

Hemoglobinopatilerde Koryon Villus Örneklemesi

Tuncay ÖZGÜNEN, Cüneyt EVRÜKE, Oktay KADAYIFÇI, Abdullah ARPACI, Güneş YÜREĞİR,
Yurdanur KILINÇ, Nihat ARIDOĞAN

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum - Biyokimya Anabilim Dalı

ÖZET

Genetik hastalıklar içinde önemli bir yer tutan hemoglobinopatiler, Çukurova Bölgesinde bazı yörelerde % 8-10'lara varan oranlarda görülmektedir. Otozomal resesif geçişli bu hastalığın kuşaklar boyu devam etmesi ailelere ve topluma maddi ve manevi yük olmaktadır.

1992 yılı Mayıs ayından başlayarak heterozigot Thalassemi veya Orak hücre anemisi olduğu saptanan 36 gebede diagnostik amaçlı koryon villus örnekleme yapıldı. Olguların tümünde yeterli koryon dokusu aspire edilerek alınan materyel Biokimya Anabilim Dalına bağlı Moleküler Biyoloji Laboratuvarında analiz edildi. 4 olgu hasta, 30 olgu sağlam/taşıyıcı olarak bildirildi ve 2 olguda mutasyona saptanamadı.

Anahtar kelimeler: Koryon villus örnekleme, Orak hücre anemisi, Thalassemi

Results of Diagnostic Chorionic Villus Sampling Cases

Hemoglobinopathies, one of the most important genetic diseases, have been seen up to 8-10 percent in Çukurova area. Due to spanning of the next generations, these autosomal recessive disorders put great amount of financial and psychological responsibilities to the families and society.

Beginning by May 1992, CVS have been performed in 36 pregnant women for diagnostic purpose. In all case, sufficient amount of samples could be aspirated and analyzed in Molecular Biology Laboratory, Department of Biochemistry. According to the results, 4 cases diagnosed as patient and 30 cases as carriers or healthy while there is any mutation in 2 cases. Cases have been discussed according to their laboratory findings.

Key words: Chorionic villus sampling, Sick cell disease, Thalassemi

GİRİŞ

Hemoglobinopatiler dünyada en sık görülen tek gen defektine bağlı hastalık oldukları ve bizim ülkemizde de içinde olduğu bazı bölgelerde önemli bir halk sağlığı problemi olduğu için bu hastalıkların prenatal tanısı önem kazanmıştır ⁽¹⁾. Bu hastalıklarda ilk kez 1974'de fetal kan örneği kullanarak prenatal tanı yapılmış, 1982 ve 1983'de ilk yayınlanan Chorion Villus Sampling (CVS) deneyimlerinde hemoglobinopatiler ve kromozom defektleri koryonik doku kullanılarak saptanan ilk hastalıklar olmuştur. Bu çalışmada amacımız 1992 yılında başladığımız tanılal CVS olgularımızı ve sonuçlarını değerlendirmektir.

MATERYAL ve METOD

Olgularımız Adana ile çevre il ve ilçelerden direkt başvuru ile gelen, bu bölgelerdeki uzmanlar tarafından refere edi-

len veya Pediatrik Hematoloji Bilim Dalında izlenmekte olan ailelerden gelen gebelerden oluşuyordu.

Hastaların ideal olarak gebelikten önce başvurarak tanılalarının konması amaçlandı. Sick cell hastalığı olan çiftlerde Hemoglobin elektroforezi yapılarak tanı kesinleştirildi. Beta Thalassemi mevcut olan ailelerde her iki eşten ve tüm çocuklardan Hemoglobin elektroforezi ve tanı kesinleştirildikten sonra mutasyonu saptayabilmek için DNA analizi yapıldı.

Transservikal CVS gebeliğin 9-12. haftaları arasında yapıldı, Porteks kateteri kullanıldı. Hasta mesanesi dolu olarak litotomi pozisyonunda hazırlandıktan sonra Betadine ile vulva vagen temizliğini takiben steril kompresler örtüldü. Spekulum yerleştirildi, gereken olgularda tenakulum kullanıldı. Ultrasound olarak Pie Medical, Manuel scanner 1150 kullanıldı. Devamlı ultrason klavuzluğunda kateter transservikal olarak koryon frondozum içine ilerletildi. Kateterin koryon içinde koryonik ve desidual plate'den eşit uzaklıkta olduğu saptandıktan sonra klavuz çıkartıldı, kateterin ucuna içinde 5 mi heparinize kültür (Gibco/MEM-199) bulunan 20 ml lik enjektör takıldı ve ileri geri hareketlerle aspirasyon yapılarak kateter geri çekildi. İnversiyon sayısı 3'de bırakıldı.

Transservikal yaklaşıma uygun olmayan ve 12 haftadan büyük olgularda Transabdominal CVS yapıldı. Batın asepsisini ve steril kompreslerle kapatılmasını takiben ultrason

Yazışma adresi: Tuncay Özgünen, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Adana

klavuzluğunda tek (20 gauge) veya çift iğne kullanılarak koryon frondosum içine girildi, stile çıkartıldı. Çift iğnede klavuz iğnenin stilesini çıkardıktan sonra örnek alma iğnesi yerleştirildi. Heparinize kültür ortamı bulunan 20 ml lik enjektör iğnenin ucuna takılıp ileri geri hareketlerle aspirasyon yapıldı, fnrsiyon sayısı tek iğne için ikide bırakıldı.

Girişim poliklinik şartlarında yapıldı, Adana dışından gelen olgular bir gece hastanede gözlem altında tutuldu.

Olgular kanama, ateş, parça düşürme gibi yakınmalar yönünden uyarılarak eve gönderildi ve bir hafta sonra kontrole çağrılarak ultrasonografi yapıldı.

CVS ile alınan materyel Biokimya Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'nda çalışıldı. Materyel diseksiyon mikroskobu altında temizlendikten sonra klasik DNA izolasyon yöntemleri ile CVS DNA'sı izole edilerek ARMS (Amplification Refractory Mutation System) yöntemi ile mutasyona özgün Beta geni amplifiye edilerek mutasyonlar saptandı. Anne ile aynı mutasyonu taşıyan örneklerde gen kontaminasyon tanımlamasına yardımcı olmak amacıyla RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi ile Beta benzer genler amplifiye edilerek ARMS yöntemi desteklendi. Sonuç sağlam veya taşıyıcı ise aileye durum bildirildi, rutin gebelik kontrollerine devam edildi veya kendi istekleri ile antenatal takiplerini yapacak olan bölgelerindeki uzmanlara gönderildi. Fetus hasta ise sonuç bildirildikten sonra aile gebeliğin sonlandırılmasını arzu ederse dilatasyon küretaj yapıldı. Doğumdan sonra bebekten kan alınarak hemoglobin elektroforezi ile prenatal tanı doğrulandı.

SONUÇLAR

Mayıs 1992 tarihinden günümüze kadar 36 gebede tanısal CVS uygulandı. Olgularda;

17 çiftte: Sickle Cell, 15 çiftte: Talassemi, 4 çiftte: Sekle Celi + Talassemi vardı.

Olguların 5 tanesi primgravida, 31 olgu multipardı ve gebelik sayısı 2-8 arasında değişiyordu. Multipar gebelerde yaşayan çocuk sayısı 1-4 arasında olup, 2 olgu dışındaki 29 olgunun 1 veya 2 hasta çocuğu vardı.

31 olguda Transservikal, 5 olguda Transabdominal yöntemle materyel alındı. Olguların % 85'inde ilk, % 90'ında ikinci, % 100'ünde 3. insersiyonda yeterli materyel alındı. 3'den fazla insersiyon yapılmadı.

Girişimi izleyen günlerde iki hasta analjezik gerektirmeyen ağrıdan, üç olgu lekelenme şeklinde kana-

madan yakındı. Bunların dışında erken komplikasyon görülmedi.

Geç dönemde herhangi bir komplikasyon görülmedi. Yenidoğan bebekler sağlıklıydı. 36 gebeden Beta Talassemi olan 2 tanesinde hastaların mutasyonu saptanamadığından tanı konamadı. Bu hastalardan birisi gebeliğin devamını istedi, diğerine dilatasyon küretaj yapıldı.

4 fetus: Hasta, 8 fetus: Sağlam,
22 fetus: Taşıyıcı olarak bulundu.
2 olgu: Mutasyon saptanamadı.

Bizim olgularımız içinde en sık görülen mutasyon IVS1-110, IVS1-1, IVS1-6, CD39 idi. Bunların yanında Hb D, Hb E gibi anormal hemoglobinler de görüldü. Olguların 25 tanesi doğum yaptı, doğum sonu yenidoğanda hemoglobin elektroforezi yapılarak prenatal tanı doğrulandı. 6 olgunun gebeliği problemsiz olarak devam ediyordu.

TARTIŞMA

Genetik hastalıkların ortadan kaldırılabilmesi için; indeks hastaların tanısı ve taşıyıcıların saptanması, uygun olgularda prenatal tanı yapılması gerekir. Beta Talassemi hematologların ve moleküler biyologların üzerinde en çok çalıştıkları hastalıklardan biridir. Hastalığın bugüne kadar saptanan 130 mutasyonu vardır. Aile çalışması yaparak homozigot ve heterozigot kişilerde hastalık mutasyonunun gebelikten önce saptanması ve gebelikte prenatal tanı amacıyla CVS yapılması gerekmektedir. Aksi takdirde gebelikte tüm bu işlemlerin yapılabilmesi zaman alacağından tanı konamayacak veya gecikmelere neden olacaktır.

Hastaların ideal olarak gebelikten önce başvurarak tanıların konması amaçlanmasına rağmen bizim hastalarımızdan 3 tanesi 13 haftada, diğerleri girişim için uygun zamanda başvurmuşlar, ancak hiçbir gebelik öncesi gelmemiştir.

Mutasyonu saptanamayan iki olgu gebelik öncesinde gelmiş olsalardı, büyük olasılıkla tanı konabilecekti.

Olguların sadece 5 tanesinin primgravida oluşu

toplumun bu konuda henüz yeteri kadar aydınlatılmadığını düşündürmektedir. Girişim esnasında, erken veya geç devrede önemli bir komplikasyonla karşılaşmadık. Olguların % 85'inde ilk, % 90'ında ikinci, % 100 olguda 3. insersiyonda yeterli materyel aldık. Transservikal olguların % 10'unda 3. insersiyonu yapmak zorunda kaldık. Bunlar başlangıç dönemine rastlayan olgulardı. Literatürde insersiyon sayısını ikide bırakmak gerektiği, üç insersiyonda fetal kayıp oranının % 10'a çıktığı belirtilmektedir (²). 1991'de ilk limb reduksiyon defektinin yayınlanması (³), daha sonra benzer bir serinin bildirilmesi CVS olgularında bu komplikasyonlara dikkati çekmiştir (⁴). Daha sonra yayınlanan daha geniş kapsamlı yayınlarda bu bulgu desteklenmesi de bugün için bu komplikasyonun CVS işleminin fertilizasyondan sonraki 7 haftadan önce yapılmasına bağlı olabileceği, ⁵ bu nedenle CVS'in 9.5 haftadan sonra yapılmasının uygun olacağı bildirilmektedir ⁶.

KAYNAKLAR

1. **Old JM:** Prenatal diagnosis of the hemoglobinopathies. In Milunsky A (ed): Genetic disorders and the fetus. Baltimore and London: The John Hopkins University press, 465-490, 1992.
2. **Karin JB:** Prenatal Diagnosis by Chorionic Villus Sampling. In Obstetrics and Gynecology Clinics of North America 2:179-312, 1988.
3. **Firth HV, Boyd PA, Chamberlain P, MacKenzie IZ, Lindenbaum RH, Hudson SM:** Severe limb anomalies after chorion villus sampling at 56-66 days' gestation. Lancet 337:762-763, 1991.
4. **Burton BK, Charlene J, Schulz MS, Burd LI:** Limb anomalies associated with chorionic villus sampling. Obstet Gynecol 79:726-730, 1992.
5. **Burton B, Desposito F, Froster U, Holmes L, Holzgrave W, et al:** Report of National Institute of child health and human development workshop on chorionic villus sampling and limb and other defects, October 20, 1992: Am J Obstet Gynecol 169(1): 1-6, 1993.
6. **Rodeck CH:** Prenatal diagnosis, fetal development after chorionic villus sampling: Lancet 341:468-469, 1993.