

PRENATAL TANIDA BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERİN KULLANIMI

Sevgi ESKİOCAK¹, Muzaffer ESKİOCAK²

THE USE OF CLINICAL BIOCHEMISTRY METHODS IN PRENATAL DIAGNOSIS

Summary: Prenatal diagnostic methods are used to determine structural abnormality, diseases and genetic disorders at fetus in antenatal period. Today, women have child at late age because they work, in vivo fertilization studies are become widespread and families want to more information about health of their child, so they apply frequently to prenatal diagnosis centers. Although ultrasonography (US) and genetic methods are used as prenatal diagnostic test, biochemical techniques have not sufficiently become widespread. The biochemical techniques are useful for prenatal and antenatal diagnosis at both inherited metabolic disorders and congenital abnormality such as Down's syndrome, neural tube defect. Amniotic fluid, samples of fetal blood or tissues, maternal blood or urine and fetal cells in maternal blood are used as test material in biochemical analysis. In this review, the usage area and time of biochemical tests in prenatal diagnosis are discussed.

Anahtar Kelimeler: Prenatal Diagnosis, Biochemical Methods.

Özet: Fetustaki yapısal anomalileri, hastalıkları, genetik bozuklukları doğum ve gebelik öncesi dönemde tespit etmek için prenatal tanı yöntemleri kullanılmaktadır. Günümüzde; kadınların çalışma hayatına atılması nedeniyle anne olma yaşının ileriye kayması, fertilizasyon çalışmalarının yaygınlaşması ve ailelerin doğacak bebeklerinin sağlık durumunu bilme isteklerinin daha fazla olması nedenleriyle prenatal tanı merkezlerine sıklıkla başvurulmaktadır. Prenatal tanı testlerinde ultrasonografik ve genetik yöntemler sıklıkla kullanılmakla birlikte biyokimyasal teknikler yeterince yaygınlaşmamıştır. Gerek kalıtsal metabolik hastalıkların bazılarının gerekse Down Sendromu, nöral tüp defekti gibi doğumsal anomalilerin prenatal ve antenatal dönemlerde tanı konmasında biyokimyasal analizler yararlı olmaktadır. Biyokimyasal analizlerde test materyali olarak amnios sıvısı, fetal kan veya doku örneği, maternal kan veya idrar örneği, maternal kandaki fetal hücreler kullanılmaktadır. Bu derlemede biyokimyasal test tekniklerinin prenatal tanıda kullanım alanı ve zamanı incelenmek istenmiştir.

Key Words: Prenatal Tanı, Biyokimyasal yöntemler

GİRİŞ

Bariz anomalileri, hastalıkları veya hayatın erken döneminde ölümle sonuçlanan genetik bozuklukları ve doğumsal kusurları doğum öncesi dönemde tespit etmek için prenatal tanı teknikleri kullanılmaktadır. Prenatal tanı tekniklerinin maliyeti yüksektir, ancak bu tür hastalıklara sahip bir çocuğun ailesine ve topluma yükleyeceği maddi-manevi yük göz önüne alındığında; bu tekniklerin çok da pahalı olmadığı ortaya çıkar. Dünyada her yıl 100 canlı doğumdan 3'ü

doğumsal anomalili olarak doğmaktadır. Yılda 1.5 milyon çocuğun doğduğu ve doğumsal anomalilerin etyolojisinde en çok suçlanan faktörlerden biri olan akraba evliliğinin sık yapıldığı ülkemizde yaklaşık olarak yılda 67 500 doğumsal anomalili çocuğun doğduğu tahmin edilmektedir (1). Son yıllarda kadınların da çalışma hayatına atılması ile aileler çocuk sahibi olmayı ertelemektedir, ileri yaştaki gebeliklerde doğumsal anomali riskinin daha fazla olduğu bilindiğinden; aileler daha fazla oranda prenatal tanı için merkezlere başvurumaktadırlar.

¹ Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı,

² Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı,

Bu testlerin sonucunda alınacak prenatal karar; kişisel, geleneksel ve yasal kurallardan etkilenmektedir. Bazı anne-babalar; bebekleri hakkında kendileri için dönüm noktası olacak bilgileri bilmemenin bunalımını yaşarlar. Bu tip aileler için; fetusun durumunun tamamen açık bir şekilde saptanmasında yarar vardır. Etkilenmiş gebeliğin sonlandırılma seçiminin yanı sıra çok az sayıda hastalık intrauterin olarak tedavi edilebilir veya özel takip ile etkilenmiş fetusun daha fazla hasar görmesi önenebilir. Örneğin; metilmalonik asidemili bir fetus taşıyan anneye vitamin B12, galaktozemik fetusa gebe olan anneye ise, galaktozdan fakir diyet uygulanabilir. Diğer yandan; prenatal tanı için başvuran, ancak anormal bir sonuç çıksa bile gebeliği sonlandırmayı düşünmeyen aileler de vardır. Bu tip aileler; çocuklarının doğumu ve doğumdan sonraki postnatal bakımı hakkında bilgi sahibi olmak isterler (2-4).

Prenatal tanının endikasyonları çoktur, ancak maliyeti yüksek olan bu testlerin uygulanma endikasyonu ve yapılacak olan test türünün seçimi dikkatli yapılmalıdır. Bununla beraber; belli bir toplumda yaygın olan hastalıklar için endikasyon olsun-olmasın tüm gebelerde tarama amacıyla test yapılabilir. Prenatal tanı endikasyonları özel, genel ve etnik riskler şeklinde sınıflandırılmaktadır. Tablo I'de prenatal tanı endikasyonları özetlenmiştir (4,5). Prenatal tanı için kullanılan teknikler; görüntüleme teknikleri (US, Yüksek rezolüsyonlu US, fetoskopi, MR, fetal ekokardiyografi, embriyoskopi gibi), biyokimyasal yöntemler, rutin ve elektron mikroskopisi, kromozomal analiz ve moleküler genetik analizdir. Bu derlemede biyokimyasal yöntemlerin prenatal tanıda kullanımı incelenmek istenmiştir.

BİYOKİMYASAL YÖNTEMLERİN KULLANIMI

Biyokimyasal yöntemler; genetik metabolik hastalıklar, diğer doğumsal anomaliler ve intrauterin problemlerin prenatal tanısını yapmak için kullanılırlar.

Tablo I: Prenatal Tanı Endikasyonları (4,5)

A-Genel risk faktörü:

a) Maternal yaşın 35 ve üzerinde olması.

B-Etnik risk faktörü:

a) Akdenizli, Afrikalı, Zenci, Arap ve Pakistanlılarda; orak hücreli anemi,

b) Akdenizli, Çinli, Güney ve Güneydoğu Asyalılarda; α ve β talasemi sıklığı.

C-Özel risk faktörleri:

a) Daha önceden yapısal veya kromozomal anomali çocuk sahibi olunması,

b) Daha önceki gebeliklerde ölü doğum veya neonatal ölüm hikayesi olması,

c) Anne veya babada yapısal anomali olması,

d) Anne veya babada dengeli translokasyon varlığı,

e) Annenin X'e bağlı bir hastalık veya fragil X taşıyıcısı olması,

f) Ailede kalıtsal bir hastalığın olması,

h) Annenin metabolik bir hastalığının olması,

g) Gebelik sırasında iyonize radyasyon, alkol, antikönsülif ilaç veya teratojenik bir ajana sunuk kalma,

I) Gebelik sırasında rubella, toksoplazmosis, sitomegalovirüs gibi bir enfeksiyon geçirilmesi.

A-KALITSAL METABOLİK HASTALIKLARIN BİYOKİMYASAL PRENATAL TANISI

Kalıtsal metabolik hastalıkların prenatal tanısında biyokimyasal analizlerin kullanılmasındaki temel kavram; zararlı bir mutasyonu saptamak için, bazı fetal doku türlerine biyokimyasal teknikler uygulamaktır. Bu tek kural biyokimyasal bozuklukların tümü için geçerli olmasına rağmen; gen ürününün biyokimyasal yapısı ve fonksiyonuna bağlı olarak kullanılan yöntem ve örnek türü çok çeşitli ve farklıdır. Gen ürünü daima bir proteindir. Bunlar; enzim, yapısal proteinler, transport proteinleri, kontraktil proteinler, immunglobülinler, peptid hormonlar veya regülatör proteinler olabilir. Mutasyonlar, bu proteinlerin herhangi birinde kusur yaratmakta ise de bilinen kalıtsal metabolik hastalıkların çoğunda kusurlu olan protein; bir enzimdir. Kusurlu olan enzimi saptamak için 2 temel biyokimyasal yol vardır:

I-Direkt olarak enzim aktivitesinin ölçülmesi,

II-Enzim eksikliğinin sonucu olarak biriken bazı metabolit düzeylerinin ölçülmesi.

I-Enzim Aktivitesinin Ölçülmesi: Enzim analizi ile prenatal tanı uygulamasında ilk adım kusurlu enzimin bilinmesidir. Enzim; elde edilmesi mümkün olan fetal dokularda bulunmalıdır ve kullanılan analiz güvenilir olmalıdır. Her hastalık için spesifik enzim gerekmektedir. Kullanılan yöntemlerin hepsindeki temel özellik; reaksiyonda kullanılan substrat, kofaktör veya oluşan ürün miktarının ölçülmesidir. Substrat, kofaktör veya ürünün; kromojenik, florojenik bir ajana bağlanma veya radyoaktif etiketle işaretlenme gibi özellikleri ölçümde kolaylık sağlar. Bir enzim eksikliğinin saptanmasında en önemli nokta; uygun sentetik bir substrat veya doğal bir substratın bulunmasıdır. Analizde rol oynayan diğer faktörler; enzim stabilitesi, spesifitesi, enzimatik aktivite düzeyi ve etkilenen homozigot ile etkilenmeyen heterozigot (taşıyıcı) durumlarını birbirinden tutarlı olarak ayırt edilmesidir (6). Prenatal tanı amacıyla enzim analizi için; koryonik villus ve trofoblast kültürü, amniyon sıvısı hücre kültürü (ASHK), preimplantasyon embriyoları, maternal sirkülasyondaki fetal hücreler ve fetal kan örnekleri kullanılır (7-9)

II-Metabolit Analizi: Metabolit ölçümü; kusurlu enzim bilinmediği veya enzim analizi teknik açıdan pratik veya güvenilir olmadığı zaman kullanılır ve enzim eksikliği sonucu biriken bir metabolitin kantitatif ölçümü yapılır. Metabolit analizinde kullanılan materyal; amniyotik sıvı, maternal idrar ve koryonik villüs, kullanılan yöntemler ise; gaz kromatografisi, yüksek performans likit-iyon değişim kromatografisi ve kütle spektrofotometresidir.

Tanı güvenilirliğini arttırmak için enzim analizi ve metabolit tayini birlikte yapılabilir.

BIYOKİMYASAL YÖNTEMLERLE PRENATAL TANISI YAPILABİLEN METABOLİK HASTALIKLAR

McKusich (10)'in yaptığı genetik hastalıklar kataloğunda 300'den fazla kalıtsal metabolik hastalık

belirtmiştir. Bu hastalıklardan prenatal olarak tanı konulabilen sfingolipidoz ve mukopolisakkaridozlar, metabolik bozuklukların en yaygın grubunu oluşturmaktadır. Metabolik hastalıkların diğer büyük sınıflarını ise; aminoasit, karbonhidrat, purin, pirimidin, porfirin, lipid, kollojen, eser element ve üre döngüsünün metabolik bozuklukları oluşturur. Grabowski ve ark (11) prenatal tanısı yapılabilen 64 hastalık ve prenatal tanısı muhtemelen yapılabilen 79 hastalık bildirmişlerdir. Son zamanlarda koryonik villüs örneklerinde biyokimyasal yöntemlerle prenatal tanı konabilen 35 farklı kalıtsal metabolik hastalık listelenmiştir (12). Tablo II'de biyokimyasal yöntemlerle prenatal tanısı konabilen hastalıklardan bazıları, analizlerde kullanılan materyal, ölçümü yapılan analitler görülmektedir (10-34).

a) Mukopolisakkaridozlar (MPS), mukolipidozlar ve lipidozlar: MPS, mukolipidoz ve lipidozlarda lizozomal enzimlerin bir veya daha fazlasında eksiklik söz konusudur. Bu enzimler; glikolipid ve mukopolisakkarid komplekslerinin lizozomlarda yıkılmasında yer alırlar, enzimlerin herhangi birindeki yokluk; lizozomlarda yıkılmamış substratların birikimine ve karakteristik klinik sendroma yol açar. Lizozomal depo hastalıkları non-immün hidrops fötalisin en önemli nedenlerinden biridir (13). Kordosentez ile alınan fetal kan, koryonik villüs veya ASHK kullanılarak önemli bir kısmı prenatal dönemde saptanabilir (Tablo II). Mukopolisakkaridoz Tip I'de kusurlu olan alfa-L-idurinaz enziminin Km, Vmax gibi kinetik özelliklerinin belirlenmesi ile etkilenmemiş heterozigotlar ayırt edilebilir (14). Mukolipidosis IV'deki kusurlu enzim henüz tanımlanmamıştır, ASHK'daki hücrelerin lizozomlarında karakteristik lipid birikiminin elektron mikroskopisinde gözlenmesi ile prenatal tanı konmaktadır. Ancak yeterince görülebilir lipid inklüzyonları elde etmek için; hücreler en uygun koşullar altında 3 pasaj olarak kültür yapılmalıdır, ayrıca analiz subjektiftir ve etkilenmiş homozigotları heterozigotlardan ayırmak bir hayli deneyim gerektirmektedir. Lizozomal alfa-



Tablo II: Biyokimyasal Yöntemlerle Prenatal Tanı Konabilen Bazı Metabolik Hastalıklar (10-34):

Hastalık	Materyal	Yöntem	Ölçümü yapılan enzim veya Analit
Hurler send. (MPS IH)	ASHK	Enzim akt.	α -L idurorinaz
Hunter send.(MPS II)	TK	Enzim akt.	idoronosülfat sülfataz
Sanfilippo send.(MPS IIIA)	ASHK	Enzim akt.	Sulfamidaz
Mukolipidozis IV	ASHK	Elektron mik.	lizozomlarda karakteristik lipid birikimi
GM1 Gangliosidoz	ASHK	Enz.akt.	β -galaktosidaz
Tay-Sachs	ASHK	Enz.akt.	heksozaminidaz A
Nieman Pick Tip A	ASHK	Enz.akt.	sfiingomiyelinaz
Gaucher Hastalığı	ASHK	Enz. akt.	β -glukosidaz
Farby Hastalığı	ASHK / KV	Enz.akt.	α -galaktosidaz
Metakromatik Lökodistrofi	ASHK / TK.	Enz.akt. / kromotografi	arilsülfataz / lipid tespiti
Akça Ağaç İdrar Hast.	ASHK / KV	Enz.akt.	α -ketoasid dehidrogenaz
Sistinoz-Sistinüri	ASHK	Metabolit	Sistin ölçümü
Homosistinüri	ASHK	Enz. akt	sistasyon sentetaz
Glutarik Asidüri	ASHK / AS	Enz.akt./metabolit	kusurlu yağ asidi oksidasyonu / anormal organik asit profili
Metil Malonik Asidüri	ASHK / maternal idrar	Enz.akt./metabolit	¹⁴ C-propiyonik asit yıkımı / maternal idrarda metilmalonik asit bulunması
Galaktozemi	ASHK / AS	Enz.akt./metabolit	galaktoz 1-fosfat-ürüdidil transferaz / glikolol
Von Gierke (GDH Tip I)	Fetal KC	Enz.akt.	glukoz-6-fosfataz
Pompe Hast. (GDH Tip IIa)	ASHK / AS hücreci	Enz.akt./elektron mik.	asid α -glukosidaz / anormal intrasellüler lizozom
Amilopektinosis (GDH Tip IV)	ASHK / TK	Enz.akt.	amilo-1,4→1,6 transglukosidaz
Mannosidoz	ASHK	Enz.akt.	α -mannosidoz

ASKH: Amnios Sıvısı Hücre Kültürü

TK: Trofoblast Kültürü

AS: Amnios Sıvısı

KV: Koryonik villüs

N-asetil nörominidaz (sialidaz) eksikliğinin yol açtığı sialidozis Tip II'nin prenatal tanısı deri fibroblast kültüründe enzim aktivitesi ve [14C] metilamin inkorporasyonunun artışı ile konabilir (15). Metakromatik lökodistrofi; ASHK'da arilsülfataz aktivitesinin yetersiz olduğunun tespiti ile saptanabildiği gibi, ASHK veya kültüre trofoblastlardan ekstrakte edilen lipidlerin kromotografik analizi ile de tanı konabilir.

b) Amino Asid Metabolizma Bozuklukları:

Tanımlanmış yaklaşık 50 tane amino asid ve ilgili bileşiklerin metabolik bozuklukları vardır. Bunların 23 tanesinin prenatal tanısı mümkündür, geri kalanlardan normal fibroblast veya fetal dokularda enzim aktivitesi bulunanların potansiyel olarak prenatal tanısı konabilir. Biyokimyasal analiz yöntemleri ile tanı konabilen amino asid metabolizma

bozukluklarının bazıları şunlardır: Canavan hastalığı, sistinozis, gyrate atrofi, glutarik asidüri tip I, glutarik asidüri tip IIa, glutarik asidüri tip IIb, metil malonik asidemi, akça ağacı idrar hastalığı, homosistinüri, okulokutanöz albinizm, fenilketonüri tip I, fenilketonüri tip II, fenilketonüri tip III, mevalonik asidüri, tirozinemi tip I, sitrülünemi, isovalarik asidemi, propiyonik asidemi, primer hiperokzalüri, kombine metilmalonik asidüri ve homosistinüri tip I, homosistinüri tip II, 3-hidroksi 3-metil glutarik asidemi (6-8,16-24,26). Analiz için; ASHK ve koryon villüsü kullanılmaktadır. Literatürde non-ketotik hiperglisineminin prenatal tanısında biyokimyasal yöntemlerin kullanılabileceğini bildiren yayınların yanı sıra biyokimyasal yöntemlerin etkilenmiş fetusu ayırt etmede yetersiz kaldığını bildiren yayınlar da vardır (24,26).

Akçaağacı idrar hastalığında; koryon villüs ve ASHK'da [14C]löklin oksidasyonu ölçülür fakat yetersiz büyüyen hücreler yanlış tanıya yol açabileceğinden ASHK'daki hücrelerin durumu önemlidir. Glutarik asidüri tip II doğumdan kısa süre sonra solunum zorluğu, metabolik asidoz, non-ketotik hipoglisemi ve terli ayak kokusu ile karakterizedir. Henderson ve ark. (16) amniyotik sıvıda anormal organik asid profili ve ASHK'da kusurlu yağ asidi oksidasyonunun birlikte değerlendirilmesi ile prenatal tanı konabileceğini bildirmişlerdir.

c) Lipid Metabolizma Bozuklukları: Yağ asidlerinin beta oksidasyonunda yer alan 3-hidroksiasil-KoA dehidrogenaz eksikliği prenatal olarak saptanabilmektedir (8).

d) Karbonhidrat (KH) Metabolizma Bozuklukları: Enzim kusuru bilinen 19 tane karbonhidrat metabolizma hastalığı vardır. Galaktozemi, Von-Gierke, Pompe, Cori, Piruvat karboksilaz eksikliği, fruktoz-1:6 difosfataz eksikliği, gliserol kinaz eksikliği, Andersen hastalığı olmak üzere bunların 8'ine prenatal olarak tanı konulabilmektedir (25-31). Prenatal tanının çoğu ASHK veya koryonik villüsde enzim analizi ile yapılır. Galaktozemide; amniotik sıvıda galaktol miktarının gaz kromatografi ve kütle spektrofotometresi ile miktar tayini ve ASHK'da galaktoz-1-P-üridiltansferaz enzim aktivitesinin azlığı ile tanı konulabilir (25). Glukoz-6-fosfataz fibroblast veya kan hücrelerinde bulunmadığından dolayı Von Gierke hastalığının tanısı için karaciğer biyopsisi yapılması gerekir. Glikojen depo hastalığı tip IIa ASHK da enzim aktivitesi ve amniotik sıvı hücrelerinde elektron mikroskopi ile anormal hücre içi lizozom birikimi ile tanı konabilir (26). Prenatal tanı yapılamayan KH metabolizma bozukluklarının çoğu beningdir ve prenatal tanı endikasyonu yoktur.

e) Üre Döngüsü Enzim Kusurları: Biyokimyasal yöntemler ile prenatal tanı uygulanmasında gereç ve yöntem çeşitliliğinin iyi bir örneği üre döngüsü enzimlerinde görülebilir. Üre döngüsü; ardışık

çalışan 5 enzimden oluşan metabolik bir yoldur. Bunlar; karbamoil fosfat sentetaz I (CPS-I), ornitin trans-karbamoilaz (OTC), argininosüksinat sentetaz, argininosüksinat liyaz ve arginazdır. Üre döngüsü ile ilgili tanımlanabilen 5 hastalığın hepsi klinik olarak birbirine benzerdir. Enzimler ortak bir metabolik yolağa katıldığından; aynı doku kullanılıp nispeten benzer tekniklerle aktivite ölçümü yapıldığı akla gelebilir. Ancak; CPS-I ve OTC karaciğerde bulunduğu için analizleri fetal karaciğer biyopsisi gerektirirken arginaz eksikliği fetal kan örneğinden de saptanabilir. Bununla beraber; argininosüksinat liyaz eksikliği ise ASHK'da enzim aktivitesi veya argininosüksinik asid düzeyi ölçülerek saptanabilir. Argininosüksinat sentetaz fibroblast ve koryonik villüslerde bulunur, fakat heterozigotlarda da düşük seviyededir ve etkilenmiş homozigotlardan ayırmak güçtür. Bu enzim eksikliğini saptamak için direkt enzim aktivitesi analizinden daha güvenilir bir yöntem; intakt ASHK'da asitle çöktürülebilir proteinde [14C]sitrülin uptake ölçümüdür. Sonuç olarak; bu enzimler ortak metabolik yolda yer almalarına rağmen analizlerinde kullanılan yöntemler çok farklıdır ve farklı dokular gerektirmektedir.

f) Bağışıklık Sistemi Hastalıkları: Prenatal tanı konabilen yaklaşık 9 adet bağışıklık yetmezlik hastalığı vardır. Bazıları amniotik sıvı hücreleri veya koryon villüsünde enzim analizi ile; diğerleri ise fetal lenfositlerin hücre yüzeyindeki biyokimyasal belirteçlerin analizi ile tanı konulabilir (6).

g) Diğer Kalıtsal Hastalıklar: Purin-pirimidin metabolizma bozukluklarından olan Lesch-Nyhan Sendromunda; ASHK'da hipoksantin-guanin fosforibozil transferaz enzim aktivitesi veya amniotik sıvıda ürik asit miktar belirtimiyle prenatal tanı konabilir.

Konjenital eritropoetik porfirianın prenatal tanısı için koryonik villüste üroporforinojen III kosentaz aktivitesi ölçülür.

Menkes hastalığında bakır taşınımında bozukluk vardır, transportta yer alan proteinler bilinmesine



rağmen kusurlu olan henüz bilinmemektedir. Bu hastalıkta koryon villüste aşırı bakır birikmesi gösterilerek tanı konulabilir.

ASKH ve koryon villüsünde enzim aktivitesi ölçümü ile, X genine bağlı cutis laksa, Ehlers-Danlos sendromu tip VI-VII; metabolit ölçümü ile kseroderma pigmentozum gibi cilt bulguları olan hastalıklar prenatal olarak tanı konulabilir. Fetal kan çalışması ile prenatal tanı konabilen, cilt tutulumu olan sendromlar arasında; Wiskott Aldrich sendromu, Chediak Higashi sendromu ve Heamansky Pudlak sendromu sayılabilir (32).

Molibden kofaktör eksikliği; aktiviteleri için bu maddeyi kofaktör olarak kullanan sülfid oksidaz, ksantin dehidrogenaz ve aldehyd dehidrogenaz'ın eksikliği ile karakterizedir. ASHK'da sülfid oksidaz aktivitesi ölçümü ile prenatal tanı konabilir. Ancak; bu analizin güvenilirliği azdır çok sayıda hücre gerektirmektedir. Johnson ve ark. (33) 10-14.gebelik haftasında direkt olarak koryon villüste sülfid oksidaz ölçümü yapılabileceğini rapor etmişlerdir ve etkilenmiş fetus sonuçlarının etkilenmemiş fetus sonuçlarına oranla belirgin şekilde azaldığını bulmuşlardır.

21-hidroksilaz eksikliğinin yol açtığı konjenital adrenal hiperplazinin, prenatal tanısında amniotik sıvıda 17-OH progesteron ölçümü kullanılır. 11-β-hidroksilaz eksikliğinde maternal idrarda tetrahydro-11-deoksikortizol ölçümü ile prenatal tanı yapılabilir (34).

B-DİĞER DOĞUMSAL ANOMALİLERİN ve İNTRAUTERİN PROBLEMLERİN PRENATAL TANISINDA KULLANILABİLEN BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

Gebelikte sağlık ve hastalığın takibinde çeşitli maternal serum belirteçleri kullanılır. En sık kullanılan belirteçler arasında a-fetoprotein (AFP), b-human koryonik gonadotropin (b-HCG) ve serbest estrioldür (sE3).

Gebeliğin 16 ve 18.haftalarında (maksimum 15-21) AFP saptanması gestasyonel durumun değerlendirilmesinde en çok kullanılan serum belirteçidir. AFP testi; daha ileri gebelik araştırmaları için hasta seçiminde bir tarama testi olarak kullanılır.

Maternal serum AFP değeri ile; anensefalide % 100, spina bifida'da % 90, gastroşizide % 100, omfodelde % 70-80 oranında doğru tanı konabilmektedir (1).

Maternal serum AFP değeri yüksek ve amniotik sıvı AFP değerleri normal olan gebelikler spontan abortus, prematürite, intrauterin gelişme geriliği, nonspesifik konjenital malformasyonlar, intrapartum fetal distress, neonatal ölümler ve ölü doğumlar açısından yüksek risk taşırlar (35). Ayrıca ölü doğumla sonuçlanan gebeliklerde 3.trimester ortasında maternal serum AFP değerlerinin yüksek olduğu saptanmıştır (36,37). Açıklanamayan düşük maternal serum AFP seviyeli gebeler önemli ölçüde yüksek fetal kayıp riski taşımaktadırlar (38-40). Kromozomal anaploidili gebeliklerde maternal serumda AFP değerlerinin düşük olduğu gözlenmektedir. Tablo III'de Maternal serum AFP değişikliğine yol açan durumlar görülmektedir (1,35-38). Gebeliğin 2.trimestirinde fetal anaploidi ve serbest estriol (sE3) arasında bir ilişki rapor edilmiştir (41). Kromozom anomalili gebeliklerin % 28'inde maternal serum human koryonik gonadotropin (b-HCG) yüksek bulunmuşken, normal gebeliklerin hiçbirinde yükselme saptanmamıştır (42,43). Son yıllarda üçlü tarama testi (AFP, sE3, HCG) gebeliğin 2.trimestirinde kullanılmaya başlanmıştır ve bu testlerin kombine kullanımıyla Down sendromu % 60'dan daha fazla oranda saptanabilmektedir (1,35). Wald ve ark. (42) bu üçlü tarama testi ile birlikte ultrason ile gestasyonel yaş tespitinin Down sendromu tespitini % 58 den % 67'ye arttırdığını ve yanlış pozitif oranını ise % 5.7 den % 3.1'e azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca serum belirteçleri ile birlikte maternal ağırlık düzeltilmesi yapılmasının tespit

Tablo III: Maternal Serumda AFP Düzey Değişikliklerinin Nedenleri (1, 35-38):

Yükselmesine Neden Olan Durumlar	Azalmasına Neden Olan Durumlar
Multipl gebelik	Yanlış olarak fazla belirlenmiş gestasyonel yaş
Fetal ölüm	Mol hidatiform
Nöral tüp kusuru (spina bifida, anensefali)	Koryokarsinoma
Ön karın duvarı kusurları (omfalocele, gastrosizis)	Spontan abortus
Barsak atrezileri	Fetal ölüm
Kistik higromalı Turner sendromu	Trizomi 21 (Down sendromu)
Konjenital nefrozis	Trizomi 18 (Edward sendromu)
Yanlış olarak eksik belirlenmiş gestasyonel yaş	Anne adayının alkol alması
Anne adayının sigara içmesi	Preeklampsi / eklampsi
Oligohidramniyos	
Rh izoimmunizasyonu	
Maternal KC hast.	

Tablo IV: Çeşitli Hastalık Durumlarında Maternal Serum Belirteçleri (37,46):

Hastalıklar	AFP	αE3	β-HCG
Eksik hesaplanan gestasyonel yaş	Yüksek	Yüksek	Düşük
Fazla hesaplanan gestasyonel yaş	Düşük	Düşük	Yüksek
Fetal ölüm	Düşük/Yüksek	Düşük	Düşük
Gastrosizis	Yüksek	Normal	Normal
Molar gebelik	Düşük	Düşük	Yüksek
Multipl gebelik	Yüksek	Yüksek/Normal	Yüksek
Nöral tüp kusuru(NTDs)	Yüksek	Düşük/Normal	Normal
Sülfataz Eksikliği	Normal	Çok Düşük	Normal
Trisomi 21(Down sendromu)	Düşük	Düşük	Yüksek
Trisomi 18(Edward Sendromu)	Düşük	Düşük	Düşük
X'e bağlı ihtiyosis	Normal	Çok Düşük	Normal

oranını yaklaşık % 0.5 arttırdığını, yanlış pozitifliği % 0.1 azalttığını bulmuşlardır. Kaffe ve ark. (44) trizomi 21 gebeliklerinde amniotik sıvı AFP değerlerinin de anlamlı olarak düşük olduğunu bildirmişlerdir. Tablo IV'de anormal sonuç elde edilen üçlü testin olası önemlerini göstermektedir (45,46).

Gebeliğin 1.trimestirinde trizomi 21 ve 18 varlığının saptanması için maternal kanda gebelik ilişkili protein A (PAPP-A), serbest b-HCG ve maternal yaş birlikte değerlendirilmeye başlanmıştır, bu değerlendirme ile trizomi 21 ve 18 saptama oranının %76, yanlış pozitif sonuç oranının da %0,5 olduğu bildirilmiştir (47-50).

Ayrıca maternal idrarda HCG'nin b-core parçası, total idrar estriolü, maternal yaş ve fetusun ense kalınlığının birlikte değerlendirilmesi ile trisomi 21

tespitinin yüksek oranda, yanlış pozitif sonucun düşük olduğu rapor edilmiştir (51).

2. trimesterde nöral tüp bozukluğunun (NTD) saptanması için AFP ile birlikte amniotik sıvı asetilkolinesteraz aktiviteyi de kullanılabilir. Yapılan çalışmalar; erken amniyosentezde elde edilen pozitif asetilkolinesteraz sonuçlarının 2.trimestirdeki kadar güvenilir olmadığını göstermiştir. Burton ve ark. (52) 15-20. gebelik haftasında hiç yanlış pozitif sonuç bulmamışken 11-14.gebelik haftasında % 4.3 oranında yanlış pozitif sonuç saptamışlardır.

Ring ve ark.(53)

yaptıkları çalışmada; çeşitli renal malformasyonu olan fetuslarda amniotik sıvı N-asetil-β-D-glukozaminidaz aktivitesinin yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu araştırmacılar amniotik sıvıdaki yüksek N-asetil-β-D-glukozaminidaz aktivitesinin tek veya çift taraflı böbrek hasarını gösterdiğini, ama intrauterin böbrek yetmezliğinin göstergesi olmadığını ileri sürmüşlerdir.

Zinsmeyer ve ark. (54) normal ve yüksek riskli gebelerin amniotik sıvılarında , nöron spesifik enolaz (NSE) ölçümü yapmışlar ve risk altındaki gebelerde normallere göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. NSE sadece nöron ve nöroendokrin hücrelerde bulunduğu için amniotik sıvıda NSE konsantrasyonunun yükselmesinin fetal distress ve dolayısıyla beyin hasarının muhtemel bir göstergesi olabileceğini ileri sürmüşlerdir.



Metzger ve ark.(55) diabetik anne fetuslarında prematür olarak, aktive olan fetal insülin sekresyonunun, bir indeksi olan amniyotik sıvı insülin konsantrasyonunun çocukluk çağındaki obesitenin göstergesi olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Klitz ve ark.(56) intrauterin enfeksiyonu olan gebelerin amniyotik sıvı glukoz konsantrasyonlarını normal kontrollerle karşılaştırıldığında, anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Amniyotik sıvı glukoz tayini hızlı, ucuz ve basit olması nedeniyle, tek başına olmasa bile gram boyama ve lökosit esteraz analizi ile birlikte intraamniyotik enfeksiyon tanısında kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

C-DOĞUMSAL KUSURLARIN TANISINDA BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN PERİNATAL DÖNEMDE KULLANIMI

Konjenital hipotiroidi, fenilketonüri gibi prenatal dönemde tespit edilemeyen hastalıklar perinatal dönemde bebekten alınan birkaç damla kan örneğinden biyokimyasal teknikler ile saptanabilmektedir (57).

Görüldüğü gibi bir çok konjenital hastalığın, intrauterin sorunların prenatal tanısı biyokimyasal analiz yöntemleri kullanılarak yapılabilmektedir. Özellikle in vivo fertilizasyon çalışması yapılan birimlerde ailelere prenatal tanı ve danışmanlık hizmeti sunan merkezlerin de hayata geçirilmesi önemlidir. Ancak; prenatal tanı EKİP işidir. Jinekolog, Pediatrist, Genetik Uzmanı, Biyokimya Uzmanı, Radyolog ve Hemşire BİRLİKTE ÇALIŞMALIDIR. Uygun tanı yöntemi ve uygun materyal birlikte seçilmelidir. Anne-baba adayları bebeklerinin durumu konusunda aydınlatılmalı, alınacak prenatal kararda yol gösterici olunmalıdır. Etkilenmiş bebeği doğurma kararında; anomalili çocuğa verilecek bakım-beslenme-sağlık-eğitim konularında danışmanlık hizmetleri de verilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Tüysüz, B.(1994) Prenatal tanı. Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi. 3(1), 9-11.
2. Baird, P.A., Scriver, C.R.(1992) Genetics and public health. In Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine. (Eds:Last, J.M., Wallace, R.B.) 13rd edit. s.983-995. Appleton & Lange, Connecticut.
3. Platt, L.D., Carlson, D.E. (1992) Prenatal diagnosis-When and how? N.Engl.J.Med. 327(9),636-638.
4. American Academy of Pediatrics, Committee on Genetics: Prenatal genetic diagnosis for pediatricians. (1994) Pediatrics. 93(6),1010-1015.
5. D'Alton, M.E., DeCherney, A.H. (1993) Prenatal diagnosis. N. Engl. J. Med. 328(2),114-120.
6. Grebner, E.E. (1993) Basic concepts in biochemical antenatal diagnosis. Obstet. Gynecol. Clin.North Am.20,421-431.
7. Winchester, B. (1990) Prenatal diagnosis of enzyme defects. Arch. Dis. Child. 65,59-67.
8. Winchester, B., Young, E. (1990) Prenatal diagnosis of enzyme defects-an update. Arch. Dis. Child. 66,451-454.
9. Torricelli F., Pescucci C. (2001) Isolation of Fetal Cells from the Maternal Circulation: Prospects for the Non-invasive Prenatal Diagnosis. Clin. Chem. Lab. Med. 39(6),494-500.
10. McKusick, V.A.(1992) Mendelian Inheritance in man: catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes, 10th edit. p.121-154, Johns Hopkins, Baltimore.
11. Grabowski, G.A., Desnick, R.J.(1990) Antenatal metabolic diagnosis: A compendium. In Human Prenatal Diagnosis (Eds: Filkins, K., Russo, J.F.), 2nd edit. p.99-146, Marcel Dekker, New York.
12. Desnick, R.J., Schuette, J.L., Golbus, M.S., Jackson, L., Lubs, H.A., Ledbetter, D.H., Mahoney, M.J., Pergament, E., Simpson, J.L., Zachary, J.M.(1992) First-trimester biochemical and molecular diagnoses using chorionic villi: High accuracy in the US collaborative study. Prenat. Diagn. 12(5),357-372.
13. Groener J.E., de Graff F.L., Poorthuis B.J., Kanhai H.H. (1999) Prenatal Diagnosis of Lysosomal Storage Diseases Using Fetal Blood. Prenat. Diagn. 19(10),930-933.
14. Mandelli J., Wajner A., Pires R., Giugliani R., Coelho J.C. (2001) Detection of Mucopolysaccharidosis Type I Heterozygotes on the Basis of the Biochemical Properties of Plasma Alpha-L-Iduronidase. Clin. Chem. Acta 312,81-86.
15. Sergi C., Penzel R., Uhl J., Zoubaa S., Dietrich H., Decker N., Rieger P., Kopitz J., Otto H.F., Kiessling

- M., Cantz M.(2001) Prenatal Diagnosis and Fetal Pathology in a Turkish Family Harboring a Novel Nonsense Mutation in Lysosomal Alpha-N-Acetyl-Neuraminidase (Sialidase) gene. *Hum.Genet.* 109(4),421-428.
16. Henderson, H.E., Balla, R., De Jong, G., Piek, C.J., Mienie, L.J., Erasmus, E.(1987) Postnatal and antenatal laboratory diagnosis of glutaric aciduria II in a South African family. *S. Afr. Med. J.* 71(9),589-591.
17. Hall NA, Young EP. (1989) A high performance liquid chromatography method for the analysis of 35S-cystine: application to the diagnosis of cystinosis. *Clin. Chim. Acta.* 184(1):1-5.
18. Roschinger W, Endres W, Shin YS. (2000) Characteristics of L-ornithine:2-oxoacid aminotransferase and potential prenatal diagnosis of gyrate atrophy of the choroid and retina by first trimester chorionic villus sampling. *Clin. Chim. Acta* 296(1-2):91-100.
19. Rumsby G. (2000) Biochemical and genetic diagnosis of the primary hyperoxalurias: a review. *Mol. Urol.* 4(4):349-354
20. Bennett MJ, Gibson KM, Sherwood WG, Divry P, Rolland MO, Elpeleg ON, Rinaldo P, Jakobs C. (1993) Reliable prenatal diagnosis of Canavan disease (aspartoacylase deficiency): comparison of enzymatic and metabolite analysis. *J. Inherit. Metab. Dis.* 16(5):831-836.
21. Jakobs C, Ten Brink HJ, Stellaard F. (1990) Prenatal diagnosis of inherited metabolic disorders by quantitation of characteristic metabolites in amniotic fluid: facts and future. *Prenat. Diagn.* 10(4):265-271.
22. Merinero B, Perez-Cerda C, Garcia MJ, Chadefaux-Vekemans B, Kamoun P, Tonetti C, Zittoun J, Jakobs C, Ugarte M. (1998) Reliability of biochemical parameters used in prenatal diagnosis of combined methylmalonic aciduria and homocystinuria. *Prenat. Diagn.* 18(9):947-952.
23. Fowler B, Jakobs C. (1998) Post - and prenatal diagnostic methods for the homocystinurias. *Eur. J. Pediatr.* 157 Suppl 2:88-93.
24. Kure S, Rolland MO, Leisti J, Mandel H, Sakata Y, Tada K, Matsubara Y, Narisawa K. (1999) Prenatal diagnosis of non-ketotic hyperglycinaemia: enzymatic diagnosis in 28 families and DNA diagnosis detecting prevalent Finnish and Israeli-Arab mutations. *Prenat. Diagn.* 9(8):717-720.
25. Jakobs, C., Kleijer, W.J., Allen, J., Holton, J.B.(1995) Prenatal diagnosis of galactosemia. *Eur. J. Pediatr.* (suppl 2) 15,33-36.
26. Rezvani, I., Rosenblatt, D.S., Kliegman, R.M., Matalon, R.K., Howell, R.R., Sassa, S. (1996) Metabolic diseases. In *Nelson Textbook of Pediatrics*, (Eds Behrman, R.E., Kliegman, R.M., Arvin, A.M.). 15th edit. p.328-438, W.B.Saunders Company, USA.
27. Park HK, Kay HH, McConkie-Rosell A, Lanman J, Chen YT. (1992) Prenatal diagnosis of Pompe's disease (type II glycogenosis) in chorionic villus biopsy using maltose as a substrate. *Prenat. Diagn.* 12(3):169-173.
28. Farmer PM. (1982) Laboratory diagnosis of the neuromuscular glycogen storage diseases. *Ann Clin Lab Sci.* 12(6):431-438.
29. Brown BI, Brown DH. (1989) Branching enzyme activity of cultured amniocytes and chorionic villi: prenatal testing for type IV glycogen storage disease. *Am. J. Hum. Genet.* 44(3):378-381.
30. Malpuech G, Dastugue B, Giraud G, Jouanel P, Vanlieferinghen P, Carla H. (1989) Prenatal diagnosis of X-linked adrenal hypoplasia associated with glycerol kinase deficiency. *J Genet. Hum.* 37(2):155-162
31. Van Coster RN, Janssens S, Misson JP, Verloes A, Leroy JG. (1998) Prenatal diagnosis of pyruvate carboxylase deficiency by direct measurement of catalytic activity on chorionic villi samples. *Prenat. Diagn.* 18(10):1041-1044.
32. Soothill, P.W.(1988) Prenatal diagnosis of skin diseases. *Arch. Dis. Child.* 63,1175-1178.
33. Johnson, J.L., Rajagopalan, K.V., Lanman, J.T., Schutgens, R.B.(1991) Prenatal diagnosis of molybdenum cofactor deficiency by assay of sulphite oxidase activity in chorionic villus samples. *J. Inherit. Metab. Dis.* 14(6), 932-937.
34. Dumic M., Brkljacic L., Plavsic V., Zunec R., Ille J., Wilson R.C., Kuvacic I., Kastelan A., New M.I.(1997) Prenatal Diagnosis of Congenital Adrenal Hyperplasia (21-Hydroxylase deficiency) in Croatia. *Am.J.Med.Genet.* 72(3),302-306.
35. Martin, J.N., Cowan, B.D.(1990) Biochemical assesment and prediction of gestational well-being. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 17(1),81-93.
36. American Academy of Pediatrics, Committee on Genetics (1991) Maternal serum alpha-fetoprotein screening. *Pediatrics*, 88(6), 1282-1283.
37. Wajner, M., Papiha, S.S., Wagstaff, T.J.(1986) Relationship between some obstetric landmarks and the concentration of a-fetoprotein in maternal blood. *J. Perinat. Med.* 14(2),115-121.



38. Halmesmaki, E., Autti, I., Gramstrom, M.L., Heikinheimo, M., Raivio, K.O., Ylikarkala, O.(1986) Alpha fetoprotein, human placental lactogen and pregnancy-specific b1-glycoprotein in pregnant women who drink: Relation to fetal alcohol syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 155(3),598-602.
39. Wald, N.J., Cuckle, H.S., Densem, J.W., Kennard, A., Smith, D.(1992) Maternal serum screening for Down's syndrome: The effect of routine ultrasound scan determination of gestational age and adjustment for maternal weight. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 99,144-149.
40. Viscorello, R.R., Gollin, Y.G., Hobbins, J.C.(1991) Alternate methods of first-trimester diagnosis. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 18(4),875-890.
41. Cuckle, H.S., Wald, N.J., Barkai, G., Fuhrmann, W., Altland, K., Krambati, B.(1988) Antenatal screening for Down's syndrome. *Lancet.* 2(8615),851-852.
42. Wald, N.J., Cuckle, H.S., Densem, J.W., Nanchakal, K., Canick, J.A., Haddaw, J.E., Knight, G.J., Palomaki, G.E.(1988) Maternal serum estriol as an antenatal screening test for Down's syndrome. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 95(4),334-341.
43. Gupta, P.P., Srivastava, R.K., Gupta, S., Gupta, K.(1987) Radial immunodiffusion estimation of maternal serum a-fetoprotein in normal pregnancy and pregnancy induced hypertension. *Ind. J. Physiol. Pharmacol.* 31(4),273-278.
44. Kaffe, S., Perlis, T.E., Hsu, L.Y.(1988) Amniotic fluid alpha fetoprotein levels and prenatal diagnosis of autosomal trisomies. *Prenat. Diagn.* 8(3),183-187.
45. Prenatal Screening Program, British Columbia Children's Hospital(1996) Maternal serum markers of fetal abnormalities: Progress in prenatal screening. *Medscape Women's Health*, 1(7),1-11.
46. Ashwood, E.R. (1999) Clinical chemistry of pregnancy. In *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* (Eds: Burtis, C.A., Ashwood, E.R.) 3rd edit. p.1736-1775, W.B.Saunders Company, Philadelphia.
47. Biagiotti R., Cariati E., Brizzi L., Cappelli G., D'Agata A. (1998) Maternal Serum Screening for Trisomy 18 in the First Trimester of Pregnancy. *Prenat. Diagn.* 18(9),907-913.
48. Canick J.A., Kellner L.H. (1999) First Trimester Screening for Aneuploidy: Serum Biochemical Markers. *Semin. Prenatol.* 23(5),359-368.
49. Fialova L., Matous-Malbohan I., Mikulikova L., Benesova O., Krofta L., Zwinger A. (2001) PAPP-A in the First Trimester of Pregnancy. 66(4),280-285.
50. Eiben B., Hammans W., Keuter S., Goebel R., Louwen F., Epplen J. (2001) Clinical Study of Assessment of trisomy 21—Precise Risk Evaluation in the First Trimester of Pregnancy. *Z.Geburtshilfe Neonatol.* 205(3),94-98.
51. Bahado-Singh R., oz U, Kovanci E., Cermik D., Copel J., Mahoney M.J., Cole L. (1999) A High-Sensitivity Alternative to "Routine" Genetic Amniocentesis: Multiple Urinary Analytes, Nuchal Thickness, and age. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 180(1 Pt 1),169-173.
52. Burton, B.K., Nelson, L.H., Pettenati, M.J.(1989) False-positive acetylcholinesterase with early amniocentesis. *Obstet. Gynecol.* 74(4),607-610.
53. Ring, E., Hofmann, H., Wolfgang, E., Erwa, W., Riccabana, M., Zobel, G., Hausler, M.(1991) Amniotic fluid N-acetyl-β-D-glucosaminidase activity and renal abnormalities. *Arch Dis Child.* 66,1147-1149.
54. Zinsmeyer, J., Marangos, P.J., Issel, E.P., Groos, J.(1987) Neuron-specific enolase in amniotic fluid—a possible indicator for fetal distress and brain implication. *J. Perinat. Med.* 15(2),199-202.
55. Metzger, B.E., Silverman, B.L., Freinkel, N., Dooley, S.L., Ogata, E.S., Green, O.C.(1990) Amniotic fluid insulin concentration as a predictor of obesity. *Arch. Dis. Child.* 65,1050-1052.
56. Kiltz, R.J., Burke, M.S., Porreco R.P.(1991) Amniotic fluid glucose concentration as a marker for intra-amniotic infection. *Obstet. Gynecol.* 78(4),619-622.
57. Mestman, J.H.(1997) Perinatal thyroid dysfunction: Prenatal diagnosis and treatment. *Medscape Women's Health.* 2(7),1-18.