

T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM
ANABİLİM DALI

KORYON VİLLUS BİOPSİSİ TEKNİĞİNİN UYGULANMASI ve GELİŞTİRİLMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Dr.B.Hayri ERMIŞ

İstanbul, 1991



T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
MATERYAL ve METOD	3
BULGULAR	9
TARTIŞMA	15
SONUÇ	22
ÖZET	23
KAYNAKLAR	24

GİRİŞ

Klinik perinatalojide karyotipleme, biokimyasal ve moleküler analizlerin yapılabilmesiyle, fetusa ait bir çok genetik bozukluk gebeliğin erken dönemlerinde saptanabilir hale gelmiştir. Son on yıl içerisinde ilk trimestrede uygulanan koryon villus biopsisi ile bazı genetik bozuklukların zamanında tanısı konulabilmekte, böylece fetal bir anomali saptanması halinde gebeliğin sonlandırılması sağlıklı olarak yapılabilmekte, aynı zamanda annenin ve ailenin psikolojik etkilenmesi en alt düzeyde tutulabilmektedir.

1960'lı yıllarda transabdominal amniosentez ile bazı hastalıkların prenatal tanısının konulmasına başlanmıştır (28). 1968'de Mohr (22) ve 1974'de Hahnemann (11) endoskop yardımıyla transservikal koryon villus biopsisini uygulamışlardır; fakat uygulama yapılan vakaların hemen hemen yarısında biopsiden sonra kanama ve amnios sıvısının gelmesi gibi komplikasyonların ortaya çıktığının gözlenmesi klinik uygulamada sakıncalar doğurmuştur.

1975'de Çin'de bir grup araştırmacı tarafından, erken dönemde cinsiyet tayini yapabilmek için geliştirilen bir yöntemin koryon villus biopsisinde de uygulanabilecek basit bir teknik olduğu ileri sürülmüştür (5).

Rhine ve arkadaşları iki ayrı bildirilerinde (24,25) servikal müköz plağın arkasına fetal trofoblast hücrelerin dökülebileceğini kabul ederek, bu hücrelerin endoservikal lavajla alınabileceğini ve kültür yapılabileceğini ileri sürmüşlerdir. 1980 yılında Goldberg ve arkadaşları Rhine ve arkadaşlarının

alışmasını tekrarladıklarında, endoservikal lavajın yetersizliğini vurgulamışlardır (7).

Prenatal tanı uygulamalarında kullanılan amniosentez tekniğinin yerleşip oturmasına karşın, real-time ultrasonografi yardımıyla biopsinin izlenebilme olanağı ortaya çıkınca, ilk trimestrede transservikal koryon villus biopsisi tekniğinin geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar yeniden hızlanmıştır (28).

Kazy ve arkadaşları 1979'da yaptıkları bir çalışmayı 1982'de yayınlamışlardır. Bu araştırmada ultrason altında biopsi forsepsi kullanarak plasentadan biopsi yaptıklarını ve hiç bir komplikasyonla karşılaşmadıklarını bildirmişlerdir (17,18).

Ward ve arkadaşları 1983'de, bugün de hala birçok çalışma grubunun kullandığı yeni bir teknik geliştirmişlerdir (29). Bu teknikte içinde paslanmayan, kolayca eğilebilen ve ucu künt bir çelik stile bulunan 1.5 mm çapında polietilen kateter "real-time" ultrason görüntüsü altında transservikal olarak korion frodosum tabakasının ucuna kadar itilmekte ve içindeki metal stile çıkarılarak steril bir enjektör ile aspirasyon uygulanmaktadır. Ward ve arkadaşları bu yöntemi uyguladıkları 124 vakanın %67'inde plasenta dokusu aspire etmişler ve 7 vakada hemoglobinopati tanısını koymuşlardır (29). Nitekim bu yöntem ve bunun modifiye şekilleri bugün dünyada koryon villus biopsisi uygulamasında yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çalışmamızı transservikal koryon villus biopsisinin klinik rutine girmesi amacı ile planladık.

MATERYAL ve METOD

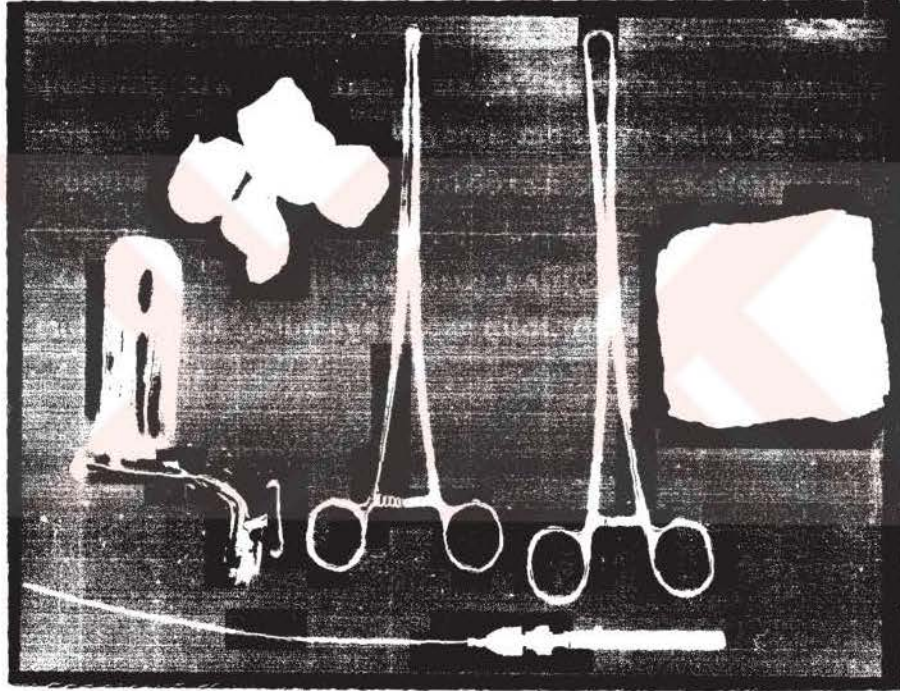
İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na Ocak 1989 ila Ocak 1991 tarihleri arasında gebeliklerini tahliye ettirmek amacıyla başvuran 92 gebede transservikal koryon villus biopsisi uygulandı. Bu gebelerin hepsine uygulanacak yöntem anlatıldı ve uygulamayı kendi istekleriyle kabul ettiklerini gösteren rıza formları imzalatıldı.

Koryon villus biopsisi için gebelikte en ideal zaman olarak son adet tarihinden sonraki 9 ile 12.ci gebelik haftaları arası olduğundan vakalarımızda da bu düşünceye uyulmaya çalışıldı. Koryon villus biopsisinde ilk yapılacak işlem gebeliğin ultrason yardımıyla değerlendirilmesi olduğundan, çalışmaya alınan gebelerin gebelik haftaları uygulamadan ortalama 1-2 hafta önce ve uygulama sırasında yapılan ultrasonografi ölçümleri ile doğrulandı. Bu ultrason kontrolüyle hem fetal kardiyak aktivite saptandı, hem de baş-makad mesafesi ve amnios kesesi ölçümleri alınarak gebelik haftasının son adet tarihine uyup uymadığı kontrol edildi.

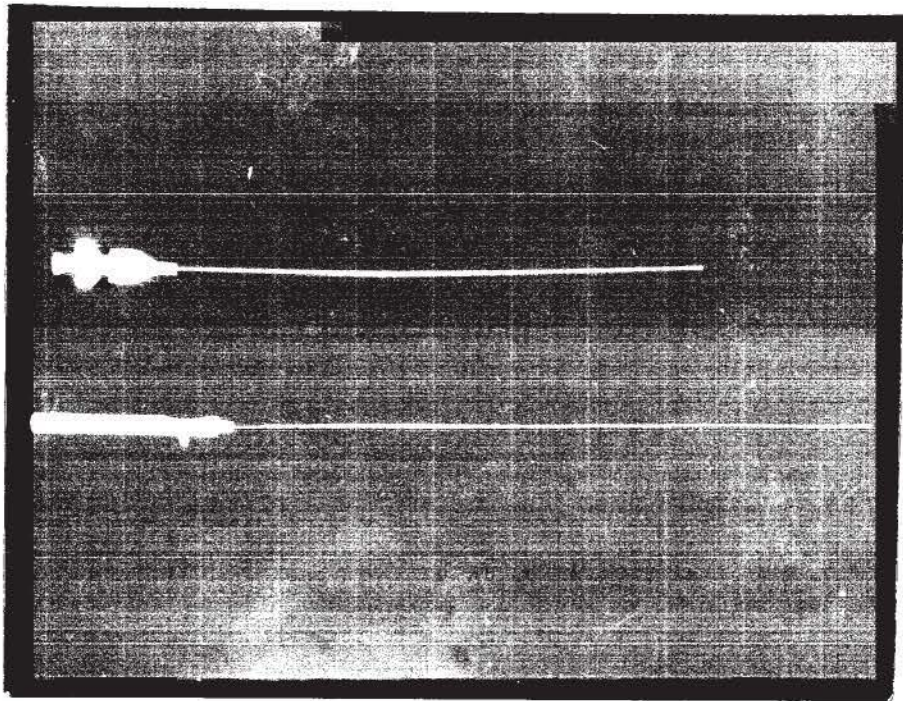
9.cu gebelik haftasında koryon frondozum ultrasonda homojen, hiperekojen bir görüntü verir. Koryon frondozumun lokalizasyonun saptanmasında kimi kez kordon insersiyon yerinden de yararlanıldı. Bu arada uterusun ve serviksin yeri ve pozisyonu değerlendirilerek, kateterin ne şekilde serviksten ileriye itilebileceği tasarlandı. Uygulama sırasında mesanenin dolu olmasına dikkat edildi, ancak mesane fazla dolu olduğu takdirde uterusun motilitesini azaltacağından mesane doluluğu buna göre ayarlandı.

Uterus ve plasentanın durumu değerlendirildikten sonra gebeler litotomi durumunda yatırıldı ve vulva, vagina ve serviks betadine ile temizlendi. Her uygulama için steril hale getirilmiş bir koryon villus biopsi seti hazırlandı. Bu setin içinde bir adet otomatik spekulum, bir adet tek dişli, penset, histerometre ve birkaç adet gaz bezi bulunduruldu. Her uygulamada steril tek kateter kullanıldı. Resim 1'de koryon villus biopsi seti görülmektedir. Serviks ön kısmından tek dişli ile tutularak uterus en iyi

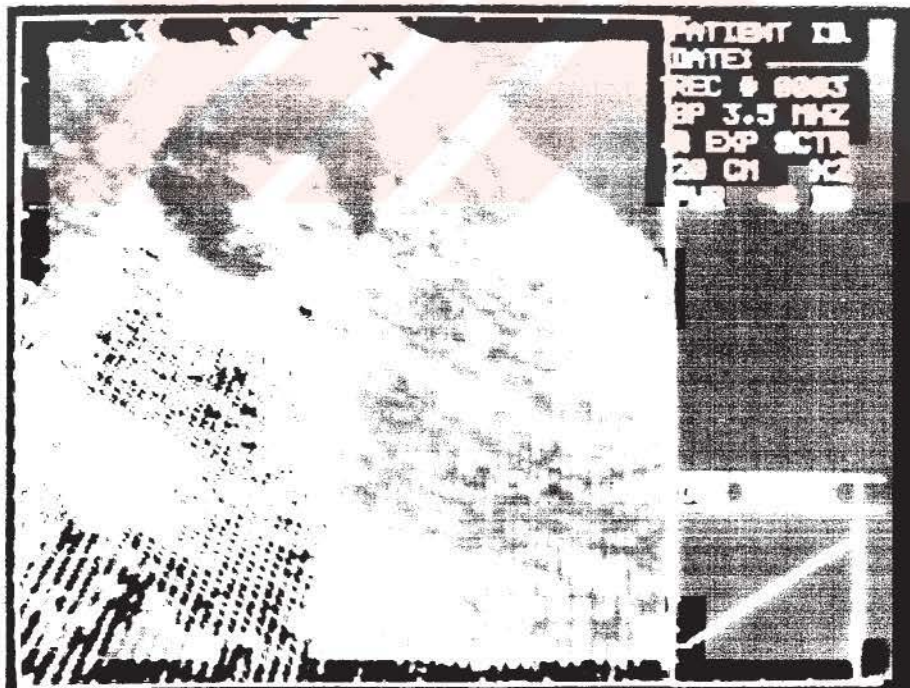
pozisyona getirildi. Uygulamalarımızda Ward ve arkadaşlarının geliştirdiği kateteri ekojenik bir madde ile boyayarak modifiye eden ve ultrason altında daha net görülmesini sağlayan Holzgreve ve arkadaşlarının kateterini kullandık (Angiomed Karlsruhe, iç çap 1.7 mm, uzunluk 24-26 sm.) (14) (Resim 2). Kateterin 3-5 sm'lik uç kısmı hafifçe eğilerek serviksten içeriye doğru ucu endoservikse gelinceye kadar itildi. Burada ultrasonla yardım eden kişinin kateterin ucunu ultrasonda tespit etmesi beklendi. Ultrasonda kateter ucunun tespitinden sonra, kateter ultrason ekranında izlenerek koryon frondoza doğru itildi (Resim 3).



Resim 1



Resim 2



Resim 3

Kateterin uygun yere itilmesinde:

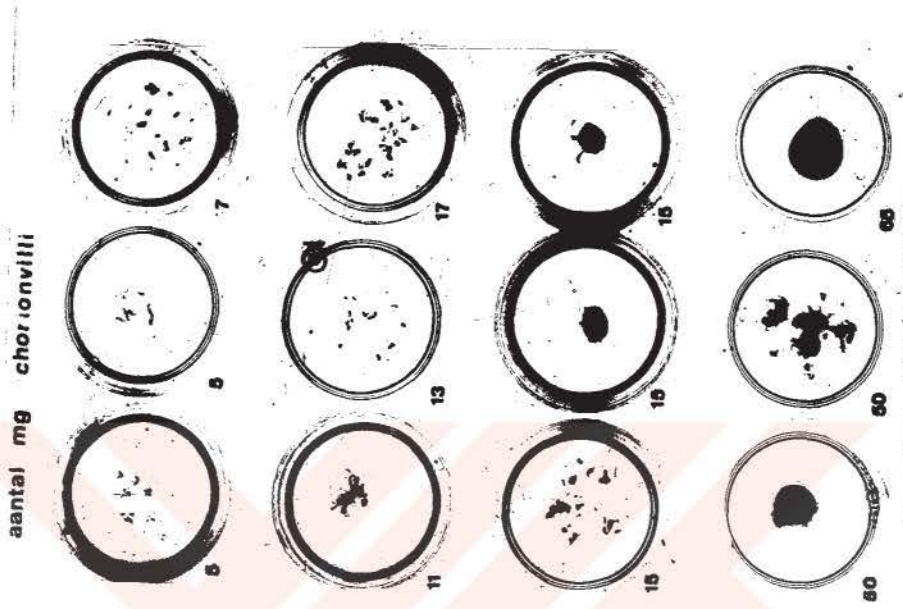
- a. Uterusun tek dişli ile uygun bir biçimde pozisyon almasına,
- b. Eğilmiş kateterin 180 derece rotasyon yapabilmesine,
- c. Vaginaya yerleştirilmiş spekulumun aşağıya ve yukarıya doğru hareket ettirilerek yardımının sağlanmasına dikkat edildi.

Yeterli miktarda villus alabilmeyi garantileyebilmek için kateter, tüm koryon frondozum boyunca longitudinal olarak uzatıldı ve akabinde dış kısımdaki plastik kateter sabit tutularak iç kısımdaki metalik kısım çıkarıldı ve içinde ortalama 5 ml medium bulunan, heparinlenmiş enjektör takıldı. Enjektörün pistonu enjektör hareket ettirilmeden çekilerek negatif basınç yaratıldı ve kateter ucu zaman zaman koryon frondozum içinde bekletilerek yavaş yavaş geri çekilerek aspirasyon uygulandı. Medium içinde koryon villuslar uygulama yerinde faz kontrast mikroskop olmadığından makroskopik olarak çıplak gözle değerlendirildi. Yeterli materyal alınmadığı düşünülen vakalarda işlem tekrarlandı.

Enjektöre yeterli materyal aspire edildiğinden emin olununca, medium içindeki materyalle birlikte steril şartlarda 60 ml'lik petriye konuldu. Sitogenetik laboratuvarına getirilen petri içindeki villuslar faz kontrast mikroskobu altında değerlendirildi. Doku miktarı tayini Simoni'nin tarif ettiği referans fotoğrafları ile kıyaslanarak yapıldı (Resim 4) (4). Mikroskop altında villuslar ince uçlu bir pensetle ayrılarak yeni medium içine kondu. Bu vakalardan 43 tanesinde koryon villuslar heparinli RPMI 1640 (Seromed) mediumu içine, 49 tanesinin de %0.9'luk NaCL içine aspire edildi.

Vakalarımızın ilk elli tanesinde sitogenetik çalışma yaptık. Alınan koryon villuslara hemen veya 48-56 saatlik inkübasyon periyodundan sonra direkt preparasyon yapıldı. Hemen uygulanan direkt preparasyonda villuslar 0.08 mcg/ml yoğunluğunda kolşisin içeren mediumda oda ısısında üç saat bırakıldı. Inkübasyon yönteminde ise villuslar 48-56 saat 37 derecede CO₂'li etüvde bırakıldı. Süre sonunda ortalama 0.08 mcg/ml kolşisin ilave edilerek 3 saat daha etüvde bırakıldı. Kromozom preparasyonu için kolşisinli medium atılarak yaklaşık 3 ml %1'lik Sodyum Sitrat eklendi ve 20 dakika beklendi. Süre sonunda Sodyum Sitrat atılarak 3 er ml %50'lik ve %100'lük Carnoy fiksatif (metanol:asetik asit, 3:1) eklenerek 10 dakika beklendi. Fiksatif atıldı ve yerine %60'lık asetik asitten 0.5-1 ml eklenerek hücrelerin ayrışması

sağlandı. Ayrıışan hücreler 38-40 derecelik ısı plağında eğik bir pastör pipeti yardımıyla yayıldı. Hazırlanan preparatların ilk ikisi Giemsa ile hemen boyandı, diğerleri 37 derecelik etüvde 3 gün bekletildi ve %0.9'luk NaCL içindeki %0.1'lik tripsin ile muamele edildikten sonra Giemsa ile boyandı ve analiz edildi (Resim 5).

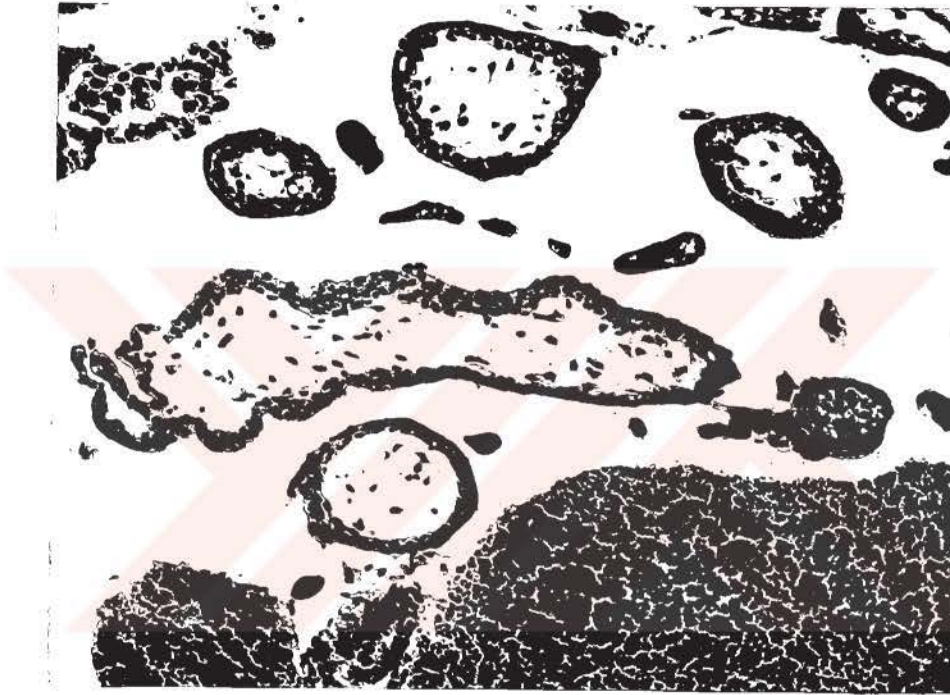


Resim 4



Resim 5

İlk 43 vakada RPMI'lı medium içine aspirasyon yapıldı. Bunlarda sitogenetik çalışma başarılı oldu. Maliyeti düşürmek amacıyla kalan vakalarda %0.9 NaCl içine aspirasyon yapıldı ancak bunlarda dissosiasyon saptanmaması üzerine ve maddi yetersizlikten dolayı sitogenetik çalışmadan vazgeçildi ve sadece koryon villus biopsisi uygulandı. Alınan doku faz kontrast mikroskobu altında ve Anabilim Dalımız patoloji laboratuvarımızda yayma yapılarak kontrol edildi (Resim 6).



Resim 6

BULGULAR

Koryon villus biopsisi uygulanan 92 vakanın gebelik haftalarına göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir. Görüldüğü gibi gebelik haftaları 7 ile 11.ci haftalar arasında değişmekteydi. Vakalarımızda uterus pozisyonlarının dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir. 64 vakada uterus anteversiyonda, 17 vakada retroversiyonda ve 11 vakada orta durumda idi. Vakalarımızdaki plasentaların lokalizasyonları ise; 40 vakada ön duvarda, 45 vakada arka duvarda ve 7 vakada fundusta idi. Placenta lokalizasyonları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Vakalarımızda Gebelik Haftalarının Dağılımı

Gebelik Haftası	Vaka Sayısı	%
7	2	2.17
8	13	14.13
9	48	52.17
10	27	29.34
11	2	2.17
TOPLAM	92	100

Tablo 2: Vakalarda Uterus Pozisyonlarının Dağılımı

Uterus Pozisyonları	Vaka Sayısı	%
Anteversiyon	64	69.56
Retroversiyon	17	18.47
Orta Durumda	11	11.95
TOPLAM	92	100

Tablo 3: Vakalarımızda Plasenta Lokalizasyonlarının Dağılımı

Plasenta Lokalizasyonu	Vaka Sayısı	%
Ön Duvar	40	43.47
Arka Duvar	45	48.91
Fundal	7	7.60
TOPLAM	92	100

Vakalarda aspire edilen doku miktarları Tablo 4'de gösterilmiştir. 5 mg üstünde olan villüs dokusunda sitogenetik çalışma yapılabildiğinden 5 mg altında olan materyal yetersiz, 5 mg üstünde olanlar yeterli olarak kabul edildi. Tabloda da görüldüğü gibi 6 vakada yetersiz materyal alınmış veya hiç materyal alınamamıştır (%6.52). 37 vakada (%40.21) 5-10 mg, 42 vakada (%45.65) 10-20 mg, 7 vakada (%7.60) ise 20-30 mg doku aspire edilmiştir.

Plasenta lokalizasyonları ile aspire edilen doku miktarlarını incelediğimizde, yetersiz doku alınan vakaların ikisinin ön duvar (%5), üçünün arka duvar (%6.66) ve birinin fundal lokalizasyonlu (%14.28) olduğu saptanmıştır. (Tablo 5).

Plasentanın ön duvar lokalizasyonlu olduğu 40 vakanın 2'inde (%5) yetersiz materyal alınırken, 21 vakada (%52.5) 5-10 mg, 17'inde ise (%42.5) 10-30 mg doku aspire edilmiştir.

Plasentanın arka duvar lokalizasyonlu olduğu durumda ise, 45 vakanın 3'ünde (%6.66) yetersiz materyal, 12'inde (%26.6) 5-10 mg ve 30'unda (%66.6) 10-30 mg doku aspire edilmiştir.

Fundal lokalizasyonlu olan 7 vakanın 1'inde (%14.9) yetersiz materyal, 4'ünde (%57.1) 5-10 mg ve 2'sinde (%29.8) 10-30 mg doku aspire edilmiştir.

Ön duvar-arka duvar, ön duvar-fundal ve arka duvar-fundal lokalizasyonlarının kendi aralarında yapılan ikili analizlerinde (Fisher'in kesin

ki-kare analizi) plasenta lokalizasyonu ile yeterli materyal aspirasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Plasenta lokalizasyonlarını kendi içlerinde analizini yaptığımızda:

Ön duvar: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur (önemlilik testi, $p<0.001$)

Arka duvar: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur (önemlilik testi, $p<0.001$).

Fundal: Analiz yapılması için gereken koşullar uygun olmadığından test uygulanamamıştır.

Uterus pozisyonları ile aspire edilen doku miktarları arasındaki ilişki Tablo 6'da gösterilmiştir. Burada da görüldüğü gibi uterusun anteversiyonda olduğu 4 vakada (%6.25) ve retroversiyonda olduğu 2 vakada (%11.76) başarısız olunmuştur. Orta durumdaki vakaların ise hepsinde başarılı olunmuştur.

Uterusu anteversiyonda olan 64 vakanın 4'ünde (%6.25) yeterli materyal alınamazken, 28'inde (%43.8) 5-10 mg, 32'inde (%50.05) 10-30 mg materyal alınmıştır.

Uterusu retroversiyonda olan 17 vakanın 2'inde (%11.8), 7'inde (%41.2) 5-10 mg, 8'inde ise (%47.1) 10-30 mg materyal alınmıştır.

Uterusu orta durumda olan 11 vakanın hepsinde yeterli materyal aspire edilmiştir. Bu vakaların 2'inde (%18.2) 5-10 mg, 9'unda ise 10-30 mg (%81.8) materyal alınmıştır.

Anteversiyon ve retroversiyon pozisyonlarının kendi aralarında yapılan ikili analizlerinde (Fisher'in ki-kare analizi), uterusun anteversiyon ve retroversiyonda olması ile yeterli materyal aspirasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0.05$). Uterusun orta durumda olduğu vakalar için istatistiksel analiz yapılamamıştır. Uterus pozisyonlarının kendi içlerinde analizini yaptığımızda:

Anteversiyon: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur (önemlilik testi, $p<0.001$).

Retroversiyon: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur (önemlilik testi, $p<0.001$).

92 vakada gebelik haftaları ile aspire edilen doku miktarları Tablo 7'de gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi 7. gebelik haftasında hiç başarılı vaka yokken, başarı oranı 8. gebelik haftasında (11/13) %84.61, 9. gebelik haftasında (47/48) %97.91, 10. gebelik haftasında (27/27) %100, 11. gebelik haftasında ise (1/2) %50 olarak bulunmuştur.

7. gebelik haftasında 2 vakamızda da yeterli doku aspire edilememiştir. 8. gebelik haftasında olan 13 vakanın 2'inde (%15.38) yetersiz materyal, 4'ünde (%30.76) 5-10 mg, 7'inde ise (%53.84) 10-30 mg doku aspire edilmiştir.

9. gebelik haftasında olan 48 vakada ise, 1 vakada (%2.08) hiç materyal alınamazken, 19'unda (%39.58) 5-10 mg, 28'inde (%58.32) 10-30 mg doku aspire edilmiştir.

10. gebelik haftasında 27 vakanın tümünde ateryal alınmıştır. Bunun 14'ünde 5-10 mg, 13'ünde ise 10-30 mg materyal aspire edilmiştir. 11. gebelik haftasında olan 2 vakanın 1'inde (%50) materyal alınamazken, diğerinde (%50) 10-30 mg materyal alınmıştır.

Gebelik haftaları ile yeterli materyal aspirasyonu arasındaki ilişkinin değerlendirmesinde gebelik haftalarına düşen vaka sayısı az olduğundan gebelik haftalarının birleştirilmesi zorunda kalınmıştır. Bu amaçla 7 ve 8 gebelik haftaları ile 9, 10 ve 11. gebelik haftaları birleştirilmiştir. Bu iki grup gebelik haftaları ile yeterli miktarda materyal aspirasyonu arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.01$). Gebelik haftaları kendi içlerinde analiz edildiğinde:

7 ve 8. gebelik haftaları: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan farksız bulunmuştur (önemlilik testi, $p>0.05$).

9, 10 ve 11. gebelik haftaları: Yeterli miktarda alınan materyal yetersiz olarak alınandan ileri derecede anlamlı olmak üzere fazla bulunmuştur (önemlilik testi, $p<0.001$).

Tablo 8'de plasenta lokalizasyonları ile kateter uygulama sayısı arasındaki ilişki gösterilmiştir. Ancak şunu belirtmeliyiz ki, bir çok vakada birinci defada yeterli doku aspire edildiği halde manipülasyonu arttırmak amacıyla birden fazla aspirasyon yapılmıştır. Bu yüzden burada istatistiksel değerlendirme yapılmamıştır.

Tablo 4: Vakalarımızda Aspire Edilen Doku Miktarları

Doku Miktarı	Vaka Sayısı	%
Yetersiz	6	6.52
5- 10 mg	37	40.21
10-20 mg	42	45.65
20-30 mg	7	7.60
	92	100

Tablo 5: Plasenta Lokalizasyonları ile Aspire Edilen Doku Miktarları Arasındaki İlişki

Plasenta Lokalizasyonu	Doku Miktarı				%
	Yetersiz	5- 10 mg	10-20 mg	20-30 mg	
Ön Duvar	2 (5)	21 (52.5)	14 (35)	3 (7.5)	40
Arka Duvar	3 (6.7)	12 (26.6)	27 (60)	3 (6.76)	45
Fundal	1 (14.9)	4 (57.1)	1 (14.9)	1 (14.9)	7
Toplam	6 (6.5)	37 (40.2)	42 (45.7)	7 (7.6)	100

Tablo 6: Uterus Pozisyonları ile Aspire Edilen Doku Miktarları Arasındaki İlişki

Plasenta Lokalizasyonu	Doku Miktarı				%
	Yetersiz	5- 10 mg	10-20 mg	20-30 mg	
Anteversiyon	4 (6.25)	28 (43.8)	28 (43.8)	4 (6.25)	64
Retroversiyon	2 (11.8)	7 (41.2)	6 (35.3)	2 (11.8)	17
Orta Durumda	-	2 (18.2)	8 (72.3)	1 (9.09)	11
Toplam	6 (6.5)	37 (40.2)	42 (45.7)	7 (7.6)	100

Tablo 7: Gebelik Haftaları ile Aspire Edilen Doku Miktarları Arasındaki İlişki

Gebelik Haftası	Doku Miktarı				%
	Yetersiz	5- 10 mg	10-20 mg	20-30 mg	
7	2 (100)	-	-	-	2
8	2 (15.38)	4 (30.76)	6 (46.15)	1 (7.69)	13
9	1 (2.08)	19 (39.58)	23 (47.91)	5 (10.41)	48
10	-	14 (51.85)	12 (44.44)	1 (3.70)	27
11	1 (50)	-	1 (50)	-	2
Toplam	6 (6.5)	37 (40.2)	42 (45.7)	7 (7.6)	100

Tablo 8: Plasenta Lokalizasyonları ile Kateter Uygulama Sayısı Arasındaki İlişki

Plasenta Lokalizasyonu	Katater Uygulama Sayısı			%
	1	2	3	
Ön Duvar	23 (57.5)	12 (30)	5 (12.5)	40
Arka Duvar	20 (44.44)	18 (40)	7 (15.55)	45
Fundal	1 (14.28)	6 (85.71)	-	7
Toplam	44 (47.8)	36 (39.1)	12 (13)	100

TARTIŞMA

Koryon villus biopsisinin genetik hastalıkların prenatal tanısındaki yeri son 10 yılda büyük ilerlemeler göstermiştir. 2 İskandinav araştırma grubunun klinik uygulamaya sokmak amacıyla endoskopi ile yaptıkları ilk koryon villus biopsi uygulamaları yüksek komplikasyon ve başarısızlık oranı ile sonuçlanmıştır (20,12). Bu konuda yapılan ilk çalışmalarda yeterli başarı sağlanamamışsa da konuya dikkatler çekilmiştir. Koryon frondozumun fetal karyotip, DNA analizi ve enzim çalışmaları için iyi bir materyal olmasının anlaşılmasıyla bu konu üzerinde yapılan çalışmalar artmış (18,8,27,29) ve ilk trimestrede uygulanan koryon villus biopsisi genetik hastalıkların prenatal tanısında 2. trimestreye alternatif bir yöntem haline gelmiştir (23,1,9).

Bu teknik, tanının erken konmasını sağladığından avantajlı görünse de, uygulamaya bağlı riskler daha tam olarak belirlenememiştir. Bu yeni metodu değerlendirmek amacıyla birçok araştırmacı muhtelif çalışmalar yapmışlardır. Bunlardan bir kısmı Tablo 9'da gösterilmiştir (2). 1984 Ekiminde çoğu Avrupa ve Kuzey Amerika'da olmak üzere 40'ın üzerinde merkez sonuçlarını yayınlamaya ve belirli bir merkezde toplamaya başlamışlardır (International CVS Collaborative Study).

Tablo 9: Nisan 1983'e Kadar Dünyada Yapılan 1. Trimestre Prenatal Tanı Uygulamaları. (Dünya Sağlık Teşkilatı Çalışma Grubu, 1984b)

Grup	Ülke	Biopsi Şekli	Vaka no
Ashan ve ark. 1975)	Çin	Metal kanülle körlemesine	100
Kazy ve ark. 1972)	SSCB	USG + Biopsi forsepsi	26
Ward ve ark. 1983)	UK	USG + Plastik kateter	9
Brambati ve Simoni 1983)	ITALYA	USG + Plastik kateter	41
Goossens ve ark. 1983)	FRANSA	USG + Biopsi forsepsi	5
TOPLAM			181

Bugüne kadar 4 ana metod ve birçok biopsi alma aletleri geliştirilmiştir (Tablo 10). Ancak bugün dünyada uygulanan koryon villus biopsilerinin ortalama %60 kadarında tek bir teknik uygulanmaktadır ki, bu da ultrason yardımıyla plastik bir kateterle yapılan transservikal koryon villus biopsisidir (2). Bu metod endoskopi ile yapılan uygulamalara göre daha çok benimsenmiş ve bir çok araştırmacı grup tarafından hem güvenilir, hem de kullanışlı olarak bulunmuştur (27). Bizde çalışmamızda bu kateteri kullandık.

Tablo 10: 4 Ana Metod ve Koryon Villus Biopsi Alma Yöntemleri

METOD	BIOPSİ ŞEKLİ	KULLANILAN SİSTEM
Endoskopi+Aspirasyon	Transservikal	Kanül 4 x 4 mm
Endoskopi+Biopsi Forsepsi	Transservikal	Kanül 3 x 4.7 mm
Ultrason+Biopsi Forsepsi	Transservikal	Biopsi forcepsi 1.7-2.4 mm
Ultrason+Aspirasyon	Transabdominal	20G Spinal İğne veya 18G ve 20G'lik Çift İğne
	Transservikal	Plastik veya Egilebilen Metalik Kateter. Çap 1.5-3 mm

Çalışmamızda deneysel olarak koryon villus biopsisi uyguladığımız 92 vakanın 6'ında yetersiz materyal, 86'ında ise yeterli materyal aldık. Başarı oranımız %93.47'dir. Uygulamalarımız deneysel amaçlı olduğu için, materyal aspire edemediğimiz vakaları bekletip, diğer teknikleri uygulayamadık. Teknik yönden yeterli miktarda doku aspirasyonunu etkileyebilecek uterus pozisyonları, plasenta lokalizasyonları ve gebelik haftaları gibi faktörleri değerlendirdik.

Plasenta lokalizasyonları ile aspire edilen doku miktarları arasındaki ilişkiyi irdelediğimizde; plasenta lokalizasyonları ile yeterli materyal miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken ($p>0.05$), önemlilik testlerinde yeterli materyal aspirasyonunun yetersiz materyal aspirasyonuna göre ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0.001$). Bu da bize plasenta lokalizasyonunun yeterli materyal aspirasyonunda pek bir problem yaratmayacağını göstermektedir.

Uterus pozisyonları ile aspire edilen doku miktarları arasındaki ilişkiyi irdelediğimizde; bunların arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamazken ($p>0.05$), önemlilik testlerinde yeterli materyal aspirasyonunun yetersiz materyal aspirasyonuna göre ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0.001$). Bu da bize uterus pozisyonunun yeterli materyal aspirasyonunda pek bir problem yaratmayacağını göstermektedir.

Gebelik haftalarının aspire edilen doku miktarı üzerine olan etkisini irdelediğimizde; burada vaka sayımız az olduğundan 7 ve 8 ile 9, 10 ve 11. gebelik haftalarını birleştirmek zorunda kaldık. Her iki grupta da yeterli miktarda villus dokusu aspire edilmiştir, ancak 7 ve 8. gebelik haftalarında yeterli materyal aspirasyonunun, yetersiz materyal aspirasyonundan farksız olduğu bulunmuştur ($p>0.05$). 9, 10 ve 11. gebelik haftalarında ise yeterli materyal aspirasyonu, yetersiz materyal aspirasyonuna göre ileri derecede anlamlı olarak fazla bulunmuştur ($p<0.001$). Bu da bize gebelik haftası azaldıkça başarı oranının düştüğünü göstermektedir.

Nitekim, her ne kadar gebelik haftaları azaldıkça ve çoğaldıkça vaka sayımız azalıyorsa da, bu vakalarda başarı oranımızın düştüğü görülmüştür (Tablo 7). Gebelik haftası azaldıkça plasentanın daha tam organize olmaması ve koryon frondozumun yeterli kalınlığa gelmemesi yeterli doku aspirasyonunu önlemektedir. Bu vakalarda gebeliğin ufak oluşundan dolayı plasentanın ultrasonla lokalizasyonu da zor olmaktadır. Gebelik büyüdükçe plasenta kolayca lokalize edilebilmekte ve biopsi yapılacak yer daha kolay bir şekilde değerlendirilebilmektedir. Ancak bu seferde uterus büyümekte ve plasenta yukarıya çekilip kanal servikalden uzaklaşmaktadır. Bu durumda kateterin boyu plasentaya yetişmemekte, yetiştiği durumlarda ise manipülasyon zorluğu ortaya çıkmaktadır.

Kateter uygulama sayısının üçden fazla olması halinde düşük riskinin arttığı bildirilmektedir (21). Ancak biz vakalarımızda manipülasyonumuzu geliştirmek amacıyla yeterli miktarda materyal aspire etsek bile iki veya daha fazla sayıda kateter uyguladığımızdan, kateter uygulama sayısı ile aspire edilen materyal miktarı ve düşük riski arasında istatistiksel bir değerlendirme yapamadık. Holzgreve plasentanın fundal lokalizasyonlu olmasının daha fazla kateter uygulaması gerektirdiğini, bu nedenle relatif bir kontraendikasyon teşkil ettiğini savunmaktadır (15). Bizim vakalarımızda koryon villus biopsisinden sonra gebelikler sonlandırıldığından dolayı infeksiyon ve düşük oranı hakkında bir şey belirtmemekteyiz.

Uygulamalarda fetal karyotipleme ve enzim çalışması veya DNA analizi için belirli bir miktar koryon frondozum materyali yeterken, aynı metod ve alet kullanılarak yapılan biopsilerde alınan materyal miktarları arasında çok büyük farklar olduğu gözlenmiştir. Burada sebebin aspirasyon yapılırken kullanılan enjektörlerde oluşan farklı negatif basınç olduğu ileri sürülmüşse de, bu alınan miktarlar arasındaki farklılığı açıklamaya yetmemektedir (2). Aspire edilen materyalin miktarı aspirasyon sırasında kateterle temas eden kısımdaki anatomik yapı özellikleri gibi diğer başka faktörlerden de etkilenmektedir. Brambati ve arkadaşlarının yaptığı 400 vakalık bir çalışmada alınan doku miktarının %70'i 10-50 mg arasında bulunmuştur (2).

Çalışmamızda 92 uygulamanın 6'ında yetersiz (%6,52), 37'inde 5-10 mg (%40,21) ve kalan 49 vakada ise (%53,25) 10-30 mg materyal aspire edilmiştir (Tablo 4). Başarı oranı %93.47 (86/92)'dir. Bu konuda yayınlanmış deneysel vaka serisi azdır. Genger transservikal koryon villus biopsisi uyguladığı 100 vakalık deneme serisinde %74 oranında koryon dokusu aspire etmiştir (6). Klink diagnostik olarak yaptığı 69 vakalık seride başarı oranını %94 olarak bildirmiştir (19). Schulze 120 vakalık diagnostik serisinde %7,5 (26), Miny ise 1173 vakalık diagnostik serisinde %2.04 oranında başarısız aspirasyon olduğunu bildirmişlerdir (21).

Normalde uygulamaların %98'inde yeterli materyal alınabildiği bildirilmektedir. Teknik zorluk daha çok anteverسیون veya retroversion durumundaki uteruslarda servikal aksla intrauterin aks arasında belirgin bir açı varlığında ortaya çıkmaktadır. Bu vakalarda sert biopsi forsepsi

kullanılarak veya transabdominal koryon villus biopsisi uygulamalarıyla başarı oranının %100'e çıkarılabileceği gösterilmiştir (2).

Son 4-5 yıl içinde dünyada ortalama 35,000 koryon villus biopsisi uygulanmıştır. Maalesef, bu uygulanan biopsilerin bulguları şu veya bu sebeplerle değerlendirilmemiş ve prospektif olarak randomize bir çalışma yapılmamıştır.

Eylül 1984'den itibaren WHO (Dünya Sağlık Teşkilatı) önderliğinde bir komite koryon villus biopsisi, sonuçları ve gebeliklerin akibetlerini toplayıp değerlendirmek amacıyla bir program hazırlamıştır. Ancak buna katılım gönüllüler seviyesinde kalmıştır. 1987 sonunda ise 120 merkezin yapmış olduğu 35,538 uygulama değerlendirilmiştir. Bu çalışmalarda değişik tekniklerin uygulandığı görülmüştür. Buna rağmen tüm uygulamalarda gebelik bozulma oranının sabit kaldığı, bu oranın ortalama %3.8 ile %4.5 arasında değiştiği tespit edilmiştir (30). Bu komite hala uygulama sonuçlarını toplamakta ve gelen verileri değerlendirmektedir.

Son birkaç yıldır, Hogge ve arkadaşları (13), Brambati (3) ve Jackson (16) geniş serilerden oluşan raporlarıyla erken komplikasyonları ve erken gebelik kayıp oranlarını vermişlerdir.

Seçilecek olan yöntem hangisi olursa olsun ilk yapılacak işlem müdahaleden bir veya iki hafta öncesinden gelişen gebeliğin ultrason yardımıyla değerlendirilmesidir. Burada ultrason ile hem fetal kardiyak aktivite saptanmakta, hem de baş-makad mesafesi ve amnios kesesi ölçüleri alınarak gebelik haftasının son adet tarihine uyup uymadığı kontrol edilebilmektedir. Eğer fetal ölçüler beklenen gebelik haftasına göre bir haftadan fazla küçükse, müdahale uygun haftaya kadar geciktirilmelidir. Nitekim bazı çalışmalarda müdahale öncesi ultrason kontrollerinde %10'a varan "Blighted Ovum" tanısı konmuştur (28). Müdahalenin 9.cu haftadan sonra uygulanmasıyla, hem beklenen düşük riski azaltılacak hemde fetusde olabilecek kromozom anomalilerine bağlı spontan düşükler bir ölçüde ayırt edilecektir (10).

Brambati ve arkadaşlarının 1985 yılında yayınladıkları bir makalede transservikal koryon villus biopsisi uygulama tekniğini 5 ana basamağa ayırmışlardır (2). Bunlar:

1. Intrauterin olarak bakteriyal kontaminasyonun önlenmesi,
2. Plasental yapı ve lokalizasyonun değerlendirilmesi,
3. Servikal kanal ve internal servikal os'un değerlendirilmesi,
4. Biopsi aletinin ultrason görüntülemesi altında optimal bir verimle kullanılması,
5. Gebenin sağlığının değerlendirilmesidir,

Ultrason uterus, fetus ve eklerini değerlendirmek açısından en pratik ve güvenilir bir yöntemdir. Koryon villus biopsisi uygulanacak bir kişide ultrason ile yapılacak takipler bir protokol halinde belirtilmiştir (2):

A) Koryon villus biopsisinden 1 hafta evvel:

1. Gestasyonel "sac" volümü,
2. Embryo/fetusun durumu (çoğul gebelik, kardiyak aktivite)
3. Placenta (lokalizasyon ve görünümü)
4. "Yolk sac" çapı,
5. Umbilikal kord,
6. Uterus duvarı,
7. Ekosuz alanların tespiti,

B) Koryon villus biopsisi sırasında:

1. Ultrason ile yukardaki değerlendirmelerin yapılması,
2. Son bir değerlendirme yapılması,
3. Biopsi aletinin intrauterin olarak itilmesi,

C) Koryon villus biopsisinden 1-2 saat sonra: Kardiyak aktivite ve amniotik kesenin kontrolü,

D) Koryon villus biopsisinden 1 hafta sonra: Kardiyak aktivite ve amniotik kesenin kontrolü,

E) 18-22 ve 32-34. gebelik haftalarında,

1. Fetal büyümenin değerlendirilmesi-fetal biometri,
2. Fetusun anomali yönünden taranması,

Bu çalışmada amacımız koryon villus biopsisi tekniğinin uygulanması, geliştirilmesi ve klinik rutine sokulmasıydı. Ancak koryon villus biopsisi

uygulamaları genetik danışma merkezlerinin ve koryon villus biopsisine alternatif olan ikinci trimester prenatal tanı imkanlarının olduğu merkezlerde, yetişmiş deneyimli doktorlar tarafından yapılmalıdır. Diagnostik koryon villus biopsisi uygulamalarına geçmeden, o kişinin en az 50-100 tahliye vakasında deneysel olarak koryon villus biopsisi uygulayarak bu konuda tecrübesini artırması gerektiği bildirilmiştir (Dünya Sağlık Teşkilatı, Çalışma Grubu, 1984b) (30). Tahliye olmak isteyen kadınlara yapılacak uygulama anlatılıp, izin formları imzalatulmalıdır. Kişinin manipölasyonunu unutmaması için yılda ortalama 100-200 prosedür uygulaması önerilmektedir (2).

Bizde uygulamalarımızda belirli bir disiplini oturtabilmek amacıyla yukardaki protokole paralel bir protokol uyguladık. Nitekim diagnostik vakalara geçtiğimizde yerleştirilen bu rutin ve disiplinin çok faydalı olduğunu gözlemledik. Bizim sonuç oranımız %93.47 ile literatüre yakın bulunmuştur. Uygulamayı yapan operatörün tecrübesinin artması, vakaların gebelik haftalarının iyi değerlendirilip uygun zamanda koryon villus biopsisi uygulanması ve vakalara göre uygun yöntemin kullanılması başarı oranımızı arttıracaktır.

SONUÇ

Çalışmamızda, 92 vakaya transservikal koryon villus biopsisi uygulanmış ve %93.47'inde yeterli miktarda materyal aspire edilmiştir. Plasenta lokalizasyonunun ve uterus pozisyonunun aspire edilen doku miktarı üzerine etkisi saptanmamıştır. Ancak gebelik haftasının aspire edilen doku miktarı üzerine etkili olduğu bulunmuş ve gebelik haftası azaldıkça başarı oranının düştüğü gözlenmiştir. Kateter uygulama sayısının artmasının komplikasyonları artırdığı bildirilmiş, ancak bizim bu konuyu değerlendirmemiz mümkün olmamıştır. Uygulamayı yapan kişi diagnostik uygulamalara geçmeden, yeterli sayıda deneysel koryon villus biopsisi yaparak bu konuda tecrübesini arttırmalıdır. Diagnostik uygulamalar ancak genetik danışmanın verildiği ve güvenilir bir sitogenetik laboratuvarın olduğu merkezlerde yapılmalıdır.

ÖZET

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na Ocak 1989 ila Ocak 1991 tarihleri arasında gebeliğini tahliye ettirmek amacıyla başvuran 92 gebede transservikal koryon villus biopsisi uygulandı. 92 vakanın 86'nda yeterli miktarda koryon dokusu aspire edildi ve başarı oranı %93.47 olarak bulundu. Plasenta lokalizasyonu ile aspire edilen doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p<0.05$). Uterus pozisyonu ile aspire edilen doku miktarları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Gebelik haftaları ile aspire edilen doku miktarları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0.001$). Gebelik haftası azaldıkça yeterli materyal aspirasyon oranının düştüğü görüldü.

KAYNAKLAR

1. Brambati B., Simoni G.: Fetal diagnosis of trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Lancet* 1:586, 1983.
2. Brambati B., Oldrini A., Ferrazzi E., Lanzani A.: Chorionic Villi Sampling: General Methodological and Clinical Approach. First Trimester Fetal Diagnosis (Eds. Fraccaro M., Simoni G., Brambati B.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, s:7, 1985.
3. Brambati B., Oldrini A., Ferrazzi E., Lanzani A.: Chorionic villus sampling: an analysis of the obstetric experience of 1000 cases. *Prenat Diag* 7:157, 1986.
4. Brambati B., Simoni G.: Chorionzotten Entnahme im ersten Trimenon: Techniken und Anwendung zur cytogenetischen Diagnostik. *Prenatale Medizin* (Ed. Holzgreve W). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, s:117, 1987.
5. Department of Obstetrics and Gynecology, Tietung Hospital of Anshan Iron and Steel Co. Anshan, China. Fetal sex prediction by sex chromatin of chorionic villi cells during early pregnancy. *Chin Med J* 1:117, 1975.
6. Genger H., Schnedl W., Scholz P., Wagenbichler P.: Stellenwert der Chorionbiopsie in der klinischen Routine. *Geburts u Frauenh* 46:729, 1986.
7. Goldberg M.F., Chen A.T.L., Ahn Y.W., et al: First-trimester fetal chromosomal diagnosis using endocervical lavage: a negative evaluation. *Am J Obstet Gynecol* 138:436, 1980.
8. Goossens M., Dumez Y., Kaplan L., et al.: Prenatal diagnosis of sickle cell anemia in the first trimester of pregnancy. *N Eng J Med* 309:831-33, 1983.

9. Grebner E.E., Wapner R.J., Barr M.A., Jackson L.G.: Prenatal Tay-Sachs diagnosis by chorionic villi sampling. *Lancet* II: 286-87, 1983.
10. Gregson N.M., Seabright N.: Handling of chorionic villi for direct chromosome studies. *Lancet* 2:1491, 1983.
11. Hahnemann N., Mohr J: Genetic diagnosis in the embryo by means of biopsy from extraembryonic membranes. *Bull Europ Soc Hum Genetics* 2:23, 1974.
12. Hahnemann N: Early prenatal diagnosis: a study of biopsy techniques and cell culturing from extraembryonic membranes. *Clin Genet* 6:294-306, 1974.
13. Hogge W.A., Schonberg S.A., Golbus M.S.,: Chorionic villus sampling: experience of the first 1,000 cases. *Am J Obstet Gynecol* 154:1249, 1986.
14. Holzgreve W., Miny P.: Improved echogenicity of the catheter for chorionic villi sampling. *First Trimester Fetal Diagnosis* (Eds. Fraccaro M., Simoni G., Brambati B.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, s:63, 1985.
15. Holzgreve W., Miny P.: Chorionzotendiagnostik. Edition Medizin VCH Weinheim 1987. 30. Jackson LG. CVS Newsletter 14 Februar 1988.
16. Jackson L.G., Wapner R.J., Barr M.A.,: Safety of chorion villus biopsy. *Lancet* 1:674, 1986.
17. Kazy Z., Bakharev V.A., Stygar A.M.: Value of the ultrasonic studies in biopsy of the chorion, according to genetic indicators. *Akush-Ginekol (Mosk)* 8:29, 1979.
18. Kazy Z., Rozovsky I.S., Bakharev V.A.: Chorion biopsy in early pregnancy: A method of early prenatal diagnosis for inherited disorders. *Prenat Diag* 2:39, 1982.
19. Klink F., Iskenius F.U., Grzejczyk G., et al.: Gynaekologische und zytologische Aspekte der Praenataldiagnostik im ersten Trimenon. *Geburts u Frauenh* 46:729, 1985.

20. Kullander S., Sandahl B.: Fetal chromosome analysis after transcervical placental biopsies during early pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 52:355-59, 1973.
21. Miny P., Başaran S., Pawlowitzki I.H., et al.: Validity of cytogenetic analysis from trophoblast tissue throughout gestation. *Am J Med Genet* 21:152, 1990.
22. Mohr J: Foetal genetic diagnosis: development of techniques for early sampling of foetal cells. *Acta Pathol Microbiol Scand* 73:73, 1968.
23. Old J.M., Ward R.H.T., Karagözlü F., et al: First-trimester fetal diagnosis for haemoglobinopathies: three cases. *Lancet* 2:1414, 1982.
24. Rhine S.A., Cain J.L., Cleary R.E. et al: Prenatal sex sex detection with endocervical smears: succesful results utilizing Y-body fluoresence. *Am J Obstet Gynecol* 122:155, 1975.
25. Rhine S.A., Palmer C.G., Thompson J.F.: A simple alternative to amniocentesis for first trimester prenatal diagnosis. *Birth Defects* 13:231, 1977.
26. Schulze B., Miller K., Schaller C., et al.: Chorionbiopsie in der praenatalen Chromosomen-diagnostik. *Geburts u Frauenheilk* 46:363, 1986.
27. Simoni G., Brambati B., Danesino C., et al.: Efficient direct chromosome analysis and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet* 63:349-57, 1983.
28. Wapner R.J., Jackson L: Chorionic Villus Sampling. *Clin Obstet and Gynecol.* 31:2,328. 1988.
29. Ward R.H.T., Modell B., Petrou M., et al: A method of chorionic villus sampling in the first trimester of pregnancy under real-time ultrasonic guidance. *Br Med J* 286:1542. 1983.
30. World Health Organization Working Group: On first trimester fetal diagnosis of hereditary diseases, Geneva, 2-Mai, 1984b.