

Spontan abortuslarda kromozomal düzensizliklerin rolü

Hatice GÜL DURAKBAŞI*, Ayşe Gül ZAMANI*, Aynur ACAR*, Mehmet ÇOLAKOĞLU**

* S.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Bilim Dalı,

** S.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, KONYA

ÖZET

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarına gönderilen düşük materyalleri üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada; düşük materyallerindeki kromozom düzensizliklerinin tip ve insidansının belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla 54 düşük materyali geleneksel sitogenetik tekniklerle kültüre alındı ve karyotiplendi. 15 materyalde (%27.8) kromozomal düzensizlik tespit edildi. Bu düzensizlikler arasında en çok trizomilerin yer aldığı saptandı (%53.4). Trizomileri, %26.6 ile poliploidiler ve %20.0 ile monozomi X izlemiştir. Trizomiler; 15, 18 ve 21. kromozomların trizomilerini kapsarken, poliploidilerin yarısını triploidi, yarısını da tetraploidi oluşturuyordu. Çalışmadan elde edilen bulgular; kromozomal düzensizliklerin spontan abortusların etyolojisinde önemli bir paya sahip olduğunu ve bu nedenle düşük materyallerinin sitogenetik değerlendirmesinin hem hasta hem de hekim açısından önem taşıdığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Spontan abortus, kromozomal düzensizlik, fetus, trofoblast.

SUMMARY

The role of chromosomal abnormalities on spontaneous abortions

In this study that was performed on spontaneous abortions referred to Department of Medical Genetics of Medical Faculty of Selçuk University, detection of the incidence and type of chromosomal abnormalities in spontaneous abortions was aimed. With this aim; the specimens from 54 spontaneous abortions were successfully cultured and karyotyped by using conventional cytogenetic techniques. 27.8 % of karyotyped abortions were found to have a chromosomal abnormality. Autosomal trisomy was the predominant chromosomal abnormality and accounted for 53.4 % all abnormal abortions, followed by poliploidy (26.6 %) and monosomy X (20.0 %). Trisomies were consist of trisomy 15, 18 and 21. One mosaic marker was observed in one aborted specimen. Detected poliploidy comprised two triploidy and two tetraploidy. The obtained findings revealed that chromosomal abnormalities have an important role on etiology of the spontaneous abortions and that for this reason cytogenetic examination of aborted specimens is useful for parent of abortions and for physicians.

Key Words: Spontaneous abortion, chromosomal abnormality, fetus, trophoblast.

Gebeliğin en yaygın komplikasyonu olan spontan abortus, çocuk sahibi olmayı isteyen çiftlerde fiziksel ve duygusal travmaya yol açan önemli bir faktördür. Kısaca 20. gebelik haftasından önce gerçekleşen gebelik kayıpları şeklinde tanımlanan spontan abortuslar, klinik olarak tanımlanmış her altı-yedi ge-

belikten birinde meydana gelmektedir. Tüm konsepsiyonlar dikkate alındığında ise bu oranın % 40-80 arasında değiştiği düşünülmektedir (1-7). Etiyolojisinde; uterin faktörler veya anatomik defektler, endokrin bozukluklar, üreme sistemi enfeksiyonları, immünolojik faktörler ile çevresel faktörler gibi birçok

Haberleşme Adresi: Dr. Hatice Gül DURAKBAŞI, S.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Bilim Dalı, KONYA

Geliş Tarihi : 11.01.2001

Yayına Kabul Tarihi : 15.03.2001

etken bulunmakla birlikte, genetik faktörler ilk sırada yer almaktadır (8-12). Çünkü I. trimestredeki kayıpların yaklaşık % 50'sinden ve II. trimestredeki kayıpların da yaklaşık % 20'sinden kromozomal düzensizlikler sorumlu tutulmaktadır (13). Bu düzensizlikler daha çok sporadik olarak ortaya çıkan anöploidiler ve poliploidiler tarzındadır. Paternal ya da maternal dengeli kromozomal yeniden-düzenlenmelerin yol açtığı dengesiz kromozom düzensizlikleri ise daha çok tekrarlayan abortuslarda rol oynamaktadır. Tekrarlayan düşüklüğü olan çiftler üzerinde yapılan sitogenetik çalışmalarda; çiftlerin % 4.8-8'inde dengeli kromozomal yeniden-düzenlenmeler tespit edilmiş ve bu çiftlerdeki tekrarlayan düşüklükler, bu yeniden-düzenlemeler nedeniyle mayozda dengesiz kromozom düzensizlikleri taşıyan gametlerin oluşumuna bağlanmıştır (14-19). Spontan abortusların etyolojisinde önemli rolü olan kromozomal düzensizliklerin çeşitlerinin ve oranlarının belirlenmesi amacıyla mevcut çalışma gerçekleştirilmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Abortus tanısı olarak kürete edilmiş 54 gebeliğe ait düşük materyali, içlerinde antibiyotik ve HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution) bulunan geniş ağızlı steril kaplarda laboratuvarımıza ulaştırıldı. Koryonik villus, ekstaembriyonik doku ve/veya fetal doku içeren materyaller steril petri kapları içerisindeki antibiyotikli HBSS'de 5-6 kere yıkandıktan sonra inverted mikroskop altında desiduadan ayrıştırıldı. Plasentanın tam yada kısmi olduğu materyallerde 3-6 farklı plasental bölgeden koryonik villus örnekleri elde edilerek ayrı steril petri kaplarına alındı. Koryonik villusların 24 saatlik kısa süreli kültürlerinde Simoni ve arkadaşlarının (20) metodu bazı modifikasyonlarla uygulanırken, uzun süreli kültürleri ise tripsinazasyon ve kollajenaz muamelesi sonrası elde edilen hücre süspansiyonunun kültüre alınması ile gerçekleştirildi. Farklı plasental bölgelerden alınan koryonik villuslardan birbirinden bağımsız kültürler hazırlandı. Ekstraembriyonik membranlar ile fetal dokular çok küçük parçalara ayrılıp kültür kabı (T25 flask) yüzeyine tutturularak kültüre alındı. Uzun süreli kültürler, 37°C'de ve % 5'lik CO₂'de inkübe edildi. İnkübasyonun 10. gününden sonra kültürler Colcemide solüsyonu eklenerek 3-4 saat daha inkübasyona devam edildi. Hipotonik ve üç kez

yapılan fiksatif muamelesi sonrasında elde edilen hücre süspansiyonu lamlara yayıldı. Kısa süreli ve uzun süreli kültürlerden elde edilen bütün preparatlara GTG-bandlama uygulandı. Işık mikroskopunda incelenen preparatlar sayısal ve yapısal kromozom düzensizlikleri yönünden değerlendirildi. Her farklı doku ve plasental bölgeden hazırlanan kültürler için en az 10 metafaz değerlendirildi.

BULGULAR

54 spontan abortusa ait düşük materyalinde saptanan sitogenetik bulgular Tablo 1'de özetlenmiştir. Buna göre; materyallerin 39'unda (% 72.2) normal karyotip saptanırken, 15'inin (% 27.8) kromozomal düzensizliğe sahip olduğu görülmüştür. Tespit edilen kromozomal düzensizliklerin tip ve frekansı Tablo 2'de verilmiştir. Sekiz materyalde saptanan trizomiler en sık karşılaşılan kromozomal düzensizlikleri oluşturmuştur (% 53.4). Bu trizomiler içinde trizomi 21 ilk sırayı almıştır (% 33.3). Bir materyalde trizomi 15 ve bir materyalde de trizomi 18 bulunurken bir materyalin de mozaik marker kromozom kuruluşunda (46,XX/47,XX,+mar) olduğu belirlenmiştir. Üç materyalde monozomi X (% 20.0) ve dört materyalde de poliploidi (% 26.6) gözlenmiştir. Poliploid karyotip gösteren materyallerin ikisinin triploid (69,XXX ve 69,XXY) (% 13.3), diğer ikisinin de tetraploid (92,XXXX) (% 13.3) olduğu görülmüştür. Şekil 1'de 47,XX,+15 ve Şekil 2'de 69,XXY kromozom kuruluşundaki abortuslara ait karyotip örnekleri görülmektedir.

Spontan abortuslarda saptanan karyotip ile maternal ve gestasyonel yaş arasındaki ilişki Tablo 3'de özetlenmiştir. Normal karyotipli spontan abortusların ortalama maternal yaşı 29.2±4.8 ve ortalama gestasyonel yaşı 12.9±4.4, anormal karyotipli spontan abortusların ortalama maternal yaşı 30.5±7.6 ve ortalama gestasyonel yaşı 12.5±3.1 olarak belirlenmiştir. Anormal karyotip grubunda en yüksek ortalama maternal yaş, trizomili abortuslarda görülmüştür (34.8±7.3). Monozomi X ve poliploidi gösteren karyotiplerde ise ortalama maternal yaş sırasıyla 27.3±1.5 ve 24.2±5.8'dir. Ortalama gestasyonel yaşların anormal karyotipli abortuslardaki dağılımı ise; trizomik abortuslar için 13.7±3.2, monozomik abortuslar için 12.0±3.0 ve poliploid abortuslar için 10.5±2.4 olarak tespit edilmiştir.

Gözlenen kromozom düzensizlikleri ve maternal

Tablo 1. 54 spontan abortusa ait sitogenetik bulgular.

Karyotip	Abortus sayısı	Oran (%)
Normal	39	72.2
46, XY	17	31.5
46, XX	22	40.7
Anormal	15	27.8
Trizomi	8	17.8
Monozomi X	3	5.6
Poliploidi	4	7.4
Toplam	54	100

yaş arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla, aneler altı yaş grubuna ayrılmış ve her bir grupta gözlenen kromozom düzensizliği oranı ile bu düzensizliklerin dağılımı Tablo 4'de verilmiştir.

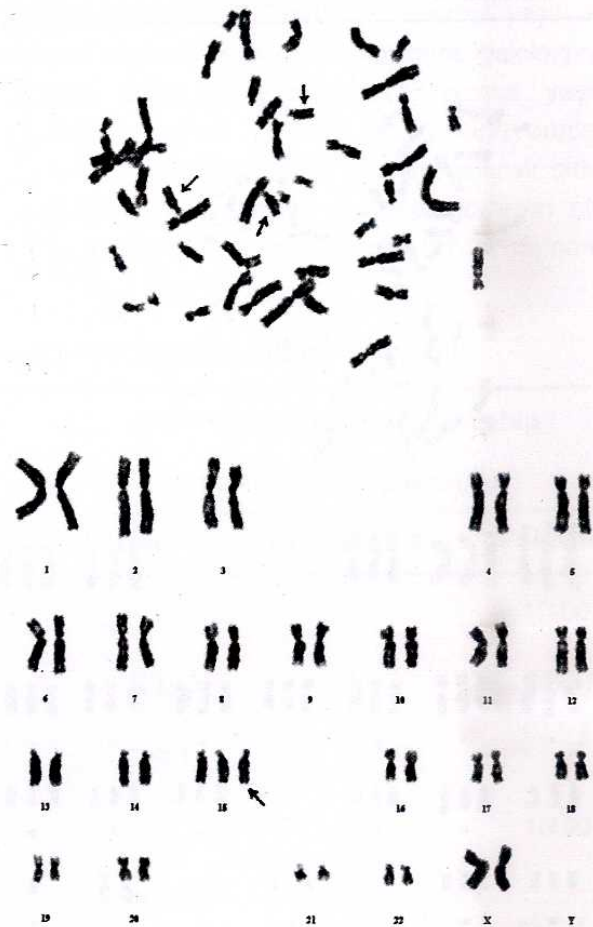
Tablo 5, kromozomal düzensizliklerin gestasyonel yaşa göre dağılımını ifade etmektedir. Bunun için gestasyonel yaşlar dörder haftalık (bire aylık) periyodlar halinde gruplandırılmış ve her bir gestasyonel yaş grubunda gözlenen kromozom düzensizliği oranı ile tipleri, bu tabloda verilmiştir.

Çalışmada; normal kromozom kuruluşuna sahip 39 abortusdaki cinsiyet oranı (erkek/dişi), 0.77 olarak belirlenmiştir.

TARTIŞMA

Etnik ve coğrafik olarak farklı populasyonlarda gerçekleştirilen ve çok sayıda spontan abortusu kapsayan çeşitli serilerde saptanan kromozom düzensizliği insidansı % 19-69.4 arasında değişmektedir (21-29). Mevcut çalışmada, karyotiplenmiş 54 spontan abortusdaki kromozom düzensizliği insidansı % 27.8 olarak bulunmuştur (Tablo 1). Bu oran; Creasy ve arkadaşları ile Procter ve arkadaşlarının (25) elde ettikleri kromozomal düzensizlik oranı ile benzerlik göstermektedir.

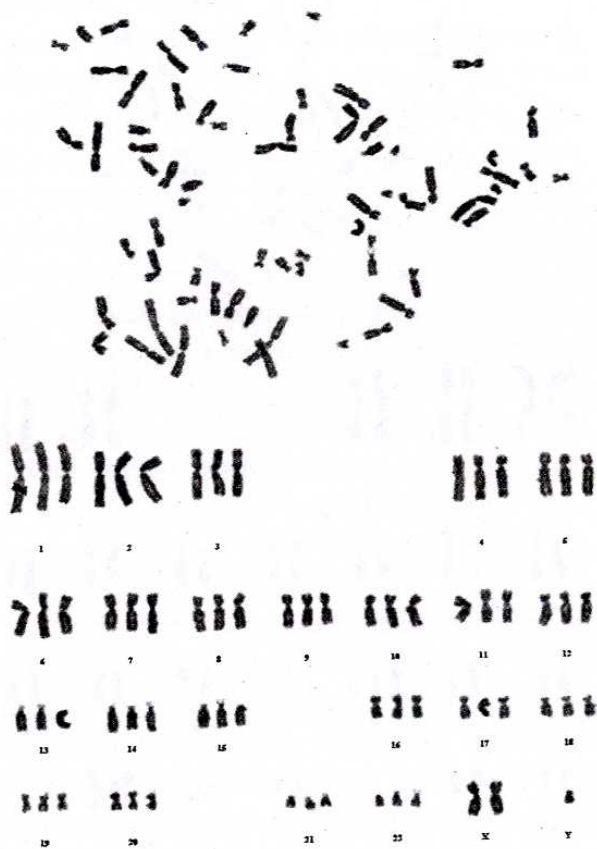
Çalışmada saptanan düzensizliklerin tip ve frekansına bakıldığında spontan abortuslarda en sık rastlanan kromozomal düzensizliğin trizomi olduğu görülmektedir (% 53.4) (Tablo 2). Bu bulgu, yapılan



Şekil 1. Kromozom kuruluşu 47,XX,+15 olan abortusa ait metafaz örneği ve karyotip.

Tablo 2. 54 spontan abortusta tesbit edilen kromozomal düzensizliklerin tipi ve frekansı.

Karyotip	Abortus sayısı	Oran (%)
Trizomi	8	53.4
Tri-15	1	6.7
Tri-18	1	6.7
Tri-21	5	33.3
Mozaik Marker	1	6.7
Monozami X	3	20.0
Poliploidi	4	26.6
Triploidi	2	13.3
Tetraploidi	2	13.3



Şekil 2. Kromozom kuruluşu 69,XXY olan abortusa ait metafaz örneği ve karyotip.

bütün spontan abortus sitogenetiği çalışmalarında elde edilen yüksek trizomik karyotip bulgusunu desteklemektedir (1,2,5,6,21,24,29). Çalışmamızda ikinci sıklıkta görülen anomali poliploididir (% 26.6) Bazı araştırmacıların (1,3,21,22,24,29) bulgularına göre; monozomi X ikinci sıklıkta görülen kromozom düzensizliği olmasına rağmen, mevcut çalışmada monozomi X poliploididen sonra üçüncü sıklıkta görülen anomali durumundadır. Çeşitli merkezlerdeki spontan abortus sitogenetiği çalışmalarında tespit edilen kromozom düzensizliği insidansları arasındaki farklılıklar; incelenen olgu sayısı, ortalama maternal yaş ve ortalama gestasyonel yaşların seriler arasında farklılıklar göstermesine bağlanabilir.

Maternal yaşın, spontan abortuslardaki kromozom düzensizliği insidansı üzerinde etkin bir role sahip olduğu bilinmektedir. Kromozom anomalili fetus olasılığı da anne yaşı ile birlikte artış göstereceğinden, ortalama maternal yaşın yüksek olduğu spontan abortus serilerinde trizomilerin insidansının da yükseldiği gözlenmektedir (30-33). Monozomi X'de ise bunun tersi bulgular elde edilerek, çalışılan spontan abortus serilerinde 45,X karyotipi gösteren abortuslara ait ortalama maternal yaşın,

Tablo 3. Spontan abortuslarda saptanan karyotiplerin maternal yaş ve gestasyonel yaş ile ilişkisi.

Karyotip	Maternal yaş ortalaması	Gestasyonel yaş ortalaması
Normal	29.2±4.8	12.9±4.4
46, XY	28.1±3.7	14.3±3.8
46, XX	30.0±5.5	11.9±4.5
Anormal	30.5±7.6	12.5±3.1
Trizomi	34.8±7.3	13.7±3.2
Monozomi X	27.3±1.5	12.0±3.0
Poliploidi	24.2±5.8	10.5±2.4
Toplam	29.5±5.7	12.8±4.0

normal karyotipli abortusların ortalama maternal yaşından daha düşük olduğu bildirilmiştir (1,3,26,34). Çalışmamızda incelenen toplam 54 abortusa ait ortalama maternal yaş 29.5±5.7 olarak bulunurken, bu oranın normal karyotipe sahip spontan abortuslarda 29.2±4.8, kromozom düzensizliği olan spontan abortuslarda ise 30.5±7.6 olduğu sap-

tanmıştır (Tablo 3). Ortalama maternal yaşın kromozom anomalilerine göre dağılımına bakıldığında; trizomik abortusların ortalama maternal yaşının (34.8±7.3) normal karyotipli abortusların ortalama maternal yaşından (29.2±4.8) daha yüksek olduğu görülürken, monozomi X karyotipi gösteren abortusların ortalama maternal yaşının (27.3±1.5) normal

Tablo 4. Spontan abortuslarda saptanan kromozomal düzensizliklerin maternal yaşa göre dağılımı.

Maternal yaş (yıl)	Abortus sayısı	Kromozomal düzensizliğe sahip abortus sayısı (%)	Kromozomal düzensizliğe sahip abortusların dağılımı (%)		
			Trizomi	Monozomi X	Poliploidi
≤ 19	1	1 (100)	-	-	1(100)
20-24	10	3(30.0)	1(33.3)	-	2(66.7)
25-29	22	5(22.7)	2(40)	3(60)	-
30-34	8	1(12.5)	-	-	1(100)
35-39	11	4(36.4)	4(100)	-	-
40 ≥	2	1(50)	1(100)	-	-
Toplam	54	15(27.8)	8(53.4)	3(20.0)	4(26.6)

Tablo 5. Spontan abortuslarda saptanan kromozomal düzensizliklerin gestasyonel yaşa göre dağılımı.

Gestasyonel yaş (hafta)	Abortus sayısı	Kromozomal düzensizliğe sahip abortus sayısı (%)	Kromozomal düzensizliğe sahip abortusların dağılımı (%)		
			Trizomi	Monozomi X	Poliploidi
6-8	9	1(11.1)	-	-	1(100)
9-12	21	9(42.8)	4(44.5)	2(22.2)	3(33.3)
13-16	13	4(30.8)	3(75.0)	1(25.0)	-
17-20	11	1(9.1)	1(100)	-	-
Toplam	54	15(27.8)	8(53.4)	3(20.0)	4(26.6)

karyotipli abortusların ortalama maternal yaşından daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu bulgu; trizomik abortuslara ileri maternal yaşa ait abortuslarda daha sıklıkla rastlandığı, monozomi X abortusların ise genç annelerde daha sık görüldüğünü bildiren çalışmaların sonuçları ile uyumludur.

Kromozomal düzensizliklerin maternal yaşa göre dağılımına bakıldığında (Tablo 4), en yüksek kromozom düzensizliği insidansının % 36.4 ile 35-39 maternal yaş grubuna ait olduğu ve bu düzensizliklerin tamamının trizomilerden oluştuğu görülmektedir. Kromozom düzensizliği insidansı 20-24 yaş grubunda % 30.0 (bir trizomi, iki poliploidi), 25-29 yaş grubunda % 22.7 (iki trizomi, üç monozomi X) ve 30-34 yaş grubunda ise % 12.5 (bir poliploidi)'dir. ≤19 yaş grubunda sadece bir, ≥40 yaş grubunda sadece iki abortus incelenebilmiştir. Bu bulgular, trizomik abortusların ileri maternal yaşlarda daha sık ortaya çıktığı ve monozomi X'in daha genç annelerde gözlemlendiği görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda en yüksek kromozom düzensizliği insidansı % 42.8 ile 9-12 gestasyonel yaş aralığında belirlenmiştir (Tablo 5). Kromozom düzensizliği insidansı; 13-16. haftada % 30.8, 17-20. haftada % 9.1'dir. Bu veriler, gestasyonel yaş ilerledikçe kromozom anomalisi saptanma oranının azaldığını bildiren çalışmaların verileri ile uyumludur (2,3,21,30). Çalışmamızdaki 6-8 hafta aralığında insidansın düşük saptanmasının incelenen abortus sayısının az olmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Diğer

birçok çalışmada erken gebelik haftalarında gözlenen 16. ve 22. kromozom trizomilerinin (1,4,7,21), bu çalışmada tespit edilememiş olmasını da gestasyonel yaş ortalamasının nisbeten yüksek olması ile açıklamak mümkündür. Mevcut çalışmada normal karyotipli abortuslarda 0.77 olarak belirlenen erkek/dişi oranı, Eiben ve arkadaşlarının (7) koryonik villusların direkt preparasyonundan elde ettikleri 0.7'lik oran ile uyumludur. Diğer çalışmalarda saptanan cinsiyet oranları 0.76-0.88 arasında değişmektedir (7,30,35).

54 spontan abortusun etyolojilerine bakıldığında; normal karyotipli beş abortusda çiftlerin akraba evlisi olması, tekrarlayan düşük öykülerinin bulunması ve normal kromozom kuruluşuna sahip olmaları, bu abortuslarda akraba evliliği ile ilgili tek gen mutasyonlarının göz ardı edilmemesi gereğini düşündürmektedir. Ayrıca; yine normal karyotipe sahip üç abortusa gebelikler sırasında amniyosentez uygulanmış olması, bu abortusların amniyosentez işleminin getirdiği düşük riskinden etkilenmiş olabileceklerinin düşünülmesine neden olmuştur. Amniyosentez uygulanmış bir başka abortusun düşük materyalinde normal kromozom kuruluşuna sahip olduğunun anlaşılmasına rağmen amniyotik hücre kültüründe 46,XY/46,XY,t(1q;1q,16q) mozaizminin tespit edilmesi, bu abortusda embriyo ile sınırlı mozaizim varlığını düşündürmüştür.

Plasenta ile sınırlı mozaizim insidansı, spontan abortuslarda % 9.5 olarak bildirildiğinden (31); bu

çalışmada da kısmi/tam plasenta veya yeterli miktarda villus dokusu içeren materyaller mozaisizm yönünden değerlendirilmiştir. İçerik ve miktar bakımından uygun materyallerde bu yönde bir bulguya rastlanmazken; içerik ya da miktarın uygun olmaması veya mikrobiyal kontaminasyon gibi nedenlerle, hem kısa süreli hem de uzun süreli kültürlerin birarada değerlendirilemediği 29 materyalde plasenta ile sınırlı mozaisizm varlığını ekarte edebilecek çalışmaları gerçekleştirmek mümkün olmamıştır.

Sonuç olarak; 54 spontan abortusun 15'inde (% 27.8) gebelik kaybına kromozomal düzensizliklerin yol açtığı anlaşılmıştır. Bu bulgu, spontan abortusların etyolojisinde kromozomal düzensizliklerin önemli bir yeri olduğunu ortaya koymakta ve spontan abortusların sitogenetik olarak değerlendirilmesinin hasta ve hekim için önem taşıdığını göstermektedir. Çünkü sitogenetik tanının konması ile; hem o gebelik kaybının nedeni belirlenecek ve böylece annenin sonraki gebeliklerinde ağır prenatal stres yaşamayı engellenebilecek, hem de sonraki gebelikleri için yüksek kromozom anomalisi riski taşıyan çiftler tespit edilerek prenatal tanıya yönlendirilebilecektir.

KAYNAKLAR

1. Arakaki DT and Waxman SH. Chromosome abnormalities in early spontaneous abortions. *J Med Genet* 1970;7:118-24.
2. Boue J, Boue A and Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions. *Teratology* 1975;12:11-26.
3. Kajii T, Ferrier A, Niikawa T, Takahara H, Ohama K and Avirachan S. Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Gen* 1980;55:89-98.
4. Lin CC, De Braekeleer M and Jamro H. Cytogenetic studies in spontaneous abortion: the Calgary experience. *Can J Genet Cytol* 1985;27(5):565-70.
5. Eiben B, Borgmann S, Schübbe I and Hansmann I. A cytogenetic study directly from chorionic villi of 140 spontaneous abortions. *Hum Genet* 1987;77:137-41.
6. Rehder H, Coerdts W, Eggers R, Klink F and Schwinger E. Is there a correlation between morphological and cytogenetic findings in placental tissues from early missed abortions? *Hum Genet* 1989;82:337-85.
7. Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch S, Borgmann S, Gatz G, Gellert G et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet* 1990; 47:565-63.
8. Cunningham FG, Mac Donald PC and Gant NF. Abortion. In: *Williams Obstetrics*. 18th ed. Connecticut: Appleton&Lange; 1989:p.489-508.
9. Crosignani PG and Rubin BL. Recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* 1991;6(4):609-10.
10. Simpson JL and Golbus Ms. *Genetics In Obstetrics&Gynecology*. Philadelphia: WB Saunders Company; 1992:p. 181-200.
11. Hill JA. Sporadic and recurrent spontaneous abortion. *Curr Probl Obstet Gynecol Fertil* 1994;17:114-62.
12. Hill JA. Recurrent spontaneous early pregnancy loss. In: Berek JS, Adashi YE, Hillard Pa, editors. *Novak's Gynecology*. 12th ed. Giza: Mass Publishing Co; 1996:p. 963-979.
13. Warburton D, Kline J, Stein Z, Hutzler M, Chin A and Hassold T. Does the karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of subsequent abortion? Evidence from 273 women with two karyotyped spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 1987;41:465-83.
14. Blumberg BD, Shulkin JD, Rotter JI, Mohandas T and Kaback MM. Minor chromosomal variants and major chromosomal anomalies in couples with recurrent abortions. *Am J Hum Genet* 1982;34:948-60.
15. Schwartz S and Palmer CG. Chromosomal findings in 164 couples with repeated spontaneous abortion: with special consideration to prior reproductive history. *Hum Genet* 1983;63:28-34.
16. Mameli M, Cardia S, Milia A, Aste A, Santucci S and Genazzani AR. Cytogenetic study in 50 couples with recurrent abortions. *Gynecol Obstet Invest* 1984;17(2):84-8.
17. Fryns JP, Kleczkowska A, Kubien E, Petit P and Van den Berghe H. Cytogenetic survey in couples with recurrent fetal wastage. *Hum Genet* 1984;65:336-54.
18. Portnoi MF, Joxe N, Van den Akker J, Morlier G and Taillemite JL. Karyotypes of 1142 couples with recurrent abortions. *Obstet Gynecol* 1988;72:31-4.
19. De Braekeleer M and Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy loss. *Hum Reprod* 1990;5:519-28.
20. Simoni G, Brambati B, Danesino C, Rosella F, Terzoli GL, Ferrari M and Fraccor M. Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum Genet* 1983;63(4):349-57.
21. Creasy MR, Corollo JA and Alberman ED. A cytogenetic study of human spontaneous abortions using banding techniques. *Hum Genet* 1976;31:177-96.
22. Geisler M and Kleinebrech J. Cytogenetic and histologic analysis of spontaneous abortions. *Hum Genet* 1978;45(3):229-51.
23. Carr DH and Gedeon MM. Q banding of chromosomes in human spontaneous abortions. *Can J Genet Cytol* 1978;20(3):415-25.
24. Andrews T, Dunlop W and Roberts DF. Cytogenetic studies in spontaneous abortuses. *Hum Genet* 1984;66:77-85.
25. Procter SE, Watt JL and Gray ES. Cytogenetic analysis in 100 spontaneous abortions in North-East Scotland. *Clin Genet* 1986;29(2):101-3.
26. Ohno M, Maeda T and Matsunobu A. A Cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. *Obstet Gynecol* 1991;77:394-8.
27. Be C, Velasques P and Youlton R. Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases. *Rev Med Chil* 1997;125(3):317-22.

28. Brajenovic-Milic B, Petrovic O, Krasevic M, Ristic S and Kapovic M. Chromosomal anomalies in abnormal human pregnancies. *Fetal Diagn Ther* 1998;13 (3):187-91.
29. Dejmek J, Vowtassak J and Malova J. Cytogenetic analysis of 1500 spontaneous abortions originating from south Slovakia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;46(2-3):129-36.
30. Hassold T, Chen N, Funkhouser J, Jooss T, Manuel B, Matsuura J et al. A cytogenetic survey of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 1980;44:151-78.
31. Johnson MP, Drugan A, Kapitch FC, Uhlmann WR and Evans MI. Postmortem chorionic villus sampling is a better method for cytogenetic evaluation of early fetal loss than culture of abortus material. *Am J Obstet Gynecol* 1990;263:1505-10.
32. Cowchock FS, Gibas Z and Jackson LG. Chromosome errors as a cause of spontaneous abortion: The relative importance of maternal age and obstetric history. *Fertil Steril* 1993;59(5):1011-4.
33. Sanchez JM, Fransi L, Collia F, De Diaz SL, Panal M and Dubuer M. Cytogenetic study of spontaneous abortions by transabdominal villus sampling and direct analysis of villus. *Prenat Diagn* 1999;19:601-3.
34. Warburton D, Kline J, Stein Z, and Süsser M. Monosomy X: A chromosomal anomaly associated with young maternal age. *Lancet* 1980;1(81-61):167-9.
35. Morton NE, Jacobs PA, Hassold T and Wu D. Maternal age in trisomy. *Ann Hum Genet* 1988;52:227-35.