organon	AI	1000-2000	2 Dakika.
Grvindex	Ortho	AI	3500	2 Dakika.
DAP Urine	Wampole	DA	2000	2 Dakika.
DAP Serum	Wampole	DA	2000	2 Dakika.
UCG lube	Wampole	AI	1500	2 Saat.
UCG Slide	Wampole	AI	2000	2 Dakika.
HCG (B Subunit, Qualitative)	RSL, InL	RIA	40	2 Saat.
PREG/STAT B—HCG <	SERONO	RIA	15	1 Saat
B-HCG Quantitative	SERONO	RIA	3,12	3 Saat.
B-HCG Quantitative	SERONO	RIA	1,56	18 Saat.
BiOCEPT-G	Wampole	RRA	200	1 Saat.

RSL Radioassay System laboratories
 Aİ Aglutinasyon İnhibisyon
 DA Direkt Aglutinasyon
 RIA Radioimmünoassay
 RRA Radioreceptorassay

Aşağıdaki durumlarda gebelik testleri yalnızca pozitif sonuç verebilmektedir. Onun için test istenirken hastanın bu yönlerden değerlendirilmesi gerekmektedir².

1. Menapoz ve kastre kadınlarda (artan LH'ya bağlı)
2. Kombine oral kontraseptif alanlarda (östrojen - progesteron)
3. Proteinürisi ve immünolojik hastalığı olan-

larda

4. Hipertiroidisi olanlarda
5. Psikotropik ilaç alanlarda (fenotiazin türevleri, antidepresanlar, antiparkinson ilaçlar, antikonvülsan ve hipnotikler)

Oldukça erken gebeliklerde ve hassas olmayan testlerde ve viabl trofoblastik hücre azaldığı durumlarda yalnızca negatif sonuçlar elde edilebilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Jaffe RB.: Human chorionic gonadotropin, Obstetrics and Gynecology, Fourth edition, Edited by Danforth D., Harper Row Pub., Philadelphia, 1982, Chap 18 pp 342.
2. Okagaki T.: Pregnancy Tests, Sciarra Gynecology and Obstetrics, First Ed, Edited by SCIARRA JJ and GERBLE AB, Harper Row Pub, Hagerstown, Maryland, 1978, 2: Chap 8, pp 1-9.
3. Vaiukaitis JL, Ross GT.: Immunologic and biologic behavior of HCG and bovin LH, Subunit hybrids, Endocrinology 92: 411-16, 1973.
4. Haynes DM.: Diagnosis of Pregnancy, Obstet. Gynecology, Fourth ed, Edited by Danfort DN, Harper Row Pub., Philadelphia, 1982 chap 19: 353.
5. Radioimmünassay of human chorionic gonadotropin serum profile, circadian excretion and clearance values in pregnancy, Am J Obstet Gynecol 109: 985, 1971.
6. Varma K., Larraga L., Selenkow HA.: Radioimmünassay of serum human chorionic gonadotropin during normal pregnancy, Obstet Gynecol 37: 10, 1971.
7. Goldstein DP., Aono T., Taymor MI, Jochelson K., Todd R, Hines E.: Radioimmünassay of serum chorionic gonadotropin activity in normal pregnancy, Am J Obstet Gynecol 102: 110, 1968.
8. Driscoll SG, Straus WF., Alba M.Etal: Evaluation of a new slide test for pregnancy, Am J Obstet Gynecol., 110:1038,1971.
9. Kerber IJ, Inclan AP, Fowler EA et al: Immunologic tests for pregnancy: A comparison, Obstet. Gynecol 36:37, 1970.

Santomauro AG, Sciarra JJ: Comperatvie evaluation of a hemaglutmatation inhibition and latex agglutination test for HCG, Obset Gynecol, 29: 520, 1967.
Halpin TF, : Ectopic pregnancy : The problem of diagnosis, Am J Obset Gynecol 111: 808, L971.

12. Vaitukaitis JL, Braunstein GD, Ross GT.: A radioimmunassay which spesifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinising hormone, Am J Obstet Gynecol 113: 251, 1972.