

# Amenoreli Hastaların Sitogenetik Analiz Sonuçlarının Değerlendirilmesi

## Cytogenetic Analysis of Patients with Amenorrhea

Dr. Çetin SAATÇI,<sup>a</sup>  
 Dr. Yusuf ÖZKUL,<sup>a</sup>  
 Dr. İptisam İpek MÜDERRİS,<sup>b</sup>  
 Dr. Aslıhan KIRAZ,<sup>a</sup>  
 Dr. Şener TAŞDEMİR,<sup>a</sup>  
 Dr. A. Okay ÇAĞLAYAN,<sup>a</sup>  
 Dr. Gökalp ÖNER,<sup>b</sup>  
 Dr. Dündar MUNİS<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Genetik AD,

<sup>b</sup>Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,  
 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
 KAYSERİ

Geliş Tarihi/Received: 25.07.2007  
 Kabul Tarihi/Accepted: 27.02.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:  
 Dr. Çetin SAATÇI  
 Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi  
 Genetik ABD, KAYSERİ  
 csaatci@erciyes.edu.tr

**ÖZET Amaç:** Fakültemize başvuran, primer amenore ve sekonder amenoreli hastaların kromozom analiz sonuçlarının retrospektif değerlendirilmesini yapmak, böylece hastalarda görülen kromozomal anomalilerin lokal popülasyondaki tip ve insidans belirlemek amaçlanmıştır. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışma 1995–2007 yılları arasında polikliniğimize Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden konsulte edilen 165’i primer amenore, 13’ü sekonder amenore olan toplam 178 hastanın verileriyle hazırlanmıştır. Hastaların yaş dağılımları, fizik muayene ve ultrasonografik (USG) bulguları elde edilebilmiş, G bantlama yöntemi ile karyotip analizi yapılmıştır. **Bulgular:** Primer amenore şikâyeti ile başvuran 165 (n:165) hastanın %21’inde (n:35) kromozom anomalisi saptanmıştır. Bu anomalilerin %34’ü (n:12) 45,X, %23’ü (n:8) 46,XY, %14’ü (n:5) 46,X,i(X)(q10), %9’u (n:3) 46,XX,inv(9)(p11q12), %6’sı (n:2) 45,X/46,XX ve %14’ü de (n:5) diğer anomaliler [46,XX,16qh+, 46,XX,9qh+, 46,X,i(X)(q10)/45,X, 45,X/47,XXX, 45,X/46,XX/47,XXX] dir. Primer amenoreli olguların %70’inde (n:115) anormal, %30’unda (n:50) normal ultrasonografik bulgular görüldü. Bu olgulardan anormal USG bulguları olan hastaların %25’inde (n:29), normal USG bulguları olan hastaların ise %12’sinde (n:6) anormal karyotip tespit edilmiştir. Sekonder amenore (n:13) şikâyeti ile başvuran hastaların karyotipleri normal olarak bulunmuştur. **Sonuç:** Çalışmada primer amenore problemi olan hastaların %21’inin karyotipinin anormal olması bize klinik ve radyolojik incelemeler sonucunda kromozomal anomali olduğu şüphelenilen veya sebebi aydınlatılmayan hastalara karyotip analizi yapılması gerekliliğini göstermektedir. Sitogenetik çalışmalar sayesinde erken tanı ve tedavi olguların hayat kalitesini artırmakla beraber, yaşayacakları problemleri de mümkün olan en düşük seviyeye indirebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Amenore, karyotipleme, Turner sendromu

**ABSTRACT Objective:** To investigate the chromosomal analysis assessment of patients who consult our faculty with the complaint of amenorrhea. We aimed to determine the types and incidences of chromosomal abnormalities of patients in local population. **Material and Methods:** Case records of 178 patients with primary amenorrhea (n: 165), secondary amenorrhea (n: 13) that referred to our Clinical Genetic Service from Gynecology Service between 1995 to 2007 years were reviewed. Age dispersion, physical and ultrasonographic examination results could be derived and G banding karyotyping of these patients have been performed. **Results:** Chromosomal anomaly was found in 21% of women with primary amenorrhea. Chromosome aberrations in patients were as follows; 34% (n:12) 45,X, 23% (n: 8) 46,XY, 14% (n:5) 46,X,i(X)(q10), 9% (n: 3) 46,XX,inv(9)(p11q12), 6% (n:2) 45,X/46,XX, and the others 14% (n: 5) [46,XX,16qh+, 46,XX,9qh+, 46,X,i(X)(q10)/45,X, 45,X/47,XXX, 45,X/46,XX/47,XXX]. The ultrasonographic findings were abnormal in 70% patients and normal in 30% of patients with primer amenorrhea. Chromosomal aberration ratio in patient with abnormal and normal ultrasonographic examination was 25% (n: 29) and 12% (n: 6) respectively. The karyotypes of the patients with secondary amenorrhea (n: 13) were normal. **Conclusion:** In this study 21% of the patients with Primer amenorrhea had abnormal karyotype so it is showed that is necessary to make karyotype analyzing to these patients who thought to have chromosomal aberration after the clinic and radiological examination and unknown etiology.

**Key Words:** Amenorrhea, karyotyping, Turner syndrome

**P**rimer amenore (PA), sekonder seks karakterlerinin gelişim veya büyümesindeki yokluk ile 14 yaşına kadar adet görememe veya sekonder seks karakterlerinin oluşması ile birlikte normal büyüme ve gelişmenin varlığına bakılmaksızın 16 yaşına kadar adet görememe durumudur. Primer amenorenin insidansı %0,1 ile %2,5 arasında değişir; Gonadal disgenesi (%48,5), uterus ve vajinanın konjenital yokluğu (%16,2) ve konstitusyonel gecikme (%0,5) başlıca nedenleridir.<sup>1,2</sup> Primer amenore hipotalamus, hipofiz, ovaryan ve uterus kaynaklı olabilir.<sup>3</sup> PA'de endokrin bozuklukların, gonadal/somatik anomalilerin kromozomal anomaliler kadar etkili olduğu bildirilmiştir.<sup>4</sup> PA'de kromozomal anomali insidansı %20–40 olarak belirtilmiştir. Bununla beraber %60–80 hasta 46,XX normal karyotipine sahip olmasına rağmen folikül içermeyen gonad, hipoplastik over, hipoplastik uterus veya ciddi fenotipik değişiklikler gösterebilir.<sup>5</sup>

Primer amenoreli olgularda 46,XY karyotipi başta olmak üzere Y kromozomunun delesyon ve duplikasyonlarının da yer aldığı kromozomal anomaliler saptanmıştır.<sup>6</sup> Testiküler feminizasyon X'e bağlı resesif geçiş gösteren bir sendromdur. Sendromda karyotip 46,XY'dir. Olgularda inguinal testis yapısı ve belirsiz dış genitaler en belirgin özelliklerdir.<sup>7</sup> XY gonadal disgenesis gösteren hastalar ilerleyen dönemlerde gonadal malignensi açısından yüksek risk altında oldukları için (%30) mevcut testisleri en kısa sürede çıkarılmalıdır.<sup>8</sup>

Diğer bir kromozomal neden ise Turner sendromudur. Turner sendromunun konsepsiyondaki sıklığı yüksek olmasına karşın (1/50–1/200), bunun %94'ü intrauterin olarak ölür ve %5 kadarı da spontan abortusla atılır. Canlı doğan kız bebeklerdeki Turner sıklığı yaklaşık 1/5000'dir.<sup>9</sup> Klinik olarak spesifik üç semptom göze çarpar. Bunlar; inkomplet seksüel maturasyon, kısa boy ve yele boyundur. Kesin tanı karyotip analizi ile konulur.<sup>10</sup> Turner sendromunda X kromozomu ile ilgili olarak en sık rastlanılan kromozomal anomaliler 45,X/46,XX, 46,X,i(Xq), 46,X,del(X), 46,X,r(X) ve 45,X/47,XXX şeklindedir.<sup>11</sup> Turner sendromlu bütün olgular arasında en yaygın görüleni 46,X,i(Xq) olup genotip sıklığı %17'dir.<sup>9</sup> İzokromozom Xq'lu

[i(Xq) karyotipli] hastalar klinik olarak klasik 45X karyotipli hastalara benzerler.<sup>12</sup>

Sekonder amenore düzenli adet gören kadınlarda üç siklus, düzensiz adet görenlerde ise 6 ay veya daha uzun süreyle adet yokluğudur. Sekonder amenore hastalarında yapılan sitogenetik çalışmalarda kromozomal anomaliler nadir olarak bulunmuştur. Sekonder amenorede etiyojoloji sıklıkla kortikal veya hipotalamik nedenli iken daha az olarak, endokrin fonksiyonlardaki düzensizliklerden kaynaklanır.<sup>4</sup>

Amenorede kromozomal anomaliler farklı çalışmalarda değişik oranlarda bulunmuştur. Primer amenorede bu oran %15,9 ile %63,3<sup>4,13</sup> arasında değişirken, sekonder amenorede %3,8 ile %44,4<sup>4,14-17</sup> arasında değişmektedir. Bu oranlardaki fark çalışmalardaki farklı seçim kriterlerinden kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda Erciyes Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na refere edilen primer ve sekonder amenoreli hastaların kromozom analiz sonuçlarını retrospektif olarak değerlendirmeyi amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

**Fizik muayene:** Primer amenore; sekonder seks karakterlerinin gelişim veya büyümesindeki yokluk ile 14 yaşına kadar adet görememe veya sekonder seks karakterlerinin oluşması ile birlikte normal büyüme ve gelişmenin varlığına bakılmaksızın 16 yaşına kadar adet görememe olarak nitelendirildi. Sekonder amenore; en az bir spontan kanama epizodu geçirdikten sonra, en az 6 ay menstruasyon-suz dönemi olan, kadınlar ile temsil edildi.

Hastalar değişik kliniklere başvurmuş, non-genetik sebepler ekarte edildikten sonra Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nden sitogenetik inceleme için bölümümüze yönlendirilmiştir.

**Sitogenetik analiz:** 1995-2007 yılları arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na konsülte edilen toplam 178 hastanın kayıtları retrospektif olarak değerlendirildi. Karyotip analizi için hastalardan alınan heparinize kan fitohemaglutinin (PHA) ile indüklenerek kromozom analizine uygun 72 saatlik T lenfosit kül-

türü yapıldı. Kültür sonrası hazırlanan preparatlar-  
dan elde edilen metafaz alanları invert mikroskop  
altında incelendi, uygun preparatlar tripsin-giem-  
sa bantlama yöntemi kullanılarak boyandı. Her  
hasta için 5 metafaz plağı hazırlandı ve en az 20  
metafaz alanı incelendi. İlk incelemede anormal  
karyotip saptanması durumunda daha fazla hücre  
metafazı (100'e kadar) değerlendirildi.

## BULGULAR

Kliniğimize gönderilen hastaların çoğunu primer  
amenoreli olgular oluşturmaktadır (n:165). Bunu  
13 olgu ile sekonder amenore hastaları takip et-  
mektedir. Bu veriler Tablo 1'de yaş dağılımları ve  
anormal karyotip sayıları ile birlikte gösterilmiştir.  
Başvuran hastalar gözden geçirildiğinde ise Gona-  
dal ve-veya mülleryen yapı anormalliği %37'lik  
oranla primer amenore etiyolojisinde ilk sırayı al-  
maktadır. Diğer nedenler ve yüzdeleri Tablo 2'de  
gösterilmiştir.

Primer amenore etiyolojisi ile gelen hastalarda  
yapılan karyotip analiz sonucunda hastaların  
%21'inde anormal karyotip tespit edildi ve sıklıkla  
Turner sendromu ve varyantları gözlemlendi. Bu ano-  
malilerin %34'ü (n:12) 45,X, %23'ü (n:8) 46,XY,

**TABLO 1:** Kliniğimize başvuran hastaların dağılımı, yaş ortalaması ve anormal karyotip oranı.

	Başvuran Hasta Sayısı	Ortalama Yaş	Anormal Karyotip
Primer Amenore	165	17	n=35 (%21)
Sekonder Amenore	13	29	n=0
Toplam	178	18	n=35 (%20)

**TABLO 2:** Primer amenore etiyolojisi.

Başvuru Nedenleri	Başvuran Hasta Sayısı	Yüzdesi
Turner Sendromu ve Varyantları	n=39	%24
Testiküler Feminizasyon	n=10	%6
Diğer Kromozomal Anomaliler	n=5	%3
Gonadal ve/veya Mülleryan Yapı Anormalliği	n=61	%37
Normal Gonadal ve/veya Mülleryan Yapı	n=50	%30
TOPLAM	n=165	

**TABLO 3:** Primer amenore olgularının karyotipleri ve bunlara karşılık gelen sendromlar .

Karyotip	Sendrom	Hasta Sayısı
45,X	Saf Turner Sendromu	12
45,X[50]/46,XX[32]/47,XXX[18]	Turner Sendromu (Varyant)	1
45,X[40]/46,XX[60]	Turner Sendromu (Varyant)	2
45,X[80]/47,XXX[20]	Turner Sendromu (Varyant)	1
46,X,i(X)(q10)	Turner Sendromu (Varyant)	5
46,X,i(X)(q10) [73]/45,X[27]	Turner Sendromu (Varyant)	1
46,XY	Testiküler Feminizasyon	8
46,XY,16qh+	Primer Amonere (-)	1
46,XX,9qh+	Primer Amonere (-)	1
46,XX,inv(9) (p11q12)	Primer Amonere (-)	3
TOPLAM		35

**TABLO 4:** Primer Amenore hastalarının Karyotip ve USG değerlendirmesi.

	Normal USG	Anormal USG	Toplam
Normal Karyotip	44	86	130
Anormal Karyotip	6	29	35
Toplam	50	115	165

%14'ü (n:5) 46,X,i(X)(q10), %9'u (n:3) 46,XX,  
inv(9)(p11q12), %6'sı (n:2) 45,X/46,XX ve %14'ü de  
(n:5) diğer anomaliler [46,XX,16qh+, 46,XX,9qh+,  
46,X,i(X)(q10)/45,X, 45,X/47,XXX, 45,X/46,XX/  
47,XXX] idi. Tablo 3'te bu karyotiplerin dağılımı ve  
bunlara karşılık gelen sendromlar gösterilmiştir.

Primer amenoreli olguların ultrasonografik in-  
celemelerinde ise %30'unda (n:50) normal uterus,  
%53'ünde (n:86) hipoplazik uterus, %9'unda atro-  
fik uterus (n:15), %8'inde uterus agenezisi (n:14)  
gözlemlendi. USG bulguları ile karyotip analiz sonuç-  
ları kıyaslandığında anormal ultrasonografik bul-  
guları olan hastaların %25'inde (n:29), normal  
ultrasonografik bulguları olan hastaların ise  
%12'sinde (n:6) anormal karyotip tespit edildi. Bu  
bulgular Tablo 4'te gösterilmiştir.

Sekonder amenore (n:13) şikâyeti ile başvu-  
ran hastaların karyotipleri normal olarak bulun-  
muştur.

## TARTIŞMA

Çalışmada primer amenore etyolojisinde birçok faktörün rol oynadığı, gonadal ve/veya mülleryen yapı anomalilerinin ise bu etyolojide ilk sırayı aldığı saptandı.

Primer amenorede anormal karyotip Temocin ve ark.nın çalışmasında %26.5,<sup>14</sup> Roy ve Banerjee'de %63.3,<sup>18</sup> Ten ve ark.nın çalışmasında %30.8,<sup>13</sup> Van Niekerk'in çalışmasında ise %27.3<sup>15</sup> olarak bulunmuştur; sıklıkla baskın karyotip Turner ve varyantlarıdır. Bizim çalışmamızda primer amenoreli vakaların %21'inde anormal karyotip tespit edildi. En sık rastlanan kromozomal anomaliler Turner sendromu ve varyantları ile testiküler feminizasyondur. Bu bulguların literatürde belirtilen kromozomal anomali insidansı ve tipi ile uyumlu olduğu gözlemlendi. Anormal karyotipe sahip olguların en sık gözlenen iki tanesi sırası ile 45,X ve 46,XY karyotipi idi. Çalışmamızda kromozomal anomali sıklığı ise diğer çalışmalara göre daha düşüktü. Bunun nedeninin kromozom analizi için konsülte edilen vakalarda endikasyon aralığının geniş tutulması olduğu düşünülmektedir.

Primer amenorede X kromozomu ile ilgili anomalilerin yanı sıra 3 olguda 9 numaralı kromozomun inversiyonu gözlemlendi (Tablo 3). Primer amenoreli olgularda Ganguly ve Sahni adlı araştırmacılar da bu anomaliye rastlamışlardır.<sup>19</sup> Bu anomali normal varyant olarak kabul edilmekle beraber primer amenoreye katkısı henüz bilinmemektedir.<sup>20</sup> Ancak bu veriler doğrultusunda primer amenore etyolojisinde rol oynadığı düşünülebilir.

Turner sendromu veya Urlich Turner sendromu hastalarında bir Y kromozom varlığında gonadoblastom veya disgerminom gelişme riski %10–20 iken Androjen Duyarsızlık sendromunda (Testiküler feminizasyonda) bu oran yaklaşık %30'dur.<sup>20</sup> Dolayısıyla ile bu hastalara sitogenetik ve klinik olarak tanı konulduktan sonra özellikle gonadların malign potansiyeli göz önüne alınarak prepubertal gonadotomi yapılmalıdır.<sup>21</sup> Maligniteler açısından taranmaları ve önlemlerin alınması gerekmektedir. Bizim çalışmamızda da testiküler feminizasyon

hastaları (n:8) malignite açısından taranmak üzere cerrahi kliniklerine yönlendirilmiştir.

Anormal ultrasonografik bulguları bulunan hastaların (n:115) % 25'inde, normal ultrasonografik bulguları olan hastaların (n:29) ise %12'sinde anormal karyotip tespit edilmiştir. Buna göre anormal karyotipin patolojik USG birlikteliği yüksektir. Bununla beraber normal karyotipe sahip hastaların USG bulguları çoğunlukla normal olmasına rağmen, patolojik USG'ler de azımsanmayacak değerdedir.

Sekonder amenorede kromozom anomali sıklığı %4 ile %44 arasında geniş bir dağılıma sahiptir. Bu muhtemelen hastaların seçimindeki farklı kriterlere bağlıdır. Çalışmamızda ise sekonder amenore vakaları incelendiğinde anormal karyotipe rastlanmamıştır.

Seks kromozom anomalisi olan hastalara, özellikle de X mozaizmine sahip hastalarda genetik danışma verilirken, gebeliğin artık imkânsız olmadığı konusunda bilgi verilmelidir. Bugünlerde hormonal olarak desteklenen mozaik 45,X vakalarında reproduktif teknikler başarılı olmaktadır.<sup>22</sup> Özellikle Turner sendromunda zamanında yapılan tedavi hastanın psikolojisini ağır bir şekilde etkileyen kısa boy ve gelişmemiş sekonder seks karakterlerini daha iyi bir düzeye getirilebilmektedir.

Sonuç olarak, klinik ve radyolojik incelemelerde kromozomal anomali olduğu şüphelenilen veya sebebi aydınlatılamayan vakalara sitogenetik analizin yapılması önerilir. Erken tanı ve tedavi olguların hayat kalitesini artırmanın yanısıra yaşayacakları problemleri de mümkün olan en düşük seviyeye indirebilir. Amenoresi olan hastanın eğitimsel/kültürel/bölgesel/dini ve psikolojik yapısı ve ailesi de danışmanlık sürecinde zihinde tutulmalıdır.<sup>23</sup> Danışmanlık verilirken kromozomal anomalinin çıkış mekanizması, seks kromozomal anomalilerinin tekrar riskleri, hormonal tedavi durumu, eğitim/hobi/kariyer, evlilik/reproduktif bilgiler sağlanmalıdır. Tanıyı takiben hasta bilgilendirilmeli ve hastalıklarını kabullendirici yönde yol gösterilmelidir.

## KAYNAKLAR

1. Timmreck LS, Reindollar RH. Contemporary issues in primary amenorrhea. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003;30:287-302.
2. Pletcher JR, Slap GB. Menstrual disorders. Amenorrhea. *Pediatr Clin North Am* 1999;46: 505-18.
3. Kiningham RB, Apgar BS, Schwenk TL. Evaluation of amenorrhea. *Am Fam Physician* 1996;53:1185-94.
4. Opitz O, Zoll B, Hansmann I, Hinney B. Cytogenetic investigation of 103 patients with primary or secondary amenorrhea. *Hum Genet* 1983;65:46-7.
5. Kobilkova J, Chrz R, Bauer J, Malkova J, Michalova K, Malkova-Silinkova E, et al. Cytodiagnostic study of women with primary amenorrhea and karyotype 46XX. *Acta Cytol* 1997;21:334-7.
6. Kotzot D, Dufke A, Tzschach A, Baeckert-Sifeddine IT, Geppert M, Holland H, et al. Molecular breakpoint analysis and relevance of variable mosaicism in a woman with short stature, primary amenorrhea, unilateral gonadoblastoma, and a 46,X,del(Y)(q11)/45,X karyotype. *Am J Med Genet* 2002;15:51-5.
7. Gottlieb B, Pinsky L, Beitel LK, Trifiro M. Androgen insensitivity. *Am J Med Genet* 1999;89:210-7.
8. Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;25:191-218.
9. Başaran N, Tıbbi genetik (Ders kitabı). Yenilenmiş ve Genişletilmiş 7.baskı, Bursa: Güneş&Nobel Tıp Kitabevi, 2003:267-9.
10. Catović A, Kendić S. Cytogenetic findings at Turner Syndrome and their correlation with clinical findings. *Bosnian J Basic Med Sci* 2005;5:61-7.
11. Gravholt CH, Juul S, Naeraa RW, Hansen J. Prenatal and postnatal prevalence of Turner's Syndrome: a registry study. *BMJ* 1996; 312:16-21.
12. Zinman B, Kabiawu SI, Moross T, Berg J, Lupmanis A, Markovic V, et al. Endocrine, cytogenetic and psychometric fetures of patients with X-İsochromosome 46,X, i(Xq) Turner's Syndrome: A preliminary study in nine patients. *Clin Invest Med* 1984;7:135-411.
13. Ten SK, Chin YM, Noor PJ, Hassan K. Cytogenetic studies in women with primary amenorrhea. *Singapore Med J* 1990;31: 355-9.
14. Temoçin K, Vardar MA, Suleymanova D, Ozer E, Tanriverdi N, Demirhan O, et al. Results of cytogenetic investigation in adolescent patients with primary or secondary amenorrhea. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 1997;10:86-8.
15. Van Niekerk WA. Chromosomes and the gynecologist. *Am J Obstet Gynecol* 1978;130: 862-75.
16. Devi A, Benn PA. X-chromosome abnormalities in women with premature ovarian failure. *J Reprod Med* 1999;44:321-4.
17. Lin J, Yu C. Hypergonadotropic secondary amenorrhea: clinical analysis of 126 cases [in Chinese]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 1996;31:278-82.
18. Roy AK, Banerjee D. Cytogenetic study of primary amenorrhea. *J Indian Med Assoc* 1995;93:291-2.
19. Ganguly BB, Sahni S. X chromosomal abnormalities in Indian adolescent girls. *Teratog Carcinog Mutagen* 2003; Suppl 1:245-53.
20. Badovinac AR, Buretic-Tomljanovic A, Starcevic N, Radojic Badovinac A, Buretic-Tamjanovic A, Starcevic N, Kapovic M, Viastelic I, Randic L. Chromosome studies in patients with defective reproductive success. *Am J Reprod Immunol* 2000;44:279-83.
21. Verp MS, Simpson JL. Abnormal sexual differentiation and neoplasia. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;25:191-218.
22. Speroff L, Glass RH, Kase NG, editors. Amenorrhea. In: *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility*. 6th ed. USA: Lippincott Williams and Wilkins; 1999. p. 421-76.
23. Harper PS, editor. *Practical genetic counseling*. 5th ed. UK: Butterworth/Heinemann Oxford; 1998. p. 63.