

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

LABORATUVARIMIZA PRENATAL TANI İÇİN SEVK EDİLEN  
AİLELERDE SONUÇ-ÖN TANI ENDİKASYON  
UYGUNLUKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

( DOKTORA TEZİ )

Araş. Gör. Ayşegül TÜRKYILMAZ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

118842

118842

DANIŞMAN

Prof. Dr. Turgay BUDAK

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

DİYARBAKIR

2002

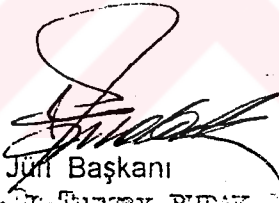
DOKTORA SINAVI JÜRİ RAPORU

Dicle Üniversitesi .....Tıp..... Fakültesi.Tıbbi.Biyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi ..Ayşe Gül Bengisu.....'nın Doktora Tez Sınavını yapmak üzere, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11.07.2002 gün ve 364-1010 sayılı kararı ile oluşturulan jürimiz, 12.09.2002 tarihinde saat 11.00 'da sınavı yapmak üzere toplanmıştır.

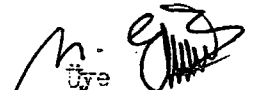
Jürimiz, Prof.Dr.Turgay BUDAK 'i jüri başkanlığına, Yrd.Doç.Dr.K.Nail AYPi raportörlüğe seçmiştir.

Yapılan inceleme sonucunda, Doktora öğrencisi ..Ayşe Gül Bengisu.....'nın tez jürisi üyelerinin kişisel raporlarının tezi savunulmaya değer bulunduğu anlaşılmış ve aday saat 11.00.....'da tez savunması için sınava alınmıştır. İlgili Yönetmelikte belirtilen süre içinde adaya tez savunması için zaman ayrılmış; tez ve konu ile ilgili sorular sorulmuştur. Aday'ın, tezini yeterli bir şekilde savunduğu ve sorulan sorulara başarılı yanıtlar verdiği saptanmıştır.

Sonuç olarak, aday başarılı görülmüş ve 2547 Sayılı Kanununun 65. Hükmü gereğince hazırlanan Lisansüstü Öğretim Yönetmeliğinin ilgili maddelerine göre, adayın tezinin kabul edilmesine oy birliğiyle karar verilmiştir.

  
Jüri Başkanı  
Prof. Dr. Turgay BUDAK

  
Raporör  
Yrd. Doç. Dr. K. Nail AYPi

  
Üye  
Doç. Dr. M. Emin ERBUĞ

  
Üye  
Prof. Dr. Ali KELLECI

TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Üye  
Doç. Dr. Bingül IŞIK

EKİ : Soru Listesi

## TEŞEKKÜR

Daimi teşvikleri ve rehberliği yanında, bu çalışmanın ortaya çıkmasını sağlayan, doktora öğrenciliğim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, akademik hayatımın tümünde zarif katkıları bulunan D.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı ve Prenatal Tanı Merkezi Kurucusu sayın Prof. Dr. Turgay BUDAK'a

Çalışmalarım süresince yakın ilgi ve yardımlarını gördüğüm sayın Prof. Dr. Ali KELLE'ye

Değerli fikirleri ve bilgileriyle Genetik bilgilerimin şekillenmesini sağlayan sayın Yrd. Doç. Dr. M. Nail ALP'e

Birlikte yaptığımız çalışmalarda kurduğumuz ahenkli işbirliğinden ötürü uzman Mehmet FİDANBOY'a ve Tıbbi Biyoloji Laboratuvar çalışanlarına ve her zaman desteğini gördüğüm babama, anneme, eşim Burhan'a , oğlum Berkecan'a , teşekkürü bir borç bilirim.

Diyarbakır-2002

Ayşegül TÜRKYILMAZ

## İÇİNDEKİLER

Tablo Listesi.....	I
Şekil Listesi.....	II
Kısaltmalar.....	III
Özet .....	IV
Summary.....	V

## SAYFA

1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler .....	2
2.1. Prenatal Tanı.....	2
2.2. Prenatal Tanının Amacı.....	2
2.3. Prenatal Tanı Endikasyonları.....	3
2.4. Prenatal Tanıda Hizmet Organizasyonu.....	8
2.4.1. Hizmet Organizasyonu.....	8
2.5. Prenatal Tanıda Genetik Danışma.....	9
2.5.1. Prenatal Tanıda Genetik Danışma Kuralları.....	11
2.5.2. Prenatal Tanının Sosyal ve Medikal Yanları.....	12
2.5.3. Genetik Danışma Çeşitleri.....	12
2.6. Prenatal Tanının Etik Yönü.....	13
2.7. Prenatal Tanı Teknikleri.....	14
2.7.1. Amniyosentez.....	15
2.7.1.1. Klasik Amniyosentez .....	15
2.7.1.2. Erken Amniyosentez.....	16
2.7.1.3. Geç Amniyosentez.....	16
2.7.1.4. Çölosentez.....	16

2.7.2. Koryon Villi Örneklemesi.....	17
2.7.3. Kordosentez.....	17
2.8. Prenatal Tanıda Tarama Testleri.....	18
2.9. Prenatal Tanı Laboratuvarı İçin Standart Kurallar.....	19
2.10. Çoğul Gebeliklerde Amniyosentez.....	20
2.11. Kromozomun Morfolojik Özellikleri ... ..	20
2.12. Kromozom Terminolojisi ... ..	22
2.13. Kromozom Anomalileri ... ..	23
2.13.1. Sayısal Anomaliler ... ..	23
2.13.2. Yapısal Anomaliler ..... ..	24
3. Gereç ve Yöntem.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Prenatal Tanıda Kromozom Elde Etme Yöntemleri.....	30
3.2.2. Boyama Yöntemleri.....	35
3.2.3. Değerlendirme.....	36
4. Bulgular.....	37
5. Tartışma.....	42
6. Sonuç.....	50
7. Kaynaklar.....	52

**TABLO LİSTESİ**

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.</b> Anne yaşına bağlı olan down sendromlu çocuk doğurma riski.....	3
<b>Tablo 2.</b> Prenatal tanı endikasyonları.....	6
<b>Tablo 3.</b> Prenatal tanı yöntemleri.....	14
<b>Tablo 4.</b> Ön tanı - sonuç ilişkisi.....	45
<b>Tablo 5.</b> Anne yaşı ve bize başvuran annelerin oranı.....	46

<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Şekil 1.</b> Dişi bireye ait metafaz ve karyotip (46,XX).....	56
<b>Şekil 2.</b> Erkek bireye ait metafaz ve karyotip (46,XY).....	57
<b>Şekil 3.</b> Parsiyel Trizomi 3 olgusuna ait metafaz ve karyotip (46,XX,11q+).....	58
<b>Şekil 4.</b> Marker kromozom (47,XY,mar+).....	59
<b>Şekil 5.</b> Triploidi olgusuna ait metafaz ve karyotip (69,XXX).....	60
<b>Şekil 6.</b> Turner Sendromu'na ait metafaz ve karyotip (45,X).....	61
<b>Şekil 7.</b> İnversiyon olgusuna ait metafaz ve karyotip 46,XY,inv(9)(p11p22).....	62
<b>Şekil 8.</b> Trizomi 21 olgusuna ait (47,XY,+21) metafaz ve karyotip .....	63
<b>Şekil 9.</b> Translokasyonlu bir olguya ait metafaz ve karyotip 46,XY,t(14;21).....	64
<b>Şekil 10.</b> Triple X Sendromuna ait metafaz ve karyotip (47,XXX).....	65

### **KISALTMALAR:**

A	Adenine (Adenin)
AFP	Alpha Feto Protein (Alfa Feto Protein)
AS	Amniosynthesis (Amniyosentez )
C	Cytosine (Sitozin)
CVS/KVÖ	Chorionic Villus Samples (Koryon Villus Örneklemesi)
DNA	Deoxyribonucleic acids (Deoksiribonükleik asit)
E3	Free Estriol (Serbest Estriol )
FISH	Flourescence In Situ Hybridiation (Floresan In Situ Hibridizasyon)
G	Guanine (Guanin)
GTG	Giemsa Banding Technic (Giemsa Bantlama Tekniği)
HCG	Human Chorionic Gonadotropin (İnsan Koryon Gonadotropini)
KS	Chordosynthesis (Kordosentez)
NT	Nukkal Translüsensi (Ense Kalınlığı)
PAPP A	Pregnancy Associated Plasma Protein A (Hamilelikle İlişkili Plasma Protein A)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
T	Thymine (Timin)



**ÖZET****Laboratuvarımıza Prenatal Tanı İçin Sevk Edilen Ailelerde Sonuç-Ön Tanı ve Endikasyon Uygunluklarının Değerlendirilmesi**

Araş.Gör. Ayşegül TÜRKYILMAZ

Bu çalışmada ;01.01.1999-31.12.2001 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ABD Prenatal Tanı Laboratuvarına gönderilen CVS, AS ve KS' ye ait toplam 481 örnek materyal değerlendirilmiştir. Her örnek için iki kültür yapılmış kromozom elde edilmiş ve ortalama on preparat hazırlanmıştır. Bu preparatlardan bir tanesi Giemsa ile doğrudan boyanmış, geri kalan preparatlar ise Giemsa Bantlama Tekniği (GTG Banding) ile hazırlanmıştır. Değerlendirmeye alınan preparat sayısı (10x481) 4810 adettir.

Bu örneklerden 199' unda 46, XX, 176' sında 46,XY normal kromozom kuruluşu belirlenmiştir. 11 örnekte Trizomi 21 (Down Sendromu), 2 örnekte Robertson tipi translokasyonlu Down Sendromu, 1 örnekte mozaik Down Sendromu, 1 örnekte dengeli translokasyon kromozomu taşıyıcılığı, 2 örnekte Turner Sendromu., 2 örnekte mozaik Turner Sendromu, 1 örnekte Triple X Sendromu, 2 örnekte Triploidi, 1 örnekte Parsiyel trizomi, 1 örnekte derivativ kromozom, 12 örnekte duplikasyon, 2 örnekte delesyon, 1 örnekte tekrarlamayan sayısal ve yapısal düzensizlik 1 örnekte marker kromozom kuruluşu saptanmıştır. Toplam 65 örneğe sonuç verilememiştir. Bunun 15'inde üreme olmamış 50'sinde de teknik nedenlerden dolayı sonuç elde edilememiştir. Yanlış pozitif yanlış negatif sonucumuz yoktur.

**ANAHTAR KELİMELEER:** Prenatal Tanı, Kromozom Analizi, Kromozomal Anomali.

## **SUMMARY**

**Comparision Between Results Of Our Chromosome Analysis and Prediagnosis Indication in Patients who Referred our Laboratory for Prenatal Diagnosis.**

**Araş.Gör.Ayşegül Türkyılmaz**

In this study we evaluated total of 481 CVS ,AS and CS specimens from patients who referred to the Prenatal Diagnostic Laboratory of Department of Medical Biology and Genetics Department of Medical Faculty of University of Dicle during period of 01.01.1999 to 31.12.2001. Lymphocyte Culture prepared in duplicate for each specimen and chromosome were obtained from total of ten slides for each specimen. For staining one in ten slides was stained with direct Giemsa staining method and others were stained with Giemsa Banding Technic ( GTG Banding ). Total (10x481) 4810 slides were evaluated for diagnosis.

A total of 40 specimens were cytogenetically abnormal of which 11 were trisomy 21 ( Down Syndrome), two were combination of trisomy and Robertsonian type of translocation, one was mosaic Down Syndrome , one was balanced translocated chromosome carrier, two were Turner Syndrome, two were mosaic Turner Syndrome, one was triple X syndrome, two were triploidy, one was partial trisomy, one was derivative chromosome, 12 were duplication, two were deletion, one was nonrepetitive numerical and structural abnormality and one was marker chromosome.

None false positive and false negative results were obtained in our study.

**KEY WORDS:** Prenatal Diagnosis, Chromosome Analysis, Chromosomal Abnormality.

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Bir manastır rahibi olan Gregor Mendel, (1822 - 1884) yavruda karışmış gibi gözükken kalıtsal faktörlerin, aslında hiçbir zaman kendi özelliklerini yitirmediklerini ve bir sonraki kuşakta herhangi bir değişikliğe uğramadan yeniden belirdiklerini ifade etmesiyle oluşan ‘ Mendel İlkeleri’ genetiğin kurulmasını sağlamıştır (1).

Genetik bilimi, soydan soya geçen ve özgün olarak ifade edilen biyolojik özelliklerin mekanizmasıyla ilgilenir. Kökleri 1860’larda Mendel’in deneylerine dayanmasına rağmen 20. yy’da Hücre Biyolojisi ve Modern Genetiğin gelişmesiyle şekillenmiştir. Mendel ve diğer pek çok araştırmacının deneyleri, canlıların tüm özelliklerinin, kuşaktan kuşağa gen adı verilen maddelerle taşındığını, hiçbir kuşkuya düşülmeyecek biçimde göstermiştir.

Genetik, laboratuvar teknikleri ve klinik görüşlerin birleşmesiyle oluşur. Organizmanın fonksiyon ve gelişiminin direkt proteinler yoluyla yani genlerle oluştuğu görüşü sayesinde Moleküler Biyoloji ortaya çıkmıştır. Son zamanlardaki rekombinant Deoksiribonükleik asit (DNA ) teknolojisinin gelişmesiyle genlerin yapı ve fonksiyonları daha iyi anlaşılabilir olmuştur. İnsan genom projesinin amacı; insanın gelişmesi, fizyolojisinin çözülmesi ve bu konuda bir çığırın açılabilmesidir. Böylece genetik, tıbbi bilimlerde artan bir şekilde merkezi bir rol oynayacak ve hiçbir hekim genetiğin temel prensip ve yaklaşımlarını atlayıp geçemeyecek seviyeye gelecektir.(2)

Kalıtım ve değişimle ilgilenen bilim dalına genetik denir. Gen denen parçacıklardan oluşan ve kuşaktan kuşağa aktarılan madde, ‘genetik madde’ adını almaktadır. (1)

Adenin (A) , Guanin (G) , Timin (T) ve Sitozin (C) harfleri bulunan nükleotidlerin karşılıklarıdır. Bunlar, kodonlar denilen, üç harfli şifrelenmiş kelimelerle düzenlenirler. Söz konusu kodonların da bir araya gelmesi sonucu ‘genetik kod’ ortaya çıkar. Genetik bilginin sadece dört tip monomer ünitelerden ibaret polimer molekülün uzunluğu boyunca kodlandığının keşfi, bu yüzyılda önemli bilimsel başarılarından bir tanesini oluşturmaktadır. Bu polimerik molekül yani Deoksiribonükleik asit (DNA), kalıtımın kimyasal temeli olup genetik bilginin temel üniteleri olan genlere organize olmaktadır. Kalıtımın ve genetik hastalıkların kimyasal temeli , DNA’nın yapısında yer alır. (3,4,5,6)

Amacımız ; prenatal tanının önemini, gereğini, konseptini, yöremizde yerleştirmek ve bu konuda rutin hizmeti geliştirmek olduğundan; bir alıştırma dönemi olarak kabul ettiğimiz bu aşamada, laboratuvarlarımıza gönderilen materyallerin hiç biri geri çevrilmeden, tümü değerlendirilmektedir.

Bu çalışmamızla, yapılmakta olan prenatal tanıların, endikasyon ve ön tanı uygunluklarını, elde edilen sonuçlarla örtüşürlüklerini ve dolayısıyla hekimlerin bu konudaki yaklaşımlarının doğruluk derecesini ve laboratuvarımızın, çalışmalarındaki başarı düzeyini belirlemek istedik.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Prenatal Tanı**

1956'da Tjio ve Levan, insanda 46 kromozom olduğunu bulmuşlardır (7). 1959'da Lejeune, insanda ilk kromozom anomaliyi saptamıştır (8). 1965'de Klinger tarafından Amniyon Sıvısından hücre kültürü yapılmıştır (4). 1966'da da Breg ve Steele tarafından ilk prenatal kromozom analizi yapılmıştır (9).

Tarihsel perspektif içinde 1950'lerden sonra invazif prenatal tanı ile ilgili ilk raporlar çıkmıştır. Ancak prenatal tanı alanındaki en belirgin ilerlemeler, özellikle 1980'lerden sonraki ultrasonografi (USG) teknolojisindeki gelişmelere dayanır. Bu dönemden sonra yapılan çalışmalar katlanarak artmış, çok daha cesur, doğru ve yeterli girişimler yapılmış ve komplikasyon oranları belirgin olarak azalmıştır.

Prenatal tanı, genetik danışma, laboratuvar hizmetleri, obstetrik, USG, klinik genetik gibi pek çok servisten hizmet bekler. Prenatal tanının amacı, fetal yaşamdaki anormalitenin veya defektin bulunması ve hamileliğin sonlandırılması demek değildir.

### **2.2. Prenatal Tanının Amacı**

- 1-) Daha önce anomali saptanmış bir ebeveyne gerekli bilgiyi sağlamak,
- 2-) Yüksek riskli gruplarda endişeyi ortadan kaldırmak,
- 3-) Doğumsal özel defektle dünyaya gelmiş çocukların ebeveynleri için ( aksi taktirde aile yeni çocuk istemez) bir hamilelik başladığında defektin varlığı veya yokluğu testle doğrulanır. Birkaç genetik defekte sahip olan bir çocuğun ailesi de prenatal tanı sayesinde sağlıklı çocuk sahibi olabilir.

4-) Genetik defektli olması muhtemel çocuklu çiftlere fizyolojik hazırlık, hamilelikte idare, doğum ve sonrasında da bakım için gerekli bilgiyi sağlamak,

5-) Etkilenmiş fetüste prenatal tedavinin sağlanması (gerçi konjenital defektlerin iyileştirilmesi şimdilerde henüz çok az mümkündür) için; Örneğin, mesanenin dışarıda olması, USG'de fark edilen bir defektir. Eğer fetüs, tedavi edilmezse ürin üretiminde düşüş oligohidroamnioza sebep olur ve akciğer gelişimi zayıflatır. Mesanenin kapatılması, böbreğin düzenli çalışmasını ve akciğerlerdeki hasarın, geri dönüşümsüz düzelmesini sağlar (6).

### 2.3. Prenatal Tanı Endikasyonları

Prenatal tanı endikasyonlarının en başta geleni, ileri anne yaşdır (2,4,5,6) İleri anne yaşından dolayı riskin arttığı sendromlar; Trizomi 21 (Down Sendromu), Trizomi 13 (Patau Sendromu), Trizomi 18 (Edwards Sendromu) vb.dir. En genel endikasyon, ileri anne yaşı (Tablo-I) veya daha önce kromozom anomalili bir gebeliğin bulunmasıdır ve bunda tekrarlanma riski 35 yaşın altındaki anneler için % 1,5'tir. Yaşlı annelerde prenatal tanı ile, XXY, XYY ve XXX gibi daha az önemli cinsiyet kromozomu anomalileri de belirlenebileceğinden, bütün anneler bu sonuçlar için hazırlıklı hale getirilmelidirler ve gebeliğin devamı hakkında seçimlerinin ne olacağını ileri düzeyde incelemelidirler (10-11).

**Tablo-I. Anne Yaşına Bağlı Olan Down Sendromlu Çocuk Doğurma Riski**

<u>Anne Yaşı (Yıl)</u>	<u>Down Snd. Riski</u>
25	1/1500
30	1/800
35	1/350
36	1/300
37	1/200
38	1/170
39	1/140
40	1/100
45	1/30

Kromozomal translokasyonların bulunduğu ailelerde, kromozomal olarak anormal olan bir fetüs doğurma riski, yaşlı annelerin sahip olduğu riskten daha fazladır. Tam olarak risk, translokasyona bağlıdır ve ortalama olarak % 15 dolayındadır.

Kromozom yapısını gözümüzde canlandırdığımızda, bölünen hücrelerin artması gerekir. Koryon Villus Örnekleme (CVS =KVÖ ) ve Amniyo Sentez (AS) ile alınan hücreler, bu özellikleriyle kültüre edilebilmektedir. Bazı sitotrofoblast hücreleri kromozom analizi için çok hızlı ürün verirler. Ekstraembriyonik mezoderm de bu dokudan gelişir ve kültürde yetiştirilebilir. Bir ebeveyn, dengeli translokasyon taşıyıcısı olduğu zaman fetüste dengesizliğin kanıtı için başvurulması gereken çok önemli bir faktördür.

Prenatal tanının en geniş kullandığı alan Trizomi 21'dir. Trizomi 21'in sıklığı genel populasyonda yaklaşık olarak 700 doğumda 1'dir. Araştırmacıların çoğunluğu, Trizomi 21'den etkilenmiştir. Klasik Down Sendromunda birey 47 kromozom taşır, translokasyon yoktur.

Hastalık, ailede önceden Down Sendromu öyküsü olmaksızın da ortaya çıkabilir. Trizomilerde tekrarlama riski, gelecek hamileliklerde % 1'dir. Ayrılamamanın (Nondisjunction) sebebi bilinmemekle birlikte anne yaşıyla ilişkisi düşünülmektedir (2).

Ovulasyonun ilk mayoz bölünmesi, (doğuma yakın tüm primer oositler) birinci mayoz bölünmenin profaz safhasını bitirince; metafaza gireceklerine istirahat durumuna geçerler. Primer oositler, bu safhada uzun süre kalırlar. Birinci mayoz bölünmeyi pubertede, ovulasyondan az önce bitirirler. Primordial folliküllerdeki folikül hücreleri, oosit olgunlaşmasını baskılayıcı bir madde salgılayarak primer oositlerin 1. mayoz bölünmeyi puberteden önce bitirmesini engeller. Primer oositlerdeki bu birinci mayoz bölünme gecikmesi 40 ya da daha ileri yaşlara kadar sürebilir. Böyle durumlarda mayoz bölünme hatalarına yani anne yaşı ile artan kromozom çiftlerinin ayrılamamasına rastlanır. Bu bağlamda yeni doğanlarda anne yaşının artması ile meydana gelen kromozom anomalilerinin, uzayan mayoz bölünme sırasında, primer oositin çevre etkilerinden zarar görmesi nedeniyle olduğu söylenebilir (11). Uzun süren bu esnada homolog kayma, nondisjunctionla sonuçlanabilir.

Babasal yaşın etkisi için kanıt çok zayıftır. Erkeklerde spermatogoninin mitoz bölünmesi sırasında gen mutasyonunda artış olabilir. Ama bu oran oogenezisten düşüktür. İşte bu yüzden 35 yaşın üstündeki kadınlara prenatal tanı önerilmektedir. (12)

Kadınlarda ideal doğurganlık yaşının 20-25 yaşlar arasında olduğu, klasik bilgi olarak kabul edilmektedir. Günümüzde, sosyal yaşam koşulları (iş, eğitim ve kariyer gibi) kadınların bu yaşlarda gebe kalma ve doğum yapma olanaklarını kısıtlamaktadır. Kadının sosyal yaşama katılması ve katkıda bulunmasını öne çıkaran medeni toplumlarda, ileri yaş gebeliklerinin oranı giderek artmaktadır (13).

Amniyosentez komplikasyon oranları (genellikle abortus) yaklaşık 1/200'dür. Bir fetüsün kromozom anormalliğine yakalanma riski de 35 yaş üstü bireyler için 1/200'dür (Herhangi bir trizomiye yakalanma riski).

Trizomi, ileri yaş annelerde artmasına rağmen, genç anne hamileliklerinde de görülmektedir. Bazı etkilenmiş fetüsler USG'de fark edilebilir ama bazıları için bu imkansızdır. Son yıllarda trizomili bir fetüsle ilgili bazı biyokimyasal ölçümler bulunmuştur. Alfa Feto Protein ( $\alpha$ FP) fetüsle ilgili, protein yapısında bir maddedir. Bir miktarı idrara salgılanır, bir miktarı da plasentadan maternal sirkülasyona katılır. Fetal hücreleri etkileyen konjenital malformasyonlar maternal serum ve amniyon sıvısında  $\alpha$ FP artışına sebep olur. Defektlerin taranması sırasında düşük  $\alpha$ FP seviyesi özellikle Trizomi 21 gibi kromozom anomalisini ortaya koyar. Son zamanlarda iki ölçüm daha bulunmuştur. Bunlar, serbest Estriol (E3) ve Human Chorionic Gonadotropin (HCG) taramada artmaya duyarlıdır. Down Sendromlu fetüsün annesinin serumunda düşük  $\alpha$ FP ve E3 olmasına rağmen yüksek HCG gözlenir. Her üç madde için de düşük seviyeler, Trizomi 18 riskini ortaya koyar. Yalnız, bu testin güvenilirliği de tartışmaya açıktır. Down sendromlu fetüslerin % 60'ında triple teste başvurulmuşken, anormal triple test sonucu çıkan hastaların % 95'inde trizomiye rastlanmamıştır. (2) Yapılan çalışmalar, otozomal trizominin tekrarlanma riskinin düşük olduğu konusunda hem fikirdirler. Avrupa'da yapılan ortak bir çalışmada amniyosentezle saptanan kromozomal anomali tekrarlama riski % 1.4, koryon villi örneklemesinde ise % 1 düzeyindedir.

Bir diğer endikasyon ise anne veya babanın birinde kromozomal anomali varlığıdır. Genel olarak Resiprokal translokasyon, Robertson translokasyon ve inversiyonlar bulunmaktadır. Toplumda her 400 kişiden biri, bu kromozom yapısının

taşıyıcısıdır. Dolayısıyla da her 200 gebelikten birinde, dengesiz kromozom yapılı fetüs taşıma riski mevcuttur. Bu risk, translokasyonun tipine, etkilediği kromozoma ve annenin-babanın taşıyıcı olup olmamasına göre değişmektedir. İkinci trimesterde Amniyon sıvı örnekleme yapılan gebelerde görülme riski % 8.5 ve birinci trimester koryon villi örnekleme yapılan gebelerde görülme riski % 13.3'dür.

Ultrasonografik olarak gelişme geriliği saptanan vakalarda gerek amniyotik sıvı hücre kültüründe, gerekse fetoskopi veya kordosentez (KS) ile elde edilen fetal kan örneğindeki kromozom analizinde, anormal karyotip saptama oranı % 10 civarındadır. Eğer multipl malformasyon varsa bu oran % 26'ya yükselmektedir. (5)

Prenatal tanı endikasyonlarını Tablo - II'de inceleyebiliriz (14).

#### Tablo-II. Prenatal Tanı Endikasyonları

##### Öyküde;

- İleri anne yaşı,
- Önceki çocukta kromozom düzensizliği,
- Anne veya babanın dengeli kromozom düzensizliği taşıyıcısı olması,
- Ailede kalıtsal metabolik hastalık öyküsü,
- Ailede hemoglobinopati öyküsü,
- Öyküde iki veya daha fazla spontan abortus,
- Eşler arasında akrabalık ilişkisi,
- İntrauterin enfeksiyonlar (genetik dış etkiler),

##### Gebelik sırasındaki izlem muayenelerinde;

- Ultrasonografik incelemede artmış nukhal mesafe,
- Maternal serum biyokimyasal taramalarında (ikili-üçlü test gibi) yüksek risk
- Patolojik ultrasonografik bulgusu (fetal anomali, şiddetli gelişme geriliği gibi)

Down sendromu, konjenital mental sakatlıkların en yaygınlarından biridir. Çoğu ebeveyn, tanının doğum öncesinde konulmasını ve etkilenmiş hamileliğin sonlandırılmasını ister. Prenatal tanı açısından önemi, bu yönde ortaya çıkmaktadır.

Down sendromlu çocukların ense kalınlıkları, diğer çocuklara göre daha fazladır. Özellikle 11. hafta itibari ile normal fetüse göre daha kalındır.



1990’larda tarama yöntemi olarak 10-14 gebelik haftaları arasında anne yaşı ve Fetal Nukkal translüsensi (NT) ölçümünün kombine olarak kullanılabileceği ileri sürülerek bir çalışma başlatıldı. Bu tarama metodu, aslında 100 yıldan fazla bir süredir bilinen iki gözleme dayanmaktadır. İlki 1866 yılında Dr. Landon Down tarafından gözlenen ve tarif edilen Down sendromlu çocukların enselerinin gövdelerine göre daha kalın olduğu görüşü, diğeri ise Fraser ve Mitchel’in 1876’da bu durumun,ileri anne yaşı ile ilişkili olduğu görüşüdür. Down sendromlu fetüslerde ,eğer ense cilt altı kalınlığında artış (NT) varsa, gebeliğin ilk üç ayında ultrason ile görülebileceği bugün artık bilinmektedir.

Anne yaşı ve fetal NT ile tarama yapıldığı takdirde % 5 yanlış pozitif sonuçla Trizomi 21’li fetüslerin % 80’i saptanabilmektedir. Eğer 10-14. gebelik haftasında bu iki parametreye maternal serum serbest beta human koryonik gonadotropin (free-BhCG) ve “Pregnancy Associated Plasma Protein A” (PAPP.A) (Gebelikte ilişkili Plasma Protein A) ölçümleri de eklenirse, kromozomal anomaliyi saptama hassasiyeti % 90’a ulaşmaktadır. Anne yaşı, tek başına kullanıldığında saptama yüzdesi % 30, üçlü testte % 60 olarak kabul edilirse, bu tarama tekniğinin daha anlamlı olduğu görülür. Daha da öte, 10-14. gebelik haftasında NT’de artış, birçok kromozomal anomalinin yanı sıra kardiyak anomalilerin ve bazı genetik hastalıkların bir ön bulgusu olarak da karşımıza çıkmaktadır. (16)

Doğumsal anomali nedenlerinden birisi, akraba evlilikleridir. Özellikle ülkemizin de aralarında bulunduğu bazı ülkelerde akraba evlilikleri oldukça yaygındır. Bu evliliklerin sonucunda konjenital anomali sıklığının arttığı bilinmektedir. Bu durum sonucunda, önemli toplumsal ve ekonomik sorunlar karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde akraba evliliklerinin önlenmesi konusunda çeşitli kuruluşlarca başarılı çalışmalar yapılmasına rağmen sorun henüz çözüme ulaşmaktan uzaktır. (17)

Risk gruplarından biri de spontan abortuslardır. Genel olarak 20. gebelik haftası tamamlanmadan önce, gebeliğin sonlanmasına spontan düşük denir. Genetik faktörlerin spontan düşükleredeki rolü geniş çapta incelenmiş bir konudur.

Özellikle, ilk dönem düşük öyküsü bulunan hastalarda düşük materyali, kromozom analizleri sonucunda % 40-60 arasında bir oranda kromozomal anomali varlığı belirlenmiştir. Habitual abortuslar da anne ve babanın sitogenetik analiz sonuçlarında % 4.8-7.2 oranında anomali varlığı bildirilmektedir. Gebelik haftası

azaldıkça trizomi riski artar yani abortus ne kadar erken olursa trizomi riski de o kadar yükselir.

Ebeveyn kromozom çalışması, rölatif olarak sık olmakla birlikte düşük materyalinin sitogenetik analizi ender yapılır. Bu çalışmalar, konu ile ilgili laboratuvarlar tarafından güçlükle yürütülen yöntemlerdir. Güçlüğü yaratan nedenlerin başında düşük materyalinde kültür sırasında gelişen enfeksiyon, uygun olmayan doku analizi ya da alınan dokularda hücre canlılığının olmaması gelmektedir. Son 10 yılda gelişen bir uygulama olan CVS, fetüse ait sitogenetik araştırmaların bu güçlüklerine pek çok açıdan çözüm getirir niteliktedir. Özellikle direkt preparasyon yöntemi ve kısa süreli inkübasyon yöntemleri çalışmalar sırasında enfeksiyondan kaçınılabilmesini sağlamakta ve fetal dokuda maternal kontaminasyon riskini azalmaktadır. (16,18)

Ultrasonografi, (USG) modern obstetrik tanının önemli temel taşlarından birisini oluşturmaktadır. Ama önemli olan, bu işi yürüten kişilerin yeterince eğitilmiş olması şartıdır. Bu sayede USG'de bir standart oluşturulabilir. Fetal anomali veya gelişme geriliği de ultrasonda açığa çıkan endikasyonlardır. (16)

Yine bizim de tabloda gösteremediğimiz ama karşımıza ön tanı olarak çıkan endikasyonlar, teratojenik ilaç kullanımı ve hamilelikteki aşırı sigara kullanımıdır.

#### **2.4. Prenatal Tanıda Hizmet Organizasyonu**

Prenatal tanı, gebeliğin erken döneminde kalıtsal geçiş gösteren hastalıkların belirlenmesi ve etik/yasal değerler çerçevesinde gebeliğin sonlandırılmasıdır. Kalıtsal geçiş gösteren hastalıklar, tedavisi mümkün olmayan ve toplumlararası (ırklararası) farklılıklar gösteren hastalıklar grubudur. Bu grup hastalıklar, toplumların geleneklerinden ve sosyal davranışlardan ciddi bir biçimde etkilenirler. Toplumsal amaç o toplumdaki kalıtsal geçiş gösteren hastalıkların eradike edilmesi olmalıdır.

Amaç; yüksek nitelikli sağlık hizmetlerinin, toplumun tümüne homojen bir biçimde yansıtılması ve sağlıklı bir toplum elde edilmesidir. Sağlıklı toplum, sağlıklı nesillerin oluşturulması ile elde edilebilir. Sağlıklı genetik yapıya sahip bebeklerin, ana sağlığı da göz önünde tutularak, en iyi şekilde doğumun gerçekleşmesidir.

#### **2.4.1. Hizmet Organizasyonu**

I-) Birinci basamak sağlık hizmetleri ;

a-) Ana-çocuk sağlığı merkezleri

b-) Pratisyen hekimler, aile hekimleri

c-) Uzman doktorlar (Çocuk hastalıkları, kadın hastalıkları ve doğum, toplum hekimliği)

d-) Diğer (Organize olamamış hastane vb.)

II-) İkinci basamak sağlık hizmetleri; kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, pediatri uzmanlarına sahip kuruluş veya hastaneler

III-) Üçüncü basamak sağlık hizmetleri ;

Prenatal tanı için gerekli müdahalelerin yapılabileceği, gerekli biyolojik materyallerin, fetustan veya plasenta ve eklerinden alınabileceği; Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı İle Genetik Anabilim Dalı, Kardiyoloji, Metabolizma, Nöroloji, Hematoloji ve benzerlerine sahip Çocuk Sağlığı ve Hastalığı Anabilim Dalının bulunduğu kuruluşlar. Bu kademedede Radyoloji ve diğer laboratuvar hizmetlerinin verilebilmesi esastır.

IV-) Dördüncü Basamak Sağlık Hizmetleri; Üçüncü basamak sağlık hizmetleriyle birlikte Moleküler Biyoloji hizmetleri verebilen ve Prenatal Tanı teşhisi konduktan sonra hasta olduğu tespit edilen bebeğe müdahale edebilecek "Fetal Tıp" ünitesini içeren Kadın Hastalıkları ve Doğum ile Pediatrik Cerrahi Anabilim Dallarına sahip kuruluşlar.

Prenatal Tanı, 3. ve 4. basamak sağlık hizmetlerinde uygulanır. 1. ve 2. basamak sağlık hizmetlerinden ise destek alır. (19)

#### **2.5. Prenatal Tanıda Genetik Danışma**

Genetik danışma; hastanın ve ailesinin tıbbi gerçekleri anlamasında, kalıtımın söz konusu hastalıkta etkin rolünü , varsa yinleme riski oranlarını öğrenmesini ve bu risklere göre izlenecek en doğru yolun belirlenmesini, hastaya ve ailesine yardımcı olunmasını sağlayan bir iletişim olayıdır.

Genetik danışma sürecinde başlıca dört önemli işlev bulunur.

I. Yineleme risklerinin doğru belirlenmesi;

a-) Doğru tanı: Genetik danışma merkezlerine gönderilen hastalarda % 90'ın üzerinde tanı sorunu vardır. Öyle ise genetik danışma sürecinin en önemli bölümü ve ana işlevi doğru bir tanının teşhis edilebilmesidir.

b-) Ayrıntılı aile öyküsü: Ana-baba yaşı, akrabalık derecesi, üreme geçmişi, düşük, ölü doğum, ölü kardeş, hayattaki çocukların yaşı, cinsiyet ve sağlık durumları dikkatle kaydedilir. Ailedeki benzer olgular saptanır. Kalıtım örneği, fenotipik olarak benzerlik gösteren durumların birbirinden ayrılmasını sağlar. Aile öyküsü, çok zaman alır ama bazen tanı kuşkulu olsa bile risklerin hesaplanmasına olanak verebilir.

c-) Literatür: Hastalığın doğal gidişi ve özellikleri ile ilgili bilgi sağlanması gerekebilir.

II-) Tanı ve risklerin aileye anlaşılır biçimde aktarılması: Bu basamak, genetik danışmada son derece önemlidir. Danışma için gelen kişinin, kültür ve eğitim düzeyi önemli rol oynar. Bazı aileler, durumu tamamen yanlış anlayabildiği gibi doğru anlayanlar bile pratik önemini kavramayabilirler. Risk, bazen düşük (%5'in altında) bazen de yüksektir (% 25-50). Genel toplum riskini de hesaba katarak durumun, her aileye anlayacağı biçimde aktarılması oldukça pratiklik isteyen bir görevdir.

III-) Riskleri değerlendirmede ve riske uygun önlemleri almada aileye yardımcı olmak: Bu konuda her ailenin tutumu kişisel olmakta, bazıları % 5'lik riski yüksek kabul ederken bazıları % 25-50 riski makul karşılamaktadır.

IV-) İzleme: Genetik danışmada son basamak hastanın izlenmesidir. İzleme son derece önemlidir. Çünkü geçen zaman içinde ailenin sorun karşısındaki tutumu değişebilir veya hastalıkla ilgili gerçekler değişebilir. Sonraki görüşmeler; ailenin, gerçekleri daha iyi anlamasına yardımcı olduğu gibi bizlerin de yanlışlarımızı öğrenmemize yardımcı olur.

Prenatal tanı yapılmasını düşünen ebeveyn, bilgi ihtiyacı içerisinde. Prenatal tanının profesyonel ekibi (hekim, hemşire ve genetik danışman) durumu değerlendirmeli, genetik riski belirlemeli ve diğer genetik problemleri de düşünmelidir. Özellikle ebeveynlere uygulanacak taşıyıcılık testleri etnik kökene veya aile hikayesine göre değişir. Örneğin Tay-Sachs hastalığının, Yahudi kökene bağlı olması gibi.

### 2.5.1. Prenatal Tanıda Genetik Danışma Kuralları

- 1-) Etkilenmiş fetüsteki risk
- 2-) Özel problemlerin doğal ve olası sonuçları
- 3-) Kullanılan prosedürde risk ve sınırlama
- 4-) Yayınlanabilecek rapordan önceki zaman ihtiyacı
- 5-) Herhangi bir girişimdeki ihtiyaçlar için uygulanacak prosedür

Bunlara ek olarak aileye sonraki aşamalar için bilgi verilmeli, ekstra testlerin de yapılabileceği söylenmelidir. Sonuçların hiçbir zaman tam olarak kesin olmayacağı belirtilmelidir. Sonuçta, aileyle hamileliğin sonlandırılması konusu tartışılmalıdır.

Prenatal tanı, elde edilecek sonucun doğruluk derecesinden sorumludur. Aynı zamanda çıkabilecek anormal bir sonuç halinde, hamileliğin devam ettirilip ettirilmemesi sorumluluğu aileye aittir. Bu, genetik danışma sırasında aileye anlatılmalıdır. Prenatal tanının amacı, elde edilen sonucun, fetüsü etkileyip etkilemediğini ortaya çıkarmaktır. Genetik danışma, etkilenmiş fetüsün teşhisiyle, aileye hem medikal hem de duygusal yönden ne yapması gerektiği konusunda bilgi verir (6, 20, 21, 22).

Her 13 gebelikten birinde kromozom anomalili fetüs oluştuğu, ilk trimester spontan düşüklerinin % 50'sinde kromozom anomalisi saptandığı, canlı doğan bebeklerin % 0.4'ünde kromozom defekti ve buna ek olarak % 0.2'sinde dengeli kromozom defektleri bulunduğu ve tüm doğumların % 3-5'inde majör konjenital malformasyon, mental retardasyon veya genetik anomali bulunduğu göz önüne alındığında genetik danışma özellikle ülkemiz gibi akraba evliliklerinin çok olduğu toplumlarda değer kazanmaktadır. Ülkemizde akraba evlilikleri Trakya bölgesinde % 1 iken Doğu Anadolu'da bu oran % 40'lara kadar yükselmektedir. Nüfus ve sağlık araştırmalarında akraba evliliği oranı genel olarak % 21 düzeyinde verilmektedir. Akraba evliliklerinde, % 83'ünün birinci ve ikinci derece akrabalar arasında yapıldığı göz önüne alınırsa, bu tür evlilikler genetik olarak riskli kabul edilmektedir. Genetik danışmanlık hizmeti, çok ileri bir anlayış içinde, gebeliğin planlama evresinde yapıldığı gibi, gebelik sırasında da bazı ülkelerde rutine bağlanmış bir prosedürdür (5,23).

## 2.5.2. Prenatal Tanının Sosyal ve Medikal Yanları

Genetik danışma sırasında; hastaya, hastalık ve prenatal tanıda uygulanan teknikler hakkında bilgi verilir. Bu aşamada uygulanan müdahalenin iki yönü vardır. Birincisi; anneye canının acıyabileceği bir müdahale yapılmaktadır, ikincisi ise bir anne için en kıymetli varlık olan çocuğuna, anne karnında müdahale edilecek olmasıdır. Bu noktada hastada suçluluk ve pişmanlık duyguları baskınken, kendisine yönelik işlem nedeniyle de korku ve kızgınlık duyguları vardır. Non-invazif teknikler bu noktada üstündür ancak çoğu hastalık için de değişik invazif yöntemler gerekebilmektedir. Yapılan işlem sonucunda genetik geçiş tipine göre belli bir yüzde ile bebeğin hasta bulunma olasılığı vardır. Hastada “bebeğime bir şey olacak mı?” korkusuyla birlikte aynı anda hasta ise bebeği istememe duygusu birlikte yaşatılacaktır. Bebek hasta çıkarsa düşünge gidilmesi konusuysa farklı bir sorundur. Yukarıda anlatılan nedenlerle hasta ikileme düşeceğinden yasal ve etik değerler çerçevesinde ailelerin de yönlendirilmesi ve rehabilite edilmesi zorunludur. Olayın psikolojik ve psikososyal yönleri göz ardı edilmemelidir. Bebeği hasta bulunduktan sonra düşüğü kabul etmeyip gebeliğe devam etmek isteyenlerin durumu da çok özeldir. Bu durumlar başarısız “genetik danışma”nın sonucudur. Burada etik açıdan tartışmalı olan danışma sırasında yönlendirici olma gereğidir. Etik açıdan diğer önemli bir konu da bir canlıya kendi izni olmadan müdahale edilmesidir.

Genetik danışma, istatistik değerlendirmelerin iyi yapılabildiği telekomünikasyonun iyi olduğu yerlerde başarılı olabilir.

Genetik danışma yer yer bilgilendirme, yer yer de yönlendirme biçiminde olabilmektedir. Genetik danışma ve yardımlaşma iç içedir. Asıl önemli olan “ham kararın” tıbbi yapı tarafından alınması ve aile ile birlikte işlenerek son kararları aileye aldırmasıdır. Sorun,hekimin ne kadar yönlendirici olacağıdır ve bunun bilinen bir ölçüsü yoktur. Hastaya tanı amacıyla yapılan müdahalelerde mutlaka denetim bulunmalıdır.

### 2.5.3. Genetik Danışma Çeşitleri:

- 1) **Toplumsal:** Birinci ve üçüncü basamak sağlık kuruluşları ile devlet organları,
- 2) **Evlilik öncesi:** Birinci basamak sağlık hizmetleri çerçevesinde,
- 3) **Gebelik öncesi:** Üçüncü basamak sağlık hizmetleri veya onun kontrolünde birinci basamak sağlık kuruluşlarında,
- 4) **Prenatal tanı sonrası danışma:** Üçüncü basamak sağlık kuruluşlarında (24).

### 2.6. Prenatal Tanının Etik Yönü

Tıpta, etik problemlere şematik olarak yaklaşmak doğru değildir. Chervenak ve Mc Collough, etiği ; tolere edilebilen veya tolere edilemeyen ancak iyi ve doğru davranışı arayan ahlak olarak tanımlamaktadır. Bu tanımın içine kişisel veya ailesel deneyim, gelenek, sosyal ve toplumsal inanışlar, etnik faktörler, coğrafya, din, ulusal tarih ve kanunlar gibi kavramlar girmektedir. Etik, net ve tutarlı olmalı, güncel ve uygun davranış kurallarını empoze etmelidir.

Tarama programları ve prenatal tanı öncesi danışmanlık etik açıdan incelendiğinde tarama programlarının esasen kişisel değil, sosyal olduğu ve gebenin buna katılıp katılmama özgürlüğünün kendisinde olduğu görülmektedir. Bununla birlikte prenatal tarama programları üzerinde ağırlıklı olarak durulmalıdır. Hastaya prenatal tanının amaçları, sınırları, potansiyel riskleri ve tanıyı yaptırmamanın getirebileceği olası sonuçlar hakkında yeterli bilgi verilmelidir. Herhangi bir hastalık için alternatif tanı metodları bulunduğu (ikinci trimester de amniyosentez, koryon villus örnekleme gibi) bunların avantajları ve dezavantajları tarafsız bir şekilde gebe ile tartışılmalıdır. Seçilen metodun dezavantajları, tanı sınırları, riskleri, getireceği yararlar, pre ve postnatal tedavi olanakları gebeye anlatılmalıdır.

Her ne kadar prenatal tanının inisyel amacı olsa da pozitif bir sonuca bağlı gebeliğin sonlandırılması daima anne adayının alması gereken en son karar olmalıdır. Gebeliği sonlandırma kararı kişisel olmalıdır. Ailenin ve uzmanın ahlaki değerlerine ve dini inançlarına saygılı kalınmalıdır (5, 25).

Henüz pek çok hastalık prenatal yünden tanınmamaktadır bununla birlikte her ay prenatal tanı için uygun yeni hastalıklar listeye eklenmektedir. Bu hızlı

gelişmeler sayesinde prenatal tanı, genel medikal ve genetik kliniklerinin vazgeçilmez unsuru olacaktır (6).

## 2.7. Prenatal Tanı Teknikleri

İnvazif prenatal tanı ile ilgili ilk raporlar, tarihsel perspektif içinde 1950'lerden sonra ortaya çıkmıştır. Ancak prenatal tanı alanındaki en belirgin ilerlemeler, özellikle 1980'lerden sonra, ultrasonografi teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak artmıştır. Bu dönemden sonra yapılan çalışmalar, katlanarak ilerlemiş, çok daha cesur, doğru ve yeterli girişimler yapılmış ve komplikasyon oranları belirgin olarak azalmıştır. (5)

Risk unsuru taşıyan gebeliklerde, fetüsün değerlendirilmesine yönelik direkt veya indirekt tetkik yöntemleri mevcuttur. Direkt incelemede, invazif teknikler kullanılmaktadır. İndirekt incelemede ise non-invazif yöntemler kullanılır (Tablo-3.)

**Tablo-3. Prenatal Tanı Yöntemleri**

<p><b>İnvazif Yöntemler:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>-Amniyosentez (AS)</li><li>-Erken amniyosentez (eAS)</li><li>-Koryon villus örnekleme (KVÖ)</li><li>-Fetal kan örnekleme (FKÖ)</li><li>-Fetoskopi / Embriyoskopi</li><li>-Fetal Doku örnekleme</li><li>-Konvansiyonel olmayan örnekleme (KOÖ)</li></ul> <p><b>Noninvazif Yöntemler:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>-Preimplantasyon genetiği</li><li>-Maternal dolaşımda fetal hücreler</li><li>-Biyokimyasal belirteç taramaları</li><li>-Ultrasonografi</li><li>-Fetal ekokardiyografi</li><li>-Vajinal ya da servikal lavaj</li></ul>
--



Bugünlerde İnvazif ve non-invazif metodların her ikisi de prenatal tanı alanında kullanılmaktadır. AS ve CVS, fetal kayıp riskinin çok az olduğu invazif tekniklerdir. Maternal serum tarama, üçlü tarama kombinasyonları ve ultrasonografi, geçmişinde düşükleri olan hamilelerde bile hiçbir risk taşımadan kullanılabilir. Maternal serum tarama, fetüste Nöral Tüp Defekti, Down Sendromu gibi kromozomal anomalilerin arttığı durumlarda defektin tanımlanmasına yardımcı olur. Ultrasonografideki hamilelik haftası, fetal gelişimin değerlendirilmesine ve fetüsteki morfolojik anormalliklerin teşhisine yardımcı olur. Son zamanlarda 200'den fazla genetik defekt AS ve CVS ile teşhis edilebilmektedir. (6)

Bu tekniklerin bazısında komplikasyon çok azdır ve başarıyla sonuçlanan gebelik mümkün olmaktadır. Bazısında ise komplikasyon fazladır ve bu yüzden başarılı gebelik mümkün olamamaktadır. Koryon Villüs biyopsisi ilk trimesterde kullanılırken, amniyosentez ve kordosentez gibi yöntemler ise ikinci trimesterde uygulanan klasikleşmiş yöntemlerdir. Son zamanlarda gündeme giren FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) tekniğinde de sayısal ve yapısal anomaliler oldukça başarılı şekilde ortaya konabilmektedir. DNA ve enzimatik çalışmalar ise daha güç olup PCR gibi özel teknikler gerektirirler (14).

### **2.7.1. Amniyosentez:**

Fertilizasyon sonrası 12. günden itibaren embriyonal yapıya bitişik primitif amniyon ile çevreli bir yarık gelişmeye başlar. Amniyon kesesi hızlı bir gelişim gösterir. 12. gebelik haftasında 50 ml'lik bir amniyon sıvısı söz konusudur. Amniyon sıvısı 16 - 20 gebelik haftaları arasında  $300 \pm 100$  ml'lik bir miktara ulaşır. Fetüsün tüm salgıları, amniyon sıvısı içine olmaktadır (Kümülatif bir salgı olan idrar, mukoza salgıları, derinin fizyolojik ürünleri gibi). Tüm bu bilgiler ışığında kan biyokimyası gibi, amniyon sıvısı biyokimyası kavramı da karşımıza çıkmaktadır. Alınmasındaki kolaylık, yansıttığı metabolik olayların önemi, amniyon sıvısını "fetal tıbbın" vazgeçilmez unsurlarından biri yapmaktadır. Amniyon sıvısındaki yaşamsal canlılık ve içerik; onu biyokimyasal, endokrinolojik, hematolojik, sitolojik, morfolojik, sitogenetik, moleküler genetik ve biyokimyasal genetik çalışmaları bakımından

cazip kılmaktadır. Günümüzde prenatal tanı amacıyla yapılan amniyosentezlerin büyük bölümü sitogenetik çalışmalar içindir.

**2.7.1.1. Klasik Amniyosentez:** Amniyosentez; 12. gebelik haftasından itibaren değişik yaklaşım biçimleriyle amniyon sıvısı elde etmektir. Prenatal tanıda; klasik amniyosentez, gebeliğin 16 - 20. haftaları (tercihen 16 - 18) arasında ultrason altında trans - abdominal yaklaşımla ortalama 20 ml amniyon sıvısının elde edilmesidir. Amniyosentez, 1950'li yıllardan beri yapılmaktadır. Önceleri, fetal cinsiyet tayininde kullanılan bu yöntem, teknolojik alandaki son gelişmeler nedeniyle değişik kademeli boyutlara sahip olmuştur. Fetal tıp multidisiplinerdir. Endikasyon, tanıda kullanılacak laboratuvar testi ve gerekli fetal doku üçgeni her merkez için ayrı ayrı değerlendirilmelidir.

**2.7.1.2. Erken Amniyosentez:** Belli bir kısıtlama doğru olmamakla beraber 10. - 14. gebelik haftaları arasında yapılan amniyosenteze “erken amniyosentez” diyebiliriz. Bu gebelik haftaları arasında amniyon sıvısının miktarı tam olarak bilinmemektedir. İdeali, tam aydınlanmamakla birlikte 12. gebelik haftaları arasında amniyon sıvısının miktarı 1 - 2 cc , 14. gebelik haftasında ise 5 cc amniyon sıvısı problem olmadan alınabilmektedir. Birçok çalışma henüz sonuçlanmadığından ve epidemiyolojik sonuçlar için zaman gerekeceğinden tedbirli olmakta fayda vardır. Erken amniyosentez için değişik filtrasyon teknikleri önerilmektedir. Kullanılacak materyal fetal hücreler ise öncelikle iki kompartmanlı şırıngalar ile amniyon sıvısı alınmakta, arkasından kültür ortamına doğrudan uygulanacak filtrasyon plağı içeren kısımdan kaviteye geri verilmektedir. Elde edilen hücreler filtrasyon plağından kültür ortamına ekilebildiği gibi doğrudan incelenmeye de alınabilmektedir. İnsitu hibridizasyon tekniklerinin sadece metafaz aşamasındaki hücrelere değil interfaz aşamasındaki hücrelere de uygulanabilmesi prenatal tanı boyutlarını değiştirmektedir. Böylece daha kısa sürede tanı koyma imkanı söz konusudur. Şu anda araştırma ve geliştirme aşamasında olan bu tekniklerin maliyeti yüksektir. Ancak bunlar rutine girdiği zaman kültür çalışmalarının iş yükü de azalacağından maliyet düşecektir.

**2.7.1.3. Geç Amniyosentez:** 24. gebelik haftasından sonra yapılan amniyon sıvısı örneklenmesi geç amniyosentezdir. Geç amniyosentez bugünkü kullanımı biçimi ile geçersizdir. Ancak fetal tıp geliştikçe yeni boyutlarla yeniden gündeme geleceği kesindir.

**2.7.1.4. olosentez:** Gebeliğin 12. haftasında ekstra embriyonik mezodermden gelişen ekstra embriyonik lomik kavite, amniyon kesesini vrelemekte ve lomik sıvı adını verdiğimiz oluşumu içermektedir. lomik sıvı, özellikle 6. haftadan 10. haftaya kadar hızlı bir artış göstererek 12. gebelik haftasına kadar artar, sonra azalır ve alınması mümkün olmayabilir. Sıvıdan elde edilen hücrelerin yapısı günümüz teknikleri ile sitogenetik çalışma amaçlı kültürlerde iyi sonuç elde edilmesine imkan vermemektedir. Ancak polimeraz zincir sentezi gibi DNA analizleri ve insitu hibridizasyon gibi immün - histokimyasal teknikler, ile prenatal tanı çalışmaları yapmak mümkündür (26, 27, 28, 29).

### **2.7.2. Koryon Villus rnekleme (CVS):**

CVS , prenatal tanıda sık kullanılan invazif bir yöntemdir. Fetal cinsiyet tayini amacıyla 1970'li yıllarda transservikal yoldan denenmiştir. Barr Body belirlemeye dayanan bu tetkikler in ve o zamanki Sovyetler Birliği'nde kullanılmış ve bu teknik, 1981'de Brambati ve Simoni'nin (30) katkılarıyla gerçek yerini bulmuştur. Daha erken gebelik haftalarında uygulanabildiği için 1980'li yıllarda avantajlı bir yöntem olarak kabul edilmiş ve bugünkü konumuna gelene kadar çok yaygın biçimde kullanılmıştır.

CVS; erken uygulanabilmesi, fetüse doğrudan müdahalenin olmaması, fetal zarlara tahribat verilmemesi ve özellikle DNA alışmaları için avantaj kabul edilecek biçimde fazla materyal elde edilmesi nedeni ile tercih edilmektedir. Koryon villus örneklemesinin dezavantajları ise klasik amniyosenteze göre göreceli olarak zor olması, alınan hücrelerin doğrudan fetal hücreler olmaması, elde edilen materyalin klasik sitogenetik tetkikler için ideal olmaması ve fetüs üzerinde muhtelif olumsuz etkiler göstermesidir. CVS, bir doku örnekleme tekniği olup prenatal tanıdaki yerini endikasyonlar ve kullanılan laboratuvar teknikleri belirlemektedir. CVS materyalinde doğrudan metafaz veya diğer aşamalardaki hücreler değerlendirmeye alınabileceği gibi kültür çalışmalarını takiben sitogenetik çalışma da yapılabilir (29, 31).

### **2.7.3. Kordosentez (KS):**

Fetal kan örnekleme veya kordosentez fetal kanın, çeşitli yöntemlerde elde edilmesidir. Kordosentez, prenatal tanı ve perinatal takip çalışmalarının vazgeçilmez bir yöntemidir. Maternal ve fetal risk açısından klasik / erken amniyosentez ve CVS'e göre dezavantajlı tarafları vardır. Kordosentez, riskli olmasına rağmen prenatal tanıda halen uygulanmaktadır. CVS, erken gebelik haftalarında uygulanabilmesi nedeni ile prenatal tanıda önemlidir. Prenatal tanı için geç kalınan başvurularda ve amniyosentez ile başarısız olduğu durumlarda kordosentez gündeme gelmektedir. Kordosentez, hızlı sonuç alınabilmesi ve birçok rutin laboratuvarda uygulanabilmesi açısından tercih edilmektedir. Heparinize edilmiş enjektör yardımıyla, USG eşliğinde umbilikal , kordondan fetal kan örneğinin alınması ile yapılır (19, 27).

### **2.8. Prenatal Tanıda Tarama Testleri**

Prenatal tanı araştırmalarında ön tanı çok önemlidir. Özellikle gitgide gelişen Floresans In Situ Hibridizasyon ve PCR çalışmalarında, ön tanının değeri daha fazla ortaya çıkmaktadır. Tanının doğru konulup tetkiklerin bu yönde yapılması, zaten büyük bir stres altında olan aileyi daha fazla rahatsız etmeden yönlendirmek demektir. Tanıyı kolaylaştıran etmenler tarama testleridir (25).

Tarama, seçilmiş bir popülasyonda belirli hastalıkların aranması olarak tanımlanabilir. Günümüzde, tedavisi olmasa da aileye genetik danışma verilebilmesi, prenatal tanı yapılabilmesi ve hatta araştırma amacı ile yeni teknolojiden yararlanarak tarama kapsamının genişletilmesi dikkat çekmektedir. İdeal bir tarama için kullanılan testlerin kısa sürede sonuç verebilmesi, çok sayıda hamileye birden uygulanabilmesi, yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuç verme oranının düşük olması tercih edilmektedir.

Prenatal tarama testleri:

1) Gebeliğin 11. - 14. haftaları arasında yapılan ultrasonografide görülen değişiklikler: Down sendromlu fetusların ense kısmında bu gebelik haftalarında artış olduğunun saptanması üzerine bu bulgu, Down sendromu taramasında kullanılmaya başlamıştır. Buna "Nokal Translüsensi" (NT) denilmektedir.

2) Maternal serum tarama, hamileliğin 15. – 20. haftaları arasında yapılır. Yaygın bir şekilde nöral tüp defekti (Spina bifida veya anensefali). Down sendromu ve Trizomi 18 için kullanılır.

3) Üçlü test: Alfa Feto Proteine ek olarak diğer iki biyokimyasal belirleyicinin (ankonjuge estriol ve human korionik gonadotropin) anne kanında aranması, Down sendromu için uyarıcı nitelikte bir tarama testidir.  $\alpha$  Feto Proteinin ilk teşhisi 1980'lerde olmuştur.

$\beta$  Human Korionik Gonadotropin ve Estriol'un teşhisi daha sonraki yıllara dayanır. Üçlü test için kullanılan kabul edilebilir değer 1/250 veya 1/300'dür. Bu değerler pek çok laboratuvarıda halen değişmektedir.

4) Fetal Ultrasonografi: Gebeliğin saptanması, gebelik yaşının belirlenmesinin yanısıra; fetüsün değişik gelişim basamaklarının değerlendirilmesi, bazı malformasyonların belirlenebilmesi için, bir tarama yöntemi olarak kullanılmaktadır (32, 33, 34, 35, 36).

### **2.9. Prenatal Tanı Laboratuvarı İçin Standart Kurallar**

1) Tanı örneğinin, geçerli ve güvenilir bir şekilde tanımlanamaması: Kültür sıvısının değiştirilmesi sırasındaki hata, ekim esnasında kontamine olmuş plastik veya cam laboratuvar malzemenin kullanılması, teknik hatalar ve dikkatsizlik gibi etkenler hamileliğin yanlışlıkla sonlandırılmasına neden olabilir. Doku kültürü, her olgu için titiz ve uzun sabır gerektiren işlemdir.

2) Doku kültürü yöntemlerinin başarısında, teknik araç ve gereçlerin kalitesi, kullanım kolaylığı ve sterilizasyonu çok önemli bir etkidir.

3) Sonuçların en uygun süre içinde elde edilebilmesi çok önemlidir. Amniyosentez, gebeliğin 16. – 18. haftalarında uygulanır, sitogenetik sonuçlar 10 - 21 gün içerisinde verilmelidir. CVS 8.haftadan sonra uygulanmalı, sonuçlar 48 saat ile 16 gün arasında, fetal kordosentez ise 19. haftadan itibaren uygulanır ve sonuçlar 48 - 72 saatte alınabilmelidir.

Eğer, fetal karyotipi oluşturmak 4 hafta veya daha fazla sürüyorsa; klinisyen ve araştırmacı nedenini araştırmalıdır.

4) Sonuçların değerlendirilmesi, sitogenetik bilgisi olan deneyimli, uzman kişilerce sağlanmalıdır.

5) İleri genetik çalışmalar için, gerektiğinde, eldeki tüm olanaklar kullanılmalıdır.

6) Genetiksel nedenlerle sonlandırılacak gebeliklerde, tanının doğrulanması ve takip çalışmaları yapılmalıdır.

7) Kayıtların gizliliği esas, etik ve yasal kurallar, araştırmacıya doğum öncesi tanıda büyük yükümlülükler getirmektedir. Araştırmacı, prenatal tanıdaki bilgilerin tıbbi amaç dışında kullanılmasına engel olmalıdır. Elde edilen sonuçları çok iyi değerlendirmelidir. Normal bir hamileliğin sonlandırılmasına neden olunmamalıdır.

## **2.10. Çoğul Gebeliklerde Amniyosentez**

Çoğul gebeliklerde, amniyosentez farklı yaklaşımlar gerektirmektedir. Rutin parametrelere ek olarak uygulayıcı, değerlendirmelerini her iki gebelik kesesi için ayrı ayrı yapmalıdır. Çoğul gebeliklerde amniyosentez tek iğne ya da çift iğne tekniği ile yapılabilir.

Uygulamada sıklıkla tercih edilen; ilk keseden yapılan aspirasyondan sonra kese içine bir miktar boya (indigo carmine) bırakmaktır. Böylece diğer kesenin örneklenmesi sırasında, hatadan kaçınılır. İkiz gebeliklerde, amniyosentez sonrası spontan düşük oranı % 2 - 17 arasında değişmektedir (5).

Çoğul gebelikler, tekil gebelikler ile karşılaştırıldığında hem anne ve hem de fetusa ait komplikasyonların önemli ölçüde artması nedeni ile yüksek riskli olarak kabul edilirler.

## **2.11. Kromozomların Morfolojik Özellikleri**

Kromozomlar, ışık mikroskobu kullanılarak mitoz bölünmenin metafaz evresinde incelenirler (1). İnsan somatik hücrelerinde bulunan 46 kromozom 23 çiftten oluşur. Bu 23 çiftin 22'si erkeklerde de kadınlarda da benzerdir ve bu kromozomlar, otozomal kromozom olarak isimlendirilirler. Kalan diğer çift ise sex kromozomlarıdır. Bu kromozomlar, kadınlarda XX, erkeklerde ise XY olup

gonozomal kromozom olarak adlandırılırlar. Her bir kromozom çiftinin üyeleri, homolog olarak adlandırılır ve birbirlerine uyan genetik şifre taşırlar. Diğer bir deyişle aynı sırada aynı gen loküsünü taşırlar. Her kromozom çiftinin bir üyesi babadan, diğeri ise anneden gelir. Bilinen bir insan hücresinin kromozomları en iyi, mitozun metafaz ve prometafaz evresinde analiz edilirler. Bu dönemlerde mikroskop altındaki kromozomlar, sentromerde birleşmiş 2 kromatidden oluşmuş olarak görülürler. Her kromatid çift, sarmallı bir DNA içermektedir. Normal kromozomlarda görülen bazı morfolojik özellikler şunlardır (17, 18).

**a) Sentromer:** Kromozomların en soluk boya alan kesimidir. Her kromozomda yalnızca bir tane olan sentromerler, hücre bölünmesi sırasında kromozomların iç ipliklerine tutunmasını sağlarlar. Kromozomlar sentromerlerin lokalizasyonuna göre üç gruba ayrılırlar ve bunların dışındaki örnekler genellikle normal sayılmazlar.

**1) Median (Metasentrik) Kromozom:** Sentromeri ortada ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlar.

**2) Submedian (Submetasentrik) Kromozom:** Sentromerleri merkezden uzak ve iki kolu birbirine eşit olmayan kromozomlar.

**3) Akrosentrik Kromozom:** Sentromeri kromozomun bir ucuna çok yakın olan kromozomlar.

İnsan kromozomları 34 metasentrik ve submetasentrik, 10 akrosentrik otozom ile 1 submetasentrik (X) ve 1 akrosentrik (Y) gonozomdan oluşurlar.

**b) Satellit (Uydu):** Belirli kimi kromozomların kısa kollarına ince bir sap ile bağlanan yuvarlak düğme biçimindeki kromatin materyalidir. D (13 - 15) ve G (21 - 22) grubu kromozomlarının tümünün kısa kollarında bir satellit bulunur.

**c) Sekonder Darlık:** Tüm kromozomlarda, sentromer olmasına rağmen bu oluşum ancak belirli kimi kromozomlarda (özellikle 1, 3, 9 ve 16 numaralı kromozomlar) görülür ve ayrıca sentromerden daha açık boyanırlar. Kromozomların uzun kolunda olup sentromere bitişiktirler ve uzunlukları farklılıklar göstermektedirler. Akrosentrik kromozomlarda görülen sekonder darlık, yani satelliti gövdeye bağlayan sap ise çekirdekcik oluşumu ile ilgilidir.

## 2.12. Kromozom Terminolojisi

Kromozomların homolog çiftlerinin bir araya getirilerek düzenlenmesine karyotip denir. Kromozomlar belirli bir sıraya göre dizilirler. Karyotip, her tür için özgündür. Bununla birlikte karyotip terimi tek bir hücre için bile karakteristiklik gösterir .

İlk olarak 1956 yılında Tjio ve Levan (7) tarafından insanda var olan kromozom sayısı, ortaya çıkarıldıktan sonra ( $2n = 46$ ) karyotip yerleştirilmesinde pek çok değişiklik yapılmıştır. Bundan dolayı bulguları standartlaştırmak ve belli ilkeleri saptamak için 1960 yılında Denver'de (A.B.D) genetikçilerin ilk uluslararası toplantısı yapılmıştır. Bu toplantıda kabul edilen sisteme Denver sistemi ya da Denver klasifikasyonu denmiştir. Daha sonraki yıllarda yapılan toplantılarla bu klasifikasyon geliştirilmiştir.

Buna göre insanda 22 çift otozomal kromozom; dişide iki tane X kromozom erkekte ise bir X ve bir de Y kromozomu bulunur. Karyotip yazılırken virgülden önce kromozom sayısı, virgülden sonra cinsiyet ve yapısal değişiklikler belirtilir (46,XX veya 46,XY gibi). Karyotipte cinsiyet kromozomlarının yeri, 22 çift otozomal kromozomdan sonradır. 22 çift otozom kromozomları yedi gruba ayrılmaktadır (A, B, C, D, E, F, G). Cinsiyet kromozomları dışındaki kromozomlar en büyükten başlamak üzere 1 - 22 arasında numaralandırılmaktadır. Grup A'da sentromerleri ortaya yakın en büyük üç metasentrik kromozom çifti, Grup B'de sentromer uca hafif yaklaşmış en büyük iki submetasentrik, grup C'de daha küçük yedi çift submetasentrik kromozom, Grup D'de sentromeri uca iyice yaklaşmış üç çift akrosentrik kromozom, Grup E'de biri küçük metasentrik, diğer iki çifti küçük submetasentrik üç çift kromozom, Grup F'de iki çift küçük metasentrik kromozom ve Grup G'de ise çok küçük iki çift akrosentrik kromozom bulunur. X kromozomu C grubu kromozomlarına benzer, Y ise G grubu kromozomlarına benzer (1, 2, 4, 6).



## 2.13. Kromozom Anomalileri

### 2.13.1. Sayısal Anomaliler

Somatik hücreler diploid sayıda ( $2n = 46$ ) olgun gamet hücreleri ise haploid sayıda ( $n = 23$ ) kromozom içermektedir. Gametlerdeki haploid ( $n$ ) ve normal somatik hücrelerin diploid ( $2n$ ) kromozom sayısı öploidi örnekleridir. İki grubu vardır:

1) **Öploidi (Euploidy):** Hücrelerdeki kromozom sayısının ( $n = 23$ ) tam katı kadar artış veya azalmalardır.

a) **Triploidi:** Temel kromozom sayısının üç kat oranında artmasıdır ( $3n = 69$ ).

b) **Tetraploidi:** Temel kromozom sayısının dört kat oranında artmasıdır.

c) **Endoredüplikasyon:** Sitoplazma bölünmesinin gerçekleşmemesi nedeniyle kendi katı kadar artmış kromozomların ikiye kromatidli kromozom çiftleri halinde olmasıdır.

d) **Yüksek Poliploidiler:** Karyotipte  $4n$ 'den daha fazla kromozom bulunmasıdır.

2) **Anöploidi:** Temel kromozom sayısının katları kadar olmayan artma ya da eksilmelerdir. Anöploidi, poliploidiye göre daha sık ortaya çıkar ve kromozomal sendromların büyük bir bölümünde gözlenen düzensizliktir.

a) **Hiperploidi:**  $2n + 1$  ve  $2n + 2$  gibi kromozom sayısındaki artmalardır.

b) **Hipoploidi:**  $2n - 1$  ve  $2n - 2$  şeklindeki kromozom sayısındaki azalmalardır.

c) **Miksoploidi ya da Mozaisizm:** Aynı zigottan kaynaklanan organizma ya da herhangi bir dokunun değişik hücrelerinde, değişik kromozom kuruluşuna rastlanması durumudur.

Anöploidi, insanlarda rastlanan kromozomal hastalıkların en yaygını ve en çok klinik önemi olan tipidir. Spontan düşük olgularında, anöploidi oranı % 70 - 75 olarak bildirilmektedir. Somatik hücre ve gametlerde hücre bölünmesi sırasındaki hatalar sonucu ortaya çıkan anöploidinin oluşumu başlıca iki mekanizma ile açıklanmaktadır.

a) Nondisjunction (Ayrılama)

b) Anafaz lagging (Anafazda geri kalma)

**a) Nondisjunction:** Birinci veya ikinci mayotik bölünme sırasında iki ayrı hücreye gitmesi gereken bir kromozom çiftinin her iki üyesinin birbirinden ayrılmayıp birlikte bir tek hücreye gitmesi olayıdır. Böylece söz konusu kromozomdan, gametlerin birinde hiç bulunmazken diğer gamette normalde bir tane bulunması gereken kromozomdan iki tane bulunmaktadır. Bu hatalı gamet, söz konusu kromozomdan bir tane içeren karşı cinsteki normal gametle birleşince, oluşan zigotta bu kromozomdan iki yerine üç tane bulunmakta ve böyle bir hücreye de trizomik hücre adı verilmektedir. Bu kromozomu taşımayan diğer hatalı gamet ise normal olarak bu kromozomdan bir tane taşıyan karşı cinsten gamet ile birleşince oluşan zigotta iki yerine bir kromozom bulunmakta ve böyle bir hücreye ise monozomik hücre adı verilmektedir.

**b) Anafaz lagging:** Anafazda, kutuplara göç sırasında ortaya çıkan hata sonucu, kromozomlardan bir tanesi yeni oluşan yavru hücrenin dışında kalmakta veya öteki grup ile birlikte diğer hücrelere gitmektedir. Geride kalan kromozom hiçbir hücreye gidemediğinden ortadan kaybolmuş ise, yeni oluşan iki hücreden biri normal, diğeri ise monozomik olmaktadır. Geride kalan kromozom diğer hücreye katılmış ise hücre trizomik olmaktadır.

### 2.13.2. Yapısal Anomaliler

Yapısal anomalilerin esas mekanizması kromozomda oluşan kırılmalardır. In vitro çalışmalar, iyonize radyasyonun, viral enfeksiyonların ve mutajenik kimyasal ajanların kromozom kırıklarına neden olduklarını göstermiştir. Kırıklar, ender olarak kendiliğinden meydana gelmektedir. Kırıklar sonucu oluşan kromozomal yeni yapılarda, genetik bilgi ve materyalin normal içeriği korunmuş ise yapısal anomali dengeli olarak, genetik bilgide eksilme veya artma söz konusu ise dengesiz olarak tanımlanmaktadır.

**1) Yer Değiştirme (Translokasyon):** Kromozom materyalinin, kromozomlar arasındaki değişimidir. Her iki kromozomda kırıkların oluşması ve normalin dışında bir yeniden düzenleme ile tamir edilmesi ya da mayoz sırasında homolog olmayan kromozomlar arasındaki rekombinasyondan kaynaklanmaktadır. Bu değişimde

genellikle DNA kaybı olmaz ve kişi klinik olarak normaldir (Dengeli Trans lokasyon).

2) **Artma (Duplikasyon):** Homolog olan ya da olmayan iki kromozomdan birinden kopan bir parçanın diğer kromozoma eklenmesidir.

3) **Eksilme (Delesyon):** Bir kırılma sonucu kromozomun küçük bir parçasının kopmasıdır.

4) **Gap (Aralık):** Kromozomun herhangi bir bölgesinde, kromatidin enini geçmeyen ve kromozom ekseninden sapsmış, boya almayan bir bölgenin görülmesidir.

a) **Kromatid gap:** Gap'in kromozomun bir kromatidinde görülmesidir.

b) **İzokromatid gap:** Gap'in kromozomun her iki kromatidinde görülmesidir.

5) **Kırık:** Kromozomun herhangi bir bölgesinde, bir kromatid enini aşan ve kromozom ekseninden sapan boyanmamış bölgelere denir.

a) **Kromatid kırığı:** Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin kromozomun bir kromatidinde görülmesidir.

b) **İzokromatid kırık:** Kırık olarak belirtilen bozukluğun, kromozomun her iki kromatidinde ve eş kesimlerinde görülmesidir.

6) **İki sentromerli kromozom (disentrik):** Kromozomda bir yerine iki sentromerin bulunmasıdır.

7) **Sentromersiz kromozom:** (asentrik kromozom, asentrik fragment) Birbirine paralel duran, sentromerleri görünmeyen ya da bulunmayan kromozomlardır.

8) **Minik kromozom (minute):** Sentromersiz kromozomlardan daha küçük kromatid çiftleridir. Görünüşlerinden dolayı kromozom ya da kromatin damlacığı olarak tanımlanırlar.

9) **Halka kromozom (yüzük, ring):** Kromozomun iki ucunun birleşerek yüzük görünümünü oluşturmasıdır.

10) **Yapışkanlık:** Kromozomların yığın haline gelmesidir.

11) **Satellit assosiasyonu:** Büyük ve küçük akrosentrik kromozomların metafaz plaklarında beklenenden daha sık olmak üzere kısa kollarındaki uyduları birbirine çevirmiş biçimde bir araya gelerek rozet biçimi toplanmalarıdır.

12) **İri satellitler:** D ve G. Grubu kromozomlardaki satellitlerin normalden büyük görülmesidir.

**13) Sentromer bölünmesinde asenkroni: Sentromerlerin aynı zamanda bölünmemesidir.**



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. GEREÇ

1999 - 2001 yılları arasında, sitogenetik çalışma için Anabilim dalımıza gönderilen, prenatal tanı endikasyonu olan gebeliklerden 317'si Amniyosentez 139'u Kordosentez 25'i CVS yöntemiyle olmak üzere elde edilen toplam 481 fetal örnekten, kromozom analizi yapılmıştır.

##### *1. Kullanılan Kimyasal Maddeler:*

- a) BIO - AMF - 1 Basal Medium  
(Biological Industries 136536)
- b) Nutrient Mixture F 10 Ham's (Sigma N - 6015)
- c) Fetal Bovin Serum (Sigma F - 4135)
- d) PHM-L (Seromed M - 5030)
- e) Demacalcine (Sigma D - 1925)
- f) KCI
- g) Glacial Acetic Acid (Merck)
- h) Methanol (Merck)
- ı) Xylol (Merck)
- j) Giemsa Stain Stock Solution (Sigma G - 3032)
- k) Heparin (Liquemine, Roche)
- l) Etil Alkol (% 96, Tekel)
- m) Serum Fizyolojik (Bacter)
- n) Trypsin 1 : 250 (Sigma T - 4799)
- o) Trypsin - EDTA Sol (Sigma T - 3924)
- ö) Sodium Phosphate ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) (Sigma S - 0876)
- p) Potassium Phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Sigma P - 5379)
- r) Distile Water (Sigma W - 3500)
- s) Collagenase V - Steril (Sigma C - 2674)
- ş) Ethidium Bromide 1 g (Sigma E - 8751)
- t) Basal Medium (Sigma B - 1522)

- u) L - Glutamin (Sigma L - 7513)
- ü) Penicillin - Streptomycin (Sigma P - 4333)

## **2. Kullanılan Solüsyonlar:**

- a) Hipotonik Solüsyonu (0.075 M KCl)
- b) Stok Tespit Solüsyonu (Fiksatif)  
3 Kısım Methanol : 1 Kısım Glacial Acetic Acid
- c) Fitohemaglutinin Solüsyonu  
PHM - L 5 mg + 5 ml Distile Water
- d) Söransan Tampon  
11.88 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + 1000 ml Distile Su  
9.08 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 1000 ml Distile Su (pH 6.8)
- e) Boya Solüsyonu  
95 ml söransan tampon + 5 ml Giemsa Stock Solution
- f) Tripsin Solüsyonu  
50 mg Tripsin + 100 ml izotonik solüsyonu
- g) Tespit Solüsyonu (% 50)  
50 ml Stok Tespit Solüsyonu + 50 ml Distile Su
- h) Giemsa (Direkt boyama için)  
5 ml Giemsa Stain Stock Solution + 95 ml Distile Su
- ı) Tripsin Solüsyonu (Giemsa Bantlama için)  
0.1 g Tripsin 1 : 250 + 100 ml izotonik Solüsyonu
- i) Asetik Asit Solüsyonu (% 60)  
60 ml Glacial Acetic Acid + 40 ml Distile Su
- j) İbramow Solüsyonu  
92 ml Distile Su + 5 ml Glacial Acetic Acid + 3 ml Methanol
- j) Ethidium Bromide Solüsyonu  
1 ml Ethidium Bromide + 9 ml Nutrient Mixture F 10 Ham's
- k) Kolagenaz V Solüsyonu  
5 mg Collagenase V + 5 ml Nutrient Mixture F 10 Ham's

### **3. Kùltür Ortamları:**

a. CVS ve AS için

100 ml Basal Medium (B10 - AMF - 1)+

2 ml Supplement + 1 ml Penicilin - Streptomycin

b. Kordosentez İçin

100 ml Nutrient Mixture F 10 Ham's + 18.5 ml Fetal Bovin Serum + 1.5 ml

Penicilin - Streptomycin

### **4. Aygıtlar ve Gereçler:**

a) Cytovision Ultra (Karyotyping and FISH Workstation Applied Imaging)

b) Mikroskop [Light (Nikon) ve Invert Phase Contrast (Olympus)]

c) Suplimentasyon Full Color Printer (Mitsubishi)

d) Zaman ayarlı santrifüj (Hettich Universal II)

e) Kuru Hava Sterilizatörü (Köttermann)

f) Değişik çapta enjektörler

g) Dikey Şaleler (100 ml)

h) Steril Cam ve Plastik Pipetler (5, 10, 15 ve 20 ml)

ı) 15 ml Steril Plastik Santrifüj Tüpü (Sigma C - 3048)

i) Kùltür Flaskı (70 ml, 25 cm<sup>2</sup>) (Sigma C - 7046)

j) Petri kapları (5, 10 ve 15 ml)

k) Mezürler

l) Traşlı Lam

m) 0.2 µ Sartorius Filtre

n) CO<sub>2</sub>'li Etüv (Heraeus)

o) UV lamba

ö) UV'li Laminar Air Flow (Clan Laf VFS 1806)

p) pH Metre (Consort P - 107)

r) Hot Plate (Jencons)

s) Vortex (Jencons)

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. PRENATAL TANIDA KROMOZOM ELDE ETME YÖNTEMLERİ

#### 1. Koryon Villus Örneklemesi (CVS)

Gebeliğin 8.haftasından 12. haftasına kadar, transservikal yolla ince plastik bir katater yardımı ile veya 13. haftadan itibaren 21 gauge'lik spinal bir iğne ile transabdominal yolla, Chorion frondosum'dan elde edilen villus materyalinden kromozom analizi yapılmıştır. Direkt ve hücre kültürü olmak üzere iki yöntem uygulanmıştır. Ultrason kontrolü altında serumsuz heparinize edilmiş Nutrient Mixture F 10 Ham's besi ortamı içeren 20 ml'lik enjektöre aspire edilen en az 10 mg doku, steril plastik petri kabına boşaltılmıştır . Doku kültürü mikroskobu, (Invert Phase Contrast) altında incelenmiştir. Kandan arındırılmış dokunun yeterli olup olmadığına bakılmıştır. Yeterli ise kromozom analizi için direkt ya da hücre kültürü yöntemi uygulanmıştır.

#### 1) Direkt Preparasyon:

a) En az 5 mg doku, medium (Ham's F 10) ortamında ,en az bir defa kandan arındırılıp, iğne ucu ile parçalanmıştır. 1-2 saat 37 °C de etüvde bekletilmiştir. Final konsantrasyonu 0.04 µg/ml olacak şekilde demacalcineden iğne ucu çıkarılarak 2'lik enjektör ile bir damla damlatılmıştır. Üç saat boyunca 37°C'de etüvde bekletilmiştir.

b) Besi ortamı, pasteur pipeti ile atılmış, iğne yardımı ile villus örneklerinin birbirinden ayrılmaları sağlanmıştır. Üzerine 4 ml 0.075 M KCI ilave edilip, 20 dakika 37 °C de etüvde bekletilmiştir.

c) Hipotonik solüsyon atıldıktan sonra, % 50'lik tespit solüsyonundan 3 ml ilave edilmiştir. Dökelti atılmış, 3 ml tespit solüsyonu eklenmiş ve 10 dakika bekletilmiştir.

d) Dökelti atılmış, villusların hafif kuruması beklenmiş, % 60'lık glassial asetik asit solüsyonundan 10 mg villus dokusu için 0.5 ml olacak şekilde ilave edilmiştir.



e) 15 dakika hücrelerin ayrışması beklenip doku kültürü mikroskopunda incelenmiştir.

f) Hot plate üzerinde bulunan 6 - 7 adet temiz lamdan her birine pastör pipetiyle 2-3 damla hücre süspansiyonu damlatılmış, L şeklindeki başka bir cam pastör pipeti ile hücrelerin yayılması sağlanmıştır.

g) Preparatlar 95 °C de yarım saat veya 37 °C de üç gün bekletilerek uygun boyama ve bant teknikleri uygulanmıştır.

## **2. Hücre Kültürü Yöntemi:**

a) En az 5 mg çok iyi arındırılmış villus dokusu, serumsuz Ham's F 10'nun bulunduğu steril petri kabına alınmıştır.

b) Steril iğne ile villi örnekleri küçük parçacıklara ayrılıp, en az üç kere mediumla yıkama işlemi yapılmıştır.

c) 3 ml tripsin - EDTA solüsyonu içeren steril petri kutusuna pens yardımıyla aktarılmış, 10 - 15 dakika 37 °C de bekletilmiştir.

d) Süre sonunda villuslar Kollagenaz V solüsyonu içeren 3 ml besi ortamına konmuştur, bisturi ucu veya iğne ucuyla küçük parçalara ayrıştırılıp, 10 dakika beklenmiştir. Santrifüj tüpüne pastör pipetiyle aktarılıp 1000 - 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Dökelti atıldıktan sonra iki kez yıkama - santrifüj işlemi tekrarlanmıştır.

e) Çökelti üzerine villus ağırlığına göre 5 mg doku için 4 ml olacak şekilde 37 °C'de ısıtılmış besi ortamı (BİO - AMF) ilave edilmiştir. İki adet kültür flaskı hazırlanıp, üzerine protokol, materyal, olgu adı ve tarih yazılarak hücreler aktarılmıştır. 7 gün boyunca CO<sub>2</sub>'li etüvde dokunmadan bekletilmiştir.

f) Süre sonunda kültür ortamının ½ si kültür mediumu ile tazelenmiş, doku kültürü mikroskopunda gerekli bilgiler kaydedilmiş ve yeterli üreme durumuna göre 2-3 günde bir kültür ortamının tamamı yenilenmiştir.

g) Süre sonunda doku kültürü mikroskopunda hücre üremesi kontrol edilmiş kültür flaskınının 1/3'ü hücre ile dolduğunda, 10 X büyütmeli alanda 4 - 5 mitoz gözleendiğinde bir damla demacalcine damlatılmıştır. 1 - 1.5 saat 37°C'de etüvde bekletilmiştir.

h) Kültür flaskı, tekrar doku kültürü mikroskopunda incelenerek, hafifçe 2-3 çırpma işlemi yapılmıştır. Besi ortamı temiz bir santrifüj tüpüne aktarılıp, flaska 1.5

ml tripsin - EDTA ilave edilmiştir. 10 dk. bekletilip hafifçe yıkanmış, bir önceki tüpe boşaltılmıştır. Hücrelerin üzerine film tabakası olacak şekilde birkaç damla tripsin - EDTA damlatılmış, 3-5 dk. bekletilmiştir.

k) Mikroskop altında, hücrelerin birbirinden ayrıldığı gözlemlendiğinde, 2 ml medium ortama ilave edilmiştir. Pipet ile hücreler tekrar bir önceki tüpe aktarılmıştır.

l) Kültür bir sonraki çalışmalar için besi ortamı ile yenilenerek CO<sub>2</sub>'li etüvde en az 2 gün bekletilmiştir.

m) Santrifüj tüpündeki hücreler hafifçe vortekslenerek, 1200 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

n) Dökelti atılıp, üzerine 8 ml hipotonik solüsyon ilave edilmiş, 15 - 20 dakika 37 °C deki etüvde bekletilip süre sonunda tekrar 10 dk. santrifüj edilmiştir.

o) Dökelti atılıp tüp, hafif parmak darbeleriyle sarsılırken, üzerine damla damla fiksatif damlatılarak hücrelerin birbirine yapışmaması sağlanmıştır.

p) 10 dakika santrifüj edilerek aynı işlem fiksatif ile iki kere daha yapılmıştır (Gerektiğinde ilk fiksatifte bir gün + 4 °C'de bekletilebilir).

r) Yıkanmış hücre dökeltileri atılarak üzerine 0.5 ml fiksatif eklenmiş, hafifçe ince uçlu pastör pipetiyle pipetaj yapılmıştır.

s) Daha önce yıkanmış, temizlenmiş, buzdolabında saklanmış 6 - 8 adet lam çıkarılarak, her nemli lama 45 °C lik açı ile 10 cm yukarıdan 1 damla damlatılmıştır. Damlanın yayılması beklenmiştir (gerektiğinde hafifçe üflenebilir). Doku kültürü mikroskopunda preparat incelenmiştir (yayma işlemi gerektiğinde odanın nem ve sıcaklık durumuna göre tekrarlanır. En uygun oda sıcaklığı 20 - 25 °C'dir).

t) Preparatların üzerine protokol ve sıra numarası, olgu adı ve tarih yazılarak uygun boyama ve bant tekniği için oda ısısında preparat kutularında saklanmıştır.

## **II. Amniyosentez**

a) Gebeliğin 15 - 18. haftalarında steril koşullarda, ultrason kontrolünde 21 gau'luk steril spinal iğne ile ortalama 15 - 20 ml amniyotik mayi alınmıştır .

b) Alınan amniyotik mayi 15 ml'lik iki steril plastik santrifüj tüpüne boşaltılmıştır.

c) Tüpler 1000 - 1200 rpm'de 10 dak santrifüj edilmiştir.

d) Dökelti gerektiğinde  $\alpha$  - fetoprotein veya diğer tayinler için ayrılmıştır.

e) Çökelti üzerine 37 °C de ısıtılmış 5 ml besi ortamı ilave edilmiştir. Steril plastik veya cam pastör pipeti ile köpürtülmeden hafifçe karışımı sağlanmıştır.

f) Daha önceden hazırlanmış olan kültür flasklarına; isim, protokol no, tarih ve materyalin adı yazılmıştır. Hücreler pipet ile aktarılmış, flaskaların kapakları bir tur açık bırakılarak 37 °C'de CO<sub>2</sub>'li etüve konulmuş, bir hafta süresince müdahale edilmeden bekletilmiştir.

g) Süre sonunda kültür ortamının ½ si kültür mediumu ile tazelenmiş, doku kültürü mikroskobunda gerekli bilgiler kaydedilmiş, yeterli üreme durumuna göre 2-3 günde bir kültür ortamının tamamı yenilenmiştir.

h) Doku kültürü mikroskobunda hücre üremesi kontrol edilmiş, kültür flaskının 1/3'ü hücre ile dolduğunda, 10 x büyütme alanda 4 -5 mitoz gözleendiğinde bir damla demacalcine damlatılıp 1 - 1.5 saat 37 °C'de etüvde bekletilmiştir.

k) Kültür flasksı, tekrar doku kültürü mikroskobunda incelenip, 2 - 3 hafif çırpma işlemi yapılmıştır. Besi ortamı temiz bir santrifüj tüpüne aktarılıp, flaska 1.5 ml tripsin - EDTA ilave edilmiştir. 10 dakika bekletildikten sonra hafifçe yıkanmış, bir önceki tüpe boşaltılmıştır. Hücrelerin üzerine, bir film tabakası oluşturacak şekilde, birkaç damla tripsin - EDTA damlatılıp, 3 - 5 dk. bekletilmiştir.

l) Mikroskop altında hücrelerin birbirinden ayrıldığı gözleendiğinde, 2 ml medium ortama ilave edilmiş, pipet ile hücreler tekrar bir önceki tüpe aktarılmıştır.

m) Bir sonraki çalışmalar için besi ortamı ile kültür yenilenmiş, CO<sub>2</sub>'li etüvde en az iki gün bekletilmiştir.

n) Santrifüj tüpündeki hücreler hafifçe vortekslenip 1200 rpm de 10 dk. santrifüj edilmiştir.

o) Dökelti atıldıktan sonra üzerine 8 ml hipotonik solüsyon ilave edilmiş, 15 - 20 dk. 37 °C'deki etüv de bekletilip süre sonunda tekrar 10 dk. santrifüj edilmiştir.

p) Dökelti atıldıktan sonra, tüp hafif parmak darbeleriyle sarsılırken üzerine damla damla fiksatif damlatılarak hücrelerin birbirine yapışmaması sağlanmıştır.

r) 10 dk. santrifüj edilmiş, aynı işlem fiksatif ile iki kere daha tekrarlanmıştır (Gerektiğinde ilk fiksatifte bir gün + 4 °C'de bekletilebilir).

s) Yıkanmış hücre dökeltilerinin üzerine 0.5 ml fiksatif eklenerek ince uçlu pastör pipetiyle hafifçe pipetaj yapılmıştır.

f) Daha önce yıkanmış, temizlenmiş ve buzdolabında saklanmış 6 - 8 adet lam çıkarılıp her nemli lama 45 °C'lik açı ile 10 cm yukarıdan 1 damla damlatılmıştır.

Damlanın yayılması beklenmiştir( gerektiğinde hafifçe üflenebilir) Doku kültürü mikroskopunda preparat incelenip odanın nem ve sıcaklık durumuna göre gerektiğinde yayma işlemi tekrarlanmıştır ( En uygun oda sıcaklığı 20 - 25 °C dir).

g) Preparatların üzerlerine protokol ve sıra numarası olgu adı ve tarih yazılarak uygun boyama ve bant tekniği için oda ısısında preparat kutularında saklanmıştır.

### III. Kordosentez

a) Gestasyonun 18. haftasından sonra ultrason kontrolü altında heparinize enjektöre 1 - 2 ml fetal kan alınmıştır .

b) Her olguya ait iki kültür tüpü kullanılmıştır. Kapaklı steril plastik santrifüj tüplere besi ortamından (Nutrient Mixture F 10 Ham's) 5 ml bırakılır. Üzerine iğnesi çıkarılmış 2'lik enjektör ile 5 - 6 damla kordon kanı damlatılıp 69 saat 37 °C'lik etüvde bekletilmiştir.

c) Kültürün 68'inci saatinde Et Br (Ethidium Bromide) solüsyonundan iki damla damlatılıp iki saat, 37 °C'de bekletilmiştir.

d) Süre sonunda demacalcineden iki damla damlatılıp iki saat, 37 °C'lik etüvde bekletilmiştir.

e) Süre sonunda vortekslenip 10 dakika süre ile 1000 - 1200 rpm'de santrifüj edilmiş dökelti atılmıştır.

f) 37 °C'de ısıtılmış hipotonik solüsyonundan 8 ml solüsyon yavaş yavaş damlatılarak el yardımıyla karışması sağlanmış. 10 - 15 dakika 37 °C'de bekletilip tekrar 10 dk. santrifüj edildikten sonra dökeltisi atılmıştır.

g) 3 defa 5 ml fiksatif ile yıkama işlemi tekrarlanmıştır (gerektiğinde ilk fiksatifte 1 gün + 4 °C'de saklanır).

h) Dökelti pastör pipetiyle atılıp daha önce temizlenmiş lamların buzdolabında soğuk buğu alması sağlanmıştır.

k) Çökelti üzerine 0.5 ml fiksatif damlatılarak soğuk lamlara, pastör pipeti ile 45 °C'lik açıyla 10 cm yukarıdan 1 - 2 damlatılmıştır.

l) Yaymayı kolaylaştırmak için, hafif üflenebilir.

m) Odanın nem oranı, sıcaklığı son derece önemlidir. 22 - 25 °C odalarda yayma ideal olmaktadır.

n) Preparatlar açık ve koyu metafaz yaymalarına kalitelerine göre sıralanmıştır. Boyama ve bantlama tekniği için 37 °C saklanmıştır (37).

### **3.2.2. Boyama Yöntemleri**

#### **1. Direk Boyama (Solid Staining)**

1970'li yıllara kadar rutin olarak kullanılan bir yöntemdir (37, 38, 39). Bu tip boyama ile kromozomların büyük bir kısmını tanımlamak mümkün değildir. Günümüzde sadece sayısal analizler ile kromozom kırık noktaları, gap ve frajil bölgelerin varlığını saptamada kullanılır. Kurumuş preparatlar, Giemsa ile (5 ml Giemsa stain stock solüsyon + .95 ml Distile su) 5 dak boyanmış iki ayrı distile su şalesinden geçirilip, kurutulup incelemeye alınmıştır.

#### **2. Giemsa Bantlama (G - Banding : GTG)**

Sitogenetik laboratuvarlarında sıkça başvuru alan ve tanımlamada kullanılan en yaygın yöntemdir. Her kromozom, kendine özgü açık ve koyu bant bölgeleri içerir. Bu bölgeler premetafaz ve metafaz kromozomlarında sayıca farklıdır. İlk defa Paris kongresinde (1971) idiogramlar belirlenmiş ve en son şekli 1995 ISCN'de yayınlanmıştır (40).

Preparatları bantlamak için tripsin solüsyonu hazırlanmış, 37 °C etüvde iki saat bekletilmiştir. Önce bir preparat 5 - 10 saniye tripsin solüsyonundan geçirilmiş daha sonra distile su ile yıkanmıştır (Gerektiğinde bu süreler azaltılıp artırılabilir). Daha sonra preparat boya solüsyonunda 5 - 6 dk. bekletildikten sonra iki ayrı şaledaki distile su serisinden geçirilip kurutulmuştur. 10 X'lik mikroskop objektifinde, kromozomların bant seviyesi tespit edilmiştir. Kromozomların tanımlanması Paris kongresinde ve en son ISCN idiogramlarına göre gerçekleştirilmiştir.

### 3.2.3. Değerlendirme

Üzerinde ait olduğu kişinin protokol ve preparat numarası yazılmış olan preparatlar, mikroskopta incelenmeye alınmıştır. Önce küçük büyötmeli objektifle taranarak iyi nitelikli hücreler (metafaz plakları) önceden hazırlanmış bilgi işlem formuna yazılmıştır. Hücreler daha sonra immersiyon objektifi ile incelenerek şunlar yapılmıştır.

a) Her olgu için en az 15 hücredeki kromozomlar sayılarak (varsa yapısal düzensizlikleriyle birlikte) bilgi işlem formundaki özel bölümlere yazılmıştır.

b) Mikroskop incelemesiyle ortaya çıkan bilgi işlem formundaki tablo değerlendirilmiş, sorunlu hücrelerin ve kromozom kusurlarının sayısına, tipine ve oranına bakılmıştır.

c) Karyotip yapılacak metafaz plakları (en az 5 - 10) camı yazabilen kalemle işaretlenmiş ve kromozom analiz cihazında (Cytovision Ultra) metafazlar kameralı mikroskop aracılığı ile bilgisayar ortamına aktarılmıştır.

d) Metafaz kromozomları tek tek ayrıştırılarak karyotip yapılmıştır.

e) Karyotip, bir kez daha sayısal ve yapısal kromozom düzensizliği açısından değerlendirilmiş ve düzensizlik var ise hangi kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışılmıştır.(41,42)

#### 4. BULGULAR

Bu araştırma; 01.01.1999 - 31.12.2001 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Prenatal Tanı Laboratuvarına gönderilen CVS, AS ve KS örneklerinden çalışılarak hazırlanmıştır. Toplam 481 örnek değerlendirilmiştir. Her örnek için, iki kültür yapılarak ortalama 10 preparat hazırlanmıştır. Bu preparatlardan bir tanesi direkt Giemsa ile geri kalan preparatlar ise Giemsa Bantlama Tekniği (GTG - Banding) ile hazırlanmıştır. Değerlendirmeye alınan preparat sayısı  $10 \times 481 = 4810$  adettir.

Laboratuvarımıza gönderilen CVS, AS ve KS için ön tanı ve gönderilen vaka sayısı aşağıda özetlenmiştir.

<b>ÖNTANI</b>	<b>KS</b>	<b>AS</b>	<b>CVS</b>	<b>Toplam</b>
Non immün hidrops fetalis	9	1	---	10
Yüksek triple test	39	125	---	164
Eritroblastosis fetalis	2	2	---	4
İleri Yaş	8	61	---	69
Hidrocefali	1	5	---	6
İlaç alımı	8	---	---	8
Fetal anomali	26	12	2	40
Polihidroamnioz	5	3	---	8
Yüksek olmayan triple test	---	17	---	17
Nöral tüp defekti	4	8	---	12
Kötü obstetrik anemnez	5	18	4	27
Fetüste hemofili taraması	1	---	---	1
Habitual abortus	---	1	16	17
Üriner sistem anomalisi	6	3	---	9
Oligohidroamnioz	2	2	---	4
Anensefali	1	2	---	3
İskelet sistem anomalisi	7	3	---	10
Gastrointestinal sist. Anomalisi	3	3	---	6
Daha önceki çocukta				
Down snd. Öyküsü	3	17	---	20

	<u>KS</u>	<u>AS</u>	<u>CVS</u>	<u>Toplam</u>
Dolaşım sist. anomalisi	1	---	---	1
Yakın akraba evliliği	---	3	---	3
Yarık damak - dudak	1	---	1	2
Torakopagus	1	1	---	2
İkizden ikize transfüzyon sendromu	---	1	---	1
Toxoplazma	1	---	---	1
Trizomi 13	---	2	---	2
İntrauterin mort	1	---	---	1
Sakral teratom	2	---	---	2
Spina bifida	1	1	---	2
Spastik çocuk öyküsü	1	1	---	2
Lenf sist. Anomalisi	-	1	---	1
Metabolizma düzensizlikleri	1	---	---	1
Trizomi 18	2	7	---	9
Dengeli translokasyon taşıyıcısı ebeveyn	---	3	1	4
Triple X sendromu	1	---	---	1
Nukkal kalınlık testi	2	---	---	2
Parsiyel mol	---	1	---	1
Turner snd. Çocuk öyk.	---	1	---	1
Aile isteği	2	4	1	7
<b>TOPLAM</b>	<b>147</b>	<b>309</b>	<b>25</b>	<b>481</b>

Toplam 481 materyal değerlendirilmiş, sitogenetik çalışma yapılarak kromozom elde edilmiş ve analizleri yapılmıştır.

Elde edilen genel bulgular şöyledir:

Hazırlanan 481 örnek materyalin 199 tanesinde 46,XX , 176 tanesinde 46,XY sonucu bulunmuştur.

Bölümün tadilatta olduğu dönemde 19 tane AS, KS CVS örneği zayı olmuş, sonuç alınamamıştır. Ayrıca laboratuvarımızdaki CO<sub>2</sub> 'li etüvün arızalanması nedeniyle 11 tane AS bozulmuş, sonuç elde edilememiştir. Laboratuvarımıza uygun koşullarda ulaştırılmayan (ok kanlı materyal, steril ortamda alınmamış abortus



materyali, buzlukta dondurulmuş materyal, heparinize edilmesi unutulmuş enjektörle çekilmiş kordosentez materyali, amniyotik mayi karışmış kordosentez materyali, alınmış ama laboratuvarımıza çok geç ulaştırılmış abortus materyali, ya da alkol, formol gibi maddelerde saklanmış abortus materyali vb.) yirmi adet AS, KS, CVS den sonuç çıkmamıştır. Toplam 15 materyalden ise yeterli üreme olmadığı için sonuç elde edilememiştir.

Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonucumuz yoktur. Sadece bunlar dikkate alındığında başarı oranımız % 97 olmuştur.

Kullanılmış metotlar dikkate alındığında genel bulguların, dağılımları şöyledir:

### **1) CVS Direkt Preparasyon ve Uzun Süreli Kültür Sonuçları**

Klinik bulguların sonucuna göre tıbbi abortus gerektiği düşünülen ve sitogenetik laboratuvarımıza gönderilen 25 materyalden 15'ine direkt metotla bakılmış ve uzun süreli kültüre alınarak değerlendirilmiştir. Direkt metotla çalışılan 15 örnekten 5'inde 46,XX sonucu elde edilmiş 10 örnekte sonuç yetersiz bulunmuştur. Direkt metot uygulaması, kısa sürede bir sonuç elde etmek ve CVS kültür yöntemini desteklemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Uzun süreli kültür uygulanarak çalışılan 25 örnekten 11'inde 46,XX , birinde farklı metafazlarda tekrarlanmayan sayısal ve yapısal düzensizlik, birinde ise 46,XY , t(14;21) (dengesiz translokasyon) sonucu elde edilmiştir. Toplam 12 örnekten ise sonuç elde edilememiştir. Sonuç elde edilemeyen 3 örnekte üreme yetersiz gerçekleşmiştir. 9 örnekte ise yukarıda belirtilen teknik nedenlerden dolayı sonuç alınamamıştır.

### **2) AS Kültür Sonuçları**

Prenatal tanı laboratuvarımıza gönderilen 317 AS örneğinden 131'inde 46,XX, 123'ünde 46,XY bulunmuştur. Örneklerdeki düzensizlikler ise:

3'ünde → 46,XX , 22 p+

1'inde → 45,XX[8] / 46 ,XY[23]

2'sinde → 45,X (Turner snd.)

1'inde → 46,XX[4] / 47,XX , + 21[16] (Mozaik Down snd.)

1'inde → 46,XY , 21 p+

3'ünde → 47,XX , + 21 (Down snd.)

1'inde → 46,XY , 9 qh+

3'ünde → 47,XY , + 21 (Down snd.)

1'inde → 46,XY , 22 p+

1'inde → 47,XY , +mar

1'inde → 46,XY[3]/ 46,XX[13]/ 45,X [5]

2'sinde → 69,XXY (Triploidi)

69,XXX

1'inde → 46,XX , 15 p+

1'inde → 46,XY , del(20 p)

1'inde → 46,XY , inv(9q)

1'inde → 45,XY , t (14;21) (Dengeli translokasyon)

1'inde → 46,XX , der (6) t (3;6) (q 25; q27) del (3) (q25)

1'inde → 46,XX , 16 p+ saptanmıştır.

Toplam 37 örnekten sonuç elde edilememiştir. Bunlardan 7 örnekte üreme yetersiz olmuştur. 30 örnekten ise yukarıda belirtilen teknik nedenlerden dolayı sonuç elde edilememiştir.

### 3) KS Kültür Sonuçları

Prenatal tanı laboratuvarımıza gönderilen 139 fetal kan örneğinden 57'si 46,XX , 53'ü 46,XY sonucunu vermiştir. Diğer bulunan karyotipler:

3'ünde 47,XX , + 21 (Down snd.)

1'inde 46,XX , 11 q+ (Parsiyel Trizomi 3)

1'inde 46,XX , t (14;21)

2'sinde 47,XY , + 21 (Down snd.)

1'inde 46,XY,9 qh+

1'inde 47,XXX (Triple X sendromu)

1'inde 46,XY ,inv(9p)9 p inv

1'inde 46,XX 22 p+

1'inde 46,XY, 22 p+

1'inde 46,XX , del(9), 22 p+ saptanmıştır.

Toplam 16 örnekten sonuç elde edilememiştir. Bunlardan 5 örnekte üreme yetersizdir. 11 örnekten ise yukarıda belirtilen teknik nedenlerden dolayı sonuç elde edilememiştir.



## 5. TARTIŞMA

Yeryüzündeki, konjenital defektli (major - minör) doğan çocukların sayısının % 3 ile % 5 arasında olduğu kabul edilmektedir. ABD'de konjenital defekt oranı % 3' tür. Ayrıca konjenital defektlerin , neonatal ölümlerin % 20'sinden sorumlu olduğu kabul edilmektedir.

Ülkemizde konjenital defekt konusundaki rakamlar çok sağlıklı olmamakla beraber bu oranın yaklaşık % 0.48 ile % 20 arasında değiştiği söylenebilir. Ülkemizde yapılan çalışmalar sınırlıdır (klinikler veya randomize çalışmalar). (5,43)

Genetik, içinde bulunduğumuz yüzyılda birçok önemli gelişmeye tanık olmuştur. Bu gelişmelerin belki de en önemlileri prenatal tanı alanında kaydedilenlerdir. Son 25 yılda biyokimya, moleküler genetik, sitogenetik laboratuvarı, obstetrik ve jinekolojide kaydedilen ilerlemeler, yeni teknolojiler ile birlikte prenatal tanı alanında sağlanan gelişmelerin kaynağını oluşturmaktadır. Genetik hastalıklar için risk altında bulunan çiftlerin ve onların çocuklarının ihtiyaçları, fetüsün değerlendirilmesinde bugün var olan ve gelecekte var olacak yani pek çok seçeneğin ortaya çıkmasını desteklemiş ve yönlendirmiştir. Mevcut teknoloji her gün daha fazla sayıda etkilenmiş fetüsün tanımlamasını ve çiftlere reproduktif seçimleri hakkında bilgi elde etme fırsatını sağlamıştır (44).

Amacımız, prenatal tanının önemini, gereğini, konseptini, yöremizde yerleştirmek ve bu konuda rutin hizmeti geliştirmek olduğundan; bir alıştırma dönemi olarak kabul ettiğimiz bu aşamada laboratuvarlarımıza gönderilen materyallerin hiçbiri geri çevrilmeden, tümü değerlendirilmektedir.

Bu çalışmamızda gönderilen ön tanı endikasyon ve sonuç ilişkilerini tablo 4'de inceleyebiliriz.

- 1) Genetik danışma ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX , 22 p+ sonucu
- 2) Üriner sistem anomalisi ön tanısı ile gönderilen bir KS'de 47,XX + 21 sonucu
- 3) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 45,X [8] / 46,XY[23] mozaik durum
- 4) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 46,XX , 11 q+ (Parsiyel Trizomi 3) sonucu bulunmuş geri aile taraması yapıldığında babanın normal, annenin

46,XX t (3;11) (P 25; q 25) dengeli translokasyon taşıyıcı olduğu bulunmuştur.  
Anneanne ve dede normaldir.

- 5) Polihidroaminoz ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 46,XY,t (14;21) sonucu
- 6) Non immun hidrops ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 47,XX,+21 sonucu
- 7) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 45,X sonucu
- 8) Oligohidroamnioz ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 45,X sonucu
- 9) Üriner sistem anomalisi ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX[4] /47, XX + 21[16] mozaik durum
- 10) Non immun hidrops ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 47,XY , + 21 sonucu
- 11) Kötü obstetrik anemnez ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XY , 21 p+ sonucu
- 12) Nöral tüp defekti ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 47,XX, + 21 sonucu
- 13) İskelet sistem anomalisi ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 47,XX,+21 sonucu
- 14) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 46,XY , 22 p+ sonucu
- 15) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir A.S.'de 46,XY , 9 qh+ sonucu
- 16) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 46,XY , 9 qh+ sonucu
- 17) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX , 22 p+ sonucu
- 18) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 47,XX , + 21 sonucu
- 19) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 47,XY, + 21 sonucu
- 20) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XY[3] 46,XX[13] / 45,X [5]mozaik durum
- 21) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 46,XX,del(9),22p+ sonucu
- 22) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen AS'de 47,XX ,+21 sonucu
- 23) Triple test sonucu 1/416 olduğu halde yine de başvuran bir ailede AS'de 47,XY , + 21 sonucu
- 24) Daha önceki çocukta Down snd. öyküsü olan bir ailede AS'de 47,XY,+21 sonucu
- 25) Trizomi 18 ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 69,XXX sonucu
- 26) Dengeli translokasyon taşıyıcısı olan bir annenin CVS'de 46,XY,t(14;21) sonucu

- 27) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX,15 p+ sonucu
- 28) Triple X sendromu ön tanısıyla gönderilen bir KS'de 47,XXX sonucu
- 29) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XY,del(20p) sonucu
- 30) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XY, 22 p+ sonucu
- 31) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX,22 p+ sonucu
- 32) Parsiyel mol ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 69,XXY sonucu
- 33) Daha önceki çocukta Down snd. öyküsü olan bir ailede AS'de 46,XY,inv(9q) sonucu
- 34) Annenin dengeli translokasyon taşıyıcısı olduğu bir ailede AS'de 45,XY,t(14;21) sonucu
- 35) Fetal anomali ön tanısıyla gönderilen bir ailede KS'de 46,XY,inv(9p) sonucu
- 36) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 47,XY, + 21 sonucu
- 37) Habitual abortus ön tanısıyla gönderilen bir ailede AS'de 46,XX,der(6),t(3;6)(q25;q27)del(3)(q25) sonucu bulunmuş geri aile taramasında annenin normal, babanın 46,XY, der (3;6) kromozom kuruluşuna sahip olduğu ortaya çıkmıştır.
- 38) Kötü obstetrik anemnez ön tanısıyla gönderilen bir CVS'de farklı metafazlarda tekrarlamayan sayısal ve yapısal düzensizlik sonucu
- 39) İleri yaş ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX,22 p+ sonucu
- 40) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 46,XX,16ph+ sonucu
- 41) Yüksek triple test ön tanısıyla gönderilen bir AS'de 47,XY, +mar sonucu bulunmuştur.

**Tablo 4. Ön Tanı – Sonuç İlişkisi**

Endikasyon	Test	Hasta	Sonuç	Sonuç Verme Süresi (Gün)
Aile isteği	AS	1	46,XX,22p+	10
Üriner Sistem Anomalisi	KS	2	47,XX,+21	5
	AS		46,XX[4]/47,XX,+21[16]	16
İleri Yaş	AS	6	45,X[8]/46,XY[23]	12
	KS		46,XY,22p+	4
	AS		46,XY,9qh+	10
	AS		46,XX,22p+	10
	KS		47,XY,+21	5
	AS		46,XX,22p+	11
Fetal Anomali	KS	6	46,XX,11q+	6
	AS		45,X	13
	KS		46,XY,9qh+	5
	KS		46,XX, del(9),22p+	5
	AS		46, XY, del(20p)	13
	KS		46, XY, inv(9)(p1.1p2.2)	5
Polihidroamnioz	KS	1	46, XY, t(14,21)	5
Non Immün Hidrops	KS	2	47, XX,+21	6
	KS		47, XY,+21	5
Kötü Obstetrik Anemnez	AS	2	46, XY,21p+	10
	CVS		farklı metafazlarda tekrarlamayan sayısal ve yapısal düzensizlik	12
Oligohidroamnioz	AS	1	45, X	13
Nöral Tüp Defekti	AS	1	47, XX,+21	15
İskelet Sistem Anomalisi	KS	1	47, XX,+21	5
Yüksek Triple Test	AS	9	47,XX,+21	10
	AS		46,XY[3]/46,XX[13]/45,X[5]	15
	AS		47,XX,+21	12
	AS		46,XX,15p+	14
	AS		46,XY,22p+	10
	AS		46,XX,22p+	15
	AS		47,XY,+21	10
	AS		46,XX,16ph+	13
	AS		47,XY,+mar	13
Triple Test Sonucu 1/416	AS	1	47,XY,+21	14
Daha Önceki Çocuklarında Down Sendromlu Olan Aileler	AS	2	47,XY,+21	10
	AS		46,XY,inv(9)	14
Trizomi 18	AS	1	69,XXY	10
Dengeli Translokasyon	CVS	2	46,XY,t(14;21)	12
Taşıyıcısı Olan Ebeveyn	AS	2	45,XY,t(14;21)	14
Triple X	KS		47,XXX	6
Partiyel Mol	AS	1	69,XXY	10
Habitual Abortus	AS	1	46,XX der(6)t(3;6)(q 25; q 27) del (3)(q 25)	13

Bizim çalıştığımız hastalardaki anne yaşları, sayısı ve yüzdelik dilimi aşağıdaki gibidir.

**Tablo 5. Anne Yaşı ve Bize Başvuran Annelerin Oranı**

<u>Yaş Grupları</u>	<u>Anne Sayısı</u>	<u>Oran (%)</u>
18 ve öncesi	8	1.67
19 - 24	76	15.8
25 - 30	149	30.98
31 - 36	132	27.44
37 ve üzeri	116	24.11
Toplam	481	100

AS ve CVS için kültür süremiz 10 ila 15 gün arasında değişmektedir. Ama 9. gün sonucu belli olan AS ve CVS sonucumuz olduğu gibi 20. güne uzayan kültür sürelerimiz de vardır. KS için sonuç verme süremiz 4 gün ile 9 gün arasında değişmektedir. Ama ortalama 5. günde KS sonuçları hazır olmaktadır.

Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonucumuz yoktur. Kültürdeki başarısızlığımız daha önce belirttiğimiz; inşaat günlerindeki steril ortam sağlanamaması, yedek bir CO<sub>2</sub>'li etüvümüzün olmaması ve mevcut CO<sub>2</sub>'li etüvümüzün bir ara arızalanması nedeniyle gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra laboratuvarımız bölgede hizmet veren tek genetik tanı laboratuvarı olduğu için diğer illerden de materyal kabul etmektedir. Gönderilen AS,KS ve CVS materyalleri laboratuvarımıza bazen uygun koşullarda ulaştırılmamaktadır. Bunlardan sonuç elde etmek imkansız hale gelmektedir. Bu sebeplerin dışında kültürden sonuç elde edemediğimiz 15 hastamız bulunmaktadır. Sadece bunlar dikkate alındığında başarı düzeyimiz % 97'dir.

Bulgularımızı literatür bilgilerinin ışığında değerlendirdiğimizde;

Bu üç yıllık çalışmada toplam 481 örneğe bakılmıştır. Bunlardan 317 örnek amniyosentez, 139 örnek kordosentez, 25 örnek koryon villi örneklemesine aittir. 199 örnekte 46,XX , 176 örnekte 47,XY sonucu bulunmuştur. 41 örnekte (% 8.5) anormal sonuç bulunmuştur. Yukarıda açıklanan nedenlerle, toplam 65 örneğe (%



13.5) sonuç verilememiş, bunun 15'inde (% 3) laboratuvarımızda üreme yetersiz olmuştur. Belirlediğimiz anormal karyotipler şöyledir:

Trizomi 21 → 11 örnekte

Robertsonyan translokasyonlu Down → 2 örnekte

Mozaik Down → 1 örnekte

Dengeli translokasyon taşıyıcısı → 1 örnekte

Turner sendromu → 2 örnekte

Mozaik Turner sendromu → 2 örnekte

Triple X sendromu → 1 örnekte

Triploidi → 2 örnekte

Parsiyel trizomi 3 → 1 örnekte

Derivative kromozom → 1 örnekte

9 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 5 örnekte

15 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 1 örnekte

16 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 1 örnekte

20 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 1 örnekte

21 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 1 örnekte

22 nolu kromozomda yapısal değişiklik → 6 örnekte

Marker kromozom → 1 örnekte

Tekrarlamayan sayısal ve yapısal değişiklik → 1 örnekte

Bulgularımızı literatür bilgilerinin ışığında değerlendirdiğimizde

Ermış H. ve ark. (33) yapmış oldukları trizomi tarama testinin rutine oturtulması çalışmalarında 1882 hamile kadını incelemişler ve bunlardan 12 sinde kromozomal anomaliye rastlamışlardır (% 0.6).

Howe D.T ve ark. (15) 1993 - 1998 yılları arasında yaptıkları bir çalışmada 31259 hamile kadından 57'sinde Down sendromuna rastlamışlardır (% 0.1)

Horger E. O ve ark.(45) 1972 - 2000 yılları arasında yaptıkları 4600 hamile kadından genetik amniyosentez yapmışlar 90 vakada (% 2) anomaliye rastlamışlardır. Bunların 61 inde (% 1.3) otozomal trizomi bulunmuş oranları; Trizomi 21, 37 fetusta. Trizomi 18, 18 fetusta, Trizomi 13, 6 fetusta bulmuşlardır.

9 vakada sex kromozom anöplodisi bulmuşlar, 3 fetusta 45, X monozomisi 3 tanede 47,XXX 2 vakada 47,XXY ve 1 vakada XYY bulmuşlardır. 2 vakada 69,XXX triploidisi bulmuşlardır. 9 tane mozaik karyotip bulmuşlardır. Bunlar ring veya marker içermektedir. 2 vakada dengesiz translokasyon bulmuşlar, 6 vakada da 9 nolu kromozom hariç inversiyonlara rastlamışlardır. Bunlar 1, 2, 11 ve 17 nolu kromozomlardır.

Smith K. ve ark. (46) 20527 CVS üzerinde çalışmışlar bunların 611'inde non - mozaiklik ve 91'inde de 13, 18, 21 ve seks kromozom anormaliğinin mozaikliğine rastlamışlardır. Bunlar 45,X, trizomi 13 ve trizomi 18 dir. Bir vakada yanlış - negatif sonuç elde etmişlerdir. Kültür çalışmalarını direkt ve hücre kültürü şeklinde yapmışlardır.

Park SY. ve ark. (47) 1988 - 1997 yılları arasında 4907 prenatal sitogenetik vaka üzerinde çalışmışlar bunların 3913'ü amniyotik sıvı, 800'ü koryonik villi örnekleme ve 194'ü de kordon kanı örnekleme dir. Anormal fetal karyotip oranları % 3.1 dir. (150 vakada). Sayısal kromozom anormalliği 87 vakada (% 1.8), yapısal kromozom anormalliği 63 vakada (1.3) bulunmaktadır. En fazla sayısal kromozom anormalliği 36 vaka ile trizomi 21 dedir. Diğerleri 22 vakada trizomi 18, 19 vakada seks kromozom anöplodisi bulmuşlardır. Yapı kromozom değişiklikleri 5 vakada kromozom inversiyonu ki bunlar 2, 7, 17 ve Y dir. 6 vaka da kromozomal delesyon 4 vaka da artış gözlemişlerdir. 47 translokasyonlu vakanın 26'sı resiprokal 21'i robertsonyan translokasyon bulmuşlardır. 41 vaka dengeli translokasyonlu 6 vaka dengesizdir. Translokasyonların 35'i aile bireylerinden birinden kalıtılmıştır. 4 vaka da 'de- novo' yeni düzenlenmiş kromozom bulmuşlardır.

Waters VJ. ve ark. (48) tarafından yapılan bir çalışmada kültür süreleri amniyotik sıvınının 20, 2 den 13.8 güne karyon vili örnekleme ise 21.3 den 14.5 güne düşmüştür.

Kim SK. ve ark. (49) 35 yaş üzerindeki 15 - 20 haftalık 458 hamile bayan üzerinde çalışmışlar ve 20 vakada kromozomal anormalliğe rastlamışlardır. Bunların 6'sı trizomi 21 dir. 1 vaka 46,XY / 47,XY, + 21 dir. 2 vaka trizomi 18, 1 vaka trizomi 13,2 vaka 45, X bulmuşlardır. Anormallik yüzdesi 4.3 dür.

Simoni G. ve ark. (50) 1972 - 1980 yılları arasında 4952 vaka üzerinde çalışmışlar, bu vakaların 2882'si ileri anne yapı, 847 si normal karyotipli ama bir önceki çocuklarında kromozomal anomali olan ve 97'si de ebeveynlerden birinde

kromozomal anomali olan, 1126 vakada herhangi bir sitogenetik risk olmayan vakalar üzerinde çalışmışlardır. Bunlar içerisinde 125 anormal fetal karyotip (% 2.5) bulmuşlardır.

Bizim serimizde normal karyotip oranı % 91.5 anormal karyotip oranı ise % 8.5 dur. Genel başarısızlık yüzdesi 13.5' dur. Yanlış negatif, yanlış pozitif sonucumuz yoktur. Kültürden başarı elde etme süremiz literatürlerle uyumludur. Bu çalışmamızla yapılmakta olan prenatal tanıların, endikasyon ve ön tanı uygunluklarını elde edilen sonuçlarla örtüşürlüklerini ve dolayısıyla hekimlerin bu konudaki yaklaşımlarının doğruluk derecesini ve laboratuvarımızın, çalışmalarındaki başarı düzeyini belirledik.

Çalışmamızın kapsadığı tüm seriden alınan sonuçlar, diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırıldığında çelişmedikleri ve başarılı oldukları gözlenmektedir.

Bu çalışmalar sonucunda elde edilen bulguların, bundan sonraki çalışmalarımıza ışık tutucu, doğru yönlendirici etkisinin çok önemli olacağı kanısındayız.

## 6. SONUÇ

1999 - 2001 yılları arasında yaptığımız çalışmalarımızda toplam 481 örnek materyal elde edilmiştir. Bunların 317'si amniyotik sıvıya; 139'u kordon kanı örneklemesine, 25'i de koryon villi örneklemesine aittir. Bu vakaların ön tanılarını sıraladığımız zaman; 164 örnekte Down riski (Triple test sonucuna göre), 122 örnekte ,daha önceki tablomuzda daha geniş yer alan, fetal anomali riski (USG bulgusu), 69 örnekte ileri yaş, 27 örnekte kötü obstetrik anemnez, 20 örnekte Down snd. çocuk öyküsü, 17 örnekte yüksek olmayan ama yine de gönderilen triple test sonucu, 17 örnekte habitual abortus vb.gibi ön tanılar karşımıza çıkmıştır. Bunlar içerisinde 199 örnekte 46,XX , 176 örnekte 46,XY sonucu bulunmuştur. 11 örnekte Trizomi 21 (Down Sendromu) 2 örnekte Robertson tipi translokasyonlu Down Sendromu, 1 örnekte mozaik Down Sendromu, 1 örnekte dengeli translokasyon kromozomu taşıyıcılığı, 2 örnekte Turner Sendromu, 2 örnekte mozaik Turner Sendromu, 1 örnekte Triple X Sendromu, 2 örnekte triploidi, 1 örnekte Parsiyel trizomi , 1 örnekte derivative kromozom, 12 örnekte duplikasyon, 2 örnekte delesyon, 1 örnekte tekrarlamayan sayısal ve yapısal düzensizlik, 1 örnekte marker kromozom kuruluşu saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmalar sonucunda; dengeli translokasyon taşıyıcısı, Parsiyel trizomi ve derivative kromozom kuruluşuna sahip olan örneklerin ebeveynlerinden birinin taşıyıcı olduğu görülmüştür. 3 örnekte ise mozaiklik bulunmuştur.

15 örnekte üreme yetersizliğinden, 50 örnekte ise teknik nedenlerden dolayı sonuç elde edilememiştir.

Yanlış pozitif ve yanlış negatif sonucumuz yoktur. Kültür inceleme süremiz AS ve CVS için ortalama 13.3 gündür. KS için sonuç verme süremiz 5 gündür. Sonuç elde etme sürelerimiz literatür bulgularıyla uyumludur.

Bu çalışmalarımız sonucunda gördük ki; iyi eğitilmiş hekim, sitogenetik uzmanı, psikolog ve biyologdan oluşan iyi organize edilmiş bir ekip ancak yeterli finans ve yeterli donanım ile desteklendiğinde başarılı bir prenatal tanıya ulaşılabilir.

Prenatal tanı, aynı zamanda çok iyi bir ön tanıya gereksinim duyar.Prenetal tanıda ön tanı ve endikasyon uyumu muhakkak aranmalıdır. Ön tanılar, bazı tetkiklerle ve ultrasonografi ile desteklenmelidir.

Gen düzeyindeki hastalıklar için kromozom analizi istemek , hem hastayı hem de laboratuvarı boş yere yormak demektir. Hekimin, hastayı yanlış yönlendirmemek için prenatal tanı endikasyonlarını destekleyici bazı tetkikleri ve bulguları edinmesi muhakkak gereklidir. Özellikle FISH tekniğinde, ön tanı ile endikasyon uyumunun olması, sonuçların sağlıklı elde edilmesi açısından önem arz etmektedir.

Bunun yanı sıra laboratuvarımıza gönderilen materyalin laboratuvar koşullarına uygunluk göstermesi de çok önemlidir. Yine laboratuvar da gerekli donanıma (yedek CO<sub>2</sub> li etüv vb. gibi) sahip olmalıdır. Teknik şartların uygunluğu laboratuvarın başarısını artırır.

Çalışmalarımız sonucunda elde ettiğimiz bulgular, diğer araştırmacıların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir .

Uygulamamız, prenatal tanı amaçlı CVS, AS ve KS tekniklerinin D.Ü. Tıp Fakültesi'nde rutin olarak uygulanmasını sağlamıştır.

Bu durumun bir bölge hastanesi niteliğindeki D.Ü. Eğitim ve Araştırma Hastanesi için önemli bir kazanım olduğu açıktır.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- **Başaran,N.:** Tıbbi Genetik Kitabı. Genişletilmiş 6. Baskı, Bilim Teknik Yayınevi, Eskişehir, 1996 .
- 2- **Bruce, R. K.:** Human Genetics. Blackwell Science, 1999.
- 3- **Murray,R.K.:** Harper'in Biyokimyası.Bariş Kitabevi, 1993.
- 4- **Passarge, E.:** Color Atlas of Genetics. Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1995.
- 5- **Atasü,T.:** Gebelikte Fetüse ve Yeni Doğana Zararlı Etkenler. Nobel Tıp Kitapları, İstanbul, 2000.
- 6-**Nussbaum,R.L.:** Thompson and Thompson Genetics in Medicine. Six edition, WB.Saunders Company, 2001.
- 7- **Tjio, J.H., Levan, A.:** The chromosome number of men. Hereditas, 42 : 1 1956.
- 8- **Lejeune, D., Levan, A.:** Proposed standart system of nomenclature of human mitotic chromosomes. Lancet 1 : 1063, 1960.
- 9- **Steele M.W., Berg, W.R.:** Chromosome analysis of human amniotic cells. Lancet, 1 : 383 1966.
- 10- **Ferguson, S.:** Cambridge Univercity Department of Patoloji. Cambridge, England, 1990.
- 11- **Şeftalioğlu, A.:** Genel İnsan Embriyolojisi. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara, 1991 .
- 12- **Kocun, C.C.:** Changing trends in patient decisions concerning genetic amniocentesis. Am. J. Obstet Gynecology, May, 2000.
- 13- **Uludağ, S.:** İleri yaş faktörünün gebeliğin antenatal takibinde önemi. Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi, 14: 143 - 151, 2000.
- 14- **Şener ,T.:** Prenatal tanıda genel prensipler. Obstet ve Jin. Sürekli Eğitim Dergisi, Cilt 1, Sayı : 131-142, Eylül 1997.
- 15- **Howe, D.T.:** Six year survey of screening for Down's syndrome by maternal age and mid - trimester ultrasound scans. BMJ, 320: 606 - 610 (4 March), 2000.
- 16- **Ermış, H.:** Ense cilt altı kalınlığı. Gebelikte 10 - 14. haftaları arasında trizomi taraması. İstanbul Jin. Ve Obst. Dergs., 3 : 5 - 18, 1999.
- 17- **Fidanboy, M.:** Güncel prenatal tanı teknikleri ve uygulamaları. Yük. Lis. Tezi, Diyarbakır, 1999.

- 18- **Bahçe, M.:** Tekrarlayan spontan düşüklerde fetal maternal ve paternal sitogenetik incelemeler ve klinik korelasyonları. GATA Tıp Fak. Tıbbi Genetik ABD., Ankara, 1995.
- 19- **Beksaç, M.S.:** Fetal Tıp. Prenatal Tanı, Ankara Medical Network, 1996.
- 20- **Apak, M.Y.:** Genetik Danışma El Kitapçığı. İ. Ü. Çocuk Sağlığı Enst. Genetik ABD, İstanbul, 1990.
- 21- **Apak, M. Y.:** Genetik Danışma ve Doğum Öncesi Tanı El Kitabı. PRETAM İst. Ün. Prenatal Tanı Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, 1990.
- 22- **Erçal, D.:** Gebelik Öncesi ve Gebelikte Genetik Danışma. IV. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi Özet Kitabı, İzmir, 2000.
- 23- **Beverley, L.:** Existence and quality of written antenatal screening policies in the United Kingdom. Postal survey, BMJ 322; 22 - 23, 2001.
- 24- **Beksaç, M.S.:** Prenatal tanıda genetik danışma. Jinekoloji ve Obstetrik Bülteni, Cilt : 2., Sayı : 4, 1993.
- 25- **Delzell, J.E.:** What can we do to prepare patients for test results during pregnancy. West Journal Medical, BMJ., 173: 183 - 184, 2000.
- 26- **Akkum, Z.:** Kalıtsal geçiş gösteren hastalıkların prenatal tanısında invaziv yaklaşımlar amniyosentez ve fetal doku biyopsileri. Jin. Obst. Bülteni, Cilt 2 Sayı : 4, 1993.
- 27- **Başar, I.:** Prenatal tanı yöntemleri. Obst ve Jin Sürekli Eğitim Dergisi, Cilt : 1, Sayı : 1-2, 53 - 75, Eylül 1997.
- 28- **Ott, W. J.:** Obstetric ultrasonographic findings and fetal chromosomal abnormalities. Retining the associtaiton, Am F. Obst. Gyn., Volume: 184, Number, 7, 2001.
- 29- **Smith, M. F.:** Amniyosentez ve CVS yöntemi ile prenatal tanıda sitogenetik. Clinical Cytogenetics, Level 2 Addenbrooks's Hosmpital Hills Road, Cambridge UK.,2000
- 30- **Simoni, G., Brambati, B.:** Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. Hum Genet 63: 349, 1983.
- 31- **Beksaç, M.S.:** Koryon villus örnekleme. Jinekoloji ve Obst. Bült., Cilt: 2, Sayı: 4, 1993.

- 32- Özalp, İ.:** IV. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi Kitapçığı. Mayıs, İzmir, 2000.
- 33- Ermiş, H.:** 11 - 14. Gebelik haftası trizomi tarama testinin klinik rutine oturtulması. İst. Jin. Ve Obst. Derg., 4 : 52 - 58, 2000.
- 34- Rausch, D. N.:** Participation in maternal serum screening for Down Syndrome, neural tube defects, and trisomy 18 following screen - positive results in a previous pregnancy. West. J. Med., 173 : 180 - 183, 2000.
- 35- Whittle, M.:** Down's syndrome screening where to now?. British Journal of Obstetrics and Gynaecology, Vol. 108, pp. 559 - 561 June 2001.
- 36- Gilbert, R.E.:** Screening for Down's Syndrome: effects, safety, and cost effectiveness of first and second trimester strategies. BMJ, 323: 423 2001.
- 37- Lüleci, G., Başaran, S.:** Sitogenetik Uygulama Yöntemleri. Meteksan, Ankara, 1990.
- 38- Şaylı, B. S.:** Medikal Sitogenetik. Yargıçoğlu Yayınevi, Ankara, 1986.
- 39- Tayşi, K., Say, B.:** Tıbbi Genetik. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, A 12, Ankara, 1975.
- 40- Mitelman, F.:** An international system for human cytogenetic nomenclature. Karger, Basel, 1995.
- 41- Budak, T.:** Güneydoğu Anadolu Bölgesinde sıklıkla kullanılan insektisidlerden Malathion ve Lindane'nin fare kromozomları üzerine in vivo etkilerinin araştırılması (Doçentlik tezi). Dicle Üniv. Tıp Fak. Diyarbakır, 1981.
- 42- Alp, M. N.:** Malignite ile tek gen mutasyonları ve kromozom düzensizliklerinin ilişkisi üzerine araştırmalar (Doktora tezi). Dicle Üniv. Tıp Fak., Diyarbakır, 1983.
- 43- Xiao, Y.:** Prenatal identification of fetal genetic traits. The Lancet, Vol 357, January 27, 2001.
- 44- Merijo, K.F.:** The critica and expanding role of genetics in assited reproduction. Prenatal Diagnosis, 20, 536 - 551, 2000.
- 45- Horger, E. O.:** A single physician's experience with four thousand six hundred genetic amniocenteses. Am. J. Obtet Gyrecol, August, 2001.
- 46- Smith, K.:** The predictive value of findings of the common aneuploidies, trisomes 13, 18 and 21, and numerical sex chromosome abnormalities at CVS.



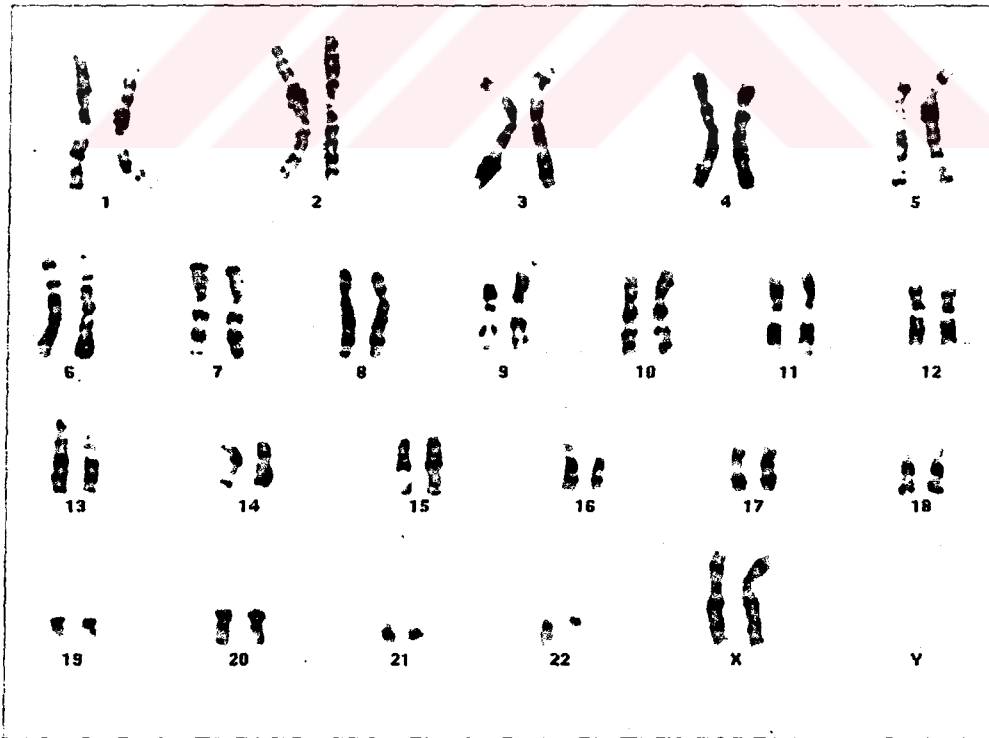
experience from the ACC UK., collaborative study. Association of clinical cytogeneticists. Prenatal Diagnosis, Working Party. Prenat. Diagn, 19 (9) : 817 - 26 Sep. 1999

47- **Park, S.Y.:** Frequencies of fetal chromosomal abnormalities at prenatal diagnosis: 10 years experiences in a single institution. J Korean Med Sci., Jun; 16 (3): 290 - 3, 2001.

48- **Waters ,J.J. :** Trends in cytogenetic prenatal diagnosis in the UK: results from UKNEQAS external audit, 1987 - 1998, Prenat Diagn., Nov 19 (11): 1023 - 6, 1999 .

49- **Kim, S.K.:** Triple marker screening for fetal chromosomal abnormalities in Korean women of advanced maternal age. Yonsei Med. J., Apr; 42 (2): 199 - 203, 2001.

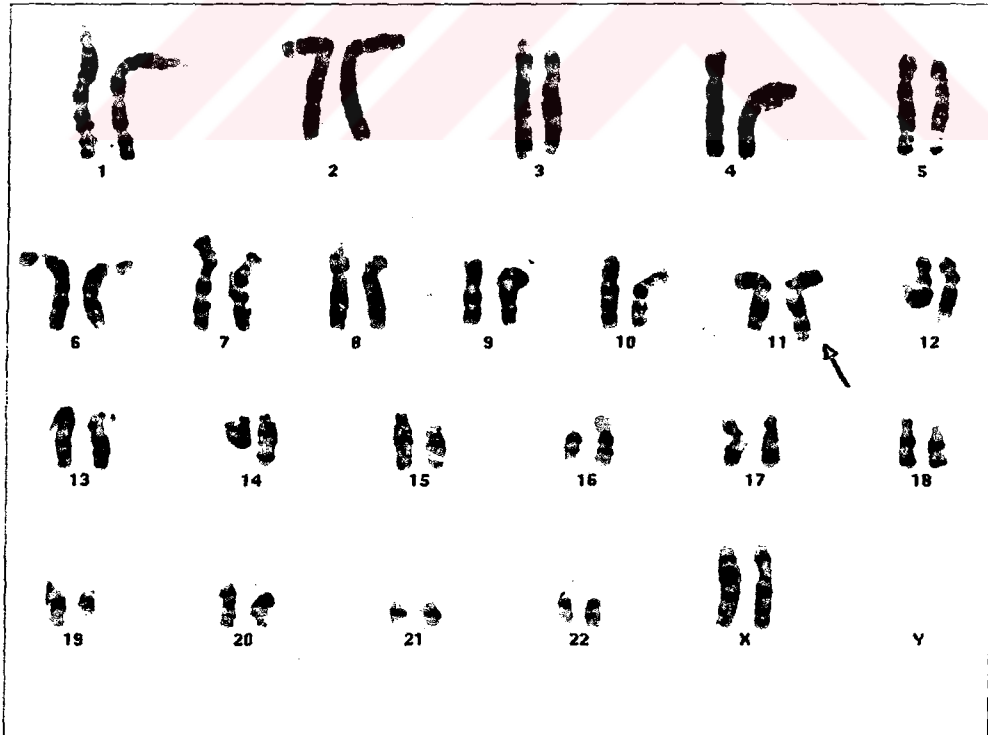
50- **Simoni, G. :** Cytogenetic findings in 4952 prenatal diagnoses. An Italian collaborative study. Hum Genet, 60 (1): 63 - 8, 1982 .



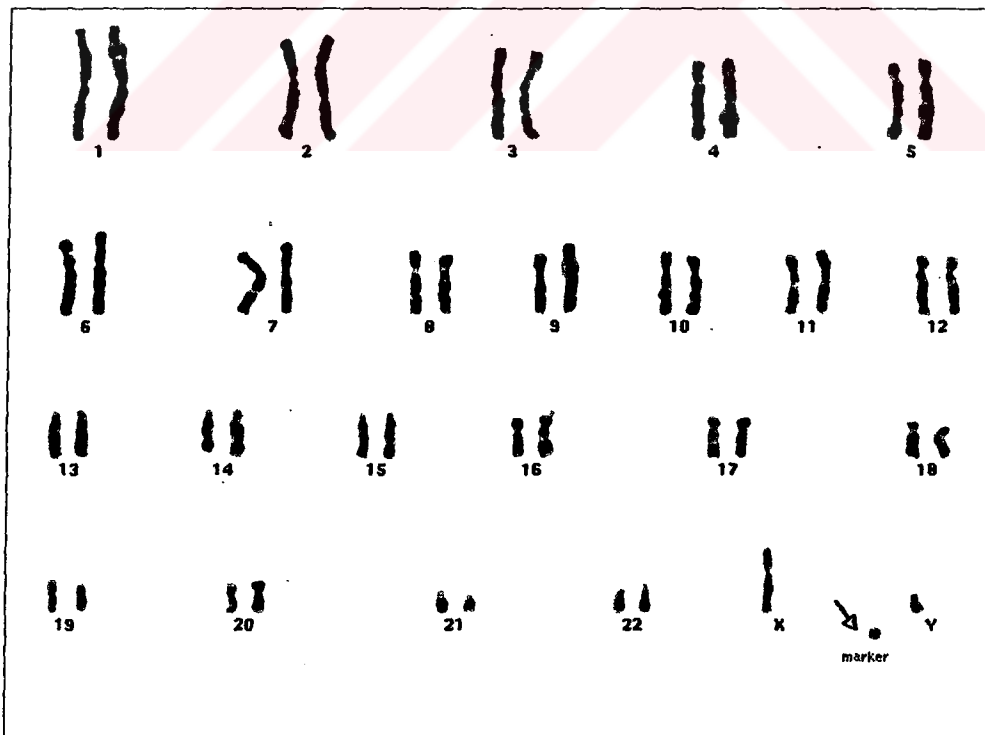
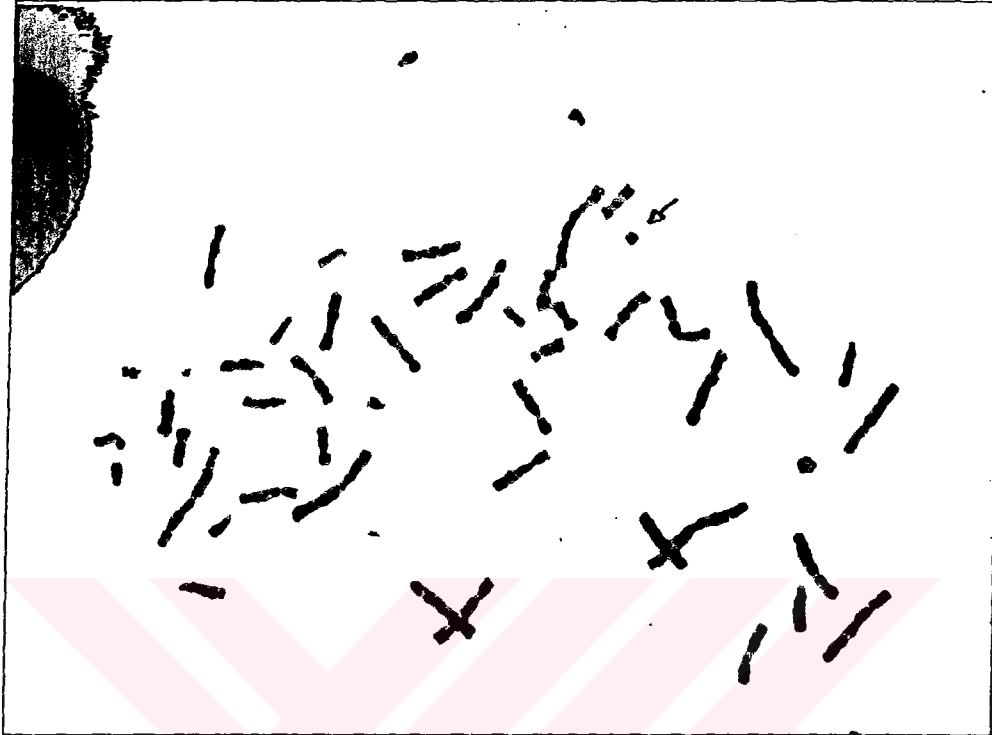
Şekil 1. Dişi bireye ait metafaz ve karyotip (46,XX)



Şekil 2. Erkek bireye ait metafaz ve karyotip (46,XY)



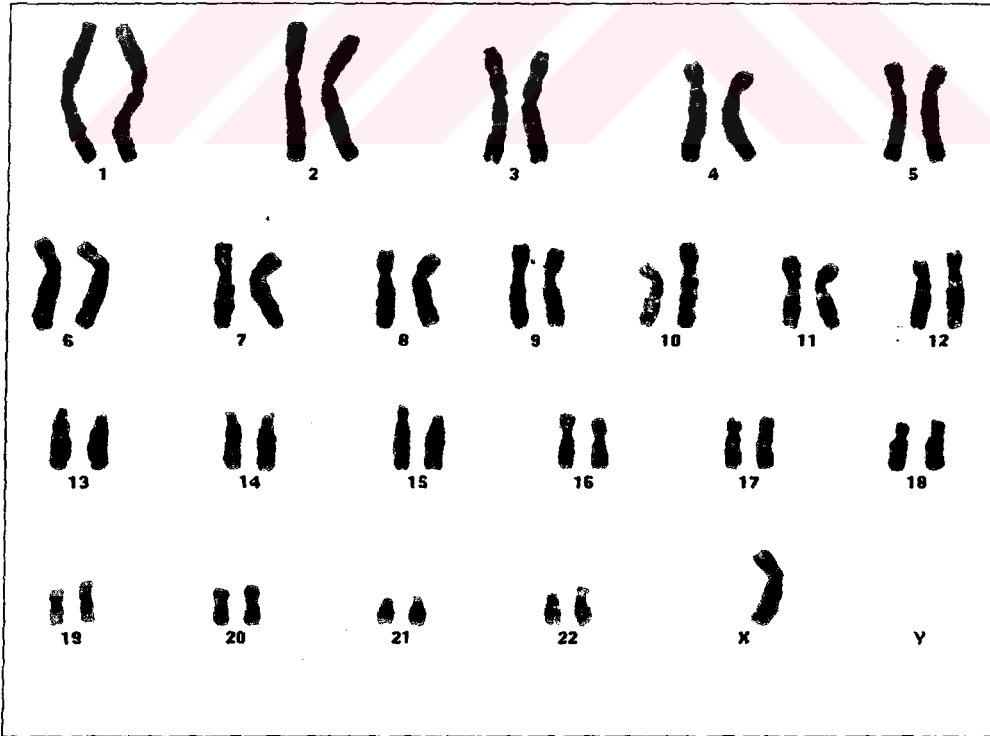
Şekil 3. Parsiyel Trizomi 3 olgusuna ait metafaz ve karyotip (46,XX,11q+)



Şekil 4. Marker kromozom (47,XY,mar+)



Şekil 5. Triploidi olgusuna ait metafaz ve karyotip (69,XXX)

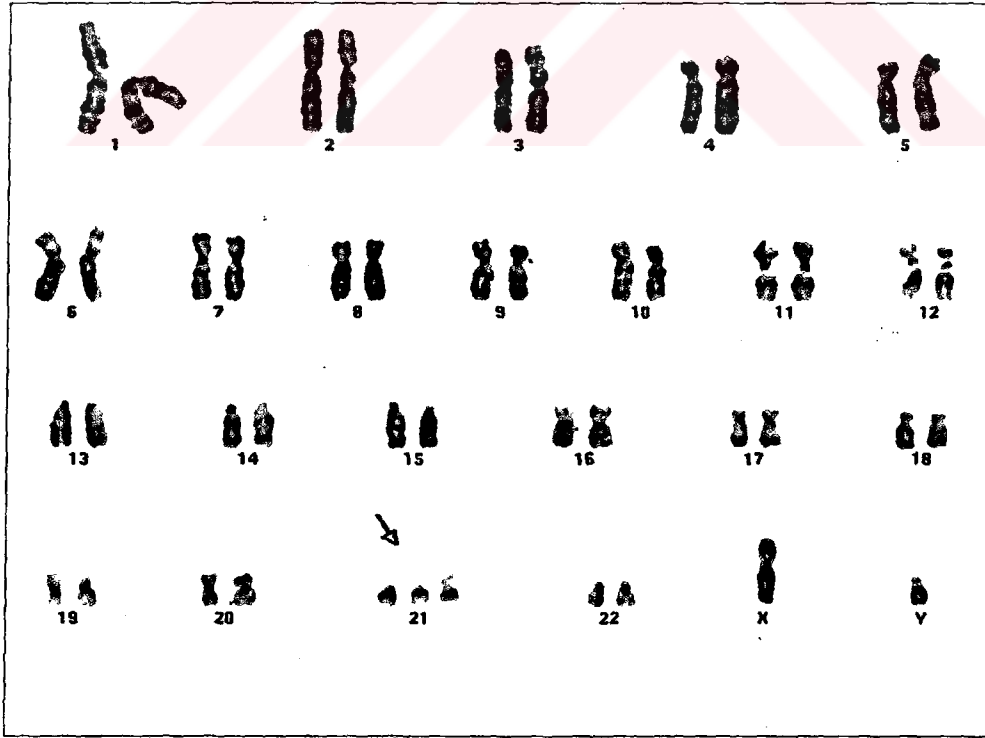


Şekil 6. Turner Sendromu'na ait metafaz ve karyotip (45,X)



Şekil 7. İnv(9)(p11p22) olgusuna ait metafaz ve karyotip 46,XY,inv(9)(p11p22)





Şekil 8. Trizomi 21 olgusuna ait (47,XY,+21) metafaz ve karyotip



Şekil 10. Triple X Sendromuna ait metafaz ve karyotip (47,XXX)

LC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
BOKÜBANTASYON MERKEZİ