

Spontan Abortuslarda Korion Villus Örneklerinden (CVS) Direkt Kromozom Analiz Yöntemi İle Sitogenetik Değerlendirme

Ünal EGELİ*
Bülent BARAN**
İsmail EREN***
Şakir KÜÇÜKKÖMÜRÇÜ****

ÖZET

Bu çalışmada, spontan abortus materyalinden elde edilen korion villus (CV) hücrelerinden direkt kromozom analizi yöntemi ile sitogenetik değerlendirme yapılarak sayısal ve yapısal kromozom kusurları araştırıldı. Sitogenetik değerlendirme sonucunda 2 vakada mozaik tetraploidi, 1 vakada mozaik monosomi ve 1 vakada mozaik hiperdiploidi şeklinde sayısal kromozom anomalileri (CA) gözlemlendi. Ayrıca bir vaka'nun 14 metafaz fiğüründen ikisinde kırık şeklinde yapısal kusurlar belirlendi.

* Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Fen Fakültesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı.

** Uzm. Dr.; Zübeyde Hanım Doğumevi.

*** Araş. Gör. Dr.; U.Ü. Tıp Fak., Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı.

**** Doç. Dr.; U.Ü. Tıp Fak., Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı

SUMMARY

Cytogenetic Evaluation By Direkt Chromosome Analysis Method from Chorion Villus Samples (CVS) in Spontaneous Abortions

In this study, we investigated number and structural defects of chromosomes by direkt chromosome analysis method of chorion villus sampling (CVS) from spontaneous abortions. In the result of cytogenetical evaluation we observed number chromosome anomalies as mosaic tetraploidy in two cases, mosaic hyperdiploidy in one case and mosaic monosomy in one case. Moreover, we determined structural defects such as breaks in the two figures from 14 metaphase figures.

GİRİŞ

Ekseri poliploidiler, otosomal trisomiler ve X-monosomiye de içine alan hemen hemen tüm monosomiler gebeliğin erken safhalarında lethal olarak kaybolurlar¹⁻⁵. Spontan abortusların % 90'ı gebeliğin ilk trimestresinde vukuu bulur⁶. Kromozomal aneuploidilerin insidansı gebelik süresine göre değişir⁴. Ölü doğumlarda insidans % 67, geç spontan abortuslarda % 6,5 - % 11,5^{1,8} arasındadır. Bu oranlar 8-12 haftalık embriyonik gelişim evresinde % 25 ve 2-7 haftalık embriyonik gelişim evresinde ise % 66'ya kadar çıkar⁶. Missed abortuslar son kategori içine girer, çünkü onlar erken embriyonik ölüm ile karakterize edilir. Fakat 10-14. haftaya kadar trofoblast gelişiminin engellenmesi sonucu böyle vakalar genellikle anembriyonik gebelik şeklinde ortaya çıkabilir⁴. Spontan abortusların sitogenetik analizi, çeşitli populasyon ve yaş gruplarında kromozom anomalilerinin sıklığı, onların etiyojisi, tekrarlama riskleri ve bir populasyonda şüphelenilen mutagen etmen aktivitesi hakkında bize aydınlatıcı bilgiler verebilir^{4,6}. Keza, karyotip bilgilerinin klinik bulguları ile alakalı olması kromozom kurlarından kaynaklanmayan abortusların araştırılma yönü hakkında bize önceden bilgi verme hususunda yardımcı olabilir⁹. Son yıllarda geliştirilen muhtelif sitogenetik teknikler ile^{9,10,11,12} spontan abortusların korion villus (CV) hücrelerinden kromozom analizi yapılarak kromozom anomalilerini saptamak mümkün olmuştur.

MATERYAL VE METOD

Bu araştırma Bursa Zübeyde Hanım Doğumevi Septik Servisi ve Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına gebeliğin ilk trimestrinde kanama şikayeti ile başvuran ve spontan düşük yapan hastalar üzerinde Bursa Zübeyde Hanım Doğumevi Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirildi. 7-10 haftalık spontan abortusların kürtaj materyallerinden elde edilen CV örnekleri; 1983 yılında Simoni ve arkadaşları tarafından geliştirilen¹⁰

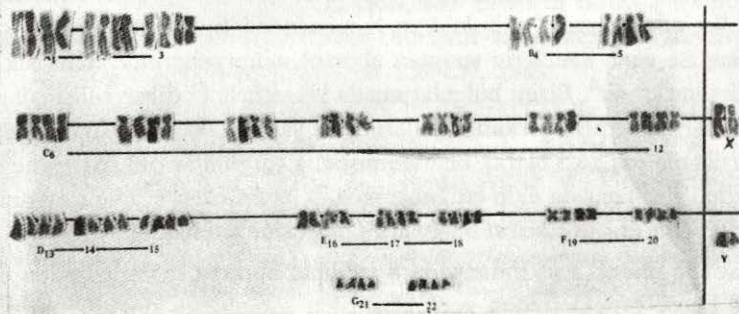
direkt kromozom analiz yöntemi modifiye edilerek içerisinde 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ cholcine bulunan T.C. Medium 199 solüsyonuna alındı. 1 saat süreyle 37°C lik etüvde bekletildi. Daha sonra hücrelere 30 dakika 0.075 M KCL solüsyonunda hipotonik şok uygulandı. Bu işlemden sonra hücreler 1/3'lük acetic acid-methanol solüsyonunda 30 dakika fixe edildi ve son aşamada lam üzerine yayılarak gimza boyası ile boyanıp preparatlar mikroskopta değerlendirilecek hale getirildi ve elde edilen metafaz figürlerinden muhtelif kromozom kusurları belirlenmeye çalışıldı.

BULGULAR

Bulgular Tablo: I'de verilerek 1. vakaya ait örnek karyotip figür 1'de gösterildi. Yaşları 18-30 arasında değişen 8 vakanın 7-10 haftalık spontan abortus metaryali CV hücrelerinden yapılan sitogenetik değerlendirme sonucunda 2 vaka'da mozaik tetraploidi (Fig. 1), 1 vaka'da mozaik hiperdiploidi, 1 vaka'da mo-

Tablo: I- 8 Spontan Abortus Vakasında Sitogenetik Bulgular

Vaka No.	Anne Yaşı	Sayılan Metafaz	Normal Karyotip	Kromozom Sayı Kusuru			Kromozom Yapı Kusuru
				Mozaik Monosomi	Mozaik Hiperdiploidi	Mozaik Tetraploidi	Kırık
1	25	15	10(46XY)	—	—	5(92XXYY)	—
2	18	17	14(46XX)	—	—	3(92XXXX)	—
3	26	20	20(46XX)	—	—	—	—
4	25	15	13(46XY)	—	2(48XY)	—	—
5	22	19	19(46XY)	—	—	—	—
6	24	13	10(46XX)	3(45X0)	—	—	—
7	30	21	21(46XX)	—	—	—	—
8	26	14	12(46XY)	—	—	—	2



Figür: 1

Vaka No 1: 92XXYY, Tetraploid Karyotip Yapısı

zaik X monosomi şeklinde sayı kusurları belirlendi. Ayrıca 1 vaka'da kırık şeklinde kromozom yapı kusuru gözlemlendi. Yapılan karyotip analizlerinde hiperdiploid figürlerde fazla kromozomların D ve G grubu kromozomlara ait olduğu, monosomik figürlerde ise X kromozomuna ait olduğu gösterildi.

TARTIŞMA

Kromozom sayı ve yapı kusurlarına sahip embriyolar genel olarak fetal hayatın erken dönemlerinde spontan abortus şeklinde kaybolurlar^{4,8,9}. CV hücrelerinden direkt kromozom analizi, kısa ve uzun süreli doku kültürü yöntemleri ile yapılan sitogenetik çalışmalarda sayısal kusurların trisomi, poliploidi ve monosomi şeklinde olduğu belirlenmiştir^{4,8,9,13,14}. Ayrıca korion villuslerinin morfolojik ve histolojik yapılarının bozukluğu ile kromozom anomalileri ve düşükler arasında direkt bir bağlantının olduğu belirlenmiştir^{4,14}. Biz, 8 spontan abortus materyalinden elde ettiğimiz CV hücrelerinden yaptığımız sitogenetik değerlendirmede 2 vaka'da tetraploidi, 1 vaka'da hiperdiploidi, 1 vaka'da X-monosomi saptadık.

CV hücre kültürlerinde poliploidinin nedeni kesin olarak bilinmemektedir⁴. Bu konuda yapılan bir çalışmada tetraploidinin annenin hücrelerinin embriyonun CV materyaline karışması ile bir doku kültürü artefaktı olarak mitotik endoreduplikasyondan dolayı meydana gelebileceği, embriyo veya plasenta içinde in vivo olarak oluşabileceği ileri sürülmüştür^{4,15}. Bunun sonucu olarak da mozaik yapının oluşabileceği belirtilmiştir. Bazı çalışmalarda belirtildiği gibi CV hücrelerinden gerek direkt kromozom analizi, gerekse kısa ve uzun süreli doku kültürü çalışmalarında monosomik ve trisomik metafaz figürlerini içeren mosaisizm oldukça sık rastlanmaktadır^{11,15,16}. Bununla beraber mosaisizmin direkt kromozom preparatlarında daha sık görüldüğü, bunun da nedeninin sitotrofoblastlar ile sınırlı post zigotik non-disjunction olaylarının olduğu belirtilmiştir¹³. Regüler tipteki trisomik kromozom sayı anomalilerine yaşlı annelerin abortus materyallerinde, mozaik, poliploid ve X-monosomi tipteki kromozom sayı anomalilerine ise genç annelerin spontan abortus materyallerinde daha sık rastlandığı belirtilmektedir⁴. Bizim bulgularımızda literatürdeki diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Nitekim vakalarımızın yaşları 18-30 arasında değişmekte olup, ortalama yaş 24,5 olarak belirlenmiştir. Yani bunlar oldukça genç annelerdir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz mozaik kromozom konfigürasyonları, literatürdeki diğer araştırmaların bulgularını destekler niteliktedir.

Sonuç olarak araştırmamızda 8 spontan abortus materyalinden elde edilen CV hücre örneklerinden gerçekleştirilen sitogenetik değerlendirmede mozaik tipteki sayısal anomalilerin yapısal kromozom anomalilerinden daha sık olarak görüldüğü belirlendi.

KAYNAKLAR

1. CREASY, M.R., CROLLA, J.A., ALBERMAN, E.D.: A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. *Hum. Genet.*, 31: 177-196, 1976.
2. FRENCH, F.E., BIERMAN, J.M.: Probabilities of fetal mortality. *Public Health. Rep.*, 77: 835-847, 1962.
3. MILLER, J.F., WILLIAMSON, E., GLUE, J., GORDON, Y.B., GRUDZINSKAS, J.G., SYKES, A.: Fetal loss after implantation. *Lancet II*: 554-556, 1980.
4. REHDER, H., COERDT, W., EGGERS, R., KLINK, F., SCHWINGER, E.: Is there a correlation between morphological and cytogenetic findings in placental tissue from early missed abortions? *Hum. Genet.*, 82: 377-385, 1989.
5. ROBERTS, C.J., LOWE, C.R.: Where howe all the conceptions gone? *Lancet. I*: 498-499, 1975.
6. BOUE, A., BOUE, J., GROPP, A.: Cytogenetics of pregnancy wastage. *Adv. Hum. Genet.*, 14: 1-57, 1985.
7. SUTHERLAND, G.R., CARTER, R.F., BAULD, R., BAIN, A.D.: Chromosome studies at the paediatric necroscopy. *Ann. Hum. Genet.*, 452: 173-181, 1978.
8. WARBURTON, D., YU, C.Y., KLINE, J., STEIN, Z.: Mosaic autosomal trisomy in cultures from spontaneous abortions. *Am. J. Hum. Genet.*, 30: 609-617, 1978.
9. EIBEN, B., BORGMANN, S., SCHUBBE, I., HANSMANN, I.: A cytogenetic study directly from chorionic villi of 140 spontaneous abortions. *Hum. Genet.*, 77: 137-141, 1987.
10. SIMONI, G., BRAMBATI, B., DOMESINO, C., ROSELLA, F., TERZOILI, B.L., FERRARI, M., FRACCARO, M.: Efficient direct chromosome analysis enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum. Genet.*, 63: 239-257, 1983.
11. SIMONI, G., GIMELLI, G., CUOCO, C., ROMITTI, L., TERZOILI, G., GUERNERI, S., ROSELLA, F., PESCIOTTO, L., PEZZOLO, A., PORTA, S., BRANBATI, B., PORRO, E., FRACCARO, M.: First trimester fetal karyotyping: One thous-and diagnoses. *Hum. Genet.*, 72: 307-310, 1986.
12. WEKEMANS, M.J.J., PERRY, T.B.: Cytogenetic analysis of chorionic villi: a technical assessment. *Hum. Genet.*, 72: 307-310, 1986.
13. LESCHOT, J.N., WOLF, H., VAN PROOIJEN-KNEGT, C.A., VAN ASPAREN, J.C., VERJAAL, M., SCHURING-BLOOM, H.G., BOER, K.,

- KANHAI, H.H.H., CHRISTIANES, L.M.C.G.: Cytogenetic findings in 1250 chorionic villus samples obtained in the first trimester with clinical follow-up of the first 1000 pregnancies. *Br. J. Obstet. Gyn.*, 96: 663-670, 1989.
14. SZULMAN, A.E., PHILIPPE, E., BOUE, J.G., BONE, A.: Human triploidy: association with partial hydatidiform moles and nonmolar conceptuses. *Hum. Pathol.*, 12: 1016-1021, 1981.
 15. KALOUSEK, K.D., DILL, J.F., PANTZAR, T., MCGILLIVRAY, C.B., YONG, L.S., WILSON, D.R.: Confined chorionic mosaicism in prenatal diagnosis. *Hum. Genet.*, 77: 163-167, 1987.
 16. EICHANBAUN, S.Z., KRUMINS, E.J., FORTUNE, D.W., DUKE, J.: False negative finding on chorionic villi sampling. *Lancet II*: 391-392, 1986.

Yard. Doç. Dr. Ünal EGELİ
U.Ü. Fen Fakültesi
Genel Biyoloji Anabilim Dalı
BURSA