Patoloji Bülteni 2001; 18(2): 31-35
Turkish Bulletin of Pathology 2001; 18(2): 31-35

352 fetal otopsideki SSS malformasyonları ve fetal otopsilerde beyin fiksasyonu için bir yöntem önerisi*

*CNS malformations in 352 fetal autopsies and a proposal method for brain fixation **

Fügen Vardar Aker [1], Neşe Karadağ [2], Hülya Kayselioğlu [3]

[1] *HNH, Patoloji Bölümü*

[2] *Kırşehir DH, Patoloji Bölümü*

[3] *İstanbul Üniversitesi Çapa Tıp Fakültesi Pretam Bölümü, İSTANBUL*

* *Çalışmanın bir bölümü 6. Ulusal Jinekolojik Onkoloji Kongresi'nde (11-15 Ekim 1998-Ankara) sunulmuştur.*

Bu çalışmada Haydarpaşa Numune Hastanesi Patoloji laboratuarında 1993-1997 yılları arasında yapılan fetal otopsi olguları SSS anomalileri açısından retrospektif olarak olarak incelenmiştir. Bu süre içerisinde toplam 352 fetal otopsi yapıldı. SSS anomalileri 69 olgu ile (%20) en sık saptanan anomali grubu idi. Anomalilerin büyük çoğunluğunu (%68) nöral tüp defektleri oluşturdu. Bu grubu ön ve arka beyin gelişimi ile ilgili anomaliler (holoprosensefali, korpus kallosum agenezisi ve Arnold-Chiari malformasyonu) %28 oranla takip etmekteydi.

Anomalilere tek tek bakıldığında ise holoprosensefali 15 olgu ile (%22) en sık görülen malformasyondu. SSS malformasyonlarına en sık olarak üriner sistem, solunum sistemi ve iskelet sistemi malformasyonlarının eşlik ettiği görüldü.

Ayrıca Bölümümüzde 1996 yılından beri uyguladığımız fetal beyin fiksasyonu tekniğine ait gözlemlerimiz sunuldu.

Anahtar Kelimeler: Otopsi, SSS anomalisi, Beyin fiksasyon yöntemi

In this study, fetal autopsy cases that were performed at HNH Pathology Laboratory between 1993-1997 were examined retrospectively for CNS anomalies. Within this period 352 fetal autopsy were done. The CNS anomalies are the most frequent anomaly group in 69 cases (20%). Most of them were neural tube defects (NTD) (68%). This group was followed by the forebrain and hindbrain development anomalies (holoprosencephaly, corpus callosum agenesis and Arnold-Chiari malformation) in 28% cases. Holoprosencephaly was the most frequent malformation in 15 cases (22%). Most frequently urinary system, respiratory system and skeletal system malformations were accompanied with CNS malformations. At the same time, Observations related to our fetal brain fixation method since 1996, are also presented.

Key Words: Autopsy, CNS anomaly, Brain fixation method.

Günümüzde infant ölümlerinin en sık sebebi konjenital malformasyonlardır. Bunlar arasında en geniş yeri santral sinir sistemi (SSS) malformasyonları tutmaktadır [1,2,3,4]. Bu çalışmada fetal ve perinatal otopsinin rutin patoloji pratiğinde geniş yer tuttuğu bölümümüzde bu konudaki verilerin derlenerek sunulması amaçlandı. Bu çalışmada 1993-1997 arasında yapılan toplam 352 perinatal ve fötal otopsiye ait 69 adet SSS malformasyonuna ait veriler, SSS malformasyonlarına genel olarak yaklaşımımız, ve beyin fiksasyonunda uyguladığımız farklı bir yönteme ait deneyimlerimiz sunuldu.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bölümümüzde yapılan her otopsinin makroskopik incelemesi ve diseksiyonu bir uzman eşliğinde asistan doktorlar tarafından gerçekleştirilmektedir. Tüm olgularda otopsi öncesi radyografi, dış ya da iç organ anomalisi olan olgularda ise otopsi sırasında fotograf çekilir.

1996 yılından beri SSS malformasyonu ön tanısı ile gelen tüm olgularda ve tümüyle masere olmamış erken dönem intrauterin ölüm olgularında (I. ve II. derecede maserasyon) makroskopik morfolojik detayı daha iyi koruyabilmek amacıyla arka ve ön fontaneller'den subdural/subaraknoid aralığa yaklaşık 10-20cc %10'luk formalin enjeksiyonu uygulanmaktadır. Diseksiyondan önce beyin bu şekilde in vivo olarak ortalama 1 hafta süre ile bekletilmektedir. Bu şekilde fikse edilen fetuslarda 1 hafta sonra ve diğer olgularda ise otopsi yapılan gün içerisinde diğer sistemlerin incelenmesini takiben kafatası sütürler boyunca açılır.

Tariflenen şekilde [5] beyin çıkarılır, tartılır ve ortalama 2 hafta süre ile %10 formalin içinde fikse edilir. Bu süre sonunda serebellum pedinkulus serebri seviyesinde serebrumdan ayrıldıktan sonra, serebral ve serebellar dokuya 0.5 cm aralıklarla koronal kesitler yapılır. Standart olarak, aynı taraf olmak koşulu ile, serebral korteks, bazal ganglionlar, hipokampus, pons, bulbus, servikal medulla spinalis, serebellar korteksden ve ayrıca gerekli görülen alanlardan örnekleme yapılır. Rutin takip sonrası HE ile boyanarak incelenir.

Bu çalışmada olguların %43'ü (152 olgu) yukarıda tariflenen şekilde fikse edilerek incelendi. Tüm otopsi



Resim 1: Anensefali



Resim 2: Arnold-Chiari Tip II'li olguda torasikolomber raşişizis.

kayıtları ise retrospektif olarak gözden geçirildi. Fiksasyon uygulaması öncesi ve sonrası dönemde I ve II.derecede maserasyon varlığına rağmen SSS değerlendirilebilinen olgu sayıları saptandı.

BULGULAR

HNH Patoloji bölümünde 1993-Mayıs 1997 tarihleri arasındaki 53 aylık dönem içerisinde toplam 352 fetal otopsi yapıldı. Yıllara göre otopsi sayısı ve saptanan SSS malformasyonları tablo I'de gösterilmektedir.

Olguların 69'unda SSS malformasyonu saptanırken, bu malformasyon grubu %20'lik oran ile en sık rastlanan malformasyon grubunu oluşturmaktaydı. 28 olguda anomali pür olarak karşımıza çıkarken (tablo II), 17 olguda bir sendroma (tablo III), 24 olguda ise diğer sistem malformasyonlarına eşlik etmekteydi (tablo IV). SSS malformasyonları en sık olarak üriner, solunum ve iskelet sistemi malformasyonları ile birlikteydi. Ayrıca 6 olguda (%9) multipl SSS anomalisi vardı.

Anomalilerin büyük çoğunluğunu (%64) nöral tüp defektleri oluşturdu. Bu grubu ön ve arka beyin gelişimi ile ilgili anomaliler (holoprosensefali, korpus kallosum agenezisi ve Arnold-Chiari malformasyonu) %26 oranla takip etmekteydi. Anomalilere tek tek bakıldığında holoprosensefali 15 olgu ile (%20) en sık görülen malformasyondu. Bunu sırasıyla anensefali (13 olgu, %17), ensefalosel (11 olgu, %14) ve iniensefali (8 olgu, % 10) izlemekteydi (tablo V).

	Toplam otopsi sayısı	Pür SSS anomalileri	Sendromlar ile birlikte	Diğer sistem malf.ile birlikte
1993	39	3	2	1
1994	76	4	8	6
1995	85	6	4	7
1996	108	12	1	6
1997	44	3	2	4
Toplam	352	28	17	24

Tablo 1: Yıllara göre fetal otopsi sayıları ve saptanan SSS malformasyonları

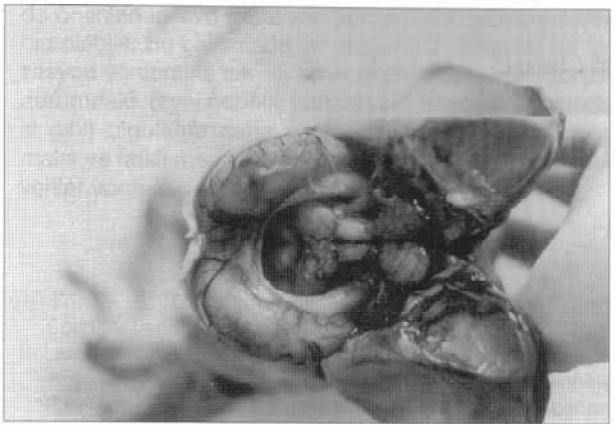
Holoprosensefali olgularının 12'si alobar, 2'si lobar, 1'i ise semilobar tipte idi. Klasik olarak tanımlandığı gibi bizim serimizde de sık olarak, yüz orta hat defekleri (siklopi ve proboskis) ve Trisomy 13 ile birlikte görüldü. Üriner ve iskelet sistemi malformasyonları da bu malformasyona sıklıkla eşlik etmekteydi .

Anensefali 13 olguda izlendi. Olguların sadece 3'ü (%23) spina bifida/raşişizis ile birlikteydi. İniensefali olgularının tümünde pulmoner hipoplazi görüldü. Ensefalosel, Meckel-Grubel sendromunun en sık saptanan komponentlerinden biri olarak, bu sendromun tüm olgularında ve ayrıca amniotik band sendromu, şizis asosiasyonu, triploidi vakalarında da izlendi.

1996 yılından önce yapılan otopsilerde I. ve II. derece maserasyonda SSS'i değerlendirilebilen olgu sayısı tüm olguların %1 (1 olgu)'inden az iken, bu oran uygulanan fiksasyon yöntemi ile %8 (12 olgu)'e ulaşmıştır. Bir diğer indirekt gözlem maserasyon olmasa bile beyin dokusunun ileri derecede frajil olduğu erken



Resim 3: Trisomi 13 olgusunda proboskis, siklopi, arini



Resim 4: Alobar holoprosensefali (in vivo fiksasyon yöntemi ile)

dönem fetal otopsilerde daha ince morfolojik detayların değerlendirilebilinmesi açısından gros morfolojinin çok daha iyi korunduğu yönündedir. Histopatolojik incelemede ışık mikroskopisi düzeyinde ise klasik yönteme göre belirgin bir farklılık yaratmamıştır.

TARTIŞMA

Otopsi olgularımızın büyük bir çoğunluğu İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Genetik BD, Kadın hastalıkları ve Doğum ABD, Perinatoloji bölümlerince değerlendirilen, yüksek oranda malformasyonu olduğu bilinen olgulardır. Bu nedenle elimizdeki örnekler seçilmiş bir grubu yansıttığı (biased sample) için sonuçların genel toplum özelliklerini göstermediği açıktır. Genel bir kanı edinmek açısından

	Olgu sayısı
Anensefali	7 (1 olgu spina bifida ile birlikte)
Mikrosefali	1
Holoprosensefali	4 (1 olgu siklopi+proboskis ile birlikte)
İniensefali	3 (1 olguda korpus kallosum agenezisi ve hidrosefali ile birlikte)
Spina bifida	4
Oksipital ensefalosel	2
Meningomyelosel	2
Meningosel	1
Arnold-Chiari Tip II (Resim 2)	2
Dandy-Walker malfrmasyonu	1
Korpus kallosum agenezi	1 (meningeal angiomatosis ile birlikte)

Tablo 2: Pür SSS malformasyonları (n:28)

bakılacak olursa, Türk toplumunda SSS anomalileri sıklığına ilişkin Mocan ve ark. [6] ile Himmetoğlu ve ark [7] yaptıkları çalışmalarda nöral tüp defekti sıklığı sırasıyla %0.212 ve %0.27 olarak bildirilmektedir.

Perinatal ölüm nedenleri arasında SSS malformasyonları, kongenital kalp hastalıkları ve kromozom anomalileri ilk sırayı almaktadırlar [8]. Bu bulguya paralel olarak bu seride SSS malformasyonları en sık (%20) rastlanan malformasyon grubunu oluşturdu. Isaksen ve ark.[9]'ın 412 olguluk serilerindeki bulgular bizim serimizdeki bulgulara büyük oran da benzerlik göstermektedir. Fetus ve infantların prenatal ultrasonografik bulguları postmortem bulgularla karşılaştırıldığı bu çalışmada olguların %34'ünde (140 olgu) SSS anomalisi saptanmıştır. Bu anomalilerin %50'si anensefali ve hidrosefaliden oluşmaktadır. %14 (20 olgu)'ü ise sendromlar ya da kromozom aberasyonları ile birliktedir. Swain ve ark.[10]'nın 3932 olguluk yenidoğan serilerinde ise malformasyon sıklığı %1.2 olarak belirtilirken, SSS malformasyonları %39.5 ile en sık karşılaşılan malformasyon grubunu oluşturmaktadır.

Prenatal tanıda ultrasonografinin giderek artan yaygın kullanımı SSS malformasyonlarının da prenatal tanı oranını artırmıştır. Bu nedenle malformasyonun tipini doğru olarak saptamak önemlidir. SSS malformasyonları ise çoğu zaman çok çeşitli ve karmaşık malformasyonlardır. Patolojik tanı büyük oranda makroskopik bulgulara dayandığı için doku formunun mümkün olduğunca iyi korunması esastır. Özellikle perinatal otopsilerde immatür beyin dokusunun çıkartılması oldukça sıkıntılı bir işlemdir. İşlem sırasında azami dikkat gösterilmesine rağmen, çoğu zaman geriye yarı sıvı halde amorf bir materyalden başka bir şey kalmamaktadır. Bu amaçla son 3 yıldır fontaneller yoluyla subdural/subaraknoidal boşluğun içerisine formalin enjeksiyonu ile uygulanan fiksasyon yönteminin, beyin dokusunun oldukça frajil olduğu fötal otopsilerde, özellikle de hafif otolitik olgularda (I. ve II. derecede maserasyon) gros morfolojik yapının korunması açısından önemli faydalar sağladığı görülmüştür. Ancak bu fiksasyon yöntemi ile III. derecede masere fetuslarda akıcı kıvamdaki beyinin formasyonunu korumak mümkün olmamıştır. Literatüre bakıldığında; Nicholls JM [11] bu çalışmada önerilen yönteme benzer şekilde Heidenhain'in Susa fiksatifi ile in situ fiksasyon yöntemini önermektedir. Fiksatif subaraknoidal boşluğa verilmekte, bir gecelik fiksasyon süresini takiben beyin çıkarılmakta ve aynı fiksatif içerisinde 3 gün daha bekletilmektedir. Yazar bu yöntem ile gros ve mikroskopik detayın korunması açısından sonuçların mükemmel olduğunu bildirmektedir. Öteden beri bilinen ve özellikle ultrastrüktürel yapıların korunması için etkinliği genel kabul görmüş bir yöntem de perfüzyon fiksasyonudur. Simmons ve ark. [12]'nın çalışmasında sığır beyninde karotis arter kanule edilerek perfüzyon fiksasyon yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntem ile elde ettikleri sonuçlar yöntemin hem zaman hem de ekonomik açıdan başarılı olduğunu göstermektedir. Adickes ve ark. [13]'nın çalışmalarında ise perfüzyon fiksasyon yöntemi, klasik olarak bilinen %10 formalin içinde bekleti-

*Meckel-Grubel sendromu (6 olgu)	-Oksipital ensefalosel (4 olgu)
	- " " + mikrensefali (1olgu)
	- " " + korpus kallosum ve olfaktorial agenezi+ serebellar hipoplazi (1olgu)
*Amniotik band sendromu (2 olgu)	-Anensefali (1olgu)
	-Oksipital ensefalosel (1olgu)
*Triploidi (2 olgu)	-Meningomyelosel (1olgu)
	-Oksipital ensefalosel (1olgu)
*Şizis asosiasyonu (3 olgu)	-Meningomyelosel (1 olgu)
	-Oksipital ensefalosel (1olgu)
	-Holoprosensefali (1olgu)
*Trisomi 13 (4 olgu) (Resim 3)	-Holoprosensefali (1olgu)-
	" + proboskis+ siklopi (1 olgu)
	" +olfaktorial agenezi (1 olgu)
	" +meningomyelosel (1 olgu)

Tablo 3: Sendromlarla birlikte görülen SSS malformasyonları (n:17)

	SS	KVS	ORO-FASİAL	GİS	ENDOKRİN S.	ÜS	GS	İSKELET S.
Anensefali (5 olgu)(Resim 1)	+		+		+			+
Mikrensefali (2olgu)		+				+		
İniensefali (5 olgu)	+	+				+		+
Holoprosensefali (6 olgu)(Resim 4)			+			+		+
Meningomyelosel (2 olgu)						+	+	+
Meningosel (2 olgu)	+					+		
Spina bifida (2 olgu)(Resim 2)	+							

SS: Solunum sistemi, KVS: Kardiovasküler sistem, GİS: Gastrointestinal sistem, ÜS: Üriner sistem, GS: Genital sistem

Tablo 4 : Diğer sistem anomalileri ile birlikte görülen SSS malformasyonları (n:24)

Holoprosensefali	15 (%20)
Anensefali	13 (%17)
Oksipital ensefalosel	11 (%14)
İniensefali	8 (%10)
Meningomyelosel	7 (%9)
Spina bifida	7 (%9)
Mikrensefali	4 (%5)
Meningosel	3 (%4)
Korpus kallosum agenezi	3 (%4)
Olfaktorial agenezi	2 (%3)
Dandy-Walker malformasyonu	1 (%1)
Serebellar hipoplazi	1 (%1)
Toplam	77

Tablo 5 : 69 olguda saptanan SSS anomalileri

lerek uygulanan immersiyon fiksasyon yöntemi ile aynı beyinde farklı hemisferlere uygulamak suretiyle karşılaştırılmıştır. Perfüzyon fiksasyonu ile fiksasyon süresi dakikalara (15-20 dakika) düşürülmüştür. Fiksasyonun HE, Bielschowsky'nin gümüş boyası ve immunhistokimyasal incelemeler üzerine etkisine bakıldığında ise, bu fiksasyon yönteminin immersiyon fiksasyonuna eşdeğer, nadiren de üstün olduğu görülmüştür. Özellikle gros morfolojik detayı korumak bakımından beyinin kraniumdan ayrılması işleminin su içerisine daldırılarak gerçekleştirilmesi [14] ve beynin frozen ile dondurularak kesilmesi [15] önerilen diğer farklı yöntemlerdir.

Sonuç olarak; prenatal takibin gittikçe yaygınlaştığı günümüzde anomalili fetuslarla patologlar daha sık karşılaşacaktır. Bu fetuslar için en fazla beklenen anomali serimizde de izlendiği gibi SSS anomalileridir. Bu nedenle fetal otopsilerde SSS incelenmesi geliştirilecek farklı fiksasyon teknikleri ile kolaylaştırılabilir. Bu çalışma-

da önerilen in vivo fiksasyon yöntemi bu yöntemlerden biri olabilir. Bu çalışmada sunduğumuz bulgular bu fiksasyon yöntemine ait ilk klinik gözlemlerimizdir. Benzer durumdaki (aynı gebelik haftası ve maserasyon derecesi gibi) olgularda daha geniş serilerde kontrollü çalışmalar ve farklı merkezlerin uygulanması ile elde edilecek veriler yöntemin geliştirilmesine ışık tutabilir.

KAYNAKLAR

1- Friede RL. Devolopmental Neuropathology. 2nd. Berlin: Springer-Verlag, 1989.
2- Laroche JC, Ancha-Razavi F. The central nervous system. In: Wigglesworth J.S, Singer D.B. Textbook of Fetal Perinatal Pathology. Boston: Blackwell Scientific Publication, 1991;775-842.
3- Norman MG, Ludwin SK. Congenital malformations of the nervous system. In: Davis RL, Robertson DM. Textbook of Neuropathology. 2nd. Baltimore:Williams and Wilkins, 1991; 207-80.
4- Harding BN. Malformations of the nervous system. In : Adams JH, Duchen LH. Editors: Greenfield's Neuropathology, ed 5, New York: Oxford University Press. 1992.
5- Valdes-Depana M, Huff D. Perinatal Autopsy Manuel. AFIP, Washington, DC, 1983.
6- Mocan H, Bozkaya H, Mocan MZ, Furtun EM. Changing incidence of anencephaly in the eastern Black Sea region of Turkey and Chernobyl. Pediatr Perinatal Epidemiol 1990;4:264-8.
7- Himmetoğlu O, Tiras MB, Gürsoy R, Karabacak O, Şahin I, Onan A. The incidence of congenital malformations in Turkish population. Int J Gynaecol Obstet 1996;55:17-121
8- Ho NK. Congenital malformations in Tao Payoh hospital-a 18 year experience (1972-1989). Ann Acad Med Shingapore 1991; 20:183-9.
9- Isaksen CV, Eik-Nes SH, Blaas HG, Torp SH. Comparison of prenatal ultrasound and postmortem findings in fetuses and infants with central nervous system anomalies. Ultrasound Obstet Gynacol 1998;1:246-53.
10- Swain S; Agrawal A. Congenital malformations at birth. Indian Pediatr 1994;31:1187-91
11- Nicholls JM. Rapid method for fetal brain fixation. J Clin Pathol 1988;41:1019-20
12- Simmons MM, Blamire IW, Austin AR. Simple method for the perfusion-fixation of adult bovine brain. Res Vet Sci 1996;60:247-50
13- Adickes ED, Folkerth RD, Sims KL. Use of perfusion fixation for improved neuropathologic examination. Arch Pathol Lab Med 1997;121:1199-206
14- Prahlow JA, Ross KF, Salzerger L, Lott EG, Guileyardo JM, Bernard JJ. Immmersion technique for brain removal in perinatal outopsies. J Forensic Sci 1998;43:1056-60
15- Kent SG, Isada NB, Larsen JW Jr. A simple method for gross examination of the brain in abortuses and macerated fetuses. Obstet Gynecol 1987;70:946-7