

Klinik Çalışma

# İleri Yaş Gebeliklerde Amniyosenteze Yaklaşım

Gülzar Arzu Turan\*, Işın Kaya\*\*, Esra Bahar Gür\*, Sümeyra Tatar\*, Mine Genç\*, Serkan Güçlü\*

## Özet

**Amaç:** Merkezimizdeki beş yıllık amniyosentez verilerinden yola çıkarak endikasyonlara ve yaşa göre anomali dağılımını incelemek. İleri yaş gebeliklerde amniyosenteze yaklaşımı irdelemek.

**Gereç ve Yöntem:** 2008-2012 tarihleri arasında amniyosentez uygulanmış 307 olgu retrospektif değerlendirildi. Endikasyonlar; ileri maternal yaş, tarama testinde risk artışı, ileri maternal yaş ve tarama testinde risk artışı, anormal ultrason bulguları ve diğerleri şeklinde sınıflandı. Sitogenetik bulgular, normal ve anormal olarak sınıflandı. Normal varyasyonlar, normal grubunda değerlendirildi. Anne yaşı ayrıca 35 yaş altı ve 35 yaş ve üstü olarak sınıflandı. Anormal karyotip sonuçları ile endikasyon ve yaş arasındaki ilişki ki-kare testi ile incelendi.

**Bulgular:** Tarama testinde risk artışı (%37.8), ileri maternal yaş (%32.6), ileri maternal yaş ve tarama testinde risk artışı (%20.8) izlenen endikasyonlardı.

Dört olguda kültürde üreme olmadı. Değerlendirmeye alınan 303 olgunun 26'sında (%8.5) anormal karyotip tespit edildi. Otuzbeş yaş altı ve üstünde anomali sıklığı; ve endikasyonlara göre kromozom anomalisi yakalama oranları benzerdi. Ancak, ileri maternal yaş ve tarama testinde risk artışı olan grupta trizomi 21 yakalama oranının daha fazla olduğu görüldü.

**Sonuç:** İleri yaş gebeliklerde amniyosentez kararı verirken; biyokimyasal tanı yöntemleri ve ultrasonografinin kullanılması, anomali yakalama oranını artıracaktır. Hastalar bu konuda yeterli aydınlatılmalı ve karar verirken tıbbın tüm olanakları kullanılmalıdır.

**Anahtar kelimeler:** Amniyosentez, ileri maternal yaş, endikasyon

Amniyosentez 1960' lı yıllardan beri prenatal genetik tanı amacı ile uygulanan invazif bir yöntemdir (1). Yapılan çalışmalara göre ileri anne yaşı en sık endikasyonlardan biridir (2-4). Down sendromlu bebek doğurma riski 25 yaşındaki kadında 1/1300 iken bu risk 35 yaşında 1/270, 45 yaşında ise 1/30 'dur. 35 yaş gebeliklerde down sendromu riski, amniyosenteze bağlı fetal kayıp riskine yaklaştığından dolayı, 35 yaş tüm dünyada kabul gören sınır değerdir. Diğer endikasyonlar arasında; biyokimyasal testlerde risk artışı, anormal ultrason bulguları, ebeveynde

anormal karyotip, anomalili infant doğumu öyküsü, intrauterine fetal ölüm öyküsü ve diğer nonspesifik nedenler sayılabilir. İşleme bağlı komplikasyon oranı %1 kadardır (5).

Son yıllarda kadının iş hayatında giderek artan bir yer alması, çocuk sahibi olma yaşının ertelenmesine neden olmuştur. Dolayısı ile, ileri anne yaşı problemi önümüzdeki dönemde bizi daha çok meşgul edecektir. Artan amniyosentez sayısı, sosyal güvenlik kurumlarına yüksek maliyet getirirken (6), ileri yaşta elde edilen kıymetli bir gebeliğin riske atılması da söz konusu olacaktır. Son yıllarda bu durum daha çok dile getirilmiştir. Bazı yayınlarda sadece yaş faktörüne göre değil, biyokimyasal testler ve genetik ultrasonografi ile birlikte karar verilmesi önerilmektedir (7-9).

Çalışmamızda merkezimizdeki beş yıllık amniyosentez verilerini değerlendirerek endikasyon oranlarımızı ve karyotip sonuçlarımızı belirlemeyi hedefledik. Endikasyonlara ve yaşa göre anomali dağılımını inceleyerek ileri yaş gebeliklerde amniyosenteze yaklaşımı irdelemeyi planladık.

\*Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir

\*\*Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İzmir

**Yazışma Adresi:** Yrd. Doç. Dr. Gülzar Arzu TURAN  
Şifa Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir  
Tel: 0532 6569031

E-mail: arzuturan74@yahoo.com

Makalenin Geliş Tarihi: 18.07.2013

Makalenin Kabul Tarihi: 10.12.2013

## Gereç ve Yöntem

Şifa Üniversitesi Etik Kurul onayı alınarak, Helsinki Deklerasyonu 2008 kapsamında, 2008 Ocak ile 2012 Aralık tarihleri arasında Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği' ne başvurmuş ve çeşitli endikasyonlar nedeniyle amniyosentez uygulanmış 307 olgu retrospektif değerlendirilmiştir. Amniyosentez endikasyonu olarak prenatal tarama testlerinde (birinci ve/veya ikinci trimester) artmış risk, anne yaşının 35 yaş ve üzerinde olması, ultrasonografide anomali tespit edilmesi, ve diğer nedenler (önceki gebeliklerinde fetal anomali, maternal anksiyete, ailede Down sendromu öyküsü) kabul edilmiştir. Aileye, amniyosentez işlemi, nedeni ve olası riskler hakkında bilgi verilerek onam formu imzalatılmıştır. Kabul eden 307 olguya gebeliklerinin 15 ile 19. haftaları arasında amniyosentez uygulanmıştır.

Sitogenetik laboratuvarımızda, amnion sıvısından uzun süreli hücre kültürü için 3 ml besiyeri (Amniomax-Gibco) ve 25 cm<sup>2</sup> kültür kapları kullanılarak hücreler 37 °C de CO<sub>2</sub> 'li etüvde inkübe edildi. Harvest işleminden 2.5 saat önce 100 mikrolitre kolsemid (colcemid solution, Gibco) uygulaması yapıldı. Hücreler bu süre sonunda santrifüj edildi, süpernatant atıldıktan sonra 10 ml hipotonik solüsyon (0.075 mol/l KCl) eklendi ve 35 dakika 37 °C de bekletildi. Süre sonunda 1:3 oranında asetik asit:metanol ile hazırlanan fiksatif solüsyonu ile 3-4 kez muamele edildi. Lamaların üzerine hücrelerin damlatılarak yayılması ile hazırlanan preparatlar tripsin giemsa bantlama yöntemi (GTG) ile boyandı. Analiz sonuçları International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2009'a göre rapor edildi. Kromozom analizinde standart olarak 20 metafaz analiz edildi.

**FISH (Floresan in situ hibridizasyon) Analizi için Gereç-Yöntem:** Lamaların üzerine hücrelerin damlatılarak yayılması ile hazırlanan preparat 10 dakika kurutuldu. Faz kontrast mikroskobu yardımıyla analiz yapılacak alan elmas uçlu kalemle lamın alt yüzünden işaretlendi. 2xSSC

solüsyonunda (37±1°C) 30 dk bekletildi. Denatürasyon solüsyonunun (pH:7.0-8.0) ısı 73± 1 °C olarak ayarlandı ve preparat 5 dk denatüre edildi. Ardından preparat 1'er dk %70, %85, %100 alkol serisinden geçirildi ve kurutuldu. Preparat üzerindeki işaretli alana 10 µl LSI 13/21 (Vysis-Abbott) prob damlatıldı, 22mmx22mm lamelle kapatıldı etrafı ruberement ile kaplandı. Özel nemli hibridizasyon bölümünde 37 ± 2 °C'de 6 saat hibridize edildi. Sonrasında ruberement ve lamel kaldırıldı. 73± 1 °C'de 0.4 xSSC / %0.3 NP-40 solüsyonunda 2 dk , oda ısısındaki 2xSSC / %0.1 NP-40 30sn bekletildi ve preparat karanlıkta kurutuldu. İncelenecek alan üzerine 10 µl DAPI II damlatıldı. Preparat floresan ataşmanlı mikroskopta analiz edildi.

Şifa Üniversitesi Hastanesi sitogenetik laboratuvarının amniyosentez kayıtlarından karyotip analiz sonuçlar elde edildi. Endikasyonlar; ileri maternal yaş, tarama testinde risk artışı, anormal ultrason bulguları ve diğerleri şeklinde sınıflandı. Sitogenetik bulgular, normal ve anormal olarak sınıflandı. Normal varyasyonlar, normal olgu grubunda değerlendirildi. Anne yaşı ayrıca 35 yaş altı, ve 35 yaş ve üstü olarak sınıflandı. Endikasyonlara göre karyotip sonuçları arasında fark olup olmadığı ve yaş faktörünün anormal karyotip ile ilişkisi ki- kare testi ile incelendi.

## Bulgular

Amniyosentez endikasyonları Tablo 1 de gösterilmiştir. Tarama testinde risk artışı, endikasyonlar arasında ilk sırayı almaktadır. Amniyosentez uygulanan 307 hastadan 4'ünün hücre kültüründe üreme saptanmamıştır. Değerlendirmeye alınan 303 olgunun 26 sında (%8.5) anormal karyotip tespit edilmiştir.

Endikasyonlara göre kromozom anomalisi tespit etme oranları istatistiksel açıdan anlamlı bir fark göstermemektedir (p>0.05). Kromozom anomalisi saptanan olgular incelendiğinde (Tablo 2) trizomi 21 yakalama olasılığının, ileri maternal yaş ve tarama testinde risk artışı olan grupta daha fazla olduğu görülmüştür. Mozaik yapı izlenen

Tablo 1. Amniyosentez endikasyonları

Endikasyon	Olgu sayısı (%)	Anormal karyotip sayısı (%)
Tarama testi risk artışı	116 (%37,8)	10(%8,6)
Maternal yaş ≥ 35	100 (%32,6)	10(%10)
Maternal yaş≥35 ve tarama testi risk artışı	64(%20,8)	5(%7,8)
USG bulguları	12 (%3,9)	-
Diğerleri	15 (%4,9)	1(%6,6)
<b>Toplam</b>	<b>307 (%100)</b>	<b>26(%8,5)</b>

Tablo 2. Karyotip anomaliler

Maternal yaş	Karyotip sonucu
	İleri maternal yaş
43	47,XX, +18
36	46,XX, [19]/ 47,XX, +18[1] *
39	46,XX, [98]/ 47,XX, +21[1]/ 47,XX, +mar?[1] *
40	46,XY, [14]/ 47,XX, +8[1] †
38	46,XY, [98]/ 47,XY, +10[1]/ 47, XY, +15[1] †
37	47,XXY
42	46,XY, [11]/ 45,X, [7]/ 47, XXY[2] †
38	46,XY, t(5;14)(q31;q13) **
39	46,XX, t(2;18)**
46	46,XY, [97]/ 46,XY, der(5)(p15.3q33)[3] #
	İleri maternal yaş ve Tarama testinde risk artışı
35	47,XX, +21
37	47,XX, +21
39	47,XX, +21
35	46,XX, [98]/ 45,XX, -18[2] #
37	46,XY, inv(1)(p12;q12)
	Tarama testinde risk artışı
27	47,XX, +21
28	47,XY, +21
24	46,XX, +21p+ †
28	46,XX, der(14;21)(q10;q10), +21
25	46,XX, [99]/ 47,XX, +18[1] #
31	46,XX, [99]/ 47,XX, +16[1] #
31	46,XX, [9]/ 47,XX, +13[1] *
25	46,XY, inv(Y)(p11.2q11.22) ††
29	46,XY, [48]/ 46,XY, der(9)(9 pter→9q3y::10q24→10qter), del(10)(q22q24)[2] #
20	47,XX, +18
	Diğer sebepler
34	46,XX, [49]/ 47,XX, +18 del(18)p(11)[1] *
Toplam	26

\*FISH analizi normal

† FISH önerilmiş hasta yaptırmamış

#Normal olduğu düşünülmüş ileri düzey USG önerilmiş

\*\*Dengeli translokasyon, annede var

††Paternal

hastalara FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) önerilmiş, 4 hastada FISH sonucu normal bulunurken 4 hasta yaptırmamıştır (Şekil 1 ve 2). Beş hastada ise anormal kromozom

yapısı sadece bir kültür kabında izlendiğinden yüksek olasılıkla normal oldukları düşünülerek ileri düzey ultrasonografi önerilmiştir. Anormal kromozom kuruluşu izlenen fetüslerden 2 tanesinin annesinde, birinin babasında aynı yapı izlenmiş olup fenotipe yansımadağına karar verilmiştir.

Tablo 3 'te normal varyasyon olarak kabul edilen kromozomal farklılıklar gösterilmiştir. Bu farklılıklar toplumdaki polimorfizmlerdir.

Amniyosentez olgularını 35 yaş altı ve, 35 yaş ve üstü olarak iki gruba ayırıp karyotip anomali sıklığı açısından ki-kare testi ile karşılaştırdığımızda fark olmadığını bulunmuştur (p=0.54). Sınır değeri 40 yaş olarak değiştirildiğinde de sonucun değişmediği belirlenmiştir (p=0.68).

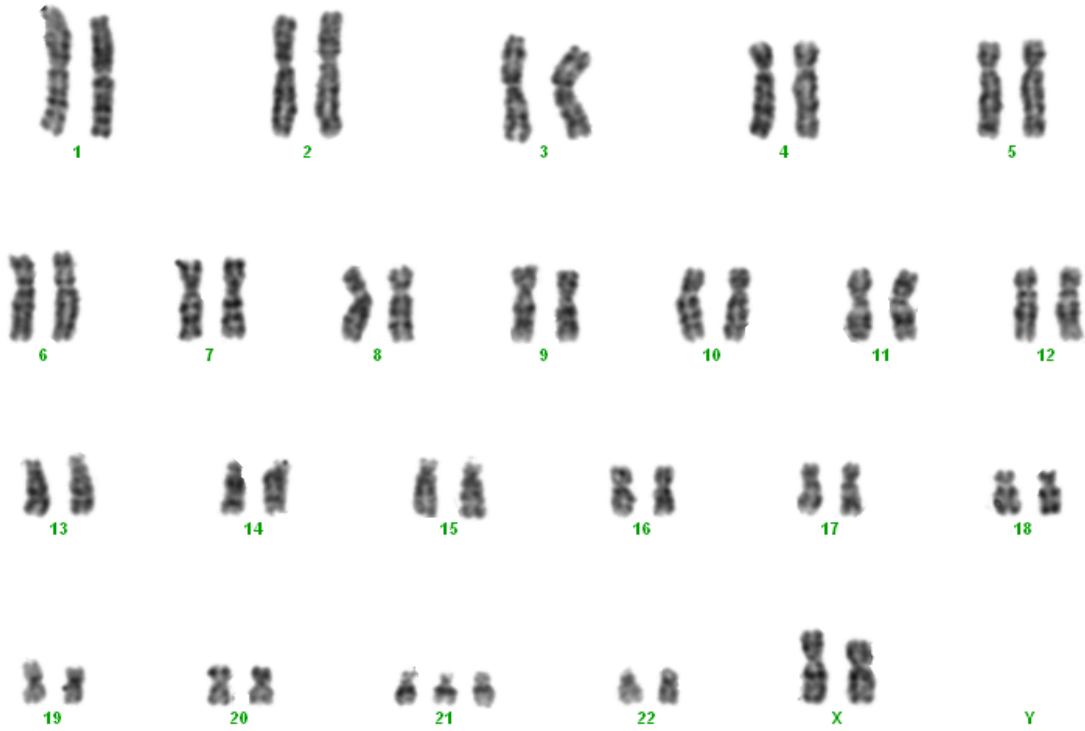
Tablo 3. Normal varyasyonlar

Maternal yaş	Karyotip sonucu
	İleri maternal yaş
35	46,XX, 15ps+
41	46,XY, 15cenh+
40	46,XX, 14p+
40	46,XX, 16qh+
37	46,XX, 15cenh+
	İleri maternal yaş ve Tarama testinde risk artışı
38	46,XY, 16qh+
38	46,XX, 15ps+
36	46,XX, 4qh+
	Tarama testinde risk artışı
23	46,XX, 1qh+
29	46,XY, 16qh+
	USG bulguları
26	46,XX, 1qh
27	46,XX, cenh+ pat
	Diğer sebepler
26	46,XX, inv(9)(p11;q13)
26	46,XX, 15cenh+
Toplam	14

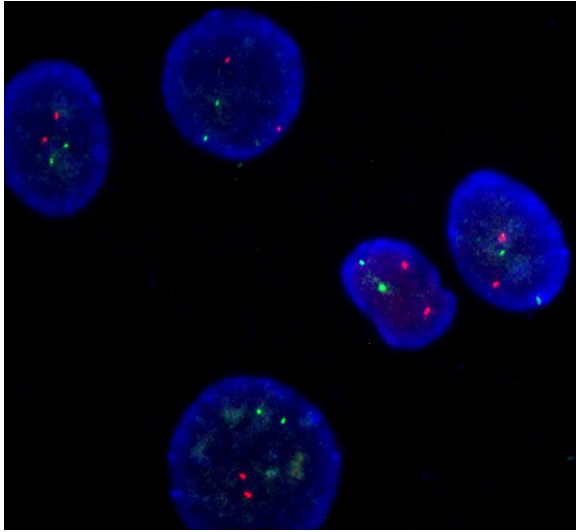
## Tartışma

Serimizde, en sık endikasyon tarama testinde risk artışı olup, ileri anne yaşı ikinci sırada yer almaktadır. Bazı çalışmalarda ise ileri anne yaşı en sık endikasyondur (1,3).

Çalışmamızda, endikasyona göre karyotip anomali saptama oranı açısından anlamlı fark saptanmamış, ancak karyotip anomalilerinin dağılımı incelendiğinde trizomi 21 yakalama



Şekil 1. Tek metafaz plağında gözlenen 47 ,XX,+21 görüntüsü.



Şekil 2. Aynı hastada FISH tekniği ile saptanan 13.(yeşil) ve 21. (kırmızı) kromozomlara ait dizomik sinyaller.

oranının en fazla “ileri maternal yaş ve tarama testinde risk artışı” olan grupta olduğu görülmüştür. Saptanan 26 kromozomal anomali olgusunun 12 ‘si mozaik yapıdadır. Mozaik kromozom bozukluklarının değerlendirilmesinde ise, ek tanı yöntemlerinin kullanılması ailenin vereceği kararda yol gösterebilir. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) analizi ile mozaizmin derecesi; uygulanacak genetik

ultrasonografi ile kromozom bozukluğunun fenotipe yansımaları hakkında bilgi elde edilebilir. İleri anne yaşı nedeniyle yapılan amniyosentez sonuçlarının değerlendirildiği Dündar ve ark. (10) çalışmasında da karyotip anomali sonuçları yaşa bağlı farklılık göstermemiştir. Ancak yazar ileri yaşı yüksek risk olarak kabul ederek amniyosentez uygulanması fikrini desteklemiştir. Kadının iş hayatında daha çok yer alması nedeniyle son yıllarda evlenme ve çocuk sahibi olma yaşı artmıştır. Bu durumda ileri anne yaşı esas alınarak uygulanan amniyosentez sayısı ve oranında artış beklenmektedir. Artan amniyosentez sayısı ise sosyal güvenlik kurumlarına yüksek maliyet getirecektir. Bununla bağlantılı olarak; Dilek ve ark. (6) 35 yaş ve üzerinde 572 olgu ile yaptıkları çalışmada, 35 yaş ve üzeri olgulara rutin amniyosentez yapılmasının maliyet yönünden etkin olmadığını, ultrasonografi ile düzeltilmiş yaş riski kullanmak yoluyla Down sendromu olgularının saptanma maliyetinin yaklaşık %60 oranında azaltılabileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca ileri yaşta elde edilen kıymetli bir gebeliğin riske atılması da söz konusu olacaktır. Son yıllarda sadece yaş faktörüne göre değil, biyokimyasal testler ve genetik ultrasonografi ile birlikte karar verilmesinin önemini vurgulamaktadırlar (7-9). Tablo 2 ‘de görüldüğü gibi ileri maternal yaş, biyokimyasal tarama testi

ile birlikte değerlendirildiğinde Down sendromu yakalama sıklığı artmaktadır.

Çalışmamızda 35 yaş sınır değer kabul edildiğinde iki grup arasında karyotip anomalisi açısından fark izlenmemiştir. Genel toplum ele alındığında, ileri yaş predispozan faktör olup seçilmiş grupta bunun doğrulanmaması, 35 yaş altı gebelerden sadece yüksek riskli olanların gruba dahil edilmesinden kaynaklanmaktadır.

### Sonuç

İleri yaş gebeliklerde amniyosentez kararı verirken biyokimyasal tanı yöntemleri ve ultrasonografinin kullanılması, anomali yakalama oranını artıracaktır. Amniyosentez risksiz bir işlem değildir. Hastalar bu konuda yeterli aydınlatılmalı ve endikasyona karar verirken tıbbın tüm olanakları kullanılmalıdır.

### Approach to Amniocentesis in Advanced Aged Pregnancies

#### Abstract

**Aim:** To determine the rates of amniocentesis indications and karyotype results of the five-year data in our center and to evaluate the approach to amniocentesis in pregnancies with advanced age.

**Material and Method:** Between 2008 and 2012, 307 cases of amniocentesis were evaluated retrospectively. Indications were classified as advanced maternal age, increased risk on screening test, advanced maternal age with increased risk on screening test, abnormal ultrasound findings, and others. Cytogenetic findings were classified as normal and abnormal. Maternal age was also classified as older than 35 years old and others. The relation of abnormal karyotype with indications and age was analyzed by chi-square test.

**Results:** Increased risk on screening test (37.8%), advanced maternal age (32.6%), advanced maternal age and the positive screening test (20.8%) were the indications.

Cell culture was not successful in 4 cases. Abnormal karyotype was detected in the 26(8.5%) of 303 patients. The frequency of anomalies was not different in terms of the maternal age and the indications. However, in the group with advanced maternal age and increased risk screening test, the detection rate of trisomy 21 was higher.

**Conclusion:** In the course of amniocentesis decision in advanced age pregnancies; the use of ultrasound and biochemical diagnostic methods increases the potential for detection of anomaly. Patients should be illuminated enough about it, and all the facilities

*of medicine should be used when deciding on the indication.*

**Key words:** Amniocentesis, advanced maternal age, indication

### Kaynaklar

1. Jacobson CB, Barter RH. Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. Am J Obstet Gynecol 1967; 99(6):796-807.
2. Chang YW, Chang CM, Sung PL, Yang MJ, Li WH, Li HY, et al. An overview of a 30-year experience with amniocentesis in a single tertiary medical center in Taiwan. Taiwan J Obstet Gynecol 2012; 51(2):206-211.
3. Yıldırım G, Aslan H, Gül A, Güngördük K, Aktaş FN, Çakmak D ve ark. İkinci Trimester Gebelik Amniyosentez Sonrası Gebelik Sonuçları: 1070 Olgunun Değerlendirilmesi. Perinatoloji Dergisi 2006; 14(3):129-134.
4. Yayla M, Bayhan G, Yalınkaya A, Alp N, Fidanboy M, Görmüş H, et al. Yüksek Riskli Gebeliklerde 2. Trimester Genetik Amniyosentez: 165 Olgunun Klinik Değerlendirilmesi. Perinatoloji Dergisi 1999; 7(1):40-46.
5. Tabor A, Philip J, Madsen M, Bang J, Obel EB, Nørgaard-Pedersen B. Randomised controlled trial of genetic amniocentesis in 4606 low-risk women. Lancet 1986; 1(8493):1287-1293.
6. Dilek TUK, Durukan H, Çayan F, Öztürk İ, Doruk A, Dilek S. İleri Maternal Yaş Grubundaki Gebelerde Artmış Anöploidi Riskini Belirlemede Ultrasonografiyle Düzeltilmiş Yaş Riskinin Rutin Karyotip Analizi ile Maliyet Karşılaştırılması. TJOD Derg 2008; 5: 41-47.
7. Miyake H, Nakai A, Shimada T, Takeshita T. Effect of first-trimester ultrasound examination for chromosomal aberrations in women undergoing amniocentesis. J Nippon Med Sch 2006; 73(5):271-276.
8. Shimada S, Yamada H, Hoshi N, Kobashi G, Okuyama K, Hanatani K, et al. Specific ultrasound findings associated with fetal chromosome abnormalities. Congenit Anom (Kyoto) 2009; 49(2):61-65.
9. Dagklis TI, Kalogiannidis II, Prapa SM, Prapas YM, Prapas NM. Adjusted risk for trisomy 21 after the anomaly scan. How accurate is the Fetal Medicine Foundation algorithm? Arch Gynecol Obstet 2012; 285(2):367-370.
10. Dündar Ö, Tütüncü L, Ergür AR, Bodur S, Müngen E. Maternal İleri Yaşda Amniyosentez Uygulaması ve Sonuçlarımız. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2008; 18(4):243-249.