

تشخیص جنس جنین قبل از تولد با مطالعه جسم ایکس و ایکر گی

درسلولهای کیسه آب جنین (آمنیون)*

گزارش نتیجه ۶۴ مورد آزمایش

مجله نظام پزشکی

سال پنجم، شماره ۲، صفحه ۱۳۳، ۱۳۵۵

دکتر محمدحسن گریمیزاد - دکتر همایون فیضی - دکتر ریحان میردامادی - محمود امامی کورنده*

دانه‌هارشد نمیکرد دلیل بر عدم آبستنی می‌دانستند مدت زمانی زهدان را دوشاخه می‌پنداشتند و عقیده براین بود که شاخه راست محل پرورش جنین پسر و شاخه چپ محل رشد جنین دختر است. سالیان در ازاعکس العمل زن در دوره آبستنی مثل وجود پیگمانهای صورت، خط وسط شکم و تغییرات نوک پستان، حرکات جنین در شکم مادر، حرکات مادر در دوران آبستنی و بالاخره ادامه استفراغهای آبستنی را مورد بررسی قراردادند که بطورکلی نتیجه قانع کننده‌ای از آن حاصل نشد.

Bischoff در سال ۱۸۴۴، تعیین جنس جنین را ناشی از ساختمان تخمک قبل از لفاح میدانست و بر اساس این فکر Schoender ۱۹۰۹ جنین پسر را حاصل تخدمان راست و جنین دختر را محصول تخدمان چپ دانست و با در نظر گرفتن اینکه هر یک از تخدمانها متناوباً یکماه در میان تخمک گذاری میکنند، عقیده داشت بعداز تولد اولین فرزند و بررسی دقیق تاریخچه زایمان می‌توان جنس جنین را پژوهی پیش‌بینی کرد و این عقیده تاکنون کشف ساختمان کروموزومهای انسانی و اینکه اسپرماتوزوئید تعیین کننده جنس جنین میباشد، به قوت خود باقی بود.

در سالهای اخیر بررسی هورمون ادرار مادر، کلروفتری بزاق، رادیولوژی، ایمونولوژی (۷-۴) آمنیوگرافی وبالاخره پس از

تعیین جنس جنین قبل از تولد (Antenatal sex determination) تاریخچه: از زمانهای بسیار قدیم یکی از آرزوهای انسان‌دانستن جنس جنین قبل از تولد بوده است. برای نیل بدین هدف تلاش‌های زیادی همواره با اعمال خارق‌العاده انجام شده است و از علم اعداد، جادوگری، خواب دیدن، آزمایش بر روی احتشاء داخلی حیوانات قربانی، پرواز پرنده‌گان و بسیاری کارهای دیگر کمک والهای گرفته شده است (۱). تعیین جنسیت مخصوصاً برای خانواده‌های سلطنتی که دختران از رسیدن بحتاج و تخت محروم بوده‌اند اهمیت بیشتری داشته است.

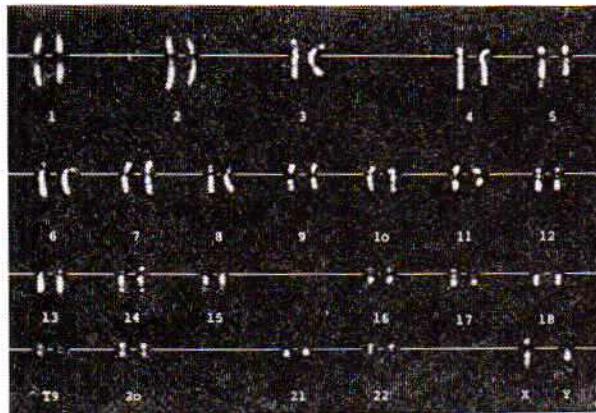
تاریخچه تعیین جنس جنین قبل از تولد در مطالعه بسیار جالب Fushs و Cederqvist پژوهی بیان شده است (۲). در اینجا اهم نکات آنرا نقل میکنیم. قدیم‌ترین گزارش که در این مورد در دست میباشد مر بوط به مصریها است. نوشته‌های Barol papyrus که احتمالاً مربوط به سالهای ۱۲۵ قبل از میلاد مسیح است، طریقه تعیین نوع جنین را قبل از تولد جنین شرح میدهد (۳):

دو کیسه یکی محتوی دانه‌های گندم و دیگری محتوی دانه‌های جو را بوسیله ادرار زن آبستن آبیاری مینمودند در مدت معین چنانچه دانه‌های گندم جوانه میزد جنین را پسر و در صورت پرورش دانه‌های جو جنین را دختر میدانستند. چنانچه هیچیک از

* Antental Sex Defermination by Analysis of X and Y Bodies of Amniotic Fluid Cells.
Report 64 cases and their results

* این طرح با کمک مالی شورای توسعه و تشویق پژوهشگاه علمی و آموزش عالی انجام یافته است.
** بیمارستان جهانشاه صالح - دانشکده پزشکی رازی، دانشگاه تهران.

از زمانیکه Casperson (۲۴-۲۲) خاصیت فلور سنت شدید بازوها بلندر کرده و وزن ۷ را در مرحله متافازوپیرسن (۲۵) وجود نتنه شفاف معادل آنرا در حالت انترفالز سلول‌های بدن مرد نشان دادند، عده‌ای از متخصصین در صدد برآمدند که بررسی جسم ایگر گ را هم بعنوان وسیله‌ای برای تشخیص جنسیت مورد استفاده قرار دهند (۲۶ و ۲۱) (۲۰-۲۱) (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل شماره ۲-۲- کاریو تیپ تنظیم شده مرد طبیعی، رنگ آمیزی کنیا کرین مستار.

ما نیز بفکر افتادیم که با بررسی استفاده از هر دو وسیله، یعنی بررسی جسم ایکس وایگر گ، تعیین جنس‌جنین را قبل از تولد مورد مطالعه و این مطالعه را بمنظور زیربنای برای مطالعه کامل آمنیون و کشت آن قرار دهیم.

با استفاده از کمک مالی وزارت علوم و آموزش عالی این مطالعه از اول خردادماه سال ۵۳ شروع و مدت ۱۸ ماه بطولانجامید و در این مدت ۶۴ مورد مایع آمنیون تحت مطالعه قرار گرفت. روش کار:

مایع آمنیو تیک از زائوها یکی که در حال زایمان و یا نزدیک شروع زایمان بوده‌اند تهیه شده است. مگر در چهار مورد که دو مورد از آنها ۷ ماهه و دومورد سه‌ونیم‌ماهه بوده‌اند. آمنیو سنتز بدوطریق انجام گرفته است.

۱- از طریق دهانه رحم (Transvaginal) - چنانچه کیسه آب سالم و اتساع دهانه رحم از سه سانتیمتر بیشتر بود و سر جنین در پائین قرارداشت از این طریق استفاده می‌شد.

۲- از راه شکم (Transabdominal) - بدین ترتیب ابتداء پشت جنین را بوسیله لمس معلوم کرد از نقطه مقابل آن تحت شرایط کاملاً استریل، با سوزن پونکسیون وارد کیسه آب جنین شده در حدود ۲۰-۲۰ میلی لیتر مایع آمنیو تیک بزل میکنیم . سپس مشخصات کامل زائورادرد و برگ یادداشت می‌کنیم. یکی از رفقه هارا با مایع بزل

کشف کرده امین جنسی بوسیله دکتر بار در سال ۱۹۴۸ (۸) بررسی جسم بار در سلوهای شناور مایع آمنیون مورد توجه قرار گرفت و مورد استعمال بالینی پیدا کرد (۹-۱۴).

تعیین جنس‌جنین قبل از تولد گذشته از اینکه از نظر والدین ممکن است ارزش خاص داشته باشد، در بیماریهای نهفته درمان- ناپذیر از قبیل دیستروفی عضلانی دوش و بیماری هنتر (Hunter) و همچنین بیماری هموفیلی، اهمیت حیاتی دارد (۱۵-۱۷).

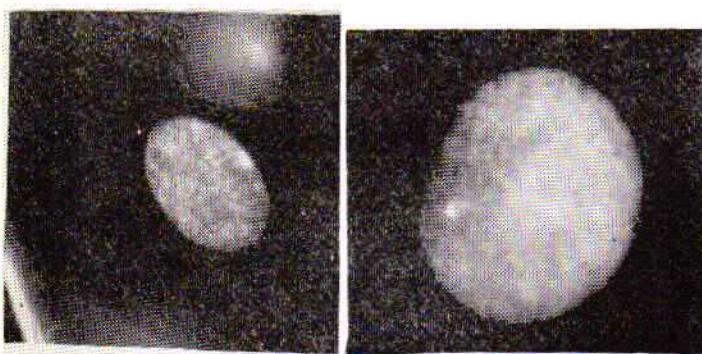
بطوریکه میدانیم در این قبیل بیماریها نیمی از پسرها مبتلا می‌باشند در صورتیکه دختر فقط می‌تواند حامل زن بیماری باشد و خود شخصاً سالم است (۱۸). صفاتی وابسته بجنس نسبتاً زیاد McKusick تواسته است ۱۲۳ صفت وابسته بجنس را جمع آوری کند (۱۹).

در سال ۱۹۵۵ چهار گروه مختلف در چهار نقطه جهان Fuchs و Riis در کبه‌اک (۱۴)، Shettles در نیویورک (۱۱)، Serr و Makowski در اورشلیم (۹) و Dahon Sachs در تهران (۱۰) با استفاده از کروماتین جنسی در سلوهای مایع آمنیون در صدد تعیین جنس‌جنین برآمدند.

از طریق بررسی کروماتین جنسی پیش‌بینی صحیح در ۱۷ مورد از ۱۸ مورد مایع مطالعه Fuchs و Riis (۱۴) و در ۲۱ مورد از ۲۲ مورد تحت مطالعه Emery، در ۷۱ مورد از ۷۵ مایع مطالعه Nadler و Barter و در ۲۰ مورد از ۲۱ مطالعه Jacobson Amarose و در تمام ۳۷ مورد از ۳۷ نمونه قابل بررسی مورد مطالعه گزارش شده است. بطور کلی دقت این پیش‌بینی ۹۵ درصد گزارش شده است که بین صفر تا ۱۰ درصد اشکال بعلت نقص تکنیک پیش آمده است (۲۰).



شکل شماره ۱- رنگ آمیزی کاریو تیپ مرد طبیعی با هیدرو-کلرید کنیا کرین، بازوها بلندر و برآق کرده و وزن ۷ کاملاً مشخص است.



شکل شماره ۵ - جسم ایکس رنگ فلورستت هیدرو کلرید کنیا کریں درشت نهانی اصلی ۶۰۰.

شکل شماره ۶ - جسم ایگر گرنگ فلورستت هیدرو کلرید کنیا کریں نوجه: جسم ایگر گرنگ از جم ایکس کوچکتر، بزرد و شفاف‌تر است.

یخچال حداقل مدت نیمساعت قرار میدهیم و آنگاه با نور فلورستت میکروسکوب لیتز (Leitz) میبینیم. جسم ایگر گ بصورت نقطه شفاف و درخشنan که از دیگر قسمتهای هسته فلورسانس پیشتر دارد، دیده میشود. این نقطه معادل قسمت انتهائی بازوهاي بلند کرموزوم ایگر گ در حالت متافاز میباشد.

تجربه نشان داده که بهتر است لام تهیه شده حداکثر در فاصله دو هفته تحت آزمایش قرار گیرد و در ثانی سرد نمودن لام در داخل یخ زن رابطه مستقیم با کیفیت کارو دیدن جسم ایگر گ دارد، مضارفاً بدین نتیجه رسیدیم که هر گاه لام رنگ شده در عرض نورفلورست برای چند دقیقه و یامدت طولانی در هوای آزاد قرار گیرد بتدریج کرنگ میشود و دیگر جسم ایگر گ قابل تشخیص نیست و چنانچه مجدداً در داخل یخچال گذارده شود رنگ فلورست، سلوها و جسم ایگر گ مشخص میشود (شکل شماره ۴ و ۵).

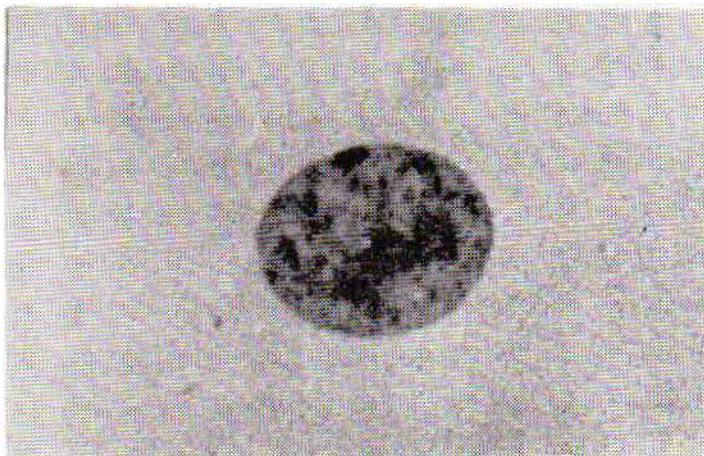
گاهی اوقات جسم ایکس هم با کلیه خواص خود بصورت نقطه مثلثی یا هلالی فلورستت که از جم ایگر گ بزرگتر و خاصیت فلورست کمتر دارد قابل روئی است. پس از تطبیق و مقایسه نتیجه بررسی جسم ایکس واگرگ جنس جنین تبیین و با جنس نوزاد که در نزد یکی ازما محفوظ است، تطبیق میگردد.

در صورت وجود اختلاف ویا بروز هر گونه اشکال دیگر بوسیله مددکار اجتماعی، مادر و طفل به بیمارستان دعوت میشوند. از نوزاد معاینه کامل بالینی مخصوصاً بررسی دستگاه تنفسی خارجی به عمل می‌آید و برای اطمینان خاطر بوكال اسمیر انجام میدهیم و چنانچه مطالعه جسم ایکس واگرگ که در آزمایش بوکال اسمیر متابیر با جنس نوزاد باشد ویا اینکه کوچکترین ناهنجاری در دستگاه تنفسی خارجی مشاهده گردد، از نوزاد کاریو تیپ بعمل می‌آید.
نتیجه:

مجموعاً ۴۰۰ مورد مایع آمنیون دریافت گردید. از این تعداد در چهار

شده به آزمایشگاه سیتوژنیک ارسال می‌داریم و برگ دیگر نزد پونکسیون کننده، باقی می‌ماند که پس از تولد جنس‌جنین در روی آن یادداشت میگردد.

مایع بزل شده آمنیون را بمدت ۱۵-۲۰ دقیقه با دور دوهز از دردیقیمه، سانتریفوژ واز ته فشین آن چند اسمیر نسبتاً ضخیم تهیه مینمایم و با فاصله لام را در محلول الكل ۹۶ درصد انداخته ثابت میکنیم. سپس تعدادی از لامها را با محلول تیونین بطریقه Ludwig (۲۶) رنگ کرده از نظر کروماتین جنسی مورد بررسی قرار میدهیم و سعی می‌شود حداقل یک صد سلول سالم بررسی شود. با این رنگ آمیزی که فقط DNA را رنگ مینماید چنانچه رنگ آمیزی صحیح انجام گیرد، سیتوپلاسم رنگ نمیگیرد در صورتیکه هسته بر نگ بنفس درمی آید. جسم بار بصورت برآمدگی مثلثی یا هلالی در کنار هسته و چسبیده روی پرده هسته دیده می‌شود گاهی کروماتین جنسی در وسط هسته قرار دارد و کاملاً قابل تمیز است ولی بمنظور جلوگیری از هر گونه اشتباه فقط آن عدد از کروماتین جنسی که روی پرده هسته قرار دارد و کلیه خواص کروماتین جنسی را داشته باشد بعنوان جسم بار بمنظور میشود. (شکل شماره ۳).



شکل شماره ۳ - جسم بار (کروماتین جنسی) رنگ آمیزی تیونین درشت نهانی اصلی ۶۰۰

برحسب مقدار سلول موجود روی لام یک الی دو لام دیگر را در محلول نیم درصد الكل هیدرو کلرید کنیا کریں (نیم گرم پودر هیدرو کلرید کنیا کریں درصد سانیمتر الكل متبلیک خالص) به مدت ۱۲ دقیقه قرار میدهیم.

پس لام را از داخل محلول در آورده داخل ظرف آب مقتدر دو الی سه بار تکان میدهیم بعد لام را در آب مقتدر خیس کرده روی لام میگذاریم. آب اضافی سطح لام را با کاغذ خشک کن میگیریم، لام رنگ شده را داخل قسمت یخ زن (Freezer)

بحث:

وجود کروماتین جنسی را در سلول‌های آمنیون جنین پسر دیگر مؤلفین منجمله Makowski (۱۰) و همکاران در بعضی موارد تا ۲۲ درصد گزارش نموده‌اند. در نه مرد از نمونه‌های مورد آزمایش ما نیز کروماتین جنسی در ۱۵ تا ۴۵ درصد سلول‌ها دیده شد و تنها وسیله تشخیص جنس در این موارد وجود جسم ایگر گ ک در عده‌ای از سلول‌ها مارا بفکر جنین پسرواحتمالا وجود اختلال در اختیان کروموزومی از قبیل XY/XX و یا XO خواهیم بود و تا بررسی بوکال اسمایر آنان این احتمال را رد نمود.

در چند مطالعه مجدد که پس از اطلاع از جنس جنین به مل آمد بازهم کروماتین جنسی بهم‌مان نسبت که قبل از اطلاع از جنس بدست آمده بود، مثبت بود. ما اطمینان یافته‌ایم که لा�ک در ماههای آخر حاملگی، تعداد نسبتاً زیادی سلول با کروماتین جنسی مثبت در داخل مایع آمنیون جنین پسر دیده می‌شود که احتمالا منشاء مادری دارند ولی طریقه و روایین سلول‌ها داخل مایع آمنیون بر ما روشن نیست.

در بررسی Valanti و همکاران (۲۰) که روی یکصد و یازده مورد مایع آمنیون در دوین سه‌ماهه حاملگی و شش مورد موقع زایمان با مطالعه جسم ایکس وایگر گ انجام داده‌اند، صحبت پیش‌بینی در مطالعه جسم ایکس بنتهای ۵/۷ درصد و در بررسی جسم ایگر گ ۴ درصد بوده است. در بررسی ما دقت پیش‌بینی در مطالعه جسم بار بنتهای در (۸۱٪) از ۶۰ مورد صحیح بوده است و یازده مورد (۱۹٪) اختلاف وجود داشته است که پس از مقایسه واستفاده از هر دو آزمایش نه مورد اختلاف تصحیح گردید و مجموعاً (۹٪) ۵۸ مورد پیش‌بینی صحیح بوده است.

در بررسی Valanti و همکاران استفاده از نور فلورست دقت پیش‌بینی را کمتر نموده است بطوریکه صحبت پیش‌بینی با استفاده از نور فلورست نو زاد ۹۴٪ بوده است.

در مطالعه‌ها استفاده از نور فلورست مخصوصاً در نه موردیکه جسم بار به نسبت خیلی بالا می‌باشد کمک فوق العاده مؤثری بوده است ولی تفاوت کلی کار ما با گروه والانی در سن حاملگی است که نمونه‌های مادر هنگام زایمان تهیه شده و در گروه آنان فقط در شش مورد در دوین سه‌ماهه حاملگی نمونه‌گیری بعمل آمده است. در چند مورد از نمونه‌های مر بوط به جنین دختر جسم ایکس به نسبت چند درصد (در یک مورد ۲۵٪) قابل تشخیص بود. جسم ایکس از جسم ایگر گ بزرگتر و خصوصیاتی کاملاً شبیه جسم بار را دارد و لی خاصیت فلورست آن از جسم ایگر گ کمتر است. وجود

نمونه‌آن مقدار مایع خیلی کم و لامهای تهییشه فاقد سلول بود و قابل آزمایش نبود.

اعتقاد ما براین است که در مرد طبیعی جسم بار وجود ندارد و همیشه کروماتین جنسی، صد درصد منفی است و در بروکال اسمایر زن طبیعی هم بین ۵۰-۲۰ درصد جسم بار دیده می‌شود. چنانچه کروماتین جنسی کمتر از ۱۰ درصد مثبت باشد بفکر موزائیسم کروموزومی از قبیل XX/XY و یا XX/XO خواهیم بود و تا بحال همیشه در قضاوت خود محق بوده‌ایم.

ولی در بررسی مایع آمنیون این امر صادق نبود بطوریکه وجود کروماتین جنسی را کمتر از ۱۰ درصد بحساب جنس مذکور گذارد و بیش از آنرا جنس مؤنث شمرده‌ایم. معذالت ۹ مورد اختلاف واضح پیش‌آمد. نتیجه پیش‌بینی جنس نوزاد با بررسی کروماتین جنسی در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱

پیش‌بینی جنس نوزاد در ۶۰ مورد مایع آمنیون با بررسی کروماتین جنسی.

جنس نوزاد	جنس پیش‌بینی شده پسر	جنس پیش‌بینی شده دختر	صحیح	اختلاف
دختر ۳۱	۲۹	۲	۲۹(٪۹۳)	۲(٪۷)
پسر ۲۹	۹	۲۰(٪۶۹)	۹(٪۳۱)	
جنس پیش‌بینی شده	۲۸	۲۲	۴۹(٪۸۱/۶)	۱۱(٪۱۸/۴)

در مطالعه با نور فلورست در نه مورد از ۳۸ موردیکه جسم بار مثبت بیش از ده درصد داشته و قاعده‌اً باید بعنوان جنین دختر تلقی شوند جسم ایگر گ به نسبت ۱۲-۳۵ درصد دیده شد.

لذا در این موارد با استفاده از مجموع نتیجه دو آزمایش نوزاد بعنوان پسر داھتمالاً مبتلا بسندرم کلین فلتز گزارش گردید. در نتیجه، تشخیص جنس نوزاد بر مبنای استفاده از هر دو روش بشرح زیر می‌باشد.

جدول ۲- پیش‌بینی نوزاد در ۶۰ مورد مایع آمنیون با بررسی جسم ایکس و ایگر گ

جنس نوزاد	جنس پیش‌بینی شده پسر	جنس پیش‌بینی شده دختر	صحیح	اختلاف
دختر ۲۹	-	۲۹	۲۹	درصد تعداد
پسر ۳۱	۲۹	۲	٪۹۳	٪۷
جمع ۶۰	۲۹	۲۱	٪۶۶/۶	٪۲/۳

خلاصه و نتیجه:

بمنظور تعیین جنسیت قبل از تولد، کروماتین جنسی و جسم ایگر گ باطريقه فلورستن در ۶۴ مورد مایع آمنیون مطالعه شد. آمنیو سنتز در ۶۰ مورد هنگام شروع یا مراحل ابتدائی زایمان ۲ مورد در سه‌ونیم ماهگی و ۲ مورد در هفت ماهگی آبستنی بعمل آمد. دقت پیش‌بینی در بررسی جسم بادبنتهای در جنین دختر ۹۳ درصد و در جنین پسر ۶۹ درصد و بطور کلی ۸۱/۶ درصد میباشد. در نه مورد از ۳۸ موردیکه در آنها کروماتین جنسی بیش از ده درصد بود مثبت و قاعده‌تاً باید بحساب جنس دختر گذارده شود. جسم ایگر گ هم دیده شد لذا در این موارد با استفاده از مجموع بررسی جسم ایکس وایگر گ تشخیص نهایی جنس جنین بعنوان پسر گزارش گردید و صحت پیش‌گوئی در جنین پسر به صد درصد افزایش یافت و نتیجه‌کلی پیش‌گوئی به ۶۶/۶ درصد رسید. وجود کروماتین جنسی مثبت به نسبت ۱۴-۴۵٪ در جنین پسر غیرعادی و دور از انتظار است که دیگر مؤلفین بدین نسبت کمتر گزارش کرده‌اند، باعتقد ما این سلوهای منشاء مادری دارند ولی طریق ورود آنها بداخل حفره آمنیون بر ماروش نیست.

جسم ایکس را با نور فلورستن Greensher و همکاران (۲۶) نیز در سلوهای ژلاتین وارتون و همچنین سلوهای مخاط دهان جنس ماده بین ۵۰-۳۵٪ گزارش نموده‌اند ولی در مایع آمنیون موفق بودند آن نشده‌اند. در بعضی نمونهای مورد آزمایش سلوهای مخاط دهان، ژلاتین وارتون بند ناف و مایع آمنیون، توانستیم بخوبی جسم ایکس را به نسبت کمتری حداکثر تا ۲۵٪ ببینیم. با اینکه صحت پیش‌بینی در مطالعه ما ۹۸٪ و روش انجام کار نسبتاً آسان است و در فاصله زمانی کوتاه میتوان بنتیجه رسید معداً لک بعقیده ما همچنانکه دیگر محققین خاطر نشان ساخته‌اند (۲۸-۲۹) کشت مایع آمنیون و تهیه کاریوتیپ مطمئن‌ترین وسیله برای تعیین جنس و بیماریهای ارثی است ما در صدد هستیم با الهام از کارهای لفوسیت‌های جنین را بداخل خون مادر نشان دادند، با انجام کشت خون در ابتدای دوران باروری (۲۲-۳۴) بتوانیم جنس جنین و کاریوتیپ آنرا تعیین نماییم. مطلب قابل توجه در این مطالعه وجود جسم بار به نسبت زیاد در نه مورد (۳۱٪) از ۲۹ مورد مایع آمنیون دلیل جنین پسر می‌باشد، که در مطالعات دیگر محققین بدين تعداد و بدين نسبت گزارش نشده است.

REFERENCES :

1. Abdul-Karim, and Ilia, F.: Antenatal diagnosis of sex: Lebanese Med. J. 14: 410, 1961.
2. Cederqvist L.L; and Fushs F.: Antenatal sex determination a historical Review Clin, Obstes. Gynecol 13, 159, 1970.
3. Blakely, S. B: Diagnosis of the human fetus in utero Amer J. Obstet Gynec, 34: 322. 1937.
4. Davis. M.: New Method for prediction of the sex of the fetus. New Eng. J. Med. 210: 421. 1934.
5. Hinglai H. and Hinglais, M.: Sex du fetus et titre hormonal du sang maternal. C.R. Soc Biol.(Paris) 126: 582, 1937.
6. Burrows. H. Macleod, D. H, and Warren, F. L.: Excretion of ketosteroias in human pregnancy urin in relation to the sex of fetus. Nature 194: 300. 1942.
7. Nieburgs, H.E. et al;: Studies on the Variations of blood gonadotrophins and Vaginal smear during pregnancy in correlation with the fetal, sex. Eedocrinology 40: 440, 1947.
8. Barr, M. L. : and Bertram, E . G. : Morphological distinction between neurons of the male and female, and the behaviour of nuclear satellite during accelerated nucleoprotein synthesis Nature 163.: 676, 1949.
9. Serr, D.M. Sach L. and Danon, M: Diagnosis of fetal sex in Utero Bull. Res. Counc. Isreal 5B: 127, 1955.
10. Makoski, E.; L; et al. Detection of sex of fetuses by the incidence of sex chromatin body in nuclei of cells in amniotic fluid science 123: 542. 1956.
11. Shettles, E, K, and Grundt, I,: Nuclear morpholgy of cells in human amniotic fliud in relation to sex of infant: Am. J. Obstet. Gynecol 71: 831, 1956.
12. Fushs, and Riis, P.: Antenatal sex determination. Nature 177: 330, 1958.

13. James, F.: Sexing foetuses by examination of amniotic fluid Lancet 1: 202, 1656.
14. Riis P. and Fushs. F. Antenatal determination of fetal sex in prevention of hereditary diseases lancet 2: 160, 1960.
15. Fushs F.: Genetic information from amniotic fluid. Clin. Obstet Gynec. 9: 595, 1966.
16. Jacobson, C. B; and Barter, R. H.: Am. J. Obstet., Gynec 99, 796, 1967.
17. Fratantoni J. C. Hall. C. W. and Neufeld, E. F.: Defect in hurlers and, hunters syndromes faulty degradation of mucopoly saccharide. proc. Nat. Acad. Sci (WASH) 90: 699, 1968.
18. Kariminejad, M. H.: Basic of human Genetics. Tehran Iran, 1975.
19. McKusick V. A: Human Genetics. Foundation of modern genetics series 2 nd ed . Prentice Hall Inc 1969.
20. Valenti. et al: prenatal sex determination Am. J. Obstet yynec 112: 890, 1972.
21. Khudr G; and Benirschke K;: Fluorescence of the Y chromosome. A rapid test to determine fetal sex Am. J. Obstet. Gynec. 110: 1091, 1971.
22. Caspersson T; Farber, S. Foley. G. E. et al: Exp. Cell. Res. 49: 219, 1968.
23. Caspersson, T; et al: Fluorescent staining of heteropycnotic chromosome regions in human interphase, nuclei. Exp. cell Res. 61: 72,1970.
24. Caspersson T. Zech L. and Lindsten: Identification of human chromosomes by Fluorescence Techniques Triangle 11: 73, 1972.
25. Pearson P, L; Bobrow. M. and Vosa C. G. Technique for identifying Y chromosomes in human interphase nuclei, Nature 226: 78, 1970.
26. Greensher, A. et al: Screening of newborn infants for abnormalities of the Y, Chromosome. J. Pediatrics 70: 305, 1971
27. Klinger H. P and Ludwig K. S: A universal stain for the sex chromatic body stain Technolo 32: 235, 1957.
28. Gerbie A. B. and Nadler H. L: Amniocentesis in genetic counseling Am . J. Obstet. Gynec 109, 765, 1971.
29. Nadler H. L. Newer procedure in the preconceptional, prenatal and early postnatal diagnosis of birth defects Birth Defects Original article series Vol. vi, No, 1 May 1970.
30. Marchest, V. T. and Govans. J. L. : Migration of lymphocytis through the endothelium of venules in lymph nodes. an electeron microscope study. proc. Roy soc (Biol) 159: 283, 1964.
31. McLaren. D. C. and Fish. S. A.: Fetal erythrocytes in the maternal circulation Am. J. Obstes. Gynec 95: 824, 1966.
32. Walknowska. J. Conte F. A. and Grumbach M. M.: Practical and theoretical imphications of fetal maternal lymphocyte transfer: Lancet 1, 1119, 1969.
33. Schroder, J. and albert de la chapelle, A. Fetal lymphocytes in the maternal blood Bood 39:153 ,1972.
34. Grosset L. Barrelet. V. and odartchenko N.. Antenatal fetal sex determination from maternal blood during early pregnancy am. J. Obstet. Gynecol 130, 60' 1974.