

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTİ SONRASINDA
AMNİYON SIVISI VE MATERNAL KANDA
OKSİDATİF STRES DEĞERLENDİRMESİ**

Dr. Mahmut AKSİN

Uzmanlık Tezi

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet VURAL

ŞANLIURFA
2012

T.C
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTİ SONRASINDA
AMNİYON SIVISI VE MATERNAL KANDA
OKSİDATİF STRES DEĞERLENDİRMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Mahmut AKSİN

DANIŞMAN

Doç. Dr. Mehmet VURAL

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığı tarafından 21.06.2012 tarih ve 12084 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2012

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek engin fikirleriyle yetişme ve gelişmeye katkıda bulunan tez danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet VURAL'a; Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Hakan CAMUZCUOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Neşe Gül HİLALİ, Yrd. Doç. Dr. Aysun CAMUZCUOĞLU, Yrd. Doç. Dr. Adnan İNCEBIYIK'a; Tezimin her aşamasında destek ve katkılarından dolayı biyokimya anabilim dalından Prof. Dr. Nurten AKSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım süresince birlikte çalıştığım Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisindeki asistan, hemşire ve diğer personel arkadaşlarıma; Diğer kliniklerdeki tüm öğretim üyesi, asistan, hemşire ve diğer personele; Asistanlığım boyunca resmi yazışmalar ve daha birçok konuda, engin bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bizlere yardımcı olan, başta Murat ALKAN ve Tevrat ZERAY olmak üzere tüm idari personele; Tezimin yazılma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Sadık ERYILMAZ ve Uzm. Dr. Murat YILDIZHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca hep yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem, babam ve Abdurrahim abime minnet ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Mahmut AKSİN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	III
TABLOLAR DİZİNİ.....	IV
GRAFİKLER DİZİNİ.....	V
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
3. MATERYAL ve METOD.....	34
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	42
6. KAYNAKLAR.....	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Amniosentez yapılma tekniği	14
Şekil 2: Transservikal ve transabdominal koryon villus örneklemeşi.....	18
Şekil 3: Perkutan umblikal kord kanı örneklemeşi	21

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Çalışma ve kontrol gruplarında yaş, gravida, parite, yaşayan, abortus, son adet tarihine göre gebelik haftası dağılımları, AFP MoM, β -hCG, hCG MoM, E3 ve E3 MoM değerleri.....	38
Tablo 2. Çalışma ve kontrol gruplarında serum ve amnionda TAS, TOS ve OSİ ortalama değerleri.....	38

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Serum TOS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması **39**

Grafik 2: Serum TAS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması **39**

Grafik 3: Serum OSİ değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması **40**

Grafik 4: Amnion TOS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması .. **40**

Grafik 5: Amnion TAS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması .. **41**

Grafik 6: Amnion OSİ değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması ... **41**

KISALTMALAR VE SİMGELER

AFP	Alfa-fetoprotein
hCG	Human chorionic gonadotropin
uE3	Unkonjuge estriol
MoM	Multiple of Median
PAPP-A	Pregnancy asociated plazma protein- A
NT	Nukal translusensi
CRL	Cranio rump length
NTD	Nöral tüp defekti
FISH	Florasın in situ hibridizasyon
MDA	Malondialdehit
SOD	Süperoksit dismutaz
GSH	Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
O_2^-	Süperoksit radikali
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HO^-	Hidroksil radikali
$O_2\uparrow\downarrow$	Singlet oksijen
8-OhdG	8- hydroxydeoxyguanosine
CAT	Katalaz
SOD	Dismutaz
GPx	Glutatyon peroksidaz
GST	Glutatyon transferaz
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
TAS	Total antioksidan seviye
TOS	Total oksidatif stres
OSİ	Oksidatif stres indeksi

ÖZET

İKİNCİ TRİMESTER TARAMA TESTİ SONRASINDA AMNİYON SIVISI VE MATERNAL KANDA OKSİDATİF STRES DEĞERLENDİRMESİ

Dr. Mahmut AKSİN

Kadın Hastalıkları ve DoğumAnabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç:

Prenatal invaziv genetik tanı, kromozom anomalilerinin erken tanısı açısından oldukça önemlidir. Bu girişimsel testlerin endikasyonu birinci ve ikinci trimesterde yapılan tarama testlerinde yüksek risk saptanmasıdır. Erken tanıya olanak sağlaması yanında bu testlerde az da olsa gebelik kaybı riski de vardır. Çalışmamızda ikinci trimester tarama testinde yüksek risk tespit edilen gebeler ile düşük risk tespit edilen gebelerde amniyon sıvısında ve maternal kanda oksidatif stres değerlendirmesini amaçladık.

Gereç ve Yöntemler:

Üçlü testte yüksek risk (n=50) ve kontrol grubu olarak düşük risk (n=50) tespit edilen toplam 100 hastada anne serumunda ve amniyosentez esnasında alınan amniyon sıvısında TAS (Total Antioxidant Status), TOS (Total Oxidant Status) ve OSİ (Oksidatif Stres İndeksi) düzeyleri ölçüldü. Hastalar Ocak 2011 ile Mayıs 2012 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde ikinci trimester anöploidi taraması yapılan ve sonrasında amniosentez yapılan hastalar arasından prospektif olarak seçilmiştir.

Bulgular:

Maternal serumda TOS ve TAS değerleri kontrol grubunda, hasta grubuna göre yüksek olarak saptandı, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı (TOS için $p=0.147$; TAS için $p=0.123$). Maternal kanda OSİ değeri kontrol grubunda, hasta grubuna göre istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p<0.001$). Amnion sıvısında TOS ve TAS değerleri

kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı (TOS için $p=0.047$; TAS için $p=0.005$). Amnion sıvısında OSI değeri kontrol grubunda, hasta grubuna göre yüksek olarak saptandı ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlendi ($p=0.356$).

Sonuç:

Tarama testinde yüksek risk tespit edilen gebelerde amniyon sıvısında ve maternal kanda oksidatif stres markerlerinin artması ve antioksidan aktivitenin azalması beklenirken bizim çalışmamızda kontrol grubunda oksidatif stres markerleri yüksek tespit edildi. Bu sonuç, gebelikte üçlü test pozitifliğinin, birçok hastalıkta patolojik mekanizma olarak öne sürülen oksidatif stres ile çok ilişkili olmadığını ve muhtemelen tespit edemediğimiz başka mekanizmaların olabileceğini göstermektedir. Bu durumun kontrol grubunda yaşanan maternal anksiyeteye bağlı olabileceğini düşündük.

Anahtar Kelimeler: Amniyosentez, Tarama testi, Üçlü test, Oksidatif stres

ABSTRACT

EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS IN AMNIOTIC FLUID AND MATERNAL BLOOD AFTER THE SECOND TRIMESTER SCREENING TEST

Dr. Mahmut AKSİN

Specialization Thesis of Department of Obstetrics and Gynecology

Background:

Prenatal invasive genetic test is very important in early diagnosis of the chromosomal abnormalities. Indication of these tests is abnormal first and second trimester screening test results. Besides giving opportunity for the early diagnosis these tests have minimal risk of pregnancy loss. In our study we aimed to investigate oxidative stress in amniotic fluid and maternal serum of the women who have high and low risk of second trimester screening test result.

Materials and Methods:

TAS (Total Antioxidant Status), TOS (Total Oxidant Status) and OSI (Oxidative stress index) levels of maternal serum and amniotic fluid which is obtained during amniocentesis are measured in women with high risk triple test (n=50) and low risk as a control group (n=50). Patients were collected prospectively among the women who had amniocentesis after second trimester aneuploidy screening test in the Harran University School of Medicine, Department of the Obstetrics and Gynecology between January 2011 and May 2012.

Findings:

Despite statistically not significant TOS and TAS values were higher in the maternal serum of the control group (p=0.147 for TOS; p=0.123 for TAS). OSI values were significantly higher in the maternal serum of controls than the study group (p<0.001). In

amniotic fluid of control group TOS and TAS values are higher than control groups ($p=0.047$ for TOS; $p=0.005$ for TAS). OSI of amniotic fluid was higher in controls than the patients, but not statistically significant ($p=0.356$).

Conclusion:

Although high risk screening patients were supposed to have higher oxidative stress markers and lower antioxidative activity in amniotic fluid and maternal serum, in this study we have found higher oxidative stress parameters in the control group. This result may show that oxidative stress that is accused of being underlying pathophysiologic mechanism in many diseases is not so much related with the high risk second trimester screening test in pregnancy and probably other mechanisms exists that we have not know yet. We thought this result may be related with high levels of maternal anxiety in the control group.

Keywords: Amniocentesis, Screening test, Triple test, Oxidative stress

1. GİRİŞ

Prenatal tanı önceleri girişimsel fetal testler ve fetal karyotipleme ile eşanlı olarak kullanılan bir kavram iken, günümüzde genetik soy analizi, prenatal tarama testleri, ultrasonografi, fetal risk değerlendirmesi, genetik danışma ve fetal diagnostik testleri kapsayan daha geniş kapsamlı bir kavramdır.

Prenatal invaziv genetik tanı için başlıca endikasyonlar; ileri anne yaş gebeliği, önceki gebelikte kromozomal anomalili doğum öyküsü, birinci ve ikinci trimestir tarama testlerinde kromozom anomalili çocuk için yüksek risk saptanmasıdır.

İkinci trimester tarama testi anne serumdan alfa-fetoprotein (AFP), total human chorionic gonadotropin (hCG) ve unkonjuge estriol (uE3) ölçümü yapılır. 14–22 hafta 6 gün arasında yapılabilmekte olup, 16-18 hafta arası en uygun haftalardır. Dörtlü testte ise serumda AFP, total hCG, uE3 ve İnhibin A ölçülür.

Amniyosentez gebeliğin 15-18. haftalarında yapılan ve amnion mayisinden alınan örnekte fetal doku hücrelerinin kültürü neticesinde karyotip analizi yapılan ve fetal anöploidiler için yüksek doğrulukta tanı imkanı sağlayan bir prenatal tanı işlemidir (1).

Patolojik bir olayı takiben organizmada meydana gelen fizyopatolojik değişiklikler temelde belirli mekanizmaların harekete geçmesi ile oluşmaktadır. Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri veya oksijen metabolitleri olarak da adlandırılabilen bir kısım maddelerin ortaya çıkması ile hücre ölümü, doku hasarı ve nekroz sonucunda, organ veya sistemlerde işlev yetersizliği meydana gelmektedir.

Serbest radikaller, dış yörüngesinde eşleşmemiş en az bir elektron içeren moleküllerdir. Özellikleri, dengesiz ve tek olan elektronu çiftlemek için diğer moleküller ile tepkimeye girmeye yatkın olmalarıdır. Anyonik, katyonik veya nötral konumda olabilirler. Serbest radikaller etkilerini protein, lipid, karbohidrat ve DNA oksidasyonu yaparak, hücre zarında, hücre organellerinde ve DNA'larda patolojik değişiklikler oluşturarak gösterirler. Bunların sonucunda işlev bozukluğu veya hücre ölümü olmakta ya da mutant özellikler kazandırarak tümör oluşturabilmektedirler. Organizmada essansiyel maddelerin oksidasyonuna neden olabilecek moleküllerin etkilerini önleyen veya geciktirebilen maddelere ise antioksidan denilmektedir. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik aşırı derecede reaktif oksijen türlerinin yapılmasına ve oksidatif hasara neden olur. Bu durum oksidatif stres olarak belirtilir (2).

Bu alışma Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran ve çeşitli endikasyonlar ile amniosentez yapılan gebeler ikinci trimester test sonuçlarının normal veya yüksek riskli olmasına göre gruplandırılarak oksidatif stress parametreleri açısından karşılaştırıldı ve iki grup arasında oksidatif stress açısından anlamlı fark olup olmadığı araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prenatal Tanı

Prenatal (Doğum öncesi) tanı; fetus veya embriyodaki hastalıkların doğum öncesi dönemde tespit edilmesi işlemidir. Amaç; nöral tüp defektleri gibi doğumsal anomalileri, Down Sendromu ve Frajil X gibi genetik hastalıkları saptamaktır. Prenatal genetik testler; sitogenetik testler (kromozom düzeyinde değerlendirme) ve molekuler testleri (DNA düzeyinde mutasyon analizi) içermektedir.

Prenatal tanı ile özellikle risk taşıyan gebeliklerde bebeğe henüz anne karnındayken tanı konulması mümkün olmaktadır. Prenatal tanı aynı zamanda hastalığın varsa doğum öncesi tedavisine ve doğum sonrası gerekli önlemlerin alınmasına, tedavi planlanmasına olanak vermektedir. Bu yöntemler ile tanısı konulan bazı hastalıklar için yasal çerçeveler dâhilinde ailenin isteği doğrultusunda gebeliklerin sonlandırılması da mümkün olabilmektedir.

2.2. Fetal Genetik Bozukluklar İçin Kullanılan Tarama Testleri

Prenatal tarama testlerinin amacı toplumdaki asemptomatik düşük riskli bireylerde genetik hastalık riskini saptamaktır. Tarama testi tanı testlerinin aksine toplumda belli bir hastalıktan etkilenmiş kişileri ortaya koymaz. Tarama testleri, toplumda diagnostik testlerin yapılması gereken genetik hastalık için yüksek risk taşıyan bireyleri ortaya çıkarır.

İdeal prenatal tarama testinin başlıca sahip olması gereken kriterler:

- Toplumda sık rastlanan ve önemli bir bozukluğu tanımalı.
- Kabul edilebilir maliyeti olmalı, uygulanabilir olmalı.
- Güvenilir, tekrar edilebilir olmalı.
- Yeterince erken gebelik haftalarında sonuç vermeli.
- İstenildiğinde güvenli bir şekilde ve yasal olarak uygun gebelik haftalarında gebelik terminasyonuna olanak sağlamalı.
- Testin yapıldığı genetik bozukluğu tanımak için kesin tanı sağlayan diagnostik test mevcut olmalıdır.

Sensitivite ve spesifite tarama testinin toplumdaki hastalıklı bireyleri saptama başarısını gösteren iki önemli kavramdır. Sensitivite, tarama testi pozitif olduğunda etkilenmiş gebeliklerin olasılığını yüzde olarak ifade eder. Spesifite ise, testin negatif olduğu durumda sağlıklı, hastalıktan etkilenmemiş gebeliklerin olasılığını yüzde olarak ifade eder.

Sensitivite ve spesifite hastalığın toplumdaki prevalansı ile ilişkisiz kavramlardır. Sadece test pozitif ya da negatif olduğunda toplumda hastalıklı ve sağlıklı bireylerin beklenen yüzdesini gösterir.

Pozitif ve negatif prediktif değer ise, hastalığın toplumdaki prevalansı ile ilişkilidir. Pozitif prediktif değer testin pozitif olduğunda testin yapıldığı kişide hastalığın görülme olasılığıdır. Negatif prediktif değer ise testin negatif olması halinde kişide hastalığın görülmemesi olasılığını ifade eder. Hastalığın toplumdaki prevalansı arttıkça pozitif prediktif değer artar, negatif prediktif değer azalır.

Yanlış pozitiflik testin pozitif olduğunda sağlıklı bireylerin oranını, yanlış negatiflik ise test negatif olduğunda hastalığa tutulmuşların oranını ifade eden önemli, bilinmesi gereken iki terimdir.

2.3. Antenatal Kromozomal Anomali Taramasında Anne Yaşı

Kromozomal defekt olasılığı anne yaşına paralel olarak artar. Kromozomal defekli olan bebeklerin intrauterin ölme olasılığı normal bebeklere göre daha fazladır. Bu nedenle kromozomal defekli fetus riski gebelik haftası ilerledikçe azalır (3). Trizomi 21'in taraması ilk olarak 1970'li yılların başında ileri anne yaşının tarama testi olarak kullanılması ile başlamıştır. Amniyosentezin düşük yapma riski taşıması ve işlemin maliyetinin yüksek olması prenatal tanının tüm topluma sunulmasını sınırlamıştır. Başlangıçta amniyosentez 40 yaş üzeri anne adaylarına önerildi. Yavaş yavaş amniyosentezin yaygınlaşması güvenilir bir tetkik olduğunun anlaşılması ile yüksek riskli grup yeniden tanımlanıp 35 yaş ve üstü olarak belirlendi (5). Yüksek riskli olarak tanımlanan bu gebeler tüm gebelerin yaklaşık %5'ini oluşturuyordu (5). Son yıllarda 35 yaş ve üzerindeki kadınlar daha fazla doğum yapmaktadırlar. 1974'te 35-39 yaş arasındaki kadınlar canlı doğumların sadece %4,7'sini oluştururken, 1997'de bu oran %12,6 olmuştur (4).

Son 30 yılda taramanın tanımlanmasında 2 dogmatik politika ortaya çıktı. Birincisi daha çok özel sağlık sisteminin hâkim olduğu ülkelerde 35 yaş ve üstünü riskli grup olarak tanımlayan dogma. Buna göre çoğu gelişmiş ülkede, ileri anne yaş gebeliklerinin artması nedeniyle tüm gebeliklerin yaklaşık olarak %15'i tarama testi pozitif grup içerisine girmiş

oldu. İkinci ise sağlık hizmetinin devlet tarafından sunulduğu ülkelerdeki dogma olup, bu politika yüksek risk gurubundaki hastaların sadece yaklaşık %5'ine diagnostik test yapma imkanı sunabiliyordu. Bu ülkelerde yaş sınırı 35 den 38'e yükseltildi. Anne yaş sınır değeri 38 olarak kabul edildiğinde yüksek riskli olarak kabul edilen grup tüm gebeliklerin yaklaşık %5'idir ve bu trizomi 21'li bebeklerin %30'udur (4-7). 35 yaş tarama için eşik değer kabul edildiğinde midtrimester trizomi 21 riski 1/270, yenidoğan riski 1/380 dir. Bu değerler tarama testinin pozitif kabul edilmesi için standart eşik değerlerdir (6).

2.4. İkinci Trimester Serum Marker Taraması

İkinci trimester serum tarama testi ilk olarak 1984 yılında, maternal serum alfa-fetoprotein düzeyinin Down Sendromlu gebeliklerde daha düşük olduğunun anlaşılması sonrasında geliştirildi. Trizomi 21 gebelerde ortalama maternal serum AFP düzeyi 0,75 multiple of median (MoM) dır (8, 9). Daha sonraları yüksek hCG (ortalama değer 2,3 MoM) ve düşük E3 (ortalama 0,7 MoM) düzeylerinin de trizomi riskinde artışla beraber olduğu görüldü. Her bir parametre tek başına tarama testi olarak kullanıldığında trizomi 21 saptama oranı %20-30' larda kalmaktaydı (8, 10, 11). Tüm bu parametreler birbirinden bağımsız değişkenler oldukları için, 3 parametrenin anne yaşı ile birlikte kullanılması ile bugün klasik olarak üçlü test olarak bilinen tarama testi ortaya çıktı.

Üçlü test 35 yaşın altındaki kadınlarda tizomi 21 saptamada %5'lik yanlış pozitiflikle %57 -%67 sensitiviteye sahiptir (12, 13, 14). Otuzbeş yaşın üzerinde ise maternal yaşın risk analizine etkisiyle sensitivite %87 yanlış pozitiflik ise %25 tir (15).

2.5. Normal Karyotip Gebeliklerde Anormal Serum Marker Değerleri

2.5.1. Açıklanamayan Yükselmiş Serum AFP Düzeyi

Gestasyonel yaş doğru olarak belirlendiğinde ve fetüs gelişimsel olarak normal olduğunda yüksek AFP değerleri fetomaternal yüzdeki bir bozukluğu işaret eder. Bu gebelikler intrauterin gelişim geriliği, preterm doğum, preeklampsi, intrauterin fetal ölüm, dekolman plasenta için yüksek risk altındadır. AFP değeri yükseldikçe gebelik komplikasyonlarının ortaya çıkma ihtimali de artar. AFP değeri ne kadar yüksekse gebelik komplikasyonları için risk de beraberinde artar. AFP MoM değeri 2,5-2,9 olduğunda gebelik komplikasyonlarının ortaya çıkışı %16, AFP MoM değeri 3,0-5,0 olduğunda ise %29 dur.

AFP Mom değeri 2,5 üzerinde olduğunda preeklampsi, intauterin gelişime geriliği, dekolman plasenta gibi plasental komplikasyonların ortaya çıkma ihtimali 10 kat artmaktadır (16, 17, 18, 19).

2.5.2. Açıklanamayan Yükselmiş Serum β -hCG Düzeyi

β -hCG yüksekliliği de kromozomal bozukluk yokluğunda kötü gebelik sonuçları ile ilişkilidir. β -hCG yksekliliğinde preeklampsi, düşük doğum ağırlılığı, preterm doğum, fetal ölüm için yükselmiş risk sözkonusudur ve bu risk AFP yüksekliliği ile ilişkili riskten bağımsızdır. β -hCG MoM değeri ne kadar ykseksse kötü gebelik sonuçları için riskte o kadar yüksektir (20).

2.5.3. İkinci Trimester Maternal Serum striol Düşüklüğü

Düşük serum uE3 düzeyi de kötü gebelik sonuçları ile ilişkilidir. Çok düşük değerler (0 - 0,15 MoM) fetüs ve plasentanın biyokimyasal bozukluklarını düşündürür. Bu denli düşük E3 değerleri; plasental sulfataz yokluğu, konjenital adrenal hipoplazi, adrenokortikotropin eksikliliği, hipotalamik kortikotropin yetmezliliği, anensafali ve Smith Lemli Opitz Sendromunda görülebilmektedir (21, 22, 23).

Plasental steroid sulfataz eksikliliği X kromozomuna bağlı resesif geçiş gösterir. Xp22.3 delesyonu ve neticesinde gelişen enzim yokluğu sonucu fetal strjen prekürsörlerinden östriol sentezlenemez. Fetal fenotip delesyonun büyüklüğü ile ilişkilidir. %90 X bağımlı iktiosis şeklinde kendini gösterir. %5 oranında komşu genlerin kaybına bağlı mental retardasyon görülebilmektedir (22).

Smith Lemli Opitz Sendromu otozomal resesif geçiş gösterir. 3B-hidroksisteroid-G7-Redüktaz enzim eksikliliğine bağlı kolesterol biyosentezinin bozulması sonucu gelişir. Tipik yüz görünümü, düşük doğum ağırlılığı, mental retardasyon, mikrosefali, pitosis, sindaktili gibi çok sayıda yapısal bozuklukla karakterizedir (21, 23).

2.6. Birinci Trimester Serum Biyokimyasal Tarama Testi

PAPP-A (Pregnancy asociated plazma protein-A) ve serbest β -hCG birinci trimester trizomi 21 taramasında kullanılan parametrelerdir. Gebeliğin ilerlemesiyle anne kanındaki serbest β -hCG giderek azalırken Trizomi 21'li gebeliklerde artar. Down Sendrom'lu

gebeliklerde ortalama serum serbest β -hCG düzeyi 1,8 MoM'dur. Anne kanındaki PAPP-A düzeyi gebelik haftasına paralel olarak artar, ancak trizomi 21'li gebeliklerde azalır. Down sendromlu gebeliklerde ortalama PAPP-A düzeyi 0,4 MoM'dur (24, 25).

Her gebelik haftası için belirlenmiş farklı serbest β -hCG ve PAPP-A düzeyi ve bunlara karşılık gelen anomali olasılık oranı vardır. Bu oran, önceki risk ile çarpılarak yeni risk hesaplanmış olur. Serbest β -hCG seviyesinin yükselmesi PAPP-A düzeyinin azalması Trizomi 21 riskini artırır (24, 5, 25).

2.6.1. Nukal Translusensi Kalınlığı

Birinci trimesterde, ensenin arka tarafında biriken sıvı septalı olup olmamasına, sadece ensede bulunmasına, ya da tüm vücudu zar gibi sarmasına bakılmaksızın nukal translusensi (NT) olarak tanımlanır. İkinci trimesterde NT genelde kaybolur. Daha nadir olarak, ense ödemi veya tüm vücudu saran hidropsu ya da hidropsuz kistik higroma şekline dönecek kadar artabilir. Ultrasonografi bulgusu ile ne kromozomal bozukluğu ne de prognozu belirlemek mümkün değildir (5).

İkinci veya üçüncü trimesterde ensenin arkasında anormal miktarda sıvı birikimi, kistik higroma ya da ense ödemi olarak adlandırılır. Ense kalınlığındaki artış pek çok nedene bağlı gelişebilir. Başlıca nedenler; Trizomi 21, Turner Sendromu, fetal malformasyon, genetik sendromu içeren diğer kromozomal defektler, fetal kardiyovasküler ve pulmoner defektler, iskelet displazileri, diaframatik herni, konjenital enfeksiyonlar, metabolik ve hematolojik hastalıklardır. Bu bozuklukların rastlanma sıklığı NT'nin görünümünden çok kalınlığı ile ilişkilidir (5, 26, 29).

2.6.2. Nukal Translusensi Ölçümü

Doğru NT ölçümü yeterli eğitim ve standardize edilmiş ölçüm tekniğine uyarak yapılabilir. Bu sayede değişik uygulayıcılar aynı hastada benzer ölçüm sonuçlarını elde edebilir. Doğru ve standart NT ölçümü için; ultrasonografi cihazı yüksek rezolüsyonlu, görüntüyü yeniden inceleme (video loop) özelliklerine sahip olmalıdır. Gebelik haftası 11 hafta - 13 hafta 6 gün arasında olmalı, cranium rump length (CRL) ölçümü 45–84 mm arasında olmalıdır. CRL ölçümünde olduğu gibi fetüsün sagittal kesiti alınmalıdır. Fetüs başı nötral pozisyonda olmalı, hiperekstansiyon veya hiperfleksiyon konumunda olmamalıdır. Ekranda fetal baş ve üst toraks görüntülenmeli, mümkün olan en büyük büyük büyütme

kullanılmalıdır. İmlecin her hareketinde 0,1 mm'lik değişiklikler ölçülebilmelidir. Cilt ve yumuşak doku arasındaki subkutan sıvı birikiminin en geniş olduğu yerden, servikal vertebralar hizasından ölçüm yapılmalıdır. Fetal cilt ve amniyon zarları ayırt edilmelidir. Artı şeklinde imleçler kullanılmalıdır. İmleçler NT kalınlığını tanımlayan hattın üstüne yerleştirilmelidir. İmleçler beyaz hattın hemen üzerine bu hattan ayırt edilmeyecek şekilde yerleştirilmeli, sıvı birikiminin üzerine imleç temas etmemelidir. Ölçüm esnasında birden çok ölçüm yapıp en büyük olanı kullanılmalıdır. Olguların %5-10'unda umbilikal kordon boyun çevresinde bulunur. NT'nin yanlış olarak daha büyük ölçülmesine neden olabilir. Bu durumda kordonun bulunduğu yerin altından ve üstünden ölçüm yapıp, risk hesaplamada bu iki ölçümün aritmetik ortalaması alınmalıdır (5).

2.6.3. Nukal Translusensi ve Birinci Trimester Serum Biyokimyasal Parametrelerinin Birlikte Kullanımı

Trizomi 21 taramasında parametre olarak sadece PAPP-A kullanıldığında etkilenmiş gebeliklerin %40-45'i, tek başına serbest β -hCG kullanıldığında etkilenmiş gebeliklerin %23'ü %5 lik yanlış pozitiflikle tanınabilmektedir (24, 25). Bu iki parametre beraber kullanıldığında ise Trizomi 21'li gebeliklerin %60 - 65'i %5'lik yanlış pozitiflikle tanınabilir (30). NT, serbest β -hCG, PAPP-A bağımsız değişkenler oldukları için kromozomal bozukluk riskini belirlemede beraber kullanılmaları mümkündür. NT'nin PAPP-A ve serbest β -hCG ile beraber kullanılmasıyla Trizomi 21'li gebelikleri saptama oranının daha yüksek olduğu birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Krantz, saptama oranını %5 lik yanlış pozitiflikle %90, Wapner, %5 yanlış pozitiflikle saptama oranını %79, Crossley %5 yanlış pozitiflikle saptama oranını %82, Wapner 35 yaş üstü kadınlarda ise trizomi 21 saptama oranını %16 lık yanlış pozitiflikle %90 olarak bildirilmiştir (31, 32, 33).

Bu parametrelerin kullanılmasıyla trizomi 21 dışında diğer kromozomal bozukluklarda saptanabilmektedir. Trizomi 13 ve trizomi 18'de serbest β -hCG ve PAPP-A azalır. Seks kromozomu anomalilerinde serbest β -hCG normal, PAPP-A azalır. Paternal triploidide (oosit iki sperm tarafından döllendir) serbest β -hCG belirgin şekilde, PAPP-A hafifçe azalır. Maternal triploidide ise serbest β -hCG ve PAPP-A ikili test altında belirgin olarak azalır. Günümüzde NT, serbest β -hCG ve PAPP-A kromozomal bozuklukların tanınmasında birinci trimester tarama testi olarak klinik pratikte yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.6.4. Nazal Kemik

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda 11–14 haftalar arasında yapılan ultrasonografide kromozomal olarak normal fetüslerin %3'ünde, trizomi 21'li fetüslerin %60 kadarında nazal kemiğin görülmeyebileceği gösterilmiştir (34). Yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada nazal kemiğin anne yaşı, NT ve birinci trimester serum parametreleri ile beraber değerlendirilmesi durumunda; Trizomi 21 saptanmasında duyarlılığın (%5'lik yanlış pozitiflik oranı ile) %95'e çıktığı gösterilmiştir (35).

Nazal kemik yokluğu için 11–14. haftalarda genel popülasyonda taramanın asıl değeri henüz net olarak belirlenememiştir. Birinci trimester tarama testinde yöntemle bağlı problemlerden ötürü yüksek yanlış pozitiflik oranı görülebilmektedir. Ayrıca operatörler arası ve kişinin kendi ölçümleri arasındaki değişkenlik nedeniyle yanlış pozitiflik oranı daha da artabilmektedir (36).

2.7. Nöral Tüp Defekti ve Diğer Yapısal Defektler için AFP Taraması

AFP gestasyonun erken dönemlerinde yolk kesesinden, daha sonra gastrointestinal sistem ve karaciğer tarafından sentezlenen özellikli bir globulindir. Fetal serumda ve amniyon sıvısında konsantrasyonu 13. gestasyonel haftaya dek artar. Daha sonra düzenli olarak azalır (37). Maternal serumda ise 12. haftadan sonra düzenli olarak artan miktarlarda bulunur. Bu paradoks yükselişin nedeni, fetal membranlar ve plasentada fetal plasma proteinlerine karşı olan geçirgenlik artışıdır. Maternal serumda alfa-fetoprotein taraması ideal olarak 16.-18. haftalar arasında yapılır. 2,0-2,5 MoM değerleri eşik değer olarak kabul edilir. Günümüzde birçok laboratuvar 2,0 MoM değerini eşik değer olarak kabul etmektedir (38).

Maternal serum AFP düzeylerinin yorumlanmasını etkileyen birçok faktör vardır. En önemlisi gestasyonel yaşın doğru tespitidir. Maternal serum AFP düzeyi taramanın yapıldığı gebelik haftalarında giderek artmaktadır. Bu nedenle gestasyonel yaşın yanlış tespiti, maternal serum AFP düzeyinin değerlendirilmesinde hataya sebep olur. Maternal kilo alfa-fetoprotein düzeyini etkiler. Obez kadınlarda maternal serum AFP düzeyi dilüsyona bağlı olarak daha düşüktür. Maternal serum AFP düzeyinin kilo için düzeltilmiş değerleri taramanın doğruluğunu arttırır. Siyah ırkta maternal serum AFP düzeyi daha yüksek, insülin bağımlı diabeti olan gebelerde ise daha düşüktür. Maternal serum AFP düzeyi yorumlanırken bu durumlar göz önüne alınmalıdır (39, 40).

Nöral tüp defekti (NTD) dışında; gastroşizis, omfalosel, özafagial-intestinal obstrüksiyonlar, üriner obstrüksiyonlar, polikistik böbrek, renal agenezi, çoğul gebelik, düşük doğum ağırlığı, inrauterin gelişme geriliği, oligohidramniyos gibi birçok durum maternal serum AFP yüksekliği ile ilişkilidir (1). Maternal serum AFP düzeyi yüksek saptandığında ilk olarak gestasyonel yaşın doğru hesaplandığından emin olunmalıdır. Ultrasonografi ile maternal serum AFP düzeyinin yüksekliği ile ilişkili diğer durumlar ekarte edilmelidir.

Yakın zamana kadar maternal serum AFP düzeyi yüksekliğinde standart tanı amniyosentez ve amniyon sıvısında AFP düzeyinin ve asetilkolinesteraz mevcudiyetinin saptanması idi. Asetilkolinesteraz nöronal dokudan köken aldığından, nöral tüp defekti tanısında spesifitenin arttırılması için kullanılmaktaydı. Günümüzde ise nöral tüp defekti tanısında ultrasonografi amniyosenteze tercih edilmektedir. Yönlendirilmiş ultrasonografik değerlendirmenin sensitivite ve spesifitesi deneyimli ellerde amniotik sıvıda AFP ve asetilkolinesteraz tayinine eşittir (41, 42).

Ultrasonografi nöral tüp defektlerinin tanısında primer tarama metodu olarak kullanıldığında, nöral tüp defektlerinin %60 ila %80'i tanınabilirken; yüksek riskli olgularda yönlendirilmiş ultrasonografik değerlendirmenin sensitivitesi %97 - %100, spesifitesi ise %100 olarak bildirilmiştir (41, 42).

2.8. Kromozomal Bozuklukların Tanısında Ultrasonografi

İdeal olarak genetik sonografi 18–20. gebelik haftalarında yapılmaktadır. Fetal biyometrik ölçümleri takiben majör yapısal anomaliler ve minor belirteçler aranır (43). Trizomili fetüslerin yaklaşık %25'inde ikinci trimester ultrasonografisinde saptanabilecek major yapısal anomali mevcuttur (44). Bu nedenle, değerlendirme duyarlılığını arttırmak için diğer ultrasonografik bulgular tanımlanmıştır. Minor anomali ya da soft belirteç olarak tanımlanan bu bulgular, beraberinde kromozomal defekt yokluğunda genellikle sakatlık nedeni değildir. Diğer tarama modelitelerinde olduğu gibi ultrasonografi kullanılarak önceki risk yeniden hesaplanabilir (45–47).

Birçok çalışmada yüksek riskli gebelerde genetik sonografinin doğruluğu bildirilmiştir. Anormal ultrasonografi, en az bir belirtecin bulunması şeklinde tanımlandığında toplam duyarlılık %77'dir (%50 - %93 arasında değişmektedir). Yanlış pozitiflik ise %13'tür (%7-17 oranında değişmektedir) (48). 1998 senesinde yapılan 11 merkezli başka bir çalışmada trizomi 21'li fetüslerin %85'inde ultrasonografide en az bir anomali saptanmıştır (49). 2003 yılında yapılan 8 merkezli başka bir çalışmada ise ikinci trimester sonografisinin

yüksek riskli gebelerde kullanımı değerlendirilmiş, çalışmada Trizomi 21 saptamada duyarlılığı %72 olarak saptanmıştır (50). Farklı merkezlerde yapılan çalışmalarda genetik sonografini kromozomal anomalileri saptamada duyarlılığı %50–93 oranında değişmektedir. Yanlış pozitiflik oranı ise %7-17 arasında değişmektedir (51, 52).

Sonografi ile fetal malformasyonların ekarte edilmesi yüksek derecede deneyim gerektirmektedir. Birçok araştırmacı günümüzde genetik sonografi ile risk hesaplamasının kuruma özgü olduğuna inanmaktadır. Bir merkezden yayınlanan deneyim bir diğerinde geçerli olmayabilmektedir (52). Genetik sonografi yapan bir merkezin hastalara doğru, detaylı, güncel danışma verebilmesi ve değerlendirme normal olduğunda ne derecede risk azaldığını anlatabilmesi için, kromozomal bozuklukları saptamada duyarlılığını takip etmesi gerekmektedir (53).

2.9. 35 Yaş Üzeri Gebeliklerde Tarama Testlerinin Kullanımı

Anne yaşının 35 ve üzeri olması yaklaşık 35 yıldır amniyosentez için standart bir endikasyon olarak bilinmektedir. Serum testlerinin geliştirilmesi ve etkin bir şekilde kullanımının yaygınlaşması ile ileri anne yaşının (35 ve üzeri) diagnostik invaziv test için endikasyon olması tartışılır hale gelmiştir. 35 yaş ve üzerindeki tarama testi negatif olan gebelere diagnostik invaziv test önerilmesi her trizomi 21’li gebeliği tanımak için 3 normal gebeliğin prosedür ilişkili komplikasyonlar nedeniyle kaybedilmesine neden olacaktır (1, 32, 15). Birinci trimester tarama testinin uygun şekilde yapılması durumunda bu testin 35 yaş ve üzerinde %15 yanlış pozitiflikle %90 sensitiviteye sahip olduğu (32), ikinci trimester tarama testinin ise 35 yaş üzerinde %25’lik yanlış pozitiflikle %87 sensitiviteye sahip olduğu (15) düşünülürse, anne yaşına bakılmaksızın tüm gebeliklere tarama testini önermek direkt olarak invaziv diagnostik test yapmaktan mantıklı gibi görünmektedir (1).

35 yaş ve üzeri gebeliklerin tümüne, 35 yaş altı gebeliklerden birinci trimester tarama testi pozitif olanlara invaziv diagnostik prosedür uygulanırsa, tüm gebeliklerin yaklaşık %12,5’ine invaziv test uygulanacaktır (1). Anne yaşına bakılmaksızın tüm gebelere tarama testi yapılması kaynakların daha ekonomik ve efektif kullanılmasına olanak sağlayabilir. Eğer yaşa bakılmaksızın tüm gebeliklere ikinci trimester tarama testi uygulanıp testin pozitif olduğu gebeliklere invaziv diagnostik test uygulanırsa invaziv test oranı %6,4 olacaktır. Eğer yaşa bakılmaksızın tüm gebe populasyon birinci trimester tarama testiyle taranır ve testin pozitif olduğu hastalara invaziv prosedür uygulanırsa, invaziv diagnostik test oranı %3,8’e düşecektir (1). Bugün birçok merkez 35 yaş ve üzeri anne adaylarına direkt invaziv girişim

yapmaktansa genetik danışmanlık sağlamakta, iki seçeneğinde olası riskleri hakkında hastaları bilgilendirerek tarama testi önermektedir (1, 109).

2.10. İnvaziv Diagnostik Testler

2.10.1. İnvaziv Diagnostik Test Endikasyonları

İnvaziv diagnostik test için en sık endikasyonlar: ileri anne yaşı (35 yaş ve üzeri) ve pozitif tarama testidir (tarama testlerinde 1/270 ve üzerinde risk varlığı) (1). İnvaziv test yapmak için diğer bir endikasyon ise, önceki gebeliklerde kromozomal anomalili çocuk öyküsüdür. Önceki gebelikte Trizomi 21’li çocuk doğuran bir kadının sonraki gebeliğinde tekrarlama riski %1–1,5 olarak bildirilmektedir (54). Eğer ilk trizomili çocuk 30 yaş altında doğmuş ise ve kadın sonraki gebeliğinde yine 30 yaş altında ise, trizomi riski yaş riskinin yaklaşık sekiz katıdır. Eğer ilk trizomili bebek 30 yaşından sonra doğmuşsa, bir sonraki hamilelikte trizomi 21 riski istatistiksel olarak annenin ikinci çocuğa hamile olduğu yaştaki riskten yüksek değildir (55).

Düşükle sonlanmış veya elektif olarak termine edilmiş önceki trizomili gebelik sonrasında trizomili canlı doğum riski kesin olarak bilinmemektedir. Düşükle sonuçlanmış bir gebelikte karyotip, sonraki düşüklerin karyotipini tahmin etmeyi sağlasa da, trizomili canlı doğumla ilişkisi kesin değildir (56). Bu durumda da pek çok klinisyen trizomili canlı doğum sorasındaki riski kabul etmekte ve amniyosentez önermektedir. İki veya daha fazla trizomi 21’li çocuk öyküsü olan ebeveynlerde somatik veya germ hücre mosaisizm bulunması muhtemeldir. Bu durumda ebeveynlere periferik kanda kromozom analizi önerilmelidir. Trizomili olguların yaklaşık %3 ila 5’i de nevo veya kalıtsal translokasyon nedeniyledir. Eğer translokasyon de nevo ortaya çıkmış ise bir sonraki çocukta etkilenme olma ihtimali düşüktür. Eğer anne dengeli translokasyon taşıyorsa bir sonraki gebelikte trizomi riski %10-15’tir. Babanın dengeli translokasyon taşıyıcısı olması durumunda risk daha düşüktür (%0,5). Her halukarda ebeveynlerin birinde dengeli translokasyon mevcutsa prenatal invaziv tanı endikedir (1). Trizomi 21 dışında ki diğer trizomilerde tekrarlama riski trizomi 21 de olduğu gibi net olarak tanımlanamamıştır. Bu durumda da %1 lik ampirik risk kabul edilmekte ve diagnostik invaziv test yapılmaktadır. 45X gebelik sonrasında tekrarlama riski belirgin olarak artmamaktadır. Fakat maternal 45X, 46XX mosaisizm varlığında ikinci çocukta etkilenme olabildiği bildirilmiştir (57). Fetal yapısal bozuklukların ultrasonografi ile tespiti kromozomal bozukluk riskini arttırmaktadır. Bu durumda da invaziv diagnostik girişim endikedir. Her bir

yapısal marformasyonun kromozomal bozukluğu olan ve olmayan fetüslerde görülme sıklığı ile ilişkili bir olasılık oranı vardır. Ultrasonografide bu malformasyonların saptanması durumunda bu olasılık oranı, anne yaşı ve birinci veya ikinci trimester taramasında saptanmış olan önceki risk ile çarpılarak yeni bir risk hesaplanabilmektedir. Sonuçta ultrasonografide saptanan major ve minor belirteçlerle önceki risk modifiye edilebilmektedir. Ultrasonografide saptanan major yapısal defekt invaziv tanı için endikasyondur (5, 45, 58).

Prenatal invaziv tanı metotları çeşitli biyokimyasal ve DNA çalışmaları için materyal sağlamak için kullanılabilir. Bu moleküler bozukluklar birçok hastalığın patogenezinin sorumludur. Günümüzde birçok genetik bozukluk DNA çalışmalarıyla tanınabilmektedir.

2.10.2. İnvaziv Tanı Teknikleri

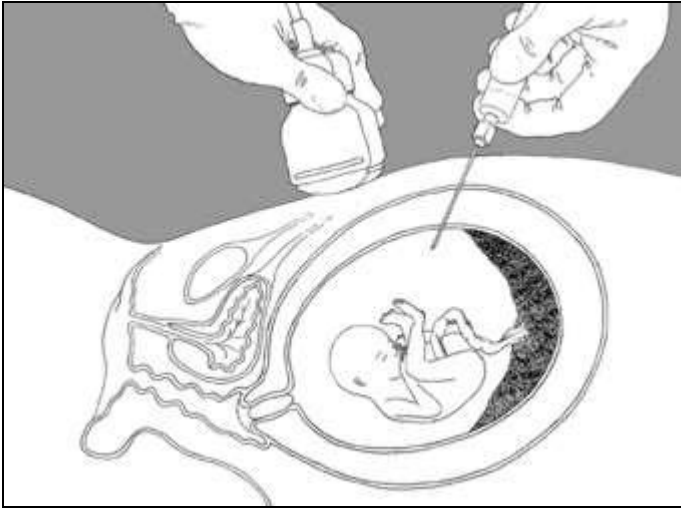
2.10.2.1. Amniyosentez

Amniyosentez ilk olarak 1882 yılında polihidramniosun dekompresyonu için kullanılmaya başlandı. Daha sonra Rh izoimmunizasyonunda amniyotik sıvı bilirubin değerlerini saptamada kullanıldı (59). Günümüzde fetal kromozomal ve genetik bozuklukların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.10.2.1.1. Amniyosentez Tekniği

Genetik bozuklukların tanısında midtrimester amniyosentez 15 ila 18. gebelik haftalarında yapılmaktadır. Bu haftalarda amniyon sıvı miktarı, viabl - non viabl hücre oranı prosedür için uygundur. İşlem öncesinde ultrasonografi ile fetüs sayısı, gestasyonel hafta, plasenta ve kord insersiyon yerleri tespit edilmeli, fetal viabiliteden emin olunmalıdır. Örnekleme yeri belirlendikten sonra maternal abdomen antiseptik solusyonla temizlenir. Ultrasonografi rehberliğinde 20–22 gauge iğne ile amniyotik sıvı cebine girilir. Amniyon zarı bombeleşerek sıvı akışını engelleyebileceği için amniyon cebi iğnenin içeride güvenli bir şekilde hareket ettirilmesine izin verecek kadar geniş olmalıdır. İlk 2 ml sıvı maternal hücre kontaminasyonunu önlemek için dışarı alınır. Sonra 20 ml amniyon sıvısı örnekleme için alınır (Şekil 1). İşlem sonrası fetal kalp hızı ve kardiyak aktivite kaydedilir (2). İğnenin transplasental geçişinden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır. Eğer transplasental geçiş olmadan işlemi gerçekleştirmek mümkün olamıyorsa; plasentanın köşesinden ve umbilikal kordun plasentaya insersiyon yerinden kaçınılmalı, plasentanın mümkün olan en ince kısımdan

geçilerek amniyotik kaviteye girilmelidir (60). Renkli doppler büyük fetal damarların görüntülenmesi ve yaralanmasının önlenmesi için kullanılabilir. Doğru teknikle yapılan transplental örnekleme deneyimli ellerde fetal kayıp oranını arttırmamaktadır (61). Eğer ilk denemede sıvı almakta başarısız olunursa, fetüs ve plasentanın ultrasonografi ile tekrar değerlendirilmesinden sonra başka bir lokalizasyondan ikinci kez örnekleme yapılmaya çalışılır. Sıvı alınamamasının en sık sebebi amniyon zarının sıvı geçişine engel olacak şekilde bombeleşmesi ve iğne ile uyarılan uterin kontraksiyonlardır. İkinci denemede de başarısız olunursa aynı seansta daha fazla deneme yapılmamalıdır. Hastaya birkaç gün içerisinde tekrar randevu verilmelidir. Fetal kayıp oranı girişim sayısı arttıkça artmaktadır (61).



Şekil 1: Amniosentez yapılma tekniği.

2.10.2.1.2. Amniosentez Sonrası Sitogenetik Sonuçlar

Amniyon sıvısındaki fetal hücreler fetal deri, respiratuar traktüs, gastrointestinal traktüs, üriner traktüs ve plasentadan kaynaklanır. Sıvı elde edildikten sonra bu hücreler doku kültürüne ekilir. Yaklaşık 3–7 günlük inkübasyon sonrasında boyama ve karyotip analizi için yeterli mitoz sayısına ulaşılır. Amniyosit kültürü tanı için güvenilir bir metoddur. Kültürlerde başarısızlık yaklaşık %0,5'tir (62).

2.10.2.1.3. Mozaik Sonuçlar

Mosaikizm aynı bireyde birden fazla sitogenetik olarak farklı hücre serisinin varlığı olarak tanımlanır. Postzigotik kromozomal ayrılma kusuru sonucu oluşur. Amniosentez

sonrasında tek bir örnekte birden çok hücre dizisi %0,1-0,3 oranında görülmekle beraber; en sık neden sadece in vitro olarak gözlenen bir hücre kültür artefaktı olan psödomosaisizmdir (63). Sıklıkla tek bir kültürde, tek bir hücre dizisinde gözlenir. Psödomosaisizm sadece hücre kültüründe görülen bir durumdur. Fetüs genotip ve fenotip olarak normaldir. Klinik önemi yoktur (63, 64). Aynı mozaik bulguların birden çok hücre dizisinde görülmesi gerçek mosaisizm olasılığını artırır. Gerçek fetal mosaisizm oldukça nadidir. %0,25 olguda görülmektedir (63). Fakat klinik olarak önem arzeder. Fetal fenotipik anomalilere neden olur. Bu durumun açığa çıkarılmasında perkutan umbilikal kord kanı örnekleme (65), daha nadiren başka bir fetal doku örnekleme (fetal cilt biopsisi) gerekebilmektedir (66).

Mozaik sonuçların değerlendirilmesinde ayrıca detaylı ultrasonografi ile fetal yapısal anomalilerin varlığının araştırılması gerekmektedir (65). Çoğu olguda fetal örnekleme ve ultrasonografi normale fetal etkilenme yoktur. Fakat fetüste klinik olarak anlamlı anormal hücre dizisinin varlığı kesin olarak dışlanamaz.

2.10.2.1.4. Florasan İn Situ Hibridizasyon (FISH)

FISH probları florasanla işaretlenmiş özellikli bir kromozom üzerinde lokalize işaretlenmiş DNA sekanslarıdır. Spesifik DNA sekanslarının sayısının ve lokalizasyonunun belirlenmesinde kullanılır. Amniyon sıvısında kültür yapılmadan florasan sinyallerinin ölçülmesi sayesinde interfaz kromozomlarının değerlendirilebilmesine olanak sağlar. Yapılan çalışmalarda spesifik belli bir kromozom anomalisinin tanısında hücre kültürüyle %99,8 uyumlu sonuç verdiği bildirilmiştir (67, 68). Standart pratikte 21, 18, 13, X ve Y kromozomları için proplar mevcuttur. Bu teknoloji rutin olarak mosaisizm, tanslokasyonlar ve nadir görülen trizomiler gibi bütün sitogenetik bozuklukları saptayamamaktadır. Bu nedenle primer olarak klasik doku kültürü yerine kullanımı önerilmemektedir (69). Çabuk tanı olanağı sunduğu için beklenmedik şekilde aşırı hasta anksiyetesi, ilerlemiş gestasyonel hafta, ultrasonografide major yapısal defekt saptanmış olması gibi durumlarda kullanılması önerilmektedir.

2.10.2.1.5. Amniyosentez Komplikasyonları

Amniyosentez sonrasında sık karşılaşılan bulgular 1–2 saat süren kramplar ve alt abdominal ağrıdır. 48 saat içinde gerilemektedir. Genellikle çok ciddi boyutta değildir. Amniyosentez sonrası ciddi maternal komplikasyonlar nadirdir. Amniyonit %0,1 oranında

görülebilmektedir (70). Amniyon mayinin cilt florası ile kontaminasyonu sonrası oluşur. Prosedür ilişkili erken membran rüptürü sonrasında da gelişebilmektedir. Başlangıç sinsi ve nonspesifiktir. İhmal edilmesi, erken dönemde tedavi başlanmaması durumunda ciddi maternal enfeksiyon tablosu oluşturabilir. Rh izoimmünisasyonu Rh(-) kadınlarda %1 oranında görülebilir (71). Profilaktik anti-D immünoglobülin uygulanmasıyla önlenmektedir. Amniyon sıvı kaçağı ve vaginal kanama %2–3 oranında görülebilir. İkinci trimesterde spontan erken membran rüptürü sonrası sıvı kaçağının aksine prognoz genellikle iyidir. Çoğu olguda sıvı kaçağı yatak istirahati ile düzelir. Amniyon sıvı miktarı yeterli ise gebelik sonuçları yüz güldürücüdür (72).

2.10.2.1.6. Amniyosentez Sonrası Gebelik Kaybı

Midtrimester amniyosentezin güvenilir bir yöntem olduğu 1970'lerde İngiltere, Amerika ve Kanada'da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (73–75). Bu çalışmalar randomize olmadıkları için eleştiri alsalarda, amniyosentez yapılmamış hastalardan oluşan kontrol grupları da içermektedirler. Amerika ve Kanada'da yapılan çalışmalarda kontrol ve çalışma grupları arasında gebelik kayıp oranlarında anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Amniyosentez sonrasında gebelik kayıp oranı %3–4 olarak bildirilmiştir. 19 gauge ve daha büyük iğne kullanılması, iki ve daha fazla girişim yapılarak örnek alınabildiği durumlarda kayıp riskinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (74, 75).

4606 hasta ile Danimarka'da yapılan ilk prospektif randomize, kontrollü çalışmada ise amniyosentez yapılan grupta gebelik kayıp oranı %1,7, amniyosentez yapılmayan kontrol grubunda %0,7 olarak saptandı. Çalışma ve kontrol grupları arasında %1'lik fark gözlemlendi. Bu çalışmada ayrıca, amniyosentez yapılan grupta yenidoğanlarda respiratuar distress sendromu ve pnömoni insidansı daha yüksek olarak bildirildi (76). Sonraki yayınlarda ise böyle bir ilişki saptanmadı. Daha sonraları yapılan birçok çalışmada ise prosedür sonrası kayıp %1–2 oranında bildirildi (78). Bütün bu çalışmaların ışığında ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control - Avrupa Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi) tarafından amniyosentez sonrasında prosedür ilişkili kayıp oranı ise %0,5 olarak açıklandı (101). 2008 yılında yapılan çok merkezli prospektif bir çalışma olan FASTER (First And Second Trimester Evaluation of Risk For Aneuploidy Trial) çalışmasında amniyosentez yapılan grupta gebelik kayıp oranı %1, amniyosentez yapılmayan grupta ise %0,94 olarak bildirildi. İki grup arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Prosedür ilişkili kayıp oranı ise %0,06 olarak saptandı (77).

Amniyosentezin yeni yaygınlaştığı dönemlerde %0,1–3 oranında fetal yaralanma olduğu bildirilse de günümüzde ultrasonografi eşliğinde deneyimli merkezlerde yapılan amniyosentez esnasında bu komplikasyon oldukça nadirdir (74, 79).

2.10.2.2. Erken Amniyosentez

Erken tanı sağlamak için amniyosentezin 15. haftadan önce yapılması üzerine durulmuştur. Fakat birçok çalışmada komplikasyon oranı midtrimester amniyosentez ve koryonik villüs örneklemeyle karşılaştırıldığında oldukça yüksek bulunmuştur (89, 81). Güvenilir bir teknik olmadığından günümüzde klinik pratikte tercih edilmemektedir.

2.10.2.3. Koryonik Villüs Örnekleme

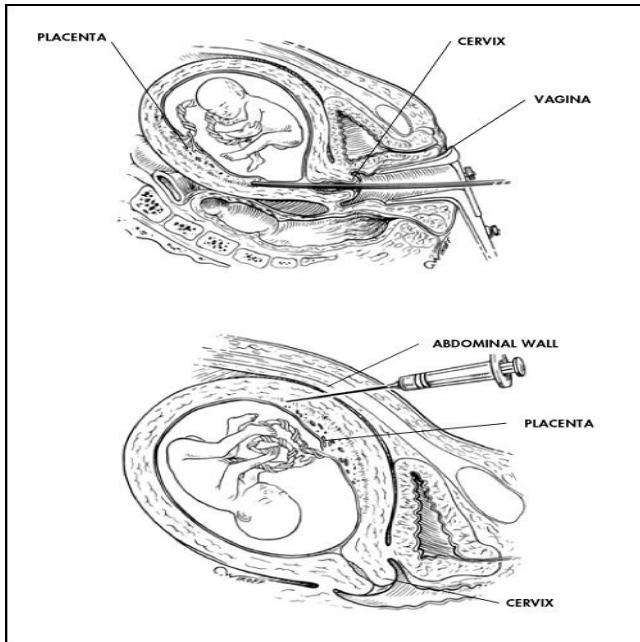
Koryonik villüs örnekleme 11. gestasyonal haftadan sonra yapılır. Kromozomal ve genetik bozuklukların tanısında kullanılır. Transabdominal ve transservikal olarak uygulanabilir. Birçok klinisyen transabdominal tekniği tercih etmektedir. Fetal trofoblastik hücreler (özellikle villüslerin iç kısımlarındaki hücreler) hızlı bölünür. Birinci trimester koryonik villüs örnekleme sinin avantajı; gebeliğin erken döneminde hızlı tanı olanağı sağlamasıdır. Anomali saptanması durumunda daha erken gebelik haftalarında terminasyon olanağı sağlamaktadır. Kromozomal bozuklukların tanısında birinci trimester tarama testlerinin geliştirilmesi ve kullanımının yaygınlaşması ile bu tekniğin önemi artmıştır (82).

2.10.2.3.1. Transabdominal Teknik

İşlem öncesinde ultrasonografi ile fetal kardiak aktivite, plasentanın lokalizasyonu belirlenir. Daha sonra ultrasonografi rehberliğinde 19–20 gauge spinal iğne plasentanın uzun aksına doğru yerleştirilir. Villüsler 20 ml'lik doku kültürü içeren enjektörle aspire edilir (Şekil 2). 14. gestasyonal haftadan önce yapılabilen transservikal örnekleme tekniğinin aksine, bu teknikle tüm gebelik süresince örnekleme yapılabilir. Bu nedenle oligohidramniyos varlığında midtrimesterde amniyosenteze alternatif olabilmektedir (2).

2.10.2.3.2. Transservikal Teknik

İşlem öncesinde ultrasonografi ile fetal kardiyak aktivite, plasentanın lokalizasyonu, uterus ve serviksin pozisyonu belirlenir. Hasta litotomi pozisyonunda iken işlem gerçekleştirilir. Vulva ve vajina povidon iyot solusyonu ile temizlenir. Spekulum yerleştirilir. Kateter nazikçe ultrasonografi rehberliğinde endoservikal kanal içinde ilerletilir. Endoservikal kanal geçilir ve kateter ucu ultrasonografide görülerek koryonik membranlara paralel olarak plasentanın distal ucuna dek ilerletilir. Doku kültürü içeren enjektörle villüsler aspire edilir (Şekil 2). Örnekleme yapıldıktan sonra materyal mikroskop altına incelenerek yeterli koryonik villüs elde edilip edilmediği kontrol edilmelidir. Eğer yeteri kadar villüs elde edilememişse ikinci deneme yapılabilir. Transabdominal ve transservikal tekniklerin ikisinin de güvenli oldukları gösterilmiştir (83). Çoğu olguda seçim operator ve hastanın tercihine bağlıdır. Bazı durumlarda özellikle seçilmesi gereken teknik daha nettir. Posterior yerleşimli plasenta, örnekleme yapılacağı hat boyunca bağırsak mevcudiyeti gibi durumlarda transabdominal örnekleme yerine transservikal yaklaşım tercih edilmelidir. Aktif herpetik lezyon, servikal nekrotik polip gibi durumlarda ise transabdominal örnekleme tercih edilmelidir (1).



Şekil 2: Transservikal ve transabdominal koryon villus örneklemesi.

2.10.2.3.3. Koryonik Villüs Örneklemesinde Sitogenetik Sonuçlar

Koryonik villüs örneklemeşi güvenilir bir teknik olarak kabul edilmektedir (84). Yanlış sonuçlar ise sıklıkla maternal hücre kontaminasyonu ve plasental mosaisizmin yanlış değerlendirilmesinden kaynaklanmaktadır. Koryonik villüs örneklemeşi %99,7 oranında doğrulukla genetik tanı olanağı sunmaktadır. Fakat nadir durumlarda amniyosentez veya fetal kan örneklemeşi gibi ikinci bir diagnostik tanı testine ihtiyaç duyulabilmektedir. Ek diagnostik teste gereksinim duyulan durumların başında ise mosaisizm gelmektedir. Diğer nedenler ise laboratuvar hataları ve maternal hücre kontaminasyonudur (85).

2.10.2.3.4. Maternal Hücre Kontaminasyonu

Koryonik villüs örneklerinde plasental villüs ve maternal desidual hücreler bulunur. Materyalin yıkanması ve mikroskop altında incelenmesine rağmen maternal hücreler kültürde üreyebilmektedir. Sonuçta anne ve fetüse ait iki hücre dizisi görülür. Maternal hücrelerin kültürde üremesi diagnostik hatalara neden olabilir. Materyalin belirgin maternal hücre kontaminasyonu sıklıkla örnek miktarının az olmasından kaynaklanır (86, 87).

2.10.2.3.5. Plasental Mosaisizm

Mosaisizm aynı bireyde iki ya da daha fazla sitogenetik olarak farklı hücre serisinin birlikte bulunması olarak tanımlanır. Mozaik sonuçların önemli bölümü in vitro görülmektedir. Bu durum gerçek mosaisizmden ayırt edilmesi gereken bir hücre kültür artefaktıdır. Bu durum tek bir hücre kültüründe, tek bir hücre dizisinde izlenir. Ancak aynı mozaik bulgunun birden çok kültürde, birden fazla hücre dizisinde veya tüm hücre dizilerinde izlenmesi sadece plasentada yada hem plasenta hemde fetüste oluşmuş gerçek mosaisizm olasılığını artırır. Mozaik sonuçlar koryonik villüs örneklerinin %1'inde görülebilmektedir. Fakat bu olguların %10 ila 40'ında fetüste mosaisizm konfirme edilmektedir (87–89). Çoğu olguda ise mosaisizm plasentada sınırlıdır. Fetal gelişim ve fenotip normaldir. Sınırlı plasental mosaisizm olasılıkla plasenta oluşumuna yönelmiş bir veya daha fazla hücredeki erken mitotik bölünmeler sırasındaki kromozom ayrılma kusuru nedeniyle oluşur. Eğer fetüste mozaik hücre dizileri içermekte ise etkilenme olasıdır. Sık görülen trizomilerde (Trizomi 21, 18, 13) mozaik sonuçlar %19 oranında fetüste konfirme edilir. Plasentada seks kromozomu mosaisizmi saptandığında fetüste mozaik patern %16 oranında görülür (90, 91). Mosaisizm

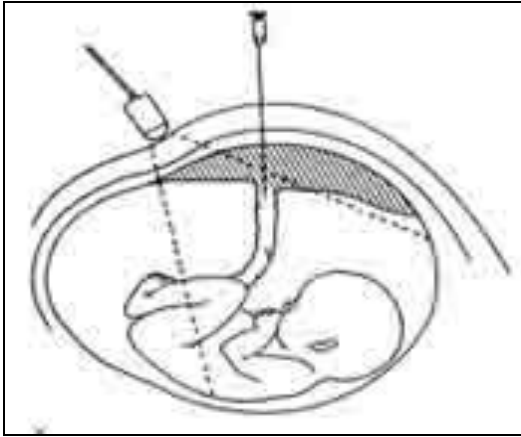
saptanması durumunda amniyon sıvısı veya fetal kan gibi başka bir fetal doku test edilmelidir. Amniyosentez bu durumlarda %94 olguda doğru fetal karyotipin belirlenmesini sağlar (91). Mosaizizm varlığında gebelik terminasyonu sadece koryonik villüs örneklemesindeki sonuca göre asla önerilmemelidir. Eğer amniyosentez sonucu normal, ultrasonografi normale hastaya güven verilmekle beraber bu testlerinde yanlış negatif sonuçlarının olabileceği söylenmelidir.

2.10.2.3.6. Koryonik Villüs Örneklemesi Komplikasyonları

Koryonik villüs örnekleme sonrası en sık karşılaşılan semptom vaginal kanamadır. Transservikal örnekleme sonrası %7–10, transabdominal örnekleme sonrasında %1 oranında görülebilmektedir (92). Örnekleme sonrasında küçük subkoryonik hematoma görülebilmektedir (92). Genellikle birkaç hafta içinde kendiliğinden gerilemekte, kötü gebelik sonuçlarına neden olmamaktadır. Koryoamniyonit gelişimi de oldukça nadirdir. Transabdominal ve transservikal örnekleme sonrasında benzer oranlarda görülmektedir. Gebelik kaybı ile sonuçlanabilecek enfeksiyon %0,3 oranında görülebilmektedir (92). Erken membran rüptürü, oligohidramnios nadir görülen komplikasyonlardır. Oligohidramnios neden olan sıvı kaçağı prosedür sonrası günler, haftalar içinde görülebilir (92, 93). Oligohidramnios, daha çok prosedür sonrası gelişen hematoma sonucu sekonder olarak gelişmektedir. Maternal serumda AFP yüksekliği prosedür sonrasında görülmektedir. Fetomaternal kanama sonucu gerçekleşir. Aspire edilen dokunun miktarı ile ilişkilidir. 16–18 haftalarda normal düzeylere iner. Rutin AFP taramasına engel teşkil etmez (94). Birinci trimesterde erken dönemlerde yapılan koryonik villüs örneklemesinin ciddi kol bacak bozukluklarına yol açtığı bildirilmiştir (95). Fakat onbirinci haftadan sonra yapılan örneklemelelerde böyle bir risk saptanmamıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün Ekstremitte Defektleri Kayıt Dairesi (International Registry of Limb Defects), koryonik villüs örnekleme yapılan gebeliklerde kol bacak bozukluklarının prevalansının daha yüksek olmadığını belirtmiştir (96). Bu nedenle işlem öncesi danışmanlık sırasında böyle bir risk olmadığını belirtmesi standart bir uygulamadır. Koryonik villüs örnekleme sonrasında gebelik kayıp oranlarının amniyosentezle karşılaştırıldığında anlamlı olarak farklı olmadığı Amerika, Danimarka ve Kanada'da yapılan çok merkezli çalışmalarla gösterilmiştir. Bu çalışmalar amniyosentez ve koryonik villüs örnekleme için %1 kayıp oranı bildirilmiştir (97, 98).

2.10.2.4. Perkutan Umblikal Kord Kanı Örnekleme

Günümüzde amniyosentez ve koryonik villus örnekleme sonrası elde edilen materyalden hızlı ve güvenilir tanı olanağı sağlayan laboratuvar tekniklerinin gelişmesi nedeniyle kord kanı örnekleme endikasyonları değişmiştir. Eskiden hızlı karyotip ve hızlı tanı gerektiren durumlarda tercih edilirdi. Bugün için en sık genetik endikasyon amniyosentez ve koryonik villus örnekleme sonrasında mozaik sonuçların değerlendirilmesidir. Prenatal genetik tanı dışında ise; fetal anemi, trombositopeni, intrauterin enfeksiyon, fetal hidrops, ikizden ikize transfüzyon sendromu gibi belirli durumlarda uygulanmaktadır. Umblikal vene ultrasonografi eşliğinde plasental orjininden ya da buraya yakın bir noktadan girilir ve kan alınır (Şekil 3). Başlıca komplikasyon fetal kayıptır. Arka plandaki riskten yaklaşık %2 daha fazla olduğu tahmin edilmektedir (94). Kesin riski belirlemek işlemin yapıldığı fetüslerdeki ciddi malformasyonlar nedeniyle zordur. Fetal kayba neden olan başlıca sebepler ise; iğne giriş yerinde kanama, hematoma, ciddi bradikardi, erken membran rüptürüdür. Kayıp oranları %1 ile 6,7 arasında bildirilmiştir. Bu farklılığın başlıca sebebi işlemin yapıldığı merkezlerde operatorlerin deneyimi ve hasta seçimindeki farklılıklardır (2).



Şekil 3: Perkutan umblikal kord kanı örnekleme

2.10.2.5. Diğer İnvaziv Diagnostik Prosedürler

Çok nadir bazı durumlarda fetal doku analizi gerekebilmektedir. Fetal cilt biopsisi fetal genetik cilt bozukluklarının (konjenital bülloz epidermolizis, epidermolizis bülloza letalis) tanısında moleküler genetik tanının mümkün olmadığı durumlarda yapılır. Bazı kromozomlara ait mosaisizmin değerlendirilmesinde (22. kromozom gibi) fetal kan örnekleme ile sonuç alınamamaktadır. Bu durumların açığa çıkarılmasında deri biopsisi

gerekebilmektedir (99). Fetal kas biopsisi konjenital muskuler distrofi tanısında DNA analizi bilgi verici olmadığında kas hücresinde distrofin analizi için yapılır. Fetal böbrek biopsisi konjenital nefrosis'in prenatal tanısına olanak sağlayabilir (100). Bu girişimlere çok nadir olarak gerek duyulduğu için sadece birkaç referans merkezinde yapılmaktadır (108).

2.11. Serbest Oksijen Radikalleri

Oksijen bütün canlılar için vazgeçilmez bir element olup, organik moleküllerin temel yapısal atomlarından birisidir. Bunun yanında, aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle oksijen, hayati bir öneme sahiptir. Yaşamları için mutlak oksijene ihtiyaç duyan canlılarda oksijenin yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde bazı toksik ürünler de ortaya çıkmaktadır. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir (101):

1. Aerobik canlılarda gözlenen oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Bu mekanizmaya örnek olarak oksijenin, glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde GABA düzeyini düşürmesi gösterilmektedir,

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin “oksijen radikalleri” olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir. Serbest oksijen radikalleri, en dış elektron yörüngelerinde bir tek çiftleşmemiş elektron bulunduran istikrarlı olmayan kimyasal bileşiklerdir. En dış yörüngede bulunan elektron çiftinin dengesi, yörüngeye bir elektron girmesi ya da çıkmasıyla bozulursa, momenti dengelenmemiş bu tek elektron atoma (ya da moleküle) büyük bir aktiflik kazandırmaktadır. En dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunan molekül ya da molekül gruplarına “radikal” adı verilmektedir. Oksijen molekülündeki aynı yönde dönen iki elektrona sahip 2p son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektronun, bir orbitali bırakıp diğerine geçmesi veya farklı yönde dönmesi durumunda “singlet oksijen” oluşmaktadır. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilmektedir (101).

2.11.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir. Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuvar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (101, 102).

Serbest radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşmaktadır:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile: Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır (101, 103).

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmaktadır.

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir. Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (101, 103).

En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır:

1. O_2^- (Süperoksit) Radikali
2. H_2O_2 (Hidrojen Peroksit)
3. HO^- (Hidroksil Radikali)
4. Singlet Oksijen ($O_2\uparrow\downarrow$)

2.11.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup H_2O_2 kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Bazı biyolojik moleküller aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olmaktadır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilmektedir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (104, 105).

2.11.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksidlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasındandır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (102, 103).

2.11.1.3. Hidroksil Radikali (HO^{\cdot})

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir. Dokular γ radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H_2O_2 'nin ultraviyole ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın

pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (106).

2.11.1.4. Singlet Oksijen ($O_2\uparrow\downarrow$)

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (107).

2.11.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller, hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksisomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir. Cu^{++}/Fe^{++} ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe^{+++} 'in Fe^{++} 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (103, 108).

2.11.3. Membranların Lipid Peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (109).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid

peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksidasyonu oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksidasyon zinciri, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{++} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelettazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açabilmektedir (103, 110).

Peroksidasyon zinciri, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri MDA (malondialdehit) ve 4 hidroksi alkenaldir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun özellikli ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan ürünler, membran permeabilitesini ve mikroviskozitesini önemli ölçüde etkilemektedirler. Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır. Lipid hidroperoksitleri ve lipidperoksi radikalleri, serbest oksijen radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücresel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler.

Bu etkiler:

1. Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın deformabilite, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki determinantların agregasyonu gibi bazı özelliklerini değiştirebilmektedir.

2. Transmembran iyon gradientini bozarak, Ca^{++} gibi iyonlara karşı özellikli olmayan geçirgenliği arttırabilmektedirler.

3. Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Subsellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünün kaybolmasına yol açabilirler.

4. Ayrıca, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmektedirler (103, 111).

2.11.4. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (103).

Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (110):

- 1) Aminoasitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmantasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmantasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler. Serbest radikallerin etkisiyle, IgG ve albuminin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır. Yine bir protein olan α -1 proteinaz inhibitörünün, oksijen radikalleri tarafından inhibisyonu amfizem gelişimiyle sonuçlanmaktadır. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görebilmektedir. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O_2^- veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (110).

2.11.5. DNA Lezyonları

Nükleik asitler, serbest radikallere bağılı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipoksizde kalan bebeklerde yüksek olduğu bildirilmektedir (110).

2.11.6. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Enflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden extrasellüler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- , buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (103).

2.11.7. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmun hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (110).

2.12. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları

2.12.1. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler.

2. Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler. Bilirubin bu tarz antioksidan etkisi de vardır.

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (111).

2.12.2. Antioksidan Sistemler.

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon

gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar. Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (111, 112).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler. Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır. Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimleri de bu grupta yer almaktadırlar (114, 115).

2.12.3. Enzimatik Antioksidanlar

2.12.3.1 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipit peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (116).

2.12.3.2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksisomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (117).

2.12.3.3 Glutasyon Peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar. Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (118).

2.12.3.4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksidlere karşı glutasyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler. Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (119).

2.12.3.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (119).

2.12.3.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (119).

2.12.4. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir. Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutasyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır (120).

2.12.5. Vücutta Serbest Radikallere Karşı Savunma Gelişmesi

Hamileliğin geç dönemlerinde fetusun akciğerlerinde antioksidan enzim miktarının artış gösterdiği bildirilmektedir. Farelerde, tavşanlarda, ratlarda, SOD, GPx ve CAT enzimlerinin hamileliğin son döneminde arttığı bilinmektedir. Yenidoğanlar göreceli olarak oksijen toksisitesine daha dirençli görünmektedir. Fakat özellikle antioksidan sistem komponentlerinin eksik olması nedeniyle, prematürelere oksijen toksisitesine çok duyarlıdır.

Gestasyonun geç dönemlerinde artan SOD, GPx, CAT, E vitamini, seruloplazmin ve transferrin miktarının prematürite nedeniyle düşük olduğu tespit edilmiştir (121).

3. MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran, ikinci trimester anöploidi tarama testi sonrasında amniosentez yapılan hastaların amnion mayi ve anne kanında oksidatif stres parametrelerinin incelenmesi yapıldı. Hastalar ikinci trimester tarama testi sonucunun normal sınırlar içerisinde olup olmamasına göre iki ayrı grup halinde karşılaştırıldı. İkinci trimester tarama testi sonucu normal olan hastalar kontrol grubunu oluşturdu. Bu grupta amniosentez sınırda tespit edilmiş tarama testi sonucu, ileri anne yaşı, diğer obstetrik nedenler ve ailenin verilen danışmanlık sonrasında kendi rızası ile işlemi yaptırmak istemesi gibi nedenlerle yapıldı.

Hastalar Ocak 2011 ile Mayıs 2012 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'nde ikinci trimester anöploidi taraması yapılan ve sonrasında amniosentez yapılan hastalar arasından prospektif olarak ve üçlü tarama testi sonuçlarına göre gruplara bölünerek seçilmiştir. Toplamda 100 numunelik bir biyokimyasal test kiti kullanılacağı için iki grupta da 50 hasta sayısı hedeflendi ve bu sayıya ulaşıncaya kadar hasta bilgileri ve örnekleri toplandı. Amniyosentez yapılmadan önce aile ile detaylı bir görüşme yapılarak ailelerde kromozomal anomalili doğum ya da gebelik terminasyonu, ölü doğum, motor ve mental retardasyonu olan kişiler olup olmadığı sorgulandı.

Tüm bu bilgileri içeren detaylı form dolduruldu. Aileye işlemin neden gerekli olduğu, işlem ile ilgili olarak ortaya çıkabilecek komplikasyonlar ve işlemin riskleri ayrıntılı olarak anlatıldı. Gebelere işleme bağlı olarak oluşabilecek fetal kayıp riskinin olduğu belirtildi ve her iki eşin işleme izin verdiğine dair onamları ve imzaları alındı. Girişimi kabul etmeyen gebeler çalışma kapsamına alınmadı.

Amniyosentez uygulanan gebelerin yaşı, gravidası, paritesi, abortus sayısı, yaşayan çocuk sayısı, öğrenim durumu, mesleği, eşiyle akrabalık derecesi, gebelik haftası ve son adet tarihi kaydedildi.

Gebelerin amniyosentez yapılma endikasyonları ise sırasıyla yapılan üçlü tarama testinde Down sendromu riskinin 1/270 veya üzerinde saptanması, ileri anne yaşı, maternal anksiyete, ikili test pozitifliği, daha önceden kromozom anomalili bebek doğurma hikayesi, yapılan ultrasonografide majör fetal anomali saptanması olarak belirlendi.

Amniyosentez işlemine başlamadan önce kullanılacak olan, steril gazlı bez, 2 adet 10 ml ve 1 adet 2.5 ml'lik steril disposable enjektör ve spinal iğne steril bir örtü üzerinde

hazırlandı. Girişimi kabul eden gebelere, gebeliklerinin 15–22. haftaları arasında, GE Voluson 730 Pro® Ultrasonografi cihazı eşliğinde, batın ve prob povidone iodine ile temizlendikten sonra fetal kısımlar içermeyen en uygun amniyotik cep bölgesi saptanarak transabdominal amniyosentez işlemi uygulandı. Ponksiyonlar tek kullanımlık 20 veya 22 gauge spinal iğneler ile yapıldı. İşlem esnasında mümkün olduğunca plasentadan geçilmemeye, anterior plasenta mevcudiyetinde ise en periferik kısmından geçilmeye dikkat edilerek örnekleme yapılacağı amniyotik cep bölümüne ulaşıldı. İşlemin başında alınan ilk 2 ml amniyon sıvısı biyokimyasal parametrelerin çalışılması için biyokimya laboratuvarına gönderildi. Takiben sitogenetik analiz için 2 tane 10 ml'lik enjektör ile ortalama 20 ml olmak üzere amniyon sıvısı alındı. Karyotip incelemesi için alınan sıvı steril şartlarda, kapalı ambalajda en kısa sürede genetik tanı laboratuvarına ulaştırıldı. Amniyon sıvısı alınmasını takiben spinal iğne, aksına paralel olacak şekilde çekilerek batın duvarından çıkarıldı. Daha sonra ultrasonografi ile fetal viabilite tespit edildi. Her hastaya kan grubu tayini testi yapıldı. Rh uyuşmazlığı olan gebelere ise izoimmünizasyon riski nedeni ile girişim sonrası 300 mikrogram anti-D immün globülin uygulandı. Lokal anestezi ve profilaktik antibiyotik kullanılmadı.

Genetik tanı laboratuvarında amniyon sıvı örnekleri 2 kültür ortamına ekilerek, standart 14 günlük kültür işlemine tabi tutuldu. Kültürü takiben hücre bölünmesi kolşisin ile metafazda durduruldu ve takiben hipotonik solüsyonlar ile hücre şişmesi oluşturularak kromozomlar ayrıldı ve asit fiksatifler kullanılarak hücre membranı lize edildi. Hücre proteinleri daha sonra fiksasyon işlemine tabi tutuldu. Kromozomlar daha sonra boyanarak standart Giemsa-Trypsin bantlama işlemi yapıldı. Sitogenetik analiz için her örnek için yaklaşık 20 metafaz plağı sayılıp değerlendirildi.

3.1. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Örneklerin TAS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalini antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi. Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/gram protein olarak ifade edildi (122).

3.2. Total Oksidan Seviye (TOS)

Örneklerin TOS düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/L olarak ifade edilir. Dokulardaki TOS sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/gram protein olarak ifade edildi (123).

3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Örneklerde OSI hesaplanırken TAS değerleri 10 ile çarpılarak TOS ile birimler eşitlenir. Örneklerin içerdiği TOS düzeylerinin, örneklerin içerdiği TAS oranı OSI olarak belirtildi. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi (124).

$$\text{OSİ} = \frac{(\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.})}{(\text{TAS, } \mu\text{mol trolox Equiv. / L.}) \times 10}$$

4. BULGULAR

Hasta grubunda ortalama anne yaşı 32,44, kontrol grubunda ise 30,14 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda gravida ortalaması 4,50, kontrol grubunda ise 4,18 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda parite ortalaması 3,0, kontrol grubunda ise 2,62 idi ($p>0,05$). Hasta grubundaki ortalama yaşayan çocuk sayısı 2,8, kontrol grubunda ise 2,5 idi ($p>0,05$). Hasta grubundaki abortus ortalaması 0,52, kontrol grubundan ise 0,58 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda son adet tarihine göre gebelik haftası ortalama 18,1, kontrol grubunda ise 17,9 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda ortalama AFP değeri 26,54, kontrol grubunda ise 29,99 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda ortalama AFP MoM değeri 0,72, kontrol grubunda ise 0,90 idi ($p=0,02$). Hasta grubunda ortalama β -hCG değeri 53117,08, kontrol grubunda ise 31427,48 idi ($p<0,001$). Hasta grubunda ortalama β -hCG MoM değeri 2,02, kontrol grubunda ise 1,29 idi ($p<0,001$). Hasta grubunda ortalama E3 değeri 0,85, kontrol grubunda ise 1,33 idi ($p=0,002$). Hasta grubunda ortalama E3 MoM değeri 0,88, kontrol grubunda ise 1,32 idi ($p=0,011$) (Tablo 1).

Hasta grubunda ortalama serum TOS değeri 17,71, kontrol grubunda ise 19,31 idi ($p>0,05$). Hasta grubunda ortalama serum TAS değeri 0,97, kontrol grubunda ise 0,99 idi ($p>0,05$), Hasta grubunda ortalama serum OSİ değeri 1,53, kontrol grubunda ise 2,18 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Hasta grubunda ortalama amnion TOS değeri 1,21, kontrol grubunda ise 1,36 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,047$). Hasta grubunda ortalama amnion TAS değeri 0,18, kontrol grubunda ise 0,21 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,005$). Hasta grubunda ortalama amnion OSİ değeri 0,66, kontrol grubunda ise 0,72 idi ($p>0,05$) (Tablo 2), (Grafik 1–6).

Tablo 1: Çalışma ve kontrol gruplarında yaş, gravida, parite, yaşayan, abortus, son adet tarihine göre gebelik haftası dağılımları, AFP, AFP MoM, β -HCG, HCG MoM, E3 ve E3 MoM değerleri.

	Hasta grubu (n=50) Ortalama \pm 2SD	Kontrol grubu (n=50) Ortalama \pm 2SD	P Değeri
Yaş	32,44 \pm 8,109	30,14 \pm 6,937	0,131
Gravida	4,50 \pm 3,253	4,18 \pm 2,731	0,595
Parite	3,00 \pm 2,755	2,62 \pm 2,432	0,466
Yaşayan	2,80 \pm 2,523	2,50 \pm 2,215	0,529
Abortus	0,52 \pm 1,054	0,58 \pm 0,785	0,748
SAT'a göre GH	18,1960 \pm 1,4580	17,9426 \pm 1,21296	0,347
AFP	26,5460 \pm 11,68940	29,9944 \pm 11,66170	0,143
AFP MoM	0,7244 \pm 0,38172	0,9024 \pm 0,41499	0,028
β-hCG	53117,08 \pm 33963,427	31427,48 \pm 13189,816	<0,001
HCG MoM	2,0282 \pm 1,04354	1,2912 \pm 0,45464	<0,001
E3	0,8508 \pm 0,63114	1,3354 \pm 0,88735	0,002
E3 MoM	0,8842 \pm 0,75666	1,3224 \pm 0,92108	0,011

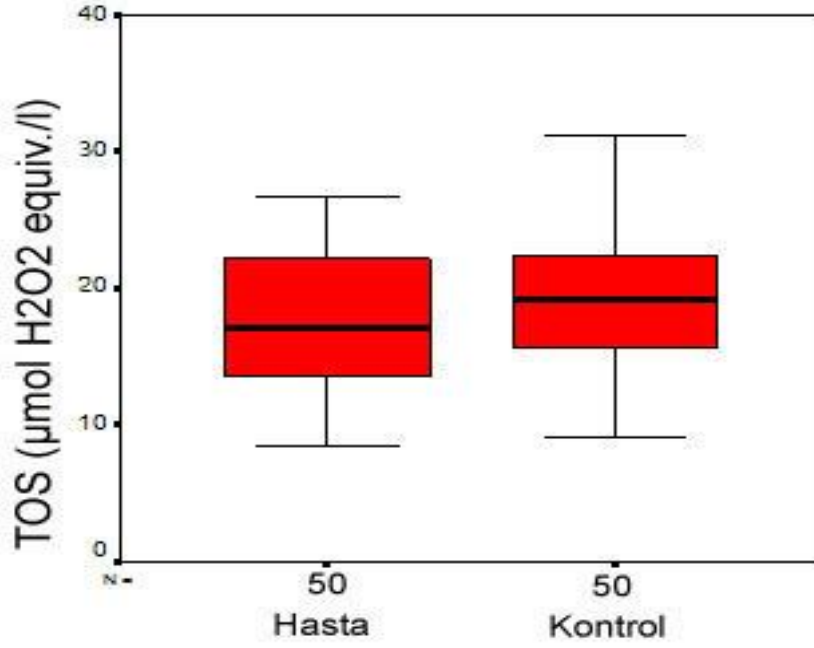
SAT: Son adet tarihi, AFP: Alfa fetoprotein, hCG: Human chorionic gonadotropin, E3: Östriol, MoM: Multiple of Median

Tablo 2: Çalışma ve kontrol gruplarında serum ve amnionda TAS, TOS ve OSİ ortalama değerleri.

	Hasta grubu (n=50) Ortalama \pm 2SD	Kontrol grubu (n=50) Ortalama \pm 2SD	P Değeri
Serum TOS ortalama değeri	17,7148 \pm 5,28802	19,3117 \pm 5,62540	0,147
Serum TAS ortalama değeri	0,9759 \pm 0,06325	0,9955 \pm 0,06248	0,123
Serum OSİ ortalama değeri	1,5309 \pm 0,65266	2,1837 \pm 0,88645	<0,001
Amnion TOS ortalama değeri	1,2180 \pm 0,32082	1,3640 \pm 0,40059	0,047
Amnion TAS ortalama değeri	0,1894 \pm 0,04241	0,2162 \pm 0,05011	0,005
Amnion OSİ ortalama değeri	0,6633 \pm 0,27308	0,7286 \pm 0,41712	0,356

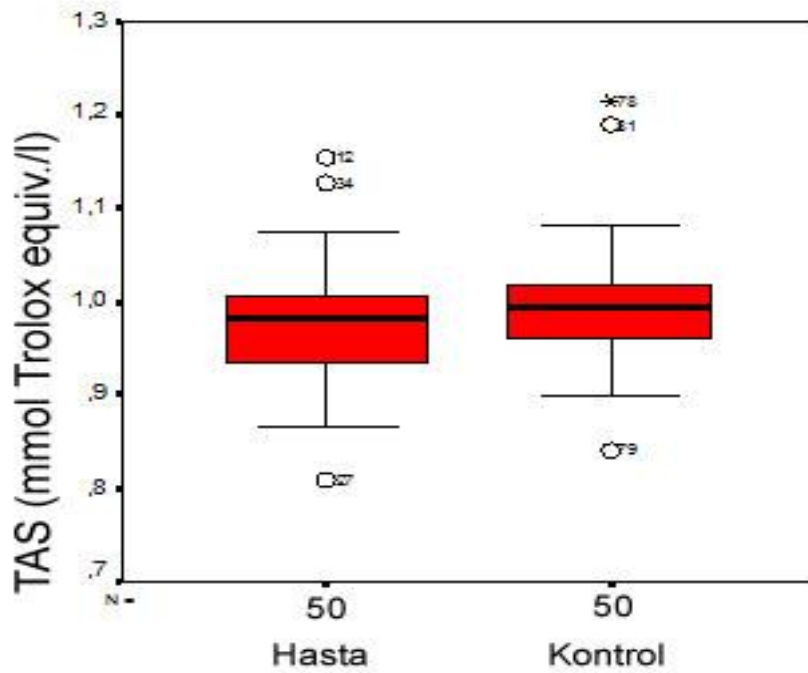
TAS: Total antioksidan seviye, TOS: Total oksidan seviye, OSİ: Oksidatif stres indeksi

Hasta grubunda ortalama serum TOS değeri 17,71, kontrol grubunda ise 19,31 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 1).



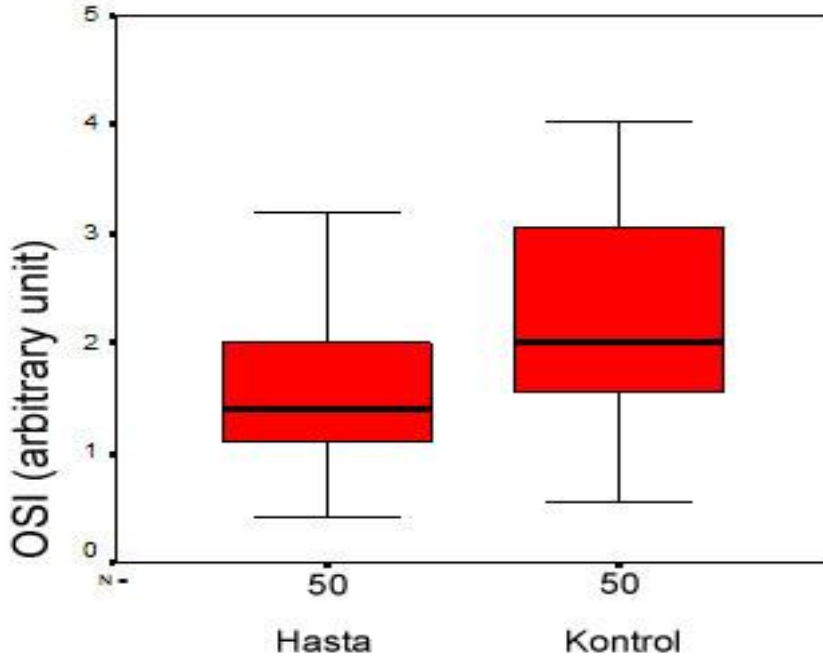
Grafik1: Serum TOS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

Hasta grubunda ortalama serum TAS değeri 0,97, kontrol grubunda ise 0,99 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 2).



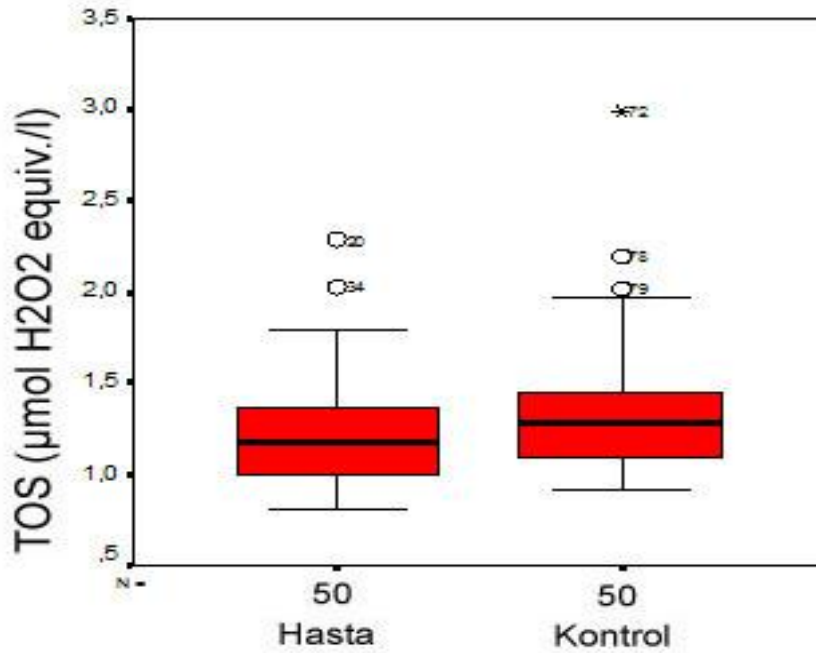
Grafik2: Serum TAS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

Hasta grubunda ortalama serum OSI değeri 1,53, kontrol grubunda ise 2,18 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$) (Grafik 3).



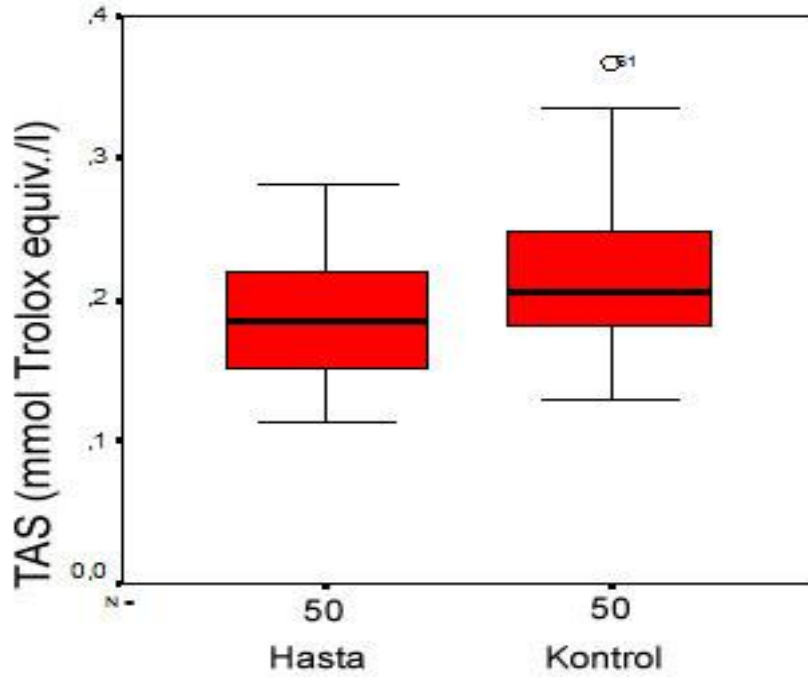
Grafik3: Serum OSI değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

Hasta grubunda ortalama amnion TOS değeri 1,21, kontrol grubunda ise 1,36 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p = 0,047$) (Grafik 4).



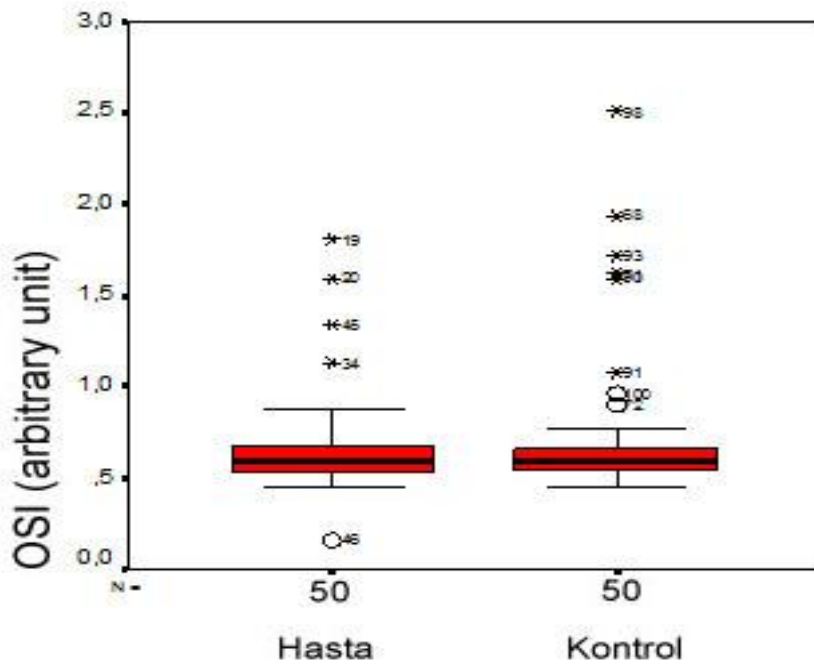
Grafik 4: Amnion TOS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

Hasta grubunda ortalama amnion TAS değeri 0,18, kontrol grubunda ise 0,21 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,005$) (Grafik 5).



Grafik 5: Amnion TAS değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

Hasta grubunda ortalama amnion OSI değeri 0,66, kontrol grubunda ise 0,72 olarak bulunup istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Grafik 6).



Grafik 6: Amnion OSI değerlerinin kontrol ve hasta grubunda karşılaştırılması.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde çoğunlukla tedavisi mümkün olmayan genetik hastalıklardan korunmanın tek yolu prenatal dönemde, riskli gebeliklerin saptanarak söz konusu hastalığa yönelik testlerin belirlenmesi, fetal dokularda bu testlerin uygulanması ve fetüste herhangi bir anomali saptanması durumunda aileye gebeliği sonlandırabilme olanağının sunulması ile mümkündür. Amnion mayisinden ve anne kanından her geçen gün fetal iyilik halinin daha da düzeltilmesi ve mevcut problemlerin önceden tespit edilerek gerekli önlemlerin alınması için birçok parametre çalışılmakta ve yeni yeni testler ortaya çıkmaktadır. Anne kanından fetusa ait genetik materyalin tespit edilmesi de bunlardan birisidir. Belki de maliyet konusunda da engeller aşıldıktan sonra artık fetal anöploidi taraması için amniosentez işleminin yapılmasına çok yakın bir zamanda gerek kalmayacaktır. Fetal anöploidi taramasında halen amniosentezin altın standart olduğu zamanımızda biz de oksidatif stress markerları ile hem anne kanında hem de fetal amnion mayisinde parametrelere bakarak olası bir ilişkiyi bulmaya çalıştık. Çalışmamız sonucunda anne kanı ve fetal amnion arasında kuvvetli bir paralellik tespit etmemiz durumunda bu ilişkinin diagnostik olarak bize yardımcı olabileceğini varsaydık.

Amniyosentez endikasyonlarına baktığımız zaman literatürde birbirinden farklı sonuçlar veren çalışmalar vardır. Tonsong ve ark. çalışmalarında amniyosentez endikasyonları arasında ileri anne yaşı, %86,3'ü oluşturmaktadır (125). Yine Sjogren ve ark., çalışmalarında ise ileri anne yaşı endikasyonu, %57 olarak bildirilmiştir (126). Lindemann ve arkadaşlarının çalışmalarında bu oran %61 olarak bulunmuştur (127). Bal ve ark.'nın serilerinde, ileri maternal yaş %51 olarak rapor edilmiştir (128). Milewczyk ve ark. retrospektif 420 amniyosentez olgu çalışmalarında ortalama yaş 37,60 olarak bulmuşlardır (129). Bizim çalışmamızda ileri anne yaşı endikasyonu %40 idi.

Bal ve ark., üçlü testinde kromozomal anomali yönünden yüksek riskli olan olgularında %3,9 oranında kromozom anomalisine rastlamışlardır (130). Hassold ve ark. ise %3,7 oranında fetal kromozom anomalisi saptamışlardır (131). Bizim çalışmamızda, %5 oranında fetal kromozom anomalisi saptandı.

Genel bir risk olarak anne yaşı ne olursa olsun, Down sendromlu bir çocuktan sonra, takip eden gebelikte, %2 dolaylarında fetüste Down sendromu görülme riski vardır (132). Down sendromlu çocuk sahibi olan anneler, sonraki gebeliklerinde bu durumun tekrarlayacağı endişesini hep yaşamaktadırlar. Hsieh ve ark.'nın çalışmalarında, önceki gebelikte fetal trizomi 21'li fetüs anamnezi olan 143 gebelikten ikisinde (%1,39) Down sendromu

görülürken, önceki gebelikte görülen fetal kromozomal translokasyon, 11 gebelikte %90,91 oranında tekrarlamıştır (133). Bizim çalışmamızda sadece 2 hastamızda daha önce trizomi 21'li fetüs öyküsü vardı ve bu hastaların amniyosentez sonucunda kromozomal anomali tespit edilmedi.

Maternal anksiyete sebebiyle yapılan amniyosentezler tartışılan konulardan biridir. Anne adayının taşıdığı riskin, müdahale riskinden az olması nedeniyle ortaya çıkan bu tartışmada değişik fikirler öne sürülmektedir. Wertz ve Fletcher'e göre uzmanların %75'i böyle bir endikasyonla amniyosentez yapılmasını olumlu karşılamakta ve gerekçe olarak maternal anksiyetenin kaldırılmasının gerektiğini söylemektedirler (134). Bu uygulamaya karşı çıkan uzmanların %70'i fetüse verilebilecek zararı ve kaynakların israf edilmemesinin gerekliliğini öne sürmüşlerdir. Çalışmamız esnasında hastalarımıza amniyosentez sonucunun anlamını detaylı anlattıktan ve amniyosentez işleminin avantaj ve dezavantajlarından bahsettikten sonra öneri olarak da tıbbi açıdan 1/270 den daha düşük bir risk varsa amniyosentez önermediğimizi belirttik. Bunun yanında yapılan ve yapılacak herhangi bir testin de %100 olarak bir anormalliği garanti edemeyeceğini anlattık. Buna rağmen amniyosentez işlemini yaptırmak isteyen ve üçlü tarama testi haricinde ek bir risk (ileri anne yaşı, ultrasonografik olarak tespit edilmiş anomaliler, kötü obstetrik öykü) taşıyan hastalarımızın onayını ve imzasını yazılı olarak aldıktan sonra işlemi yaptık.

Reaktif oksijen türleri; oksidatif fosforilasyon, mitokondrial elektron transportu, ksenobiotik metabolizması ve inflamasyon gibi hücre süreçlerinin bir parçası halinde dokularda sürekli olarak oluştururlar. Hücre sel antioksidan savunma sisteminin serbest radikalleri toksik eşiğin altında tutmakta ki yetersizliği veya oksidatif stres durumu hücre içi reaktif oksijen türleri seviyesinin artmasına neden olur. Oksidatif stres ve oksidatif hasar birçok patofizyolojik sürecin erken evrelerinde önemli rol oynar. Oksidatif stres enzimatik, nonenzimatik pek çok antioksidan savunma sistemleriyle önlenilmektedir (135,136). Çalışmamızda oksidatif stress ile ikinci trimester tarama testi sonuçları arasında muhtemel bir ilişkiyi ortaya çıkarmaya çalıştık ve kanda OSI'de, amnion mayisinde ise TAS ve TOS değerlerinde anlamlı ilişki tespit ettik. Bu üç parametrede de değerler kontrol grubunda daha yüksek idi. Literatürde genellikle hasta grubunda daha yüksek oksidan ve antioksidan değerlerin bulunması çoğunlukta olmasına rağmen bizim çalışmamızda özellikle kontrol grubunun özelliğinden kaynaklanan nedenlerle daha yüksek değerler tespit edilmiştir. Çalışmamızın bir eksikliği olarak gebelikteki birçok parametrenin gruplarda tam olarak standardize edilemediğini söyleyebiliriz. Örneğin, ileri anne yaşı olan hastalar ile sınırda üçlü

testi normal olan hastalar aynı kontrol grubu içerisine alınmıştır. Kontrol grubu için ortak payda olarak üçlü test negatifliği alınmıştır ve hipotezimiz bunun üzerine kurulmuştur.

Literatürde obstetrik risk faktörleri ile oksidatif stress parametrelerinin karşılaştırıldığı birçok makale vardır. Yiğenoğlu ve ark. nin yapmış olduğu çalışmada tekrarlayan gebelik kayıpları izlenen gebelerde anne serumunda azalmış TAS, artmış TOS ve OSI izlenmiştir (137). Safronova ve ark., tekrarlayan gebelik kayıpları hasta grubunda granulositlerde aktif oksijen türevlerinin üretimini arttırdığını saptamışlardır (138). Vural ve ark yaptıkları çalışmada ise antioksidan olarak serum askorbik asit, alfa tokoferol, total tioller, seruloplazmin, ürik asit, albumin ve glutasyon seviyeleri değerlendirmişler; tekrarlayan gebelik kayıpları izlenen olgularda bozulmuş antioksidan savunma mekanizmasının bulunduğunu gözlemişlerdir (139). Bunlardan farklı olarak oksidatif stres mekanizmalarında herhangi bir değişiklik tespit etmeyen çalışmalar da vardır. Bunlardan birisi Şimşek ve ark. Tarafından yapılmıştır. Tekrarlayan düşüğü bulunan 40 kadın ve 40 sağlıklı kadında antioksidan olan lipoperoksidaz, glutasyon peroksidaz, vitamin A, E yönünden karşılaştırma yapılmış ve hasta grubunda kontrol grubuna göre oksidan artışı ve antioksidanlarda anlamlı derecede düşme tespit etmemişlerdir (140).

Alexa ID. ve ark. 1996'da 34 sağlıklı gebe ve 20 preeklampsili gebeyi bazı antioksidanlar ve oksidanlar açısından karşılaştırmıştır. Preeklampsisi grubunda oksidanlarda artış ve antioksidanlarda azalma saptanmıştır. Bunu da plasental iskemi ve lokosit aktivasyonuna bağlı oksidasyon artısının sonucu olarak görmüşlerdir. Yani oksidan artışı ve antioksidan azalmasını bir sebep değil sonuç olarak yorumlamışlardır (141).

Gupta ve ark. 1996–2005 yılları arasında yaptıkları literatur taramasında elde ettikleri verilere göre; yüksek oksijen metabolizmasına sahip birçok organda (plasenta gibi) canlılığın devamını sağlayan biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda oksidan denen hücre zarı, DNA ve hücre organellerine zararlı maddeler ortaya çıkmaktadır, bu zararlı maddelerin nötralize edilmesini sağlayan antioksidanlar ile oksidanların arasındaki denge oksidan lehine kayarsa artmış oksidatif stresten bahsedilir, bu da hücre ve DNA da hasar oluşturmaktadır. Oksidatif strese bağlı plasental hasarlanmanın spontan düşükler, mol hidatiform, preeklampsisi özellikle de sebebi bilinmeyen habituel abortus gibi hastalıkların etyopatogenezinde sorumlu olabileceği yorumu yapılmıştır. Bu bilgilerin ışığında antioksidan ve vitamin takviyesi açısından randomize kontrollü çalışmaların yapılması gerekliliği vurgulanmıştır (142).

Vural ve ark. 2010'da yaptıkları bir çalışmada nöral tüp defekti (NTD) (anensefali, spina bifida, ensefalosel) olan 36 gebe ile sağlıklı 36 gebede amniyon sıvısında oksidatif stres ve prolidaz aktivitesini değerlendirmişlerdir. Kontrol grubunu 1. veya 2. trimester anöploidi

tarama testlerinde yüksek riskli gebelik tanısı konan 36 gebe oluşturmuş olup daha sonra amniyosentez sonuçlarına göre genetik olarak normal fetuslar olduğu doğrulanmıştır. NTD'li fetusların amniyon sıvısında prolidaz aktivitesi, TOS ve OSİ kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, ancak TAS anlamlı derecede düşük bulunmuştur. NTD'li fetuslarda amniyon sıvısında prolidaz aktivitesi ve oksidatif strese artış tespit edilmiştir (143).

Bütün bu çalışmalara bakıldığında oksidatif stres mekanizmaları her zaman hasta grubunda önde görünmektedir. Bizim çalışmamızda ise kontrol grubunda değerler daha fazla oksidatif stres göstermektedir.

Kontrol grubundaki anormal değerleri değerlendirirken stres faktörünün kontrol grubunda etkili olduğunu düşündük. Büyükhatipoğlu ve ark.'nın sağlık çalışanları (asistan, hemşire) ve sağlık çalışanı olmayan hastane personeli üzerinde yaptıkları bir çalışmada oksidatif stres parametreleri karşılaştırılmış. Uzun çalışma saatleri, anksiyete, fiziksel yorgunluğun daha çok olduğu sağlık çalışanlarında, sağlık çalışanı olmayan hastane personeline göre TOS ve OSİ değerleri anlamlı derecede yüksek, TAS değerleri ise anlamlı derecede düşük bulunmuş. Oksidatif stres parametrelerindeki bu değişikliğin anksiyete ve fiziksel yorgunluğa bağlı olabileceği bildirilmiştir (144). Çeşitli çalışmalarda, egzersiz yapmanın vasküler endotelial fonksiyonu ve antioksidan seviyelerini değiştirdiği ve bazı oksidatif parametreleri azalttığı gösterilmiştir (145–147). Bizim çalışmamızda amniyosentez yaptırıp yaptırmama arasında kararsız kalıp stres yaşayan bir kontrol grubumuz bulunmaktadır. Hasta grubunun ise anormal ikinci trimester üçlü tarama testi nedeni ile nispeten daha az stresli olduğunu düşünmekteyiz. Belki de bu durum oksidatif stres parametrelerinin kontrol grubunda daha yüksek çıkmasına neden olmuştur.

İnvaziv prenatal tanı işlemlerinden en sık kullanılan amniyosentez çeşitli endikasyonlarla yapılmaktadır. Ancak genel olarak, en sık genetik amaçlı uygulanmaktadır. Genetik amaçlı amniyosentez, gebeliğin 15–20. gebelik haftaları arasında yapılmaktadır. Amniyosentez işlemi diğer invaziv işlemlerden daha az gebelik kaybına sebep olması ve daha kolay uygulanabilir olması nedeniyle daha sık uygulanmaktadır. Kayıp oranı, tecrübeli kişiler tarafından ve ileri merkezlerde yapılması ile minimize olmaktadır.

Sonuç olarak gebelik fizyolojisinde şu ana kadar tanımlayamadığımız birçok mekanizmanın olduğu aşıkardır. Sınırlı sayıda hasta ve kontrol grubu ile yaptığımız bu çalışma bize aslında üçlü test pozitifliğinin, birçok hastalıkta patolojik mekanizma olarak öne sürülen oksidatif stres ile çok ilişkili olmadığını ve muhtemelen tespit edemediğimiz başka mekanizmaların olabileceğini göstermektedir. Üçlü tarama testi ile oksidatif stres

parametreleri arasındaki ilişkiyi incelediğimiz bu çalışmanın benzeri çalışmalar yapıldıkça elde ettiğimiz bulguların geçerliliği veya tartışılabilirliği artacaktır.

6. KAYNAKLAR

1. Robert K. Creasy ,MD,Robert Resnik, MD, Maternal-Fetal Medicine Principles and Practice Fifth Edition pp 235-272
2. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. Journal of Molecular Structure (Theochem), 2003; 666-667: 387-392.
3. Morris JK.,Wald NJ., Fetal loss in Down sendrome pregnancies Prenatal Diagn 19:142,1999
4. Egan JF.,Benn P,Borgida AF.:Eficacy of screening for fetal Down sendrome in the United States om 1974 to 1997
5. Nikolaides KH.,Sebire NJ.,Snijders RJM., 11-14 Week Scan Diagnosis of fetal abnormalities New York Parthenon 1999
6. Hook EB Rates of Chromozomal abnormalities at different maternal ages Obstet Gynecol 58:182,1981
7. Huang T,Watt H,Wald N.: Effect of differences in the distribution of maternal age in England and Wales on the performance of Prenatal screening for Down Sendrome Prenat diagn 17:615,1997
8. Haddov and Polomaki G.:Prenatal screening for Down Sendrome In Simson j.,Essansials of Prenatal diagnossis New York Churchill Livingstone, 1993
9. Merkatz IR.,Nitowsky HM et al; An assosiation between low maternal serum alphafetaprotein and fetal chrozomal abnormalities AmJ Obstet Gynecol 148:886,1984
10. Canick JA.,Knight GT.et al:Low second trimester maternal serm unconjugeted estriol levels in Down Sendrome Br J obstet Gynecol 95:330,1988 48
11. Bogart MH,Pandian MR.,Jones OW.:abnormal serum Chorionic gonadotropin levels in pregnancies with chrozomal abnormalities. Prenat diagn 7:623,1987
12. MacDonald ML.,Wagner RM.,et al: Sensitivity and spesifity of screening for Down Sendrome with Alpha-Fetaprotein,hCG,unkonjugated estriol and maternal age. Obstet Gynecol 77:63,1991
13. Wald NJ.,Cuckle HS.,et al:maternal serum screening for Down Sendrome in early pregnancy. Br Med j 297:883,1988
14. Heyl et al.Maternal serum screening for aneuploid pregnancy by alphafetaprotein, hCG,and unconjugated estiol. Obstet Gynecol 76:1025,1990
15. Hoddiv JE.,Polamaki GE et. all.:Reducing the need for amniosentesisin woman 35 years of age and older with serum marker screening N Engl J Med 330:1114,1994
16. Waller DK.,Lustig LS, Cuningham GC.,et all.:Secont trimester serum alpha-fetaprotein levels and the risk of subsequent fetal death.:N Engl J Med.325:6,1991
17. Waller DK. Lustig LS et al.: Alpha-fetaprotein ağabeyomarker for pregnancy outcome.Epidemiology 4:471, 1993
18. Waller DK.,Lustig LS., Cuningham GC., et all :The assosiation between maternal alphafetaprotein and preterm birth small for gestational age infants,preeclampsi and placentar complications. Obstet Gynecol 88:816,1996
19. Crandal and Colleguneus Risk for fetal abnormalities after very and moderately elevated AF AFP Prenat diagn17:837,1997
20. Yaron Y., Cherry M.,et. Al.:Second trimester serum marker screening: Maternal alfafetoprotein bHCG, estriol,and their various combination as predictors of Pregnancy autcome.:Am J obstet gynecol 181:968. 1999 49
21. Palomaki GE.,Bradley LA.,et al: Assigning risk for Smith Lemli Opitz Senrome as part of 2nd trimester screening for Down Sendrome. J Med Screen 9:43,2002
22. Bradley LA.,Canick JA.,Polamaki GE.,et all : Undetectable maternal serum estriol levelsin the second trimester: Risk ofperinatal complicationsassosiated with plasental sulfatase deficiency. AM J Obstet Gynecol 176:531,1997
23. Canick JA.,et al Maternal serum marker levels in two pregnancies affected With Smith-Lemli-Opitz Sendrome. Prenat Diagn 17:187,1997
24. Macri JN.,Spennker K.,Garver K.,et all: Maternal serum free beta hCG screening results of studies including 480 cases of Down Sendrome Prenat Diagn 14:97,1994
25. Cuckle HS. Van Lith JM: Aproprate bochemical parameters in first trimester screening for Down Sendrome. Prenat Diagn 19:505,1999
26. Souka AP.,Snijders RJ., Novakov A., et al: Defects and syndromes in chorozomally normal fetuses with increased nuchal translucency Thickness at 10-14 weeks of gestation. Ultrasound Obstet Gynecol 11:391,1998
27. Hyett J.,Perdu M.,Sharland GK., et al: İncresed Nuchal Tranclucency at 10-14 Weeks of gestation as a marker of kardiak defects. Ultrasound Obstet Gynecol 10:142,1997)

28. Hyett J., Perdu M., Sharland GK., et al: Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of Gestation: *Br Med J* 318:81, 1999
29. Bronshtein M., Siegler E. Yoffe N., et al: Prenatal Diagnosis of ventricular septal defect and overriding aorta at 14 week Gestation using transvaginal sonography. *Prenat Diagn* 10:697, 1990
30. Krantz DA, Larsen JW, Buchanan PD.: First trimester Down Syndrome screening Free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy associated plasma protein a. *AM j Obstet Gynecol* 174:612, 1996 50
31. Krantz DA., Hallahan TW., Orlandi F.: First trimester Dwn Syndrome screening using dried blood biochemistry and nuchal translucency *Obstet Gynecol* 96:207, 2000
32. Wapner R.: results of NICHD multicenter study. *AM J Obstet Gynecol* 185:S70, 2002
33. Crossley JA, Aitken DA., Cameron AD.: Combined Ultrasound and biochemical screening for Down Syndrome in the first trimester: A Scottish multicenter Study. *BJOG* 109:667, 2002
34. Cicero S., Curcio p., Papageorgiou A.: Absence of nazal bone in fetuses with trizomy 21 at 11-14 weeks of gestation. An observational study. *Lancet* 2001;358:1665-1667
35. Cicero S, Bindra R., et al: Integrated ultrasound and biochemical screening for trizomi 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nazal bone, free β -hCG and PAPP-A at 11-14 weeks. *Prenat Diagn* 2003;23:306-310
36. Senat MV, Bernard JP., Boulvain M.: Intra- and interoperator variability in fetal nazal bone assesment at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound obstet gynecol* 2003;22:138-141
37. Burton BK.: Elevated maternal serum alpha-fetaprotein: interpretation and follow up *Clin obstet Gynecol* 31:293, 1988
38. O'Brien JE., Dvorin E., Drugan A.: Race-ethnicity-specific variation in multiple marker biochemical screening Alpha-fetaprotein, hCG and estriol. *Obstet Gynecol* 89:355 1997
39. Wald NJ., Cuckle H., Boreham J.: Maternal serum alpha-fetaprotein and diabetes mellitus. *Br J Obstet Gynecol* 86:101 1979
40. Crossley JA., Berry E., Aitken DA., Insulin dependant diabetes mellitus and prenatal screening results: Current experience from a regional screening programme. *Prenat diagn* 16:1039, 1996
41. Boyd PA., Wellesley DG., De Walle HE.,: Evaluation of the prenatal diagnosis of neural tube defects by fetal ultrasonographic examination in different centers across Europe. *J of Med Screen* 7:169, 2000 51
42. Lenon CA., Gray DL.,: Sensitivity and specificity ultrasound for dedection of neural tube and ventrall wall defects in a high risk population *Obstet Gynecol* 94:562, 1999
43. Yeo L., Vintzileos AM, use of genetik sonografito reduce the need for amniosentesis in woman high risk for down sendrome *Semin perinatol* 2003;27:152-159
44. Vintzileos AM, Egan JF: Adjusting the risk of trizomy 21 on the basis of second trimester ultrasonografi. *Am j obstet gynecol* 1995;172:837-844
45. Nyberg DA., Luthy DA, Resta RG.: Age Adjusted Ultrasound Risk assesment for fetal Down Sendrome during the second trimester 1998
46. Broomley B., Lieberman E.: A methot of risk assesment for Down Sendrom. *J Ultrasound Med* 2002;21:1087-96
47. Nyberg DA., El Bastawissi A., et al: Isolated sonographic markers for dedection of fetal Down syndrome in the second trimester of pregnancy. *J. Ultrasound Med* 20:1053, 2001
48. Yeo L., Vintzileos AM.: The Use of genetic sonography to reduce the risk for amniosentesis in woman High risk for Down Syndrome. *Semin perinatol* 2003;27:152-159
49. Persutte WH., Hobbins JC., Nyberg DA.: Trisomy 21 multicenter collabrotive project *AM j obstet Gynecol* 1998;178:s22
50. 102-Hobbins JC., Lezorte DC., Persute WH., et al.: An eight center study to evaluate The utility of mid-term genetic ultrasounds among High risk pregnancies. *J Ultrasound med* 2003;22:23-38
51. DK James PJ Steer, CP. Weiner , B. Gonik High Risk Pregnancy: Management Options Elsevier, 2006 52
52. Landwehr JB Jr. Johnson et al.: Abnormal nuchal findings on screening ultrasonography: Aneuploidy stratification on the basis of ultrasonographic anomaly and gestational age at dedection. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:995-999
53. American College of Obstetricians and Gynecologists Prenatal diagnosis of fetal chrozomal abnormalities: 2003 Compendium of Selected Publications. Washington, The American College of Obstetricians and Gynecologists, 2003 pp 547-557
54. Gardner RJM., Sutherland GR.: Chrozomal abnormalities and genetic counseling. New York Oxford University Press 1996 p243
55. Warburton D., Bryne J., Canki N: Chromozome Anomalies and Prenatal Development: an atlas. Oxford Monographs on Medical Genetics No.20. New York, Universty Pres, 1991.

56. Warbuton D.,Kline J.,Stein Z.,et al.: Does the Karyotype of spontaneous abortion predict the Karyotype of subsequent abortion?-Evidence from 273 Women with two Karyotyped spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 41:465,1987
57. Kher AS.,Chattopadhyay A.,Data S., et al.: Familial mosaic turner syndrome. *Clin Genet* 46:382,1994
58. Rotmensch S Liberati M., Bronsthein Met al.: Prenatal sonographic Findings in 187 Fetuses With Down Syndrome.*Prenat diagn* 17:1001 Nyberg Resta Luthy 1993
59. Walker A:Liquor amnii studies in the prediction of hemolytic disease of newborn. *Br. Med J* 2:376,1957
60. Lenke RR.,Ashwood ER.,Cyr DR.,et al:Genetic Amniosentesis:Significance of intaamniotik bleeding and Plasental location.*Obstet Gynecol* 65:798,1985)
61. Martin T.,Liedgren S.,Hammar M.: trandplasental needle passage and other Risk factors associated withsecond trimester amniosentesis.*Acta obstet gynecol Scand* 76:728,1997) 53
62. Thirkelson A:Cell culture and cytogenetic technique In Murken JD S-RS,Schwinger EN (eds)Third European Conference onPrenatal Diagnosis of Genetic Disorders. Stuttgart,Fendinian Enke,1979,pp258-270
63. Hsu LY., Perlis TE.:United states survey onchrosomal mosaicism and Pseudomosaicism in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 4:97,1984
64. Johnson A., Wapner RJ.: Mosaism:Implications for postnatal outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 9:126,1997
65. Gosten C.,Nicolaides KH.,Rodeck CH.: Fetal blood sampling in investigation of Chrozome mosaicism in amniotic fluid cell culture. *Lancet* 1:613,1988
66. Berghella V.,Wapner RJ.,Yang-Feng T.,et al.: Prenatal confirmation of true fetal tisomy 22 mosaicism by fetal skin biopsy following normal fetal blood sampling. *Prenat Diagn* 18:384,1998
67. Cheong Leung W.,Chitayat D.,Seaward g.,et al.:Role of Interphase Fluorosence in situ hybrization (FISH) analysis in patient manegement. *Prenat Diagn* 21:327,2001
68. Sawa R.,Hayashi Z.,Tanaka T.,et al: Rapid detection of chromosome aneuploidies by prenatal Interphase Fluorosence in situ hybrization (FISH) and its clinical utility in Japan. *J obstet Gynecol Res* 27:41, 2001,
69. Evans MJ.,Goldberg JD.,Horenstein J.,et al: Selective termination for structural,chrozomal and mendelian anomalies:international experience. *Am J Obstet Gynecol* 181:893, 1999
70. Turnbull AC. Mac Kenzie IZ.:Second trimester amniosentesiz termination of pregnancy. *Br Med 1bull* 39:315,1983
71. Tabor A.,Jerne D.,Bock JE.: Incidence of Rhesus immunistion after genetik amniosenyesis *Br Med J (Clin Res Ed)* 293:533;1986 54
72. Kishida T.,Yamada H.,Sagawa T.,et al.: Spontaneous reseal of high leak PROM Following Genetic amniosentesis.*Int Gynecol Obstet* 47:55,1994
73. Medical Research Council : Diagnosis of genetic diseases by Amniosentesis During the Second Trimester of pregnancy Ottawa, Canada, MRC1977
74. NICHD amniosentesis Registry: The safety and Accuracy of mid trimester amniosentesesis. DHEW Publication No (NIH) 78-190. Washington,DC, Department of Health, Education and Welfere 1978
75. Working Party on amniosentesis : An assesment of hazards of amniosentesis *Br J Obstet Gynecol* 85:1,1978
76. Tabor A. Philip J. Madsen M.,et al: Randomized controlled trial of genetic amniosentesis in 4606 low risk women .*Lancet* 1:1287,1986
77. Eddleman KA, Malone FD, Sullivan L, Dukes K, Berkowitz RL, Kharbutli Y. Pregnancy loss rates after midtrimester amniocentesis. *Obstet Gynecol* 2006;108:1067–72.
78. Anonymous : Randomized trial to ases fetal safety and outcome of early and midtrimester amnioebtesis. The Canadian early and midtrimester amniosentesis trial (CEMAT) Group. *Lancet* 351:242, 1998
79. Karp LE.,Hayden PW.: Fetal puncture during Midtrimester amniosentesiz *Obstet Gynecol* 49:115,1977
80. Nicolaides K.,Brizot Mde L,Patel F.: Comparisition of Chorionik Villus sampling and amniosentesis for fetal karyotyping at 11-14 week' gestation *Lancet* 344:435, 1994
81. Vandenbussche FP, Kanhai HH.,Keirse MJ.:Safety of early amniosentesiz1994
82. HRP - DK James PJ Steer,CP.Weiner , B. Gonik High Risk Pregnancy: Management Options Elsevier, 2006 -55
83. Jackson LG.,Zachary JM.,Fowler SE.,et al.:A randomized comparision of transcervical abd transabdominal chorionik villus sampling. The US. National instute of child Health and Human Devolompment Chorionik villus sampling and amniosentesis Study Group. *N Eng J Med* 327:594, 1992
84. Martin A., Elias S., Rosinsky B.,et al.:False negatif findings on chorionik sampling. *Lancet* 2:391,1986

85. Ledbetter DH, Martin AO, Verlinsky Y, et al: Cytogenetic results of Chorionic villus sampling High success rate and diagnostic accuracy in the United States Collaborative study. *Am J Obstet Gynecol* 162:495, 1990
86. Williams J., Medaris A., Chun W., et al.: Maternal cell contamination on cultured chorion villi : Comparison of chromosome Q-polymorphisms derived from villi, fetal skin, and maternal lymphocytes. *Prenat Diagn* 7:315, 1987
87. Ledbetter DH., Zachary JM, Simpson JL et al.: Cytogenetic results from the U.S. Collaborative study on CVS. *Prenat Diagn* 12:317, 1992
88. Mikkelsen M., Ayme S.: Chromosomal Findings in Chorionic villi. In Vogel F, Sperling K (ed): *Human Genetics*. Heidelberg, Springer Verlag, 1987
89. Breed AS., Manting A., Vosrers R., et al.: Follow-up and pregnancy outcome after diagnosis of mosaicism in CVS. *Prenat Diagn* 11:577, 1991
90. Ledbetter DH., Engel E.: Uniparental disomy in humans Development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis *Hum Mol Genet* 4:1757, 1995
91. Phillips O., Tharapel A., Lerner J., et al.: Risk of mosaicism when placental mosaicism diagnosed by chorionic villus sampling . *Am J. Obstet. Gynecol.* 174:850, 1996
92. Rhoads GG., Jackson LG., et al.: The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Eng J Med* 320:609, 1989
93. Cheng EY., Leung V., Chitayat D., et al.: Transcervical chorionic villus sampling and midtrimester oligohydramnios. *Am J Obstet Gynecol* 165:1063, 1991
94. Shulman LP., Elias S.: Percutaneous umbilical blood sampling, fetal skin sampling and fetal liver biopsy. *Semin perinatol* 14:456, 1990
95. Schloo R., Minny P., Distal Limb deficiency following chorionic villus sampling *Am J Med genet* 1992;42:404-413
96. Froster UG., Jackson L.: Limb defects and Chorionic villus sampling: results from international registry, 1992-94 (comment). *Lancet* 1996;347(9000):489-494
97. Tabor A., Philip J., Babg J.: Safety of amniocentesis. *Prenat Diagn* 1988;8:167-168
98. Smidt-Jensen S., Permin M., Philip J., Randomized comparison of amniocentesis and transabdominal chorionic villus sampling *Lancet* 1992;340 (8830):1237-1244
99. Berghella V., Wapner RJ., Yang Feng T.: Prenatal confirmation of true fetal trisomy 22 mosaicism by fetal skin biopsy following normal fetal blood sampling. *Prenat Diagn* 18:384, 1998
100. Wapner RJ., Jenkins TM Silverman N., et al.: Prenatal diagnosis of congenital nephrosis by in utero kidney biopsy. *Prenat Diagn* 21:256 2001
101. Burlingame JM, Esfandiari N, Sharma RK et al: Total antioxidant capacity and reactive oxygen species in amniotic fluid. *Obstet Gynecol*, 2003; 101: 756-61.
102. Wijnberger LD, Krediet TG, Visser GH et al: Early neonatal antioxidant capacity after preexisting impaired placental function. *Early Hum Dev*, 2003; 71:111-6.
103. Gupta P, Narang M, Banerjee BD et al: Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: A case control study. *BMC Pediatr*, 2004; 4:14.
104. Stirpe F, Ravaioli M, Battelli MG et al. Xanthine oxidoreductase activity in human liver disease. *Am J Gastroenterol*, 2002; 97: 2079-85.
105. Ceran C, Sönmez K. Türkyılmaz Z et al. Effect of bilirubin in ischemia/reperfusion injury on rat small intestine. *J Pediatr Surg*, 2001; 36:1764-7.
106. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate*, 2001; 79:180-6.
107. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33:110-118.
108. Shuttleworth G : Mongolian imbecility *Br Med J* 2:661 1909
109. Akkus İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Akkuş İ. (Ed), Konya, Mimoza yayınları, 1995.
110. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS*, 2000; 25: 502-507.
111. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *Journal of Dermatological Science*, 2001; 27:1-4.
112. Aver'yanov AA, Lapikova VP, Pasechnik TD. Active oxygen: A possible role for rice resistance to blast. *Cahiers Options Mediterraneennes*, 15(3):103-106.
113. Dimple B. Radical Ideas: genetic responses to oxidative stress. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 1999; 26: 64-68.
114. Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact*, 2001;137: 59-74.

115. Buonocore G, Perrone S, Longini M et al. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res*, 2000;47:221-4.
116. Cros CE, Halliwell B, Borish E et al. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann . Intern. Med.*, 1987; 107: 526 – 45.
117. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*, 1993; 26:351-357.
118. Otani K, Shimizu S, Chijiwa K et al. Increased Urinary Excretion of Bilirubin Oxidative Metabolites in Septic Patients: A New Marker for Oxidative Stress in Vivo. *Journal of Surgical Research*, 2001; 96: 44-49.
119. Minetti M, Mallozzi C, Michela AM et al: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352(2):165-74.
120. Stocker R: Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004; 6:841-9.
121. Lindeman JH, Lentjes EG, Houdkamp E et al. Effect of an exchange transfusion on plasma antioxidants in the newborn, 1992; 90:200-3.
122. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*. 2004;37: 277–285.
123. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005; 38:1103-1111.
124. Harma M, Koçyiğit Erel O. Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole. *Mutat Res* 2005;5:49-54.
125. Tongsong T, Wanapirak C, Sirivatanapa P. Amniocentesis-related fetal loss; a cohort study. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 64-7
126. Sjogren B, Uddenberg N. Decision making during the prenatal diagnostic procedure .A questionnaire and interview study of 21 women participating in prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*, 1988;8:263-273.
127. Lindemann CH, Theile U. Prenatal karyotyping in second trimester pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, 1989; 42: 594-598.
128. Bal F, Uğur G, Yıldız A, Şahin İ, Menekşe A. II. trimester gebeliklerinde amniyosentez uygulamaları. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi*, 1995; 5:249-256.
129. Milewicz P, Lipinski T, Hamela-Olkowska A, Jalinik K, Czajkowski K, Zaremba J. The evaluation of the results of genetic amniocentesis in the II Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical University of Warsaw. *Ginekol Pol*, 2004; 75: 603-608.
130. Bal F, Uğur G, Yıldız A, Şahin İ, Menekşe A. II. trimester gebeliklerinde amniyosentez uygulamaları. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi*, 1995; 5:249-256.
131. Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Matsuyama A, Wilson C. Cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet Lond*, 1980; 44: 15-64.
132. Özkinay C, özkinay E. Genetik Danışma, in: Bektaş M S, Demir N, Koç A, Yüksel A Eds. *Obstetrik Maternal-Fetal Tıp & Perinatoloji*. Ankara: MN Medikal & Nobel, 2001: 118-124.
133. Hsieh FJ, Ko TM, Tseng LH, Chang LS, Pan MF, Chuang SM, Lee TY, Chen HY. Prenatal cytogenetic diagnosis in amniocentesis. *J Formos Med Assoc*, 1992; 91: 276-282.
134. Wertz DC, Fletcher JC. Ethical problems in prenatal diagnosis. A cross cultural survey of medical geneticists in 8 nations. *Prenatal Diagnosis*, 1988; 9:145-147.
135. Dündar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*. 1999; 9(1-2): 32-39
136. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry*. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc. 1996; 765-777.
137. Özgür Yiğenoğlu, Mete Gürol Uğur, Ebru Öztürk, Özcan Balat, Özcan Erel, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Gaziantep Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2011;18(4):236-9.
138. Safronova VG, Matveeva NK, Avkhacheva NV, Sidel'nikova VM, Van'ko LV, Sukhikh GT. Changes in regulation of oxidase activity of peripheral blood granulocytes in women with habitual abortions. *Bull Exp Biol Med* 2003; 136: 257-60.
139. Vural P, Akgül C, Yıldırım A, Canbaz M. Antioxidant defence in recurrent abortion. *Clin Chim Acta* 2000; 295: 169-77.
140. M. Simsek, M. Nazıroğlu, H. Simsek, M. Cay. Blood plasma level of lipoperoxides, glutathione peroxides, beta carotene, vitamin A, E in women habitual abortion. *Cell Biochem Funct*. 1998;16, 227-231.
141. Alexa ID, Jerca L, Gheorghina V. The role of lipid peroxidation and of the antioxidant systems in normal pregnancy and in pre-eclampsia. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 1996; Jul-Dec:100(3-4):84-9.
142. Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez JG. The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv*. 2007;62(5):335-47.

143. Vural M , Camuzcuoglu H , Toy H, Aksoy N . Amniotic Fluid Prolidase Activity and Oxidative Status in Neural Tube Defects Departments of a Obstetrics and Gynecology, and b Biochemistry, School of Medicine, Harran University, Sanliurfa , Turkey Received: Fetal Diagn Ther 2010;28:34–39 January 28, 2010 Accepted after revision: March 31, 2010 Published online: June 3, 2010
144. Buyukhatipoglu H, Kirhan İ, Vural M ve ark. Oxidative Stress Increased in Healthcare Workers working 24-Hour On-Call Shifts 2010 Dec;340(6):462-7.
145. Rush JW, Denniss SG, Graham DA. Vascular nitric oxide and the oxidative stress: determinants of endothelial adaptations to cardiovascular disease and to physical activity. Can J Appl Physiol 2005;30:442–74.
146. Edward DG, Schofield RS, Lennon SL, et al. Effect of exercise training on endothelial function in men with coronary artery disease. Am J Cardiol 2004;93:617–20.
147. Linke A, Adams V, Schulze PC, et al. Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure. Circulation 005;111:1763–70.