

## İNTERFAZ HÜCRELERİNDE FLÜORESAN IN-SITU HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ İLE ANÖPLOİDİ ARANMASI

### ANEUPLOIDY SCREENING BY FLUORESCENT IN SITU HYBRIDISATION METHOD IN THE INTERFASE CELLS

Tufan ÇANKAYA<sup>1</sup>  
Sermet SAĞOL<sup>3</sup>

Cumhur GÜNDÜZ<sup>2</sup>  
Cihangir ÖZKINAY<sup>1</sup>

Ferda ÖZKINAY<sup>1</sup>

Özgür ÇOĞULU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Genetik ve Teratoloji BD

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD

**Anahtar Sözcükler :** FISH, Flüoresan in-situ Hibridizasyon, Rapid FISH, Prenatal Tanı, Amniosentez

**Key Words :** FISH, Fluorescent in situ Hybridisation, Rapid FISH, Prenatal Diagnosis, amniosyntesis

Destekleyen kurum : EBİLTEM ( Ege Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi)

## ÖZET

**Giriş:** Amniosentez ve fetal karyotipleme, prenatal tanı amacıyla pek çok ülkede uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemler ile fetusun kromozom yapısı hakkında aile ve doktorun doğum gerçekleşmeden önce bilgi sahibi olması amaçlanmaktadır. Son yıllarda geliştirilmiş moleküler sitogenetik yöntem olan flüoresan in-situ hibridizasyon (FISH) amnion sıvısındaki interfaz hücrelerine uygulanması ile sonuç alma süresi çok kısalmıştır.

**Materyal-Metod:** Bu çalışmada 20 ile 46 yaş ve 15 ile 32 gebelik haftası arasında olan otuz olgunun amniosentez sıvıları, klasik sitogenetik yöntem ve FISH yöntemi ile incelendi.

**Bulgular:** Amniosentez endikasyonları; 16 olguda ileri anne yaşı, 6 olguda üçlü tarama testinde risk artışı, 3 olguda anormal ultrason bulgusu ve birer olguda ileri anne yaşı ve anormal ultrason birlikteliği, ileri anne yaşı ve üçlü testte risk artışı birlikteliği, maternal Down sendromu, koriyonik villus biyopsisinde trizomi 21 saptanması ve anksiyete idi. Olguların klasik sitogenetik yöntem ile incelenmesi sonucunda 16 olguda 46, XY; 11 olguda 46, XX; 3 olguda trizomi 21 saptandı. Bütün olgulara aynı anda 13, 18, 21, X ve Y problemleri ile FISH incelemesi yapıldı ve 24 saat içinde sonuçlar elde edildi. Uyguladığımız FISH yöntemi sonuçları klasik sitogenetik yöntem doğrulandı.

**Sonuç:** Prenatal tanıdaki FISH yönteminin, klasik sitogenetik karyotipleme yönteminin yanısıra hızlı sonuç elde etmede rutin olarak uygulanabileceği kanısına varılmıştır.

## SUMMARY

*Introduction: Numerical and/or structural chromosomal abnormalities in the fetus can be detected by prenatal diagnostic methods. Fetal karyotyping is one of the prenatal diagnostic methods which is usually performed after the 14th week of gestation. More than 99 % of all chromosomal abnormalities comprise the aneuploidies of five chromosomes. These five chromosomes are number 13, 18, 21, X and Y. Recently the development of Fluorescent in situ Hybridization (FISH) for the analysis of chromosome aneuploidies in interphase cells has provided rapid results and the duration of informing the families has been shortened. Materials and Methods: In this study, amniotic fluid sampling (AFS) of 30 pregnant, ageing between 20 and 46 year-old and studied by both classical cytogenetic technique and FISH.*

Yazışma adresi: Tufan ÇANKAYA, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Genetik ve Teratoloji BD Bornova  
İZMİR

Makalenin geliş tarihi : 15.09.2006 ; kabul tarihi : 04.10.2006

*Results: The gestational period for the sampling process of these women is between the 14th and 32th week of pregnancy. The indications of cytogenetic study in AFS were advanced maternal age (AMA) in 16 cases, triple test result pointing to increased risk in 6 cases, abnormal ultrasound findings in 3 cases, AMA with triple test result in 1 case, AMA with abnormal ultrasound findings in 1 case, Down syndrome in the mother in 1 case, trisomy 21 in chorionic villus sampling in 1 case. Normal signalling in 27 cases and trisomy 21 in 3 cases were obtained by FISH. All results were obtained within 24 hours by FISH method and analysed by using classical cytogenetic method. Conclusion: In conclusion it is considered that FISH method can be used for getting rapid result besides classical cytogenetic method in the screening of the most common aneuploidies.*

## GİRİŞ

Amniyosentez ve fetal karyotipleme birçok ülkede prenatal tanıda sıkça kullanılan bir yöntemdir. Fetal karyotipleme, amnion alınmasını izleyerek bu sıvı içinde serbest halde yüzen fetüse ait hücrelerin yaşamsal aktivite gösterenlerinin kültür yapılması ve bunların kromozomlarının incelenmesi işlemidir. Amniyosentez, uygulamaya başlamasının üzerinden onlarca yıl geçmiş olmasına rağmen halen bilinen hücre kültürü teknikleri kullanılmaktadır. Bu hücre kültürü teknikleri değişmemiş olmakla birlikte, kullanılan teknik cihaz ve besiyeri ortamlarındaki düzenlemeler, amniosit hücre kültürü başarısını arttırmıştır. Amniyosentez yapılan bir olgu, fetal karyotip sonucunu günümüz koşullarında, geleneksel yöntemlerini uygulayan bir laboratuvardan ortalama iki hafta gibi bir süre içinde alabilmektedir. Bu süre flask yöntemi yerine lamel yöntemini uygulayan bir laboratuvarda bile minimum yedi günden aşağıya düşürülememektedir (1).

Fetal karyotipleme, fetüsün herhangi bir kromozomal anomaliye sahip olup olmadığını anlamak için yapılmakta ve aileye kromozom bozukluğu olan bir fetüs için karar verme olanağı tanımaktadır. Fetal karyotiplerde saptanan kromozomal anomali oranı endikasyona bağlı olarak değişir. İleri anne yaşı, üçlü testte risk artışı gibi endikasyonlarla yapılan fetal karyotiplerde bu oran % 2-3 dolayında iken, anormal ultrason bulgusu gibi yüksek risk taşıyan grupta % 16 ya kadar çıkar (2). Bu gruplarda klasik yöntemlerle uygulanmakta olan fetal karyotip elde etme süresi 10-17 gün arasında sürmektedir. Bu bekleme süresi içinde aile, önce amniyosentez işlemi sırasında bir stres yaşamakta buna ek olarak bekleme süreci boyunca stresi artmaktadır. Son yıllarda bu süreyi kısaltmak için yoğun çabalar vardır. Bunlardan birisi de gelişmiş ülke laboratuvarlarında klasik yöntemin yanı sıra, anöploidi taranması için rutin olarak uygulanmakta olan Flüoresan İn-Situ Hibridizasyon Yöntemi (FISH) ile kültür yapılmamış amniyon hücrelerinde anöploidi aranması yöntemidir. FISH yönteminde klasik sitogenetik yöntemde görülen kromozomların yerine, genetik materyal olarak hücre içinde bulunan yoğunlaşmamış kromatin yapısı kullanılmaktadır (1,2). Prenatal tanı anöploidi taraması sırasında 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarına ait anöploidiler sık rastlanıldığı için bu kromozomları

yanı sıra daha sık kullanılır (3). Genelde bu kromozomların dışında olan anöploidiler, gebeliğin erken haftalarında kaybedilmektedir. Bu nedenle 14-17' inci haftalara ulaşan bir hamilelikte diğer kromozom anöploidilerini pek görmüyoruz. Prenatal tanıda FISH yönteminin kullanılma sebebi, amniyosentezden karyotipleme işleminde kullanılan klasik yöntemdeki sürenin daha kısa hale getirilmek istenmesidir ve bu şekilde sık rastlanılan anöploidilere oldukça güvenilir bir şekilde tanı konulmaktadır (4,5). Rapid FISH'in prenatal tanıda sadece sayısal anomalileri göstermesi, yöntemin bir kısıtlılığı olarak bilinmektedir. Bu nedenle diğer kromozom anomalilerini elimine etmek için bu olgularda klasik karyotipleme de yapılmaktadır. Ayrıca FISH çalışmalarında maternal kontaminasyon üzerinde durulması gereken bir durumdur. Yöntem, kendi içindeki sınırlılıklarına rağmen güvenilirliği kanıtlanmış bir ön tarama ve tanı yöntemidir. FISH ile sonuca ulaşma süresi 24 saat sürmekte ve çabuk verilen ön-sonuç aileyi oldukça rahatlatmaktadır (6).

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Genetik Hastalıklar Tanı ve Araştırma Merkezi' (EGETAM) nde, amniositlerde, interfazda FISH çalışması ile anöploidi araştırılması yönteminin rutin uygulanabilir duruma getirilerek, fetal anöploidi riski olan gebelerde, çağdaş bir yaklaşımla, fetüsle ilgili kısa sürede ön-sonuç verilerek ailelerin ve izleyen hekimin stresinin azaltılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

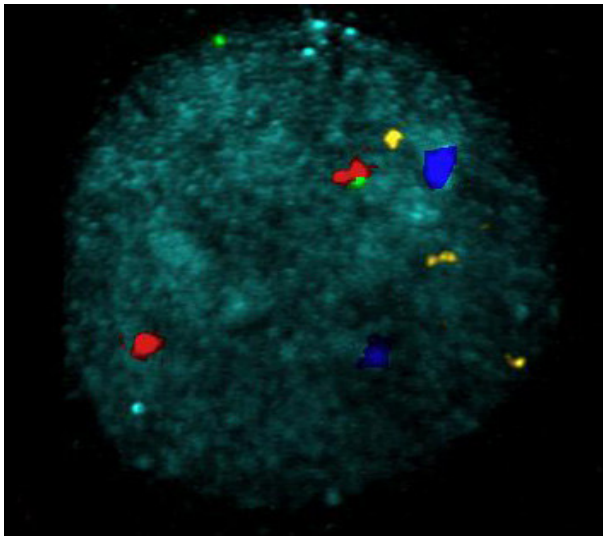
**Olgu Seçimi:** Çalışmamıza, risk grubundaki gebeler arasından genetik danışma verilip yöntem için bilgilendirilmiş onay formunu kendi isteğiyle onaylayanlar alınmıştır. Amnion sıvısında maternal kontaminasyonu elimine etmek için kan hücresi bulunan örnekler incelemeye alınmamıştır.

**Amnion Hücrelerinin Fiksasyonu:** Sitogenetik amaçlı yapılan amniyosentezde, 4 ml (+/- 1) amnion sıvısı FISH çalışması için ayrılmıştır. Amnion sıvısı steril santrifüj tüpüne aktarılarak 1300 devir/dakika' da 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılarak çökelti resüspanse edilmiş ve 5 ml % 0.25 tripsin+% 0.05 EDTA (Biological Industries 03-052-1B) ilave edilerek 25 dakika 37°C<sup>0</sup> de bekletilmiştir (ben-mari yöntemi). Süre sonunda 1300 devir/dakika da 5 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant

atılmıştır. Hipotonik solüsyon ( 0,70 M KCl) ilave edilerek 20 dakika 370°C' de bekletilmiştir. Süre sonunda üzerine karnoy fiksatifinden ( 3 metanol: 1 glasiyal asetik asit) 2ml ilave edilmiş ve 1300 devir/dakika' da 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant atılarak çökelti üzerine tekrar karyon fiksatifinden 5 ml konulup önce +40C<sup>0</sup> de 30 dakika bekletildikten sonra 1300 devir/dakika da 5 dakika santrifüj edilmiştir.

Preperasyon İşlemi: Çökelti, işaretlenmiş 2 ayrı isim ve prob özellikleri yazılı lama (Superfrost) dörder damla olacak şekilde yayılmıştır. Lamlar 370C<sup>0</sup> lik hotplate üzerinde % 0.1 pepsin solüsyonundan ve alkol serisinden (% 70, % 85, % 100) geçirilip havada kurutulmuştur. AneuVysion EC DNA prob kiti (Vysis 30-161-075) 730C<sup>0</sup> 'deki Hotplate' te 5 dakika denatüre edilmiştir. Lamlar 370C<sup>0</sup> de etüvde bir gece hibridizasyona bırakılmıştır. Ertesi gün 730C<sup>0</sup> deki su banyosundaki % 0.4 SSC' de (0.176 g tri sodyum sitrat + 0.350 g NaCl) 5 dakika, 2xSSC + % 0.05 Tween 20 de 30 saniye bekletilmiş ve havada kurutulmuş lamlara 15 µl DAPI damlatılarak lamel kapatılmıştır. DAPI damlatılan preparatlar -180C<sup>0</sup> 'de 30 dakika bekletildikten sonra incelemeye alınmıştır.

FISH Analizi: PowerGene Image Analyser sistemi ile uygun filtreler kullanılarak X, Y, 18 için minimum 50 nükleus, 13, 21 nolu kromozomlar için minimum 50 nükleus analiz edilmiş ve görüntüleri dijital ortama aktarılmıştır. (Resim1) Mozaik bulunan olgularda analiz edilen nükleus sayısı 200'e çıkarılmıştır. Tüm analizler iki ayrı kişi tarafından eş zamanlı ve kontrollü olarak tamamlanmıştır. Olgularda yapılan klasik sitogenetik analiz, FISH analizini yapan gruptan bağımsız ve körleme tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



**Resim 1.** FISH Analizi

## BULGULAR

Klasik sitogenetik analiz yönteminin yanı sıra FISH yöntemi ile anöploidi taranan 30 gebenin yaşları 20-46 yaş (ortalama 33,7 ± 5,42) olarak saptandı. Gebelikte amniyosentez uygulama haftası 15 ile 32 (ortalama 18,17 ± 3,35) arasında değişiyordu. FISH sonuçları tanı konulacak düzeyde başarılı olarak değerlendirildi. Yani, uygulanan FISH yönteminin çalışmadığı olgu olmadı. İki olguda oldukça düşük oranda (5/200, 17/200) trizomi 13 mozaikliği olduğu görüldü. Bu rakam FISH sonucunu anöploidi olarak rapor etmek için önerilen %15 rakamının altında olduğu için fetüsler normal olarak kabul edildi ve bu olgularda klasik sitogenetik çalışma fetal karyotipin normal olduğunu gösterdi. Tüm olgularda FISH ile yapılan çalışma sonucunda 16 fetüste 46,XY karyotipi, 11 fetüste 46,XX, 3 fetüste (%10) trizomi 21 saptandı. Bu sonuçlar kültüre edilmiş amniyositlerde yapılan klasik sitogenetik çalışma ile uyum gösterdi. Olgularda amniyosentez endikasyonları değerlendirildiğinde 16 gebede (% 53,3) ileri maternal yaş (İMY), 6 gebede (%20) üçlü testte risk artışı, 3 gebede (% 10) anormal ultrason bulgusu, 1 gebede (%3,33) İMY ile birlikte anormal ultrason bulgusu, 1 gebede (%3,33) İMY ile birlikte üçlü testte risk artışı, 1 gebede (%3,33) Maternal Down Sendromu, 1 gebede (%3,33) koriyonik villus biyopsisinde trizomi 21 saptanması, 1 gebede de (%3,33) anksiyete olduğu saptandı. Olguların yaşları, gebelik haftaları, endikasyonları, FISH ve klasik fetal karyotipleme sonucu elde edilen sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Trizomi 21 tanısı alan fetüslerden biri ileri anne yaşıyla birlikte ultrasonografide fetal duodenal atrezi saptanmıştır. Trizomi 21 olan ikinci fetüs Down sendrom gösteren bir annenin fetüsüydü ve %50 Down sendromu vardı. Üçüncü trizomi 21 tanısı alan fetüs, Tay Sachs hastalığı nedeniyle CVS uygulanmış CVS'de Tay Sachs için yapılan DNA analizi normal bulunmuş fakat CVS sitogenetik çalışmasında trizomi 21 saptanmıştı. Fetüs Tay Sachs için normal olduğu ve aile daha önce iki çocuğunu Tay Sachs nedeniyle kaybetmiş olduğu için CVS de elde edilen sonucun amniyosentez ile doğrulanmasını istedi.

**Tablo I.** Olgu Özellikleri ve Sonuçlar

Olgu No	Anne Yaşı	Gebelik Haftası	Endikasyon	FISH	Karyotip
1	40	18	İMY	Normal	46,XY
2	36	16	İMY	Normal	46,XX
3	38	23	İMY	Normal	46,XX
4	46	32	İMY+ USG	+21	47,XY,+21
5	30	15	Down anne	+21	47,XX,+21
6	34	18	USG	Normal	46,XY
7	29	16	Anksiyete	Normal	46,XY
8	35	20	İMY+3'lü test	Normal	46,XX
9	36	17	İMY	Normal	46,XY
10	36	17	İMY	Normal	46,XX
11	34	16	İMY	Normal	46,XY
12	34	20	İMY	Normal	46,XY
13	34	20	3' lü test	Normal	46,XY
14	33	19	3' lü test	Normal	46,XX
15	39	15	İMY	Normal	46,XY
16	35	16	İMY	Normal	46,XX
17	30	21	3' lü test	Normal	46,XY
*18	27	16	CVS +21	+21	47,XY,+21
19	26	20	USG	Normal	46,XX
20	42	18	İMY	Normal	46,XX
21	39	19	İMY	Normal	46,XY
22	26	16	3' lü test	Normal	46,XY
23	34	18	İMY	Normal	46,XX
24	36	16	İMY	Normal	46,XY
25	35	15	İMY	Normal	46,XY
26	35	15	İMY	Normal	46,XY
27	28	20	3' lü test	Normal	46,XY
28	38	16	İMY	Normal	46,XX
29	21	17	3' lü test	Normal	46,XX
30	27	20	USG	Normal	46,XY

\*Fetüste Tay-Sachs nedeni ve DNA analizi amacı ile CVS yapılmış olup, sitogenetik incelemesinde trizomi 21 saptanmıştır.

## TARTIŞMA

Klasik sitogenetik çalışmalar, uzun süren ve pahalı çalışmalardır. Ayrıca sitogenetik incelemeyi yapacak olanın standardize edilememesi nedeniyle, inceleme sonundaki raporun güvenilirliği kişinin bilgi ve tecrübesine kalmaktadır. FISH için yöntem standart, genelde üzerinde çok fazla değişiklik yapılmasına izin vermeyecek şekilde düzenlenmiştir. Uygulamayı yapan kişinin prosedürü takip etmesi, başarının en önemli kuralıdır. Elde edilen preparatlar flüoresan mikroskopunda incelenmek-

tedir. Bu mikroskopta kromozomlar üzerindeki belirli bölgeler üzerine uygulanan işaretli proplar oldukça rahat

bir şekilde görülmekte ve inceleme sırasında ikileme içine düşülebilecek durumlar oldukça azaltılmaktadır. Bu sayede kişisel hataların oranı da düşmektedir (7,8). Bizim burada yaptığımız çalışmada uygulama, materyal ve metodolojide belirttiğimiz gibi iki kişinin eş zamanlı kontrolü şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çünkü, bu inceleme sırasında olabilecek küçük bir hatanın, ileriki dönemlerde yöntemle olan güvenilirliği zedeleyeceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda, her bir prob seti için her hastadan en az 50 interfaz hücresi incelenmiştir. Elli hücre sayısı, şimdiye kadar yapılmış diğer çalışmalarda gösterilmiş olup bu çalışmalarda da işaret edildiği gibi mozaiklik durumlarında sayının 50'nin üzerine çıkması gerektiği vurgulanmıştır (7,9). Bununla beraber literatürde her bir prob seti için 100-200 hücrenin sayıldığı çalışmalar da vardır (10).

Literatürdeki olgu serileri incelendiğinde, uluslararası çalışmalardaki gibi çok yüksek amniosentez sayıları görülmektedir. Fakat, deneme amacıyla yapılmış küçük olgu sayılı çalışmalar da bulunabilmektedir (11,12,13). İncelenen amniosentez miktarının sayıca artışı çalışma sonuçlarının değerlendirilmesini kolaylaştırmaktadır. Bu çalışmalardan Ulmer ve ark. nın yaptığı çalışmada, incelemek üzere analiz ettikleri amiosentezlerin % 86' sında başarılı sonuç elde edilmiş geri kalan % 14'lük kısmında alınan sinyallerin sayıca yetersiz olması nedeni ile başarısız olduğu belirtilmiştir (11). Witters ve ark nın yaptığı çalışmada 5049 adet amniosentez çok merkezli olarak başarıyla incelenmiştir (12).

Maternal kontaminasyon, rapid FISH çalışmalarında gözlenen en büyük sorunlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (14). Literatürdeki serilerde bunun için % 1,27 gibi küçük değerler verildiği gibi % 17,4 gibi yüksek değerler de verilmiştir (12,11). Bink ve ark.nın yaptığı çalışmada işaret edilen kanlı amnion sıvılarında % 23 gibi maternal kontaminasyon varlığı, kanlı olmayanlarda ise bu oranın sadece % 6' da kaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada ortaya çıkan bir adet yanlış negatif olgunun maternal kontaminasyon nedeniyle olma olasılığı üzerinde durulmuştur (14). Biz, çalışmamızda maternal kontaminasyon sorununu azaltmak amacıyla, kan kontaminasyonu olan olguları çalışma başlangıcında incelemeden çıkardık. Bu nedenle, maternal kontaminasyon sorunu incelemeler sırasında karşımıza çıkmadı.

Klasik sitogenetik yöntemde uygulanan kültür yöntemi sonuçlar, hakkında bazen karışıklıklara yol açabilmektedir. Bu durumların başında gerçek yalancı mozaiklik

durumları sözkonusudur. Bu mozaiklikler yapılan kültürde kullanılan besiyerleri, kültürün süresi, çalışma sırasında kullanılan kimyasallar gibi pek çok faktör tarafından etkilenmektedir. Rapid FISH çalışmalarında kullanılan amniositler kültüre edilmemektedirler. Hücre kültürüne bağlı ortaya çıkan sorunlar FISH çalışmalarında görülmez. Van Opstal ve ark.nın yaptıkları çalışma kültüre edilmemiş hücrelerin kromozom sayısını bazen daha iyi gösterdiği şeklinde sonuçlanmıştır (15). Bizim sunduğumuz çalışmada böyle bir sonuca varabilmek için olgu sayısı azdır.

Rapid FISH çalışmalarının başarı oranlarına bakıldığında, başarının sadece sonuçlandırılanlar ile değil yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları ile desteklendiği şeklindedir. Witters ve ark. ları ile Klinger ve ark.larının yaptıkları çalışmalarda seçicilik ve güvenilirliğin her ikisi de % 100 olarak bulunmuş (12,3). Başka bir çalışmada ise bir adet yanlış pozitif olması çalışmanın başarısını azaltmıştır (14). Sunduğumuz çalışmada, 30 olgunun tamamı için FISH sonuçları ile klasik sitogenetik sonuçlar uyumlu bulunmuştur.

Amniosentezde alınan sıvının klasik sitogenetik yöntem için kullanılacak olması ve işlem için hasta üzerinde ek girişimsel işlem yapılmayacak olması işlemin rutin bir tetkik olarak kullanılmasını kolaylaştırır. Çalışmamızda anne adayları endikasyonlarına göre yedi gruba ayrıldı. Öncelikle, gebelik haftası ileri olan anne adayları seçildi. En fazla ileri anne yaşı görüldü. Bunun dışında 3'lü tarama testinde yüksek risk ve anormal ultrason bulgusu endikasyonlara eklenmişti.

Propları üreten firmanın kullanma kılavuzunda mozaik durumlar için % 60 cut-off değeri verilmektedir (www.vysis.com). Yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere yazarlar bu mozaiklik için sınır değeri %10 ile % 60 arasında tutmaktadırlar. Bir mozaiklik durumunda % 60 hücrenin anormal kromozom sayısına sahip olması olgunun ağır bir şekilde mozaik olduğunu düşündürmektedir. Bizim iki olgumuzda trizomi 13 sinyali 5/200 ve

17/200 oranları şeklinde anormal sayı durumlarına rastlanmıştır. Bu olgulardaki değerler % 10 'un da altında olduğu için bu olgular mozaik olarak değerlendirilmemiştir. Ayrıca, bu olguların klasik sitogenetik yöntem sonuçları da toplam 200 metafaz incelemesi şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Interfaz FISH' inin rutin bir laboratuvar yöntemi şeklinde uygulanmasını fakat, bunun normal sitogenetik yöntemle bir yardımcı tetkik olarak kullanılmasını öneren çalışmalar mevcuttur (16). Amniosentez yapılan bir olguda abortus olma üzere enfeksiyon, kanama gibi beklenmeyen durumlar % 0,5-1 oranında görülmektedir. Yapılan işlemin riskleri göz önünde bulundurulacak olursa, amniosentez işlemini kabul etmiş bir anne ve baba adayının, fetüsleri hakkında Rapid FISH dışında ortaya çıkarılabilecek tüm kromozom anomalilerini öğrenme hakkının olduğunu düşünmekteyiz.

Son olarak, anormal interfaz FISH sonuçlarına göre hamileliklerdeki klinik yaklaşımımız ne olacak? 1993 yılındaki American College of Medical Genetics (ACMG), anormal FISH sonuçlarının anormal ultrasound bulgusu ile birlikte abort yapılması için yeterli olacağını önermiştir (17). Eiben ve ark.'ı kendi çalıştıkları hastanede anormal Ultrasound bulgusu ve anormal FISH sonucu birlikteliğinde bile kanuni olarak düşük yapılabileceğini belirtmişlerdir (16).

Sonuç olarak, rapid FISH girişimsel bir işlemi kabul edip uzun bir bekleme süresini kabul etmiş ebeveynler üzerinde gerçekten rahatlatıcı etkiye sahip iken anormal sonuç çıkmış olanlarda klasik sitogenetik yöntemin bekleme süresince anksiyeteyi daha da arttırmaktadır. Bizim çalışmamız, daha sonraki dönemde rutin bir işlem olarak kullanılabilir bu çalışma yönteminin laboratuvarımıza kazandırılmasını sağlamıştır. Olgularda sonuçlar ne olursa olsun yapılan işlemin girişimsel olup belli riskleri içermesi nedeniyle ortaya çıkarılabilecek tüm anomalilerin klasik sitogenetik yöntemle gösterilmesini önermekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Obstetrik Maternal-Fetal Tıp ve Perinatoloji. MN Medikal&Nobel , 2001
2. Isada NB, Hume RF, Reichler A et al. Fluorescent in situ hybridization and second-trimester sonographic anomalies: uses and limitations. Fetal Diagn. Ther, 1994; 9(6): 367-370.
3. Klinger K, Landes G, Shook D et al. Rapid detection of chromosome aneuploies in uncultured amniocytes by using Fluorescence in situ hybridization. Am J Hum Genet, 1992; 51: 55-65.
4. Steinborn A, Roddriger S, Born HJ. Prenatal chromosome analysis using the FISH technique allows fetal aneuploidy detection within a few hours. Z Geburtshilfe Neonatol, 1996; 2000(5): 186-190.
5. Gersen SL, Carelli MP, Klinger KW, Ward BE. Rapid prenatal diagnosis of 14 cases of triploidy using FISH multiple probes. Prenatal Diagnosis, 1995; 15(1): 1-5.

6. Verma L, McDonald F, Leedman P et al. Rapid and simple DNA diagnosis of Down's syndrome. *Lancet*, 1998; 352(9121):9-12.
7. Luquet I, Mugneret F, Athis PD et al. French multi-centric study of 2000 amniotic fluid interphase FISH analyses from high-risk pregnancies and review of the literature. *Annales de Genetique*, 2002; 45: 77-88.
8. WeromowiczS, Sandstrom DJ, Morton CC. Fluorescence in situ hybridization (FISH) for rapid detection of aneuploidy: experience in 91 prenatal cases. *Prenatal Diagnosis*, 2001; 21(4):262-9.
9. Jobanputra V, Roy KK, Kriplani A, Kucheria K. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities in women with highrisk pregnancies. *Indian J Medical research*, 2001; 114: 148-155.
10. Andras T, Erika P, Kristina H et al. Fluorescence in situ hybridization of chorionic interphase cells for prenatal screening of Down syndrome. *European J Obstetrics-Gynecology and Reproductive Biology*, 2001;94: 46-50.
11. Ulmer R, Pfeiffer RA, Kollert A, Beinder E. Diagnosis of aneuploidi with fluorescence in situ hybridization (FISH); value in pregnancies with increased risk for chromosome aberrations. *Z Geburtshilfe Neonatol*, 2000; 204(1): 1-7.
12. Witters I, Devriendt K, Legius E et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Prenatal Diagnosis*, 2002; 22(1): 29-33.
13. Aviram GA, Daniely M, Chaki R et al. Advanced FISH with directly labeled X, Y and 18 DNA probes as a tool for rapid prenatal diagnosis. *J Reprod Medicine* 1999; 44(6): 497-503.
14. Bink K, Pauer HU, Bartels I. Interphase FISH tests as rapid test for trisomies in amniotic fluid results of a prospective study. *Z Geburtshilfe Neonatol* 2000; 204(1). 8-13.
15. Van Opstal D, Van der Berg C, GAJjaard RJ, Los FJ. Follow-up investigations in uncultured amniotic fluids cells after uncertain cytogenetics results. *Prenatal Diagnosis*: 2001; 21(2): 75-78.
16. Eiben B, Trawicki W, Hammans W, Eplpens JT. False-negative finding in rapid interphase FIAH cells. *Prenatal Diagnosis* 891-895.
17. American College of Medical Genetics, Prenatal interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) policy satatement. *Am J Hum Genet* 1993 53: 526-527.