

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

MISSED ABORTUS VE BLIGHTED OVUM ÖN TANILI GEBELİKLERDE
TERMINASYON ÖNCESİ KORYON VİLLUS ÖRNEKLEMESİ İLE
SİTOGENETİK İNCELEMELER

Dr. Volkan BALTACI

UZMANLIK TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Bekir Sıtkı SAYLI

1992 - ANKARA

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAC	1
GENEL BİLGİLER	5
GEREC VE YÖNTEM	21
BULGULAR	29
TARTIŞMA	38
SONUC	50
ÖZET (TÜRKÇE)	52
ÖZET (İNGİLİZCE)	53
KAYNAKLAR	54
EKLER	63

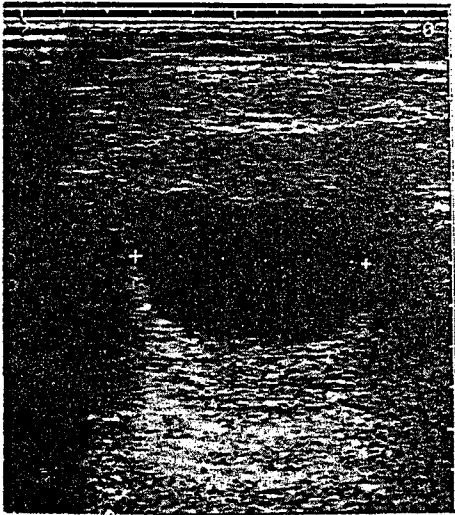
GİRİŞ VE AMAC

Gebeliklerin normal ve sağlıklı bebek doğumlarıyla sonlanması ve doğuştan anomalili bebek doğumlarının önlenmesi ya da en az düzeye indirilmesi kuşkusuz toplum sağlığının temel amaçlarından biridir. Günümüzde prenatal tanı yöntemleri ile bu amaca yaklaşma sürecine girilmiştir. Aşağıda ayrıca belirtileceği üzere uygulamayı daha yaygınlaştırıp daha etkin kılabilme çabaları sürdürülmektedir.

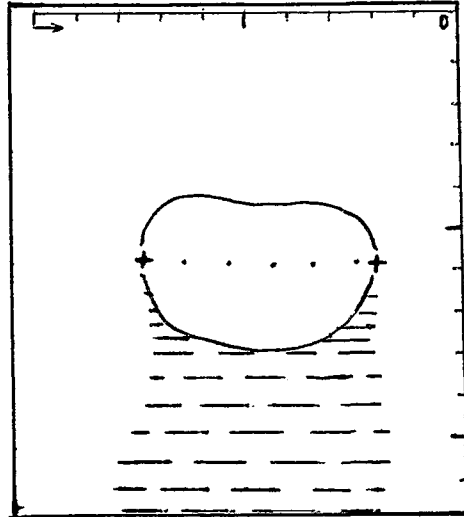
Geçmiş yıllarda sebepleri yeterince anlaşılamayan malformasyonlu birçok doğum ve terme bile ulaşamayan fetal kayıplar olduğu gibi kabul edilmiş, çoğunda etiyo-patojenik mekanizmalar bulunamamış, hele tedavileri üzerinde hiç durulmamıştır. Kusurlu fetal gelişmenin etiyo-patojenik mekanizmalarının aydınlatılması ve mekanizmalarının anlaşılması yanısıra tedavileri bugün için mümkün olmayan vakalar karşısında şimdilik bilgi birikiminin sağlanmasıyla yetinilmektedir ve bu gereklidir. Bazılarına gelecekte terapötik yaklaşım nispeten kolaylaşacaktır.

"Missed abortus" gebeliğın 20. haftasından önce fetusun intrauterin ölümüne rağmen takip eden haftalar ya da aylar süresince gebelik kesesini terk etmediğı olguları anlatmaktadır. Yirminci haftadan sonra fakat doğum eylemi başlamadan önce olan fetal ölümler ise, antepartum fetal ölüm olarak adlandırılır (Ref. 1,2). Gebeliğın erken dönemlerinde vajinal bir kanama varken ultrasonografi ile fetus ve fetus ekleri olmaksızın boş bir gebelik kesesi saptanırsa veya gebelik tarihine göre oldukça küçük bir fetal eko tespit edilirse "blighted ovum" (blind ovum) tanısı konur (Ref. 3,9), (Şekil 1).

ŞEKİL 1- Boş bir gebelik kesesi (blind ovum), (A) ve çizimsel gösterimi (B).



A

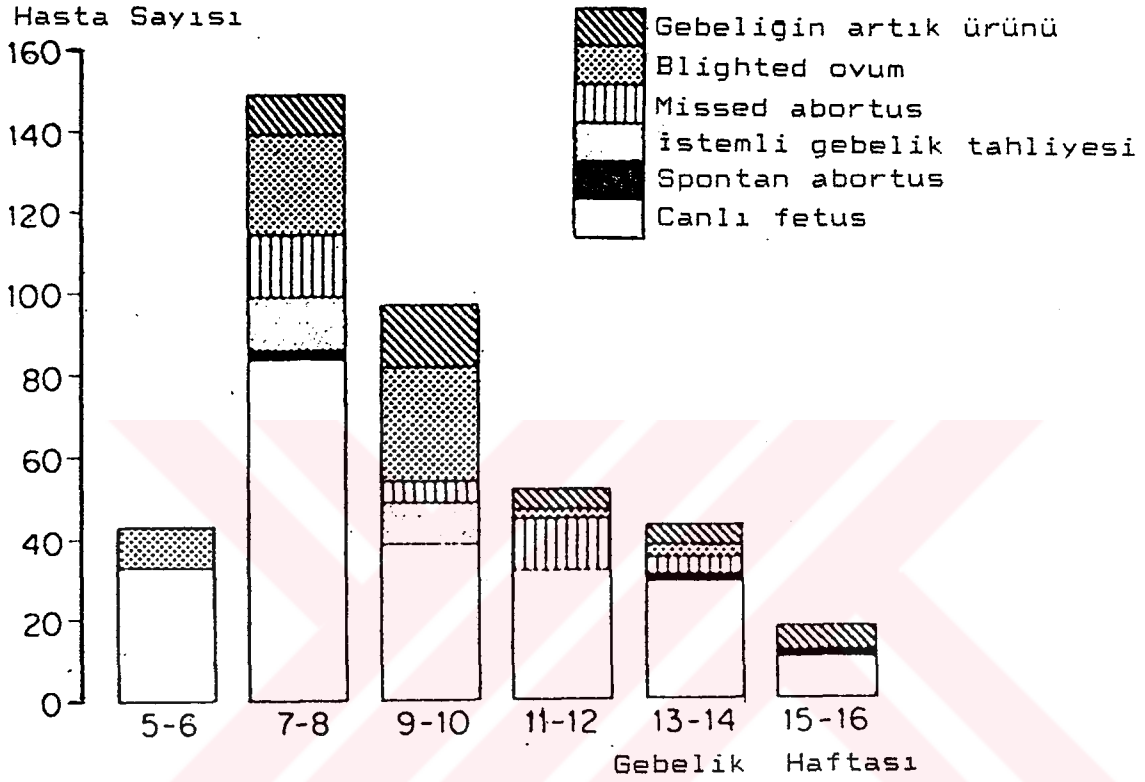


B

Bazı dış merkezlerde yapılan araştırmalara göre, gebeliğin ilk 3 ayı içindeki spontan düşük oranı % 15 olup, düşük materyalinin % 60 kadarında çeşitli kromozom düzensizlikleri söz konusudur (Ref. 4-8). Yenidoğan bebeklerin ancak % 0.5'inde major kromozom anomalilerinin gözlenmesi intrauterin devrede bu tür düzensizlik gösteren embriyonların büyük bir kısmının düşük olarak atıldıklarını belgeler niteliktedir (Ref. 9). Çok erken dönemde meydana gelen bazı düşüklerin tespit edilememesi gözönünde tutulursa konsepsiyon sırasındaki kromozom anomalisi insidansının gerçekte daha yüksek olduğu anlaşılır (Ref. 9).

Çeşitli yazarlar tarafından gebeliğin belirli dönemlerinde bazı tip fetal kayıpların farklı oranlarda gerçekleştikleri bildirilmiştir. Buna göre missed abortuslar ile daha çok 7-14. gebelik haftalarında karşılaşılırken blind ovumlar 7-10. haftalarda daha sık tespit edilmektedirler (Ref. 9), (Sekil 2).

SEKİL 2- Missed abortus ve blind ovum yanı sıra bazı abnormal gebeliklerin en sık şaptandıkları gebelik haftaları (Benirscke'den)



Son yıllarda değişik merkezlerde spontan abortusların epidemiyolojilerine ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Ref. 4-8).

Biz missed abortus ve blind ovum ön tanısı almış gebeliklerin etiyojilerininin kromozomal yönünü araştırmak amacıyla koryon villus örnekleme yöntemiyle bu çalışmayı yaptık. Bulguların bizim toplumumuza ait ilk verileri oluşturması yönünden bundan sonraki çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

GENEL BİLGİLER

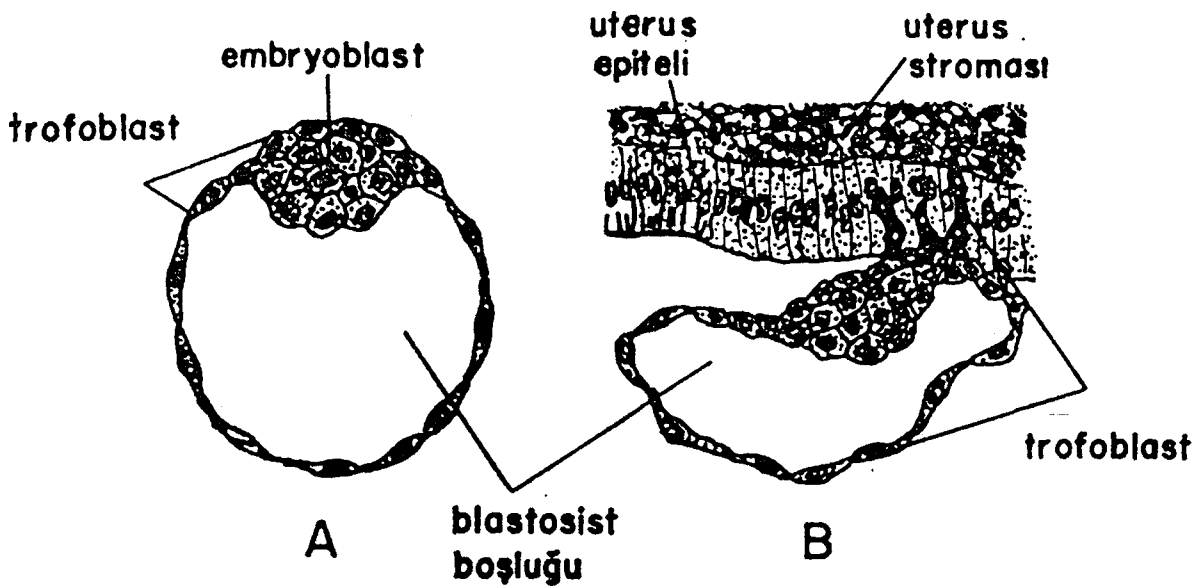
Erken gebelik dönemlerindeki embriyonel gelişmenin özellikleri daha ayrıntılı olarak anlaşılınca koryon villus örnekleme (KVÖ) işlemi gündeme gelmiş ve kazandığı önem günden güne artmıştır. Zira embriyo ve fetusu saran zarlar (fetal zarlar) tamamen fetusu yansıtmaktadırlar. Bu hem embriyonun hem onu çevreleyen doku katmanlarının aynı çekirdekten gelişmeleri sonucudur. Bunlardan yapılacak bir örneklemeyle bizzat fetusdan yapılacak örnekleme farklı olmayacaktır (Ref. 10,13).

İlk Trimesterde Embriyolojik Gelişim

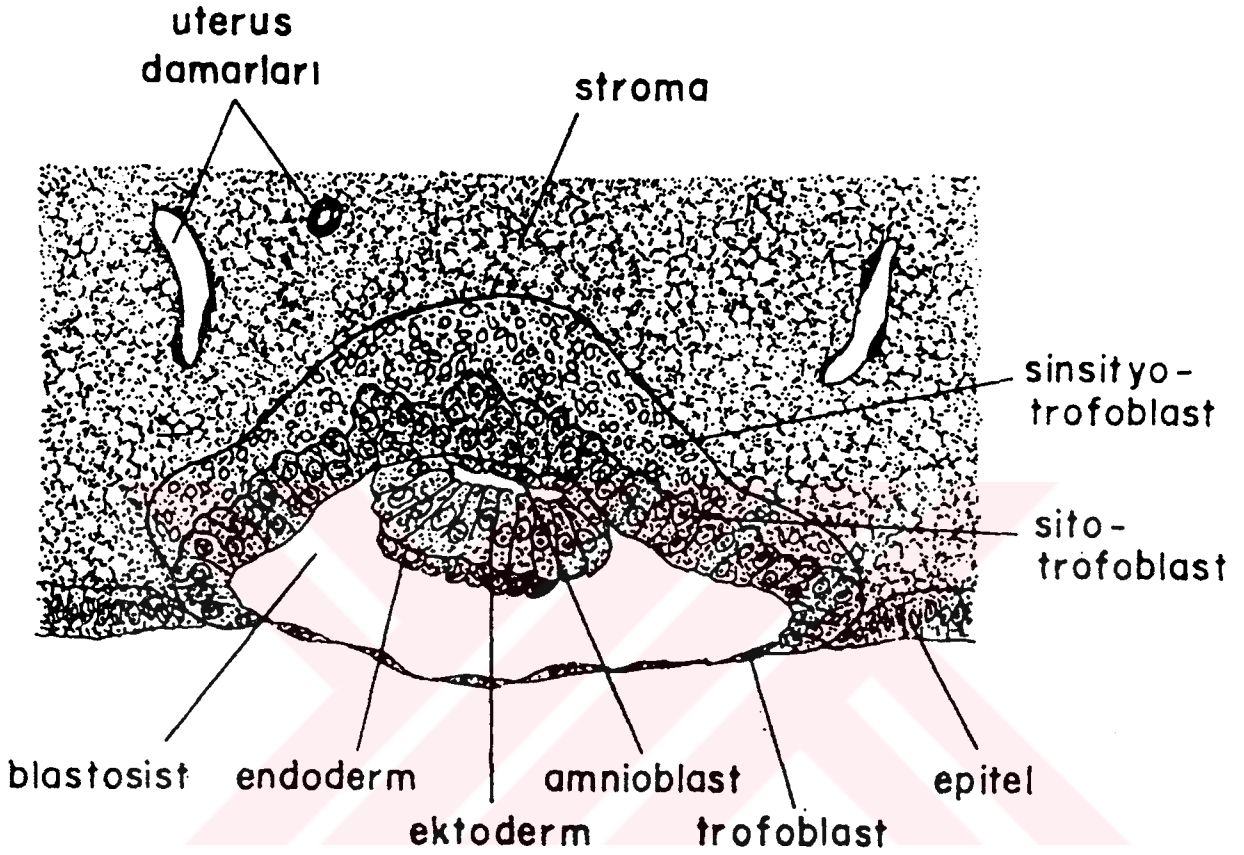
Döllenmiş yumurta (fertilize ovum, zigot) fertilizasyonu izleyen 4. günde uterus boşluğuna girer. Mitozla bölünen zigot önce morula aşamasına ulaşır. Sekresyon fazındaki endometrium hücrelerinin salgısı yavaş yavaş morula kitlesinin içine sızmaya başlar ve blastomerin ortasında içi sıvı ile dolu bir boşluk oluşur. Bu oluşuma blastocyst, ortasındaki içi sıvı ile dolu boşluğa da blastocoele adı verilir. Blastocisti çevreleyen ve kısmen içteki sıvının basıncı ile yassılaşmış hücrelere trophoblast denirken, henüz yuvarlak şekillerini kısmen koruyan blastomer kitlesine ise, iç hücre kitlesi (Inner cell mass-embryoblast) adı verilir.

Fertilizasyondan itibaren 4 - 4.5 günlük bir blastosistde 58 - 107 kadar hücre bulunur. Son durumda, yani 107 hücreli blastosistde 99 hücrenin trofoblast oldukları, geriye kalan 8 hücrenin ise embriyoblasta ait olduğu belirlenmiştir. Trofoblastik 99 hücrenin 69 tanesi blastoseli çevirmekte, geriye kalan 30 tanesi de embriyoblast kitlesini dıştan sarmaktadır (Ref. 10-13). Ovulasyondan itibaren 5 - 6. günde blastosist kitlesi tamamen gelişmiştir. Etrafını saran zona pellusida artan iç basınç sebebiyle gittikçe incelik ve sonunda yırtılarak parçalanır. Zona pellusida kaybolur kaybolmaz blastosist iç hücre kitlesi tarafından endometriuma yapışır. Bundan sonra kitle endometriuma gömülmeye başlar. Buna implantasyon adı verilir (Şekil 3,4).

ŞEKİL 3 - Blastosist (A) ve blastosist'in endometrium epiteline tutunması (B).

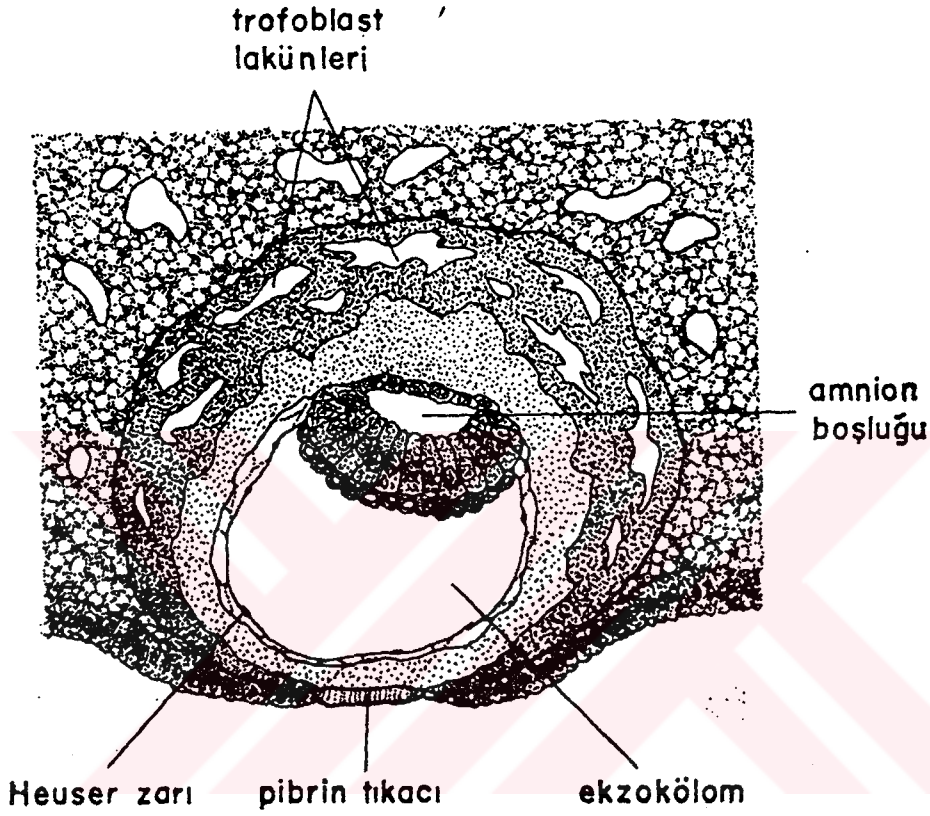


ŞEKİL 4 - Blastosist'in endometriuma gömülmesi.



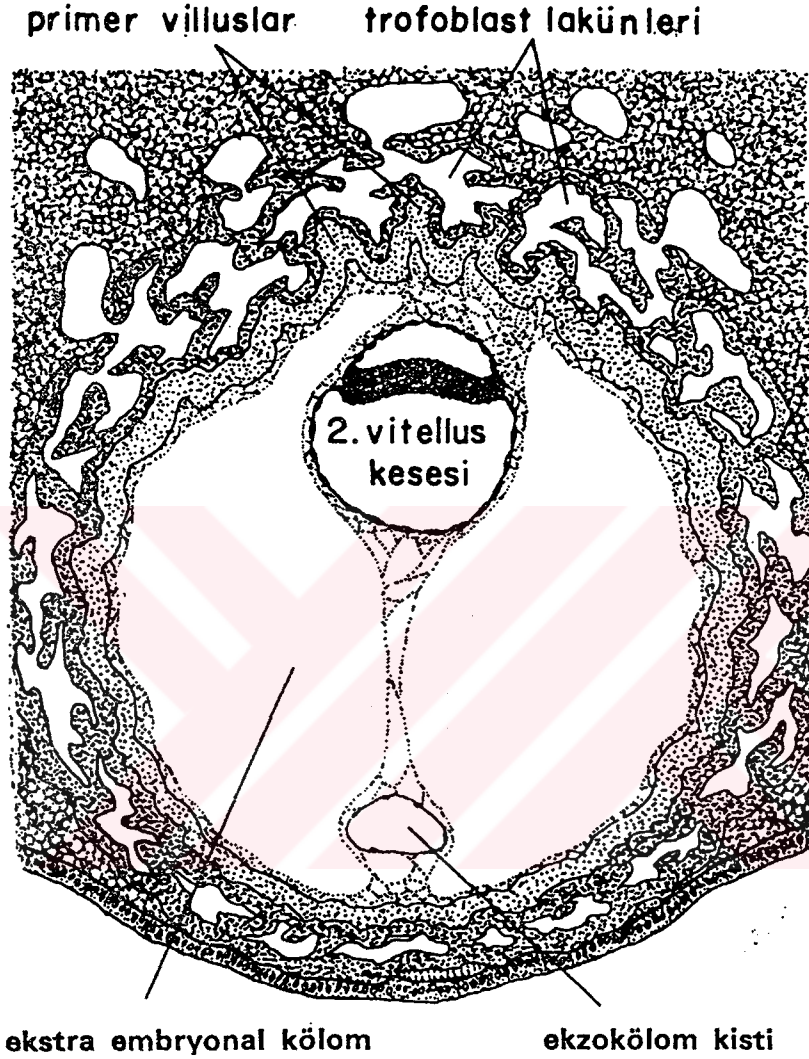
implantasyon, embriyoblastı çevreleyen trofoblastların desidüaya doğru çoğalıp gömülmesi ile ilerler. Asıl yavru (embriyon) iç hücre kitlesinden meydana gelecek, trofoblastlar fetal zarları ve plasentayı yapacaklardır (Ref. 9-13), (Şekil 5).

ŞEKİL 5 - implantasyonun hemen hemen tamamlanmak üzere olduğu bir blastosist.



Dış duvarı oluşturan trofoblastlar hızla çoğalırken embriyonik hücreler daha yavaş çoğalırlar ve böylece embriyonik segmentasyon, blastokist boşluğunun bir kenarında polar konumda yer alır (Ref. 10), (Şekil 6).

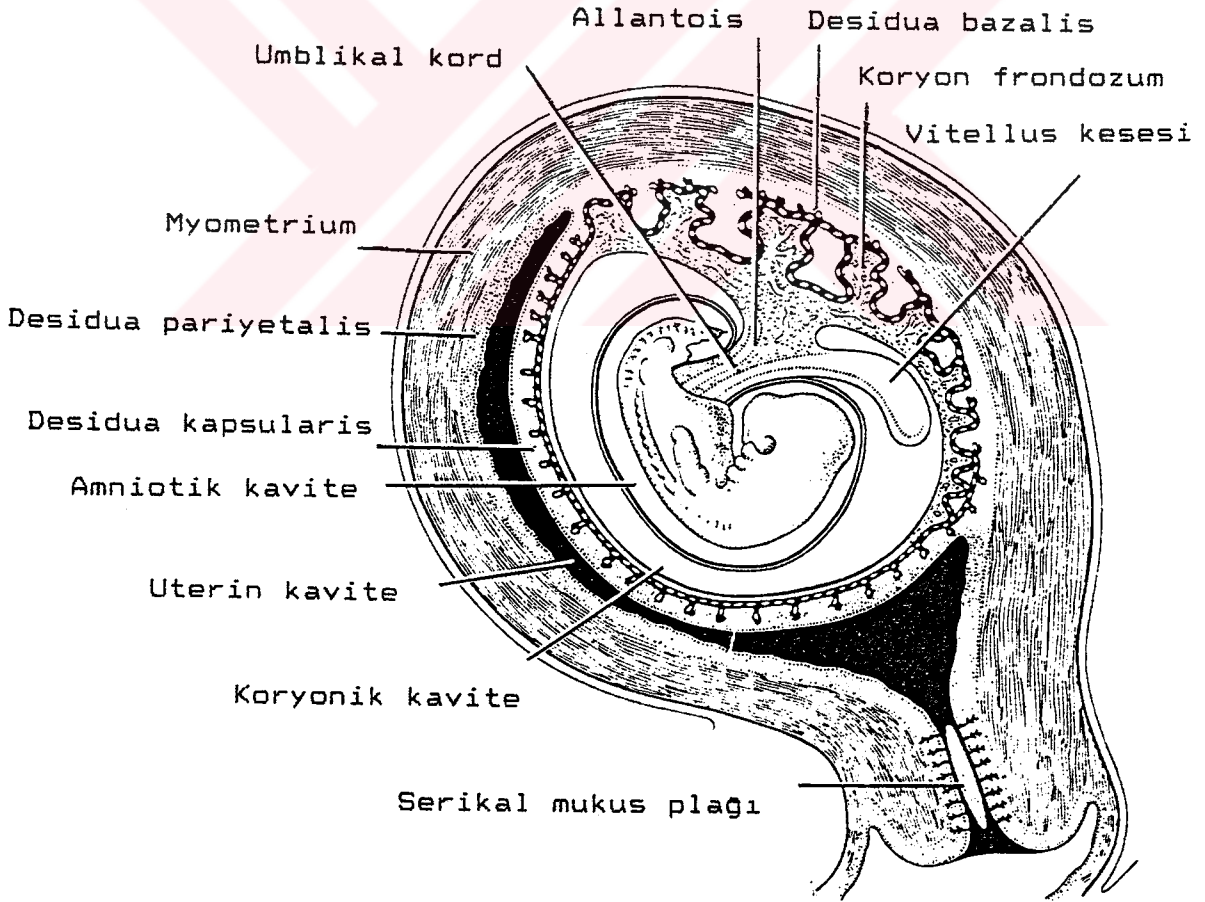
SEKİL 6 - implantasyonunu tamamlamış bir blastosist. Amnion boşluğu ve vitellus kesesi belirginleşmiştir.



Trofoblastik hücreler fertilizasyonu takiben ortalama 6. günde implantasyonu sağlarlar (Ref. 9). Son adeti izleyen 6. haftada, implantasyon bölgesi dışındaki villuslar dejenerasyona uğrarken implantasyon bölgesindekiler hızla proliferasyon olarak uterus duvarının iç katmanlarına doğru gelişirler.

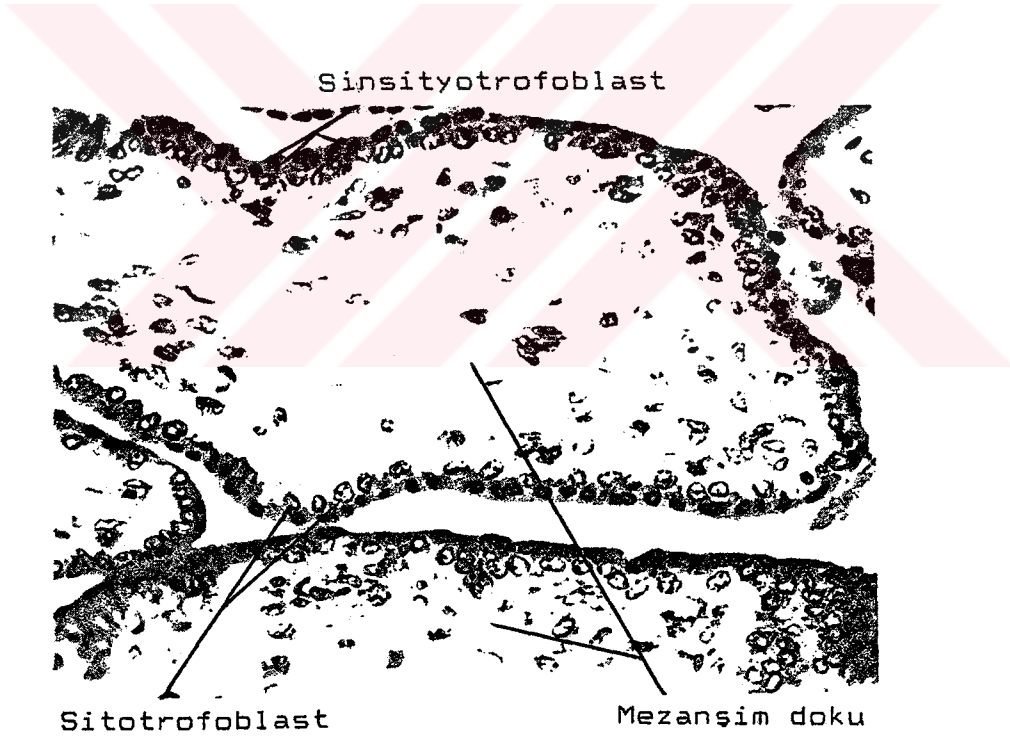
Gebeligin 9. haftasında villuslar 1 - 1.5 sm kalınlığında bir tabaka oluştururlar. Aslında bu tabaka, daha sonraki gelişme dönemlerindeki plasentayı meydana getirecek olan ve koryon villus biyopsisinin yapıldığı "chorion frondosum" kesimidir (Şekil 7).

ŞEKİL 7 - Gebelik kesesi, koryonik villuslar ve embriyonun sematik gösterimi.



Koryon villusları mikroskopik olarak, ortada yeralmış mezansimal doku ile bunu örten trofoblastik epitel hücrelerinden ibarettir. Mezansimal bölgede gevşek stromal hücreler ve bağ dokusuna ait matriks bulunur. Trofoblastik epitel iki ayrı tabakadan oluşur; içteki sitotrofoblast, dıştaki sinsityotrofoblast adlı hücrelerden meydana gelir (Şekil 8).

ŞEKİL 8 - Trofoblastik epitel; sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücre tabakaları



Sitotrofoblastlarda spontan mitoz varolmasına rağmen sinsityotrofoblastlarda yoktur. Bunun sitogenetik tanı açısından önemi, alınan koryon villus doku örneklerinin

direkt yöntemle çalışılması olanağını doğurması ya da kültür yapılması yönünden alternatif yol yaratmasıdır. Kültür etmeksizin doku örneğinin hemen çalışılmasıyla elde edilen metafaz plakları sitotrofoblast hücrelerindeki spontan mitozların ürünüdürler. Bu metod % 60'lık asetik asit ya da kollajenaz kullanmak suretiyle dıştaki sinsityotrofoblast hücrelerini dökerek içteki sitotrofoblast hücrelerini serbestleştirmeyi temel alarak hazırlanmıştır (Ref. 14,15). Oysa koryonik doku örnekleri besi yerine kondukları zaman elde edilen metafaz plakları içteki mezansim bölgesindeki stromal hücreler ve bağ dokusu hücrelerine aittir (Ref. 16,17). Bu iki metodun aralarındaki avantaj ve dezavantajlar yönünden farkları incelenecek olursa;

-Direkt yöntem 24-36 saat gibi oldukça kısa süre içinde sonuç verebilmektedir.

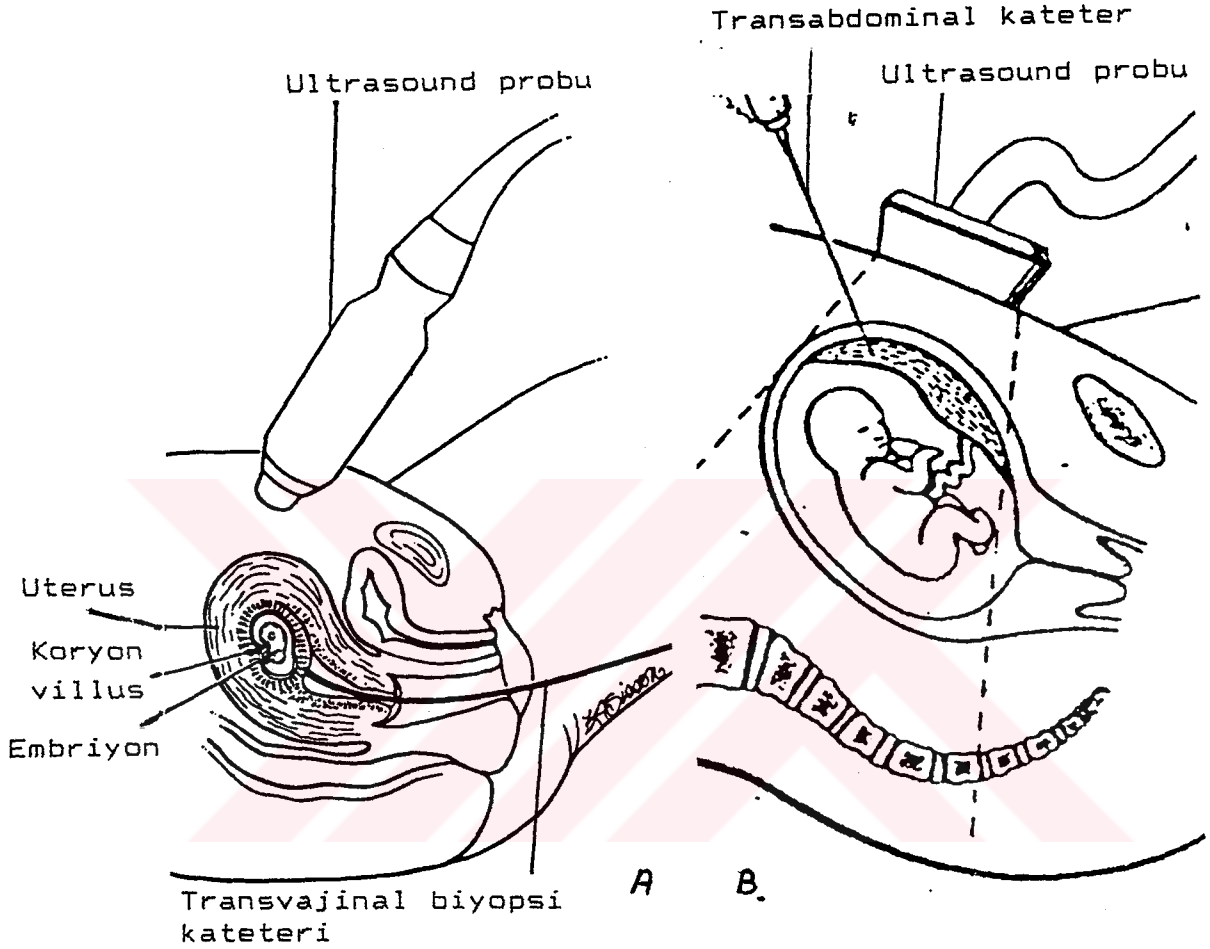
-Direkt yöntem ile sadece spontan mitoz gösteren fetal sitotrofoblast hücrelerine ait metafaz plakları elde edilir. Buna karşılık maternal sinsityotrofoblastlara ait bir metafaza rastlama şansı oldukça düşüktür. Bu sebeple maternal kontaminasyon riski direkt metod için son derece küçüktür (Ref. 18,19).

-Her iki metodun aynı anda uygulandığı gebelerde bazen direkt metoda ait koryonik villus kromozom bulgularıyla uzun süreli kültüre ait sonuçlar arasında uyumsuzluklar gözlenmektedir.

Böyle durumlarda her iki metoda ait sonuçlar sonradan bizzat fetal dokulardan yapılan kromozom analizleri ile karşılaştırıldıklarında sıklıkla uzun süreli kültür sonuçlarının fetal doku sonuçları ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle birçok yazar uzun süreli kültür metodunun fetusu daha doğru bir şekilde yansıttığı fikrindedirler (Ref. 19,20). Direk metod ile kültür yöntemi arasındaki bu uyumsuzlukları açıklamak için bazı yazarlar tarafından "lokalize non-disjunction" ve "kromozom lagging" gibi düzensizlikleri öngören teoriler ortaya atılmıştır (Ref. 19,20).

Koryon villus doku örneklemesi günümüzde US eşliğinde transservikal yahut transabdominal yolla yapılmaktadır (Sekil 9).

SEKİL 9 - Transvajinal yolla (A) ve transabdominal yolla (B) koryon villus biyopsi uygulaması.



Günümüzde bu iki yöntemden daha popüler olanı transservikal aspirasyondur (Ref. 21). Bazı yazarlarca 10. gebelik haftasından sonra ve ileri maternal yaş gebeliklerinde transabdominal yol önerilmektedir (Ref. 22). Kuşkusuz plasentanın lokalizasyonu da yöntemin seçiminde rol oynar; öyleki uterus ön duvarında yerleşmiş olan plasenta için transabdominal, arka duvarında yerleşmiş olanda ise transservikal yol seçilmelidir. Transservikal aspirasyon

plastik ya da metal kateterler ile yapılmaktadır. En çok Porteks-Tropkocan tipi kateterler kullanılmaktadır (Ref. 23,24). Transservikal uygulama 2-3 girişimi geçmemelidir; zira girişim sayısının artması ile fetal kayıp orantılı biçimde artmaktadır (Ref. 25).

Transabdominal yöntem beraberinde aynı zamanda amniosentez avantajını da getirmektedir. En erken 9. gebelik haftasında uygulanabilir olmasına karşın 2. ve 3. trimesterde de yapılabilir. Tam bir sitogenetik analiz için koryonik villus biyopsisi ile alınan doku minimal 10 mg kadar olmalıdır. Bu miktar doku kanül ile plasentaya girildikten sonra 10-20 ml'lik negatif basınç uygulanmak suretiyle alınabilir.

KVB'nin Endikasyonları

Kromozomal prenatal tanı için standart endikasyonlar şunlardır:

- İleri yaş gebeliği. Genellikle gebelik sırasında 35 yaşında veya üstünde olanları kapsar.
- Kromozom anomalisi olan çocuk doğurma öyküsü.
- Eşlerden birinin yada ikisinin birden dengeli translokasyon taşıyıcısı olmaları.
- X'e bağlı hastalık riski nedeniyle felal cinsiyet tayini.

KVB'nin Kontrendikasyonları

Koryon villus biyopsi uygulamasının kontrendike olduğu bazı durumlar vardır. Bunları iki grupta verebiliriz:

Kesin kontrendikasyonlar:

- Rahim içi araç (spiral) varlığı.
- Aktif vajinal kanama.
- Servikal stenoz.
- Tedavi edilmemiş endoservisit veya pelvisin iltihabi hastalığı.
- Servikal kültürde N. gonorrhoea üremesi.
- Aktif genital herpes simpleks enfeksiyonu.

Kısmi kontrendikasyonlar:

- Normal olmayan pelvik US bulguları.
- Myoma uteri (yerleşimine bağlı).
- Geçirilmiş servikal operasyon.
- Gebede pıhtılaşma bozukluğu.
- Rh sensitizasyonu.

Normalde asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak deneyimli bir uzman tarafından yapıldığı takdirde herhangi ciddi komplikasyonla karşılaşılmamaktadır. Yine de aşağıdaki komplikasyonların dikkate alınması gerekir.

KVÖ işlemine ait risklerin bir kısmı doğrudan fetusa yönelik olup (düşük, fetal bazı malformasyonlar) bir kısmı öncelikle anneyi ve dolaylı olarak fetusu ilgilendirir (kanama, enfeksiyon vb). Missed abortus ve blind ovum vakaları için KVB işlemi sırasında fetus yönünden herhangi bir risk söz konusu olmamakla beraber işleme ait maternal risk ve komplikasyonlar gözardı edilemez.

KVB'nin Komplikasyonları:

a) Maternal olanlar:

1-Kanama

Biyopsi uygulamasından sonra vajinal kanama oldukça sık görülen bir durum olup bazen 10-14 gün kadar sürmektedir. Kanama ya çok az ya da menstrüel kanama şeklindedir. Hastaların küçük bir kısmında menstrüel kanamaya oranla daha uzun süre gözlenir ki fetal kayıp ile sonuçlanabilir.

2-Rh izoimmünizasyonu

Feto-maternal kanama riskine karşın mutlaka Anti-D globulin yapılmalıdır. Rh sensitizasyonu bulunan hastalarda ise koryon programı uygulanmamalıdır.

3-Enfeksiyon

KBÖ işleminin önemli komplikasyonlarındanıdır. Bu konuyla ilgili olarak özellikle N. gonorrhoea enfeksiyonu ve seyrek de olsa daha ciddi enfeksiyonlar bildirilmiştir (Ref. 26,27).

b) Fetal Komplikasyonlar:

1-Perinatal komplikasyonlar

Bu dönem gebeliğin 28. haftası ile postpartum 30. günleri kapsar. Ölü doğumlar yanısıra, prematüre, intra uterin gelişme geriliği ve düşük beden ağırlıklı doğumlar ile neonatal ölümleri kapsar. Yapısal bozukluklar % 1'den daha düşük oranda olup gözlenen düzensizliklerin gerçekten KVÖ işlemine bağlı oldukları henüz belgelenememiştir (Ref. 28). Aynı şekilde amniotik bantların oluşması şüphesi klinik olarak henüz doğrulanmamıştır (Ref.28).

2-Fetal kayıp

Buna gebelik yaşı, biyopsi tekniği, kullanılan aletler gibi değişik faktörlerin yanısıra işlem sayısı da etki eder. Üç ve daha fazla girişimin fetal kayıp oranını arttırdığı ileri sürülmektedir (Ref. 28).

Missed abortus vakalarında kromozomal araştırma yapan bazı araştırmacılar KBÖ ile alınan doku örneklerinden elde edilen karyotiplerin abortus materyaliyle yapılan doku kültüründen elde edilenlere oranla üstün olduklarını vurgulamışlardır (Ref. 29). O nedenle son yıllarda geliştirilen koryonik villuslardan direkt sitogenetik analiz metodları daha yaygın olarak kllanılmaktadır (Ref: 30,31).

Missed abortus vakalarının bir kısmında hipertansif damar hastalığı, diabetes mellitus, eritroblastozis fetalis, umbilikal kordon travmaları ve üzerine enfeksiyon eklene erken membran rüptürleri gibi faktörler etiyolojik rol oynarlar. Ne var ki olguların % 50 kadarında etiyoloji belirlenemez (Ref. 1).

Erken embriyonik kayıp vakalarında patolojik incelemeler bu embriyonların yüksek oranda anormal olduklarını göstermiştir (Ref. 32,33). Bu durumda erken embriyonik kayıplar temelde maternal faktörlere değil fakat zigotik defektlere bağlanmıştır. Hertig tarafından yapılan 1000 spontan abortusun morfolojik çalışmasında yaklaşık 3/4 oranında anormallik saptanmıştır (Ref. 32). Mikano, Miller ve Poland'ın yaptıkları benzer çalışmalar da Hertig'in bulgularını doğrulamıştır (Ref. 33,34).

Bu çalışmalar erken embriyonik kayıpların ve spontan abortusların başlıca sebebinin intrensik zigotik defektler olduğunu göstermiştir.

Spontan abortusların büyük çoğunluğu (% 90) gebeliğin ilk trimestrinde meydana gelmektedir. Embriyonun gelişim yaşı genellikle 8 haftanın altında olup embriyonik ölümü uzamış bir in utero retansiyon (missed abortus) takip etmektedir (Ref. 4).

Çok sayıda spontan ve missed abortus vakasında KVÖ ile yapılan sitogenetik incelemeler sonunda kromozomal düzensizlik oranı % 60'ın üzerinde çıkarken, kromozomal bozukluklar arasında en sık otozomal trizomilere rastlanmaktadır (Ref. 6-8,18,35-37).

Yine blighted ovum tanılı gebeliklerde koryonik dokulardan alınan örneklerin sitogenetik yönden araştırılmasında sıklıkla trizomiler saptanmıştır. Trizomiler içinde ise en çok 16, 18 ve 21 numaralı kromozomların trizomileriyle karşılaşılır (Ref. 38).

GEREC VE YÖNTEM

Materyeli 1.2.1992 - 1.9.1992 arasında SSK Ankara Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastahanesi'ne başvuranlardan riskli gebelik tanısı alanlar oluşturmuştur. Polikliniğe başvuran ve ultrasonografi ile "missed abortus" ve "blind ovum" tanısı konmuş olan 35 tanesi herhangi seçim yapılmaksızın araştırmaya dahil edilmişlerdir. Hepsinin izni alınmıştır. Elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirmelerinde "Fisher - Exact testi" uygulanmıştır. Bunlara ilişkin ayrıntılar ilerde verilmektedir.

Gerek "missed" gerekse "blind ovum" nedeniyle gebeliğin sonlandırılması kararı verilen hastalarda tahliyeden önce jinekologlar tarafından Toshiba ultrason cihazı ve PVF-357 MT, 3,75 MHz lineer transabdominal prob rehberliğinde koryonik villus dokusundan biyopsi işlemi uygulanmıştır. Biyopsi öncesinde hastanın pelvis bölgesi ultrasonografik olarak değerlendirilmiş, ayrıca gerekli öteki önlemler alınmıştır.

Biyopsi plasentanın uterus fundus ön duvarında lokalize olduğu saptananlarda transabdominal yolla, arka duvar yerleşimli olgularda ise transservikal yolla gerçekleştirilmiştir. Buna göre 35 vak'alık serimizde 17 (% 48) transvajinal, 18 (% 52) de transabdominal uygulama vardır. Biyopsi öncesi kadar yapılırken de hiçbir hastaya

sedatif veya lokal anestezi uygulanmamıştır. Bulgularda belirtileceği üzere herhangi komplikasyonla karşılaşılmamış sadece 3 vak'ada (% 9) yeterli materyal sağlanamamıştır.

Biyopsi yapılan tüm hastalarda aynı tip "Aiguille Du Dr. Blache DIA: 1,3 GM" transabdominal ve "DIA: 2,1 GM" transvajinal kateterler kullanılmıştır.

Transservikal uygulamada ultrasonografik olarak servikal kanal ve gebelik kesesi görüntüledikten sonra mandrenli katater koryon frondosuma kadar ilerletilmiştir. İçine daha önceden 1-2 ml steril dengeli tuz eriyiği (Hank) çekilen 20 ml lik enjektör kateterin ucuna takılarak önce Hank eriyiği içeri verilip sonra 10 ml'lik sabit negatif basınç uygulanarak aspirasyon gerçekleştirilmiştir.

Transabdominal yöntemde ultrason aracılığıyla gebelik kesesi görüntüledikten sonra lokal deri temizliğini takiben mandrenli rijit katater ultrason probunun yanından itilerek uterus ön ya da yan duvarında lokalize plasentanın koryon frondosum tabakasına ulaştırılır. Yine yukardaki gibi 10 ml'lik sabit negatif basınç uygulanarak aspirasyon işlemi tamamlanır.

Alınan doku miktarının minimal 10 mg kadar olmasına çalışılmıştır. Zira yeterli metafaz plağı elde etmek ve

emniyetli bir sitogenetik analiz yapabilmek için ister direkt metod ister kültür yöntemi olsun gerekli minimal doku miktarı 5-10 mg kadardır (Ref. 39). Bu miktar mümkün olduğunca az girişim ile yani kateterin plasentaya tek yada iki kez girilmesi ile alındı. Üç ve daha fazla girişimden maternal enfeksiyon ve kanama riskini arttırabileceği için kaçınılmıştır. Hiçbir vak'ada beş ve daha fazla girişim uygulanmamıştır (Ref. 40).

Hangi yolla alınıralsa alınsın doku örnekleri, içlerinde 5 ml kadar Hank'ın steril transport solüsyonu bulunan kapaklı plastik tüplere aktarılarak 1-2 saat içinde sitogenetik laboratuvarına ulaştırılmıştır. Koryon villus doku örnekleri ilk olarak invert mikroskopla ince uçlu pensler ve pastör pipetleri kullanılarak maternal dokulardan ayıklanmış ve sadece fetal villöz dokular bırakılmıştır. Ayrılan bu fetal koryon villusları Hank solusyonu ile 2 kez yıkanıp serumsuz RPMI 1640 solusyonuna aktarılmıştır. Bu aşamadan sonra doku örneklerine direkt yöntem uygulanmıştır. Ancak 20-30 mg kadar doku alınabilen bazı hastalarda direkt metoda simültane 48 saatlik kısa süreli kültürler yapılarak sonuçları karşılaştırılmıştır.

Biyopsi ile alınan koryonik doku örneklerinin sitogenetik analizi için şu aşamalar uygulanmıştır (Ref. 14,16,41).

DİREKT METOD

- En az 10 mg koryon villus doku örnekleri 5 ml lik Hank solusyonu içine konur.
- Petri kutusunda yıkama ve doku ayrımı yapılır. (inverted mikroskop ile en az 5 ml lık Hank solusyonu içinde bulunan maternal ve fetal dokular, ince uçlu pensler ve pastör pipetiyle birbirinden ayrılırlar).
- Ayrılan dokular 3 ml serumsuz RPMI 1640 solusyonuna aktarılır ve final konsantrasyonu 0.04 mikrogram /ml olacak şekilde kolsemid eklenir sonra 2 saat süre ile 37 C derece etüvde bekletilir.
- Besi ortamı pastör pipetiyle atılır.
- 3 ml hipotonik (0.075 M KCl) eklenir, ve 20 dakika 37 derecelik etüvde bekletilir.
- Hipotonik solüsyon atılır. Sonra 3 ml fiksatif eklenir ve 10 dk beklenir. (Fiksatif, 3 kısım etanol ve 1 kısım asetik asit karıştırılarak elde edilir).
- İki kez daha fiksatif tekrarlanır.
- Fiksatif atılır, 5 dk villusların hafif kuruması beklenir.
- % 60 lık asetik asit solüsyonundan (yeni hazırlanmış olmasına dikkat edilmeli) 0.5 ml eklenir ve en az 15 dakika hücrelerin ayrılması (petri kutusuna hafif hafif vurularak) beklenir. Bu aşamanın amacı sinsityotrofoblast hücrelerinin dökülerek sitotrofoblastların açığa çıkmasını sağlamaktır.
- 0.5 ml % 60 lık fiksatif hiç çekilmeden villuslar 40 derecelik hot plate de kurumuş lamlara ucu kıvrık pastör pipetiyle yayılır.

Kısa süreli kültür yönteminde yukardaki direkt metoddan farklı olarak dokular 3 ml'lik serumsuz RPMI 1640 aşamasında 48 saat süre ile 37 C derecedeki % 2 karbondioksit'li etüvde bekletilir (Ref. 42,43).

- Her vak'a için iki ayrı lam üzerine yayma yapılmıştır. Preparatlardan birer tanesi ilk olarak % 4'lük Giemsa erigiyle 15 dakika süre standart yönteme uygun biçimde boyanmıştır. Preparatlar ışık mikroskopunda değerlendirilmiş ve iyi açılmış, kromozomları kolay seçilir metafaz plakları bulunan preparatlara giemsa-tripsin bandlama (G band) tekniği uygulanmıştır (Şekil 10).

Giemsa - Tripsin Bandlama

1. Önce A ve B solüsyonları hazırlanır.

A Solüsyonu (GKN)

- 2 gr glikoz (ya da 2.199 gr "glikoz-H₂O")
 - 0.8 gr KCL
 - 16 gr NaCl
 - 0.7 gr NaHCO₃
- 200 ml distile suda eritilir.

B Solüsyonu (Versen)

- 1.6 gr NaCl
- 0.04 gr KH₂PO₄
- 0.4 gr KCl
- 0.310 gr Na₂HPO₄ 2 H₂O (yada 0.627 gr Na₂HPO₄ 12 H₂O)
- 0.04 gr EDTA

200 ml distile suda eritilir.

2. Her iki solüsyonun (GKN ve Versen) pH'ları 7.6 - 7.8 arasında olacak şekilde pH metre ile ayarlanır.
3. 25 mg tripsin tartılarak 10 ml A solüsyonu içinde eritilir.
4. A solüsyonundan 10 ml ile 90 ml distile su karıştırılır.
5. Hazırlanan bu karışımın 40 ml'si hazırlanmış tripsinli solüsyon içine konur, kalan 60 ml'si ikinci bir şaleye konur.
6. B solüsyonundan 50 ml alınarak tripsin + A solüsyonu olan şaleye eklenir.
7. Preparatlar 60 C derecede 2 saat süreyle bayatlatılır.
8. Bayatlatılan preparatlar tripsinli solüsyonda daha önceden saptanan en uygun süre kadar bekletilir.
9. Preparatlar daha sonra içinde yalnızca A solüsyonu bulunan ikinci şalede yıkanır.
10. % 4'lük giemsa ile 8 dakika boyanır.

SEKİL 10 - G-Band (Giemsa-Tripsin) yöntemi uygulanmış bir metafaz plagi ve aynı metafaz plagina ait karyotip.



Çalışmaya dahil ettiğimiz tüm hastaların dağılımlı, yaşları, obstetrik anamnezi, biyopsi şekli, gebelik haftaları ve klinik teşhisleri TABLO-1'de verilmiştir. Gebelik haftaları son adet tarihlerine göre hesaplanmış olup, ultrasound ile kontrol edilmiştir.



TABLO 1 - ARASTIRMA GRUBUNU OLUSTURAN 35 GEBELİK

VAK'ASININ AYRINTILARI

(Kisaltmalar tablonun altındadır)

SIRA NO	ADI SOYADI	YAŞI	OBSTETRİK ÖYKÜ			EA	TANI BO/MA	GEBELİK HAFTASI		BİYOP YÖNT TA/TV	GİR SAY	SİTO-GENETİK SONUC
			G	P	A			SAT	US			
1	S.G.	27	4	3	-	+	BO	7	7	TV	3	46,XX
2	F.Y.	23	1	-	-	-	MA	10	8	TV	4	46,XY
3	N.P.	19	2	-	1	-	BO	11	10	TA	2	B.S.Ç.
4	N.Ç.	20	2	-	1	-	BO	10	10	TA	2	46,XX
5	D.i.	23	3	-	2	-	BO	7	7	TV	3	46,XX
6	E.S.	30	3	2	-	-	MA	14	12	TA	3	B.S.Ç.
7	H.A.	28	4	2	1	-	MA	13	11	TA	2	46,XY
8	S.Y.	24	2	1	-	-	MA	10	7	TV	3	92,XXXX
9	T.G.	19	1	-	-	-	MA	7	7	TV	4	B.S.Ç.
10	S.D.	23	2	-	1	-	MA	8	7	TV	1	Y.M.
11	R.B.	32	3	1	1	+	MA	10	8	TV	3	Y.M.
12	B.A.	35	3	1	1	+	MA	7	7	TV	4	B.G.
13	D.A.	37	6	4	1	-	MA	11	10	TA	2	46,XX
14	A.Y.	22	2	-	1	-	MA	7	7	TV	4	B.G.
15	M.B.	37	7	5	1	-	BO	11	11	TA	4	B.G.

G : Gravida
P : Parite
A : Abortus
BO : Blind Ovum
MA : Missed Abortus
SAT : Son Adet Tarihi
US : Ultrason
EA : Eş Akrabalığı

TA : Transabdominal
TV : Transvajinal
B.S.Ç. : Başarısız Sitogenetik Çalışma
Y.M. : Yetersiz Materyel
B.G. : Başarısız Girişim
M.K.D. : Mültipl Kromozomal Düzensizlik

TABLO 1'İN DEVAMI

16	A.A.	30	2	-	1	-	MA	10	10	TV	3	46,XX
17	S.B.	36	7	3	3	-	MA	12	12	TA	2	92,XXXX
18	Z.U.	31	4	2	1	-	MA	9	9	TV	2	46,XY
19	H.V.	20	2	1	-	-	MA	14	11	TA	1	46,XY
20	S.G.	27	5	4	-	-	MA	10	10	TV	4	Y.M.
21	S.E.	21	1	-	-	-	BO	12	12	TA	3	M.K.D.
22	Y.T.	33	1	-	-	-	MA	16	14	TA	2	69,XXX
23	D.D.	35	6	5	-	+	MA	10	10	TV	2	Y.M.
24	Z.D.	31	5	3	1	-	MA	15	14	TA	3	46,XY
25	E.T.	37	2	-	1	-	MA	10	10	TA	1	46,XY
26	G.M.	28	4	2	1	-	MA	8	7	TV	1	B.S.C.
27	E.A.	35	5	4	-	+	MA	11	11	TA	2	M.K.D.
28	T.Z.	27	2	1	-	-	BO	10	10	TA	2	46,XX
29	H.E.	28	4	2	1	-	MA	11	11	TA	4	46,XY
30	G.T.	30	3	-	2	-	MA	9	9	TV	4	Y.M.
31	D.K.	25	3	-	2	-	BO	8	7	TV	3	92,XXYY
32	T.D.	21	1	-	-	-	MA	13	11	TA	2	B.S.C.
33	S.G.	25	2	-	1	-	MA	14	13	TA	1	46,XY
34	M.L.	35	4	1	2	+	MA	13	12	TA	2	69,XXX
35	D.T.	27	2	1	-	-	MA	8	7	TV	4	B.S.C.

BULGULAR

Tablo 1'in incelenmesiyle anlaşılacağı gibi çalışmaya toplam 35 gebe dahil edilmiştir. Bunlardan sitogenetik analiz yapmaya uygun metafaz plakları elde edilebilen 21 olgu (% 60) değerlendirilmeye alınmıştır.

Preparatlarında yeterli sayıda metafaz plağı bulunan vak'alarından yirmişer adet metafaz plağı sayılarak değerlendirilme gerçekleştirilmiştir. Daha az sayıda metafaz plağı bulunan preparatlarda mevcut tüm plaklar değerlendirilmeye alınmış ve kromozomal dağılımın iyi olduğu metafaz plaklarından beşer karyotip yapılmıştır. Bir preparatta 3 veya daha az sayıda metafaz plağı bulunan ya da metafaz plağı kalitesi düşük olan preparatlar dikkate alınmamışlardır. Sadece kromozomların iyice seçilebildiği plaklardan karyotipleme yapılmıştır.

Her biyopsi örneği önce inverted mikroskopla incelenmiş ve villus dokusu kesinlikle idantifiye edilmiştir. Koryon villus doku örneklerine direkt analiz yöntemi uygulanması ve kültür yapılması sebebiyle elde edilen metafaz plaklarının fetusa ait oldukları ve kültüre bağlı artefaktların gelişmediği düşünülmüştür (Ref. 19,20,62-65).

Vakalarımızdan 27 tanesi (% 77) missed abortus, 8 tanesi de (% 23) blind ovum tanısı almışlardır. Sekizi başarısız

biyopsi işlemi, altısı sitogenetik laboratuvar çalışmaları başarısızlığı nedeniyle toplam 14 vak'a araştırmadan çıkarılmıştır. Geriye kalan 21 vak'alık gruptan 15'i (% 71) missed abortus, 6'sı (% 29) blind ovum, başarısızların 12'si (% 86) missed abortus, 2'si (% 14) ise blind ovum örnekleri olmuştur (Tablo 2).

TABLO 2 - KORYON VİLLUS ÖRNEKLEMESİ YAPILAN 35 GEBELİKTE SİTOGENETİK AYRINTILAR

	TOPLAM VAK'A SAYISI		BAŞARILI VAK'A SAYISI		NORMAL SİTO GENETİK SONUÇ		PAT. SİTO GENETİK SONUÇ		BAŞARISIZ VAK'A SAYISI			
		%		%		%		%	BIYOPSi YAPMA AŞAMASI	%	SİTOGEN ÇALIŞMA AŞAMASI	%
MISSED ABORTUS	27	77	15	71	10	48	5	23	7	50	5	36
BLIND OVUM	8	23	6	29	4	19	2	10	1	7	1	7

Sitogenetik ayrıntılara girmeden önce vak'alara ilişkin öteki bilgiler sunulacaktır. Araştırmaya dahil gebelerin yaş dağılımı 19 ile 37 arasında değişirken 35 yaş ve üzerindeki sayıları 8, dolayısıyla nispi oranları % 23 olmuştur. Bu sonuçların üçünde (% 37) patolojik sitogenetik sonuç saptanmıştır (Tablo 1). Bu oranın (% 37) diğer yaş gruplarındaki vak'alara ait oranlardan (% 15) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemesi

35 yaş ve üzerindeki ileri yaş gebeliklerinin, missed abortus ve blind ovum yönünden ek bir risk oluşturmadığını düşündürse de örneklerin azlığı önemli bir değişken olarak gözden uzak tutulamaz (P değeri 0,05 den büyük).

Vakalarımız arasından önceki gebeliklerine ilişkin 2 ve daha fazla abortus öyküsü bulunan 5 gebenin KVÖ ile sitogenetik analizlerinde bir örnekte triploidi (69,XXX) ve öteki ikisinde de tetraploidi (92,XXXX ve 92,XXYY) saptanmıştır (Şekil 11).

SEKİL 11 - Tetraploidi (92,XXYY) vak'asına ait bir metafaz plagi, Giemsa - Tripsin, x immersiyon.



Bu vak'alarda sözkonusu düzensizliklerin de novo geliştikleri sonucuna varılmıştır. Triploidi ve tetraploidi örneklerinde mozaikizm düşündürecek gözlemlerde bulunulmamıştır.

Altı vak'ada (% 17) eş akrabalığı bildirilmiş bunlardan birinde triploidi (69,XXX) diğerinde multipl kromozomal düzensizlik olmak üzere iki tanesinde (% 33) KVÖ ile yapılan sitogenetik analizde kromozomal düzensizlik saptanmıştır. Bu oranın tüm vak'lara göre kromozomal düzensizlik oranından (% 17) istatistiksel açıdan farklılık taşımaması sebebiyle eş akrabalığının missed abortus ve blind ovum patogenezi üzerine anlamlı bir etki yaratmadığı sonucuna varılmıştır (P değeri 0.05 den büyük), (Tablo 1).

Tüm vak'alarımıza ait sitogenetik analiz sonuçları değerlendirildiğinde, yeter sayıda ve sayılıp analiz edilebilir metafaz plakları bulunan yani başarılı olan 21 vak'adan 10'u (% 48) missed abortus, 4'ü (% 19) blind ovum örneği olmak üzere toplam 14 vak'ada normal kromozom kuruluşu (6 tane 46,XX ve 8 tane 46,XY) ortaya çıkarılmıştır. Geriye kalan 5 tanesi (% 23) missed abortus ve 2 tanesi (% 10) blind ovum olmak üzere toplam 7 adet vak'ada çeşitli kromozom düzensizlikleri gözlenmiştir (Tablo 3).

TABLO 3 - MISSED ABORTUS VE BLIND OVUM ÖRNEKLERİNDE
KROMOZOM ANALİZ SONUÇLARI

	TOPLAM	NORMAL SİTOGEN SONUÇ 46XX/XY	%	TRİPLOİD VAK'ASI	%	TETRAPLOİDİ VAK'ASI	%	MÜLTİPL KROMOZOMAL DÜZENLİLİK	%
MISSED ABORTUS	15	10	48	2	9	2	9	1	5
BLIND OVUM	6	4	19	-	-	1	5	1	5

Triploidi ve tetraploidi olguları yanısıra tam olarak sınıflandırılmayan çeşitli kromozomları tutan şekil bozuklukları saptanmıştır. "Müktipl kromozomal düzensizlikler" olarak değerdendirdiğimiz bu grup içinde stabil olmayan sayısal bozuklukların yanı sıra, kırık ve delesyonlar başta olmak üzere yapısal birtakım kromozom bozuklukları bulunmuştur. Ultrason incelemesi ile missed abortus tanısı almış gebelerde 2 triploidi (69,XXX), 2 tetraploidi (92,XXXX ve 92,XXXX) ve 1 adet müktipl kromozom düzensizliği vakası ortaya konurken blind ovum tanılı gebeliklerde 1 tetraploidi (92,XXXX) ve 1 adet müktipl kromozom düzensizliği vakası gözlenmiştir (Tablo 3).

Metod bölümünde söylendiği üzere triploidi ve tetraploidi sabit görülmüş, triploidilerin ikisi de 69,XXX, tetraploidilerin biri 92,XXYY diğerleri 92,XXXX olmuştur. Triploidi ve tetraploidi yönünden dişi fetusların daha fazla tutulduğu izlenimi alınmakla beraber materyelin azlığı genelleme olanağı vermemektedir.

Yeterli materyel alabilmek için bazen birden fazla girişimde bulunmak zorunluluğu doğmaktadır. Girişim sayısı gebelik haftasından ya da seçilen biyopsi yönteminden direk olarak etkilenmektedir. Elbet uygulamada deneyimin payı kaçınılmazdır. Koryon biyopsisi yaptığımız hiç bir vak'aya 4'den fazla girişimde bulunulmamıştır. Vakaları "1 ya da 2 kez girişim yapılanlar" ve "3 ya da 4 kez girişim yapılanlar" olmak üzere 2 grup halinde sunmaktayız.

Gebelik yaşının 8 haftadan daha az olduğu örneklerde 3-4 kez girişim yapılarak yeterli materyel elde edilen vaka sayısı 8 (% 23) iken 1-2 kez girişim uygulanan vaka sayısı daha düşük (2 gebe, % 6) olmuştur.

Gebelik yaşı 8-10 hafta olan örneklerde 1-2 kez girişim ile yeterli biyopsi materyeli alınabilen vakaların sayısı 7 (% 20), 3-4 kez girişim gerektiren vakaların sayısı ise 5 (% 14) olmuştur.

Gebelik yaşı 10 haftanın üzerinde olan gebelerde 1-2 kez girişim ile materyel alınabilen vakaların sayısı 8 (% 23), 3-4 kez girişim gerektiren vakaların sayısı 5 (% 14) olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

TABLO 4 - GEBELİK HAFTALARINA GÖRE
GİRİŞİM SAYISI DAĞILIMLARI

GİRİŞİM SAYISI	GEBELİK HAFTASI					
	8 HAFTADAN AZ	%	8-10 HAFTA	%	10 HAFTADAN ÇOK	%
1-2	2	6	7	20	8	23
3-4	8	23	5	14	5	14

Tüm gebeler göz önüne alındığı takdirde 1-2 kez girişim ile biyopsi yapılabilen toplam vaka sayısı 17 (% 48), 3-4 kez girişim uygulanarak biyopsi materyeli alınabilen gebe sayısı 15 (% 43) olarak saptanmıştır. Dört kez denemeye rağmen materyel sağlanamayan toplam 3 gebe (% 9) olmuş, fakat bunların hiç birinde 5. girişime kalkışılmamıştır (Tablo 5).

TABLO 5 - GİRİŞİM SAYILARINA GÖRE MATERYAL
ALINABİLEN VAK'ALAR

VAK'ALAR	GİRİŞİM SAYISI			
	1-2	%	3-4	%
MATERYAL ALINABİLEN	17	48	15	43
MATERYAL ALINAMAYAN	-	-	3	9

Girişim sayısının arttırılması sitogenetik analiz için yeterli miktarda materyel sağlayabilmeyi amaçlamaktadır ve sitogenetik analizi etkilememektedir. Ancak annede enfeksiyon ve kanama riskini arttırabilmesi gözardı edilemez. Bu nedenle işlemin yapılacağı gebelik haftası ve uygulanacak biyopsi yöntemi iyi seçilerek fazla sayıda girişimden kaçınılmalıdır.

Seçilen yöntem gözönüne alındığında, transabdominal yolla biyopsi uygulanan toplam 18 gebeden 13'ünde (% 72) 1-2 kez girişim uygulanması ile yeterli materyel elde edilmesine karşın, transvajinal yolla biyopsi uygulanan vakaların 4'ünde (% 23) 1-2 kez girişim uygulanmış, 13'ünde (% 77) ise 3-4 kez işlemin uygulanmasına gerek duyulmuştur. Bu fark uterus ön duvar yerleşimli plasentalarda transabdominal yoldan kateterin doğrudan koryon frondosuma ulaştırılması

kolaylığından kaynaklanmış olabilir. ikisine transvajinal birine de transabdominal yöntemin uygulandığı toplam 3 vakada herbirine 4'er kez girişim denenmesine rağmen hiç materyal elde edilememiştir (Tablo 6).

TABLO 6 - BİYOPSİ YÖNTEMİ VE GİRİŞİM SAYISINA GÖRE
BİYOPSİ İŞLEMİ BAŞARI ORANLARI

GİRİŞİM SAYISI	TRANSABDOMİNAL YOLLA BİYOPSİ				TRANSVAJİNAL YOLLA BİYOPSİ			
	BAŞARILI GİRİŞİM	%	BAŞARISIZ GİRİŞİM	%	BAŞARILI GİRİŞİM	%	BAŞARISIZ GİRİŞİM	%
1-2	13	72	-	-	4	23	-	-
3-4	4	22	1	6	11	65	2	12

TARTIŞMA

Prenatal tanı yöntemleri son yıllarda oldukça büyük ilerlemeler kaydetmiş ve günümüzde popüler bir nitelik kazanmıştır. Önceleri ultrasonografi yoluyla sadece intrauterin bazı yapısal bozukluklar teşhis edilebilirken, günümüzde koryon villus örneklemesi ile kromozomal düzensizlikler ve bazı doğumsal metabolizma kusurları yanı sıra DNA analizi yapılarak, hemoglobinopatiler, kistik fibrozis, müsküler distrofiler, hemofili ve öteki bazı X-linked mutasyonların prenatal tanıları mümkün olmaktadır (Ref. 16).

Koryon villus biyopsi işlemi aslında bir cerrahi müdahaledir ve ister amniosentez ister kordosentez olsun gebe ve fetus açısından yaratabileceği komplikasyonlar gözardı edilemez. Bununla beraber böyle bir girişim hem amaçları hem sonuçları yönünden klasik bir cerrahi girişimden farklıdır.

Gebeliğin devam ettirilmesi ya da sonlandırılmasını belirleyecek KVÖ işlemi gerek biyopsiyi yapan kadın hastalıkları ve doğum uzmanına gerekse laboratuvarında bu dokuyu değerlendirip kısa sürede teşhis koyacak olan genetikçiye büyük sorumluluklar yüklemektedir. Bu sorumluluğu üstlenecek hekimlerin deneyim kazanmaları ilk planda istenmeyen veya tıbbi sebeplerle tahliyesi gereken gebeliklerde koryon villus biyopsisi yaparak fetus ve

alınacak fetal materyali tanıyabilmelerinin sağlanmasıyla mümkün olabilmektedir. Prenatal tanı uygulamasına başlayan birçok merkezde izlenen yol budur (Ref. 44).

Bu araştırmada da aynı yol tutulmuş, rızaları alınarak çalışmaya dahil ettiğimiz 8 blind ovum ve 27 missed abortus tanılı 35 hastadan terapötik abortus gerçekleştirilmeden önce koryon villus doku örnekleri alınmıştır. O nedenle çalışma blind ovum ve missed abortus vakalarının toplumumuza ait ilk sitogenetik ayrıntılarını vermekte, böylece etiyolojik nitelik kazanmaktadır.

Koryon villus biyopsi uygulamasının ilk yıllarında biyopsi materyelinin alınmasındaki başarı oranları % 89-96 arasında bildirilmekteyken (Ref. 45,46) günümüzde bu oran değişik merkezlerde % 90-99 olarak gösterilmektedir (Ref. 47-49).

Kendi olgularımız gözönüne alınacak olursa biyopsi başarı oranı % 77 olarak saptanmıştır. Bu oranı gebelik haftası, girişim sayısı ve seçilen biyopsi yöntemi yakından etkilemektedir. Gebeliği 8 haftadan az olan olgularımızda doku örnekleme sırasında 3-4 girişim gerektiren gebe sayısı 8 (% 23) iken aynı gebelik haftasında 1-2 girişimle doku örnekleme yapılabilen gebe sayısı 2 (% 6) olarak saptanmıştır. Bu oran 1-2 girişim ile doku örneği alınabilen 8-10 haftalık gebeliklerde 7'ye (% 20) ve 10 haftadan daha büyük gebeliklerde ise 8'e (% 23) yükselmiştir. Buna karşın

3-4 kez girişim yapmayı gerektiren vaka sayısı giderek azalma göstermiş, hem 8-10 haftalık gebeliklerde hem 10 haftadan daha büyük gebeliklerde 5'e (% 14) düşmüştür (Tablo 4). Verilen oranlardan anlaşılacağı üzere gebelik haftasının artması biyopsi işleminin başarısını olumlu yönde etkilemiş olup, yöntemde temel değişken fetal koryonun yeterli olgunluğa erişmesidir (P değeri 0.05 den küçük).

Koryonik biyopsi işleminin başarısını etkileyen bir diğer faktör seçilen biyopsi yöntemidir. Burada sunulan çalışmada transabdominal yolun başarısı transvajinal yönetime göre yüksek bulunmuştur. Transabdominal ve transvajinal yöntemlere ilişkin başarı oranlarının karşılaştırıldığı, avantaj ve dezavantajlarının değerlendirildiği çeşitli yayınlar vardır. Bunlar arasında transabdominal tekniğin başarısının daha yüksek olduğunu bildirenler çoğunluktadırlar (Ref. 47-49).

Biyopsi yönteminin seçilmesinde plasentanın lokalizasyonu, gebelik haftası ve işlemin yapılacağı kliniğin olanakları göz önünde tutulmalıdır. Transabdominal yol beraberinde amniyosentez avantajını da getirdiği için aynı anda amniyosentez yapılması planlanan gebeliklerde transabdominal yolun seçilmesi daha uygun olur. Plasental yerleşimin uterus arka duvarında saptandığı gebeler ile gebelik yaşı 10 haftadan düşük olanlarda transvajinal yolla, plasentanın uterus ön duvarında yerleştiği olgularda ise transabdominal

yolla doku örneği alınması önerilmektedir (Ref. 22,45). Gebeliğin 12. haftasından önce transabdominal yolla gerçekleştirilecek koryonik villus biyopsisinin, işleme bağlı fetal kayıp oranını arttırdığı rapor edilmektedir (Ref. 21). Transabdominal yolla koryon villus biyopsi işlemine bağlı fetal kayıp oranı ortalama % 4.2 olarak öngörülmektedir. Bu oran plasentanın posterior yerleşimli olduğu vakalarda % 8, anterior yerleşimli olanlarda ise % 1.6 olarak bildirilmektedir (Ref. 21). Görüldüğü üzere arada anlamlı bir fark vardır. Dolayısıyla gerek operasyon sırasında gerekse daha sonraki laboratuvar aşamasında çok titiz davranılmalıdır. Aynı şekilde biyopsi işlemine bağlı vajinal kanamanın transvajinal biyopsi işleminden sonra transabdominal yola oranla daha sık olduğu belirtilmektedir (Ref. 28,52).

Koryon villus biyopsi işlemi takiben meydana gelen fetal kayıp oranları çeşitli merkezlerce % 1,9 - 7,6 olmak üzere oldukça farklı oranlarda bildirilmektedir (Ref. 47,49-57).

Bizim çalışmamızda biyopsi işleminden sonra gebelik tahliye edildiğinden vajinal kanama, hematoma ve fetal kayıp gibi komplikasyonlar değerlendirilmemiştir. Ancak maternal enfeksiyon yönünden tüm gebe grubu biyopsi sonrasında 3 gün süreyle izlenmiş ve hiçbirinde enfeksiyon gelişmemiştir. Çeşitli merkezlerin çalışmalarında KVÖ işleminden sonra % 0,2 - 0,3 oranlarında enfeksiyon saptandığı gözönünde

tutulursa (Ref. 26,27,51) olgularımızda enfeksiyonun gelişmemesi, vaka sayısının daha az olmasına ve biyopsi işlemini takiben gebeliğin hemen tahliye edilmesine bağlı olabilir.

Tüm prenatal tanı yöntemlerinin amacı aileye sağlıklı bebek kazandırmaktır. Bu amaçla günümüzde en çok kullanılan en pratik ve invaziv olmayan metod, ultrasonografi ile gebeliğin belli aralıklarla takibidir. Bu yolla gebeliğin takibi tüm örneklerde rutin olarak gerçekleştirilmelidir. Elbet her fetal düzensizliğin prenatal tanısı beklenmemelidir. Yine de çeşitli organları tutan defektler rutin ultrasonografik tetkikler sırasında saptanabilmektedir. Bu anomalilerin bir kısmı bazı kromozomal anomalilerle beraberdir (Ref. 58).

Holzgreve ve Miny'nin 1989 yılında bildirdikleri fetal anomaliler ve herbirine ait sitogenetik düzensizlikler örnek olarak gösterilmektedir (Tablo 7).

TABLO 7 : Fetal Malformasyon ve Gebelik Anomalilerinde Kromozomal Düzensizliklerin Oranı.

Fetal anomali	Sitogenetik abnormalite (%)
iUGR ve oligohidroamnios	20
Polihidroamnios	25
Non immün hidrops fetalis	30
Kistik higroma	60
Unilateral plevral effüzyon	30
Koroid pleksus kisti	70
izole hidrosefali	25
Nukhal ödem	40
Omfalosele	45
Duodenal atrezi	30
Kardiyak yapısal defekt	30
Obstrüktif üropati	25

izleneceği üzere kromozom aberasyonu oranı % 20-70 arasında değişmektedir. Ki büyük etiyolojik anlamı kuşkusuz kolayca takdir edilecektir.

Bu tür düzensizlikler ultrasonografi ile gebeliğin ancak 2 ya da 3. trimesterlerinde saptanabilmektedir. Bu durum gebeliğin ileri dönemlerinde uygulanabilir olmaları nedeniyle kordosentez ve 2-3 üncü trimester plasenta biyopsisini gündeme getirmektedir.

Kordosentezin uygulama zorluğu bulunmasına rağmen sitogenetik tanıyı, amniyosentez ve uzun süreli kültür yöntemi uygulanan koryon villus örneklemesine oranla daha kısa sürede verebilmesi avantajı vardır (Ref. 58). Buna karşın kordosentezin uygulama gücü sebebiyle 2-3. trimestrelerde sitogenetik analiz gerektiren olgularda plasenta biyopsisi oldukça sık tercih edilmektedir (Ref. 51,59-61).

Bazı yazarlar tarafından "plasenta biyopsisi" yerine "geç koryon villus biyopsisi" deyimini kullanılmaktadır (Ref. 51,61).

Amniyosentez ve koryon villus örneklemesi ile prenatal tanı ülkemizde bazı merkezlerde endikasyon bulunan vak'alara rutin olarak yapılmakta, kordosentez de ötekiler yanısıra Şaylı ve ark. tarafından uygulanmaktadır (Ref. 62-64).

Koryon villus biyopsisi ile prenatal kromozomal tanıda önemli problemlerden biri maternal doku kontaminasyonudur. Villus dokularından elde edilen metafaz plaklarında XX cinsiyet kuruluşu saptanan hemen her olguda maternal kontaminasyon

dediğimiz anneye ait villus dokularının analiz ettiğimiz fetal dokular arasına karışmış olma riski vardır. inverted mikroskop altında feto-maternal doku ayrımının iyi yapılması bu olasılığı büyük ölçüde azaltmakta fakat ortadan kaldıramamaktadır (Ref. 19,65).

Direkt metod ile çalışıldığı zaman maternal kontaminasyon riski minimale inmektedir (Ref. 19,20). Bunun sebebi direkt metod ile sadece spontan mitoz gösteren fetal dokulara ait hücrelerdeki metafaz plaklarının elde edilebilmesidir. Buna karşın koryonik doku kültürü yapıldığında hem fetal hem de maternal dokularda mitoz aktive edilmiş olur; bu da maternal dokuların tamamen ayıklanmadığı doku kültürlerinde anneye ait metafaz plaklarının yerelmasına yol açar (Ref. 19,65-68).

Biz her vak'ada direkt metod ile çalıştığımız, sonuçları kısa süreli kültür ile kontrol ettiğimiz ve her iki metoda ilişkin sonuçlar arasında uyumsuzluk saptamadığımız için maternal kontaminasyon bulunmadığı ve elde edilen sonuçların fetal dokuları yansıttığı kanaatindeyiz.

Missed abortus ve blind ovum vak'alarında fetal dokular gibi koryonik dokularda da hücre sağkalımı büyük ölçüde yitirilmiştir. O nedenle bu dokulara ait metafaz plagi elde edebilme şansı, fetal canlılığın devam ettiği gebeliklerden yapılan çalışmalardan daha azdır (Ref. 18).

Missed abortus ve blind ovum gibi fetal canlılığın olmadığı gebeliklerden alınan koryonik villus örneklerinden uzun süreli kültürle metafaz plağı elde edebilme şansı % 60 (Ref. 69), direkt kültür metodunun kullanıldığı başka bir çalışmada ise % 92.3 olarak bildirilmiştir (Ref. 18).

Tüm vak'alar göz önünde tutulduğunda kendi çalışmamız için bu oran % 60 olmuştur. Bu düşük oranın sebepleri arasında herhalde teknik yetersizlikler başta gelmektedir.

Blighted ovum ve missed abortus vak'aları üzerinde bu güne kadar yapılan çalışmalarda çeşitli kromozomal düzensizlikler tarif edilmiştir. Her iki olgu için de en sık saptanan düzensizlikler otozomal trizomilerdir (Ref. 4,38).

Vekemans ve grubunun blighted ovum tanılı 80 vak'a üzerinde yaptığı bir çalışmada 18, 13 ve 16 numaralı otozomal kromozomlar daha fazla olmak üzere otozomal trizomiler ve X monozomisi gözlenmiştir (Ref. 16).

Missed abortus vakalarının etiyojisi üzerinde yapılan araştırmalarda en sık rastlanan kromozomal düzensizlikler otozomal trizomiler ve X monozomisi yanısıra triploidiler olmuştur. Boue, Carr, Creasyn, Hassold ve Kajii' ye ait toplam 2085 missed abortus, erken ve geç spontan abortus örneğinden gelen düşük materyelinde % 50-60 oranında kromozomal düzensizlik bildirilmiştir.

Bunlar içinde ;

% 52 otozomal trizomi

% 20 X monozomisi

% 16 triploidi

% 6 tetraploidi

% 4 strüktürel düzensizlik vardır (Ref. 4).

Otozomal trizomilerden E grubu (16-18'nci çiftler) % 33.6 ile en sık, G grubu (21-22'nci çiftler) % 21.6 ve D grubu (13-15'nci çiftler) % 20.6 ile ikinci ve üçüncü sırayı almışlardır. Daha sonraki yıllarda başka araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar da Boue ve grubunun sonuçlarını destekler niteliktedir (Ref. 6-8).

Bizim çalışmamızda hem blighted ovum hem missed abortus vakaları birlikte ele alındığında kromozomal düzensizlik bulunan olguların sitogenetik sonuç elde edilebilen vakalara oranı % 33 çıkmıştır. Bunların içinde triploidiler (% 10) ve tetraploidiler (% 14) oranlarında saptanmıştır (Tablo 3, 8).

TABLO 8 - Kendi sitogenetik sonuçlarımız ile Boue ve grubunun sonuçlarının karşılaştırması.

	Kendi vak'a sonuçlarımız (%)	Boue ve ark. Sonuçları (%)
Sayısal Düzensizlikler:		
Monozomi X	0	20
Otozomal Monozomi	0	Nadir
Otozomal Trizomi	0	52
Triploidi	10	16
Tetraploidi	14	6
Yapısal Düzensizlikler:	10	4

Tablodan anlaşılacağı üzere otozomal monozomiler ve triploidi-tetraploidi olgularının oranları her iki çalışmada nispeten uyumlu ancak otozomal trizomilerin oranlarında oldukça büyük fark dikkati çekmekte.

Bu farklılıklar iki araştırma grubuna dahil vakaların miktarından kaynaklanıyor olabilir. Kullanılan metod, araştırma olanakları ve diğer faktörler de göz önünde tutulmak gerekir.

Hic kuşku yok ki etiyopatogenez araştırmaları, çalışmaya dahil edilen vak'a sayısı arttıka istatistiksel olarak doğruya daha yakın ve net sonuçlar verecektir. Bu çalışmanın daha geniş hasta grupları üzerinde yapılmasıyla toplumumuza ait kesin verilerin elde edilmesi mümkündür.



SONUC

Missed abortus ve blighted ovum tanılı 35 vak'anın dahil edildiği bu çalışmada koryon villus örnekleme ile sitogenetik incelemeler yapılmıştır.

Koryon villus doku örnekleri transabdominal veya transvajinal yollarla alınmış ve fetal materyele direkt sitogenetik analiz yöntemi uygulanmıştır.

Sonuçlar biyopsi işlemi ve sitogenetik incelemelerle ilgili olarak değerlendirilmiştir. Buna göre:

- Otuzbeş vak'adan 21'inde (% 60) sitogenetik sonuç elde edilebilmiştir.
- Geri kalan 14 vak'adan (% 40) 8 tanesi (% 23) biyopsi işlemine, 6 tanesi (% 17) daha sonraki laboratuvar çalışmalarına bağlı başarısız olmuştur.
- Toplam 17 vak'ada (% 49) 1-2 kez girişim ile biyopsi materyali elde edilebilirken, 18 vak'ada (% 51) 3-4 kez girişim gerekmiş, 3 vak'ada (% 9) ise hiç materyal alınamamıştır.

Biyopsi girişimine bağlı başarısızlık, miktar olarak yetersiz doku alınmasından ya da alınan dokuların fetal koryon villus dokusu içermemesinden kaynaklanmaktadır.

- Transabdominal yolla biyopsi işleminin başarı oranı transvajinale oranla daha yüksek bulunmuştur.

- Gebeliğin 8 haftadan büyük olduğu örneklerde biyopsi başarısı daha yüksek çıkmıştır.
- Missed abortuslarda 2 triploidi (% 9), 2 tetraploidi (% 9) ve 1 mültipl kromozomal düzensizlik (% 5) saptanırken blighted ovum vak'alarında 1 tetraploidi (% 5) ve 1 de mültipl kromozomal düzensizlik örneği (% 5) ortaya konmuştur.

ÖZET

Erken düşüklerin kromozomal temelini belirlemek amacıyla yapılan bu araştırmada materyel 1.2.1992 -1.9.1992 tarihleri arasındaki 7 ay içerisinde SSK Ankara Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastahanesine başvuran riskli gebelik vak'alarından missed abortus ve blighted ovum tanısı nedeniyle gebeliğın tahliyesine karar verilenler arasından oluşturulmuştur. 27 tanesi missed abortus, 8 tanesi blind ovum olmak üzere toplam 35 gebe izinleri alınmak suretiyle araştırmaya dahil edilmişlerdir.

Vak'aların 18'inden transabdominal, 17'sinden transvajinal yolla koryon villus biyopsisi yapılmış olup hiç birinde biyopsi işlemine bağılı herhangi komplikasyon gözlenmemiştir.

35 vak'adan 21'inde KVÖ ile sitogenetik analiz yapılabilmış, 14'ünde ise çalışmalar başarısız kalmıştır.

Bu çalışma missed abortus ve blind ovum vak'alarında ülkemize ait ilk sitogenetik araştırma sonuçlarını sağlamıştır.

Başarılı sitogenetik analiz yapılabilen vak'a oranının bildirilen benzer bazı çalışmalara oranla düşük olması çalışmalarımızın yöntemle ilişkin yetersizliklerine bağlanmıştır. Sonuç olarak vak'a sayısının artmasıyla toplumumuza ilişkin daha ayrıntılı bilgilerin sağlanacağı düşünülmüştür.

İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

In order to find out the chromosomal etiology of missed abortion and blighted ovum, this study has been done.

The patient group was formed by choosing the ones who applied to SSK Maternity Hospital between the dates 1.2.1992 - 1.9.1992 and diagnosed as missed abortion and blighted ovum.

Totally 35 women are included to this research. 27 of these 35 patients were missed abortion and 8 of them were blighted ovum.

The choryon villus biopsies are done transvaginal for 17 patients and transabdominal for 18 patients. There were not any complications about the biopsy studies on any patients. Sitogenetics analysis could be done only for 21 cases. the other 14 were not satisfactory.

This study has given out results of sitogenetics searches on etiology of missed abortion and blighted ovum for the first time in our country.

The ratio of success in this study is less than the ones in foreign countries. It is thought that the reason was insufficient lab. conditions. As a result, analyzing of more cases will let us to have much exact results.

KAYNAKLAR

1. Queenan JT, Hobbins JC: Protocols for High Risk Pregnancies. P. 208-209 2 th edition, USA, 1987
2. Martin L. Pernoll: Current Obstetric and Gynecology, Diagnosis and Treatment, 7 th edition, 1991
3. Dyban AD and Baranov VS: Cytogenetics of Mammalian Embriyonic Development. Clarendon Press. Oxford pp. 230, 1987
4. Boue A, Boue J, Gropp A: Cytogenetics of Pregnancy Wastage. In: Harris H, Hirschhorn K. Advances in human genetics. Vol. 14 New York: Plenum Press, P. 1-57, 1985
5. Creasy MR, Crolla JA, Aberman ED: A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding technigues. Human Genet. Vol.31: P.177-196, 1976
6. Kayii T, Ferrier A, Niikawa N, Takahora H, Ohama K, Avirachan S: Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortions. Human Genet. Vol. 55, P.87-98, 1980
7. Hassold T: A cytogenetic study of repeated spontaneous abortions. Am. J. Hum. Genet. Vol. 32; P. 623-30, 1980
8. Warburton D, Stein Z, Kline J, Susser M: Chromosome abnormalities in spontaneous abortions: Data from the New York City study in: Human embriyonic and fetal death (Porter IH, Hook EB, eds.) pp. 261-287, Academic Press, New York, 1980

9. Benirschke K: Normal Development, In: Creasy RK, Resnik R: Maternal Fetal Medicine: Principles and Practice; Second ed. WS Saunder Co. PA, P. 116-27, 1989
10. Kerse i: insan embriyolojisine giriş. 3. Baskı Ankara, 1981
11. Boyd JD and Hamilton WJ: The Human Placenta. Heffer and Sons. Cambridge, 1970
12. Hamilton WJ and Mossman HW: Human Embriyology: Prenatal Development of Form and Function. 4th ed. Heffer and Sons. Cambridge, 1972
13. Tekelioglu M: Tıp Embriyolojisi. ilk baskı, 1984
14. Romagnano A, Featherstone T, Sun L, Crane JP, Cheung SW: Direct preparations from chorionic villi relationship between villous morphology and mitotic index. Prenatal Diagnosis. Vol. 9, P. 385-91, 1989
15. Simoni G, Terzoli G, Rosella F: Direct chromosome preparation and culture using chorionic villi.: An evaluation of the two technigues. American Journal of Medical Genetics. Vol. 35; P. 181-183, 1990
16. Goldberg JD and Golbus MS: Chorionic villus sampling Chapter 1, San Francisco, California, 1986
17. Martinez F, Cheung SW, Crane JP, Arias F: Use of trophoblast cells in tissue culture for fetal chromosomal studies. Am. J. Obstet. Gynecol Volum 147, Number 5, 1983

18. Ohno M, Maeda T, Matsunobu A: A cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. *Obstetrics and Gynecology* Vol. 77; No. 3 P.394-98, 1991
19. Schlesinger C, Raabe G, Miller K: Discordant findings in chorionic villus direct preparation and long term culture-mosaicism in the fetus. *Prenatal Diagnosis*, Vol.10, P.609-612, 1990
20. Breed ASPM, Mantingh A, Beekhuist JR, Kloosterman MD, Ten Bolscher H and Anders GJPA: The predictive value of cytogenetic diagnosis after CVS: 1500 cases. *Prenatal Diagnosis*, Vol.10, P.101-110, 1990
21. Saura R, Longy M, Horovitz J, Grison O, Vergnaud A, Taine L, Maugey B: Risk of transabdominal chorionic villus sampling before the 12th week of amenorrhea. *Penatal Diagnosis*, Vol. 10, P. 461-67, 1990
22. Jahoda MGJ, Pijpers L, Reuss A, Brandenburg H, Cohen-Overbég TE, Los FJ, Sachs ES, Wladimiroff W: Transabdominal villus sampling in early second trimester: A safe sampling metod for women of advanced age. *Prenatal diagnosis* Vol. 10, P.307-311, 1990
23. Iron and Steel Co. :Fetal Sex Prediction by sex chromatin of chorionic villi cells during early pregnancy. *Chin Med J.* 1: 117, 1975
24. Horwell DH, Loeffler FE, Coleman DV: Assesment of a transcervical aspiration technique for chorionic villus biopsy in the first trimester of pregnancy. *Br. J. Obstet Gynaecol*, Vol. 90: P. 196-98, 1983

25. Ward RHT: Techniques of chorionic villus sampling. In: Bailler's Clinical Obstetrics and Gynaecology, Vol.1, No.3, P. 489-511, 1987
26. Barela AI, Kleinman GE, Golditch IM et al: Septic shock with renal failure after chorionic villus sampling. Am. J. Obstet Gynecol, Vol. 154: 1100, 1986
27. Blackemore KJ, Mahoney MJ, Hobbins JL: infection and chorionic villus sampling. Lancet, Vol. 2: 339, 1985
28. Jackson LG, Wapner RJ: Risks of chorion villus sampling. in: Bailler's Clinical Obstetrics and Gynaecology, Vol.1 No. 3, P. 513-31, 1987
29. Appleman Z, Rosenself J, Elchelel U, Chemke J: Chorionic villus sampling for fetal karyotyping in missed abortions. Prenat Diagn. Jan.11 (1) P. 55-57, 1991
30. Eiben B, Schübbe I, Hansmann I: A cytogenetic study directly from chorionic villi of 140 spontaneous abortions. Hum Genet 77; 137-41, 1987
31. Guerrieri S, Bettio D, Simoni G, Brambati B, Lanzani A, Fraccaro M: Prevalence and distribution of chromosome abnormalities in a sample of first trimester internal abortions. Hum Reprod 2; 735-39, 1987
32. Hertig AT, Sheldon WH: Minimal criteria required to prove prima facie case of traumatic abortion or miscarriage. An analysis of 100 spontaneous abortions. Ann. Surg. Vol. 117, P. 596-606, 1943

33. Miller JR, Poland BJ: The value of human abortuses in the surveillance of development anomalies. Can. Med. Assoc. J. Vol. 103, P. 501-502, 1970
34. Mikamo K: Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortions. Am. J. Obstet. Gynecol. Vol. 103 P. 143-54, 1970
35. Creasy MR, Crolla JA, Aberman ED: A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. Hum. Genet. Vol. 31 P. 177-96, 1976
36. Lauritsen JG: Aetiology of spontaneous abortion. A cytogenetic and epidemiological study of 288 abortuses and their parents. Acta Obstet, Gynecol. Suppl. 52: P. 1-29, 1976
37. Maulenbroek GH, Geraedts JP: Parental origin of chromosome abnormalities in spontaneous abortions, Hum. Genet. Vol. 62 P. 129-33, 1982
38. Vekemans MJJ, Perry TB: Cytogenetic analysis of chorionic villi: A technical assessment. Hum. Genet. Vol. 72 P. 307-310, 1986
39. Terzoli G, Simoni G: First trimester fetal karyotyping by direct method. Contr. Gynec. Obstet. Vol. 15 pp 61-69, 1986
40. Elias S, Simpson JL, Martin AO, Sabbagha RE, Gerbie AB, Keith LG: Chronic villus sampling for first trimester prenatal diagnosis: Northwestern University Program. Am. J. Obstet. Gynecol. Vol. 152 No:2, May 15 1985

41. Leschot NJ, Kanhai HHH, Van Asperen CJ, Wolf H, Boer K:
An evaluation of 75 terminations of pregnancy based on
abnormal laboratory findings at first trimester CVS.
Clinical Genetics, Vol. 38, P. 211-217, 1990
42. Smidt-Jensen S, Christensen B, Anne-Marie Lind: Chorionic
villus culture for prenatal diagnosis of chromosome
defects: Reduction of the long-term cultivation time.
Prenatal Diagnosis, Vol. 9, P. 309-19, 1989
43. Martinez F, Cheung SW, Crane JP, Arias F: Use of
trophoblast cells in tissue culture for fetal chromosomal
studies. Am. J. Obstet. Gynecol Vol. 147, Number 5, P.
542-47, 1983
44. Wapner RJ, Jackson L: Chorion villus sampling. In:
Clinical Obstetrics and Gynecology. Vol. 31, No. 2,
P. 328-44, 1988
45. Simoni G, Brambati B, Danesino C: Efficient direct
chromosome analyses and enzyme determinations from
chorionic villi samples in the first trimester of
pregnancy. Hum. Gen. Vol. 63, P. 349, 1983
46. Ward RTH, Modell B, Petrou M: Metod of sampling chorionic
villi in the first trimester of pregnancy under guidance
of real-time ultrasound. Br. Med. J. Vol. 286, P. 1542,
1983
47. Green EJ, Dorfman A, Jones SL: Chorionic villus sampling
experience with an initial 940 cases. Obstet. Gynecol.
Vol. 71, P. 208, 1988

48. Brambati B, Terzian E, Topnoni G: Randomized clinical trial of transabdominal versus transcervical chorionic villus sampling methods. *Prenat Diagn.* Vol. 11, P.285-93, 1991
49. Upadhyaya M, Fryer A, Foat G: Chorionic villus sampling for prenatal diagnosis in Wales using DNA probes -5 years experience. *Prenat. Diagn.* Vol. 10, P. 593-603, 1990
50. Aytac R: Transservikal aspirasyon tekniği ile koryon villus biyopsisi teknik, yarar ve erken dönem komplikasyonları. Uzmanlık tezi. Ankara, 1991
51. Macek M, Ferguson Smith MA, Spala M: "Early fetal diagnosis; Recent progress and public health implication" Prague, 1992
52. Wagner RJ, Jakson L: Chorion villus sampling. In: *Clinical Obstetrics and Gynecology*, Vol. 31, No. 2, P. 328-44, 1988
53. Blakemore KJ: Prenatal diagnosis by chorionic villus sampling. In: *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, Vol. 15, P. 179-213, 1988
54. Williams J, Wang BT, Rhbin CH: Chorionic villus sampling: Experience of 2484 cases performed by a single operator. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164 SPO Abstracts, 352, 1991
55. Rhoads GG, Jackson LG, Schiesselman SE: The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N. Engl. J. Med.* Vol. 320, P. 609, 1989

56. Canadian collaborative CVS-Amniosentesis clinical trial group: Multicentre randomised clinical trial of chorionic villus sampling and amniosentesis. First report. Lancet, 1: 1, 1989
57. Brandenburg H, Jahoda MGJ, Pijpers L: Fetal loss rate after chorionic villus sampling subsequent amniocentesis. Am. J. Med. Genet. Vol. 35, P. 178-80, 1990
58. Holzgreve W and Miny P: Genetic aspects of fetal disease. Seminars in Perinatology. Vol. 13, No. 4, P. 260-77, 1989
59. Szabo J, Szemere G: Optimal timing of chorionic biopsy and its application in second trimester of pregnancy. First Trimester Fetal Diagnosis, Edited by; Fraccaro M. Berlin, Heidelberg, 1985
60. Nicolaides KH, Soothill PW, Rodeck CH, Warren RC: Why confine chorionic villus (placental) biopsy to the first trimester? Lancet, ii P. 543-44, 1987
61. Holzgreve W, Miny P, Schloo R: "Late CVS" international registry compilation of data from 24 centres. Prenatal Diagnosis, Vol.10, P.159-67, 1990
62. Baltacı V, Saracoğlu ÖF, Sogukpınar A, Sayılı BS: Prenatal tanı amacıyla uyguladığımız kordosentez ve sonuçları. 3. Ulusal Perinatoloji Kongresi Bildiri Özetleri. S. 080, 1-5 Mart 1992
63. Gül D, Yıldız A, Sayılı BS: İlk trimestre gebelerinde uyguladığımız koryon programı sonuçları. 3. Ulusal Perinatoloji Kongresi Bildiri Özetleri. S. 077, 1-5 Mart 1992

64. Başaran N, Hassa H, Özalp S ve ark.: Koryon villus örneklerinde direkt ve kısa süreli kültür yöntemi ile kromozom analizi. Birinci Ulusal Prenatal Teşhis ve Anadolunun Genetik Yapısı Sempozyumu Teblig Özetleri. S. 94-95, 5-7 Eylül 1989
65. Cooke HMG, Penketh RJA, Delhanty JDA : An evaluation of maternal cell contamination in cultures of chorionic villi for the prenatal diagnosis of chromosome abnormalities. Clin. Genet., Vol. 30, P. 485-93, 1986
66. Roberts E, Duckett DP, Long GD: Maternal cell contamination in chorionic villus samples assessed by direct preparations and three different culture methods. Prenatal Diagnosis Vol. 8, P. 32-37, 1983
67. Jackson L, Wagner R, Barr M, Hux C, Davis G: Maternal contamination of chorionic villus samples; Comparison between direct preparation and culture. Am. J. Hum. Genet. Vol. 37, A 99, 1985
68. Olson S, Buckmaster J, Bissonnette J, Magenis E: Comparison of maternal and fetal chromosome heteromorfism to monitor maternal cell contamination in chorionic villus samples. Prenat. Diagn. Vol. 7, P. 413-17, 1987
69. Warburton D, Stein Z, Kline . Susser M: Chromosome abnormalities in spontaneous abortion: Data from the New York city study in: Porter IH, Hook EB. Human embriyonic and fetal death. New York: Academic Press, 261-87, 1980

TEŞEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Bekir Sıtkı Saylı başta olmak üzere; bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük emeği geçen eşim Dr. Aysun Baltacı'ya, Dr. Davut Gül'e, Dr. Alp Can'a, Araş. Gör. Kenan Köse'ye ve diğer asistan arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

