



T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**AMNİYOSENTEZ UYGULANAN 217
OLGUNUN ANALİZİ**

DR. ERDAL ŞEKER

TIPTA UZMANLIK TEZİ

DİYARBAKIR-2014



**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**AMNİYOSENTEZ UYGULANAN 217
OLGUNUN ANALİZİ**

**DR. ERDAL ŞEKER
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**PROF. DR. AHMET YALINKAYA
TEZ DANIŞMANI**

ÖNSÖZ

Prenatal tanının temel amacı genetik bozuklukların prenatal dönemde tanısının konulması ve patolojilerin türüne göre uygun önlemler almaktır. Bu amaçla invaziv girişim olarak da en fazla AS uygulanmaktadır.

Eylül 2011 ile Aralık 2013 tarihleri arasında AS uygulanan toplam 217 olgu retrospektif olarak analiz edildi.

Uzmanlık eğitimim süresince bana her konuda desteğini ve anlayışını esirgemeyen, yetişmemde büyük katkıları olan saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Talip GÜL, tez hocam Prof. Dr. Ahmet YALINKAYA, Doç. Dr. Mehmet Sıddık EVSEN Doç. Dr. Muhammed Erdal SAK, , Yrd. Doç. Dr. Abdulkadir TURGUT, Yrd. Doç. Dr. Ali ÖZLER, Yrd. Doç. Senem Yaman TUNÇ, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sait İÇEN ve Yrd. Doç. Dr. Elif AĞAÇAYAK' a ayrı ayrı teşekkür ederim. Ayrıca bana emeği geçen tüm çalışma arkadaşlarıma ve klinik çalışanlarına ayrı ayrı teşekkür ederim.

07.05.2014

Dr. Erdal ŞEKER

ÖZET

Prenatal tanıda esas amaç, fetüsün sağlığı ile ilgili en erken zamanda bilgi sahibi olmak ve ailenin fetüsün geleceği ile ilgili en kısa sürede karar alabilmesini sağlamaktır. Prenatal tanı, invazif girişimler ve non-invazif taramalar olmak üzere ikiye ayrılır. Non-invazif tetkiklerin hala tarama düzeyinde kullanılması ve kesin tanı için invazif girişim tarafından doğrulanması gerekliliği invazif tanının öneminin korumasına neden olmaktadır. İnvazif girişimlerden koryonik villüs örnekleme (CVS) oranının artmasına rağmen, genetik amniosentez(AS) hala çok yaygın olarak invazif prenatal tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. AS gebeliğin her trimesterinde yapılıyor olmasına karşın, genetik AS genellikle gebeliğin 15-20 haftaları arasında uygulanmaktadır.

Bu çalışma, Eylül 2011 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında yapıldı ve çalışmaya 217 hasta alındı. Anamnez ve ultrasonografi (USG) ile değerlendirmede patolojik bulgu saptanan; kombine, ikili, üçlü ve dörtlü tarama testlerinde kromozomal anomali açısından yüksek risk bulunan; ileri anne yaşı olan ve maternal anksiyetenin olduğu gebelere kesin tanı için AS işlemi uygulandı.

AS endikasyonları arasında, yüksek riskli triple test ilk sırada yer alırken, bunu sırasıyla birden fazla nedenle AS'nin yapıldığı kombine endikasyonlar ve patolojik USG bulguları takip etmektedir. AS uygulanan olguların ortalama yaşları $32,37 \pm 6,20$, ortalama gebelik haftaları $17,58 \pm 1,80$ olarak bulundu. Gebelerin hepsine tek girişle AS işlemi uygulandı.

AS yapılan hastalarda kromozomal anomali oranı %8 olarak bulundu. Direkt AS işlemine bağlı fetal kayıp izlenmedi.

AS, deneyimli ve konunun uzmanları tarafından yapılması, optimum transport ve kültür şartlarının sağlanması halinde, doğruluk ve güvenilirliği yüksek; işleme komplikasyonların çok düşük olduğu önemli bir invazif tanı yöntemidir. Sonuç olarak fetal kromozomal anomalilerin kesin tanısında, AS hala en yaygın kullanılan invazif prenatal tanı yöntemi özelliğini sürdürmektedir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: prenatal tanı, amniosentez, endikasyonlar, riskler, kromozomal anomali

ABSTRACT

The main purpose in prenatal diagnose is to have information about fetus health and to make a decision about the future of fetus as soon as possible. Prenatal diagnose is divided in two groups as invasive procedures and non-invasive scanning . Non invasive tests are still being used in screening and for a definitive diagnosis, diagnosis should be confirmed by invasive procedures. Therefore invasive diagnosis still keeps it's importance in prenatal diagnosis. Despite increasing rate of coryonic villus sampling(CVS), genetic amniocentesis (AS) is still a common performed as a prenatal diagnosis procedure. Although AS could be performed in each trimester of pregnancy, genetic AS commonly performed between 15-20th weeks of gestation.

This study was conducted between September 2011 and July 2013, and 217 patients included at the study. The patients who have had following indications underwent AS for a definitive diagnosis; pathological finding at family history and ultrasonography; high risk for double, triple and quadraple tests; advanced maternal age and maternal anxiety.

High risk in triple test was the leading indication for AS followed by combine indications and pathological USG finding. The mean maternal age was 32.37 ± 6.20 and mean gestation age was 17.58 ± 1.80 . AS was succesfully performed in each patient with one single try.

The rate of chromosomal abnormality was found to be 8% in patients performed AS.No fetal loss occured due to AS.

In case of performing AS with experts and high experienced doctors and if there is an optimum transport and culture conditions, it is an procedure with high reliability and accuracy. It's an important procedure for diagnosis with less complications seen due to the procedure.As a result, for definitive diagnosis of fetal chromosomal abnormalitiesi AS is still the most common used invasive method in prenatal diagnosis.

Key words: prenatal diagnose,amniocentesis,chromosomal abnormality, indications, risks

İÇİNDEKİLER

SAYFALAR

<u>Önsöz</u>	<u>.i</u>
<u>Özet</u>	<u>..ii</u>
<u>İngilizce Özet (Abstract)</u>	<u>..iii</u>
<u>İçindekiler,.....</u>	<u>..iv</u>
<u>Kısaltmalar.....</u>	<u>v</u>
<u>1. Giriş ve Amaç</u>	<u>1</u>
<u>2. Genel Bilgiler</u>	<u>2</u>
<u>2.1.Genetik ve kromozomal anomalilerin prenatal taranması.....</u>	<u>2</u>
<u>2.2.Prenatal tanı yöntemleri.....</u>	<u>2</u>
<u>2.3. Genetik hastalıklar.....</u>	<u>4</u>
<u>2.4. Amniosentez endikasyonları.....</u>	<u>6</u>
<u>2.5. AS İşleminin komplikasyonları.....</u>	<u>9</u>
<u>2.6. AS İşleminin Kontrendikasyonları.....</u>	<u>10</u>
<u>2.7. Prenatal Tanıda Kullanılan Tarama Testleri.....</u>	<u>11</u>
<u>2.8. Anne Kanında Fetal Hücreler ve Serbest DNA</u> <u>(Deoksiribonukleikasit) Parçacıkları[Maternal Kanda Hücre Dışı Fetal</u> <u>DNA (cffDNA) ile “Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)”].....</u>	<u>17</u>
<u>3. Materyal ve Metod.....</u>	<u>21</u>
<u>4. Bulgular.....</u>	<u>24</u>
<u>5.Tartışma.....</u>	<u>32</u>
<u>6.Sonuç.....</u>	<u>38</u>
<u>7.Kaynaklar.....</u>	<u>39</u>

KISALTMALAR

NAP: Nötrofil Alkalen Fosfataz

NTD: Nöral tüp defektli

PAPP-A: Pregnancy Associated Plazma Protein-A

b-HCG: Beta Human Koryonik Gonadotropin

sb-HCG: Serbest beta human koryonik gonadotropin

FMF: Fetal Medicine Foundation

NT: Ense Saydamlığı, Nuchal Translucency

AFP: Alfa-feto protein

uE3: Unkonjuge estriol

DNA: Deoksiribo nükleik asit

CVS: Koryonik villüs örneklemesi

AS : Amniyosentez

USG: Ultrasonografi

CS: Kordosentez

cffDNA: Maternal kanda serbest fetal DNA

NIPT: Non İnvazif Prenatal Test

FSH: Folikül stimule hormon

MPSS: Tüm serbest DNA

DANSR: Hedeflenmiş DNA

SNP: Hedeflenmiş single-nucleotide polymorphism

PCR: Polymerase chain reaction, polimeraz zincir reaksiyonu

FISH: Floresan in situ hibridizasyon

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Prenatal tanıda esas hedef anomalili embriyo ve fetüsa mümkün olduğunca erken tanı koymak ve gebeliğin seyri ile ilgili karar almaktır. Esas olan fetüsün durumu hakkında doğru bilgi edinmek ve aileye kendi kararlarını vermesini sağlamaktır. Prenatal tanı yöntemleri girişimsel olmayan ve girişimsel yöntemler olarak ikiye ayrılır. Girişimsel olmayan yöntemlerin en önemlileri ultrasonografi(USG) incelemeleri ve anne kanında çalışılan biyokimyasal tarama testleridir.(Double test,kombine test, triple test, dörtlü test)

Yine girişimsel olmayan yöntemlerden maternal kanda serbest fetal DNA(cffDNA) bakılması yeni bir yöntemdir. Tüm dünyada yeni bir uygulama olan Non İnvazif Prenatal Test (NIPT) ile ilgili komite ve uzman görüşleri ve hangi endikasyonlarda kullanılacağı bildirilmeye başlanmıştır. Bu aşamada henüz cffDNA ile non invazif prenatal tarama rutin tarama programı yoktur. İleri tarama testi olarak kabul edilmeli, geleneksel günlük rutin tarama testlerine devam edilmelidir. Karyotip analizi gerektiren majör fetal anomalilerde ise fetal karyotipleme yapılması gerekmektedir(1).

Prenatal tanıda kullanılan girişimsel yöntemler sayesinde fetal karyotip belirlenebilmektedir. Prenatal tanı amacıyla birinci ve ikinci trimestirde, günümüzde yapılan girişimsel klasik yöntemler olarak koryonik villüs örneklemesi(CVS), amniyosentez(AS) ve kordosentez(KS) uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden CVS'in yapılması için daha fazla deneyim gerekmesi, işleme bağlı kayıp oranının %1-1.5 olması ve ekstremitte defektlerinde öne sürülen artışlar, erken AS'nin ise güvenilirliği ile ilgili olan kontrollü çalışmaların azlığı, bugüne kadar yapılan çalışmalarda işleme bağlı fetal kayıp oranlarının yüksek olarak bildirilmesi ve fetüslerde bazı postural deformitelerin oluşabilmesi, KS ise yine daha fazla deneyim gerektirmesi ve fetal kayıp oranlarının yüksek olması nedeni ile klasik AS en sık uygulanan invaziv prenatal tanı yöntemidir(2).

Bu çalışmamızdaki amaç, AS olgularında; işlemin başarı oranını, komplikasyonlarını, gebelik ve doğum üzerine olan etkisini ve alınan amniyon sıvısında karyotipleme sonrası elde edilen sonuçları değerlendirmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Genetik ve Kromozomal Anomalilerin Prenatal Taranması

Kromozom anomalilerin %50'si spontan abortusla sonuçlanırken bunların %5'i 28. gebelik haftasından sonra ölü olarak sonuçlanır (3). Bu nedenle gebelik ilerledikçe saptanan kromozomal anomali çeşitliliği azalır. Örneğin gebeliğin 9 ile 14. haftalarında yapılan fetal karyotiplemede Down sendromu sıklığı doğumdaki Down sendromu sıklığından %48-50 daha fazla bulunmuştur (4). İlerleyen gebelik haftası ile cinsiyet kromozomlarına bağlı anomali oranları değişmezken diğer anomalilerin oranları azalır(5).

Down sendromu canlı doğumların 1.21/1000'inde tespit edilir. Intrauterin ya da doğumdan sonraki ilk beş yılda ölümcül olabilen trizomi 18 (0.15/1000) ve trizomi 13 (0.08/1000) ise daha nadirdir (3).

2.2.Prenatal tanı yöntemleri

2.2.1.Non-invaziv yöntemler

Fetal görüntüleme ve maternal kandaki biyokimyasal incelemelerdir.

2.2.1.1. Fetal görüntüleme

Fetal USG prenatal non-invaziv tanı yöntemleri içinde fetal risk ve annenin rahatlığı açısından en uygun olarak kullanılan yöntemdir .Kompüterize tomografi ve magnetik rezonans görüntülenmesi hem pahalı hem de fetal radyasyon etkilenmesinin endişesiyle kullanımı sınırlıdır.

2.2.1.2.Maternal kan

Maternal kan, tanı çalışmalarından ziyade tarama çalışmalarında daha önemlidir. Maternal kanda fetal DNA ise yeni girmeye başlamış olan non invazif tanı tarama testidir.

2.2.2. İnvaziv yöntemler

2.2.2.1. Amniyosentez (AS)

Günümüzde fetal kromozomal ve genetik bozuklukların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır. Genetik bozuklukların tanısında midtrimester AS 15 ila 18. gebelik haftalarında yapılmaktadır. Bu haftalarda amniyon sıvı miktarı, viabl non viabl hücre oranı prosedür için uygundur. İşlem öncesinde USG ile fetüs sayısı, gestasyonel hafta, plasenta ve kord insersiyon yerleri tespit edilmeli, fetal viabilite

belirlenmelidir. Maternal abdomen antiseptik solüsyonla temizlenir. USG rehberliğinde 20-22 gauge iğne ile amniyotik sıvı cebine girilir. İlk 2ml sıvı maternal hücre kontaminasyonunu önlemek için dışarı alınır. Sonra 20 ml amniyon sıvısı örnekleme için alınır. İşlem sonrası kardiyak aktiviteye bakılır. Eğer ilk denemede başarısız olunursa sonra başka bir lokalizasyondan ikinci kez örnekleme yapılmaya çalışılır. Sıvı alınamamasının en sık sebebi amniyon zarının sıvı geçişine engel olacak şekilde bombeleşmesi ve iğne ile uyarılan uterusun kontraksiyonlarıdır. İkinci denemede de başarısız olunursa aynı seansta daha fazla deneme yapılmamalıdır. Hastaya birkaç gün içerisinde tekrar randevu verilmelidir. Fetal kayıp oranı girişim sayısı arttıkça artmaktadır (6).

Amniyon sıvısındaki fetal hücreler fetal deri, respiratuar traktüs, gastrointestinal traktüs, üriner traktüs ve plasentadan köken alır ve kültürlerde başarısızlık %0,5'tir (7). AS sonrasında kramplar ve alt ağrı olabilir. 48 Saat içinde gerilemektedir. Genellikle çok ciddi boyutta değildir. Amniyonit %0,1 oranında görülebilir(8). Amniyon mayinin cilt florası ile kontaminasyonu sonrası oluşur. Erken membran rüptürü sonrasında da gelişebilmektedir. Rh uyumsuzlu olan hastalara anti-D önerilmektedir.

Amniyon sıvı kaçağı ve vaginal kanama %2-3 oranında görülebilmektedir. Çoğu olguda sıvı kaçağı yatak istirahati ile düzelir(9).

AS sonrası gebelik kaybı ile ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur. Bunlarda kayıp oranlarında anlamlı bir farklılık olmadığı saptandı. AS sonrasında gebelik kayıp oranı %3-4 olarak bildirilmiştir. 19 gauge ve daha büyük iğne kullanılması, iki ve daha fazla girişim yapılarak örnek alınabildiği durumlarda kayıp riskinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (10).

4606 hasta üzerinde Danimarka'da yapılan ilk prospektif randomize, kontrollü çalışmada ise AS yapılan grupta gebelik kayıp oranı %1,7, AS yapılmayan kontrol grubunda %0,7 olarak saptanmış. Çalışma ve kontrol grupları arasında %1'lik fark gözlenmiştir(11). Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi tarafından AS sonrasında prosedür ilişkili kayıp oranı ise %0,5 olarak açıklanmıştır(12).

2008 yılında yapılan çok merkezli prospektif bir çalışma olan FASTER (First And Second Trimester Evaluation of risk for Aneuploidy Trial) çalışmasında AS yapılan grupta gebelik kayıp oranı %1, AS yapılmayan grupta ise %0,94 olarak

bildirildi. İki gurup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Prosedür ilişkili kayıp oranı ise %0,06 olarak saptandı(13).

Erken tanı sağlamak için AS'in 15. haftadan önce yapılması üzerine durulmuştur. Fakat birçok çalışmada komplikasyon oranı midtrimester AS ve CVS'in karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur (14).

2.2.2.2 Koryonik villüs örneklemesi(CVS)

CVS 11. gestasyonal haftadan sonra yapılır. Birinci trimester CVS'in avantajı gebeliğin erken döneminde hızlı tanı olanağı sağlamasıdır. Anomali saptanması durumunda daha erken gebelik haftalarında terminasyon olanağı sağlamaktadır(15). Yanlış sonuçlar ise sıklıkla maternal hücre kontaminasyonu ve plasental mosaisizmin yanlış değerlendirilmesinden kaynaklanmaktadır.

2.2.2.3. Perkutan umbilikal kord kanı örneklemesi

En sık genetik endikasyon AS ve CVS sonrasında mozaik sonuçların değerlendirilmesidir. Bunun dışında ise; fetal anemi, trombositopeni, intrauterin enfeksiyon, fetal hidrops, ikizden ikize transfüzyon sendromu gibi belirli durumlarda uygulanmaktadır. Fetal kayıptır riski %2 olduğu tahmin edilmektedir(16).

2.3. Genetik hastalıklar

2.3.1. Tek gen bozuklukları

Genler, biri anneden diğeri babadan gelen eş kromozomlar üzerinde, aynı bölgede yer alan "bir çift allel" biçiminde yerleşirler. Tek gen mutasyonları otozomal kromozomlar üzerindeki genleri ilgilendirdiklerinde otozomal dominant (OD) veya otozomal resesif (OR) hastalıkları, cinsiyet kromozomlarındaki genlerle ilgili olduklarında ise, X'e bağlı dominant veya resesif hastalıkları belirlerler(17).

2.3.2. Multifaktöriyel kalıtım

Genetik hastalıkların çoğu multifaktöriyel kalıtım modeliyle ortaya çıkarlar. Çok sayıda minör mutant gen ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimi olur. Birinci derece akrabalar arasında bu oran yaklaşık %4-10 arasındadır. İzole nöral tüp defektleri, izole yarı damak ve/veya dudak, pilor stenozu bunlardan bazılarıdır(17).

2.3.3. Mitokondriyal kalıtım

Kalıtsal hastalıkların bazıları nükleer genleri ilgilendiren Mendel kalıtımına uygunluk göstermez. Mitokondriler çekirdekten ayrı olarak kendilerine özgü DNA ve kromozomları vardır. Genetik bilgi maternal olarak aktarılır(17).

2.3.4. Kromozom bozuklukları

Somatik hücrelerdeki 46 kromozomdur “diploid” yapıyı simgeler ve $2n$ olarak gösterilir. Gamet hücreleri ise “haploid” sayıda (n) yani 23 kromozomdurlar.

Kromozomlar büyüklük ve sentromerlerine göre sıralanırlar. Sentromer kromozomu kısa (p) ve uzun (q) kollarına ayrılır. Sentromer lokalizasyonuna göre kromozomlar “metasentrik”, “submetasentrik” ve “akrosentrik” olarak gösterilir.

Kromozom bozuklukları sayısal ya da yapısal olarak 2 ana gruba ayrılır:

2.3.4.1. Sayısal bozukluklar:

Kromozom sayısındaki artışlar temel kromozom sayısının (n) katları şeklinde oluyorsa, buna öploid denilir.(Triploidi ($3n$) ve tetraploidi ($4n$)) Genellikle iki sperm ile olan döllenme veya sperm ya da ovumun olgunlaşma bölünmelerinden birinde yetersizlik sonucu diploid gamet oluşmasıyla oluşur. Temel mekanizma ise çekirdek bölünmesinin olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır. Anöploid ise normal kromozom sayısından bir eksik ($2n-1$) veya bir fazla ($2n+1$) olan dizilişleri ifade etmek için kullanılır.

2.3.4.2. Yapısal bozukluklar

Kromozomlarda kırıkların oluşması, bunu takiben kırık bölgesindeki DNA yapısında komplementer baz çiftleri aracılığı ile yeni yapıların belirlenmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Translokasyon, yapısal düzensizlikler içinde en önemli gruptur. Genelde homolog olmayan 2 kromozom arasında genetik değişim şeklinde ortaya çıkar. Genetik yapıda bir kayıba neden olmazsa dengeli translokasyon denir ve genelde fenotipte bir bozukluğa yol açmazlar. Translokasyon sonucu genetik madde kaybı gerçekleşirse dengesiz translokasyon denir ve fenotipik bozukluklar ile sonuçlanır(23). Dengeli translokasyon taşıyıcılarının çocuklarında ortaya çıkabilecek anormal dağılım sebebiyle trizomik ve monozomik oluşumların gözlenebilir. Delesyon ise kromozomda belirli bir parçanın kaybını simgeler. Zihinsel ve bedensel özörlere neden olur.(Cri-du-chat sendromu ($del\ 5p$) ve Wolf-Hirschhorn Sendromu

(del 4p))(23). Duplikasyon, bir bölgedeki genetik materyalin, iki doz halinde olması sonucunda ortaya çıkar. Delesyonlar gibi, bozuk fenotip ile birlikte dirler(17).

İzokromozom, kromozomun mayoz II'de sentromerden transvers bölünmesi ile ya da sentromere bitişik bölgede kardeş kromatidler arasında translokasyon sonucu ortaya çıkar. Yapısal görüntü kromozomun kollarından birinin olmayışı, diğerinin ise duplikasyonu biçimindedir. Kromozom seti fazla olan kromozom kolu için trizomik, eksik olan kromozom kolu için monozomik olduğundan daima fenotipik değişiklik ile birlikte dir. En sık görülen izokromozom, X kromozomunun uzun koluna ait olan i(Xq)'dur. Turner sendromuna neden olmaktadır(17).

İnversiyon aynı kromozomda iki kırık noktası arasındaki bölgenin 180 derecelik bir dönüşten sonra birleşmesi sonucu oluşur. İki tip inversiyon mevcuttur: İnverte olan bölgede sentromerin de olduğu perisentrik ve sentromer içermeyen bölgenin olduğu parasentrik olanlardır. Bazı kromozomlardaki inversiyonlar, rekombinasyon olayı sonucu, fetusda anomaliye neden olabilmektedir(17).

2.4. AS Endikasyonları

2.4.1. İleri maternal yaş

En geniş grubu oluşturlar. Pek çok ülkede yaş sınırı 35'dir, ancak yaş sınırı 33 ya da 37 olan ülkeler de mevcuttur. İkiz gebeliklerde 31'e kadar iner(24). Yaş arttıkça kromozom anomalilerinin görülme oranı da artar.

Bir kadının hayatı boyunca ürettiği tüm yumurtaları daha doğumdan itibaren ovaryumlarında primitif olarak yer alır. İlerleyen anne yaşı ile beraber oosit formasyonunda görülen nondisjunction insidansında artma ve anöploidi ile sonuçlanır.

Yaş ile birlikte Down sendromu, trizomi 18, Trizomi 13 gibi otozomal ve 47,XXY ve 47,XXX seks kromozomal anöploidi riski artar. Fakat XYY ve 45,X olgularında ileri anne yaşı ile bir ilişki belirlenmemiştir (5).

2.4.2. İleri paternal yaş

Paternal yaşın 50'nin üzerinde olmasıdır. Ancak her ülkede kabul edilmemektedir. İlerlemiş baba yaşıyla, anöploidinin artmış riskine dair görüşler olmakla beraber, görüşlerle ilgili destekleyici kanıtlar yoktur (20).

2.4.3. Habituel abortus

Habituel abortus, ardışık 3 veya daha fazla spontan abortus için kullanılmaktadır.

Erken spontan abortus materyallerinin %25-60'nın kromozomu anöploididir. Habituel abortusu olan gebelerde fetüste saptanan kromozomal anomali oranı %1' dir. Bu nedenle, herhangi bir sebeple açıklanamayan tekrarlayan düşükleri olan çiftlere gebelik durumunda prenatal tanı yapılması gerekir(20).

2.4.4.Kromozomal anomalili bebek doğurma hikayesi

Daha önceden kromozomal anomalili bebeğe sahip olan hastalarda, ikinci bebeğin kromozomal anomali doğma riski %10-15'lere kadar çıkabilmektedir(21). Bu nedenlerden dolayı daha önceden herhangi bir kromozomal anomalili çocuk doğurmuş gebe bayanlara, anne yaşına bakılmaksızın, invaziv prenatal tanı işlemleri yapılmalıdır. USG bulguların saptanması ve bu bulgulardan özellikle bebeğe ait yapısal anormalliklerin yanı sıra, gelişmenin geri olması ve amniyotik sıvı miktarında şiddetli artma ve azalmalar anöploidi düşündüren bulgulardır.

2.4.5.Koryonik villüs örneklemesinde (CVS) mozaizm saptanması

CVS, prenatal tanı amacıyla amniyosenteze göre daha erken gebelik haftalarında (10-14 haftalarda) transservikal ya da transabdominal yoldan fetal trofoblastik dokunun aspirasyonu işlemidir.

Mozaizm, birbirinden farklı kromozom yapısı bulunan hücrelerin bir arada bulunmasıdır. Ancak mozaizm toplumun çok küçük bir kısmında mevcuttur. Bu durumda bebek açısından sonucu tayin eden kriter mozaik olan kromozomal düzensizliğin tipi ve bu hücrelerin tüm hücreler içindeki oranıdır. CVS ile yapılan kromozom analizinde bazen mozaizm saptanmasına rağmen, bebeğin kendisinde bulunmaz ve plasenta ile sınırlıdır. Yani sadece plasentada bulunur. Plasentaya ait olan bu tür mozaizm yaklaşık olarak %1 sıklıkta görülür. Sonradan hastaya amniyosentez uygulanırsa söz konusu mozaizmin sadece plasentaya mı ait, yoksa bebekte de var mı öğrenilebilir (22).

2.4.6 Birden fazla serum belirteci kullanımında risk yüksekliği

Serum belirteçlerinden bugün en sıklıkla kullanılanı; alfa fetoprotein(AFP), human koryonik gonadotropin(hCG) ve unkonjuge estriol(uE3) düzeylerinin kombinasyonu olan triple testtir.

Üçlü tarama testinin (Triple test) sensitivitesi özellikle 35 yaş üzeri hastalarda %80'e kadar çıkabilmektedir.

Diğer serum belirteçlerinden İnhibin ve Nötrofil Alkalen Fosfataz (NAP) da duyarlı bir test olarak görünmektedir. Pregnancy Associated Plasma Protein-A (PAPP-A) ilk trimesterde kullanılabilen iyi bir belirteçtir, ikinci trimesterde ise kullanımı yararsızdır.

2.4.7 Nöral tüp defektli (NTD) bebek öyküsü

Nöral tüp defektlerinin kalıtımı, birtakım genlerin yanı sıra çeşitli dış etkenlerin de birlikte rol oynadıkları multifaktöriyel kalıtım şekline uymaktadır. Nöral tüp defekti anomalilerinin insidansı çeşitli etnik gruplardaki hastalarda farklı olabilmektedir. Bir çiftin önceden nöral tüp defektli bebekleri varsa sonraki gebelikte tekrarlama riski yaklaşık 1/30 kadardır. Nöral tüp defektlerinin sıklığının anne yaşının ileri olması ile ilişkisi yoktur(23). Kesin tanı konulabilmesi için AS ile amniyon sıvısında alfa-fetoprotein (AFP) ve asetilkolinesteraz düzeyini belirlemek gerekebilmektedir.

Bununla birlikte, nöral tüp defektli bebeklerin %95'i herhangi bir risk faktörüne sahip olmayan annelerden doğmaktadır (23).

2.4.8. Diğer endikasyonlar

- a. Eşlerde dengeli translokasyon taşıyıcılığı yada diğer yapısal kromozom kusurlarının olduğunun bilinmesi
- b. Yakın akrabalarından birinde kromozom anomalisi varlığı
- c. Maternal Anksiyete
- d. Kromozom anomalili bebek doğurma hikayesi
- e. Anormal USG bulguları
- f. Fetal Durum Tayin Amaçlı(Akciğer Maturasyon Tayini, Rh izoimmünizasyonu, Koryoamniyonit)
- g. Fetal Tedavi Amaçlı
 - 1-Polihidramniyozda seri dekompresyon
 - 2-Çoğul gebelikte fetosit
 - 3-Oligohidramniyozda amniyoinfüzyon

- 4-Gestasyonel diabetes mellitusta tedaviyi planlamak için insülin düzeyi tayini
- 5-Fetal hipotiroidizmde tiroksin tedavisi
- 6-İkiz-ikiz transfüzyon sendromunda tedavi amaçlı önerenler vardır.

2.5. AS İşleminin Komplikasyonları

Amniyosentez işleminin fetal kayıp riski genelde %1 olarak verilmekle beraber deneyimli merkezlerde bu risk %0,3'lere kadar inmektedir(22).

2.5.1 Maternal akut komplikasyonlar:

Ağrı, kanama ve amniyotik sıvı sızıntısı işlem sonrası hemen ortaya çıkabilen komplikasyonlardır.(%12.1-%5.8) Vajinal kanama ile ilgili yapılan başka bir çalışmada standart amniyosentez sonrası %0,2 oranında kanama gözlenirken, erken amniyosentezde bu oran %1,9 olarak saptanmıştır(24).

2.5.2 Enfeksiyon

Uygun koşullarda yapıldığı takdirde intraamniyotik enfeksiyon gelişme şansı son derece düşüktür. Bir çalışmada bu oran %0,42 olarak bildirilmiştir(25).

2.5.3 İzoinmunizasyon

Amniyosentez sonrası immunizasyon oranı literatürde %1,4-3,4 olarak bildirilmektedir(26). Normal bir gebelikte bu oran %1,1-2,2 kadardır. Ayrıca, ABO izoinmunizasyon riskini azaltmak amacıyla transplasental girişimden kaçınılması ve Rh uyuşmazlığı bulunan gebeye intramusküler 100-300 mikrogram anti-D immunglobulin(Ig) yapılması tavsiye edilmektedir.

2.5.6.Fetal kayıp

Genel kabul gören amniyosentezin fetal kayıp oranını %1 arttırdığıdır. Spontan abortus oranı %1,5 olarak varsayılırsa amniyosentez yapılan bir gebede fetal kayıp riski % 2,4'tür(24). Amniyotik sıvı sızıntısı, vajinal kanama ve operatörün olguyu zor olarak değerlendirmesinin fetal kayıp oranını arttırdığı bildirilmiştir(27).

Çalışmalarda multipl iğne girişinin fetal kayıp oranında artışa neden olduğu, transplasental geçişin ise etki etmediği saptanmıştır(28).

Anneyle ilgili risk faktörlerinden hipertansiyon, artmış vücut kitle indeksi ve gebelik sayısının üçten fazla olmasının fetal kayıp ile paralel olduğu saptanmıştır(27). Anomalili fetus varlığında, işlem sırasında fetal kalp atım hızının normalden fazla olduğu olgularda ve anormal renkte amniyon sıvısı söz konusu ise fetal kayıp daha sık görülür(29).

Fetal kaybın önceden tahmininde amniyon sıvısında interlökin-6 bakılması ve rutin kültür yapılmasını önerenler vardır. Çünkü amniyosentez sonrası görülen fetal kayıpların %12'sinden intrauterin inflamasyon sorumlu bulunmuştur(24).

2.5.7. Kanlı örnek

Kanlı amniyotik sıvı, fetal kanama, maternal kanama veya her ikisinin birlikte görülmesi sonucu olabilir. Roz ve arkadaşları, 766 kadın üzerinde yaptıkları bir çalışmada kanlı örnek sıklığını, amniyotik sıvının ilk 2 cc'inde %25 oranında saptamışlardır(30).

2.5.8. Neonatal respiratuar distres

Amniyosentez yapılan gebelerin bebeklerinde doğum sonrası respiratuar distres görülebilir. 695 gebede yapılan bir çalışmada standart amniyosentez sonrası %1,6; erken amniyosentez sonrası %2,1 oranında respiratuar distres saptanmıştır(31). Amniyotik sıvı volümündeki değişiklik veya kronik amniyotik sıvı sızıntısı pulmoner gelişimi bozarak solunum sorunu oluşturabilir.

2.6. AS İşleminin Kontrendikasyonları

Uterusu çepeçevre kuşatan barsak gibi, işlemin teknik yönünü ilgilendiren durumlar hariç tutulursa, AS'in mutlak kontrendike olduğu bir hadise yoktur. Bununla birlikte HIV gibi maternal enfeksiyonlar veya diğer kan yoluyla geçen (örneğin HepatitB gibi) enfeksiyonlar rölatif kontrendikedir. Çoğu otör işlem den önce HIV ile enfekte gebelerde ek bir zidovudin dozu ile ASi önermektedir(32). Hepatit B virüs antijeni pozitif olan 15 gebe içeren bir yayındayapılan AS sonrası

infantların hiçbirinde enfeksiyon saptanmamıştır(32). Bununla birlikte sadece iki hastada HBe Ag'i pozitif olarak tespit edilmiş ve %95 güven aralığıyla transplasental geçiş %22 olarak verilmiştir. Diğer rölatif kontrendikasyonlar ise, maternal koagulopati, antikoagulan kullanımı ve benzer durumlardır.

2.7. Prenatal Tanıda Kullanılan Tarama Testleri

2.7.1. İlk trimester taraması

Gebelik haftası ilerledikçe gebelerin gelişmekte olan fetusleri ile aralarında duygusal bağlanma, ileri gebelik dönemlerinde yapılacak olan bir terminasyon işlemi anne için psikolojik bir yıkım oluşturmalarının yanında komplikasyon oranlarının artması nedeniyle erken gebelik dönemlerinde tarama daha önemli hale gelmiştir.

2.7.1.1. Serum biyokimyasal belirteçleri

PAPP-A ve serbest beta Human Koryonik Gonadotropindir(sb-HCG). İlk trimesterde trizomi 21'li fetusların anne kanında normal fetüslara oranla sb-HCG düzeyleri daha yüksek, PAPP-A düzeyleri ise daha düşüktür. Trizomi 18 ve 13'te ise hem sb-HCG hem de PAPP-A azalmıştır. Seks kromozomu anomalilerinde sb-HCG normal , PAPP-A azalmıştır(5). PAPP-A'nın Down sendromu yakalama oranı %40 iken, sb HCG için bu oran %44 dür. Her iki belirtecin birlikte kullanılmasıyla saptama oranının %5 yalancı pozitiflikle %60- 65'e çıktığı bildirilmektedir(34).

2.7.1.2. USG taraması

Ense Saydamlığı (NT: Nuchal Translucency)

Ense saydamlığını mid sagittal düzlemde, nötral pozisyonunda fetal boyunda, yumuşak dokunun dorsal sınırı ile cildin doğrusal sınırı arasındaki ekolusent aralıktır.

Fetal Medicine Foundation (FMF), ense saydamlığını “Birinci trimesterde boynun arka tarafında biriken sıvı, septalı olup olmamasına, sadece ensede bulunmasına ya da tüm vücudu zar gibi sarmasına bakmaksızın “NT” terimi ile ifade edilir.” şeklinde tanımlamıştır(5). Ense ödeminin açıklanmasını hedefleyen birkaç mekanizma mevcuttur. Kollajen ve matriks proteinlerini kodlayan genler 21, 18 ve 13. kromozomlar üzerinde bulunmaktadır. Trizomik fetuslarda artmış olan kromatin doza bağımlı olarak bu kollajen subtiplerinin aşırı üretimine sebep olmaktadır(36). Trizomik fetuslarda belki de ekstraselüler matriks içerisindeki temel substans ve

kollajen proteinlerinin aşırı üretimi sonucunda, artmış doku hidrasyonu veya elastisitesi ense ödemi olarak belirmektedir(38). Fetal anemi ve hipoproteineminin de ense ödemi ile ilişkili olduğunu bildiren, onkotik açıklama mekanizmasını destekleyen raporlar vardır. Kalp yetersizliği ense ödemi sebebi olarak bildirilmiştir. Yapısal kardiyak defektler artmış ense saydamlığı olan fetuslarda daha fazla öngörülebilir. Bu durum intrakardiyak ve duktus venozus doppler dalga formları anormalliklerine sebep olur. Zaten bunun da artmış ense saydamlığı ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır(39).

Bir diğer açıklama gecikmiş veya anormal lenfatik gelişme hipotezidir. Normal lenfajiyogenezde vasküler endotelial hücrelerden juguler lenfatik kese farklılaşır. Bu endotelial hücreler lenfatik kanalların iç yüzünü döşeyerek interstisyel sıvının tekrar merkezi dolaşıma katılımını sağlarlar. Bu işlem normalde yaklaşık onuncu gebelik haftasında tamamlanır. Bekker ve arkadaşları gecikmiş lenfanjiyogenez ile ilişkili olarak artmış NT'nin USG olarak saptanabilen şişmiş jugüler kese ile yüksek derecede ilişkili olduğuna dair kanıtlar buldular. Anöploid fetuslarda histolojik ve immunohistokimyasal çalışmalarla anormal endotelial gelişmenin ve jugüler lenfatik kese içerisine farklılaşmanın bozulmuş olduğu gösterilmiştir(40).

NT ölçümü için en uygun dönem 11–13 hafta 6 gün arasındır. CRL (Crown Rumb Length: Baş-Popo mesafesi) en az 45 mm ve en fazla 84 mm olmalıdır.

Ense saydamlığı ölçümü için en erken dönemin 11. gebelik haftası olarak belirlenmesinin iki nedeni vardır. Birincisi; 10.gebelik haftasından önce yapılan CVS'lerde (Koryon Villus Örnekleme) ekstremitte amputasyon riskinin artmış olması, ikincisi ise pek çok major fetal anomalinin NT ölçümü sırasında 11. haftadan itibaren tanınabilmesidir.

Ense saydamlığı ölçümü için üst limitin 13 hafta 6 gün olarak kabul edilmesinin nedenleri ise şunlardır; birinci neden; eğer gebelik sonlandırılacak ise ikinci trimester yerine bu işlem birinci trimesterde yapılmış olur. İkincisi; ense arkasında sıvı birikimi 14–18. hafta arasında daha azdır. Üçüncüsü; 14. haftadan sonra fetus genellikle vertikale yakın bir pozisyonda durduğu için ultrason muayenesi sırasında fetusu yatay ile paralel duruma getirmek daha zordur. Bu neden ile 10–13. hafta arasında NT ölçebilme oranı %98–100 olmasına karşın 14. haftada bu oran %90'a düşer.

Nazal Kemik

Nazal kemiğin yokluğunun Down sendromu ile yüksek oranda ilişkili olduğu 2001 yılında Cicero ve arkadaşları tarafından saptanmıştır. Nazal kemik yokluğunun tek başına duyarlılığı düşüktür. (%8-%17) Nazal kemiğin varlığı anöploidi riskini düşürmektedir (41).

Ultrason ile NT kalınlığı ve nazal kemiğin olup olmasını, anne serumunda serbest b-hCG ve PAPP-A ölçümü ile birleştirerek risk hesaplaması yapan trizomi 21 taramasının performansını değerlendirilmek için, 11–13 hafta 6 gün arası 100 trizomi 21’li ve 400 kromozomal normal olgu ile Cicero ve arkadaşlarının 2003 yılında yayınladığı kontrollü çalışmada Trizomi 21’i yakalama oranı %97, yanlış pozitiflik %5 olarak bulunmuştur (42).

Birinci Trimesterde Anöploidinin Diğer Belirteçleri

Triküspit kapak ve duktus venozus doppleri, baş-popo mesafesi (CRL), maksilla uzunluğu, tek umbilikal arter, megasistis, egzomfalus, plasenta hacmi ve kalp atım hızının da diğer USG belirteçleri olarak birinci trimester anöploidi taramasında kullanılabileceği FMF tarafından bildirilmektedir.(5)

Anormal fetal doppler akımının Down sendromu ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır(43). Anöploid fetuslarda özellikle Down sendromlu olanlarda atrial kasılma esnasında triküspit kapakta regürjitasyon ve duktus venozusta ters akım oluşur. Nicolaides ve arkadaşlarının 2004 yılında yayınladığı; 5000’den fazla 10–13 hafta 6 gün arası gebeliği kapsayan çalışmada 280 trizomi 21’li olgu saptanmıştır(44). Trizomi 21’li olguların %80’inde ve kromozomu normal olan fetusların %5’inde duktus venozus muayenesinde anormal akım varlığı gözlemlenmiştir. Anormal duktal akım ile NT kalınlığı arasında neredeyse yok denecek kadar zayıf bir ilişki bulunması üzerine duktus venozus muayenesinin, NT ölçümü ile birleştirildiğinde, trizomi 21’in erken sonografik taramasının etkinliğini artırabileceğini düşünmüşlerdir.

2.7.1.3. İlk Trimester Kombine Tarama

Trizomi 21’li ya da normal fetusların NT’leri ile anne serumundaki sb- HCG veya PAPP-A düzeyleri arasında anlamlı bir ilgi yoktur. Bu nedenle tek başlarına kullanılmaları yerine, daha etkin tarama testleri oluşturabilmek için ultrason ve biyokimyasal belirteçler ortak kullanılmalıdır(45).

Tablo 1. Kombine İlk Trimester Tarama Prospektif Çalışma Sonuçları(46)

Çalışma	Hasta Sayısı	Down sendromlu vaka sayısı	Tespit oranı
BUN	8.216	61	% 79
FASTER	33.557	84	% 83
SURUSS	47.053	101	% 83
OSCAR	15.030	82	% 90
TOPLAM	103.856	328	% 84

Nicolaides ve arkadaşlarının 75 821 hasta ile yaptığı 2005 yılında yayınlanan çok merkezli çalışmalarında ilk trimester kombine tarama testi trizomi 21 yakalama oranı %5 yanlış pozitiflik ile yaklaşık %90 olarak bulunmuştur(47).

2.7.2 İkinci trimester taraması

2.7.2.1. İkinci trimester biyokimyasal tarama

AFP düzeyi yüksekliği, açık nöral tüp defeklerinin taranması önceden beri yapılmaktadır. Down sendromlu gebeliklerde AFP düzeyinin düşük olduğu raporlanmıştır(48). HCG ve uE3'ün de Down sendromu riski için kullanılabildiği gösterilmiştir(49).

35 yaş altındaki tüm gebe kadınlara ve ileri maternal yaşta olup invaziv test (AS) yaptırmak istemeyen kadınlarda risk belirlenmesi için üçlü testi önerilmiştir(50).

Üçlü Test

Down sendromlu bebek taşıyan annelerde serum AFP ve uE3 düzeyleri ortalama düşük (Sırasıyla 0.74 ve 0.79 MoM) HCG düzeyi ise yüksek (2,06 MoM ve üzeri) olarak bulunmaktadır(47). Her üç parametrenin yaşla birlikte korelasyonu sonrasında saptama oranı %65'lere çıkmaktadır(51).

İnhibin-A'nın Eklenmesi - Dörtlü Test

Folikul stimule edici hormonun (FSH) salınımını spesifik olarak inhibe eder. Down sendromlu gebeliklerde ikinci trimesterde maternal serum total inhibin düzeylerinin artma eğiliminde olduğunu raporlanmıştır(52). Total inhibin yerine sadece dimerik inhibin-A ölçümünün Down sendromlu gebeliklerde daha fazla

yükseldiğinin gösterilmesi üzerine üçlü teste inhibin-A eklenmesinin tarama testinin performansının belirgin olarak yükseldiğini bildirmişler, bu testi dörtlü marker tarama testi (Quad test / Quadruple test) olarak önerilmiştir(53).

Değişik çalışmalarda inhibin-A'nın üçlü testte eklenmesi ile tespit oranı 6–11 puan artarak %5 yanlış pozitiflikle %80'e ulaştığı bildirilmektedir(54).

Tablo 2. İkinci Trimester Tarama Test Performansları(54)

Belirteçler	% 5 Yanlış Pozitiflik Oranı ile Saptama Hızı	
	SURUSS	FASTER
AFP + HCG	% 66	-
AFP + HCG + uE3	% 74	% 70
AFP + HCG + uE3 + İnhibin-A	% 81	% 81

2.7.2.2. İkinci trimester USG tarama (Genetik sonogram)

Fetal karyotip bozukluklarına birçok yapısal anomali eşlik etmektedir. Yapısal anomali tespit edilen hastalarda ise %25'inde kromozomal anomali olduğu gösterilmiştir(55). Multiple anomali varlığında ise bu oran hızla yükselmektedir.

İkinci trimester USG genellikle 18–22 haftalar arasında yapılır. Anöploidiyi destekleyen 2 tip sonografik belirti vardır. Birinci tip majör fetal yapısal anormallikler, ikinci tip ise daha az anlamlı olan anöploidinin olası belirteçleridir (Minör markerlar, soft markerlar). Minör belirteçler normal fetuslarda da görülebilir, nonspesifiktir ve sıklıkla geçicidir.

Majör Yapısal Anomaliler:

- Ventrikülomegali
- Holoprozensefali
- Mikrosefali
- Korpus Kallosum Agenezisi
- Dandy-Walker kompleksi
- Çilek Şeklinde Kafa
- Yarı Damak- Yarı Dudak
- Mikrognati
- Nazal Kemik Hipoplazisi

- Kalp Anomalileri
- Ekzomfalus
- Diyafragmatik Herni
- Özefagus Atrezisi
- Duodenal Atrezi
- Üriner Sistem Anomalileri
- Ekstremitte Anomalileri
- Fetal Büyüme Geriliği

Minör (Soft) Belirteçler:

- Ense Katlantısı Kalınlaşması (Nuchal Fold Thickness)
- Hiper Ekojenik Barsak(HEB)
- Kısa Femur Ve Humerus
- Kardiyak Hiperekojenik Odak(KHF)
- Koroid Pleksus Kisti(CPC)
- Hafif Renal Piyelektazi (Mild Piyelektazi)

Genetik Sonogram Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Fetal Medicine Foundation tarafından yayınlanan bir yayında “ikinci trimesterde bir major anomali görülecek olursa, izole olduğundan emin bile olursa, AS ve fetal karyotip analizi önerilmelidir” şeklinde görüş bildirilmektedir. Anomali ölümcül veya holoposensefalide olduğu gibi ciddi sakatlıkla sonlanacak bile olsa, altta yatan nedeni öğrenip tekrarlama riskini belirlemek için karyotipleme yapılmalıdır. Anomali diyafragmatik hernide olduğu gibi intrauterin veya postnatal cerrahi ile düzeltilebilecek bir sorun ise, yine altta yatan kromozomal defektin belirlenebilmesi için karyotipleme yapmak mantıklıdır çünkü diyafragmatik hernide trizomi 13 ve 18 sık görülür(5).

Genetik Ultrasonda Defekt İzlenmemesinin Önemi

Sonografik belirteçlerin normal olarak bulunması halinde geri plandaki anöploidi riskinin %60-%83 oranında düştüğü rapor edilmiştir(56). Nyberg ve arkadaşlarının 2001 de yaptığı çalışma ile Bromley ve arkadaşlarının 2002 de yaptığı çalışmanın ortak verilerine göre 350 trizomi 21’li fetusun %25,7’sinde ve 9384 kromozomal olarak normal fetusun %86,5’inde genetik ultrasonda hiçbir majör ve minör defekt bulunmamıştır.

Tablo 3. Tarama stratejilerinin etkinlikleri(47)

Tarama testi	Tespit oranı (%)
İlk trimester	
NT ölçümü	% 64–70
NT, serbest beta HCG, PAPP-A	% 82–87
İkinci trimester	
Üçlü test	% 69
Dörtlü test	% 81
Birinci ve ikinci trimester	
Entegre test (NT+ PAPP-A Dörtlü test)	% 94–96
Serum entegre test(PAPP-A Dörtlü test)	% 85–88
Adım adım ardışık	% 95
Olasılıklı Ardışık Tarama	%88–94

2.8. Anne Kanında Fetal Hücreler ve Serbest DNA (Deoksiribonukleikasit) Parçacıkları[Maternal Kanda Hücre Dışı Fetal DNA (cffDNA) ile “Non-Invasive Prenatal Test (NIPT)”]

Lo YM ve arkadaşları 1997 yılında maternal kanda hücre dışı serbest fetal DNA (cffDNA) tespit ettiklerini bildirmişlerdir.(57) Son 15 yılda, özellikle 2011-2012 yıllarında cffDNA çalışmaları artmış ve klinik uygulamaya girmeye başlamıştır

Maternal kandaki cffDNA oranı 11-13 gebelik haftalarında yaklaşık %10 iken, ilerleyen gebelik haftası ile artmakta ve genel olarak %3-20 arasında değişmektedir(58). Doğum sonrası maternal kandaki düzeyi hızla azalmakta ve postpartum iki saat sonra ise tespit edilememektedir. Başlangıçta maternal kanda prenatal tanı sözcüğü kullanıldı ise de, testin pozitifliği durumunda AS ve CVS gibi yöntemlerle elde edilen fetal hücrelerde geleneksel kromozom analiz tekniklerinin uygulanması gerektiğinden ve henüz %100 duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığından, yöntem ileri tarama testi olarak kabul edilmektedir ve genel olarak NIPT olarak adlandırılmaktadır(59).

NIPT, genel olarak Trizomi 21, Trizomi 18, Trizomi 13 gibi daha sık görülen kromozom anomalileri için ileri tarama testi olarak kullanılmaktadır(60). cffDNA ile NIPT Trizomi 21 ve Trizomi 18’de görece daha başarılıdır, tespit etme oranı (Detection rate: DR)>%99 ve yanlış pozitiflik (False positivity: FP) <%1, Trizomi 13’de ise DR %80 olarak bildirilmektedir(59,60). Şu ana kadar yapılan çalışmalarda yanlış negatiflik nadiren bildirilmiştir de konu henüz tam bir netlik kazanmamıştır. Vakaların %2.2’de, cffDNA miktarı % 4’den daha az ve ayrıca %2.6’sında test başarısız olduğundan vakaların % 4-5’de NIPT ile sonuç elde edilememektedir(59).

cffDNA'nın kaynağı trofoblast hücreleri olduğundan %1-1,5 oranında plasentada gözlenen plasenta ile sınırlı mozaisizmin yanlış pozitif ya da yanlış negatif tanıya yol açabileceği kabul edilmektedir(61). Yeterli deneyim sağlandıktan sonra bu tespit etme oranları ile CVS ve AS gibi girişimlerin belirgin olarak azalması beklenmektedir ve hatta şimdiden azalmaya başlamıştır. Çoğul gebeliklerde de tekiz gebeliklere benzer şekilde kullanılmaya başlanmıştır ancak veriler şu aşamada sınırlıdır(61). Şu ana kadar olan elde edilen verilere göre ikiz eşinde fetal ölüm veya kaybolan ikizlerde de NIPT uygulanabileceği gösterilmiştir.

Tüm serbest DNA (MPSS), hedeflenmiş DNA (DANSR) ve hedeflenmiş "single-nucleotide polymorphism" (SNP) gibi farklı yöntemler ile çalışma yapılabilmektedir. SNP yöntemini kullanan testlerde babadan da kan alınması gerekmekte ve ayrıca akraba evliliği, ovum donasyonu ile gebelik durumlarında çalışma yapmak veya sonuca gitmek mümkün olmayabilmektedir. NIPT'in rutin klinik uygulama girinceye kadar, seçilmiş vakalarda ve yeterli bilgilendirme ve gerekirse genetik danışma alınarak uygulanması, bu testin yalnızca Trizomi 21, Trizomi 18, kısmen Trizomi 13 ve cinsiyet kromozom anomalileri için yapıldığı, diğer kromozom anomalilerini (diğer trizomiler, translokasyon, insersiyon ve delesyon vb.) tanınmasının beklenmediği ve ayrıca tarama testinin pozitif olması durumunda CVS, AS benzeri girişimler ile tanının kesinleştirilmesi gerektiğinin hastaya anlatılması ve yazılı onam formunun alınması testin doğru kullanımını sağlayarak etkinliğini arttıracak, bir çok sorunun ortaya çıkmasını engelleyecektir. Ayrıca bazı mikrodelsiyon sendromları için de NIPT çalışmaya başlanmıştır ancak henüz yeterli veri yoktur.

Tüm dünyada yeni bir uygulama olan NIPT ile ilgili komite ve uzman görüşleri ve hangi endikasyonlarda kullanılacağı bildirilmeye başlanmıştır. Bu aşamada henüz cffDNA ile NIPT rutin tarama programı yoktur. İleri tarama testi olarak kabul edilmeli, geleneksel günlük rutin tarama testlerine devam edilmesi önerilmektedir. Karyotip analizi gerektiren majör fetal anomalilerde ise fetal karyotipleme yapılması gerekmektedir.

NIPT, güncel olarak aşağıda sıralanan olası kullanım alanlarında ve sadece Trizomi 21 ve Trizomi 18 ve kısmen Trizomi 13 açısından yüksek riskli gebeliklerde önerilmektedir(62). Düşük risk grubunda önerilmemektedir. Bu aşamada rutin

tarama testi olarak kabul edilmemektedir. Endikasyonu olan vakalarda, imkan ve sınırlamaları ailelere anlatılarak uygulanmalıdır.

cffDNA ile NIPT'nin olası kullanım alanları:

1. Maternal yaşı 35 ve üstünde olması.
2. Trizomi 21 / Trizomi 18 için USGk belirteçlerin varlığında ve aile girişim istemiyorsa.
3. Trizomi 21 ve 18'li fetus / bebek doğum öyüsünde.
4. Trizomi tarama testlerinin pozitif olması durumunda.
5. Parental dengeli Robertsonian Trizomi 21 ve Trizomi 13 translokasyonu.

Sonuç olarak:

1. NIPT ileri tarama testidir ve Trizomi 21 ve Trizomi 18 için DR > %99, FP <%1 olarak bildirilmektedir.
2. NIPT pozitif bulunduğunda, CVS ya da AS ile elde edilen fetal hücrelerde geleneksel tanı testi olarak kabul edilen fetal karyotip analizi gerekmektedir.
3. Bu aşamada henüz düşük risk grubuna önerilmemektedir.
4. Fetal USG ile anomali saptandığında, artmış NT gibi belirteçlerin varlığında ya da yapısal dengesiz kromozom anomalisi beklenen dengeli taşıyıcıların gebeliklerinde CVS ya da AS ile fetal karyotipleme yapılmalıdır.
5. Kötü obstetrik öyküsü olan çiftlerde öncelikle parental kromozom analizi önerilmeli, kromozom analizi normal sonuçlanırsa NIPT alternatif olarak düşünülmelidir.
6. Günümüzde kullanılan tarama testlerine devam edilmelidir. NIPT, günümüzdeki kullanılan tarama testlerinin ve invazif girişimlerle elde edilen materyallerden yapılan fetal karyotiplemenin yerine kullanılmamaktadır.
7. NIPT, immünize Rh durumunda kullanılabilir.
8. Gelecek yıllarda kromozomal anomalileri ve monogenik hastalıklar için tanı testi olması beklenmektedir.

9. NIPT'in negatif bulunması durumunda kromozomal ve genetik hastalıkların tamamının dışlanması beklenmediği, imkan ve sınırlamaları gebelere mutlaka anlatılmalıdır.

10. Rutin uygulamaya girinceye kadar NIPT'in hastaların bilgilendirilmesi ve / veya genetik danışmanlık alınarak yapılması olası sorunların önlemesi açısından yararlı olacaktır(63).

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız için Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kururlu'nda 190 numaralı onam alındı.

Çalışmamıza, Eylül 2011 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında fetal kromozomal anomali riski yüksek olan, tarafımızdan tespit edilen veya kadın hastalıkları ve doğum uzmanlarınca refere edilen ve AS uygulanan 217 olgu çalışmaya dahil edildi. AS yapılmadan önce ayrıntılı USG muayenesi yapıldı. Aileye AS'in yararı ve riskleri anlatıldı. Olgulara girişime bağlı muhtemel fetal kayıp ve diğer komplikasyonlar ile ilgili bilgi verildi. Aileye detaylı bilgi verildikten sonra AS yaptırmak isteyen olgular ile ilgili AS formu (onam formu) dolduruldu, en az iki telefon ve adresleri alındıktan sonra her iki eşin onayı ve imzası alındı. AS girişimini kabul etmeyen olgular çalışma kapsamına alınmadı.

AS uygulanan gebelerin yaşı, gravidası, paritesi, abortus sayısı, yaşayan çocuk sayısı, öğrenim durumu, mesleği, eşiyle akrabalık derecesi, gebelik haftası, kan grupları, varsa birinci ve ikinci trimester tarama testleri, USGde saptanan anomaliler ve plasentanın yerleşim yeri ve son adet tarihi kaydedildi.

Olgulara uygulanan AS endikasyonları ise tarama testi pozitifliği, ileri anne yaşı, maternal anksiyete, daha önceden kromozom anomalili bebek doğurma hikayesi, USGde fetal anomali düşündürülen bulguları olan olgular olarak belirlendi.

Bütün AS girişimleri tek kişi tarafından yapıldı. AS işlemine başlamadan önce batın antiseptik povidone iodine ile iyodajından sonra bir adet 2.5 ml'lik ve bir adet pistonu lastik olmayan 20 ml'lik iki steril disposable enjektör steril örtü üzerinde hazırlandı. Girişimler GE VOLUSON 730 PRO USG cihazı eşliğinde, konveks probuna jelatin geçirilip iyodajından sonra AS işlemi gerçekleştirildi. AS, USG eşliğinde 13-23 gebelik haftaları arasında transabdominal uygun amniyotik lokalizasyon belirlendikten sonra uygulandı. Tüm olgulara mümkün olduğu kadar transfundal veya üst uterin segmentlerden girilmeye çalışıldı. Yine tüm olgularda transamniyotik girildi, transplasental tercih edilmedi. Üç hastamız ikiz gebelik olduğu için iki ayrı girişim uygulandı. Tüm AS 22 gauge 120 mm'lik disposable steril spinal iğneler ile yapıldı. Steril 2.5 ml'lik enjektöle alınan ilk 0.5-1.0 ml'lik sıvı

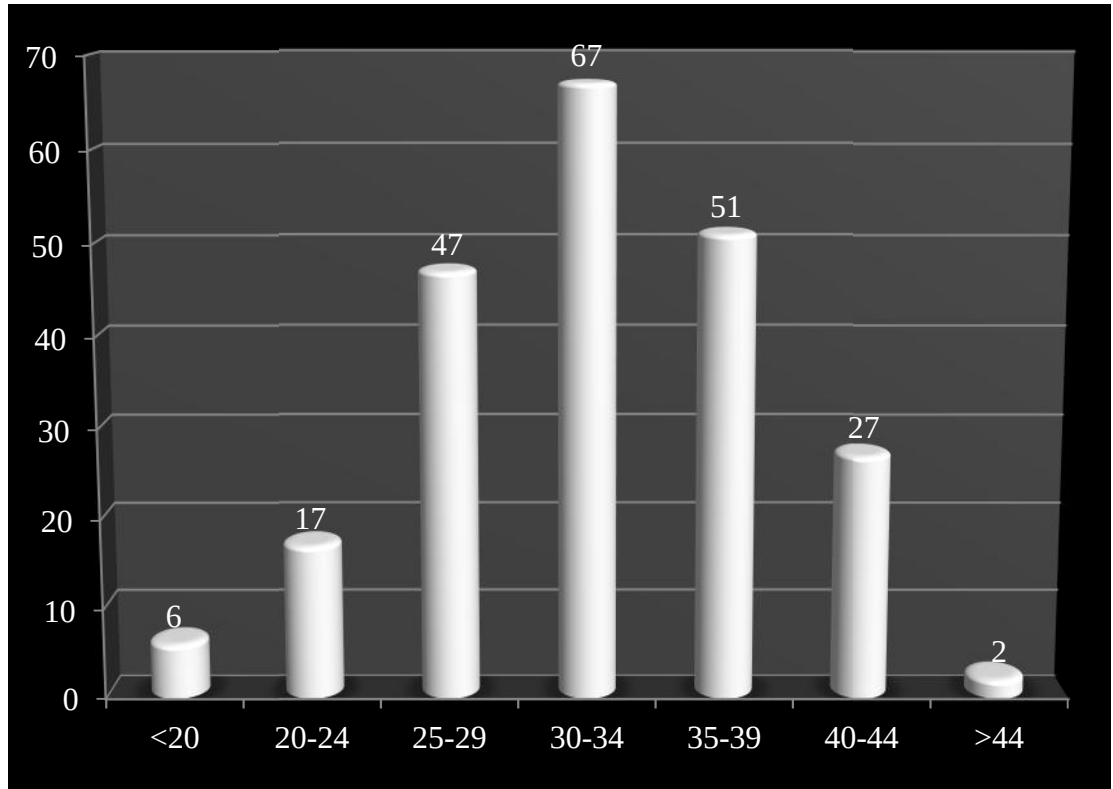
alındıktan sonra 20 ml'lik steril enjektör ile her gebelik haftası için 1 ml olacak şekilde amniyotik sıvı alındı. Gebelik haftası 20 haftanın üzerindeki gebelikler için de 20 ml sıvı alındı. Alınan sıvı enjektör içinde ışıktan korunacak şekilde sarılıp ve uygun ambalajından sonra sitogenetik analiz için genetik laboratuvarın gönderildi. 21 hafta ve üzerindeki olgular, aile onamı da alınarak PCR (Polymerase chain reaction, polimeraz zincir reaksiyonu) veya FISH(floresan in situ hibridizasyon) yöntemiyle karyotipleme yapıldı.

Rh uyuşmazlığı olan gebelere immunizasyon riskine karşı işlemden hemen sonra 300 mikrogram anti-D immünglobülin uygulandı. Olguların karyotip analizi 14-21 gün içinde sonuçlandı, sonuçlar aileye telefonla aranarak aileye iletili. Tüm olguların genetik analiz raporları olgulara iletili. USG'de saptanan ağır anomalili fetüsler ailenin onayı olan olgular ya işlemden hemen sonra ya da genetik sonucundan sonra sonlandırıldı. Gebeliğini sonlandırmak istemeyen gebelere olası komplikasyonlar konusunda bilgilendirildi ve izlem önerildi. Genetik sonucu öğrenilene kadar tüm gebelerin akibeti öğrenildi ve kayıt edildi. Tüm olgular muhtemel gebelik süresini tamamladıktan ve doğum gerçekleştikten sonra telefonla aranarak sonuçları öğrenildi ve dosyalarına kayıt edildi.

Çalışmamızın verilerinin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemler(frekans ve yüzdelik dağılımı, ortalama, standart sapma) kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışma, Eylül 2011 ile Temmuz 2013 tarihleri arasında gebeliklerinin 13 ile 23 haftaları arasında AS uygulanan 217 olgu dahil edildi. Olgularımızdan 3'ü diamniyotik ikiz gebelik olduğu için iki ayrı girişim ve diğer 214 tekil olgunun hepsine tek girişim ile AS uygulandı, birden fazla girişim ve başarısızlık olmadı. Gebelerin ortalama yaşı $32,37 \pm 6.20$ (18-47 yaş) idi ve yaş gruplarına göre AS uygulanan olguların dağılımı grafik 1'de verilmiştir.



Grafik 1. AS olgularının yaş gruplarına göre dağılımı.

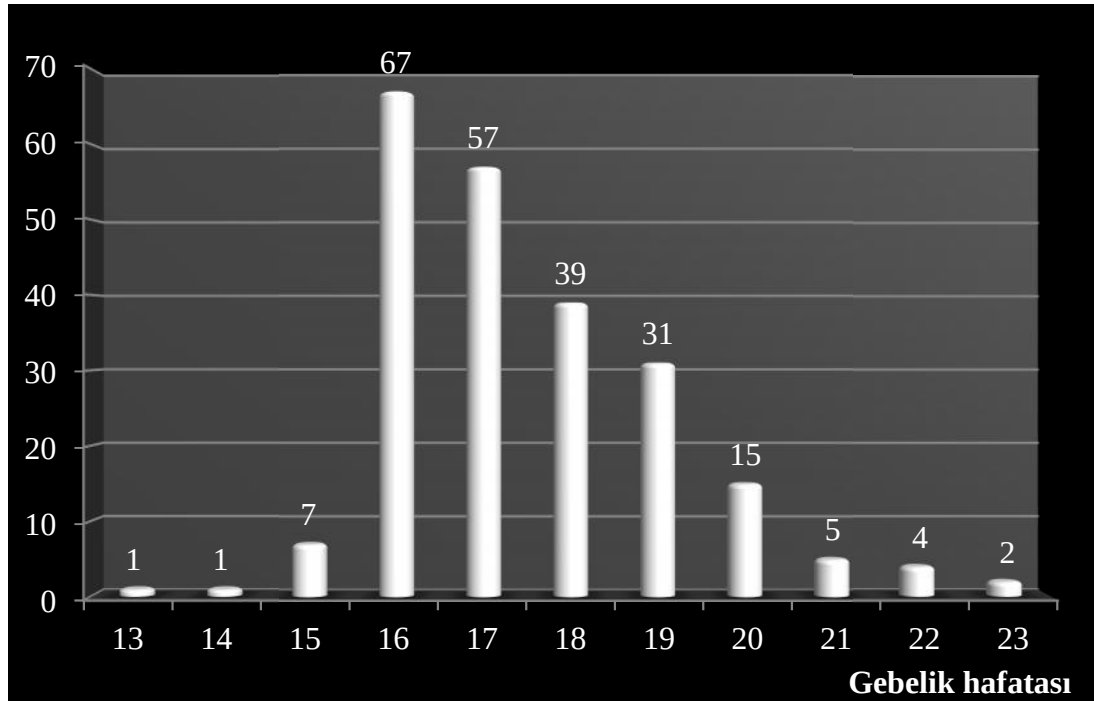
Olguların ortalama gebelik sayısı 2.59 ± 1.91 (0-11), ortalama doğum sayısı 1.14 ± 1.41 (0-8), ortalama abortus sayısı 0.51 ± 0.91 (0-5), ortalama çocuk sayısı 1.09 ± 1.03 (0-8) olarak bulundu. Olguların %31'inin en az bir abortus yaptığı tespit

edildi. Olguların %65 'ü en az bir çocuk sahibiydi. Tablo 4 de olguların gravide, parite, abortus ve yaşayan çocuk sayı verilmiştir.

Tablo 4. Olguların gravide, parite, abort ve yaşayan sayıları ve oranları

Gebelik bilgileri	n
Gravida	2.59±1.91 (0-11)
Parite	1.14±1.41 (0-8)
Abort	0.5±0.9 (0-5)
Yaşayan çocuk	1.09±1.39 (0-8)

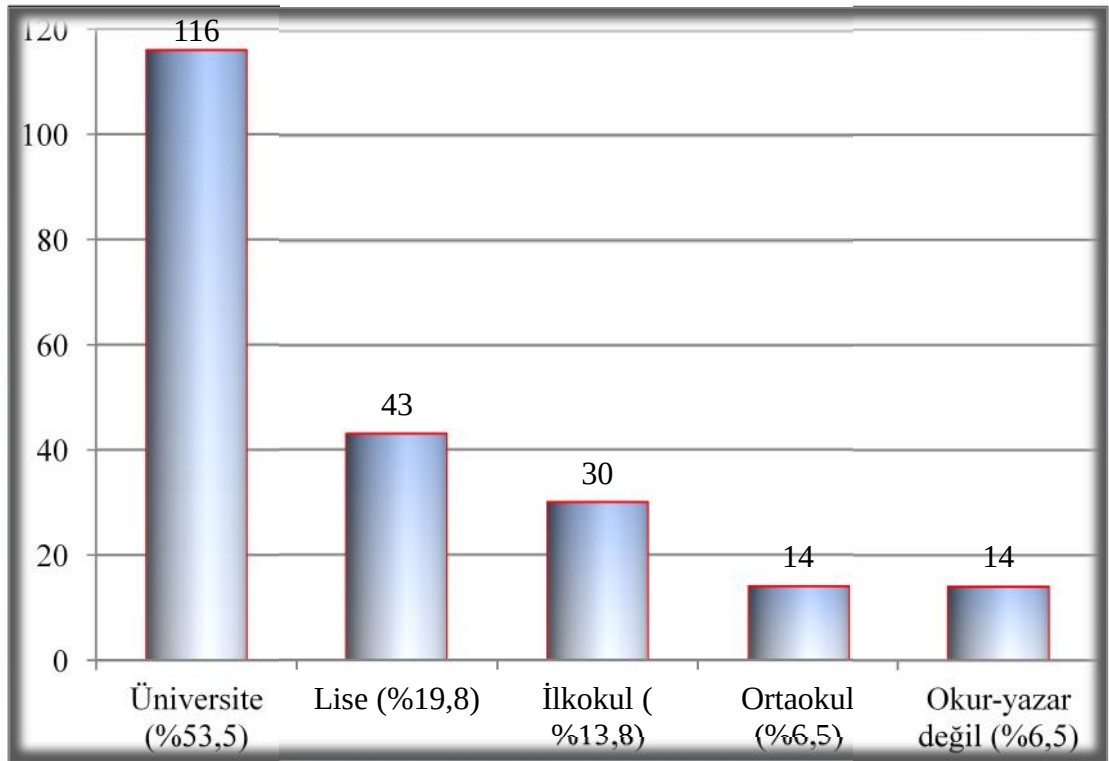
Girişim yapılan gebelerin ortalama gebelik haftası 17.58±1.80 (13-23) olarak bulundu. Gebelik haftalarının dağılımı aşağıda gösterilmiştir (Grafik 2).



Grafik 2. AS uygulanan olguların gebelik haftalarına göre dağılımı.

Gebelerden AS ile ortalama 17.9 ± 1.86 (13-20) ml amniyotik sıvı alındı. AS şekli ve giriş sayıları incelendiğinde; tüm olgulara transamniyotik girişle amniyotik sıvı alındı ve hiçbir olguda transplasental girişim olmadı. 3 olgu diamniyotik ikiz olmaları nedeniyle her birine ayrı girişim uygulandığı için iki kez iğne girişi yapıldı, diğer tüm olgulara tek iğne girişi uygulandı. Başarısız AS girişimi veya tekrar iğne girişimi olmadı. AS sırasında 203 hastada amniyotik sıvı berrak, 14 olguda bulanık olarak değerlendirildi

Olgular meslek durumuna göre incelendiğinde; %52'si çalışmayan (ev hanımı), %48'i ise çalışan kadınlardan oluştuğu belirlendi. Yine olgular öğrenim durumuna göre değerlendirildiğinde %53.5 ile en çok üniversite mezunları olduğu tespit edildi (Grafik 3).



Grafik 3. Olguların öğrenim durumuna göre dağılımı

Hastaların 21'inde (%9.7) akraba evliliği vardı. Bunlar 3.dereceden akrabalıktı. Anne kan grubu negatif, baba kan grubu pozitif olan Rh izoimmünizasyona karşı girişimden hemen sonraki 15 olguya anti-D yapıldı. Olguların kan grubu dağılımı tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5. Olguların kan grupları ve Rh dağılımı

Kan grubu	n	%
A	88	40,5
B	42	19,4
AB	14	6,5
0	73	33,6
Rh (+)	187	86,1
Rh (-)	30	13,9

AS endikasyonları incelendiğinde; ilk sırayı %24.9 ile pozitif triple test alırken, ikinci sırayı da %22 ile birden fazla endikasyonu olan olgular, üçüncü sırayı %21.7 ile pozitif USG bulguları yer almaktadır(Tablo 6).

Tablo 6. Olguların AS endikasyonlarına göre dağılımı.

	AS olguları		Kromozomal anomalili	
Endikasyon	N: 217	(%)	Sayısı	Yüzde(%)
Triple test	54	24.9	4	7.4
Pozitif US bulguları	47	21.7	8	17
İleri anne yaşı	22	10.1	0	0
Aile isteği	14	6.5	0	0
Kombine test	19	8.7	0	0
Pozitif anamnez bulgusu	7	3.2	0	0
Dörtlü test	4	1.8	0	0
Toxo IgM (+)	2	0.9	0	0
Birden fazla endikasyon	48	22	6	12.5

Birden fazla endikasyon nedeniyle yapılan hasta sayıları ve karyotiplemede çıkan sonuçlar tablo 7 de sıralanmıştır.

Tablo 7. Birden fazla endikasyon ile AS uygulanan olguların dağılımı.

	AS olguları	Kromozomal anomali olguları
Kombine endikasyonlar	n	n
Pozitif USG bulguları İleri anne yaşı	5	1
Pozitif triple test İleri anne yaşı	5	0
Pozitif US bulguları Pozitif kombine test	7	0
Pozitif triple test Aile isteği	4	1
İleri anne yaşı Aile isteği	3	0
İleri anne yaşı Pozitif kombine test	3	0
Pozitif USG bulguları Pozitif anamnez bulgusu	2	1
Pozitif USG bulguları Aile isteği	1	0
Pozitif triple test Pozitif kombine test	1	0
Pozitif double test İleri anne yaşı	1	0
Aile isteği Pozitif kombine test	1	0
İleri anne yaşı Toxo IgM pozitifliği	1	0
Pozitif USG bulguları Pozitif triple test	1	1
Pozitif USG bulguları Pozitif kombine test	1	1
Pozitif triple test Pozitif anamnez bulgusu	1	0
Pozitif triple test Pozitif kombine test Pozitif USG bulgusu	1	1

AS yapılan hastaların 18 inde (%8) karyotip anormal çıkmıştır. Bunlardan 6 tanesi yaşamla bağdaşır anormalliklerdi. Karyotip sonucu anormal gelen hastala tablo 8 de sıralanmıştır.

Tablo 8. Kromozom anomali saptanan olguların, USG bulguları, AS endikasyonları ve prognozları

N: 18	Anne yaşı	Karyotip	US Bulguları	AS Endikasyonları	Prognoz
1	40	46,XX,İNV(9)(P11q13)	Yok	Triple test 1/202	Yaşıyor
2	34	Trizomi 13	Bil.Cerebral vent dilatasyon Bil. yarık dudak damak KHF, ASD, VSD, sep. primum yok Bil. böbrekler hiperdens ve büyük Single uma FL-AC geri	US bulgusu	Preterm doğum eks
3	33	Down send	Simetrik ııgr Hipoplazik NB ASD, VSD, Triküspit stenozu, Septum primum izlenmedi Sandal gap	USG bulgusu	Medikal abortus
4	24	Turner send	HEB	USG bulgusu +Double test 1/125	Ulaşılamadı
5	39	Down send	Extremite kısalığı	USG bulgusu Double test 1/8, triple test 1/65	Medikal abortus
6	38	Pallister-Killian sendromu (46XY(50)/47XY+İ(12)(P10)^50)	Diafragma hernisi Polihidramniyos Ventrikülomegali Serebral hipoplazi	USG bulgusu	Medikal abortus (6. ay)
7	35	46,XX,inv(9)(p11q13)	yok	Aile isteği + triple test 1/297	Yaşıyor
8	42	Down send	Kardiyak hiperekojenik fokus Hiperekojenik bowel Hipoplazik nazal bone Duktus venosusta derin a	USG bulgusu+ ileri yaş	Medikal abortus
9	36	Trizomi 18	Bill. CPC Omfalosele Hipoplazik nazal bone Mikrognati Her iki el bileği flexionda Cinsiyet net seçilemedi	USG bulgusu	IUMF
10	40	Down send	Kistik higroma nuchal 4 adet kistik kalın NT	US bulgusu	Medikal abort
11	38	Trizomi 18	Bil CPC , sol ayakta pes equinovarus, tek umbilical arter , FL kısalığı , VSD	Us bulgusu	Post partum ex
12	36	Triploi(69,XXY)	Simetrik IUGR sağ böbrekte Pelvikalisyel ektazi ASD-VSD	US bulgusu + triple test 1/187	Medikal abort
13	38	46,XX,der(18)	KHF	Triple test 1/25	Yaşıyor
14	34	nuc ish (13q14,D18Z1,D21S259)*2	Simetrik ııgr	Us bulgusu	Yaşıyor
15	28	46,XX,İNV, 13	BİL. CPC	Us bulgusu	Yaşıyor

(Tablo 8. devam)

16	27	Turner sendromu	Kalın nt , nb izlenmedi , bil. Nuchal kistik dilatasyon , dv reverse a, genarelize ödem	Us bulgusu	Medikal abort
17	38	Trizomi 10	KHF	Pozitif aile anamnezi [Önceki gebelik ve teyzede 46,xx del(9,9q ter --) 9q24:10q25--10qter)del (10)(pter--)q258parsiyel triomi 10] + US bulgusu	Medikal abortus
18	31	46,XX(94)/46,XX,t(8; 10)(q24.3,q24.1)[4]	Yok	Triple test 1/105	Yaşıyor

AS yapılan hastalardan USGde fetal anomali saptanan ve bu nedenle AS uygulanan olgularda en sık kardiyovasküler anomali (%25) izlendi. USGde anomali saptanan olgular aşağıda verilmiştir(Tablo 9).

Tablo 9. USGde fetal anomali saptanan ve bu endikasyon nedeniyle AS uygulanan olguların dağılımı

Total	217	100
US’de anomali tespit edilmeyen	128	58.9
Kardiyo-vasküler sistem anomalileri	25	11.5
Baş-boyun anomalileri	10	4.6
Gastro intestinal sisem	9	4.1
İskelet sistem anomalileri	4	1.8
Iugr	2	0.9
Gastro-üriner sistem anomalileri	1	0.5
Kalın NT	1	0.5
Birden fazla sistemide izlenen anomali	37	35

AS işleminden önce tüm olgular detaylı ultrasonografik muayeneleri yapıldı. AS uygulanan olguların USG muayenelerinde değişik derecelerde 147 fetal patolojik bulgu saptandı.

Tablo 10. Tüm olgularda USG’de saptanan fetal patolojik bulgular

USG anomali bulguları	n
Kardiyo-vasküler sistem anomalileri	49
Baş-boyun anomalileri	35
Gastro intestinal sisem	28
İskelet sistem anomalileri	13
Genitoüriner sistem anomalileri	11
IUGR	6
Kalın NT	5

AS uygulanan olguların hiç birinde girişimden sonra ilk üç haftada spontan abortus izlenmedi. AS uygulanan üç olguda term doğumdan sonra kayıp edildiği saptandı. Bunlardan ikisinde USG’de fetal anomali saptanmış, diğerinde ise ASde Trizomi 18 saptanmış ancak ailenin termiasyon istemediği ve doğumdan 2 ay sonra kaybedilen olgu olduğu tespit edildi (tablo 11).

Tablo 11. AS uygulanan olguların gebelik seyri

Gebeliğin seyri		N: 217	
Term doğum	Yaşayanlar	183	
	Postpartum eks	3	1. Diafragma Hernisi 2. USG’de Multipl Anomali 3. Trizomi 18
Ulaşılamayan		10	
Preterm doğum	Postpartum eks	4	
	Yaşayanlar	2	
Medikal abortus		11	
IUMF		2	1. USG’de anomali 2. Trizomi 18
İkiz eşi mort		1	1. USG’de anomali

AS uygulanan olgulardan 6'si (%2.76) olgu preterm eylem nedeniyle erken doğum yapmıştır. Bunlardan biri ASden 1 ay sonra preterm doğumu gerçekleştiren ve AS'de Trizomi 13 saptanan ve ailenin terminasyon istemediği olgu olduğu saptandı. Preterm doğum yapan olgular aşağıda verilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Preterm doğum yapan olgularda saptanan klinik laboratuvar bulgular

Anne Yaşı	Karyotip	Prognoz	AS endikasyon	AS rengi	Doğum haftası
31	N	Eks (ikiz)	HEB Oligohidramniyos IUGR	Hemorajik	21
37	N	Eks	HEB + Kombine test 1/151	Berrak	24
41	N	Yaşıyor	Triple test 1/51	Berrak	31
33	N	Eks	KHF + Triple test 1/158	Berrak	25
23	N	Yaşıyor	Subamniyotik hematom+ Triple test 1/220	Hemorajik	30
34	Trizomi 13 (47,xx)	Eks	Bil. Cerebral vent dilatasyonu Bil. Yarık dudak damak Khf, asd, vsd, septum primum yok Bil. Böb. Hiperdens ve büyük Single UMA FL-AC geri	Berrak	21

Biyokimyasal tarama testlerinden risk yüksekliği olan üç hastada yaşamla bağdaşmayan kromozomal anomali saptanmıştır. Double test 1/125 olan hastada Turner sendromu, Triple test 1/187 olan hasta da Triploidi, Double test 1/8 ve Triple test 1/65 çıkan hastada Turner sendromu saptandı. Tarama testlerinin dağılımı tablo 13'de gösterilmiştir.

Tablo13. Tarama testlerinin dağılım

Test çeşidi	n	Testlerin risk aralıkları		
		<100	100-1000	>1000
Kombine double test	32	13	19	0
Triple Test	76	33	43	0
Dörtlü test	7	1	6	0

5.TARTIŞMA

Prenatal dönemde, riskli gebeliklerin saptanarak söz konusu hastalığa yönelik testlerin belirlenmesi, fetal dokularda bu testlerin uygulanması ve fetüste herhangi bir anomali saptanması durumunda aileye gebeliği sonlandırabilme olanağının sunulması ile mümkündür.

Ülkemizde yapılan çeşitli çalışmalarda AS kültür başarı oranları birbiriyle uyumlu çıkmıştır. Saatçi ve ark çalışmasında %97, Güven ve ark yaptığı çalışmada %98 ve Timur ve ark yaptığı çalışmada %98 oran ile kültür başarıları saptanmıştır(64-66). Bizim yaptığımız çalışmada ise tüm olgularımızda kültürden sonuç aldık, kültür başarısızlığımız olmadı.

Milewczyk ve ark. retrospektif 420 AS olgu çalışmalarında ortalama yaş 37.6 olarak bulmuşlardır(67). Çalışmamızda yaş grupları beşer yaş aralığı alınarak gruplara ayrıldı. En sık grup aralığı 30-34 yaş grubu saptandı. Çalışmamızda, AS yapılan 217 gebenin yaş ortalaması 31.2 olarak bulundu. Milewczyk ve ark. serilerindeki yaş ortalamasının bizim hastalarımızinkinden yüksek olmasının sebebi, bizim 35 yaş üstündeki tüm hastalara AS yapmamamızdan kaynaklandığını düşünüyoruz. Bizim çalışmamızda yaştan dolayı AS endikasyonu için kesin bir sınır koymamakla beraber, 40 yaşından büyük hastalara AS uygulamayı daha uygun gördük. Ancak ailenin AS isteği durumunda, biyokimyasal test sonuçları ve USG bulguları da göz önüne alınarak yüksek riskli hastalara direkt AS uygulanan olgularımız da vardır. Düşük risk saptanan hastalara AS önerilmedi, ancak nadiren çok düşük risk olmasına rağmen ailenin talebi olan hastalara da AS uygulanmıştır. Yıldırım ve ark çalışmasında olguların yaş ortalaması 32.8 ± 6.2 , Pala ve ark. çalışmasında ise ortalama yaş 30 olarak bulunmuştur. Çalışmamızdaki olguların yaş ortalaması ülkemizde yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulundu(68,69).

Timur ve ark. yaptığı çalışmada ortalama gravida 2.46 ± 1.45 ve ortalama parite 1.32 ± 1.21 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise ortalama gravida 2.59 ± 1.91 ve ortalama parite 1.14 ± 1.41 olarak bulundu, bu sonuçlar Timur ve ark çalışması ile benzer bulundu. Yine Timur ve ark. çalışmasında ortalama gebelik haftası 17.9 ± 7.4 , Dağlar ve ark çalışmasında ise ortalama gebelik haftası 17.6 ± 1.5 olarak bulunmuş(65,70). Çalışmamızda da ortalama gebelik haftası 17.9 ± 1.86 bulundu ve

yukarıda adı geçen çalışmalardaki sonuçlarla benzerdir, ayrıca çalışmamızda en sık AS 16. gebelik (67 olgu) haftasında yapıldığı saptanmıştır. Gebeliğin 21. haftasından sonraki AS uygulamaları, PCR veya FISH yöntemleri ile erken sonuç almak koşuluyla ve ailenin isteği üzerine yapılan olgulardır.

Tüm olgulara transabdominal ve transamniyotik girişim uygulandığı ve hiçbir olguya birden fazla girişim uygulanmadığı saptandı. Bu da AS girişimlerimizin deneyimli ve ekspert kişi tarafından uygulandığını göstermektedir. AS sonrası ciddi maternal komplikasyonlar oldukça nadir görülmektedir. Girişimi yapan kişinin deneyimi arttıkça komplikasyonları ve riskleri azalmaktadır. Amniyonit %0,1 oranında bildirilmiştir(8). Bizim çalışmamızda AS sonrası amniyonit saptanmamıştır. Steril şartlar altında çalışıldığında çok nadir bir komplikasyon olduğunu düşünüyoruz.

Güven ve ark. çalışmasında amniyon sıvısında kültür başarıları %98 olarak verilmiştir(66). Müngen ve ark. 2068 olguluk çalışmalarında ise amniyon sıvısında kültür başarı oranı %98.2 olarak saptanmıştır(71). Bizim çalışmamızda ise genetik laboratuvarında hücre kültürü başarıları %100 bulundu. Bu sonuç çalıştığımız genetik laboratuvarın başarılarını göstermektedir, ancak daha geniş seriye ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Bir tez çalışmasında olguların %28'i ilköğretim mezunu, %22'si lise mezunu, %21'i okur-yazar değil, %18'i üniversite mezunu, %6'sı ortaokul mezunu ve %5'inin yükseköğretim mezunu olduğunu saptamışlardır(72). Çalışmamıza alınan olguların %53.5'i üniversite mezunu olduğu saptandı. Bu yüksekliğin nedeni; olguların öğrenim düzeyi arttıkça daha bilinçli hareket ettikleri, konunun uzmanlık alanına yöneldikleri ve özellikle perinatoloji uzmanını tercih ettiklerinden kaynaklandığını düşünüyoruz.

AS endikasyonları incelendiğinde; Tonsong ve ark. %86.3, Sjogren ve ark. %57, Lindemann ve ark. %61, Bal ve ark. %51 ile en sık ileri anne yaşı endikasyonlarını bulmuşlardır(73-76) Pala ve ark. yaptığı çalışmada %36,1 Şener ve ark yaptığı çalışmada %83.8, Güven ve ark. yaptığı çalışmada %43 oranları ile triple (üçlü) test yüksekliği en sık AS endikasyonu olarak bulmuşlardır.(67,77,78) Çalışmamızda AS endikasyonlarını incelediğimizde ise maternal biyokimyasal testlerden triple (üçlü) test yüksekliği en sık (%30.87) endikasyonu oluşturmaktadır.

Maternal yaş ise %17.05 ile dördüncü sırada endikasyonu oluşturmaktadır. Bu sonucun nedeni ise maternal yaş için kesin bir sınır koymamamızdan ve 40 yaşından büyük olgulara ailenin de AS eğilimi olan hastalara sıcak baktığımızı söyleyebiliriz. Ayrıca ileri anne yaşı nedeniyle AS uygulanan olgularımızın hiç birinde anormal kromozom yapısını da saptayamadık. Bu da anne yaşının tek başına bir endikasyon olmayacağı düşüncemizi desteklemektedir.

Çalışmamızda ikinci sıklığı toplamda pozitif USG bulguları oluşturmaktadır(%29.49). Birden fazla (kombine endikasyonlar) parametrenin oluşturduğu endikasyon (%22) üçüncü sıklığı ve ileri anne yaşı ise 4. sıklıkta endikasyonu (%17.05) oluşturmaktadır.

AS uygulanan olgularda kromozomal anomali oranı çeşitli çalışmalarda %2.5 ile %4.5 arasında tespit edilmiştir. Başaran ve ark. 301 olguluk serilerinde kromozom anomali oranını 11 olgu ile %3,5 olarak bulmuşlardır(79). Sjogren ve ark. 211 olgu üzerinde yaptıkları çalışmada bu oranı %2,5 olarak saptamışlardır (80). Milewczyk ve ark. bu oranı %5,4 olarak belirtmişlerdir (65). AS uygulanan olgularımızdan toplam 18 olguda (%8) kromozomopati saptanmıştır. Bunlardan 6 olguda yaşamla bağdaşır kromozomal anomali saptanmıştır. Bunları çıkardığımızda ise 12 olguda (%5.5) gerçek kromozomal anomali saptandığı ortaya çıkmaktadır. Kromozomal anomali saptanan olgularımızdan 4 Trizomi 21 (Down sendromu), 2 Trizomi 18 (Edward sendromu), 2 Turner sendromu ve sırasıyla birer olguda Trizomi 13 (Patau sendromu), Trizomi 10, Triploidi ve bir olguda da Parsiyel Tirizomi 10 (Pallister-Killian sendromu) izlendi. Kromozomal anomali oranına baktığımızda oranımızın literatürden daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu da AS endikasyonunda çok daha seçici davrandığımızı göstermektedir.

Yüce ve ark. serilerinde üçlü testte artmış risk nedeni ile AS yaptıkları olgularda kromozom anomali oranını %3.7 olarak bulmuşlardır(81). Wenstrom ve ark. 516 üçlü test riski bulunan olguda 15 fetal karyotip anomalisine (%2,9) rastlamışlardır(82). Bal ve ark. üçlü testte kromozomal anomali yönünden yüksek riskli olan olgularda %3,9 oranında kromozom anomalisine rastlamışlardır(83). Üçlü testte yüksek risk nedeni ile AS uyguladığımız 54 olgudan 6 (%7.4) olguda kromozom anomalisi saptandı.

USG’de fetal anomali tespiti nedeni ile yapılan AS serilerinde kromozom anomalisi tespit edilme oranları arasında belirgin farklar vardır. Bu oran çeşitli serilerde %4 ile %27.1 arasında bildirilmektedir. Stoll ve ark. fetal USG anomalisi olan 119 olguda yaptıkları AS sonrası %8,9 oranında kromozom anomalisi belirlemişlerdir(84). Rizzo ve ark. USGde fetal anomali saptadıkları 173 fetusta %16,8 oranında kromozom anomalisi belirlemişlerdir(85). Hsieh ve ark. fetal USG anomalisi olan 148 olguda %20,27 oranında kromozomal anomali göstermişlerdir(86). USG’de fetal anomali tespiti nedeni ile 47 olguda yaptığımız AS’de 8 (%17) olguda kromozom anomalisi tespit edildi ve literatür ile uyumlu bulundu. Bu veriler gösteriyor ki ASde kromozom anomalisi yakalayabilme olasılığı maternal yaş ve üçlü testten ziyade en sık USG’de fetal anomali saptanan olgularda görülmektedir. Birden fazla endikasyon nedeniyle AS uyguladığımız 48 hastadan 6 olguda (%12.5) kromozomopati bulundu. Bu da bize birden fazla neden ile yapılacak AS olgularında kromozomal anomali yakalama oranının daha yüksek olabileceğini göstermektedir.

Sjögren ve ark. 35 yaş üzerinde kromozomal anomali oranı %2.2 ve 40 yaş üzerinde ise %5.3 olarak bildirmişlerdir(80). Nagel ve ark. 36 yaş ve üzerinde bu oranı %4.7 olarak bulmuşlar ve gebeliklerin %70,8’ini sonlandırmışlardır(87). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, ileri anne yaşı endikasyonu ile yapılan AS olgularında kromozom anomalisi oranları %1.2- %13.3 olarak bulunmuştur (88). İzole ileri anne yaşı nedeni ile AS uyguladığımız 22 olgunun hiç birinde kromozomal anomali saptanmadı. Biz yaşı diğer parametrelerle kombine edilmesi gerektiği, aksi takdirde izole yaştan dolayı gereksiz AS sayısının artacağını düşünmekteyiz.

Anomalili bir çocuktan sonra, yakın aile bireylerinde anomalili yakın akrabaları olan çiftler ya da kromozomopatili aile ve yakınları olan çiftlerin gebelikeleri sırasında artmış anomali riski vardır. Önceki gebeliğinde Down sendromlu çocuk doğuran gebelerin sonraki gebeliklerinde Down sendromlu bebek doğurma riski %0.75 dolaylarındadır(89). Bizim çalışmamızda pozitif aile anamnezi olarak gruplandığımız bu grupta, 9 hastamızda aile anamnezi pozitif ve bunlardan 1 tanesinde(%11) [previus gebelik ve teyzede 46,xx del(9,9q ter --) 9q24:10q25--10qter)del (10)(pter--q25-parsiyel Trizomi 10] Trizomi 10 saptanmıştır. Hsieh ve ark çalışmalarında, önceki gebelikte fetal trizomi 21’li fetüs

anamnezi olan 143 gebelikten ikisinde (%1.39) Down sendromu görülürken, önceki gebelikte görülen fetal kromozomal translokasyon, 11 gebelikte %90.91 oranında tekrarlamıştır(86). Bununla birlikte, 35 yaş ve üzerinde risk çok fazla artarak %4.84 olarak belirlenmiştir. Yakın aile bireyleri arasında Down sendromlu gebelik öyküsü olması durumunda anöploidi riskini %0.24 olarak tesbit etmiş ve risk artışının olmadığını belirlemiştir.

Eddlemann ve ark. 1605 olguluk serilerinde fetal kayıp oranını %0.15 olarak bulmuşlardır(90). Armstrong ve ark. 28163 olguluk serilerinde fetal kayıp oranını %0.2 olarak bildirmişlerdir(91). Lockwood'un, 1375 olguluk AS serisinde fetal kayıp oranını %0.40'tır(92). Anderson ve arkadaşları, 1200 olguluk AS serilerinde %0,80 fetal kayıp bulmuşlardır(93). Eydoux, yaptığı çalışmada %1,3 oranında fetal kayba rastlamıştır(94). Çalışmamızda AS yapılan 217 olgudan hiç biri AS sonrası ilk bir ay içinde gebeliğini kaybetmemiştir, anca 6 olgu preterm eylem nedeniyle erken doğum yapmıştır. AS uygulamasında bir aydan daha sonraki peryotta gebelik kayıpları AS'nin bir komplikasyonu olarak düşünmemekteyiz. Bu olgulardan biri Trizomi 13, diğer bir olgu ikiz olup hiperekojenik bağırsak (her iki fetüste), oligohidramniyoz ve simetrik IUGR nedeniyle erken doğum yapmış ve karyotip sonucu normal saptanan olgudur. Olgulardan biri HEB ve kombine test riski 1/151 nedeniyle AS yaptığımız hasta 24. haftada preterm doğum yapmış ve bebek eks olmuş. Bir diğer olgumuz triple test sonucu 1/51 nedeniyle AS yaptığımız ve 31. haftada erken doğum yapmış ve bebek yaşıyor. Son olgumuz ise subamniyotik hematomu ve triple test sonucu 1/220 olması üzerine AS yaptığımız hasta, 30. haftada erken doğum yaptı ve bebek yaşıyor.

Dağlar ve ark. yaptığı çalışmada kromozomal anomaliye sahip 9(%3.5) olgu termine edilmiştir(69). Bizim çalışmamızda kromozomal anomalisi olan 8 olgu ve USG'de multipl anomali saptanan 3 olgu olmak üzere toplamda 11(%5) gebelik termine edilmiştir.

Toplam üç olgumuzda IUMF saptandı 3 (%1.30), bunlardan biri ikiz eşi idi. Bunların birinde USG'de multipl anomali, diğerinde ise karyotip analizinde Trizomi 18 tespit edildi. İkiz eşinde USG'de hipoplazik nazal bone saptanan ve AS yapılan olguda, karyotip sonucu normal bulundu, ancak anomailili bebek intrauterin mort olduğu, diğer fetüs ise termde doğduğu ve yaşadığı teyid edildi.

6.SONUÇ

İnvaziv prenatal tanı işlemlerinden en sık kullanılan AS çeşitli endikasyonlarla yapılmaktadır. Genel olarak en sık genetik amaçlı fetal karyotip analizi için uygulanmaktadır. Genetik amaçlı AS, genellikle gebeliğin 15-20 haftaları arasında, ideal olarak 16-18 haftalar arasında yapılmaktadır. AS işlemi diğer invaziv işlemlerden daha kolay yapılabilir olması nedeniyle fetal karyotip analizi amaçlı daha yaygın olarak yapılmaktadır. Ancak, AS girişimine bağlı kayıp oranı, konunun uzmanları tarafından yapıldığı takdirde çok daha azaldığı tespit edilmiştir. Bu nedenle AS gibi invazif girişimlerin perinatologlar tarafından yapılması, fetal kayıp riskini azaltmasının yanısıra medikolegal sorumlulukları da azaltacaktır.

Yaptığımız çalışmada kromozomal anomaliler daha çok USGde fetal anomali saptanan ve birden çok nedene bağlı endikasyonlar ile AS uygulanan hasta gurubunda saptanmıştır. Bu da prenatal tanı amacıyla yapılan anomali taramasının deneyimli ve konunun uzmanları tarafından yapılmasının daha yararlı olmaktadır. Yine birden çok pozitif parametre (kombine endikasyon) saptanan olgulara da AS uygulandığı durumunda kromozomal anomali yakalama şansının daha yüksektir. Yalnız ileri anne yaşının kromozomal anomali yakalama şansını fazla artırmadığını düşünüyoruz.

7.KAYNAKLAR

1. <http://www.tjodistanbul.com/dernek/maternal-kanda-hucre-disi-fetal-dna-cffdna-ile-non-invasive-prenatal-test-nipt>
2. Lynch L, Berkovvitz RL. Amniocentesis, Skin Biopsy, Umbilical Cord Blood Sampling in the Prenatal Diagnosis of Genetic Disorders. in Reece FA, Hobbins JC. Mahoney MJ. (eds): Medicine of the Fetus and Mother. Philadelphia JB. Lippincott, 1992, pp 641-52.
3. Hook EB. Chromosome abnormalities: prevalence, risks and recurrence. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA. (eds) Prenatal Diagnosis and Screening. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1998; 351-92.
4. Beksaç MS. Prenatal tanıda non-invaziv yöntemler. In: Beksaç MS Ed. Fetal Tıp;Prenatal Tanı. Ankara: Medical Network, 1996: 45-52.
5. <http://www.fetalmedicine.com/old/fmf/FMF-turkish.pdf>
6. Martin T.,Liedgren S.,Hammar M.: transplacental needle passage and other Risk factors associated withsecond trimester amniocentesis.Acta obstet gynecol Scand 76:728,1997)
7. Thirkelson A:Cell culture and cytogenetic technique In Murken JD S-RS,Schwinger EN (eds)Third European Conference onPrenatal Diagnosis of Genetic Disorders. Stuttgart,Ferdinand Enke,1979,pp258-270
8. Turnbull AC. Mac Kenzie IZ.:Second trimester amniocentesis termination of pregnancy. Br Med J 39:315,1983
9. Kishida T.,Yamada H.,Sagawa T.,et al.: Spontaneous resealed of high leak PROM Following Genetic amniocentesis.Int Gynecol Obstet 47:55,1994
10. NICHD amniocentesis Registry: The safety and Accuracy of mid trimester amniocentesis. DHEW Publication No (NIH) 78-190. Washington,DC, Department of Health, Education and Welfare 1978

11. Tabor A, Philip J, Madsen M, et al: Randomized controlled trial of genetic amniosentesis in 4606 low risk women .Lancet 1:1287,1986
12. Chorionic villus sampling and amniosentesis: recommendations of prenatal counseling. Centers for Disease control and prevention MMWR Recommendation report 1995;44:1-12
13. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, Dukes K, Berkowitz RL, Kharbutli Y. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. Obstet Gynecol 2006;108:1067-72.
14. Vandenbussche FP, Kanhai HH, Keirse MJ.: Safety of early amniosentesis 1994
15. HRP - DK James PJ Steer, CP. Weiner, B. Gonik High Risk Pregnancy: Management Options Elsevier, 2006
16. Shulman LP, Elias S.: Percutaneous umbilical blood sampling, fetal skin sampling and fetal liver biopsy. Semin perinatol 14:456, 1990
17. Oğur G. Genetik Hastalıklarda Prenatal Tanı. In Saraçoğlu F Ed. Fetal Tanı ve Tedavi. 1. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi, 1998: 15-42.
18. Meyers C, Adam R, Dungan J, Penger V. Aneuploidy in twin gestations: When is maternal age advanced? Obstet Gynecol, 1997; 89: 248-251.
19. Jones WO, Cahili CT. Maternal-Fetal Medicine. 4th Ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1999.
20. Cunningham FG, MacDonald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC. Williams Obstetrics. 19th Ed, Connecticut: Appleton & Lange Company, 1993: 661-690.
21. Wilson RD. Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling. Curr Opin Obstet Gynecol 2000;12:81-6.
22. Baltacı V. Üreme Genetiği ve Prenatal Genetik Tanı. Ed: Bektaş M S, Demir N, Koç A, Yüksel A Eds. Obstetrik Maternal-Fetal Tıp & Perinatoloji. Ankara: MN Medikal & Nobel, 2001: 128-148

23. Hashimoti BE, Mahony BS, Filly RA: Son Alpha-fetoprotein Testing for Fetal Neural Tube Defects. *J Ultrasound Med* 1985; 4: 307-10.
24. Brumfield CG, Lins L, Conner W. Pregnancy outcome following genetic amniocentesis at 11-14 versus 16-19 weeks gestation. *Obstet Gynecol* 1996;88:114-8.
25. Ayadi S, Carbillon L, Varlet C, et al. Fetal sepsis due to E.coli after second-trimester amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1998; 13:98-99
26. Tabor A, Jerne D, Bock JE. Incidence of rhesus immunization after genetic amniocentesis. *Br Med J*, 1987; 293:533-536.
27. Johnson JM, Wilson RD, Singer J, et al. Technical factors in early amniocentesis predict adverse outcome. Results of the Canadian Early (EA) versus mid-trimester (MA) amniocentesis Trial. *Prenat Diagn* 1999;19:732-738.
28. Selam B, Torok O, Lembet A, et al. Genetic amniocentesis after multifetal pregnancy reduction. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180: 226-30.
29. Salvedi S, Almstrom H, Fetal loss rate after second trimester amniocentesis at different gestational age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999;78:10-14.
30. Romero R, Goncalves LF, Ghezzi F, Gomez R, Cohen J, Mazor M. Amniocentesis. In: Fleischer AC, Manning FA, Jeanty P, Romero R Eds. *Sonography in Obstetrics and Gynecology Principles & Practice*. 5th Ed, Tennessee: A Simon & Schuster Company, 1996: 629-658.
31. Wilson RD, Johnson J, Windrim R, The early amniocentesis study: a randomized clinical trial of early amniocentesis and midtrimester amniocentesis. II. Evaluation of procedure details and neonatal congenital anomalies. *Fetal Diagn Ther*, 1997; 12: 97-101.
32. Grsheid PM, Quartero HWP, Schalm SW, Heijtkink RA, Christiaens GC. Early prenatal diagnosis in HBsAg-positive women. *Prenat Diagn*, 1994;14: 553-555

33. Eiben B, Hammans W, Hansen S, et al. On the complication risk of early amniocentesis versus standart amniocentesis. *Fetal Diagn Ther* 1997; 12: 140-144.
34. Wapner RJ, First trimester screening; The BUN study. *Semin Perinat*, 2005;29:236-239
35. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, et al. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal- translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet*, 1998;352:343-346.
36. Von Kaisenberg CS, Krenn V, Ludwig M, et al. Morphological classification of nuchal skin in human fetuses with trisomy 21, 18, and 13 at 11-18 weeks and in a trisomy 16 mouse. *Anat Embryol (Berl)*. 1998;197:105-124
37. Von Kaisenberg CS, Prols F, Nicolalides KH, et al. Glycosaminoglycans and proteoglycans in the skin of aneuploid fetuses with increased nuchal translucency. *Hum Reprod*, 2003;18:2544-2561.
38. Von Kaisenberg CS, Brand-Saberi B, Christ B, et al. Collagen type VI gene expression in the skin of trisomy 21 fetuses. *Obstet Gynecol*, 1998;91:319-323
39. Mol BWJ. Down's syndrome, cardiac anomalies, and nuchal translucency. Fetal heart failure might link nuchal translucency and Down's syndrome. *BMJ*, 1999;318:70-71. Berger A. What is fetal nuchal translucency? *BMJ*, 1999;318:81.
40. Haak MC, van Vugt JMG. Pathophysiology of increased nuchal translucency: a review of the literature. *Hum Reprod Update*, 2003;9:175-184.
41. Cicero S, Curcio P, Papageorgiou A, et al. Absence of nasal bone in fetuses with trisomy 21 at 11-14 weeks of gestation: an observational study. *Lancet*, 2001;358:1665-1667
42. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, Nicolaides KH. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 at 11 to 14 weeks. *Prenat Diagn*, 2003;23:306-10

43. Borrell A, Martinez JM, Seres A, Borobio V, Cararach V, Fortuny A. Ductus venosus assessment at the time of nuchal translucency measurement in the detection of fetal aneuploidy. *Prenat Diagn*, 2003;23:921–6
44. Nicolaides KH. Nuchal translucency and other first-trimester sonographic markers of chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*, 2004;191:45–67.
45. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders R, Nicolaides KH. A Screening Program for Trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal Nuchal Translucency, Maternal Serum Free β -Human Chorionic Gonadotropin and Pregnancy Associated Plasma Protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 1999;13:231-7.
46. ACOG Practice Bulletin No. 77: Screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol*, 2007;109:217–27
47. Nicolaides KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005; 25:221-6
48. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, et al: An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosome abnormalities. *Am J Obstet Gynecol*, 1984;148: 886–89
49. Bogart M, Pandian MR, Jones OW: abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn*, 1987;7:623–630
50. ACOG Educational Bulletin maternal serum screening *Am Col Obstet Gynecol*, No:228 Sept.1996
51. ACOG Committee Opinion down's syndrome screening . Committee on obstetric practice. *Am Col Obstet Gynecol*, No:141 Aug 1994
52. VanLith JMM, Pratt JJ, Beehuis JR et al. Second trimester maternal serum immunoreactive inhibin as a marker for fetal Down's syndrome. *Prenat Diagnosis*, 1992;12:801-806

53. Wald J, Densem J, George L et al. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin a as a serum marker. *Prenat Diagn*, 1996;16:143-153
54. Canick JA, McRea AR, Second trimester serum markers. *Semin Perinat*, 2005;29:203-208
55. Chitty L, Campbell S, Ultrasound screen fetal abnormalities in Brock DJH, Rodeck C, Ferguson-Smith MA. eds. *Prenatal diagnosis and screening*. New York Churchill-Livingstone, 1992: 595-609
56. Nyberg DA Souter VL, El-BastawissiA Young S, Luthhardt F, Luthy DA, Isolated sonographic markers for detection of fetal Down's syndrome in the second trimester of pregnancy. *J Ultrasound Med*, 2001;20:1053-1063
57. Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, Sgaernt IL, Redman CWG, Wainscoat JS. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 1997;350:485-7
58. Ashoor G, Syngelaki A, Poon LCY, Rezende JC, Nicolaides KH. Fetal fraction in maternal plasma cell-free DNA at 11–13 weeks' gestation: relation to maternal and fetal characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 26–32
59. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy. Committee Opinion No.545. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2012;120:1532-4
60. Ashoor G, Syngelaki A, Wagner M, Birdir C, Nicolaides KH. Chromosome-selective sequencing of maternal plasma cell-free DNA for first-trimester detection of trisomy 21 and trisomy 18. *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:322.e1-5
61. Benn P, Cuckle H, and Pergament E. Non-invasive prenatal diagnosis for Down syndrome: the paradigm will shift, but slowly. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 39: 127–130
62. Ashoor G, Synegeleki G, Wang E, Struble C, Oliphant A, Song K and Nicolaides KH. Trisomy 13 detection in the first trimester of pregnancy using a chromosome-selective cell-free DNA analysis method. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 41: 21–25

63. Nicolaides KH, Syngelaki¹ A, Gil¹ M, Atanasova¹ V and Markova¹ D. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y. *Prenatal Diagnosis* 2013, 33, 575–579
64. Çetin Saatçi, Yusuf Özkul, Şener Taşdemir, Aslıhan Kiraz, İpek Müderris, Nazife TAŞCIOĞLU, Okay Çağlayan, Münis Dünder , İnvazif Prenatal Tanı Yöntemleri Uygulanan 2295 Olgunun Retrospektif Analizi. *Perinatoloji Dergisi* Yıl: 2007; Cilt: 15 Sayı: (3) Sayfa:(3-3) DOI:
65. Alev Timur, İbrahim Uyar, İbrahim Gülhan, Nagehan Tan Saz, Alper İleri, Mehmet Özeren , Genetik amniyosentez yapılan 16-22 haftalık gebelerin amniyosentez sonuçlarının değerlendirilmesi. *Perinatoloji Dergisi* Yıl: 2013; Cilt: 21 Sayı: (4) Sayfa:(101-154) DOI: 10.2399/prn.13.0213001
66. Güven MA, Ceylaner S. Amniyosentez ve kordosentez ile prenatal tanı: 181 olgunun değerlendirilmesi. *Perinatoloji Dergisi* 2005; 13: 25 – 29
67. Milewicz P, Lipinski T, Hamela-Olkowska A, Jalinik K, Czajkowski K, Zaremba J. The evaluation of the results of genetic amniocentesis in the II Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical University of Warsaw. *Ginekol Pol*, 2004; 75: 603-608
68. Gökhan Yıldırım, Halil Aslan, Ahmet Gül, Kemal Güngördük, Fatma Nurgül Aktaş, Demet Çakmak, Yavuz Ceylan , İkinci Trimester Genetik Amniyosentez Sonrası Gebelik Sonuçları: 1070 Olgunun Değerlendirmesi. *Perinatoloji Dergisi* Yıl: 2006; Cilt: 14 Sayı: (3) Sayfa:(3-3) DOI:
69. Halil Gürsoy Pala, Burcu Artunç Ülkümen, Fatma Eskicioğlu, Safiye Uluçay, Sırrı Çam, Yeşim Bülbül Baytur, Faik Mümtaz Koyuncu , Manisa İli Üçüncü Basamak 2012 Yılı Amniyosentez Sonuçları. *Perinatoloji Dergisi* Yıl: 2014; Cilt: 22 Sayı: (1) Sayfa:(1-61) DOI: 10.2399/prn.140221005

70. Halil Korkut Dağlar, Barış Kaya, Hacı Öztürk Şahin, Mehmet Fethi Pınar, Aybala Akıl , Gaziantep İli Doğum Hastanesi'nde Karyotip Analizi Amacı ile Amniyosentez ve Koryon Villus Örnekleme Yapılan 268 Olgunun Retrospektif Analizi. Perinatoloji Dergisi Yıl: 2011; Cilt: 19 Sayı: (3) Sayfa:(3-3) DOI:
71. Müngen E, Tütüncü L, Muhcu M, Yergök YZ. Pregnancy outcome following second– trimester amniocentesis: A case – control Study. Am J Perinatol 2006; 23: 25 – 30.
72. Coşkun Z. Amniyosentez uygulanan 615 olgu Sonuçlarının değerlendirilmesi. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanlık Tezi 2008.
73. Tongsong T, Wanapirak C, Sirivatanapa P. Amniocentesis-related fetal loss; a cohort study. Obstet Gynecol 1998; 92: 64-7
74. Sjogren B, Uddenberg N. Decision making during the prenatal diagnostic procedure .A questionnaire and interview study of 21 lwomen participating in prenatal diagnosis. Prenat Diagn, 1988;8:263-273.
75. Lindemann CH, Theile U. Prenatal karyotyping in second trimester pregnancies. Prenatal Diagnosis, 1989; 42: 594-598
76. Bal F, Uğur G,Yıldız A, Şahin İ, Menekşe A. İl.trimester gebeliklerinde amniyosentez uygulamaları. Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi, 1995; 5:249-256
77. Kamil Turgay Şener, Beyhan Durak, H. Mete Tanır, Emre Tepeli, Mehmet Kaya, Sevilhan Artan , KLİNİĞİMİZDE 7 YILLIK AMNİOSENTEZ SONUÇLARI. Perinatoloji Dergisi Yıl: 2006; Cilt: 14 Sayı: (4) Sayfa:(4-4) DOI:
78. Melih Atakan Güven, Serdar Ceylaner , Amniyosentez ve Kordosentez ile Prenatal Tanı: 181 Olgunun Değerlendirilmesi . Perinatoloji Dergisi Yıl: 2005; Cilt: 13 Sayı: (1) Sayfa:(1-1) DOI:
79. Başaran S, Karaman B, Aydın K, Yüksel A. Amniyotik sıvı, trofoblast dokusu ve fetal kan örneğinde sitogenetik incelemeler. 527 olguluk seri sonuçları. Jinekoloji Obstetrik Dergisi 1992; 6: 81 – 89

80. Sjögren B, Uddenberg N. Decision making during prenatal diagnostic procedure. A questionnaire and interview Study of 211 women participating in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 1989; 9: 263 –273
81. Yüce H, Çelik H, Gürateş B, Erol D, Hanay F, Elyas H. Karyotip analizi amacı ile genetik amniyosentez uygulanan 356 olgunun retrospektif analizi. *Perinatoloji Dergisi* 2006; 14: 73 – 76
82. Wenstrom KD, Williamson RA, Grant SS, Hudson JD, Getchell P. Evaluation of multipl marker screening for Down syndrome a statewide population. *Am J Obstet Gynecol*, 1993; 169: 793-797
83. Bal F, Uğur G, Yıldız A, Şahin İ, Menekşe A. 2. trimester riskli gebeliklerinde amniyosentez uygulamaları. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi* 1995; 5:249 – 256
84. Stoll C, Dott B, Alembik Y, Roth M. Evalution of routine prenatal ultrasound examination in detecting fetal chromosomal abnormalities in a low risk population. *Hum Genet* 1993; 91: 37 – 41
85. Rizzo N, Pittalis MC, Pilu G, Orsini LF, Perolo A, Bovicelli L. Prenatal karyotyping in malformed fetus. *Prenat Diagn* 1990; 10: 17 – 23
86. Hsieh FJ, Ko TM, Tseng LH, Chang LS, Pan MF, Chuang SM, Lee TY, Chen HY. Prenatal cytogenetic diagnosis in amniocentesis. *J Formos Med Assoc*, 1992;91:276-282
87. Nagel HT, Knegt AC, Kloosterman MD, Wildschut HI, Leschot NJ, Vandenbussche FP. Invasive prenatal diagnosis in the Netherlands, 1991-2000: number of procedures, indications and abnormal results detected. *Ned Tijdschr Geneesk*, 2004; 31: 1538-1543
88. Taner CE, Altınbaşoğlu FH, Özkirişçi FH, İmren A, Büyüktosun C, Özgenç Y, Derin G. İleri maternal yaş gebeliklerinde amniyosentez sonuçları. *Perinatoloji Dergisi* 2002; 4: 336 – 339

89. M. Jenkins T, J Wapner R, Chapter 18 Prenatal Diagnosis of Congenital Disorder. Maternal Fetal Medicine Principles and Practice Fifth Edition 2004;235-280
90. Eddleman K, Berkowitz R, Kharbutli Y, et al. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis: The FASTER trial. Am J Obstet Gynecol 2003; 189: S111
91. Armstrong J, Cohen AW, Bombard AT, et al. Comparison of amniocentesis – related loss rates between obstetrician – gynecologists and perinatologists. Obstet Gynecol 2002;99:65S
92. Lockwood H, Neu R. Cytogenetic analysis of 1375 amniotic fluid specimens from pregnancies with gestational age less than 14 weeks. Prenat Diagn, 1993; 13:801-805
93. Anderson RL, Goldberg JD, Golbus MS. Prenatal diagnosis multiple gestation. 20 years experience with amniocentesis. Prenatal Diagnosis, 1991; 11: 263-270
94. Eydoux P, Choiset A, Porrier NL, Thepot F, Tapia SS, Alliet J, Rammond S, Viel JF, Gautier E, Morichon N, Orgeolet SG. Chromosomal prenatal diagnosis: Study of 936 cases of intrauterine abnormalities after ultrasound assessment. Prenat Diagn, 1989; 9: 255-268