

Kromozoma! Anomali Riski Taşıyan Gebeliklerde Amniyotik Hücre Kültürü İle Fetal Kromozomların İncelenmesi

INVESTIGATION OF FETAL CHROMOSOMES WITH AMNIOTIC CELL CULTURE AT THE PREGNANCIES WITH HIGH RISK OF CHROMOSOMAL ABNORMALITY

Filiz BAL*» Gönül OĞUR**, Akgün YILDIZ**, İzzet ŞAHİN***, Adnan MENEVŞE*

* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD,

** GATA Tıbbi Biyoloji ve Genetik BD,

*** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, ANKARA

ÖZET

Amaç: Kromozoma! anomali riski taşıyan gebeliklerde amniyotik hücre kültürü yöntemi ile fetal kromozomların incelenmesi ve fetal kromozoma! anomalilerin doğum öncesi dönemde tanımlanması.

Çalışmanın yapıldığı yer: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD

Materyal ve Metod: Bu çalışma Ocak 1994-Kasım 1994 tarihleri arasında yapılmıştır. Kromozomal anomali riski yüksek olan 30 olgu doğum öncesi sitogenetik tanı endikasyonları çerçevesinde belirlenmiş ve amniosentez sonucu gerçekleştirilen amniyotik hücre kültürü sonunda fetal kromozomlar incelenmiştir.

Bulgular: Sitogenetik analizlerde 30 olgudan 4'ünde kromozomal anomali saptanmıştır, ileri anne yaşı risk grubunda 1 fetüste trizomi 21. 1 fetüste mozaik tetrazomi 12p (46,XX/47,XX,+1(12p), rutin gebelik ultrasonografisinde fetal anomali saptanan grupta 1 fetüste trizomi 18 ve anne yaşı 35'OT altında olan, üçlü test'de yüksek risk belirlenmesi nedeni ile incelenen grupta 1 fetüste trizomi 21 saptanmıştır.

Sonuç: Çalışmamızda elde edilen sonuçlar, ileri anne yaşının, kromozom anomalisinin oluşumunda önemli risk faktörü olduğunu göstermiştir. Anne yaşı 35'in altında olan ve düşük riskli kabul edilen grupta üçlü testin, kromozom anomali riskinin belirlenmesindeki önemi vurgulanmış, aynı zamanda üçlü testin tüm gebeliklere tarama testi olarak uygulanmasının kromozom anomalilerinin özellikle Down sendromunun doğum öncesi yakalanmasını sağlama açısından önemi ortaya konmuştur. Çalışmamız rutin gebelik ultrasonografisinde fetüse ait patolojik bulguların kromozom anomalili fetus olasılığını akla getirerek, genetik danışma gerekliliğini göstermesi açısından da önemlidir. Olgu sayısı artırılarak devam edecek çalışmalar ile çok daha geniş ve sağlıklı veriler elde edilecektir.

Anahtar Kelimeler; Kromozomal anomaliler, Amniyosentez, Prenatal tanı

T Klin JinekoloS Obsf 1995, 5:249-258

Geliş Tarihi: 28.9.1995

Yazışma Adresi: Dr.Filiz BAL
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD, Beşevler, ANKARA

Bu çalışma Gazi Üniversitesi faktörlüğü araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.

T Kim J Gynecol Obst 1995, 5

SUMMARY

Objective: Investigation of fetal chromosomes with amniotic cell culture at the pregnancies which have high risk of chromosomal abnormality.

Institution: Medical Faculty, Gazi University, Department of Genetics and Medical Biology

Materials and Methods: This study, has been made between January-November 1994. In our study 30 cases chosen under circumstances of antenatal cytogenetic diagnostic indications were evaluated for fetal chromosomal abnormality by amniocentesis.

Findings: We founded 1 fetus with trisomy 21, 1 fetus with mosaic tetrasomy 12p (46,XX/47,XX+i(12p) in advanced age mother risk group. 1 fetus with trisomy 18 in the group in which fetal anomaly was detected during routine ultrasonography and 1 fetus with trisomy 21 in the high risk triple test group (mothers age under 35).

Results: Results obtained indicate that advanced maternal age is the most important risk factor in the formation of chromosomal anomaly. The importance of triple test in determining the risk of chromosomal anomaly is well emphasized in the group with mothers aged under 35. Our study also indicate* the importance of genetic consultation because the pathologic signs in routine obstetric ultrasonography might signify the fetus with chromosomal anomaly. Increased number of cases are needed to be able to reflect more conclusive results.

Key Words: Chromosomal abnormalities, Amniocentesis, Prenatal diagnosis

T Klin J Gynecol Obst 1995, 5:249-256

Canlı doğan bebeklerin %3'ünün yaşamını tehdit eden doğumsal yapı bozukluklarının, sıklıkla genetik hastalıklar sonucu oluştuğu bilinmektedir (1). Genetik hastalıklar; tek gen hastalıkları, kromozomal hastalıklar ve multifaktöryal hastalıklar olmak üzere üç grupta in-

eşlenmektedir. Doğumsal yapı bozuklukları nedenlerinin %6'sını oluşturan kromozoma! anomaliler, genetik hastalıkların içinde doğum öncesi ve sonrası tanımlanmaları daha kolay olan hastalık grubunu oluşturmaktadır (2).

Canlı doğumlarda yaklaşık 1:160 sıklıkla belirlenen kromozom anomalileri, insan morbidite ve mortalite içinde önemli bir etiyolojik faktördür (3,4). Majör kromozom anomalileri, genellikle fetusun canlı doğmasına izin vermemektedir (4). Spontan düşük olgularında belirlenen %50-iO kromozom anomali oranı, bu görüşü doğrular niteliktedir (5). Yaşam ile bağdaşan durumlarda ise kromozom anomalileri zihinsel özür, dismorfik görünüm, konjenital malformasyonlar ve gelişme geriliği ile karakterize sendromları oluşturmaktadır (4).

Kromozoma! hastalıkların tedavisi, yapısal anomalilerin cerrahi yöntemlerle düzeltilmesi ya da yaşam kalitesini yükseltebilmek için rehabilitasyon programlarının uygulanması ile sınırlıdır. Cerrahi girişimlerin ve rehabilitasyon programlarının uygulanması, aileye ve ülke ekonomisine büyük parasal yük getirmenin yanında çoğu olguda, başarılı sonuçlar alınamamaktadır. Tedavi olanaklarının sınırlı olması ve yaşam sürelerinin kısıtlılığına bağlı olarak, kromozoma! hastalıklarla ilgili çalışmalar bugünkü koşullarda daha çok koruyucu hekimlik alanında yoğunlaşmaktadır.

Toplum sağlığı ve koruyucu hekimlik adına büyük önemi olan doğum öncesi tanı. kromozom anomalili fetusun gebelik süresi içinde tanınmasını sağlayan önemli bir yaklaşımlar dizisidir. Uygulamada büyümekte olan fetuse ve anneye zarar vermemek temel ilkelerden biridir.

Genetik hastalıklar için riskli tüm gebeliklerin ancak %5'inde tıbbi sonlandırmayı gerektirecek etkilenmiş fetus saptanmasına karşın böyle bir hastalık için riski olan pekçok aile prenatal tanı olanağı yoksa bahsedilen gebelikten vazgeçmektedir. Prenatal tanı, tedavi olanağı bulunmayan, yaşam süresi kısıtlı, ağır fiziksel ve zihinsel özürlere yol açan hastalıklar için yüksek riske sahip aileler için sağlıklı çocuk şansı yermektedir. Anomalili çocuk doğurma riski taşıyan, doğum öncesi tanı imkanına sahip olan ailelerde doğurganlık oranı, doğum öncesi tanı olanağı bulunmayan riskli ailelere göre anlamlı oranda artmaktadır (1).

Bu çalışmada kromozom anomalileri yönünden yüksek riski olan gebeliklerde amniyotik hücre kültürü yöntemi ile fetal kromozomlar incelenmiş ve saptanan fetal kromozoma) anomalilerin klinik ile korelasyonu ir-delenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genelim Anabilim Dalı'na Ocak 1904-Kasım 1994 tarihleri arasında kromozoma! hastalıklar yönünden yüksek risk taşıması nedeni ile genetik danışma ve doğum öncesi sitogenetik inceleme için refere edilen 30 otgu değerlendirmeye alınmıştır.

Söz konusu risk paralelinde ailelere, genetik danışma veriierek kromozoma! hastalık ve doğum öncesi tara olanakları hakkında bilgi aktarılmıştır. Doğum öncesi tara girişimlerini ve komplikasyonlarını bilerek uygulamayı kabul eden ailelerde, amniyosentez, fakültemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD'da uygulanmıştır. Ultrasonografik gözlem altında, steril koşullarda 20 G spinal iğne ile transabdominal olarak amniyosentez uygulanmış ve 20 ml amniyon sıvısı iki ayrı enjektöre alınmıştır (msternal hücre kontaminasyonunu önlemek için ilk iki ml ayrı bir enjektöre alınmıştır).

Amniyosentez aracılığı ile elde edilen amniyotik hücrelerde doku kültürü yöntemi uygulanarak fetuse ait kromozomlar elde edilmiştir. Amniyotik hücre kültüründe, Hoehe ve ark'nın, protokolü modifiye edilerek uygulanmıştır (8). Amniyotik sıvının santrifüjü sonrasında dipte çöken hücreler üzerine Chang Medium B+C eklenmiştir. Süspansiyon haline gelen hücreler 25 cm²lik kültür flaksilerine aktarılmış, 37°C'de %5 CO₂, %95 nemli ortamda inkübe edilmiştir. 24-98 saat sonra kültür Hastanın zeminine yapıpılan hücre oranı invert mikroskop altında izlenmiştir. Kültür ortamında uygun sayıya ve mitotik aktiviteye ulaşan amniyotik hücreler kromozoma! çalışmaya alınmıştır. Preparatlar 3 gün 37 derecede bekletilerek kurutulmuş ve modifiye Seabright yöntemi ile GTG bantlama uygulanmıştır. Her olgu için en az 20 metafaz değerlendirmeye çalışılmıştır. Patolojik metafaz alanları ve normal metafaz alanlarından en az 2 metafaz alanı, fotoğraflanarak karyotip yapılmıştır.

Kromozom anomalisi tesbit edilen olgularda, anomalinin yol açabileceği problemler ayrıntıları ile aileye aktararak, ağır bedensel ve zihinsel özürlere yol açan anomalilerde, ailenin onayı ve Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD konsey kararı ile gebelik sonlandırılmıştır. Takiben fetustan direkt olarak elde edilen dokularda (Fetal dilt ve fetal trtrakardiak kan) sitogenetik çalışmalar yeniden değerlendirilmiştir. Aileye söz konusu kromozoma! bozukluğun tekrarlama riskleri vurgulanarak anlatılmış ve planlanacak yeni gebelikler için aile uzun süreli takibe alınmıştır.

Çalışma deneysel ve tanısal olmak üzere iki aşamalı gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmayı kapsayan birinci aşamada sitogenetik endikasyon dışındaki nedenlerle yapılan amniyosentezlerden elde edilen, amniyotik hücreler kültüre edilmiştir. Çalışmanın bu aşamasında elde edilen sonuçlar amniyotik hücre kültürü şallarının stabilize olduğunu, kullanılan kültür solüsyonlarının uygunluğunu, yöntemin güvenilirliğini göstermiş ve elde edilen fetal kromozomların kalitesini değerlendirmemizi sağlamıştır.

İkinci aşamada sitogenetik tanı amaçlı çalışmalar sürdürülmüştür. Kromozoma! anomali riski yüksek olan olgular doğum öncesi sitogenetik tanı endikasyonları çerçevesinde belirlenmiştir (Tablo 1)

BULGULAR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik ABD'rtta Ocak-Kasım/1994 tarihleri arasında relere edilen, fetal kromozomal hastalıklar yönünden yüksek riske sahip 30 gebeye, genetik danışma sonucunda doğum öncesi sitogenetik tanı amacıyla amniyosentez uygulanmıştır. Amniyotik hücre kültürü sonunda fetus© ait kromozomlar sitogenetik yönden değerlendirilmiştir. Amniyotik hücre kültürleri ortalama 11. günde sonlandırılmıştır.

Prenatal tanı endikasyonları Tablo 1'de gösterilmiştir. İçlerinde en büyük grupları 11 olgu ile (%36.6) ileri anne yaşı, 8 olgu ile (%26.6) üçlü tarama testinde yüksek down sendromu riski, 6 olgu ile (%20) fetal ultrasonografide saptanan fetal anomali oluşturmuştur (Tablo 2). İleri anne yaş sınırı 35 yaş ve üstü, üçlü tarama testinde yüksek Down sendromu riski 1/250 ve üstü olarak belirlenmiştir. Fetal ultrasonogram anomaliler Tablo 3'de gösterilmiştir. Olgularımızda en küçük anne yaşı 20, en büyük anne yaşı 39 dur. Çalışmamızda amniyosentez sıklıkla 15-19 gebelik haftaları arasında (%63.3) uygulanmıştır.

Gebeliklerden finde ikiz gebelik söz konusu olduğundan sitogenetik analiz 31 materyalde gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda kromozom anomali oranı 31 ma-

Tablo 1. Prenatal sitogenetik tanı endikasyonları
Table 1. Indications for prenatal cytogenetic diagnosis

1. Anne yaşının 35 ve üzerinde olması
2. Önceki çocuğunda kromozom anomalisi saptanması
3. Ebeveynlerin birinde veya her ikisinde dengeli anomalisi saptanması
4. Fetal ultrasonografide patolojik bulgular
5. Anamnezde nedeni açıklanamayan ölü doğum, zihinsel özürü ve/veya anomali çocuk öyküsü bulunması
6. 16-18. gebelik haftalarında anne serumunda düşük alfa-fetoprotein. düşük serbest östriol ve yüksek total hCG (üçlü tarama testi) seviyelerine göre kromozomal açıdan fetusta yüksek risk belirlenmesi

Tablo 2. 30 olguda prenatal sitogenetik tanı endikasyonları
Table 2. Indications for prenatal cytogenetic diagnosis in 30 cases

Endikasyon	Olgu sayısı	%
İleri anne yaşı	11	36.6
Üçlü tarama testi risk yüksekliği (35 yaş altı)	8	26.5
Ultrasonografide fetal anomali	6	20.0
Etiyolojisi bilinmeyen doğumsal anomali	3	10.0
Önceki çocukta kromozomal anomali	2	6.6
Toplam	30	100

Tablo 3. Fetal ultrasonografik anomali saptanan olgular (6 olgu)

Table 3. Fetal malformations diagnosed by ultrasonography (8 cases)

Fetal anomali	Olgu sayısı
Anensefali	2
Ensefalosel	1
Barsak dilatasyonu	1
IUGR+Polihidroamniyos	1
Polihidroamniyos	1
Toplam	6

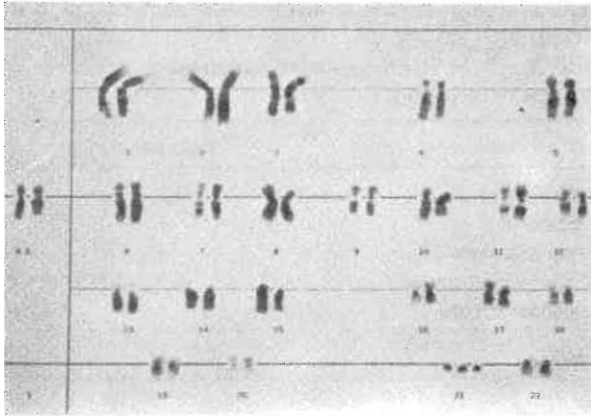
Tablo 4. 30 olguda prenatal sitogenetik sonuçlar
Table 4. Cytogenetic results of 30 cases

Sitogenetik Sonuçlar	Toplam Olgu (n-31)
Normal fetal karyotip	27 olgu
46,XX	15 olgu
46,XY	12 olgu
Kromozomal anomali saptanan olgular	4 olgu
47,XX+21	20kju(Şekil 1a-1b)
47,XX+1S	1 olgu (Şekil 2)
46,XX74?,XX+i(12p)	1 olgu (Şekil 3)

teryalde 4 olmak üzere %12.3 olarak bulunmuştur. Anomali saptanan 4 olgudan 2'si trizomi 21, biri ise trizomi 18 olmak üzere "anöploidi" yansıtmış (3 olgu), 1 olguda ise 12. kromozomun kısa koluna ait duplikasyon mozaik formda saptanmıştır (46,XX/47,XX,+i(12p)). 12. kromozoma ait duplikasyon Belçika'da moleküler sitogenetik labrotuvanında uygulanan FISH (fluorescence in situ hybridization) yöntemi ile doğrulanmıştır (Tablo 4) (Şekil 1,2,3). Belirlenen kromozom anomalilerinin 2'si ileri anne yaşı (Ti trizomi 21, 1'i mozaik tetrazomi 12p), 1'i üçlü tarama testinde risk yüksekliği (trizomi 21 q), 11 ultrasonografide fetal anomali (trizomi 18) endikasyon grubunda yer almaktadır (Tablo 5). İleri anne yaşı endikasyon grubu içinde 4 annede aynı zamanda yüksek üçlü tarama testi riski söz konusudur. Böylece toplam 12 yüksek üçlü test risk grubundan 2'sinde fetal kromozomal anomali saptanmıştır (Tablo 6).

Fetuste kromozom anomalisi saptanan gebelikler söz konusu ailenin onayı ve Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD konsey kararı ile sonlandırılmıştır. Amniyosenteze bağlı fetal kayıp, normal fetal karyotipe sahip bir ikiz gebelik olgusunda, amniyosentezden sonraki 2. hafta içinde erken membran rüptürü ve buna bağlı olarak erken doğum eyleminin gelişmesiyle oluşmuştur (1/30 olguda %3.3). Çalışma kapsamındaki gebeliklerin durumu Tablo 7'de verilmektedir.

S !



m 1 a. Down sendromu karyotipi; 47.XX+21.

Figure 1 a. Karyotype of Down syndrome; 47.XX+21.



Şekt! 1 b. Down sendromlu fetuste bilateral simian çizgisi.

Figure 1 b. Bilateral simian line of fetus with Down syndrome.

TARTIŞMA

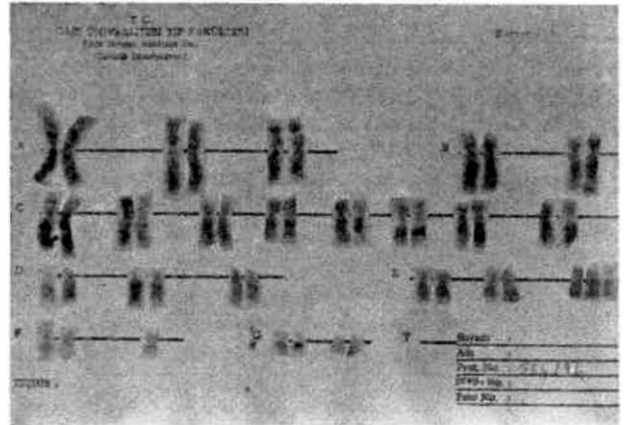
Doğum öncesi tanı çalışmalarında, özellikle belirli bir hastalık için artmış risk taşıyan bireylerin belirlenmesi gereklidir. Bu nedenle sitogenetik çalışmalarda en ti nokta, kromozomal anomali risk faktörlerinin bi-»i ve bu faktörlere bağlı olarak fetusun etkilenme olasılığının belirlenmesidir (7).

Çalışmamızda, 30 olgu doğum öncesi sitogenetik tanı için kabul edilen endikasyonlar çerçevesinde 5 risk grubunda incelenmiştir. 30 olguya ait 31 materyalin 4'ünde kromozom anomalisi saptanmıştır (%12.9). Bu anomalilerin dağılımı gruplar içerisinde, ileri anne yaşında %18 (2/11), ultrasonografide fetal anomali saptanan grupta %16.6 (1/6 olguda), anne yaşı 35'in altında ve üçlü test Down sendromu riski (1:250 üzerinde) bulunan olguların oluşturduğu grupta %12.2 (1/8 olguda) olarak belirlenmiştir. Stranc ve ark (1994) prenatal tanı çalışmalarında tesbit ettikleri sitogenetik anomali oranı %3.4 olarak bildirilmiştir (8). Oğur ve ark

i'594) 121 olgu içeren çalınmalarında %3.2 kromozom anomali oranı bildirmişlerdir (9).

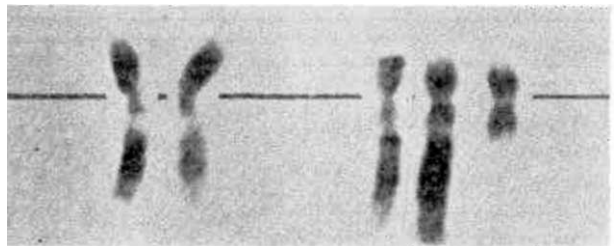
Çalışmamızda ileri anne yaşı olarak belirlenen 11 olgunun 2'sinde kromozomal anomali saptanmıştır. Golbus ve ark (1979) ileri anne yaşı risk grubunda bulunan 35-39 yaşındaki annelerin gebeliklerinde fetal «nomali oranı %1.4, 40 yaş ve üzerinde ise %4.8 bulunmuştur (10). Cruikshank vs ark (1983) 35 yaş ve üzerindeki annelerin gebeliklerinde %3, 40 yaş ve üzerinde ise %7.2 oranında fetuste kromozomal anomali bildirmişlerdir (11). Bizim 30 olguyu içeren çalışmamızda elde ettiğimiz %12.9 (4/31) kromozomal anomali oranı ve ileri anne yaşı endikasyon grubunda belirlemişimiz %18 kromozom anomali oranı literatürlerde benzer çalışmalarda bildirilen oranlardan çok yüksektir. Olgu sayımızın çok kısıtlı olması kromozom anomali oranının yüksek bulunmasının bir nedeni olabilir. Yukarıda sözü edilen diğer çalışmalarda, yaygın endikasyon olan ileri anne yaşında kromozomal anomali özellikle 40 yaşından sonra çok artmaktadır (%7 ve üstünde). Çalışmamızda saptanan fetal kr

ı 2'sinin ileri anne yaşs risk grubunda olması, literatürdeki benzer çalışmalar ile uyumlu olup, anne yaşının kromozom anomalilerinin oluşumu üzerine olan etkisini, doğrular niteliktedir. Ultrasonografide fetal anomali, amniyotik sıvı hacim anomalisi ve intrauterin ge-



! . Trizomi 18 karyotipi; 47.XX+18.

Figure 2. Karyotype of trisomy 18: 47.XX+18.



Şekil 3. Pallister Killian sendromu parsiyal karyotipi i(12p).

p/um 3. Partial karyotype of Pallister Killian syndrome 1(12p).

Tablo 5. Fetal kromozomal anomali saptanan olgularda prenatal sitogenetik tara endikasyonları ve sitogenetik sonuçlar

Table 5. Cytogenetic results and indication of fetuses with chromosomal anomaly

Prenatal sitogenetik tanı endikasyonları	Toplam olgu sayısı	Fetal kromozomal sayısı ve sitogenetik sonuç
İleri anne yaşı	11	2 (2/11-% 18)
Üçlü tarama testinde yüksek risk	8	*47,XX+21 *46,XX/47,XX+t(12p)
Ultrasonografide fetal anomali	6	*47,XX+21 *47,XX+18

Tablo 6. Üçlü tarama testinde yüksek risk saptanan olguların anne yaşı ve fetal karyotip ilişkisi

Table 6. Maternal age and fetal karyotype relation of cases with higher risk in triple screening test

Anne yaşı	Üçlü tarama testi		Anormal karyotip (%)
	riski	olgu sayısı	
35 yaş üstü		4	1 (%25) *47,XX+21
35 yaş altı		8	1 (%12.5) *47,XX+21
Toplam		12	2 (%16.6)

Tablo 7. 30 prenatal sitogenetik tanı olgusunda gebeliklerin durumu

Table 7. Outcome of pregnancies

Durumu	Olgu sayısı
Normal zamanında doğan olgular	22
İşleme bağlı fetal kayıp	1 (ikiz gebelik)
Sonlandırma (trizomi 21)	2
Sonlandırma (trizomi 18)	1
Sonlandırma (mozaik tetrazomi i 2p)	1
•Sonlandırma (anensefali, ensefalosel)	3
Toplam	30

"Bu grupta yer alan 3 olguda fetal kromozom yapısı normal olduğu halde klinik tablonun yaşam ile bağdaşmaması nedeni ile gebelikler sonlandırılmıştır.

üşme geriliği saptanması nedeniyle fetal karyotipleme yaptığımız grupta %16.6 (1/6 olguda) oranında kromozomal anomali tesbit edilmiştir. Dallaire ve ark (1991) rutin ultrasonografik inceleme ile fetal anomalilerin

%52.9'ünü belirledikleri çalışmada %27.1 oranında kromozom anomali bildirmişlerdir (12). Rizzo ve ark (1990) ultrasonografide fetal anomali saptadıkları 273 fetus de %16.8 kromozom anomali belirlemişlerdir. Aynı çalışmada izole anomali varlığında %10.6 olan oran, birden fazla anomali varlığında %35.6 olarak bulunmuştur (13). Çalışmamızda bu grupta saptadığımız kromozomal anomali oranı olgu sayısının kısıtlı olmasına karşın literatürde bildirilen oranlar ile uyumlu bulunmuştur. Eydoux ve ark (1989) intratartarin gelişme geriliği ile birlikte amniyon sıvı anomalisinin olduğu olgularda kromozom anomali oranını, %16.4 olarak belirlemişlerdir (14). Stoll ve ark (1993) kromozomal anomali 191 fetüsün 119'unda (%62.3) fetal konjenital anomaliyi rutin gebelik ultrasonografi incelemesi ile saptamışlardır. Böylece düşük risk grubunda fetal kromozom anomalilerinin saptanmasında rutin ultrasonografik incelemenin önemini göstermişlerdir (15).

Rutin gebelik ultrasonografisinde, intrauterin gelişme geriliği ve polihidramniyos nedeniyle fetal karyotipleme yaptığımız bir olguda kromozom anomali tesbit edilmesi, gebeliklerin doğum öncesi takibinde ultrasonografi ile belirlenen patolojik bulguların, kromozom anomali ihtimalini düşündürmesi gerekliliğini göstermiştir. Ayrıca söz konusu olguda anne yaşı 35'in altında olması ve kromozom anormal riskini gösteren bir öykünün bulunmaması düşük riskli gebeliklerde fetal kromozom anomalilerini yakalamada ultrasonografik değerlendirmenin önemini ortaya koymuştur.

Çalışmamızda 12 olguda üçlü tarama testi sonunda yüksek risk saptanması nedeni ile amniyosentez uygulanmıştır. Bu 12 olgunun 4'ünde aynı zamanda yaş riski de söz konusudur. Bu grupta fetal karyotipler incelendiğinde 2 olguda kromozom anomali tesbit edilmiştir. Wenstrom ve ark (1993) 516 tane üçlü test riski bulunan olguda 15 fetal karyotip anomali bulmuşlardır (16). Cheng ve ark (1993) 7718 gebeye uyguladıkları üçlü tarama testi sonunda 22 Down sendromlu fetüsün 20'si yakalanarak testin Down sendromlu gebelikleri yakalamada duyarlılığını %91 olarak bildirmişlerdir (17). Üçlü test grubunda anne yaşı 35'in altında olan 8 olgunun birinde, kromozom anomali bulunmuştur. Bu oranlar büyük senleri içeren çalışmalarda belirlenen kromozom anomali oranlarının çok üzerindedir. Olgu sayımızın kısıtlı olması, doğru oranları elde etmemizi güçleştirmekle birlikte bu sonuç üçlü testin geçerliliğini gösteren çalışmalarda uyumludur.

Çalışmamızda tesbit edilen 4 fetal kromozom anomalisinin ikisi ileri anne yaşı risk grubundadır ve biri trizomi 21 diğeri tetrazomi 12p (Pallster KsSlan sendromu) olarak tanımlanan marker kromozomdur. Anöploidi'ler içinde canlı doğunda en sık görülen kromozom anomali olan trizomi 21, amniyosentez çalışmalarında 35 yaşında 1/250, 40 yaşında 1/75 sıklıkla tesbit edilmektedir (18). Buna bağlı olarak yaş riski nedeniyle yapılan doğum öncesi tanı çalışmalarında etkilenmiş fe-

hislerin yaklaşık yarısının trizomi 21'i olduğu görülmektedir (19). Hook ve Croos (1983) 63.000 fetuste yapısal kromozom anomalilerinin sıklığını inceledikleri çalışmada marker kromozomların sıklığının anne yaşından etkilendiğini göstermişlerdir (18). Clark ve ark (1993) ileri anne yaşı nedeniyle inceledikleri 7240 olguda, anöploidi ve marker kromozom görülme sıklığının anne yaşı ile birlikte arttığını doğrulayan sonuçlar almışlardır (20). Wenger ve ark (1988) tetrazomi 12p olgularında anne yaşının anlamlı oranda yüksek olduğunu ve Down sendromuna benzer bir ilişki olduğunu ileri sürmüşlerdir (21). Çalışmamızda saplanan tetrazomi 12p olgusunda anne yaşının 35'in üstünde olması bu görüşleri destekler niteliktedir. Dismorfik yüz görünümü, doğumsal anomali ve ileri derecede zihinsel özür ile karakterize Pailister Kilian sendromunda (mozaik tetrazomi 12p) sitogenetik bulgu, küçük metasentrik marker kromozom olarak belirlenen izokromozom 12p'dir (22). İzokromozom 12p fibroblast kültürlerinde tespit edilirken lenfosit kültürlerinde gösterilememektedir (23,24). Sendromun karakteristik özelliği doku spesifik mozaizm göstermesidir. Olgumuzda da fetal karyotip amniyotik hücrelerde 46,XX/47,XX,+i(12p) olarak tesbit edilmiştir. Terminasyon sonrası fibroblast kültürlerinde tetrazomi 12p gösterilmiş fakat lenfosit kültürlerinde normal karyotip elde edilmiştir. Beresson ve ark (1991) doğum öncesi tanımladıkları bir Pailister Kilian sendromu olgusunda fibroblast kültürleri ile tetrazomi 12p varlığını göstermiş fakat lenfosit kültürlerinde gösterememişlerdir (25). Danneleld ve ark (1988) diafragma hernisi saptanan 15 fetuste amniyotik hücrelerde mozaik tetrazomi i(12p) tanımlarken fetal kanda normal karyotip elde etmişlerdir (23). Pailister Kilian sendromunda tanı koydurucu bir bulgu olan diafragma hernisi oğumuzda da ultrasonogram incelemede görülür daha sonra yapılan otopsi ile bu doğrulanmıştır.

Dorothy Warburton, sitogenetik prenatal tanı çalışmalarında kökeni belirlenemeyen marker kromozom oranını 1/2500 olarak bildirmiştir (26). Marker kromozomlarda fetal anomali görülme riski yaklaşık %13'dür (26). Fetuste saptanan marker kromozomların kesin tanımlanmaları fetusun prognozunu belirlemek açısından son derece önemlidir. Gelişen moleküler sitogenetik yöntemler ile marker kromozomların tanımlanmaları mümkün olmaktadır. Olgumuzda sitogenetik olarak tanımlanan izokromozom 12p FISH yöntemi ile doğrulanmıştır.

Gebeliklerin rutin ultrasonografik incelenmeleri sırasında saptanan fetal anomali olgularının %16-20'sinde kromozom anomalisi bulunmaktadır (15). Çalışmamızda gebeliğin rutin ultrasonografik izlenmesi sırasında intrauterin gelişme geriliği ve polihidramniyos saptanan bir olguda fetal trizomi 18 tanımlanmıştır. Literatürde bildirilen doğum öncesi saptanmış trizomi 18 olgularının çoğunda fetal ultrasonografik bulguların başında intrauterin gelişme geriliği ve polihidramniyos gelmektedir (27,18). Fetal gelişme geriliğinin polihidramniyos ile birlikteliği çok nadir olmasına rağmen bu iki patolojik bulgu yaygın olarak trizomi 18 olgularında birlikte bulunmaktadır (29). Çalışmamızda saptanan trizomi 18 olgumuzda da rutin gebelik ultrasonografisinde saptanan intrauterin gelişme geriliği ve polihidramniyos, genetik konsültasyon ve genetik danışma gerekliliğini ortaya çıkarmış ve fetuste kromozom anomalisi varlığını uyarıcı nitelikte olmuştur. Anne serumunda düşük AFP, uE3 ve yüksek hCG seviyelerinin anne yaşı ile kombine edilerek elde edildiği Down sendromu riskleri dikkate alındığında, etkilenmiş fetusların yaklaşık %67'si doğum öncesi yakalanabilmedir (30). Haddow ve ark (1992) 25000 anneye uygulanan üçlü test sonunda riskli gruba amniyosentez uygulamışlar. 35 bilinen trizomi 21 olgusunun 23'ünü (%66) yakalamışlardır (31). Burton ve ark (1993) üçlü testi anne yaşı 35 üzerinde ve altında olan 8233 anneye uygulamış ve trizomi 21 olguları yanında, trizomi 18 ve triploidi olgularını da belirlemişlerdir (30). Çalışmamızda 16-18 gebelik haftalarında, her iki anne yaşı grubunda 23 olguya üçlü tarama testi uygulanmış, bunlar arasında risk saptanan (1:250 ve üzeri) 12 olguda amniyosentez gerçekleştirilmiştir. Saptanan etkilenmiş fetusların ikisi trizomi 21 olgusudur ve amniyosentez öncesi yapılan üçlü testte 1:90 ve 1:43 oranında yüksek risk belirlenmiştir. Fetal trizomi 18 olgusunda ise geç gebelik haftasında olması nedeni ile üç test yapılamamıştır. Pailister Kilian sendromu olgusunda üçlü test riski tesbit edilmemiştir. Görülmektedir ki, Üçlü test Down sendromlu iki olguda da belirleyici olmuştur.

Çalışmamızda yaşı 35'in altında olan ve üçlü tarama testinde Down sendromu riski saptanan 8 anneye amniyosentez uygulanmış ve 1 43 riskli 1 olguda fetuste trizomi 21 yakalanmıştır, ileri anne yaşı trizomi 21'li fetusleri belirlemede geleneksel bir kriter olmakla birlikte, bilinmektedir ki tanımlanan trizomi 21 olgularının %80'inde anne yaşı 35'in altındadır. Üçlü tarama testi Down sendromu olgularını belirlemede etkin bir tarama yöntemidir (17). Olgu sayımızın çok kısıtlı olmasına rağmen üçlü tarama testiyle iki trizomi 21 olgusunun yakalanmış olması literatürdeki bulgular ile uyumlu olup bu görüşü desteklemektedir.

Çalışmamızda 30 olguya uygulanan amniyosentez sonunda 1 ikiz gebelik olgusunda (ileri anne yaşı nedeni ile incelenen) amniyosentezden sonraki 2. hafta içinde gelişen erken membran rüptürü nedeniyle doğum eylemi başlamıştır (1:30 olgu), ikiz gebeliklerde amniyosentez sonrası fetal kayıp riskinin arttığı bilinmektedir fakat kesin oranlar verilememektedir. Anderson ve ark (1991) ikiz gebeliklerde fetalkayıp oranını %3.57 bulmuşlardır (32).

Amniyosentez ile doğum öncesi sitogenetik tanı çalışmalarında amniyotik hücrelerin kültüre edilmeleri gerekmektedir. Çalışmaların olabilecek en erken zamanda başlaması, rölatif olarak daha erken gebelik haftalarında sitogenetik tanı imkanı sağlayacaktır. Çalışmamızda amniyotik hücrelerin kültüre edilmediği görülmektedir. Çalışmaların olabilecek en erken zamanda başlaması, rölatif olarak daha erken gebelik haftalarında sitogenetik tanı imkanı sağlayacaktır. Çalışmamızda amniyotik hücrelerin kültüre edilmediği görülmektedir.

Amniyosentez ile doğum öncesi sitogenetik tanı çalışmalarında amniyotik hücrelerin kültüre edilmeleri gerekmektedir. Çalışmaların olabilecek en erken zamanda başlaması, rölatif olarak daha erken gebelik haftalarında sitogenetik tanı imkanı sağlayacaktır. Çalışmamızda amniyotik hücrelerin kültüre edilmediği görülmektedir.

İşma grubumuzda amniyosentez uygulanan gebelik haftası en fazla 16-19. haftalardır (%63). 24. gebelik haftasının üzerinde amniyosentez uygulanan olgularımızda endikasyon. ultrasonografik incelemede fetal anomali saptanmasıdır. Literatürde de ultrasonografide fetal anomali nedeniyle gerçekleştirilen karyotipleme çalışmalarında kromozom analizi, 24. gebelik haftasından sonra yapılabilmektedir (25.27,28). Ultrasonogram ile fetal anomalinin belirlenmesinin ancak ileri gebelik haftalarında mümkün olması en önemli faktördür.

Çalışmamızda, doğum öncesi sitogenetik tanı çalışmalarında en yaygın endikasyon olan ileri anne yaşının» kromozomal anomali oluşumunda önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir. Rutin ultrasonografik incelemede bulunan fetal anomaliler, düşük riske sahip gruplarda fetal kromozom anomali riskini akla getirerek genetik danışma gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Çalışma aynı zamanda anne yaşı 35 yaşın altında olan gebelik gruplarında kromozom risklerinin belirlenmesi amacı ile üçlü tarama testinin yaygın olarak (16-18. gebelik haftasında) uygulanmasını sağlayacak programların geliştirilmesi gerektiğini göstermiştir. Olgu sayısı artırılarak devam edecek çalışmaların bizlere daha sağlıklı veri sağlayacağı açıktır.

KAYNAKLAR

1. D'Alton ME, DeCherney AH. Prenatal diagnosis. N Engl J Med 1993; 328:114-20.
2. Gagnon S, Fraser W, Fouquette B, Bastide A, Bureau M, Fontaine J, Hunt C. Nature and frequency of chromosomal abnormalities in pregnancies with abnormal ultrasound findings: An analysis of 117 cases with review of the literature. Prenat Diagn 1992; 12:9-18.
3. Hamerton JL, Canning N, Ray M, Smith S. A cytogenetic survey of 14,069 newborn infants. Clin Genet 1975; 8:223-43.
4. Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Clinical cytogenetics: General principles and autosomal abnormalities: Genetics in medicine, 5* eel. Wonsiewicz MJ ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992: 201-29.
5. Hasso W T, Chen H, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamana JA, Jacobs PA. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. Ann Hum Genet Lortd 1980; 44:151-64.
6. Hoehn H, Bryant EM, Karp LE, Martin GM. Cultivated cells from diagnostic amniocentesis in second trimester pregnancies. I. Clonal morphology and growth potential. Pediatr Res 1974; 8:746-54.
7. Pryde PG, Drugan A, Johnson MP, Isada NB, Evans MI. Prenatal diagnosis: Choices woman make about pursuing testing and acting on abnormal results. Clin Obstet Gynecol 1993; 36:498-509.
8. Stranc LC, Evans JA, Hamerton JL. Prenatal diagnosis in Canada-1990: A Review Prenat Diagn 1994; 14:1253-65.
9. Oğur G, Bahçe M, imtrziatoglu N, Başar I, Pabucçu R, Koç A, Saraçoğlu F, Danışman N. Dölen I, Gül D, Yıldız A. Results of 121 prenatal cytogenetic diagnosis from GATA Medical Faculty, Ankara-Türkiye. In: Zakut H eds 7th International Conference on Early Prenatal Diagnosis; Manduzgi Editors, Bologna. 1994: 319-22.
10. Qolbus MS, Loughman WO, Epsteni CJ, Halbasch G, Stephens JD, Hal BD. Prenatal genetic diagnosis in 3000 amniocentesis. N Engl J Med 1979; 300:157-63.
11. Cruikshank DP, Varner MW, Cruikshank JE, Grant SS, Donnelly E. Mid trimester amniocentesis; An analysis of 923 cases with neonatal follow-up. Am J Obstet Gynecol 1983; 146:204-10.
12. Daliare L, Michaud J, Melankon SB, Potter M, Lambert M, Mitchell G, Boisvert J. Prenatal diagnosis of fetal anomalies during the second trimester of pregnancy: Their characterization and delineation of defects in pregnancies at risk. Prenat Diagn 1991; 11:629-35.
13. Rizzo N, Pittais MC, Pilu G, Orsini LF, Pernio A, Bovicelli L. Prenatal karyotyping in malformed fetuses. Prenat Diagn 1990; 10:17-23.
14. Eydoux P, Choiset A, Le Porrier N, Thepot F, Szpiro-Tapia S, AUiet J, Hamond S, Viel JF, Gautier E, Morihon N, Girard-Orgeolet S. Chromosomal prenatal diagnosis: Study of 936 cases of intrauterine abnormalities after ultrasound assessment. Prenat Diagn 1983; 9:255-68.
15. Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth M. Evaluation of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. Hum Genet 1993; 91:37-41.
16. Wenstrom KD, Williamson RA, Grant SS, Hudson JD, Geichelt P. Evaluation of multiple-marker screening for Down syndrome in a statewide population. Am J Obstet Gynecol 1993; 169:793-7.
17. Cheng EY, Luthy DA, Zebelman AM, Williams MA, Lieppman RE, Hiokok DE. A prospective evaluation of a second-trimester screening test for fetal Down syndrome using maternal serum alpha-fetoprotein, hCG, and unconjugated estriol. Obstet Gynecol 1993; 81:72-7.
18. Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. Chromosomal abnormality rates at amniocentesis and in Uwe-Born infants. JAMA 1983; 249:2034-38.
19. Hook EB, Cross PK. Rates of mutant and inherited structural cytogenetic abnormalities detected at amniocentesis: results on about 63 000 fetuses. Ann Hum Genet 1987; 51:27-55.
20. Clark BA, Kennedy K, Olson S. The need to reevaluate trisomy screening for advanced maternal age in prenatal diagnosis. Am J Obstet Gynecol 1993; 168:312-6.
21. Wenger SI, Steele MW, Yu W. Risk effect of maternal age in Pallister 1(12p) syndrome. Clin Genet 1988; 34:181-4.
22. Schinzel A. Tetrasomy 12p (Pallister-Killian syndrome), J Med Genet 1991; 28:122-5.

23. Donnenfeld AE, Campbell TJ, Byers J, Librizzi RJ, Weiner S. Tissue-specific mosaicism among fetuses with prenatally diagnosed diaphragmatic hernia. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:1017-21.
24. Hunter AGW, Clifford B, Cox DM. The characteristic physiognomy and tissue specific karyotype distribution in the Pallister-Killian syndrome. *Clin Genet* 1985; 28:47-53.
25. Bresson JL, Arbez-Gindre F, Peltie J, Gouget A. Short communication, Pallister Killian-Mosaic Tetrasomy 2 P syndrome. Another Prenatally Diagnosed Case *Prenat Diagn* 1991; 11:271-5.
26. Warburton D. De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: Clinical significance and distribution of breakpoints. *Am J Hum Genet* 1991; 49:995-1013.
27. Liang ST, Yam AWC, Tang MHY, Ghosh A. Trisomy 18: the value of late prenatal diagnosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1986; 22:95-7.
28. Stevens MJ, Dumon J, Jacquemyn Y, Van Roy B, Delbeke L, Gerris J, Bytaert P. Antenatal ultrasonographic diagnosis of trisomy 18 (Edwards syndrome). *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1987; 26:353-8.
29. Donnenfeld AE, Mennyti MT. Sonographic findings in fetuses with common chromosome abnormalities. *Clin Obstet and Gynecol* 1988; 31:80-96.
30. Burton BK, Prins GS, Verp MS. A prospective trial of prenatal screening for Down syndrome by means of maternal serum alpha-fetoprotein, human chorionicgonadotropin and unconjugated estriol. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 189:526-30.
31. Haddow JE. Biologic properties of alpha-fetoprotein in detection of fetal disorders: Maternal serum screening for fetal genetic disorders, 1* ed. Elias S, Simpson SL ed, Churchill Livingstone, USA, 1992: 25-40.
32. Anderson RL, Goldberg JD, Golbus MS. Prenatal diagnosis in multiple gestation: 20 Years' Experience with Amniocentesis *Prenat Diagn* 1991; 11:263-70.