

ORJİNAL YAZI

## Prenatal Tanıda Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Analiz Sonuçlarının Sayısal Kromozomal Anomaliler ve Endikasyonlar Açısından Değerlendirilmesi\*

Şebnem SAĞ\*, Tuna GÜLTEN\*, Mutlu KARKUCAK\*, Tahsin YAKUT\*,  
Yalçın KİMYA\*\*, Elif EVKE\*, Barbaros YİĞİT\*, Candan CENGİZ\*\*

\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Bursa.

\*\* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Bursa.

### ÖZET

Bu çalışmada, 2004-2008 yılları arasında prenatal tanı amacı ile gelen 200 hastanın konvansiyonel sitogenetik ve FISH analiz sonuçları sayısal kromozomal anomaliler yönünden endikasyonlarına göre; anormal ultrason bulgusu (AUS), üçlü tarama testi riski (ÜTT), ileri maternal yaş (İMY) ve diğerleri olarak dört ana grupta ve ek endikasyonlara göre de alt gruplarda değerlendirildi. Değerlendirilen 200 vaka içinde, 52 vaka ileri maternal yaş, 59 vaka anormal ultrason bulgusu, 44 vaka üçlü tarama testi riski nedeniyle gönderilmişti. Diğer endikasyonlarla gelen vakaların sayısı ise 11 olarak tespit edildi. AUS ile gelen vakalarda sayısal kromozomal anomali oranı AUS içermeyen vakalara göre daha yüksek bulundu ( $p=0.002$ ). AUS olan ve özellikle geç dönemde amniyosentez yapılan olgularda, konvansiyonel sitogenetik analize ek olarak FISH gibi hızlı sonuç alınan yöntemlerin uygulanmasının sonuç verme süresinin kısaltılabilmesi, olası terminasyonun erkene alınması, annenin bekleme stresinin azaltılması, ilave tetkik yapılacaksa zaman kazanılması gibi önemli yararlar sağlanması nedeniyle oldukça etkili ve gerekli olduğu gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** Prenatal tanı. Sayısal kromozomal anomaliler. FISH.

### Evaluation of the Cytogenetics and FISH Analysis Results by the Aspects of Numerical Chromosomal Aberrations and Indications in Prenatal Diagnosis

### ABSTRACT

In this study, the results of conventional cytogenetic and FISH analysis of 200 cases who were admitted for prenatal diagnosis in 2004-2008 were grouped and evaluated according to the indications as abnormal ultrasound findings, triple test risk, advanced maternal age and the others. Subgroups were designated according to the additional indications. In evaluated 200 cases, 52 cases referred for advanced maternal age, 59 cases for abnormal ultrasound findings, 44 cases for triple test risk, 11 cases for other indications. Numerical chromosomal aberration ratio was observed higher in the group with abnormal ultrasound findings than the other groups without abnormal ultrasound findings ( $p=0.002$ ). In prenatal diagnosis, application of the rapid assays such as FISH is very important and necessary especially in cases who have late amniocentesis and abnormal ultrasound findings because of shortening the result giving time, taking possible termination time earlier, decreasing mother's waiting stress, saving time for additional tests.

**Key Words:** Prenatal diagnosis. Numerical chromosomal aberration. FISH.

Geliş Tarihi: 05.02.2009

Kabul Tarihi: 08.01.2010

\* 2008 yılında Uluslararası katılımlı VIII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresinde yazılı bildiri olarak sunulmuştur.

Dr. Şebnem ÖZEMRİ SAĞ  
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı,  
16059 Bursa/TÜRKİYE  
Tel: 0224 2954350  
e-mail: ozemri77@yahoo.com

Prenatal sitogenetik analiz günümüzde prenatal tanı endikasyonu olan hastalarda uygulanan tanısal bir testtir. Kromozomal anomalilerin prenatal tanısı, yaygın olarak amniyon sıvısındaki fetal hücrelerden elde edilen metafaz kromozomlarının konvansiyonel sitogenetik analizi ile yapılır. Fetal hücrelerin eldesi, 9-11. gebelik haftasında alınan koryonik villus örneklemesi, 16-19. gebelik haftası civarında yapılan amniyosentez veya 19-22. haftalarda yapılan kordosentez ile elde edilir. Saptanan anomalilerin % 95'den fazlası 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarını içeren sayısal değişikliklerdir. Prenatal tanıda konvansiyonel sitogenetik analizlerin sonuçlanması için ge-

nellikle iki hafta ya da üzerinde bir süre gerekmektedir<sup>1-3</sup>. Bu uzun sonuç süresinin kısaltılabilmesi, olası terminasyon zamanının erkene alınması, annenin bekleme stresinin azaltılması, ilave tetkik yapılacaksa zaman kazanılması gibi oldukça önemli yararlar sağlamaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda “cover-slip” gibi kültür yöntemleri ile sonuç süreleri 6-9 güne indirilmiştir ancak bu kültürlerde her zaman istenen kalitede kromozom elde edilememektedir. Bu yüzden, yapısal anomalilerin tespiti için uygun olmamakla birlikte sayısal kromozomal anomalileri ilk 48 saat gibi kısa bir sürede saptayabilen “Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction” (QF-PCR) ya da “Fluorescence In Situ Hybridization” (FISH) gibi yöntemlerin uygulanması önem kazanmaktadır<sup>4-6</sup>. Moleküler sitogenetik (FISH) veya QF-PCR yöntemlerinden birinin, genellikle 10-20 gün süren konvansiyonel sitogenetik yönteme oranla 1-2 gün gibi kısa süre içinde sayısal kromozomal anomalilerin saptanması açısından etkili olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir<sup>7-9</sup>. Günümüzde de FISH veya QF-PCR yöntemi direkt amniyon sıvısından hazırlanmış materyalden sayısal kromozomal anomalilerin hızlı teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır<sup>10-12</sup>.

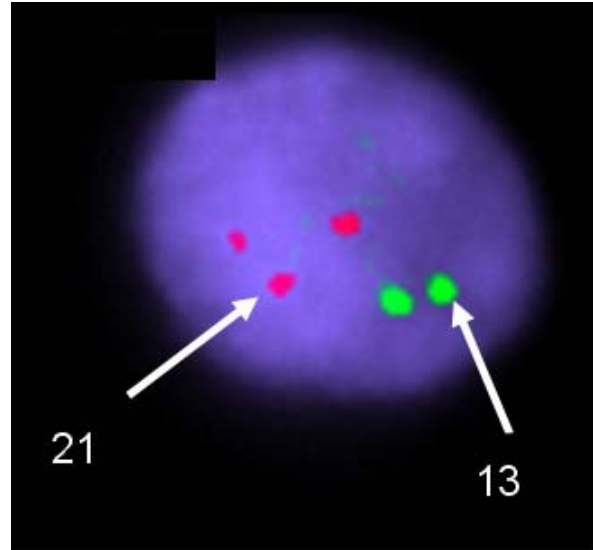
Bu çalışmamızda çeşitli endikasyonlarla amniyosentez yapılan olguların, konvansiyonel sitogenetik ve FISH yöntemi analiz sonuçlarının karşılaştırmalı olarak tanısıl etkinliğini göstermeyi amaçladık.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmada, 2004 - 2008 yılları arasında çeşitli prenatal tanı endikasyonları ile amniyosentez yapılarak Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Prenatal Tanı Laboratuvarına gönderilen 200 vakadan konvansiyonel sitogenetik ve FISH analizleri sonucunda sayısal kromozom anomalisi saptanan olguların oranları ile tiplerinin prenatal tanı endikasyonları ile karşılaştırılması, aynı zamanda sayısal kromozomal anomali yönünden konvansiyonel sitogenetik ve FISH sonuçlarının birbirleriyle olan uyumlarının değerlendirilmesi amaçlandı. Bu çalışmanın etik onayı Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu’ndan alındı.

200 vakanın sonuçları prenatal tanı endikasyonlarına göre ileri maternal yaş (İMY), anormal ultrason bulgusu (AUS), üçlü tarama testi (ÜTT) riski, İMY+AUS, İMY+ÜTT, AUS+ÜTT ve diğerleri (ailede mental retardasyon öyküsü, daha önce sayısal kromozomal anomalili çocuk doğurma öyküsü, ailede yapısal kromozom aberasyonu öyküsü v.b) olmak üzere yedi gruba ayrılarak incelendi (Tablo I). Vakaların anne yaşı ortalaması  $31.9 \pm 6.59$  SS, gebelik haftası ortalaması ise  $20.78 \pm 2.6$  SS olarak saptandı. 200 amniyon sıvısı örneğinden FISH ve konvansiyonel sitogenetik analiz eş zamanlı olarak çalışmalarına başlandı.

Transabdominal yolla alınmış toplam 10-20 ml amniyon sıvısının 3-5 ml’si FISH yönteminde kullanılmak için ayrıldı. Konvansiyonel sitogenetik analizde hücre kültürü için 3 kültür kabı kullanıldı. Her hasta için kültüre edilen en az 2 kültür kabı çalışıldı. Hücrelere 9-13 arası günlerde standart “harvest” işlemi uygulandı. Elde edilen metafaz plaklarına GTG bantlama tekniği uygulandı, 20 metafaz plağı üzerinden sitogenetik analizler yapıldı. FISH analizi için yaklaşık 3-5 ml amniyon sıvısı santrifüj edilip üzerine 5 ml tripsin/EDTA koyuldu. KCl eklendikten sonra fiksatifle muamele edildi. Lamlara istenilen yoğunlukta çekirdek yaymaları yapıp 2 X SSC ve pepsinli 0.01N HCl bekletildi. DNA % 70 formamidle denatüre edildi. Hazırlanan preparatlara sentromerik 18/X/Y probları ve loküs özgü 13/21 probları (Vysis, Abbott, U.S.A.) konulup hibritleme için 37°C’de bir gece bekletildi. DAPI II ile boyanan preparatlar FISH laboratuvarında bulunan Nikon E 600 marka floresan mikroskop üzerine kurulmuş olan tekli (aqua, gold, blue, red, green, dapi), ikili (red/green) ve üçlü (dapi/red/green) filtrelerle sahip Quips Imaging System (Applied: UK) ile analiz edildi. Her olgu için 50-100 hücre değerlendirildi ve saptanan patolojilere ait resimler çekildi (Şekil -1,2).

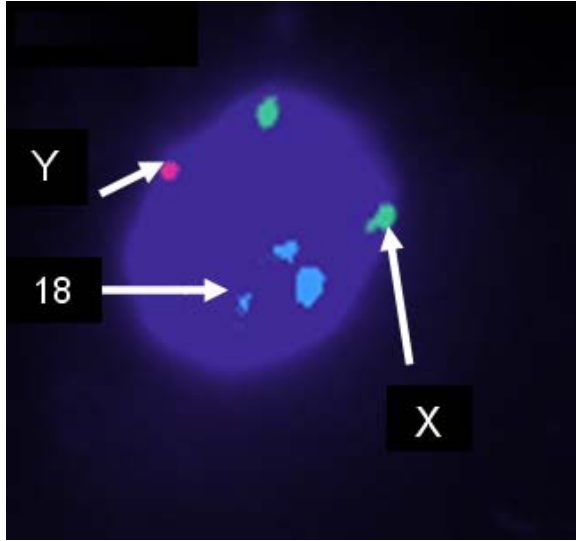


Şekil 1:

Trizomi 21’li bir vakanın 13. kromozoma (yeşil) ve 21. kromozoma (kırmızı) özgü LSI problemleriyle yapılan hibritlenmiş amniyosit hücresinin interfaz çekirdeği görünümü (21. kromozoma ait 3 adet kırmızı sinyal ve 13. kromozoma ait 2 adet yeşil sinyal).

Kategorik verilerin analizinde ki-kare testi kullanılmıştır. Anormal ultrason bulgusu (AUS) içeren ve içermeyen vakalardaki anomali sayısı arasında, benzer şekilde İMY endikasyonu içeren ve içermeyen, ÜTT endikasyonu içeren ve içermeyen vakalardaki anomali sayıları arasında karşılaştırma yapıldı ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## Prenatal Tanıda Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH



Şekil 2:

*Triploidi'li vakanın 18 (Aqua), X (yeşil) ve Y (kırmızı) kromozomlarına özgü sentromerik problemleriyle yapılan hibritlenmiş amniyosit hücresinin interfaz çekirdeği görünümü (18. kromozoma ait 3 adet aqua sinyal, X kromozomuna ait 2 adet yeşil sinyal ve Y kromozomuna ait 1 adet kırmızı sinyal).*

### Bulgular ve Sonuçlar

Sayısal kromozomal anomalilerin saptanması açısından konvansiyonel sitogenetik analiz ve FISH analizi %100 uyum gösterdi. Maternal kontaminasyona ya da kültüre bağlı olarak görülen düşük oranda yalancı mozaizmler her iki yöntemden yararlanılarak ekarte edildi. Değerlendirilen 200 vaka içinde, 52 vaka (%26) ileri maternal yaş (İMY), 59 vaka (%29.5) anormal ultrason bulgusu (AUS), 44 vaka (%22) üçlü tarama testi (ÜTT) riski nedeniyle gönderilmişti. Diğer başlığı altındaki endikasyonlarla gelen vakaların sayısı ise 11 (%5.5) olarak tespit edildi. Bunların dışında kalan 34 vakanın birden fazla prenatal tanı endikasyonu vardı. Bunlar; 8 vakada İMY+AUS, 18 vakada İMY+ÜTT ve 8 vakada AUS+ÜTT olarak gözlemlendi. Yapılan değerlendirmeler sonucunda yalnız İMY bulguları olan 52 vakanın 1 tanesinde, yalnız AUS bulguları olan 59 vakanın 3 tanesinde ve diğer nedenlerle gelen vakalardan bir tanesinde sayısal kromozomal anomali saptandı. ÜTT riski bulunan 44 vakada sayısal kromozomal anomaliye rastlanmadı (Tablo-I). İMY ve 2. endikasyonu olan 78 vakadan 7 sinde, AUS ve 2. endikasyonu olan 75 vakadan 11 inde, ÜTT ve 2. endikasyonu olan 70 vakadan 6 sında sayısal kromozom anomalisi saptandı (Tablo-II). Diğer endikasyonlar sebebiyle gelen 11 vaka, sayı azlığı nedeni ile karşılaştırma dışında tutuldu. Sadece AUS bulgusu ile ya da AUS bulgusu ve buna ek endikasyon ile gelen vakalarda sayısal kromozomal anomali oranları diğer gruplara göre daha yüksek bulundu.

Endikasyonlar ve saptanan anomaliler açısından AUS içeren tüm vakalarda AUS içermeyen vakalara göre (İMY, ÜTT ve diğer endikasyonlar) anlamlı şekilde anomali tespit edildiği görüldü ( $p=0.002$ ). İMY içeren tüm vakalar ile İMY içermeyen vakalar arasında anomali saptanması açısından anlamlılık saptanmadı ( $p=0.52$ ). ÜTT içeren tüm vakalar ile ÜTT içermeyen vakalar arasında da anomali saptanması açısından anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ( $p=0.67$ ).

**Tablo I.** Anomalilerin vaka sayıları ve endikasyonları sınıflamasına göre yüzde dağılımı

ENDİKASYON	V. SAYISI	A. SAYISI	% (YÜZDE)
YALNIZ İMY	52	1	1.92
YALNIZ AUS	59	3	5.08
YALNIZ ÜTT	44	0	0
İMY + AUS	8	4	50
AUS + ÜTT	8	4	50
ÜTT + İMY	18	2	11.11
Diğer endikasyonlar	11	1	9.09
TOPLAM	200	15	7.5
İMY içeren tüm vakalar	78	7	8.97
AUS içeren tüm vakalar	75	11	14.10
ÜTT içeren tüm vakalar	70	6	8.57

V: Vaka, A: anomali, İMY: İleri maternal yaş, AUS: anormal ultrasonografik bulgu, ÜTT: üçlü tarama testi

**Tablo II.** Anomali tiplerinin endikasyon sınıflamasına göre dağılımı

ENDİKASYON	V.SAYISI	Trz 21	Trz 18	Trz 13	Triploidi	45X	XXY	Toplam
YALNIZ İMY	52	1						1
YALNIZ AUS	59	2			1			3
YALNIZ ÜTT	44	0						0
İMY + AUS	8	3	1					4
AUS + ÜTT	8	1	1	1	1			4
ÜTT + İMY	18					1	1	2
Diğer endikasyonlar	11	1						1
İMY içeren tüm vakalar	78	4	1			1	1	7
AUS içeren tüm vakalar	75	6	2	1	2			11
ÜTT içeren tüm vakalar	70	1	1	1	1	1	1	6

V: Vaka, İMY: ileri maternal yaş, AUS: anormal ultrasonografik bulgu, ÜTT: üçlü tarama testi, Trz: Trizomi

### Tartışma

Prenatal tanıda, konvansiyonel sitogenetik analiz ile sayısal ve yapısal kromozomal anomalilerin yaklaşık % 99.5'i tespit edilebilmektedir<sup>7</sup>. Tespit edileme-

yenlerin çoğu genellikle 5 megabazdan küçük olan anomalilerdir<sup>5</sup>. Konvansiyonel sitogenetik analiz en önemli avantajı, oluşabilecek tüm sayısal ve yapısal anomalilerin birlikte görülüp değerlendirilebilmesine olanak sağlamasıdır. Ancak burada kültür süresinin uzun olması annede anksiyete veya depresyon olasılığı yönünden dezavantaj oluşturmaktadır. Fetüs hareketleri anne tarafından 15. hafta civarında hissedilmeye başlamak ve bu andan itibaren fetüsle ilgili tüm girişimler annenin psikolojik gerginliğini daha da arttırmaktadır<sup>7,13,14</sup>. Hızlı sonuç veren prenatal tanı testlerinden olan moleküler sitogenetik (FISH) ve moleküler yöntemleri ile 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarına ait sayısal kromozomal anomalilerin yaklaşık %95'den fazlası tespit edilebilmektedir<sup>7,12-15</sup>. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilebilen dengeli yapısal anomalilerin fetüste fenotipik etkisi beklenmemektedir. Dolayısı ile FISH yöntemi ile tespit edilemeyen bu yapısal değişimlerin bir kısmı fetüs açısından anomali riski taşımamaktadır. FISH yönteminin en önemli avantajı 24-48 saat gibi kısa bir sürede sonuç alınabilmesidir. Böylece hem annenin bekleme stresi azalmakta hem de terminasyon için medikal sonlandırma sınırına yaklaşan vakalarda süre kazanılmaktadır. Ayrıca bu yöntem çok fazla hücre değerlendirilmesine olanak verdiği için düşük oranlı sayısal mozaikizmlerin tespiti yönünden konvansiyonel sitogenetik analize üstünlük sağlamakta ve kültüre edilmemiş hücreler üzerinde analiz yapılabildiğinden kültür koşullarına bağlı yalancı mozaikizmler dışlanabilmektedir<sup>15,16</sup>. FISH ve sitogenetik sonuçları yönünden değerlendirilen çalışma vakalarımızdan İMY endikasyonu içeren tüm vakaların sayısı 78 olup, bunların 52 tanesinde sadece İMY endikasyonu 26 tanesinde ise İMY ile birlikte ikinci bir endikasyon (AUS veya ÜTT) vardı, bunların büyük kısmında da gebelik haftası 20 hafta ya da üzerinde idi. Ortalama gebelik haftasının beklenenden daha yüksek olma nedeni, aneuploidi tespit edildiğinde muhtemel terminasyon için sonuç verme süresinin kısaltılması amacıyla ileri gebelik haftası olan vakalarda FISH analizinin daha fazla tercih edilmesidir. Sadece İMY endikasyonu olan 52 vakadan 1 tanesinde sayısal kromozomal anomali saptandı (trizomi 21). Literatürdeki prenatal tanı çalışmalarında ileri anne yaşına bağlı sayısal kromozomal anomali oranları genelde % 2-4 civarında bulunmaktadır, bizim vaka sayımız çok yüksek olmakla birlikte % 1.92 lik oran literatürle uyumludur. Bunun yanı sıra elde edilen sonuçlar endikasyona göre FISH analizi yapılmasının gerekliliğini ve yararını göstermektedir<sup>16,17</sup>. Vakalarımızdan AUS endikasyonu içeren tüm vakaların sayısı 75 olup, bunların 59 tanesinde sadece AUS endikasyonu, 16 tanesinde ise AUS ile birlikte ikinci farklı endikasyon (İMY veya ÜTT) vardı. Sadece anormal ultrason bulgusu nedeni ile gelen 59 vakanın 3 tanesinde saptanan sayısal kromozomal anomalinin 2 tanesi trizomi 21 ve bir tanesi triploidi idi ve oran % 5.08 olarak tespit edildi. Bu oranın diğerlerinden yüksek olması da yine literatürle uyum göstermektedir<sup>16</sup>. Anormal ultrason bulgu-

su endikasyonu ile gelen gebelere ait fetüslerde saptanan sayısal kromozomal anomali oranının (% 5.08), ileri maternal yaş endikasyonu ile gelen gebelere ait fetüslerde saptanan sayısal kromozomal anomali oranlarından (%1.92) belirgin derecede yüksek olması endikasyona göre FISH analizi ile hızlı sonuç alma ve olası terminasyon zamanını kısaltma açısından çok önemlidir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda AUS endikasyonu içeren vakalarda saptanan anomali oranlarının anlamlı şekilde yüksek olması, anormal ultrason bulgularının daha ayrıntılı değerlendirilmesi ve bunların kromozomal anomaliler ile ilişkilerinin sınıflamasının daha ayrıntılı yapılmasının kromozomal anomalilerin tespit edilme oranlarını daha da arttırabileceğini göstermiştir. Çalışmada İMY nedeniyle gelen tüm olgularda (n=78) anomali oranı %8.97, AUS nedeniyle gelen bütün olgularda (n=75) anomali oranı %14.1, ÜTT nedeniyle gelen bütün olgularda (n=70) ise %8.57 idi (Tablo I). Tüm sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde 200 vakadan 15'inde (% 7.5) sayısal kromozomal anomali gözlemlendi. Özellikle endikasyonlar göz önüne alınıp literatür verileri ile karşılaştırıldığında bu değerler hızlı olması nedeniyle FISH analizinin gerekliliğini göstermektedir<sup>11-14</sup>. Ayrıca, sonuç verme süresinin kısa olması, daha fazla hücre üzerinde analiz yapabilme olanağı ve kültür problemlerinin dışlanması da göz önüne alındığında bu analiz oldukça etkili olduğu görülmektedir ve endikasyonu olan vakalarda maliyet etkinliği açısından oldukça avantajlıdır. Ancak yapısal anomalilerin saptanması ve maliyetin düşük olması gibi nedenlerle konvansiyonel sitogenetik analiz hala avantajını ve vazgeçilmezliğini korumaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızı kapsayan vakalar açısından bakıldığında standart sitogenetik analiz vazgeçilmez olmakla birlikte ilave FISH analizi, iyi klinik endikasyon konulmuş vakalarda oldukça etkili görülmektedir. İleri anne yaşı, anormal ultrasonografik bulgu olan vakalarda özellikle de gecikmiş haftalarda yapılan amniyosentez için erken sonuç vermede, dolayısı ile medikal terminasyon süresini mümkün olduğu kadar kısaltmada, gebe stresini ve olası kontraendikasyonları azaltmada sitogenetik analiz yanında moleküler sitogenetik (FISH) analizinin yapılması büyük yarar sağlayacaktır. İleri anne yaşı tanısı konmuş anormal ultrasonografik bulgulu vakalar açısından ise ileri anne yaşına göre daha fazla anomalinin erken safhada saptanacak olması bu vakalarda gerekliliği daha da artırıcı etken olmaktadır.

## Kaynaklar

1. Ried T, Landes G, Dackowski W, Klinger K, Ward DC. Multicolor fluorescent in situ hybridization for the simultaneous detection of probes sets for chromosomes 13, 18, 21, X and Y. *Hum Mol Genet* 1992; 1:307-13.
2. Robinson A, Bender BG, Linden MG, Salbenblatt JA. Sex chromosome aneuploidy: the Denver prospective study. *Birth Defects* 1990; 26:59-115.

## Prenatal Tamda Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH

3. Tongsong T, Wanapirak C, Kunavikatikul C. Cordocentesis at 16-24 weeks of gestation: experience of 1320 cases. *Prenat Diagn* 2000; 20:224-38.
4. Caine A, Maltby AE, Parkin CA, Waters JJ, Crolla JA. Prenatal detection of Down's syndrome by rapid aneuploidy testing for chromosomes 13, 18 and 21 by FISH or PCR without a full karyotype: a cytogenetic risk assessment. *Lancet* 2005; 366:123-8.
5. Hulten MA, Dhanjal S, Pertl B. Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR. *Reproduction* 2003; 126:279-97.
6. Ochshorn Y, Bar-Shira A, Jonish A, Yaron Y. Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy for chromosomes 21, 18, 13, and X by quantitative fluorescence polymerase chain reaction. *Fetal Diagn Ther* 2006;21(4):326-31.
7. Lim HJ, Kim YJ, Yang JH, Choi JS, Ung SH, Ahn HY, et al. Amniotic fluid interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of aneuploidy; experience in 130 prenatal cases. *J Korean Med Sci* 2002; 17:589-92.
8. Jalal SM, Law ME, Carlson RO, Dewald GW. Prenatal detection of aneuploidy by directly labeled multicolored probes and interphase fluorescence in situ hybridization. *Mayo Clin Proc* 1998; 73:132-37.
9. Verlinsky Y, Ginsberg N, Chmura M, White M, Strom C, Kuliev A. Detection of translocations involving the Y-chromosome in prospective prenatal screening of common chromosomal aneuploidies by FISH. *Prenat Diagn* 1998; 18:390-92.
10. D'Alton ME, Malone FD, Chelmow D, Ward BE, Bianchi DW. Defining the role of fluorescence in situ hybridization on uncultured amniocytes for prenatal diagnosis of aneuploidies. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 769-74.
11. Lewin P, Kleinfinger P, Bazin A, Mossafa H, Szpiro-Tapia S. Defining the efficiency of fluorescence in situ hybridization on uncultured amniocytes on a retrospective cohort of 27407 prenatal diagnoses. *Prenat Diagn* 2000; 20: 1-6.
12. Klinger K, Landes G, Shok D, Harvey R, Lapez L, Looke P, et al. Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am J Hum Genet* 1992; 51:55-65.
13. Locatelli A, Mariani S, Ciriello E, Dalpra L, Villa N, Sala E. Role of FISH on uncultured amniocytes for the diagnosis of aneuploidies in the presence of fetal anomalies. *Fetal Diagn Ther* 2005; 20:1-4.
14. Rausch, D, Lambert-Messerlian, G.M., Canick, J.A. Participation in maternal serum screening following screen positive results in a previous pregnancy. *J Med Screen* 2000;7:4-6.
15. Wyandt HE, Tonk VS, Huang XL, Evans AT, Milunsky JM, Milunsky A. Correlation of abnormal rapid FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:235-40.
16. Leung WC, Waters JJ, Chitty L. Prenatal diagnosis by rapid aneuploidy detection and karyotyping: a prospective study of the role of ultrasound in 1589 second-trimester amniocenteses. *Prenat Diagn* 2004; 24:790-5.
17. Karaoguz MY, Bal F, Yakut T et al. Cytogenetic results of amniocentesis materials: incidence of abnormal karyotypes in the Turkish collaborative study. *Genet Couns* 2006; 17: 219-30.