

Karyotip Analizi Amacıyla Genetik Amniyosentez Uygulanan 356 Olgunun Retrospektif Analizi

Hüseyin Yüce¹, Hüsnü Çelik², Bilgin Gürateş², Deniz Erol¹, Fethi Hanay², Halit Elyas¹

¹Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Elazığ

²Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Elazığ

Özet

Amaç: Kliniğimizde amniyosentez uygulanan olguların endikasyonlarını, karyotip sonuçlarını ve işleme bağlı fetomaternal komplikasyonları incelemektir.

Yöntem: Ocak 2001 ve Haziran 2005 tarihleri arasında kliniğimizde çeşitli endikasyonlar ile amniyosentez uygulanan 356 olgunun karyotip sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Bu kapsamda olgular amniyosentez için endikasyon, komplikasyon, hücre kültürü başarıları ve genetik sonuçlar yönünden değerlendirildi. Ultrasonografi takiben 16-18. gebelik haftasında 20-22 G iğne kullanılarak serbest el tekniği ile amniyosentez işlemi uygulandı ve her işlemde gebelik haftası başına 1ml amnion sıvısı alındı.

Bulgular: En sık endikasyon ileri anne yaşı olarak tespit edildi (%45). Olgularımızdan 6'sı dışında 350 sinde kültürde hücre üretildi (%98). Karyotip analizleri yapılan 350 olgunun 12'sinde (%3.3) çeşitli kromozom anomalileri saptandı. Bunlardan 6 olguda Trizomi 21 (%1.7) birer olguda Trizomi 13 (%0.2) ve Trizomi 18 (%0.2) tespit edildi. Tespit edilen diğer anomaliler normal varyant (%1.1) olarak yorumlandı. İleri anne yaşı (35) nedeniyle amniyosentez uygulanan olguların %1.2'sinde (2/158), üçlü testte yüksek risk (1/270) nedeniyle amniyosentez yapılan olguların %3.7 sinde (5/134) kromozom anomalisi tespit edildi. Ultrasonografide (USG) anormali saptanan olguların %4'ünde (1/25) kromozom anomalisi saptandı.

Sonuç: Amniyosentez yüksek tanı ve düşük fetal kayıp oranları ile prenatal tanıda halen en sık kullanılan yöntemlerdendir. Amniyosentezin anne ve fetus için komplikasyon riski düşük olup, ileri yaş gebeliklerinde, üçlü tarama testinde yüksek risk tespit edilmesi durumunda prenatal tanı amaçlı amniyosentez yapılmalıdır.

Anahtar Sözcükler: Amniyosentez, endikasyon, komplikasyon, kromozom anomalileri.

Retrospective analysis of 356 amniocentesis results performed for karyotype analysis

Objective: The aim of this study is to evaluate the indications, karyotype results and maternal fetal complication of amniocentesis performed in our clinic.

Methods: We retrospectively analyzed the results of 356 amniocentesis cases performed in our clinic between January 2001 and June 2005 for different indications. The cases are evaluated in respect to amniocentesis indication, complications, cell culture success and genetic results. After performance of ultrasound, amniocentesis was done by free hand technique, 20-22 G needle was used and 1ml of amniotic fluid was taken for every week of pregnancy.

Results: The most frequent indication for genetic amniocentesis was found as advanced maternal age (%45). The cell cultures were successful in 350 of cases and there were only 6 cases in which cell culture was unsuccessful. Abnormal karyotypes were detected in 12 of 350 (%3.3). Abnormal karyotypes were; one Trisomy 13 (%0.2), one Trisomy 18 (%0.2) and 6 trisomy 21 (%1.7). Other chromosomal abnormalities were thought to be normal variants (%1.1). In amniocentesis done for advanced maternal age (35) and high risk in triple test chromosomal abnormality was found %1.2 (2/158) and %3.7 (5/134) respectively. In amniocentesis done for abnormalities diagnosed by ultrasound chromosomal abnormality was reported as %4 (1/25).

Conclusion: Amniocentesis is still a widely used technique in prenatal diagnosis due to low fetal loss rate and high diagnostic ability. Complication risk of amniocentesis is low for both mother and fetus should be done in advanced maternal age and in high risk in triple test as a prenatal diagnostic test.

Keywords: Amniocentesis, indication, complication, chromosomal analysis.

Giriş

Prenatal tanıda kullanılan girişimsel işlemler sayesinde, günümüzde fetal karyotip hakkında bilgi sahibi olabilmek mümkündür. Amniyosentez, bilinen en eski prenatal tanı yöntemi olup ilk kez 1956 yılında Fucs ve Riis tarafından amniyosentezle elde edilen fetal hücrelerde "Barr" cisminin varlığı ile fetal sex tayini yapılmıştır.¹ Steel ve Breg ise 1966 yılında amniyotik sıvıda fetal karyotip tayininin mümkün olabileceğini göstermişlerdir.²

Genetik amaçlı amniyosentez önceleri transvajinal yoldan, takip eden 1960'lı yıllarda ise transabdominal olarak körlemesine yapılmıştır. 1980'li yılların başında statik ultrasonografi yardımıyla plasenta olmayan bölgelerden yapılmıştır.³ Son 30 yılda genetik amniyosentez için en sık endikasyon, ileri yaş gebeliği olmuştur. Ülkemizde bu alanda bir çok çalışma yapılmış ve merkezler deneyimlerini aktarmışlardır. Cengizoglu ve ark.'ları tarafından yapılan bir çalışmada, 109 amniyosentezin 46'sının ileri maternal yaş, 19'unun ise üçlü testte risk artışı nedeniyle yapıldığı bildirilmiştir.⁴

Genetik tanı amaçlı amniyosentez genel olarak 15. haftadan sonra, 16-20. gebelik haftaları arasında uygulanır. Deneyimli ellerde güvenilir bir tanı yöntemi olmasına rağmen belirli oranda fetal kayıp ve fetal-maternal komplikasyon riskleri taşır. Ager ve Oliver tarafından yapılan çok merkezli bir çalışmada total fetal kayıp, spontan abortus ve intrauterin ölüm oranları %2.4'den %5.2'ye kadar bir değişim içinde bildirilmiştir.⁵ Tabor ve ark.'nın 1986 yılında yayınladıkları randomize kontrollü çalışmada amniyosentez grubunda fetal kayıp riskinin kontrol grubuna göre %1 oranında artmış olduğu belirlenmiştir.⁶ Son yıllarda tarama testlerinin çok yaygın bir biçimde kullanılması ve kromozom anomalilerinin tanısı için ultrasonografi ile değerlendirmenin yaygınlaşması amniyosentez sayısının artmasına neden olmuştur.

Bu çalışmada kliniğimizde yaklaşık son beş yılda farklı endikasyonlarla yapılan genetik amniyosentez uygulamalarının endikasyon dağılımı, komplikasyonları ve fetal karyotip sonuçları geriye dönük incelenmiştir.

Yöntem

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı (AD) polikliniğine başvuran gebeler arasından 35 yaş ve üstü, üçlü testte yüksek risk ($\geq 1/270$), ultrasonografide (USG) anomali ve anuploidi markeri

saptanması nedeniyle amniyosentez uygulanan ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD'da karyotip değerlendirilmesi yapılan 356 olgunun sonuçları retrospektif olarak incelendi. Bu kapsamda olgular amniyosentez için endikasyon, komplikasyon, hücre kültürü başarısı ve genetik sonuçlar yönünden değerlendirildi.

Girişim öncesi uygulamayı kabul eden çiftlerden yazılı onay formu alınmıştır. Bütün gebeler girişim öncesi Hepatit taşıyıcılığı ve Rh uygunsuzluğu açısından değerlendirildi. Amniyosentez işleminde Hitachi EUB 520 model ultrasonografi cihazı ve 3.5 MHz transabdominal prob kullanıldı. İşlem öncesi tüm fetuslar ultrasonografi ile ayrıntılı olarak değerlendirildi ve plasenta lokalizasyonu tespit edildi. Ultrasonografiyi takiben 16-18. gebelik haftasında 20-22 G iğne kullanılarak mümkün olan olgularda plasentaya uzak lokalizasyondan, uygun olmayanlarda transplasental geçilerek amniyosentez işlemi uygulandı ve her işlemde gebelik haftası başına 1ml amnion sıvısı alındı.

Amniyon sıvısında sitogenetik inceleme için alınan materyal, Genetik hastalıkları AD genetik laboratuvarına gönderildi. Hücre kültüründe Hoehn ve ark.'nın⁷ uyguladığı protokol uygulandı. Materyaller 15-20 günlük hücre kültürünü takiben 20 meta-faz görüntü analiz sistemi kullanılarak incelendi. Karyotip sonuçları tespit edilen 350 olgu değerlendirilmeye alındı. Kromozomal anomali saptanan olguların geriye dönük aile anamnezleri araştırıldı. İstatistiksel yöntem olarak tanımlayıcı istatistik kullanıldı.

Bulgular

Karyotip analizi yapılan olguların ortalama gebelik haftası 18.33 ± 1.43 ve yaşları 34.96 ± 6.7 olarak tespit edildi. Girişimsel işlem uygulanan 356 olgunun 6'sında (%1.6) karyotip sonuçları eski kanama ve kontaminasyona bağlı olarak alınamadı. Amniyosentez uygulanan 6 olguda işlemden sonra 24-48 süren amniyotik sıvı sızıntısı tespit edildi. Amniyosentez endikasyonları sırasıyla ileri anne yaşı (%45), üçlü testte yüksek risk (%38), Ultrasonografide anomali ve marker (%7.1), anomalili doğum öyküsü (%0.5) olarak tespit edildi.

Üretilen hücrelerde yapılan karyotip analizleri sonucunda 350 olgunun 12'sinde (%3.4) kromozom anomalisi saptandı. Bu olgulardan 6'sında Trizomi 21 (%1.7), bir olguda Trizomi 13 (%0.2) ve bir olguda Trizomi 18 (%0.2) saptandı. Kalan dört olguda normal varyant olarak yorumlanan anomali-

ler tespit edildi (%1.1) (Tablo 1). İleri anne yaşı (≥ 35) nedeniyle amniyosentez uygulanan 158 olgunun ikisinde (%1.2) kromozom anomalisi saptandı ve bunların her ikisinde trizomi 21 olarak yorumlandı. Üçlü testte yüksek risk ($\geq 1/270$) nedeniyle amniyosentez yapılan 134 olgunun 5'inde (%3.7) kromozom anomalisi tespit edildi. Bunlardan ikisi Trizomi 21, birer olguda Trizomi 13 ve Trizomi 18 saptandı. Trizomi 13 olarak saptanan olgunun ayrıntılı USG incelemesinde polidaktili ve izole ventrikülomegali tesbit edilmişti. Amniyosentez uygulanan 356 olgudan 11'inde üçlü testte yüksek riske ek olarak yaş riski de mevcuttu. Bu 11 olgunun hiçbirinde kromozom anomalisi izlenmedi.

Ultrasonografide anomali ya da marker nedeniyle amniyosentez uygulanan 25 olgunun sadece birinde kromozom anomalisi (trizomi 21) saptandı. Bu olgunun 16. haftada yapılan ultrasonografi değerlendirmesinde, polihidroamnios, fetal batında asit ve femur uzunluğunda kısalık mevcuttu. USG de anomali saptanan olgularda ki anomaliler multiple anomalilerdi. Markerler ise trizomilerde tespit edilen markerlerdi (kısa femur, kısa humerus, ense kalınlığı, kardiak, renal, gastrointestinal ve diğer anomalilerdi). Kromozomal anomali saptanan olguların yapılan sorgulamasında ailelerin öyküsünde tekrarlayan anomalilere rastlanmadı.

Tablo 1. Amniyosentez ile tespit edilen kromozomal anomalileri.

No	Endikasyon	Kromozom anomalisi
1	İleri anne yaşı	47, XX, +21 (Down Send.)
2	İleri anne yaşı	47, XX, +21 (Down Send.)
3	Üçlü tarama yüksek risk	47, XX, +13 (Patau Send)
4	Üçlü tarama yüksek risk	47, XX, +18 (Edward's send.)
5	Üçlü tarama yüksek risk	47, XX, +21, inv 9 (Down Send.)
6	Üçlü tarama yüksek risk	47, XY, +21 (Down Send.)
7	Üçlü tarama yüksek risk	47, XY, +21 (Down Send.)
8	Üçlü tarama yüksek risk	46,XY, Yqh + (Normal Varyant)
9	Üçlü tarama yüksek risk	46,XY, Yqh+ (Normal Varyant)
10	Üçlü tarama yüksek risk	46,XY, 22pst+ (Normal varyant)
11	Üçlü tarama yüksek risk	45,XY,t(14:21) Dengeli translokasyon

Tartışma

Olgularımızın geriye dönük incelemesinde, genetik amniyosentez sonucunda yapılan karyotip değerlendirmelerinde olguların %3.4 ünde kromozomal anomali tespit edildi. Patolojik olarak değerlendirilen kromozom anomalisi oranı ise %2.5 olarak tespit edildi. Gerek bu gerekse diğer oranlarımız literatürde bildirilen oranlara yakın ve uyum içeri-

sindedir. Çalışmada konu olan 5 yıllık süre öğrenme sürecimizde içine alan bir dönemdir.

Bilindiği gibi ileri anne yaşı, parental dengeli translokasyon, kromozom anomalili çocuk öyküsü ve ultrasonografide fetal anomali varlığı, üçlü testte yüksek risk gibi durumlar amniyosentez endikasyonlarıdır.⁸ Her ne kadar deneyimli ellerde güvenli bir prosedür olarak bilinse de merkezlere bağlı değişen oranlarda bildirilen komplikasyon oranları vardır.

Ülkemizden yapılan bir çalışmada Şener ve ark.'ı amniyosentez sonrası %0.1 oranında amniyotitis ve %1-2 arasında amniyotik sıvı sızıntısı olabileceğini bildirmişlerdir.⁹ Yine amniyosentez sonrası 48 saat içerisinde *E.coli* sepsisine bağlı maternal mortalite bildirilmiştir.¹⁰ Amniyosentezde anneye ait olası komplikasyonlar ise daha nadirdir. Bunlar; visseral organlarda perforasyon, amniyon sıvı embolisi ve Rh sensitizasyonudur.¹¹

Bizim serimizde komplikasyon olarak; sekiz olgumuzda işlem sonrası 24-48 saat süren amniyotik sıvı sızıntısı şikayeti tespit edilmiş olup, bu olgularda herhangi bir medikasyon uygulanmadan sadece yatak istirahati ile 36- 48 saat içerisinde amniyotik sıvı kaçağı durmuştur. Amniyotik sıvı sızıntısı sonrası hiçbir olguda oligohidroamnios ve asendan enfeksiyon gelişmemiştir. Olgularımızın hiç birinde uygulanan amniyosentez işlemi sonucunda ilk üç haftada fetal kayıp tespit edilmemiştir. Diğer fetal komplikasyonlar açısından vakaların tümünün takibi kliniğimizde yapılmadığı için herhangi bir oran vermemiz mümkün olmamıştır. Yine tarafımıza bildirilmiş herhangi bir maternal komplikasyon da olmamıştır.

Serimizde amniyondan fetal hücre üretme başarımlarımız %98 olarak tespit edildi. Bu oran Güven ve ark.'nın bildirdikleri %98 başarı oranı ile uyumlu bulunmuştur (12. Amniyosit hücre kültürlerinde üreme sağlanamayan 6 olguda nedenin, Yaayla ve ark.'nın bildirdiği gibi eski kanama ve kontaminasyona bağlı olabileceği düşünüldü.¹³

İleri anne yaşı gebeliklerinde kromozom anomalisi riski dramatik bir şekilde artmaktadır. Sadece ileri anne yaşı (≥ 35) nedeniyle amniyosentez uygulanan 158 olgunun ikisinde (%1.2) kromozom anomalisi saptandı. Bu oran, Taner ve ark.'nın 359 ileri yaş gebeliğinde amniyosentez sonuçlarını değerlendirdiği %5.8 lik kromozom anomalisi ile karşılaştırıldığında düşüktür.¹⁴ Bunun nedeni ileri yaş olarak amniyosentez yapılan olguların yaş aralığı olabilir.

Üçlü testte yüksek risk ($\geq 1/270$) nedeniyle 134 olguya amniyosentez uygulandı ve 5 (%3.7) olguda kromozom anomalisi tespit edildi. Tespit edilen kromozom anomalilerinden ikisi Trizomi 21 (%1.4), birer olguda Trizomi 13 (%0.7) ve Trizomi 18 (%0.7) idi. Kim ve ark.'nın 458 olgu üzerinde yaptığı çalışmada, 6 olguda Trizomi 21 (%1.3), iki olguda tizomi 18 (%0.4) ve bir olguda trizomi 13 (%0.2) tespit etmişlerdir (15) Tespit edilen bu oran sonuçlarımız ile uyumlu bulunmuştur.

Rizzo ve ark.'arı¹⁶ ultrasonografide anomali saptadıkları 273 fetusta %16.8, Dallaire ve ark.'ları¹⁷ fetal anomalilerde ise %27.1 oranında kromozom anomalisi olduğunu bulmuşlardır. Bizim serimizde ultrasonografide anomali nedeniyle amniyosentez uyguladığımız 25 olgunun sadece %4'ünde kromozom anomalisi saptandı. Bahsedilen bu tek olguda ultrasonografide polihidroamnios ve fetal batında asit tespit edilmiş ve yine bu olguda Üçlü testte risk 1/450 olarak belirtilmişti. Oran farklılığı serimizde fetal anomali sayısının kısıtlılığı ve ultrasonografide anomali markeri olarak 6 olguda oligohidroamnios, 7 olguda polihidroamnios gibi fetal anomalilerin izlenmediği fakat anuploidi markeri sayılan ultrasonografi anomalileriydi. Diğer fetal anomalilerden 4 tanesine nukal ödem nedeniyle, birine bilateral yarıklık nedeniyle, iki olguya renal anomali, iki olguya fetal kardiyak anomali, bir olguya kısa ekstremiteler nedeniyle, bir olguya hiperektojen barsak ansları nedeniyle amniyosentez uygulanmıştır. Geriye kalan bir olguda burun kökü basık izlenmiş ve ailenin isteğiyle amniyosentez uygulanmıştır.

Normal varyant olarak tespit edilen olgular dışında kromozom anomalisi tespit edilen tüm olgularda ailelerin isteğiyle gebelikleri sonlandırıldı. Normal varyant tespit edilen olguların ise gebelik sonuna kadar takipleri yapıldı ve herhangi bir perinatal komplikasyon ile karşılaşmadı.

Sonuç olarak; amniyosentezin anne ve fetus için komplikasyon riski düşük olup, ileri yaş gebeliklerinde, üçlü taramada yüksek risk mevcudiyetinde ve ultrasonografi ile anomali saptanan olgularda prenatal tanı amaçlı amniyosentez yapılmalıdır. En önemli dezavantajı ise diğer perinatal yöntemlere göre sonuçların daha geç alınmasıdır. Üçlü taramada düşük risk tespit edilen olgulara uygun haftalarda ayrıntılı ultrasonografik inceleme yapılmalıdır. Prenatal tanı verme başarıımız %98'dir. Bu çalışma ile elde ettiğimiz kromozom anomali oranı %3.3'tür.

Kaynaklar

1. Fuchs F, Rüs P. Antenatal sex determination. *Nature* 1956; 177: 330.
2. Steele MW, Breg WR Jr. Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. *Lancet* 1966; 383: 1210.
3. Uludağ S. Prenatal Tanı Amacıyla Yapılan Girişimlerde Komplikasyonlar ve Zamanlama. *Perinatoloji Dergisi* 1999; 7: 281-90.
4. Cengizoglu B, Karageyim Y, Kars B, Altundağ M, Turan C, Ünal O. Üç yıllık dönemdeki amniyosentez sonuçları. *Perinatoloji Dergisi* 2002; 1: 14-7.
5. Ager RP, Oliver RW. In the risks of mid-tremester amniocentesis, being a comparative, analytical review of the major clinical studies. Salford 197, 1986.
6. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Norgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. *Lancet* 1986; 1: 1287-93.
7. Hoehn H, Bryant EM, Karp LE, Martin GM. Cultivated cells from diagnostic amniocentesis in second trimester pregnancies. I. Clonal morphology and growth potential. *Pediatr Res* 1974; 8: 746-54.
8. Yayla M, Bayhan G, Yalınkaya A, Alp N. Yüksek riskli gebeliklerde 2. trimester genetik amniyosentez: 165 Olgunun klinik değerlendirmesi. *Perinatoloji Dergisi* 1999; 7: 40-46.
9. Şener T. Complications of amniocentesis. *Ultrasonografi Obstetrik ve Jinekoloji* 1998; 2:11.
10. Thorp JA, Helfgott AW, King EA, King AA, Minyard AN. Maternal death after second-trimester genetic amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2005; 105:1213-5.
11. Dodgson J, Martin J, Boswell J, Goodall HB, Smith R. Probable amniotic fluid embolism precipitated by amniocentesis and treated by exchange transfusion. *Br Med J* 1982; 294: 1322-3.
12. Güven MA, Ceylaner S. Amniyosentez ve kordosentez ile prenatal tanı: 181 olgunun değerlendirilmesi. *Perinatoloji Dergisi* 2005; 13: 25-9.
13. Yayla M, Bayhan G, Yalınkaya A, Alp N. Amniyosentez ve kordosentez ile fetal karyotip tayini: 250 olguda sonuçlar. *Perinatoloji Dergisi* 1999; 7: 14-7.
14. Taner CE, Altunbaşoğlu FH, Özkirişçi FH, İmren A, Büyüktosun C, Özgenç Y, Derin G. İleri maternal yaş gebeliklerinde amniyosentez sonuçları. *Perinatoloji Dergisi* 2002; 4: 336-9.
15. Kim SK, Bai SW, Chung JE, Jung NY, Park KH, Cho DJ, Kim JW, Yang YH, Song CH. Triple marker screening for fetal chromosomal abnormalities in Korean women of advanced maternal age. *Yonsei Med J* 2001; 42: 199-203.
16. Rizzo N, Pittalis MC, Pili G, Orsini LF, Perolo A, Bovicelli L. Prenatal karyotyping in malformed fetuses. *Prenat Diagn* 1990; 10: 17-23.
17. Dallaire L, Michaud J, Melancon SB, Potier M, Lambert M, Mitchell G, Boisvert J. Prenatal diagnosis of fetal anomalies during the second trimester of pregnancy: their characterization and delineation of defects in pregnancies at risk. *Prenat Diagn* 1991; 11: 629-35.