

Bölgemiz Gebelerinde Triple Test ile Prenatal Tarama Sonuçları ve Sitogenetik Değerlendirilmeleri

Halil KAYA, Sevim Süreyya ÇERÇİ, Halil KÖMEK, Murat YAYLA*, M.Nail ALP*,
Diclehan ORAL**, Turgay BUDAK**

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp, *Kadın Hastalıkları ve Doğum, **Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim
Dalları - DİYARBAKIR

ÖZET

BÖLGEMİZ GEBELERİNDE TRİPLE TEST İLE PRENATAL TARAMA SONUÇLARI VE SİTOGENETİK DEĞERLENDİRİLMELERİ

Amaç: Doğurganlık oranının yüksek olduğu ve ileri yaş gebeliklerin sık görüldüğü bölgemizde, triple test ile ilgili yanlış pozitifliği, yaş dağılımını ve kromozom anomalilerini öngörme durumunu belirlemektir.

Yöntem: Bu amaçla 1841 gebede Radio Immün Assay yöntemiyle triple test çalışılmıştır. Gebelerden alınan serum örneklerinde total human koryonik gonadotropin, alfa fetoprotein ve ankonjuge estriol değerleri tespit edilerek ticari olarak oluşturulmuş bilgisayar programında hastaya ait diğer veriler ile birlikte analiz edilmiş ve klasik eşik değerlere göre riskler belirlenmiştir.

Bulgular: Tarama yapılan popülasyonun yaş aralığı 17-47 arasında değişmekte olup, 35 yaş ve üzerindeki gebe oranı %17,60'tır. Gebelerin 106'sı (%5,75) Down sendromu, yedisi (%0,38) Trizomi 18 yönünden pozitif olup genel test pozitifliği %6,13'tür. Down sendromu ve Trizomi 18 riski pozitif olan 113 gebeden 44'ü (%38,94) amniyosentez / kordosentez sonrası sitogenetik olarak değerlendirilmiş ve iki olguda Down sendromu, bir olguda trizomi 18, bir olguda da 47,XXX saptanmıştır. Down sendromu için pozitif prediktif değer %5,13 bulundu. İnvaziv girişim için yalnızca yaş sınırı kriter alınsaydı girişim önerisinin %65 daha yüksek olacağı belirlendi. Triple testin bu gereksinimi azalttığı bulundu.

Sonuç: Triple testteki yanlış pozitiflik ve kromozom anomalilerini öngörme oranımız literatür ile uyumlu bulunmuştur. Doğurganlık ve geç gebelik oranının yüksek olduğu bölgemizde ekonomik şartlar da gözönüne alındığında invazif test sayısını azaltmak amacı ile tarama testlerine öncelik verilmesi ve genç yaştaki gebelere de bu testlerin önerilmesi yerinde olacaktır.

Anahtar kelimeler: Triple test, Yanlış pozitiflik, Down sendromu, Trizomi 18.

SUMMARY

PRENATAL SCREENING RESULTS WITH TRIPLE TEST AND THEIR CYTOGENETIC EVALUATION IN PREGNANT OF THE REGION

Objective: The purpose of this study was to determine the distribution of age, the false positive rate of the triple test, and its predictive value for the detection of chromosomal abnormalities in pregnancies of our region that the birth rate is high and the age of gestation is advanced.

Method: We studied triple tests with Radio Immune Assay method in 1841 pregnancies. Maternal serum total human chorionic gonadotrophin, alpha fetoprotein and unconjugated estriol levels were measured and analyzed with other data's by a special computerized programme. The risks were determined with the available cut-off values.

Results: The age distribution of pregnant was between 17 and 47, and 17,60% of the cases were equal or above 35 years old. The triple tests results of 113 (6,13%) pregnancies were found higher than the cut-off values. Screening result was positive in 106 (5,75%) pregnancies for Down syndrome, and in 7 (0,38%) pregnancies for trisomy 18. Forty-four of pregnancies that had positive risk for Down syndrome and trisomy 18 were evaluated by cytogenetic examination after amniocentesis/ cordosynthesis and two cases of Down syndrome, one case of trisomy 18 and one case of 47,XXX were detected. Positive predictive value for Down syndrome was 5,13%, and invasive procedures were diminished by 65% with the use of triple test.

Conclusion: The false positive rate and the positive predictive value for chromosomal abnormalities of the triple test were similar with the previous findings. Screening tests have to be used primarily for diminishing the number of invasive tests in the region that has high birth rate and advanced age of gestation. These tests also have to be recommended to the young pregnant.

Key words: Triple test, False positivity, Down's syndrome, Trisomi 18.

Günümüzde prenatal değerlendirmede, tarama testlerinin önemi giderek artmakta ve daha yaygın kullanım alanı bulmaktadır. Fetal anomaliler ile maternal serum hormon düzeyleri arasındaki ilişki ilk olarak 1970'li yıllarda NTD'li (nöral tüp defekti) fetüslerin annelerinde yapılan çalışmada maternal serum ve amniotik sıvıda AFP (Alfa fetoprotein) düzeylerinin yüksek bulunması ile gösterildi (1). Daha sonra 1980'li yıllarda Down sendromu ile düşük AFP ve ankonjuge Estriol düzeyleri ve yüksek HCG (Human chorionic gonadotropin) düzeyi arasındaki ilişki ortaya kondu (2-5). Bu gelişmelerin paralelinde fetal anomalilerin erken tanısı için bu hormonlarla yapılan maternal serum çalışmaları rutin olarak kullanılmaya başlandı. Anormal tespit edilen sonuçlar kesin tanı için yeterli olmasa da ileri klinik çalışmalar için yol göstericidir. Bu testler çoğu ciddi doğumsal defektin tespit edilmesinde yardımcı olmakla birlikte öncelikli olarak NTD, Down sendromu ve trizomi 18'in taramasında kullanılır.

En sık görülen kromozom anomalisi olan Down sendromu'nun görülme sıklığı 800 canlı doğumda birdir. Bu oran daha yaşlı annelerde dramatik bir şekilde artış gösterir ve 35 yaş grubu annelerde risk 385 de bire, 40 yaş grubunda ise 105 de bire yükselir (6).

Trizomi 18, 8000 canlı doğumda bir ortaya çıkan en ciddi kromozom anomalilerinden biridir. Fetal ölüm oranı gebeliğin ilk 8 haftasında %80, ikinci ve üçüncü trimester esnasında ise %70'dir. Etkilenen fetüste spina bifida, meningomyelosel veya omfalosel görülme ihtimali yaklaşık %25'dir. Miada ulaşanlarda ise mevcut anomaliler nedeniyle vakaların yaklaşık %50'sine sezeryan yapılması gerekir. Doğumu takiben infantların yarısı ilk beş günde %90'ı ise ilk 100 gün içinde ölürken, bir yıllık yaşam süresi %10'dur (7,8).

Günümüzde ikinci trimesterde (14-22.haftalarda) AFP, total HCG ve ankonjuge Estriol düzeylerinin tespitini içeren "triple test" yaygın kullanılan bir prenatal tarama testidir (6). Ayrıca bu parametrelere inhibin -A eklenerek oluşturulan quadruple test ve birinci trimesterde PAPP-A (pregnancy associated placental protein-A), β -HCG ve nukal kalınlığının birlikte değerlendirildiği Nukal test de kullanılmaktadır. Tarama testlerinin noninvazif ve ekonomik olması, amniyosentez gibi invazif yöntemlerin kullanım gerekliliğini azaltmıştır.

Bizim bu çalışmadaki amacımız, doğurganlık oranının yüksek olduğu ve ileri yaş gebeliklerin sık görüldüğü bölgemizde, triple test ile ilgili yaş dağılımını belirlemek, yanlış pozitiflik değerini saptamak ve kromozom anomalilerini öngörme durumunu belirlemektir.

YÖNTEM

Ekim 2000 - Kasım 2002 tarihleri arası Dicle Üniversitesi Nükleer Tıp Laboratuvarına Down sendromu ve Trizomi 18 riski araştırılması için gönderilen gestasyonel yaşı 14-22 haftalar arasındaki 1841 gebenin maternal serumlarından AFP (RIA, Immotest TM, Czech Republic), ankonjuge Estriol (RIA ImmotestTM, France), total HCG (IRMA, ImmotestTM, Czech Republic) düzeyleri Berthold LB 2111, Germany marka gamma counter kullanılarak ölçüldü. Bütün gebelerde gestasyonel yaş, USG (ultrasonografi) ile ölçülen BPD (biparietal diameter) ölçümleri esas alınarak tespit edildi. Gebelik haftasına göre elde edilen bu üç hormon değeri normal gestasyonel popülasyondaki hormon değerlerinin ortalaması ile karşılaştırılarak MOM (multiple of the median) değerleri hesaplandı. Tespit edilen AFP, total HCG, ankonjuge Estriol MOM değerleri ve anne yaşı ile birlikte diğer veriler (gebenin kilosu, sigara kullanma alışkanlığı, diabet mevcudiyeti, ikiz gebelik,...) PRISCA (Prenatal Risk Calculation, TYPOLOG Software/GmbH, Hamburg, Germany) programı ile istatistiksel olarak analiz edildi ve risk değerleri belirlendi. Çalışmamızda Down sendromunda HCG için 2,5 MOM üzeri, AFP ve uE3 için ise 0,4 MOM altı eşik değeri kabul edildi. Trizomi 18'de HCG 0,4 MOM altı eşik değeri olarak alındı.

Çalışmamızda, triple testte eşik sınırı Down sendromu için 1/250, trizomi 18 için 1/100 olarak kabul edildi ve üstündeki değerler prenatal tanı polikliniğinde değerlendirildi. Amniyosentez ve kordosentez uygulanan gebelerde elde edilen fetal örneklerde kromozom analizi yapıldı. Her örnek için iki kültür yapılmış olup ortalama 12 preparat hazırlandı. Hazırlanan preparatlardan biri direk, geri kalanları Giemsa bantlama tekniği ile boyanarak incelemeye alındı, her olgu için yeter sayılan 20-30 metafaz plağındaki fetal kromozomlar sayısal ve yapısal kromozom düzensizlikleri yönünden değerlendirildi ve en az 10 bantlı metafazdan karyotip yapıldı.

Tablo 1. Triple test (+) ve (-) gruplarda yaş dağılımı

	Toplam (n=1841)	Test sonucu (-) (n=1728)	Down sendromu test (+) (n=106)	Trizomi 18 test (+) (n=7)
Ort yaş (±SD)	28,20±3,70	27,90±4,11	34,50±6,65	30,51±4,55

BULGULAR

Labaratuarımızda triple test uygulanan 1841 gebenin yaş aralığı 14-47, ortalama yaş grubu 28,20±3,70 olarak tespit edildi. Bu değer ölçümlerin negatif olduğu grupta 27,90±4,11 Down Sendromu riski pozitif tespit edilen grupta 34,50±6,65, Trisomi 18 riski pozitif tespit edilen grupta 30,51±4,55 bulundu (Tablo 1).

Test uygulanan 1841 gebenin 1517'si 35 yaş altında (%82,40), 324'ü 35 yaş ve üzerinde (%17,60) bulundu. Bu son oran 35 yaş ve üzerindeki klinik gebe popülasyonundan daha yüksekti. Ayrıca Down sendromu ve Trizomi 18 riski pozitif bulunan 113 gebenin 60'ı 35 yaş üzerinde (%53,10), 53'ü 35 yaş altında (%46,09) bulundu. Test uygulanan gebelerin 106'sında Down sendromu (%5,75), yedisinde Trizomi 18 (%0,38) riski pozitif tesbit edildi. Down sendromu ve trisomi 18 riski pozitif olan gebelerden 44'ü amniyosentez veya kordosentezi kabul etti ve sitogenetik olarak değerlendirildi (%38,94). Amniyosentez veya kordosentez yapılan ve triple test sonucu pozitif olan 35 yaş altındaki gebe sayısı 21 (%47,73) 35 yaş ve üzerinde ise 23 (%52,27) olarak bulundu. Genel gebe popülasyonunda invazif girişim oranı %2,39 olarak bulundu.

Amniyosentez/kordosentez sonrası, karyotip analizi sonucu iki gebede Down sendromu, bir gebede trizomi 18 tespit edildi. Ayrıca Down sendromu riski pozitif bulunan bir gebe karyotip analizi sonucunda 47,XXX tanısı aldı. Down sendromu tespit edilen fetüslerden birinde ultrasonografi ile nukal kalınlığının artmış olduğu, Trizomi 18 saptanan fetüste ise tüm ekstremitelerde kısalık olduğu belirlendi (Tablo 2).

Daha önceki gebeliğinde Down sendromu saptanmış diğer bir olgunun mevcut gebeliğinin 19. haftasında uygulanan triple testte 1/105 risk değeri bulundu ve günümüzde normal bir kromozom varyasyonu olarak kabul edilen kromozom 9 perisentrik inversiyonu tespit edildi. Beş olguda amniyosentez sonrası yapılan genetik araştırmada sonuç alınamadı. Bunlardan birisinde triple test pozitifliği yanında anne translokasyon taşıyıcısı olarak tespit edildi. Otuz dört hasta amniyosentez sonrası yapılan genetik inceleme sonucunda normal bulundu. Triple test yerine yaş sınırı dikkate alınması durumunda, 324 invazif girişim önerilmesi gerekebileceği bulundu.

TARTIŞMA

Gebelik esnasında kromozom anomalileri, maternal serumda çeşitli belirteç seviyelerinin ölçülmesi ve sonrasında yapılan invazif testler ile saptanabilmektedir. Bu amaçla plasentadan üretilen HCG, fetal karaciğerden üretilen AFP, fetal adrenal, fetal karaciğer ve plasentadan üretilen estriol değerleri kullanılır (9). AFP, Down sendromu için çok sensitif veya spesifik bir belirteç değildir ve genellikle çoklu belirteçli testlerde kullanılır. Ancak AFP analiz ölçümünden çıkartılırsa diğerleri ek bilgi sağlayamaz (10). Down sendromlu ve Trizomi 18'li fetuse sahip annelerin yaklaşık %30'unda AFP değeri düşük bulunmuştur (11). Triple test ölçümünde daha sık kullanılan AFP, HCG ve estriol ile Down sendromunun tespit oranı %60-65 oranında bulunmuştur (10,12).

Triple test ölçümlerinin yaklaşık %5'inde Down sendromu test pozitifliği (yanlış pozitiflik) bildirilmiştir (13). Bir çalışmada 35 yaş altı gebe-

Tablo 2. Kromozom anomalisi tespit edilen olgular

	Yaş	Gebelik haftası	Eşik değeri	USG bulguları	Girişim	Karyotip	Gebelik akıbeti
1. olgu	30	16	1 / 150	Nukal kalınlık artışı	Amniyosentez	Down sendromu	Tahliye
2. olgu	38	18	1 / 185	Normal	Amniyosentez	Down sendromu	Tahliye
3. olgu	39	15	1 / 84	Kısa ekstremiteler	Amniyosentez	Trizomi 18	Tahliye
4. olgu	25	19	1 / 141	Normal	Amniyosentez-Kordosentez	47 XXX	Tahliye

lerde Down sendromu yanlış pozitiflik oranı %3,7, 35 yaş ve üzerindeki gebelerde ise %19 olarak bulunmuştur (14). Önderoğlu ve ark ise (15) eşik sınırı 1/250 olarak kabul ettikleri çalışmalarında bu oranları %11 ve %29 olarak vermişler, genel pozitiflik oranlarını %15,7 olarak bildirmişlerdir. Bal ve ark'nın (16) kısıtlı serilerinde aynı eşik değer için verdikleri pozitiflik oranı ise %29,5'tir. Bizim çalışmamızda yanlış pozitiflik 35 yaş altındakilerde % 3,1 , 35 yaş ve üzerindekielerde %18, genelde ise %5,75 olarak bulunmuştur. Yine başka bir çalışmada Triple testte eşik sınırı 1/270 kabul edildiğinde sensitivite %50, yanlış pozitiflik oranı %7 bulunmuştur (17). Önderoğlu ve Bal'ın serilerinde sensitivite %100 olarak bildirilmiştir (15,16). Biz çalışma grubumuzdaki gebelerin hepsinin akıbetini tesbit edemediğimiz için testimizin sensitivitesini verememekteyiz.

İnvaziv girişimler sonucunda ortalama olarak her 100 pozitif testten ikisinde (1/50) kromozom anomalisi saptanmaktadır (18). Yapılmış olan çalışmalarda her 17-58 amniyosentezden birinde Down sendromu yakalanabildiği bildirilmiştir (15). Ülkemizde ise Down sendromu / amniyosentez oranının 1/25 ile 1/63 arasında değiştiği bildirilmiştir (15,16). Serimizde sonuç alınmış olan karyotip verilerine göre (n=39), toplam iki olguda Down sendromu belirledik (1/20), bu da kromozom anomalisi için pozitif prediktivitenin %5,13 olduğunu göstermektedir. Bu oran Bal ve ark'nın (16) serisinde %3,92, Önderoğlu ve ark'nın (15) serisinde 35 yaş altındakilerde %6,25'tir.

Palomaki ve arkadaşlarının çalışmasında Trizomi 18 pozitif ölçüm oranı yaklaşık %0,5 olarak bulunmuştur (19). Bizim çalışmamızda bu oran benzer olarak % 0,38 bulunmuştur. Trizomi 18 için 35 yaşın altındaki pozitiflik oranımız %0,32, 35 yaş ve üzerindeki oranımız ise %0,62'dir. Bir olguda trizomi 18 bulunmuştur. Nitekim Down sendromu taranırken diğer yapısal ve kromozom anomalilerine rastlanması da beklenen bir durumdur (15). Trizomi 13, triploidi ve seks kromozom anomalilerinde de anormal triple test ölçüm sonuçları bulunabilir (20). Nedeni açıkça belli olmamakla birlikte, bu durumu kromozom anormalliğine bağlı olarak fetus ve plasentada geçikmiş matürasyonla açıklamak mümkündür (21). Ayrıca, triple test sonucu pozitif olan diğer bir vakamızda genetik inceleme sonucu 47, XXX

tespit edilmiştir. Serimizdeki gebelerde genetik ve ultrasonografik bazı risk faktörlerinin de birlikte bulunmasının, diğer iki kromozom anormalisinin bulunmasını kolaylaştırmış olabileceğini düşündük.

Down sendromu için yanlış pozitif test bulgularına sahip gebelerde riskli gebelik oranı artmış olarak izlenmiştir (22). Nitekim neonatal ölüm, düşük doğum ağırlığı, gebeliğe bağlı hipertansiyon ve preeklampsi olgularında AFP ve/veya HCG yüksekliği görülebilir (13,23,24).

Ülkemizde doğurganlık düzeyleri bölgeye ve eğitim düzeyine göre belirgin farklılık göstermektedir. Doğurganlık oranı bir çalışmada doğu bölgelerinde 4,19'iken batıda 2,03 olarak tespit edilmiştir (25). Bölgemizde yapılan bir çalışmada tüm doğumlar içerisinde 35 yaş ve üzerindeki gebelikler %7,55 oranında bulunurken 40 yaş üzerindeki gebeliklerde bu oran %2,64 olarak bulunmuştur (26). Yücesoy ve arkadaşlarının batı bölgelerimizde yaptığı bir çalışmada 35 yaş üzerindeki gebelik oranı %3,03 olarak bulunmuştur (27). Lehmann ve arkadaşlarının çalışmasında ise 40 yaş ve üzerindeki gebelik oranı %1,87 olarak bulunmuştur (28).

Bizim çalışmamızda 35 yaş ve üzerindeki gebe oranımızın %17,60 olduğu göz önüne alındığında, bu oranın genel ve bölgesel oranlardan çok daha yüksek olduğu fark edilmektedir. Serimizde aslında daha düşük oranlarda bulunması beklenen ileri yaş popülasyonunun daha yüksek bulunmasının olası nedeni, bölgemizdeki 35 yaş altındaki gebelerin bu teste daha az yönlendirilmiş olmaları ile açıklanabilir.

Diğer taraftan daha önceki yıllarda yapıldığı gibi belirli bir yaş sınırının üzerindeki gebelere invazif girişim önerilmiş olsaydı, biz 324 gebeye amniyosentez önermek ve bir kısmına girişim yapmak durumunda kalacaktık. Halbuki girişim önerimiz 113, yaptığımız amniyosentez sayımız ise 44'tür. Diğer bir deyişle karyotipleme önerisi %65 oranında azaltılmıştır.

Sonuç olarak doğurganlık oranının ve ileri yaş gebeliklerinin ülke ortalamasından yüksek olduğu bölgemizde, ekonomik şartlar da göz önüne alındığında, invazif girişim sayısını azaltmak amacı ile, güvenilir, ucuz ve noninvazif tarama yöntemlerine önem verilmesi gerekmektedir. Ayrıca bölgemizde 35 yaşından önceki gebelere de tarama testlerinin istisnasız olarak önerilmesi yerinde olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Brock DJH, Sutcliffe RG. Alpha-feto protein in the antenatal diagnosis of anencephaly and Spina bifida. *Lancet* 1972; 2: 197-9
2. Bogart MH, Pandian MR, Jones OW. Abnormal maternal serum chorionic gonadotropin levels in pregnancies with fetal chromosome abnormalities. *Prenat Diagn* 1987; 7: 623-30
3. Canick JA, Knight GJ, Palomaki GE, et al. Low second trimester maternal serum unconjugated oestriol in pregnancies with Down syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1988; 95: 330-3
4. Cuckle HS, Wald NJ, Lindenbaum RH. Maternal serum alpha-feto-protein measurement: A screening test for Down syndrome. *Lancet* 1984; 7: 926-9
5. Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, Johnson WE. An association between low maternal serum alpha-feto-protein and fetal chromosomal abnormalities. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 148: 886-94
6. Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry* 1999; 1744-57
7. Carter PE, Pearn JH, Bell J et al. Survival in trisomy 18 life tables for use in genetic counselling and clinical pediatrics. *Clin Genet* 1985; 27: 59-61
8. Akbas SH, Ozben T, Alper O et al. Maternal serum screening for Down's syndrome, open neural tube defects and trisomy 18. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 487-90
9. Wenstrom KD, Owen J, Chu DC, Boots L. Alpha-feto-protein, free beta-human chorionic gonadotropin, and dimeric inhibin A produce the best results in a three-analyte, multiple marker screening test for fetal Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 177: 987-91
10. Wenstrom KD, Desai R, Owen J, DuBard MB, Boots L. Comparison of multiple marker screening with amniocentesis for the detection of fetal aneuploidy in women >35 years old. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1287-92
11. Ashwood ER, Cheng E, Luthy DA. Maternal serum alpha-feto protein and fetal trisomy 21 in women 35 years and older: Implications for alpha-feto protein screening programs. *Am J Med Genet* 1987; 26: 531-9
12. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Nanchahal K, Royston P, Chard T, et al. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988; 297: 883-7
13. Spencer K. Second trimester prenatal screening for Down's syndrome and the relationship of maternal serum biochemical markers to pregnancy complications with adverse outcome. *Prenat Diagn* 2000; 20: 652-6
14. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *The New England Journal of Medicine* 1999; 7: 461-7
15. Önderoğlu L, Kabukçu A, Aktaş D, Kaşifoğlu MA, Balcı S, Gökşin E. İkinci trimester anne serumunda alfa-fetoprotein, koryonik gonadotropin, ve ankonjuge östriol düzeylerinin Down sendromu taramasında etkinliği. *Perinatoloji Dergisi* 1996; 4: 117-20
16. Bal F, Yıldız A, Yirmibeş M, Taner Z, Eskandari R, Menevşe S. Üçlü test ile fetal Down sendromu tanısında ilk sonuçlarımız. *Perinatoloji Dergisi* 1996; 4: 197-9
17. Bahado-Singh RO, Oz AU, Kovanci E, Deren O, Copel J, Baumgarten A. New Down syndrome screening algorithm: Ultrasonographic biometry and multiple serum markers combined with maternal age. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:1627-31
18. Palomaki GE, Knight GJ, McCarthy JE, Haddow JE, Donohue JM. Maternal serum screening for Down syndrome in the United States: a 1995 survey. *Am J Obstet Gynecol* 1997; 176: 1046-51
19. Palomaki GE, Haddow JE, Knight GJ. Risk based prenatal screening for trisomy 18 using alpha-feto protein, unconjugated oestriol and human chorionic gonadotropin. *Prenat Diagn* 1995; 15: 713-23
20. Wenstrom KD, Williamson RA, Grant SS. Detection of fetal Turner syndrome with multiple marker screening. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 570-3
21. Wenstrom KD, Chu DC, Owen J, Boots L. Maternal serum alpha-feto protein and dimeric inhibin A detect aneuploidies other than Down syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179 : 966-70
22. Pergament E, Estein AK, Fiddler M, Cho NK, Kupferminc MJ. Adverse pregnancy outcome after a false-positive screening for Down syndrome using multiple markers. *Obstet Gynecol* 1995; 13: 58-62
23. Wald NJ, Cuckle HS, Boreham J, Tumbull AC. Maternal serum α -feto protein and birth weight. *Br J Obstet Gynaecol* 1980; 87: 860-3
24. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, et al. Second trimester maternal serum marker screening: maternal serum α -feto protein, β -human chorionic gonadotropin, estriol and their various combination as predictors of pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 968-74
25. Toros A. Doğurganlık. Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 1998 Hacettepe Üniversitesi, Nüfus Etütleri Enstitüsü Ankara, Türkiye s:35-44; 1999
26. Yalınkaya A, Bayhan G, Demir B, Yalınkaya Ö, Yayla M. İleri yaş gebeliklerin retrospektif analizi. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi* 2002; 16: 155-9
27. Yücesoy İ, Türe D, Yenigüç C, Karaosmanoğlu S, Köse D. 16 yaş altı ve 35 yaş üstündeki olgularda gebelik ve doğum yöntemi. *Zeynep-Kamil Bülteni* 1993; 25: 27
28. Lehmann DK, Chism J. Pregnancy outcome in medically complicated and uncomplicated patients aged 40 years or older. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 157: 738-42