

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

İLK TRİMESTER SPONTAN DÜŞÜKLERDE FETAL,
MATERNAL VE PATERNAL SİTOGENETİK
İNCELEMELER

164888

Erdal TUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Osman DEMİRHAN

ADANA-2005

164888

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

İLK TRİMESTER SPONTAN DÜŞÜKLERDE FETAL,
MATERNAL VE PATERNAL SİTOGENETİK
İNCELEMELER

Erdal TUNÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Prof. Dr. Osman DEMİRHAN

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
TF2003YL6 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

Tez No:.....

ADANA-2005

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora/Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan **“İLK TRİMESTER SPONTAN DÜŞÜKLERDE FETAL, MATERNAL ve PATERNAL SİTOGENETİK İNCELEMELER”** adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora/Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28/01/2005

İmza

Ünvanı, Adı ve Soyadı,
Üniversitesi
Jüri Başkanı

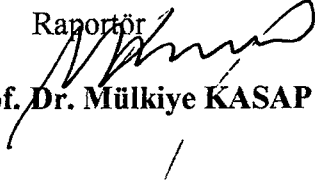
Prof. Dr. Osman DEMİRHAN



İmza

Ünvanı, Adı ve Soyadı,
Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Mülkiye KASAP



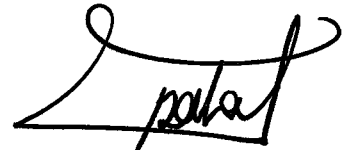
İmza

Ünvanı, Adı ve Soyadı,
Üniversitesi
Raportör

Prof. Dr. Kıymet AKSOY



Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 09.02.2005 tarih ve 3.1.19.09 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Sait POLAT
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Öncelikle bu tezin hazırlanmasında her aşamada yol göstericiliğini, desteğini ve emeğini esirgemeyen hocam sayın Prof. Dr. Osman DEMİRHAN'a tüm içtenliğimle teşekkür borç sayıyorum. Yine tezimin yürütülmesi süresince Anabilim Dalımızın tüm imkanlarından faydalanmama olanak tanıyan hocam ve Anabilim Dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mülkiye KASAP'a ve hocam sayın Prof. Dr. Halil KASAP'a teşekkür ederim.

Çalışma örneklerimin alınmasında katkılarını esirgemeyen fakültemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Fatma Tuncay ÖZGÖNEN'e, Prof. Dr. Cüneyt EVRÜKE'ye ve Doç. Dr. Cansun DEMİR'e teşekkür ederim. Aynı zamanda Adana, Sağlık Bakanlığı Doğumevi SEPTİK SERVİSİ doktorlarına ve hemşirelerine; SSK Doğumevi NİSAİYE SERVİSİ doktorlarına ve hemşirelerine, Doğuş Tıp Merkezinden Dr. Suphi ESKİOCAK'a ve görevli hemşirelere teşekkür ederim.

Ayrıca Anabilim Dalımız öğretim üyesi sayın Yard. Doç. Dr. Dilara SÜLEYMANOVA'ya, Uz. Dr. Nilgün TANRIVERDİ'ye ve tekn. Mehtap VARDİN'e de teşekkür ederim.

Son olarak, yaklaşık 1,5 yıl süren bu zorlu ve sabır gerektiren çalışmamda bana maddi ve manevi katkıları olan Anabilim Dalımız çalışanlarına en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1 Kısa Tarihçe	3
2.2 Kromozomların Yapısı	4
2.3 Habitual Spontan Abortus ve Nedenleri	5
2.4 Tekrarlayan Spontan Abortuslar ve Kromozom Anomalileri	7
2.5 Yapısal Kromozom Anomalileri	11
2.5.1 Delesyonlar ve Yüzük Kromozomları	11
2.5.2 Duplikasyonlar	11
2.5.3 İnversiyonlar	12
2.5.4 Translokasyonlar	12
2.5.5. İnsersiyonlar	13
2.5.6 İzokromozomlar	13
2.6 Sayısal Kromozom Anomalileri	14
2.6.1 Öploidi	14
2.6.2 Anöploidi	16
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler	20
3.2 Kullanılan Aygıtlar	21
3.3 Koryonik Villus veya Düşük Materyali Örneklerinden Kromozom Analizi	22
3.4 Kan Örneklerinden Kromozom Analizi	28
3.5 GTG Bantlama	29
3.6 Fotograflama	30

4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA.....	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
7. KAYNAKLAR	55
EKLER.....	60
EK-1.....	60
EK-2.....	61
EK-3.....	62
EK-4.....	62
EK-5.....	62
ÖZGEÇMİŞİM.....	63



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Çeşitli yapısal kromozom anomaliler	10
Şekil 2 Disseksiyon işlemi sırasında koryonik villusların 10X40 büyütmede çekilmiş bir görüntüsü.....	24
Şekil 3 Hasat aşamasına gelmiş hücre odağından bir görüntü	26
Şekil 4 Hasat işlemine hazır haldeki odaktan fotografik bir görüntü	26
Şekil 5 45,XO karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	35
Şekil 6 47,XXY karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	35
Şekil 7 47,XY,+21 karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	36
Şekil 8 69,XXX karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	36
Şekil 9 46,XX,inv(9)(p11;q13) karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	37
Şekil 10 46,XY,dup(16)(q12q21) karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü	37
Şekil 11 46,XX,15p+ karyotipli bir metafazın fotoğrafik görüntüsü	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1	Kromozom anomalilerinin sıklığı.....	9
Çizelge 2	Transport ve yıkama medyumunun hazırlanışı	23
Çizelge 3	Seyreltme medyumunun hazırlanışı	25
Çizelge 4	Chang In Situ medyumunun hazırlanışı.....	25
Çizelge 5	RPMI1640 medyumunun hazırlanışı	28
Çizelge 6	Düşük materyallerinden ve ebeveynlerden yapılan sitogenetik analiz sonuçları	32
Çizelge 7	Cinsiyete ve karyotipin normal-anormal olmasına göre maternal yaş, gebelik sayısı, düşük sayısı ve düşük haftalarının aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri	33
Çizelge 8	İncelenen düşük materyallerinde saptanan karyotiplerin dağılımı.....	34
Çizelge 9	İlk trimester düşüklüklerde saptanan kromozom bozukluklarının görülme sıklıkları	34
Çizelge 10	Anomali sayısı ve oranının cinsiyete göre dağılımı	39
Çizelge 11	Spontan düşüklüklerde kromozom anomalilerinin cinsiyete göre dağılımı	39
Çizelge 12	Düşük haftalarına göre olguların dökümü.....	39
Çizelge 13	Spontan düşüklüklerdeki kromozom anomalilerinin frekansı ve tipinin düşük haftasına göre dağılımı.....	40
Çizelge 14	Düşük sayısına göre olguların dökümü	41
Çizelge 15	Analiz edilen düşük materyallerinde ebeveyn yaşlarının dağılımı	42
Çizelge 16	Spontan abortuslarda saptanan kromozom düzensizliklerinin tip ve frekanslarının maternal yaşa göre dağılımı	43

ÖZET

İlk Trimester Spontan Düşüklerde Fetal, Maternal ve Paternal Sitogenetik İncelemeler

Bu çalışmada, tekrarlayan düşük olgularında sitogenetik faktörlerin rolü belirlenmeye çalışıldı. Bunun için 2 ve üzeri sayıda düşük öyküsü bulunan 31 annenin son düşüklerinden koryonik villus veya fetal doku örnekleri alınarak sitogenetik incelemeleri yapıldı. Bunun için uzun süreli doku kültür yöntemi kullanıldı. Buna paralel olarak incelenen olguların ebeveynlerinin de lenfosit kültürleri yapılarak karyotip analizleri gerçekleştirildi.

Çalışmamızda %77.5 oranında kültür başarısı elde edildi. Olguların %58'inde anomali saptandı. Bu anomalilerin %66.6'sı sayısal ve %33.3'ü yapısal anomali şeklindedir. Sayısal anomalilerin %42'sini trizomiler, %33'ünü triploidiler ve % 25'ini monozomiler oluşturmaktadır. Tüm olgular bazında yapısal anomali oranı %19.3'tür.

Çalışmamızda genel anne yaşı ortalaması 26.3 ± 6.2 'dir. Anne yaşı ortalaması normal ve anomalili olgularda sırasıyla, 27.8 ± 6.5 ve 25.3 ± 5.5 olarak hesaplandı. Anne yaşı ortalaması, trizomik olgularda 25.8 ve cinsiyet monozomilerinde 24 olarak bulundu. Tüm olguların düşük sayıları 2 ile 11 aralığındadır. Düşük sayılarının aritmetik ortalaması tüm olgularda 3.4 ± 2.0 ; normal olgularda 3.8 ± 2.2 ve anomalili olgularda 3.0 ± 1.7 şeklindedir. Tüm olgularda düşük haftalarının (gestasyonel yaş) aritmetik ortalaması 9.5 ± 3.5 , normal olgularda 8.2 ± 3.3 ve anomalili olgularda 10.5 ± 3.1 olarak hesaplandı. Çalışmamızda analizi yapılan 31 olgunun %45.2'si erkek ve %54.8'i kızdır. 14 erkek olgunun 10'unda (%71.4) anomali saptandı. Ayrıca, karyotip analizleri yapılan 31 çiftin 4'ünde kromozomal anomali saptandı. Anomali oranı çiftler bazında %13, bireyler bazında %6.5 olarak hesaplandı. Tüm bu bulgular, genel olarak literatür sonuçları ile uyumludur. Tüm bu veriler ışığında; elde ettiğimiz sonuçlar, düşük etiolojisinin aydınlatılması ve düşük öyküsü olan anne adaylarının bir sonraki gebelikleri için yol gösterici olması açısından oldukça önemlidir.

Anahtar sözcükler: Spontan düşük, Hücre kültürü, Kromozomal anomaliler, Sitogenetik analiz, Karyotipleme.

ABSTRACT

Fetal, Maternal and Paternal Cytogenetic Analysis in First Trimester Spontaneous Miscarriages

In this study, we aimed to determine the role of cytogenetic factors in recurrent miscarriages. Therefore, 31 mothers having two and more spontaneous abortions, accepted to this study and cytogenetic analysis was performed to fetal tissue or chorionic villus from their last abortion. We used the long term culture method for the tissue culture. In addition to this, for cytogenetic analysis of the parents of abortions, we used blood culture method. Thus, a total number of 93 materials were cytogenetically studied.

Our culture success rate, was 77.5% (31/40). 58% of abortuses that could be karyotyped were abnormal; 66.6% of these were numerical aberrations, and 33.3% were structural. A total number of 12 numerical aberrations, 5 of which (42%) were trisomic, 4 (33%) were polyploid, 3 (25%) were monosomic. Structural aberrations were found in 19.3% of all cases.

In our study, the mean maternal age of total cases was 26.3 ± 6.2 , of normal cases was 27.8 ± 6.5 and of abnormal cases was 25.3 ± 5.5 . The mean maternal age of trisomic and monosomic cases were 25.8 and 24, respectively. The mean number of miscarriages was 3.4 ± 2.0 (range 2-11). For normal and abnormal cases, the mean number of miscarriages was 3.8 ± 2.2 and 3.0 ± 1.7 consecutively. For total cases, the mean gestational age was 9.5 ± 3.5 (week). For normal and abnormal cases, the mean gestational age was 8.2 ± 3.3 and 10.5 ± 3.1 consecutively. Of the 31 abortuses that could be karyotyped, 45.2% (14) were male and 54.8% (17) were female. Ten of the 14 male cases (71.4%) had an abnormal karyotype.

In addition, 31 couples were karyotyped. Among 31 couples, 4 chromosome abnormalities were detected. The overall chromosome aberration frequency was 13% per couples (6.5% per individual).

Our results are generally in harmony with literature findings. We think that our results are important from point of genetic counseling and understanding of etiology of abortions.

Key words: Spontaneous abortion, Cell culture, Chromosomal abnormalities, Cytogenetic analysis, Karyotyping.

1. GİRİŞ

Bir bebeğin sağlıksız doğmasının başlıca nedenleri, genetik bozukluklar ya da intrauterin yaşam sũresinde embriyoya zararlı etki yapan faktœrlerdir. Genetik ve genetik olmayan etkenler dũřuk veya œlũ doğuma neden olabilmektedirler. 20. hafta dolmadan gebelik sũrecinin sona ermesine veya Dũnya Sağlık œrgũtũne gœre embriyo 500g ağırlığına ulaşmadan kũrete edilmek zorunda kalınan gebeliklere spontan abortus denmektedir¹. Bu durumun ikiden fazla kez tekrar etmesine habitual spontan abortus denmektedir. Gebeliklerin tekrar eder tarzda sonlanmasına yol aēan ve genetik olmayan nedenler arasında anatomik, endokrinolojik, immũnolojik ve trombofilik nedenler sayılabilir². Tekrarlayan dũřuk olguları, dũnyada ve œlkemizde kadınların sağlığını kœtũ yœnde etkilemektedir. Gũnũmũzde dũřuklerin ve œzellikle de tekrarlayan dũřuklerin bir œođunun nedeni aydınlatılamamaktadır. Bu nedenle tekrarlayan dũřuk œykũsũ olan anneler, yararlı bir tedavi sũrecine alınamamaktadırlar. Tekrarlayan dũřuklerin %40'nın nedeni aēıklanamamaktadır³. Bundan dolayı bu konuda genetik nedenlerin gœz œnũnde bulundurulması gerekmektedir. Genetik nedenler arasında ise kromozom dũzeyindeki nedenler œn plandadır. Spontan abortus vakalarına, tũm gebelikler iēerisinde, %15-40 oranında rastlanmaktadır. Birleşik Amerika Sağlık ve İnsan Hizmetleri Servisi, kliniğe başvuran gebeler arasında bu oranın %10-15 olduğunu bildirmiřtir⁴. Bundan dolayı bu vakaların etiyolojilerinin aēıklanması oldukēa œnemlidir. Tũm gebeliklerin en az %15'i, 12. gebelik haftasından œnce spontan dũřuk ile sonuēlanmaktadır. Bu dũřuk materyallerinden yapılan sitogenetik analizlerde, ortalama %50 oranında (%40-60) kromozomal anomaliye rastlandığı bildirilmiştir^{5,6}. Yine bu anomalilerden en sık gœrũleninin trizomiler (kayıpların %30'unda gœrũlũr) olduğu, bunları poliploidi ve monozomilerin takip ettiği (%10) bildirilmiştir^{7,8,9,10}. Tekrarlayan spontan abortus vakalarında sıklıkla trizomi 13, 14, 15, 16, 21, 22 ve monozomi X durumları gœzlenmektedir^{11,12,13}. Ayrıca, otozomal monozomilere de ender olarak rastlanmaktadır¹⁴. Spontan abortus vakalarında yapısal anomaliler, sayısal anomalilere gœre daha az sıklıkta gœrũlmektedir. Tũm spontan abortuslarda,

yapısal kromozom anomali oranının %1-2 olduğu rapor edilmiştir¹⁵. Tekrarlayan düşük öyküsü olan ebeveynlerin sitogenetik analizlerinde %4.8-7.2 oranında kromozomal anomalilere rastlanmaktadır. Tekrarlayan spontan abortus ile maternal, paternal ve fetal kromozom anomalileri arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Habitual spontan düşük ailelerinde, ebeveyn kromozom çalışmaları sık olmasına karşın, özellikle ülkemizde ve kısmen de dünyada koryonik doku kültür yöntemleri ile spontan düşük materyallerinden sitogenetik analiz çalışmaları enderdir. Bu nedenle, bu çalışmada; tekrarlayan düşük öyküsü ile başvuran ailelerde; anne, baba ve fütüsün sitogenetik analizi yapılarak, düşüklerin etiyojilerinin aydınlatması ve aileye bir sonraki gebeliğinde doğru ve güvenilir bir genetik danışmanlık verilmesi amaçlandı.



2. GENEL BİLGİ

2.1 Kısa Tarihçe

İlk defa 1956 yılında, Tjio ve Levan tarafından insan kromozom sayısının 46 olduğu saptanmıştır. İnsan kromozom sayısının kesin bir şekilde tespitinden kısa bir süre sonra, bir çok sayısal ve yapısal kromozom anomalileri saptanmış ve önceden tanımlanmış bazı sendromların kromozomlardaki değişikliklere bağlı olduğu gösterilmiştir. Sitogenetik çalışmalara paralel olarak, bulunan anomalilerin fenotip ile ve dolayısıyla klinik ile ilişkisi de yoğun bir şekilde araştırılmıştır.

1959 yılında Lejeune ve arkadaşları, Down sendromlu hastaların somatik hücrelerinde 46 yerine 47 kromozom olduğunu ve bu kromozom fazlalığı ile Down sendromu arasında bir ilişkinin bulunduğunu rapor etmişlerdir¹⁶. Yine Ford ve ark. ile Jakops ve Strong, seks kromozom anomalileri ile seksüel gelişme bozuklukları arasında bir ilişkinin olduğunu tespit etmişlerdir. Daha sonraki çalışmalarda, genetik materyalin; üreme kayıplarında, konjenital malformasyonlarda, mental retardasyonda ve kanserli hastaların etiopatogenezisinde önemli rol oynadığı ortaya konmuştur. 1970'li yıllarda kromozom analiz yöntemlerinde ve bantlama tekniklerinde sağlanan yeni gelişmelere paralel olarak, büyük yapısal anomalilerin yanında küçük çaptaki düzensizliklerin varlığı da ortaya konmuştur¹⁶.

Bu genel sitogenetik gelişim sürecine paralel olarak embriyonal ve fetal dokulardan kromozom analizi fikri doğmuştur. İlk olarak trofoblast dokusundan prenatal tanı yoluna gidilmiştir. Ancak trofoblast dokusunun kültüründe karşılaşılan zorluklar nedeniyle bu dokudan sitogenetik analizler yavaşlamıştır. Ayrıca villus ve diğer koryonik doku kültürlerinde maternal kontaminasyon riskinin fazla olması da, bu çalışmalar için dezavantaj oluşturmuştur. Bu arada özel bir hücre grubu olan ve koryonik gonodotropin üreten Langhans hücrelerinin mitotik olarak aktivite gösterdikleri, otoradyografik ve histolojik incelemelerle belirlenmiş ve bu özelliklerinden yararlanılarak direkt olarak sitogenetik incelemelerin yapılabileceği anlaşılmıştır. Daha sonra koryonik villus hücreleri, tripsin ile muamele edilerek başarıyla uygulanılabilir bir yöntem

geliştirilmiştir. Bu arada normal karyotipli spontan abortuslardan elde edilen plasental kültürler ile fetal kültürler arası karşılaştırma çalışmaları sonucunda, fetal kültürlerin kısa zamanda kaliteli üreme gösterdikleri ve kültür süresince kromozom yapısını bozmadıkları; buna karşın plasental kültürlerin kısa sürede canlılıklarını yitirdikleri ve kromozomal olarak anormal olan koloniler oluşturdukları ortaya çıkmıştır. Daha sonra koryonun, diğer fetal dokulara göre daha uzun süre canlılığını koruduğu ve bu nedenle sitogenetik analizler için tercih edilebilecek tek doku olduğu anlaşılmıştır.

Koryonik villusların kültürü ile ilgili çalışmalara paralel olarak Langhans hücrelerinin mitotik aktivitelerinden yararlanmaya dayalı direkt kromozom analizi yöntemi geliştirilmiştir. Bu önemli gelişme prenatal tanı analizlerinde yeni bir çağ açmıştır. Koryon villuslarının direkt yöntem ve kültür yöntemi ile incelenebilmesi, hem ilk trimester abortusların sitogenetik değerlendirmelerinde ve hem de prenatal tanıda çok geniş bir uygulama alanı sağlamıştır¹⁶.

2.2 Kromozomların Yapısı

Kromozom kelime olarak renkli cisim (chromas=renkli, soma=cisim) anlamına gelmektedir. Kromozomlar bölünen hücrede görülebilen koyu boyanmış oluşumlardır. İnterfazda, spiralleri çözülmüş kromatin ipliklerinden oluşan yumak şeklindedirler. Ancak hücre bölünmesi sırasında ve özellikle metafazda kromozomlar spiralleşip kalınlaşarak kompakt bir şekil alırlar. Böylece kromozomlar, sayı ve morfoloji olarak incelenebilir duruma gelirler. Bu yapısal özelliklere sahip olan kromozomların çok önemli görevleri bulunmaktadır. Buna göre, kromozomlar bir hücrenin çekirdeğinde bulunan genetik materyalin bölünme sonucunda yavru hücrelere eşit şekilde dağılımını sağlarlar. Bunun yanında Mendel kurallarıyla açıklanan kalıtımdaki ayrışım ve dağılımı sağlayan taşıyıcı araç görevi görürler.

Somatik hücreler, iki gamette (insan gametlerinde 23 kromozom bulunur) bulunan kromozomların toplam sayısı kadar kromozom içerirler. 23 çift kromozomun 22 çifti, her iki cinste de aynıdır ve bunlara **otozomlar** denir. Bir çift cinsiyet kromozomu ise kadınlarda XX ve erkeklerde XY şeklinde bulunur ve

bunlara da **gonozomlar** denir. Bir metafaz kromozomu, mitotik anafazda ayrılacak olan iki kardeş kromatidden ibarettir.

Kromozomlar ışık mikroskobu ile incelendiklerinde bazı morfolojik özellikleri göze çarpar. Sentromer veya primer darlık olarak isimlendirilen kısım, kromozomun en soluk boya alan kısmıdır. Her kromozomda sadece bir sentromer mevcuttur. Sentromerler, hücre bölünmesi sırasında kromozomların iç iplikçiklerine tutunmasını sağlayan bölgelerdir. Kromozomlarda bir kısa kol ve bir de uzun kol mevcuttur. Kromozomlar sentromerlerinin lokalizasyonuna, total uzunluklarına ve kol uzunluklarına göre **metasentrik** (sentromer ortada), **submetasentrik** (sentromeri bir uca yakın) ve **akrosentrik** (sentromeri uçta) olarak üç kategoride incelenirler. Sekonder darlık denilen oluşum ancak belirli kromozomlarda (1, 9, 16, Yq) görülür. Ayrıca akrosentrik kromozomlarda **satellit** denilen yapılar da görülmektedir. Bu yapılar, kromozomların kısa kollarına bağlanan yuvarlak biçimdeki kromatin materyalleridirler. Kromozomlar büyüklüklerine ve sentromer pozisyonlarına göre A'dan G'ye kadar 7 grupta toplanırlar. Ayrıca, insan kromozomları 1'den 22'ye kadar numaralandırılırlar ve cinsiyet kromozomları da ayrı olarak ele alınırlar. Bu şekilde, kromozomların büyükten küçüğe doğru sıralanmış şekilde gösterilmesine **karyogram** adı verilir.

2.3 Habitual Spontan Abortus ve Nedenleri

20. hafta dolmadan gebelik sürecinin sona ermesine **abortus** denir. Üç veya daha fazla kez tekrar eden abortuslara, **habitual abortus** denir. Erken abortus, gebeliğin 12. haftasından önce; geç dönem abortus ise 12 ile 20. haftalar arasında gerçekleşen abortustur. Tam (Complete) abortus, tam olmayan (incomplete) abortus, threatened abortus, inevitable abortus, missed abortus, enfekte abortus ve septik abortus gibi çeşitli abortus şekilleri bulunmaktadır. Ancak bunlar arasında, gebeliğin 20. haftası dolmadan bütün konsepsiyon ürünlerini kaybı olarak tanımlanan **tam abortus (complete)** vakaları ile gebeliğin 20. haftası dolmadan konsepsiyon ürünlerinin bir bölümünün kaybı olarak tanımlanan **tam olmayan/eksik abortus (incomplete)** vakaları çalışmamız açısından önemlidirler.

Üreme kaybı spektrumu değerlendirildiğinde, spontan abortuslar en büyük bölümü oluşturmaktadır (%15-40). Diğer nedenler arasında, infertilite (%15), prematürite (%10), fetal ölüm (%1), ektopik gebelik (%1) ve neonatal ölüm (%1) sayılabilir. Spontan abortus ile sonlanan gebeliklerin %75 kadarı gebeliğin 16. haftasından önce, bunların da %62'si gebeliğin 12. haftasından önce kaybedilirler. Tanısı konamayan spontan abortusların oranının %8 olduğu belirtilmesine karşın, bu oranın daha yüksek olduğu kabul edilmektedir. Spontan abortus insidansını etkileyen en önemli faktör anne yaşıdır. 44 yaşın üzerindeki annelerde spontan abortus insidansı %36'dır. Gebeliğin çok erken dönemlerindeki abortuslar dikkate alındığında, spontan abortus oranı artmaktadır. Implantasyon öncesi ve implantasyon sonrası erken dönemler değerlendirildiğinde, %30 kadar gebeliğin henüz fark edilmeden sonlandığı saptanmıştır. Bu orana %15 dolayındaki klinik abortuslar da dahil edilirse spontan abortus insidansı %45 düzeyine ulaşır¹⁶.

Tekrarlayan spontan düşüklerde etiyolojik faktörler 6 ana başlık altında incelenebilir. Bunlar:

- Anatomik
- Enfeksiyon
- Sistemik
- Endokrinolojik
- İmmünolojik
- Trombofilik
- Genetik faktörlerdir.

Bunlar arasında genetik faktörler bizim açımızdan önemlidir.

Genetik faktörler: Günümüzde, genelde intrauterin yaşam ve özelde de insan embriyosu hakkında pek çok şey bilinmektedir. Bugüne kadar embriyonun gelişimi ve farklılaşması hakkında pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar neticesinde, embriyonun gelişimi hakkında pek çok yararlı bilgi elde edilmiştir. Ancak, embriyonik gelişimi ve farklılaşmayı belirleyen genlerin kontrolü hakkında sınırlı bilgimiz vardır. Bu bilgiler çerçevesinde denilebilir ki, intrauterin gelişimin herhangi bir basamağında hata meydana gelebilir. Bu hata sonucunda embriyo veya fötüs yaşamını yitirebilir. Bunun yanında meydana gelen hata

yaşamsal değilse, anomalili embriyo veya fötüsün intrauterin yaşamı devam eder ve sonuçta anomalili veya sakat birey doğar. Canlı doğanlarda yaklaşık 1/160 sıklıkta görülen kromozom anomalileri, insan morbiditesi ve mortalitesi bakımından önemli etiolojik faktörlerdir. Üreme kayıpları bakımından da kromozom anomalilerinin özel bir önemi vardır^{16,17,18,19}.

2.4 Tekrarlayan Spontan Abortuslar ve Kromozom Anomalileri

Tekrarlayan spontan abortus vakaları ile kromozomal anomaliler arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Bir bireyin bütün ontogenez süreci boyunca herhangi bir basamakta meydana gelecek DNA hasarı veya kromozom seviyesinde bir bozukluk sırasıyla, embriyoyu, fötüsü ve bireyi etkileyecektir. Bu etkilemenin dozajı, meydana gelecek anomalinin yaşamla bağdaşırılığı ve meydana geliş zamanı ile ilişkilidir. Burada ölüm ile normal yaşamı devam ettirme arasındaki bir spektrumda çeşitli fenotipik etkiler açığa çıkacaktır. DNA seviyesindeki anomaliler son derece önemli olmalarına karşın konumuz dışıdır. Ancak kromozom seviyesindeki düzensizlikler konumuz açısından oldukça önemlidirler.

İlk kez 1963 yılında abortus materyalleri sitogenetik yönden değerlendirmeye alınmıştır. Bu tarihten önce trizomi 17 ve 18'in letal etkiye sahip olduğu tespit edilmişti. Ayrıca bazı spontan abortus materyalleri üzerinde yapılan çalışmalarda triploid kromozom kuruluşuna rastlanmıştır. Bundan dolayı kromozom anomalileri ile spontan abortus vakaları arasında bir neden sonuç ilişkisi olduğu düşüncesi, 1963 yılından itibaren yaygınlık kazanmıştır. Spontan abortus materyalleri üzerinde yapılan sitogenetik analizler, çeşitli etnik gruplarda ve yaş gruplarında kromozom anomali oranının saptanması, bunların etiyojilerinin ve tekrarlama risklerinin belirlenmesi ve belirli mutajenlerin etkilerinin değerlendirilmesi yönünden büyük olanaklar sağlamaktadır.

Günümüze kadar gerçekleştirilen geniş çaplı araştırmalar değerlendirildiğinde; abortus materyallerinde kromozom anomali insidansları, %19 ile % 69.4 arasında değişik oranlarda saptanmıştır^{20,21}. Kromozom anomali insidanslarındaki bu geniş aralık için değişik faktörlerin etken olabileceği belirtilmektedir. Bunlardan biri coğrafik dağılımdır. Çeşitli sendromların görülme

sıklıkları populasyonlara göre farklılık göstermektedir. Buna bağılı olarak, coğrafik varyasyonun abortuslardaki anomali oranı üzerinde de etkili olabileceğı düşünölmektedir.

Spontan abortuslarda gözlenen kromozomal anomalilerin %90'nını, sayısal anomaliler; sayısal anomalilerin de %45'ini trizomiler, %25'ini monozomiler ve %20 kadarını poliploidiler oluşturmaktadır. Trizomi, abortuslarda en çok gözlenen sayısal kromozom anomalisidir. Trizomi 13, 14, 15, 21 ve 22 gibi anne yaşına bağılı olarak oluşun trizomilerin yanısıra; trizomi 4, 9 ve 16 gibi anne yaşıyla ilişkisi olmayan trizomiler de abortuslarda gözlenmektedir. Genel olarak büyük kromozomlara göre küçük kromozomların trizomi oranı daha yüksektir. Trizomik fötüslerde gebelik yaşı değerlendirildiğinde ortalama yaş 10.5 ± 0.5 hafta olarak saptanırken; bu sürenin büyük kromozomlarda daha kısa, E ve G grubu kromozomlarda ise daha uzun olduğı bildirilmiştir. Trizomik abortusların %70 kadarında ekstra kromozom maternal orijinlidir ve trizomiye yol açan hata birinci mayotik bölünmeden kaynaklanmaktadır¹⁶.

Spontan abortusların sitogenetik yönden değerlendirilmesinde en çok saptanan ikinci sayısal düzensizlik %25 oranında gözlenen monozomi X'tir. Canlı doğumlar arasında görülme sıklığı 0.06-0.2/1000'dir. Sitogenetik yönden tanısı konabilen bütün monozomi X'li gebeliklerin ancak %0.5 kadarı miyada kadar devam edebildiğinden monozomi X letaldir. Trizomilerin aksine monozomi X karyotipi ile maternal yaş ters orantılıdır. Monozomi X mekanizması henüz bilinmemektedir. Ancak anne yaşının ileri olmamasından dolayı, monozomi X düzensizliğinin maternal mayotik kromozom ayırlamamasından ileri gelmediğı düşünölebilir. Erken dönem mitotik bölünme sırasında seks kromozomu kaybı daha olası gözökmektedir¹⁶.

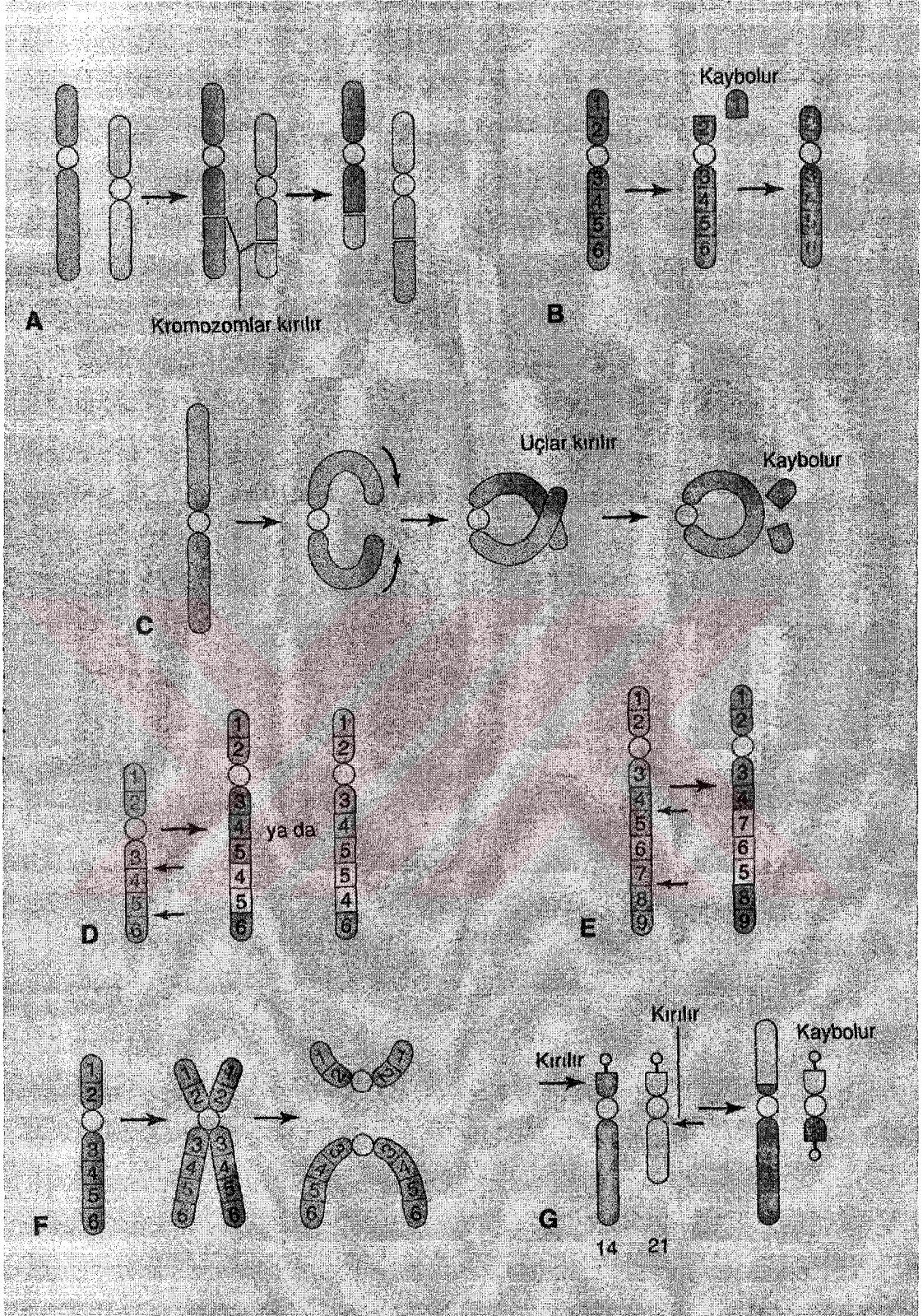
Spontan abortuslarda gözlenen sayısal anomalilerde üçüncü sırayı poliploidiler almaktadır. Abortuslarda, triploidinin görülme sıklığı tetraploidinin yaklaşık 4 katı kadardır; ancak tetraploidi, triploidiye göre daha letaldir. Triploidik abortuslara gebeliğın son dönemlerinde rastlanırken, tetraploidik abortuslara 6. hafta dolaylarında rastlanmaktadır¹⁶.

Kromozom anomalisi bulunan gebeliklerin yaklaşık %50'si, 13. gebelik haftasından önce abortusla sonuçlanmaktadır. Kromozomal anomali oranı, ölü doğumlarda %5-10, yaşayanlarda %0.6, düşük doğum ağırlıklı bebeklerde %2.2, zihinsel özürle birlikte doğumsal anomalinin görüldüğü olgularda %23, tekrarlayan düşüklere olan çiftlerde %5-7.2 ve infertilite nedeni ile incelenen çiftlerde %2 kadardır (Çizelge 1)²².

Çizelge 1. Kromozom anomalilerinin sıklığı²²

Anomali	Kromozom anomali sıklığı (%)
Canlı doğan	0,7
Zihinsel özür	12
Zihinsel özür ve doğumsal anomalili	23
Ölü doğum	6
İlk trimester spontan düşüklere	50
İkinci trimester spontan düşüklere	15-20
Tekrarlayan düşüklere olan çiftler	5
İnfertilite	2

Küçük miktardaki genetik materyal dengesizliği fötüsün daha uzun bir intrauterin yaşam göstermesine olanak sağlayabilir, fakat sonuçta doğacak çocuk fenotipik bakımdan anormal olacaktır. Spontan abortuslara neden olan kromozom anomalileri; en sık 13., 16., 18., 21. kromozomlar ve seks kromozomları ile ilgilidirler²³. Abortus materyalleri üzerinde yapılan sitogenetik incelemeler sonucunda, yukarıda sözü edilen ve diğer kromozomlarla ilişkili sayısal ve yapısal anomalilere rastlanmaktadır.



Şekil 1. Çeşitli yapısal kromozom anomalileri A) Resiprokal translokasyon, B) Terminal delesyon, C) Ring kromozom, D) Duplikasyon, E) Parasentrik inversiyon, F) Izokromozom, G) Robertsonian Translokasyon²⁴.

2.5 Yapısal Kromozom Anomalileri

Yapısal kromozom anomalileri göreceli olarak insan topluluklarında yaygın olarak bulunurlar. Bu tip anomaliler bir veya daha fazla sayıdaki kromozomda meydana gelen kırılmalar sonucu oluşurlar. Gonad hücrelerinde meydana gelen kromozom kırıkları kalıtımın konusu olan yapısal anomalilere yol açarken, somatik hücrelerde meydana gelen kırıklar kanser riskini artırırlar. Kromozomlar herhangi bir noktadan kırılabilirler, ancak genellikle belli bölgelerden kırılmayı tercih ederler. Bu bölgelere, **hotspot**'lar (sıcak noktalar) denir. Meydana gelen kırıklar çoğu zaman tamir edilirler. Bununla birlikte, çekirdekte yeterince yakın duran kırık uçlar birbirlerine yapışabilirler. Böylece yapısal olarak değişmiş kromozomlar meydana gelir²⁵.

2.5.1 Delesyonlar ve Yüzük Kromozomları

Kromozomdan parça kopması olayına **delesyon** denir. Bir kırılmaya bağlı olarak kromozomların uç bölgelerinde meydana gelen kayıplara **terminal delesyon** denir (Şekil 1B). İki kırılmaya bağlı olarak meydana gelen delesyonlar, eğer kırılmaların ikisi de aynı kol üzerinde ise **interstisyel delesyonlar**, her iki kol üzerinde ise **yüzük kromozomları** adını alırlar (Şekil 1C). Büyük delesyonlara nadir olarak rastlanır. Bunların önemlileri 4p-, 5p-, 9p-, 11p-, 11q-, 13q-, 18p- ve 18q- delesyonlarıdır. Terminal delesyonlar sonucu oluşan kırık uçların birleşme eğilimleri fazladır. Buna rağmen terminal delesyona uğramış kromozom taşıyan canlı doğumların görülmesi oldukça ilginçtir²⁵.

2.5.2 Duplikasyonlar

Homolog iki kromozomdan birinde çift darbe sonucu kopan parça, diğerinde tek darbe sonucu kopan aralığa girerek kaynaşacak olursa **artma** ya da **duplikasyon** olgusu meydana gelir (Şekil 1D). Duplikasyonlar daha çok mayoz bölünmelerde görülürler. Duplikasyonlar sonucunda, bir kromozom segmenti iki kopya halinde görülür²⁶.

Mayoz bölünme sırasında eşit olmayan krosing-over sonucu ortaya çıkarlar, dolayısıyla mayotik kromozomların birisinde duplikasyon varken diğerinde delesyon görülür. Duplikasyonlar, delesyonlardan daha sık görülmelerine karşın daha az zararlıdır²⁶.

2.5.3 İnversiyonlar

Bir kromozomun iki noktadan kırılması ve kopan parçanın 180° ters dönerek yine eski yerine yerleşmesine **inversiyon** denir. Kırılma, kromozomun aynı kolu üzerinde meydana gelir ve kopan parça ters dönüp tekrar aynı yere yapışır ise **parasentrik inversiyon** meydana gelmiş olur (Şekil 1E). Bu durumda sentromerin pozisyonu değişmez. Eğer kırılma noktaları kromozomun her iki kolu üzerinde olur ve sentromeri de içeren kopan parça, ters dönüp eski yerine yapışır ise bu durumda **perisentrik inversiyon** meydana gelmiş olur. Perisentromerik inversiyonların çoğu, sentromerin pozisyonunun değişmesinden dolayı açık bir şekilde gözlenebilirken, bazı perisentromerik inversiyonlar bu kadar kolay gözlenemezler. Parasentrik inversiyonlar ise çok daha az gözlenirler. Bununla birlikte parasentrik inversiyonlar, tüm kromozomlarda meydana gelebilirler^{25,27}.

2.5.4 Translokasyonlar

Homolog olmayan kromozomlar arasında meydana gelen parça değişimine **translokasyon** denir. Eğer parça değişimi karşılıklı olursa buna **Resiprokal translokasyon** denir (Şekil 1A). Klasik translokasyonlarda ve resiprokal translokasyonlarda, parça değişimi olurken eğer materyal kaybı yoksa bu duruma **dengeli translokasyon** denir. Homolog olmayan kromozomlar arasında meydana gelen parça değişimi sırasında eğer materyal kaybı varsa bu duruma da **dengeli olmayan translokasyon** denir. Dengeli translokasyon durumunda genetik materyal kaybı olmadığı için genelde translokasyonu taşıyan birey normal görülür. Ancak bireyin oluşturacağı gametler belli oranda anomal olur. Bundan dolayı bu tip bireylere semisteril bireyler, bu olaya da **semisterilite** denir. Dengeli olmayan translokasyonlarda

ise genetik materyal kaybının büyüklüğüne paralel olarak translokasyon taşıyıcısı bireyde çeşitli defektler görülebilir^{25,27}.

2.5.5. İnsersiyonlar

Bir insersiyonun olabilmesi için üç noktada kırılmanın meydana gelmesi gerekir. Ancak diğer pek çok yapısal anomalinin oluşumu için iki kırılmanın meydana gelmesi yeterli olmaktadır. Bundan dolayı insersiyonlar çok nadir olarak gözlenirler (1/5000 canlı doğum). İnsersiyonlar iki şekilde meydana gelebilirler. Buna göre, bir kromozomun içerisinde herhangi bir parçanın yer değiştirmesine **intrakromozomal insersiyon**, bir kromozomdan kopan bir parçanın başka bir kromozoma insersiyon yapmasına da **interkromozomal insersiyon** denir. Kopan parça orijinal oriyantasyonuna uygun olarak yeni yerine yerleşebileceği gibi ters dönerek de yerleşebilir. Eğer kopan parça aynı kol üzerine insersiyon yaparsa buna **parasentrik insersiyon**, aynı kromozomun öbür koluna geçip insersiyon yaparsa buna da **perisentrik insersiyon** denir. Intrakromozomal insersiyonlar (insersiyon yapan parça çok büyük olmadığı müddetçe) sentromerin pozisyonunu büyük oranda değiştirmezler²⁵.

2.5.6. İzokromozomlar

Bir kromozom kolunun ters duplikasyonu ile oluşurlar (Şekil 1F). Buna göre kırılma noktaları ya sentromere çok yakındır ya da sentromerin içerisinde yer almaktadır. Bu nedenle metasentrik izokromozomların kolları homolog bir yapı gösterirler. Y kromozomu da dahil olmak üzere akrosentriklerin izokromozom durumlarına yaygın olarak rastlanmaktadır. Çünkü bu kromozomların kısa kolları çok kısadırlar ve yaşamsal değildirlere. İzokromozom Xq durumuna da sıklıkla rastlanmaktadır. Çünkü izokromozom Xq tercihen inaktivasyona uğrar ve böylece normal olmayan dozaj etkisi önlenmiş olur. Karyotipte kısa kol izokromozomisi ile birlikte normal kromozomların varlığı, normal 9. kromozomlar ile birlikte 9p izokromozomisi şeklinde tanımlanmıştır. Böylesi durumlarda, izokromozomiye konu olan kol açısından tetrazomik bir durum ortaya çıkmaktadır²⁵.

2.6 Sayısal Kromozom Anomalileri

Kromozom sayısındaki değişmeler iki türüdür. Temel gametik sayının ($n=23$) tam katları şeklindeki kromozom artışlarına **öploidi** denir. Temel sayının tam katları şeklinde olmayan sayısal kromozom artışlarına **anöploidi** denir. Bu iki kategori kendi içerisinde de alt gruplara ayrılır²⁸.

2.6.1 Öploidi

Gamete bulunan kromozom sayısına ($n=23$) **monöploidi (haploidi)** denir. Bu sayı insanda, ancak mayotik bölünme ürünleri olan sperm ve ovum için geçerlidir. Böyle bir hücreye **hemizigot** denir. Çünkü genomunda, somatik muhtevanın yarısı kadar gen veya genetik materyal bulundurur. Bir başka ifadeyle soma hücrelerindeki aksine her gen genomda bir kere temsil edilir. Böyle hücreler, omurgalı hayvanlarda ve insanlarda karşıt cinsiyetten gelen yarımıyla döllenmediği sürece olgun organizma meydana getiremez. Ancak haploid genom taşıyan canlı türleri de bulunmaktadır.

Fertilizasyon işlemi ile iki haploid genomun birleşmesi sonucu meydana gelen genoma, diploid genom ($2n=46$); bu sayıda kromozom taşınması durumuna da **diploidi** denir. Örneğin, insanda bütün soma hücreleri diploid sayıda kromozom içerir. Hücrelerde temel sayının üç katı kadar kromozom bulunması durumuna **triploidi** denir ($3n=69$). Bu durum; diploid takıma, haploid takımın katılmasıyla meydana gelir. Bunun için üç ayrı mekanizma düşünülebilir.

1) Diploid ebeveynden gelen redüksiyon bölünmesi geçirmemiş diploid bir gamet ile normal bir gametin döllenmesi sonucu, triploidi meydana gelebilir ($2n+n=3n$).

2) Tetraploid bir bireyin ürettiği diploid bir gamet ile diploid bir bireyin ürettiği haploid bir gametin döllenmesi sonucu, triploidi meydana gelebilir. ($2n+n=3n$).

3) Redüksiyon bölünmesinden geçmiş bir gamet endoreduplikasyona uğrar, kromozom sayısı iki katına yükseltir ve sonra normal bir gametle

döllendirse, triploidi meydana gelir $(n+n) + n = 3n$. Triploidiye, yaşayan insanlarda rastlanmaz. Abort fötüslerde ve diğer bazı durumlarda görülmektedir.

Somatik hücrelerden hazırlanmış karyotiplerde temel sayının 4 katı kadar kromozomun bulunması haline **tetraploidi** denir ($4n=92$). Aşağıdaki yollardan biriyle meydana gelebilir.

1) Triploid gametin haploid gametle döllenmesi ($3n+n=4n$)

2) Redüksiyon bölünmesine uğramamış gametlerin birleşmesi ($2n+2n$)

3) Redüksiyon geçirmiş erkek veya dişi gametlerin endoreduplikasyona gitmeleri $(n+n)+(n+n)=4n$

4) Diploid normal zigotun daha ilk bölünmesinde endoreduplikasyona maruz kalması sonucu tetraploidiler meydana gelebilir.

Soma hücrelerinde 92 kromozomlu tetraploidi durumu, insanda yaşamla bağdaşmaz. Bununla birlikte bazen vücut hücrelerinde rastlanabilir veya kültür şartlarına bağlı olarak in vitro koşullarda meydana gelebilir.

Poliploidiler, kendilerini meydana getiren genomların orijinlerine göre de ikiye ayrılırlar. Buna göre; temel sayının katları şeklindeki poliploidilere **otopoliploidi**, iki farklı genomdan gelen takımların katlanarak artması şeklindeki poliploidilere de **alloploiploidi** denir. Poliploidiler, cinsiyet hücrelerinin mayotik bölünmelerde haploidizasyona gidememeleri; haploid olgun cinsiyet hücrelerinin endomitosis ve endoreduplikasyon mekanizmaları ile kromozom sayılarını artırmaları veya diploid zigotun önce de belirtildiği şekilde kromozom sayısını arttırması sonucu meydana gelirler. Genelde poliploidik bireyler embriyo döneminde atılırlar. Bundan bağımsız olarak, tümör hücrelerinde de poliploidilere rastlanmaktadır.

2.6.2 Anöploidi

Karyotipte temel genetik sayının tam katı şeklinde olmayan bir veya daha fazla sayıda kromozomun bulunması veya bulunmaması halidir. Anöploidiye, insan sitogenetiğinde daha sık rastlanmaktadır ve bu durum belli klinik tabloların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Teorik olarak sonsuz derecede anöploidi hali tasarlanabilirse de pratikte en sık görülenler aşağıda verilecektir. Anöploidi, **hipoploidi** ve **hiperploidi** olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Buna göre; karyotipte bir veya daha fazla sayıda kromozomun azalmasına hipoploidi denir. Bunun tersi olarak karyotipte bir veya daha fazla sayıdaki kromozom artışına hiperploidi denir²⁸.

Önemli anöploidik durumlar

Karyotipte bir kromozomun bulunmaması durumuna **monozomi** denir ($2n-1$). Seks kromozomları veya otozomlarla ilişkili monozomilere rastlanabilir. Sonuçta 45 kromozomlu bireyler meydana gelir. İnsanda, seks kromozomlarından birinin kaybolması en sık rastlanan durumlardan biridir. Buna örnek olarak, Turner sendromu ($45,X0$) verilebilir.

Karyotipte homolog kromozomlardan bir çiftin olmaması durumuna, **nüllizomi** denir ($2n-2$). Bu durumda diploid sayı 46'dan 44'e iner. Nüllizomi insan için bilinmemektedir. Muhtemelen homolog iki kromozomun kaybolması, çok büyük kusurlara yol açar. Bundan dolayı böyle zigotlar erken dönemde ölürlere ve doğum gerçekleşmeden atılırlar.

Normalden bir fazla kromozomun bulunması durumuna **trizomi** denir ($2n+1$). Trizomi, hem otozomlarda ve hem de gonozomlarda sıkça rastlanan bir anomalidir. Metafaz plaklarında 47 kromozom kuruluşuna rastlanır. Örneğin $47,XX,+21$ kromozom kuruluşuna sahip Down sendromlular ve $47,XXX$ kromozom kuruluşuna sahip bireyler örnek verilebilir.

Karyotipte 48 kromozomun bulunması haline **tetrazomi** denir. Tetrazomiler iki şekilde meydana gelirler. Buna göre, karyotipte ya bir kromozomdan 4 tane bulunur ($2n+2$; AA gibi) veya iki kromozomdan 3'er tane bulunur. Başka bir ifadeyle, tetrazomi durumlarında karyotipte ya 4 tane 1. kromozom veya 3 tane 1. ve 3 tane de 2. kromozom bulunur.

Sözü edilen prensipler doğrultusunda, **pentazomi** (49 kromozumlu hücreler) veya başka **zomiler** oluşturulabilir. Noksan veya ekstra kromozom, otozom veya gonozomlardan herhangi birisi olabilir. Zomilere konu olan kromozoma göre, ortaya çıkan fenotip de değişiklik gösterir²⁸.

Anöploidiler, iki mekanizma ile meydana gelirler. Bunlar, **ayrılmama (non-disjunction)** ve **anafazda gecikme (anafaz lagging)** mekanizmalarıdır. Anöploidiler hangi mekanizmaya bağlı olarak meydana gelirlerse gelsinler, hücre bölünmesi sırasında meydana gelen kazalar veya yanlışlıklar sonucu oluşurlar. Anöploidiler, 1916-25 yılları arasında hem genel genetiğin ve hem de sitogenetiğin gelişmesine büyük katkıları olan Thomas Morgan ve öğrencileri tarafından Drozofilalar üzerine yapılan çalışmalarda keşfedilmişlerdir. Daha sonraları, insanlarda da anöploidilere rastlanabileceği anlaşılmıştır.

i) Kromozom ayrılmaması (non-disjunction): Metafazda ekvatoriyel plakta toplanmış kromozomların sentromerlerinin anafazda uzunlamasına ikiye bölünmesi sonucu; kromatidlerin biri bir kutba, diğeri öteki kutba çekilir. Fakat bazen bir veya daha fazla kromozomun sentromeri bölünemediği için, tüm kromozom kutuplardan birine çekilir. Kromozom ayrılmaması denilen bu olayın net sonucu olarak; iki yavru hücrenin birinde bir kromozom eksik (monozomi), diğesinde bir kromozom fazla (trizomi) gözükür. Örneğin, insanlarda 45 ve 47 kromozumlu hücreler meydana gelir. Başka bir ifade ile herhangi bir cinsiyet hücresi olgunlaşırken, bir bölünme kusuru sonucu ayrılmama olayı meydana gelirse ve buna rağmen cinsiyet hücresi döllenme yeteneğini kaybetmezse, meydana gelecek zigot monozomik veya trizomik olur. Dolayısıyla meydana gelecek birey de (eğer ölmezse) bu dengesizliğin taşıyıcısı olur.

İki tip ayrılmama olayı vardır. Bunlar mayotik ve mitotik ayrılmama olaylarıdır. Bu iki olay arasında mekanizma yönünden hiçbir fark yoktur. Eğer oogenez sürecinde cinsiyet kromozomlarıyla ilgili bir ayrılmama olayı meydana gelirse; normal haploid sayıdaki 23 (22+X) kromozom yerine, 22 (22+0) veya 24 (22+XX) kromozom içeren ovumlar meydana gelecektir. Bu ovumların X veya Y kromozomu taşıyan normal spermiumlarla döllenmeleri halinde anormal karyotipli kişiler meydana gelecektir. İlkinde 45 kromozumlu monozomik (22,0+23,X=45,X0 veya 22,0+23,Y=45,Y0), ikincisinde 47 kromozumlu trizomik

(24,XX+23,X=47,XXX veya 24,XX+23,Y=47,XXX) insanlar doğacaktır. Eğer ovumlara ilaveten spermiumlarda da ayrılamama olursa karyotip daha da karışacaktır²⁸.

Mayotik ayrılamama primer veya sekonder olabilir. Cinsiyet hücreleri normal iken kromozom ayrılamaması meydana gelmiş ise buna **primer ayrılamama** denir. Bu tip ayrılamama, birinci veya ikinci mayotik bölünmelerde meydana gelebilir. Eğer cinsiyet hücreleri anormal ise ve bu duruma ilave olarak mayotik süreçte ayrılamama olayı meydana gelmiş ise, bu duruma da **sekonder ayrılamama** denir. X kromozomları takip edilerek ayrılamamanın mayoz-I'de mi yahut mayoz-II'de mi meydana geldiği, hatanın babadan mı yoksa anneden mi kaynaklandığı izlenebilir.

Ayrılamama olayı döllenmeden sonra zigotta, daha genel terimiyle, soma hücrelerinde meydana gelmiş ise **mitotik ayrılamama** adını alır. Mitotik ayrılamama ile mayotik ayrılamamanın mekanizmaları aynıdır, fakat sonuç değişiktir. Eğer embriyo iki hücre halinde iken (iki blastomer) ayrılamama olayı meydana gelirse, bu olay çok erken meydana gelmiş olur. Sonuçta iki hücre hattına sahip bir birey meydana gelir. Bu bireyde hücrelerin yarısı monozomik, diğer yarısı trizomik olur (**mosaisizm**). Bu uç örneğin dışında, ayrılamama olayı doğumdan önce veya sonra herhangi bir basamakta meydana gelebilir. Burada olayın meydana geliş zamanı ile mozaisizmin derecesi arasında ters bir orantı bulunmaktadır. Fötal hayatın sonlarında ve bundan sonraki dönemlerde meydana gelmiş mozaisizmleri tanımlamak için; kemik iliği hücreleri, periferik kan hücreleri ve fibroblast hücreleri gibi çeşitli hücre tiplerinden elde edilen metafaz plaklarına bakmak gerekir. Ayrıca zigotun yarıklanma devresinde meydana gelen mozaisizme **gelişimsel mozaisizm**, embriyonal gelişimin tamamlanmasından sonra meydana gelen mozaisizme de **proliferatif mozaisizm** denir. Ayrılmama olgusu ileri yaşlarda artar. 40 yaşından sonra gebe kalan kadınların anormal kromozomlu çocuk doğurma riskleri hızla artmaktadır.

ii) Anafaz gecikmesi (anafaz lagging): Anafaz evresinde kromozomlardan biri geri kalır, diğerlerine ayak uydurup onları izleyemez ve iki yavru hücreden birine dahil olamazsa, bu durumda anafaz gecikmesi meydana gelmiş olur.

Gecikmiş kromozomun akıbeti konusunda iki alternatif düşünülebilir. Geciken kromozom yavru hücrelerden birine geçebilir ki o takdirde sonuç ayrılamama gibidir; yani biri monozomik, diğeri trizomik iki yavru hücre meydana gelir. İkinci alternatif; geciken kromozom hücrelerden hiç birine giremez ve dejenerasyona uğrayarak yok olur. Bu durumda meydana gelen yavru hücrelerden biri normal (diploid) olurken, diğeri monozomik olur. Anafaz gecikmesi şüphesiz hem somatik ve hem de gametik bölünmeler için söz konusu olabilir. Anafaz gecikmesi ayrıca hem seks kromozomları ve hem de otozomlar için geçerlidir ²⁸.



3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Kasım 2003 ile Kasım 2004 tarihleri arasında 12 aylık bir sürede tamamlandı. Çalışmamıza dahil edilen ailelerde 2 veya daha fazla sayıda düşük veya zorunlu küretaj öyküsünün bulunmasına dikkat edildi. Literatürde en az 3 düşük öyküsü bulunan ailelerden oluşturulan çalışma grupları olsa da, yeterli sayıda olgu bulanamayacağı endişesiyle düşük sayısının en az 2 olmasına dikkat edildi^{2,29}. Nitekim en az 2 düşük öykülü olgulardan oluşan çalışmalar da bulunmaktadır^{30,31,32}. Ayrıca düşük sayısının artmasıyla birlikte sitogenetik anomali yüzdesinin düştüğünü gösteren çalışmaların varlığı da göz önünde bulunduruldu^{31,32}. Ailelerde düşüklerin ardışık olup olmadığına, ölü veya yaşayan çocukların olup olmadığına dikkat edilmedi. Ancak olgularımızın çok büyük bölümü (27 olgu), sadece düşük veya zorunlu küretaj öyküsü olan ailelerden oluşmaktadır. Sadece 4 olgumuz spontan düşük, neonatal ölüm veya yaşayan çocuk öyküsü bulunan ailelerden oluşmaktadır. Olgularımızın bu dağılımı, tercih edilen bir durum olmayıp tamamen rastlantısaldır. Bu olgularımızın tamamında düşüğe neden olabilecek genetik olmayan nedenlerin dışlanmış olmasına dikkat edildi. Bunun için önceden Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlarıyla görüşüldü ve sadece nedeni açıklanamayan veya genetik bir nedeni olabileceği düşünülen olguların sitogenetik incelemeye yönlendirilmesi sağlandı.

Çalışmamızda, üç çeşit materyal üzerinde çalışılmıştır. Bunlar koryonik villiler (CV), düşük ve periferik kan materyalleridirler. CV ve düşük materyalleri için kullanılan gereçler ve metot aynı olduğu için bu iki materyal bir arada ele alındı. Kan materyali için kullanılan metot ise ayrı bir başlık altında ele alındı.

3.1 Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- 1-Ham's F-10 medyum (Biological Industries, Cat. No: 01-090-1A)
- 2-Chang in situ medyum (Irvine Scientific Cat. # T104)
- 3-Bio-AMF medyum (Biological Industries Cat. No: 01-190-1B)
- 4-Gentamisin (Biological Industries Cat. No: 03-035-1C)
- 5-Amfoterisin-B (Fungizone)

- 6-RPMI 1640 Medyum (Sigma, R 0883)
- 7-Kolşisin (Seromed Cat No. L6210)
- 8-Phytohemaglutinin (Biochrom AG Cat. No: M 5030)
- 9-Fetal bovine serum (Biochrom AG Cat. No: S0113)
- 10-Penisilin-streptomisin (Seromed Cat. No: A2212)
- 11-L-Glutamin (Biochrom KG Cat. No: K 0282)
- 12-Tripsin (Difco Cat. No: L-000403 (1298))
- 13-Metanol (Merck)
- 14-Glasiyel asetik asit (Merck)
- 15-Aseton (Merck)
- 16-Ksilol (Merck)
- 17-Giemsas (Merck)
- 18-Heparin (Liquemine, Roche)
- 19-İmmersiyon Yağı (Merck)
- 20-Entellan (Merck)
- 21-Sodyum klorid (NaCl) (Merck)
- 22-Potasyum klorid (KCl) (Sigma)
- 23-di-Sodyum hidrojen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Merck)
- 24-Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (Merck)

3.2 Kullanılan Aygıtlar

- 1-İnkübatör (Nemlendirilmiş ve %5 CO_2 'li ortam, Sanyo marka)
- 2-İnkübatör (Dedeoğlu, Memmert)
- 3-Zaman ayarlı santrifüj (Nüve NF 800, Hettich Universal 16 R)
- 4-Mikroskop (Olympus BX50)
- 5-İnvert mikroskop (Olympus CK40)
- 6-Lamin air flow (Kojair)
- 7-Bistüri (AE)
- 8-Bistüri sapı
- 9-Pens
- 10-Elektronik terazi (Sartorius)
- 11-pH metre (Inolab)

- 12-Buzdolabı (Arçelik)
- 13-Steril petri kabı (Dio-Pet)
- 14-Steril kültür flaskı (Orange Scientific, Cat. No: 2010100)
- 15-Steril Kültür Tüpü (Greiner 164160)
- 16-Steril enjektörler (2 ml'lik, 5 ml'lik, 10 ml'luk, 20 ml'lik)
- 17-Cam pipet
- 18-Pastör pipeti
- 19-Mezür
- 20-Şale
- 21-Lam (Rodajlı)
- 22-Lamel (24X32)

3.3 Koryonik Villus veya Düşük Materyali Örneklerinden Kromozom

Analizi

Analiz yöntemi olarak uzun süreli kültür yöntemi tercih edildi. Çünkü son yıllarda yapılan çalışmalarda, uzun süreli kültürün prediktif değerinin daha yüksek olduğu (%78) bildirilmiştir^{33,34}. Örnek alan Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlarına, alınan örneklerin içerisinde maternal kontaminantların bulunmamasının önemi hakkında bilgi verildi. Ayrıca disseksiyon işlemi sırasında, eğer varsa maternal kaynaklı dokunun ayıklanmasına özen gösterildi. Böylece, maternal kontaminasyon riski en aza indirildi. Bu konuda son yıllarda, ilgili uzmanların örnek alırken gösterecekleri özenin önemini vurgulayan bir çalışma da yayınlanmıştır³⁵. Çalışma devam ederken elde edilen erkek ve kız karyotip sayıları sürekli olarak karşılaştırıldı ve normal populasyon oranından bir sapmanın olup olmadığı takip edildi. Bu şekilde maternal kontaminasyon şüphesi ortadan kaldırılmaya çalışıldı.

Çalışmaya kabul edilen örneklerin 5'i koryonik villuslardan, 26'sı diğer fetal dokulardan oluşmuştur. Koryonik villus örneklerini tercih etmemize rağmen, koryonik villus alımının zor bir işlem olmasından ve ilgili uzman doktorların tümünün bu işlemi yapamamasından dolayı, çok sınırlı miktarda koryonik villus örneği elde edildi. Bunlar da Fakültemiz Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim

Dalından alındı. Bu nedenle olguların büyük bir kısmında, diğer fetal dokulardan kültür yapılmak zorunda kalındı.

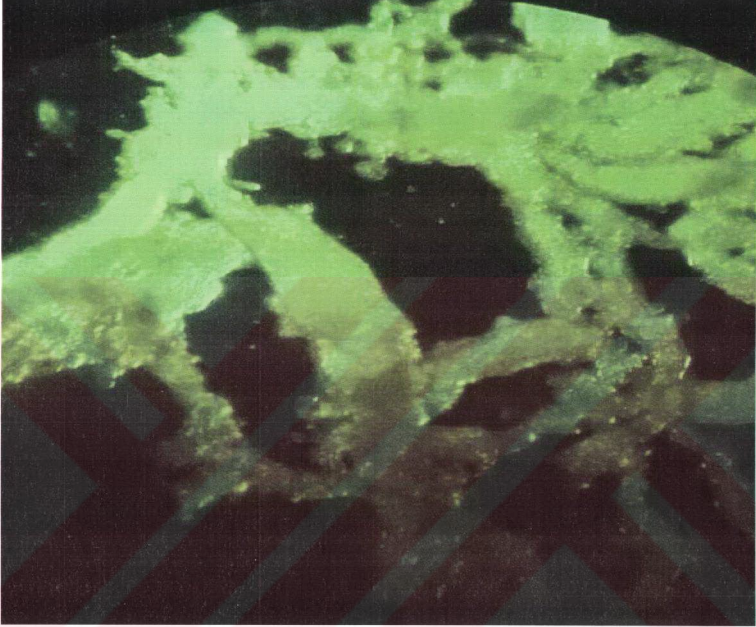
Bu amaçla, Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, Adana Sağlık Bakanlığı Doğumevi, S.S.K. Doğumevi, ve Özel Doğuş Tıp Merkezi ile irtibata geçildi ve bunlara yeterli sayıda, 10cc zenginleştirilmiş Ham's F10 medyumunu içeren steril transport şişeleri bırakıldı. Gebeliği termine edilecek kadınlardan doğumhanede ve steril şartlarda elde edilen CV veya spontan abortus materyali örneğinin, transport medyum ortamına aktararak, sitogenetik laboratuvarımıza ulaştırılması sağlandı. Aynı zamanda her aile için önceden düzenlenmiş birer adet "Vaka Bilgi Formu" ve "Bilgilendirme ve Rıza Formu" doldurularak imzalatıldı. Böylece aile öyküsü hakkında detaylı bilgi sağlandı. Bu formlardan birincisi tarafımızdan, diğeri fakültemiz etik kurulunun görüşleri doğrultusunda ve etik kurulla ortaklaşa olarak hazırlandı (EK-1, EK-2). Örnekler, ekilmek üzere Lamin air flow içinde, steril koşullarda, içerisinde buldukları transport medyumunu ile birlikte steril petri kabına aktarıldı. Bundan sonra, içerisinde 1'er cc yıkama medyumunu (zenginleştirilmiş Ham's F10 medyumunu) bulunan üç petri kabı hazırlandı. Bu petri kaplarının birincisine tam zenginleştirilmiş yıkama medyumunu (Çizelge 2), ikincisine yarı zenginleştirilmiş yıkama medyumunu (1/1 oranında tam zenginleştirilmiş Ham's F10 medyumunu ile bazal Ham's F10 medyumunu karışımı)

Çizelge 2. Transport ve yıkama medyumunun hazırlanışı

1	500 ml Ham's F10 medyum
2	25 ml Fetal Calf serum
3	5 ml Heparin
4	1 ml Gentamisin
5	1,50 ml Amfoterisin B (kullanma solüsyonundan)(EK-4)
6	5 ml Penisilin-Streptomisin

ve üçüncüsüne de bazal Ham's F10 medyumunu kondu. Transport medyumunu içerisinde bulunan materyal önce iki bistüri yardımıyla ayrıştırıldı. Sonra oluşan küçük materyal parçaları bir pens yardımıyla ilk basamak yıkama medyumunu ortamına alındı. Yeterli miktarda materyalin alınmasına özen gösterildi. Quilter

ve ark. göre uzun süreli kültür için yeterli materyal, 20 mg ve üzeri miktarda olmalıdır³⁶. Daha sonra ilk basamak yıkama medyumunu içerisindeki doku parçaları, invert mikroskop altında disseksiyon işlemine tabi tutuldu (Şekil 2).



Şekil 2. Disseksiyon işlemi sırasında koryonik villusların 10X40 büyütmede çekilmiş bir görüntüsü

Bu aşamada maternal bulaş olarak düşünülen parçalar dikkatli bir şekilde parçalanarak uzaklaştırıldı. Fötal olduğundan emin olunan doku parçaları ikinci basamak medyum (yarı zenginleştirilmiş transport veya yıkama medyumunu) ortamına alındı. Küçük doku parçaları, ikinci basamak medyum ortamında 10 dk tutulduktan sonra, üçüncü basamak medyum ortamına alındı. Üçüncü basamak medyumda fötal doku parçaları veya CV örneği olabildiğince küçük parçalara bölündü. Bu basamakta da 10 dk bekletilen doku parçaları, başka bir petri kabı içerisindeki 1cc'lik Tripsin/EDTA solüsyonu içerisine aktarıldı. Bu solüsyonda 2 saat bekletilen doku parçalarının hücrelerine ayrışıp ayrışmadığı, invert

mikroskop altında kontrol edildi. Çalışmamızda Tripsin/EDTA ile 2 saatlik muamelenin yeterli olduğu gözlemlendi. Daha sonra Tripsin/EDTA'nın etkisini durdurmak için serumsuz Ham's F10 medyumundan (seyreltme medyumu) (Çizelge 3) 2cc, içerisinde Tripsin/EDTA-doku-hücre karışımı bulunan petriye ilave edildi.

Çizelge 3. Seyreltme medyumunun hazırlanışı

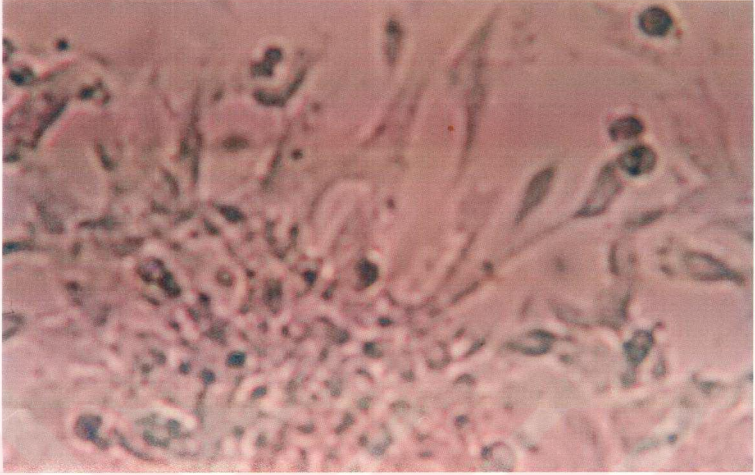
1	100 ml Ham's F10 medyum
2	1 ml Penisilin-Streptomisin

Bundan sonra örnek steril bir tüpe aktarıldı. İçerisinde örnek bulunan tüp, steril şartlarda 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra oluşan süpernatant uzaklaştırıldı. Dipteki pellet eşit iki parça halinde, içinde 2'şer cc medyum bulunan iki ayrı kültür flaskına (25 cm²'lik) ekildi. Hücre kültürü için, Bio-AMF ve Chang In Situ (Çizelge 4) medyumları kullanıldı. Ekimi yapılan örnekler, %5'lik CO₂ ortamında, 37°C' de ve uygun nem şartlarında inkübasyona bırakıldı.

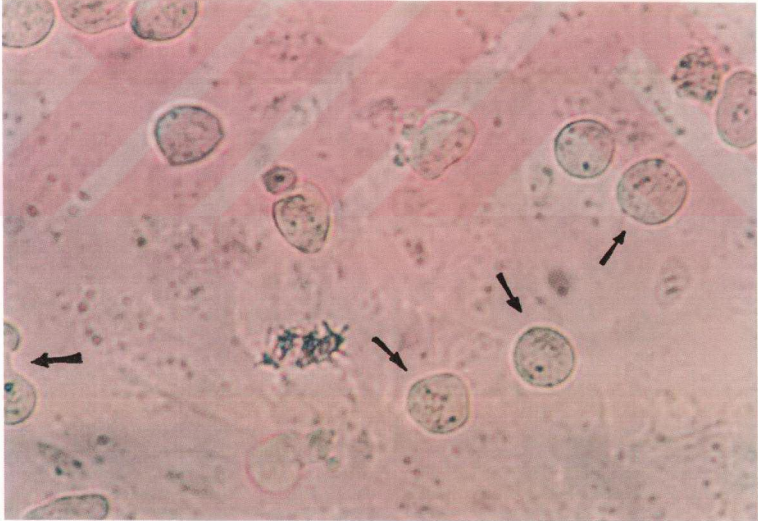
Çizelge 4. Chang In Situ medyumunun hazırlanışı (kültür medyumu olarak kullanılmıştır).

1	100 ml Chang In Situ medyum
2	1 ml Penisilin-Streptomisin
3	1 ml L-glutamin

Örneklerin ekiminden 6-7 gün sonra flasklar invert mikroskop altında kontrol edildi. Bu süre zarfında, doku parçalarının çevresinde üremenin başladığı gözlemlendi. Bundan sonra flaskların medyumları değiştirildi ve örnekler tekrar inkübasyona bırakıldı. Bundan 2-3 gün sonra flasklar tekrar kontrol edildi ve 1cc taze medyum ilave edildi. Her 2-3 günde bir kontrol edilen flasklardaki hücre odakları ve mitoz girmiş hücre sayıları gözlemlendi. Yeterli miktarda hücrenin (özellikle mitoz girmiş hücrenin) ürettiği düşünülen flaskın (hasat işlemine hazırlık olarak) medyumu son olarak değiştirildi. Ertesi gün bu flaskın hasat işlemine geçildi (Şekil 3, 4).



Şekil 3. Hasat aşamasına gelmiş hücre odağından bir görüntü (10X40 büyütme).



Şekil 4. Hasat işlemine hazır haldeki odaktan fotografik bir görüntü. Şekilde, genel hücre tabakası üzerindeki mitozla girmiş hücreler, oklarla gösterilmiştir (10X40 büyütme).

Bu amaçla flaska son konsantrasyonu 0.045 µg/ml olacak şekilde kolşemid solüsyonu ilave edildi ve flask 3 saat süreyle tekrar inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda flaskın içeriği bir tüpe aktarıldı. Daha sonra flaska, iki defa 1'er cc Trypsin-EDTA uygulandı. İkinci uygulamada flask, 37°C'de 3-5 dakika inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda, invert mikroskop altında flaskın tabanına yapışmış olan hücrelerin serbest hale gelip gelmediği kontrol edildi. Yeterli miktarda hücrenin serbest hale geldiği gözleendiğinde serumsuz seyreltme medyumundan 2 cc flaska ilave edildi. Böylece Trypsin-EDTA'nın enzim aktivitesi yavaşlatıldı. Sonra bir pipet yardımı ile flaskın içeriği ikinci kez olarak tüpe aktarıldı ve tüp 1000 rpm'de 10 dk santrifuj edildi. Tüpteki süpernatant bir pipet yardımıyla uzaklaştırıldı. Tüpün dibinde kalan pellet'in üzerine 4-5 ml hipotonik solüsyon ilave edildi (EK-3). Daha sonra, tüpler 25 dk 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Sürenin sonunda 13-15 damla fiksatif (EK-3) damlatma yöntemi ile hipotonik çözeltinin üzerine ilave edildi (damlatma işlemi, hafifçe karıştırma işlemi eşliğinde yapıldı). Tüpler tekrar santrifüjde çevrildikten sonra hipotonik çözelti uzaklaştırıldı. Bundan sonra 4-5 ml fiksatif çözelti ilave edilerek tekrar santrifügasyon işlemi uygulandı. Süre sonunda tüpte bulunan fiksatif çözelti uzaklaştırıldı, yeni fiksatif çözelti ilave edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Son fiksasyondan sonra süpernatant şeklindeki fiksatif çözelti uzaklaştırıldı ve kalan pellet önceden hazırlanmış soğuk lamlara yayıldı³⁷. Kurutulan lamlar, 1 gece 60°C'de tutulduktan sonra, ertesi gün "GTG" bantlama ve solid boyama yöntemleri ile boyandı ve incelemeye hazır hale getirildi³⁸. Lamlar mikroskop altında incelenerek karyotip analizi yapıldı. Her örnek için en az 20 metafaz alanına bakıldı. Ancak şüpheli durumlarda bu sayı 50'ye kadar çıkarıldı.

3.4 Kan Örneklerinden Kromozom Analizi

Çalışmamızda, iki veya daha fazla sayıda düşük öyküsü olan eşlerden periferik kan kültürü yolu ile karyotip analizi yapıldı. Bunun için örnek alınan fötüsün anne ve babasından heparinle yıkanmış enjektör ile 2 ml venöz kan alındı. Daha sonra bu kanlardan lenfosit kültürü yapıldı. Bunun için aşağıdaki çalışma yöntemi kullanıldı.

Önceden hazırlanmış RPMI 1640 medyumundan (Çizelge 5) 3cc bir tüpe aktarıldı. Her birey için iki tüp hazırlandı. Bu tüplere daha önceden heparinli enjektöre çekilmiş olan kandan 3 damla, steril şartlarda (bek alevi önünde), ilave edilerek ekim yapıldı. Bu şekilde ekimi yapılan kan örnekleri 37 °C'lik bir etüvde, 72 saat inkübasyona bırakıldı.

Çizelge 5.RPMI1640 medyumunun hazırlanışı

1	100 ml RPMI1640 medyum
2	20 ml Fetal calf serum
3	1,5 ml L-glutamin
4	1 ml Penisilin-streptomisin
5	1ml Fitohemaglutinin

Ekimin 70. saati sonunda (son iki saatinde), son konsantrasyonu 0.045µg/ml olacak şekilde tüplere kolşemid ilave edildi. Bundan 2 saat sonra yani 72. saatte hasat işlemine geçildi. Hasat işlemi, aşağıdaki aşamalar takip edilerek yapıldı;

1-Tüpler, 1000-1200 rpm'de 10 dk çevrildi ve üstte oluşan süpernatant uzaklaştırıldı.

2-Kalan pelletin üzerine, 4-5 ml hipotonik çözelti ilave edildi ve 15 dk 37°C'lik etüvde inkübasyona bırakıldı.

3-Süre sonunda, hipotonik solüsyonunun üzerine 8-10 damla fiksatif solüsyonundan ilave edildi ve tekrar santrifüj edildi. Oluşan süpernatant uzaklaştırıldı.

4-Bundan sonra, yıkama işlemlerine geçildi. Bunun için elde edilen pelletin üzerine 4-5 ml fiksatif çözeltisi ilave edildi ve tüpler santrifüj edildi (yukarıda belirtilen süre ve hızda). Oluşan süpernatant uzaklaştırıldı. Fiksatif çözeltisi ile yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.

5-Tüpler son fiksatif aşamasında en az 2 saat buzdolabında bekletildi. Son olarak fiksatif çözeltisi, dipte 0.5cc kalacak şekilde uzaklaştırıldı ve damlatma işlemine geçildi. Dipte kalan pellet önceden temizlenmiş soğuk lamlara belli bir yükseklikten damlatıldı. Damlaların lamlara homojen bir şekilde yayılmasına özen gösterildi.

Kurutulan lamlar, 60°C'de 1 gece veya 37°C'de 3 gece bekletildikten sonra boyamaya alındı (GTG bantlama ve solid boyama yöntemleriyle)^{38,39}. Yaşlandırılmış lamlar mikroskop altında incelemeye alınarak, gözlenebilen metafaz kromozomları yapısal ve sayısal anomaliler yönünden incelendi. Her örnek için en az 20, şüpheli durumlarda 50 metafaz plağı incelendi.

3.5 GTG Bantlama

Boyama işlemi için sırasıyla aşağıdaki işlemler yapıldı.

- 1- Üç şale hazırlandı.
- 2- Birinci şaleye, 75 ml serum fizyolojik (%0.9'luk NaCl) konuldu ve üzerine 1,5ml tripsin stok solüsyonu (EK-5) ilave edilerek eritildi.
- 3- İkinci şaleye, 75 ml fosfat (EK-5) tamponu konuldu.
- 4- Üçüncü şaleye ise %7-10'luk giemsa boya çözeltisi içeren fosfat tamponu konuldu.
- 5- Preparatlar, yaşlanma süresi ve o günkü ortamın sıcaklık ve nemi gibi kriterler göz önüne alınarak; 40-70 saniye arası bir süre (genellikle 40-50 saniye) tripsin solüsyonu içerisinde tutuldu.
- 6-Süre sonunda, preparatlar tripsin solüsyonundan alınıp fosfat tamponundan geçirildi.
- 7-Bundan sonra preparatlar, Giemsa boya solüsyonunda 4-6 dk tutuldu.
- 8- Bu sürenin sonunda preparatlar, sudan geçirildi (akan musluk altında), havada kurutuldu ve 100x objektif büyütmesinde incelemeye alındı.
- 9-İncelenmesi tamamlanan preparatlar, bir süre ksilolde bekletildikten sonra kurutuldu, entellan ve lamel kullanılarak kapatıldı^{38,39}.

3.6 Fotograflama

Gerekli görülen metafaz plaklarının fotoğrafları, dijital fotoğraf makinesi aparatı bulunan mikroskop kullanılarak çekildi. Hücre odakları ve mitoz girmiş hücrelerin fotoğrafları ise, fotoğraf makinesi aparatı bulunan invertoskop kullanılarak çekildi.



4. BULGULAR

Çalışmamızda iki veya daha fazla sayıda düşük öyküsü olan 40 aile incelemeye alındı. Bu ailelerden 31'inin karyotip analizleri başarıyla gerçekleştirildi. Bu ailelerde; 2 veya daha fazla sayıda düşüğün olması, bu düşüklerin kendiliğinden olması veya anne karnındaki ölümden dolayı zorunlu küretaj sonucu olması ve düşüğe sebep olan diğer etkenlerin dışlanmış olması gibi şartlar arandı. Bunların dışında; ailelerde neonatal ve postnatal dönemlerde ölen veya yaşayan çocukların bulunması gibi kriterler göz önüne alınmadı. İncelemeye alınan düşük materyali veya koryonik villi örneklerinden 9'unun (%22.5, 9/40) kromozom analizi yapılamadı. Bu örneklerin 1'inde bakteriyel kontaminasyon ve 2'sinde de mantar kontaminasyonu gözlemlendi. Bu kültür flaskları derhal steril laboratuvar ortamından uzaklaştırıldı. Geriye kalan 6 örnekte üremenin gerçekleşmemesi nedeniyle kültür basamağından ileriye gidilemedi. Kalan 31 (%77.5, 31/40) düşük materyali veya koryonik villus örneğinin kültürleri başarıyla yapıldı ve kromozom analizleri gerçekleştirildi. Bu 31 örneğin, 5'inde koryonik villus kültürü ve 26'sında fötal doku kültürü yapıldı. Karyotip analizi yapılan fötüslerin anne ve babalarının da kromozom analizleri yapıldı. Bunun için, anne ve babalardan kan alınarak lenfosit kültürleri yapıldı. Bu bağlamda; 31 fötal, 31 maternal ve 31 de paternal olmak üzere toplam 93 karyotip analizi gerçekleştirildi. İncelenen olgularda, gebelik sonlanması 3 ile 18. haftalar arasında gerçekleşmiştir. İncelenen fötal örneklerin düşük haftalarının (DH) ve anne yaşlarının (AY) aritmetik ortalamaları, sırasıyla 9.5 ± 3.5 , 26.3 ± 6.2 şeklindedir. Gebelik sayıları (GS) 2 ile 11 aralığında olup aritmetik ortalaması 3.7 ± 2.3 ve yine düşük sayıları (DS) 2 ile 11 aralığında olup aritmetik ortalaması 3.4 ± 2.0 şeklindedir (Çizelge 6,7).

Çizelge 6. Düşük materyallerinden ve ebeveynlerden yapılan sitogenetik analiz sonuçları

Vaka No	AY	GS	DS	DH	Karyotip Sonuçları		
					Fetal	Maternal	Paternal
1	24	5	2	11	46,XX	46,XX	46,XY
2	36	2	2	12	Mantar kontaminasyonu		
3	20	2	2	11	46,XX	46,XX	46,XY
4	25	3	3	18	46,XY/47,XY,dmn+ (%10)	46,XX	46,XY
5	37	4	3	11	46,XY	46,XX	46,XY
6	27	3	3	9	46,XX	46,XX,9qh+	46,XY
7	27	5	4	10	Üremedi		
8	20	2	2	8	69,XXX	46,XX	46,XY
9	18	2	2	11	46,XX,15p+	46,XX	46,XY,15p+
10	28	2	2	10	46,XX,9qh+	46,XX	
11	21	4	4	13	69,XXY	46,XX	46,XY
12	21	3	3	8	46,XX	46,XX	46,XY
13	31	9	9	12	46,XY,der(18) t(18;?) (q23;?)	46,XX	46,XY
14	30	2	2	14	Üremedi		
15	27	4	3	10	Üremedi		
16	20	4	4	9	46,XY	46,XX	46,XY
17	26	4	4	12	46,XY	46,XX	46,XY
18	26	3	3	10	Mantar kontaminasyonu		
19	35	2	2	14	47,XXY	46,XX	46,XY
20	40	5	5	10	46,XX/45,XX, anöploid(% 20), del(15)(q14), ring(19)	46,XX	46,XY
21	25	3	3	4	46,XX	46,XX,inv(9)(p11;q13)	46,XY
22	35	3	3	3	46,XX	46,XX	46,XY,9qh+
23	27	4	3	9	Üremedi		
24	20	2	2	9	47,XY,+21	46,XX	46,XY
25	28	2	2	8	47,XXY	46,XX	46,XY
26	25	3	3	14	46,XX,inv(X)(p11;q13)	46,XX	46,XY
27	26	3	4	10	Üremedi		
28	22	5	4	10	46,XX	46,XX	46,XY
29	21	2	2	11	47,XY,+21	46,XX	46,XY
30	25	3	3	10	45,XO	46,XX	46,XY
31	23	3	3	3	45,XO	46,XX	46,XY
32	27	4	3	10	Bakteriyel kontaminasyon		
33	38	5	5	4	46,XX	46,XX	46,XY
34	28	9	5	9	46,XX, inv(9)(p11;q13)	46,XX	46,XY
35	29	3	3	11	46,XY	46,XX	46,XY
36	26	3	4	9	Üremedi		
37	24	2	2	8	69,XXY	46,XX	46,XY
38	25	2	2	9	69,XXY	46,XX	46,XY
39	20	2	2	13	46,XY,dup(16)(q12q21)	46,XX	46,XY
40	37	11	11	3	46,XX	46,XX	46,XY

AY, anne yaşı; GS, gebelik sayısı; DS, düşük sayısı; DH, düşük haftası.

Çizelge 7. Cinsiyete ve karyotipin normal-anormal olmasına göre maternal yaş, gebelik sayısı, düşük sayısı ve düşük haftalarının aritmetik ortalama ve standart sapma değerleri (Ort: Aritmetik ortalama, SS: standart sapma)

	Total Ort±SS	Erkek Ort±SS	Kız Ort±SS	Normal Ort±SS	Anomalili Ort±SS
Maternal Yaş	26.3±6.2	25.8±5.4	26.8±6.6	27.8±6.5	25.3±5.5
Gebelik Sayısı	3.7±2.3	3.2±1.8	4.0±2.4	4.2±2.2	3.3±2.2
Düşük Sayısı	3.4±2.0	3.1±1.8	3.6±2.1	3.8±2.2	3.0±1.7
Düşük Haftası	9.5±3.5	11.2±2.6	8.1±3.3	8.2±3.3	10.5±3.1

İncelenen 31 örnek içerisinde, 9'u 46,XX ve 4'ü 46,XY olmak üzere toplam 13 (%42) normal karyotip saptandı. Bunlardan 46,XX karyotipli fötüslerin, tüm olgular içerisindeki yüzdesi 29.0'dır (Çizelge 8). Bu oran 46,XY karyotipli olgular için %12.9'dur. Normal karyotipli olgularda anne yaşları, gebelik ve düşük sayıları ile düşük haftalarının aritmetik ortalamaları; sırasıyla, 27.8±6.5, 4.2±2.2, 3.8±2.2 ve 8.2±3.3 olarak saptandı (Çizelge 7). 31 örneğin 18'inde (%58) ise anormal kromozom kuruluşu tespit edildi. Anomalili olgularda anne yaşları, gebelik sayıları ve düşük sayıları ile düşük haftalarının aritmetik ortalamaları sırasıyla, 25.3±5.5, 3.3±2.2, 3.0±1.7 ve 10.5±3.1 şeklinde bulundu (Çizelge 7). Bu anomalilerin 12'si sayısal ve 6'sı yapısal anomali karakterindedir. Sayısal anomaliler, tüm anomalilerin %66.6'sını ve tüm olguların %38.7'sini oluşturmaktadır. Sayısal anomaliler de kendi içerisinde 4 gonozomal anöploidi [2 olgu 45,XO ve 2 olgu 47,XXY], 4 otozomal anöploidi [2 olgu 47,XY,+21; 1 olgu 46,XY/47,XY,dn+(%10) ve 1 olgu da 46,XX/45,XX, anöploidi (%20), del(15)(q14), ring(19)] ve 4 poliploidi [3 olgu 69,XXY ve 1 olgu 69,XXX] şeklinde gruplandırıldı (Çizelge 8,9) (Şekil 5, 6, 7, 8). Yapısal anomalili 6 olgu; anomalili olguların %33.3'ünü ve tüm olguların %19.3'ünü oluşturmaktadır. Bu anomaliler, 46,XY,inv(9)(p11;q13); 46,XX,inv(X)(p11;q13); 46,XY,dup(16)(q12q21); 46,XY,der(18)t(18;?)(q23;?); 46,XX,15p+ ve 46,XX,9qh+ şeklindedir. Yapısal anomalilerin 4'ü dengeli, 2'si dengesiz yeniden düzenlenme şeklindedir. (Çizelge 8,9) (Şekil 9, 10, 11) .

Çizelge 8. İncelenen düşük materyallerinde saptanan karyotiplerin dağılımı

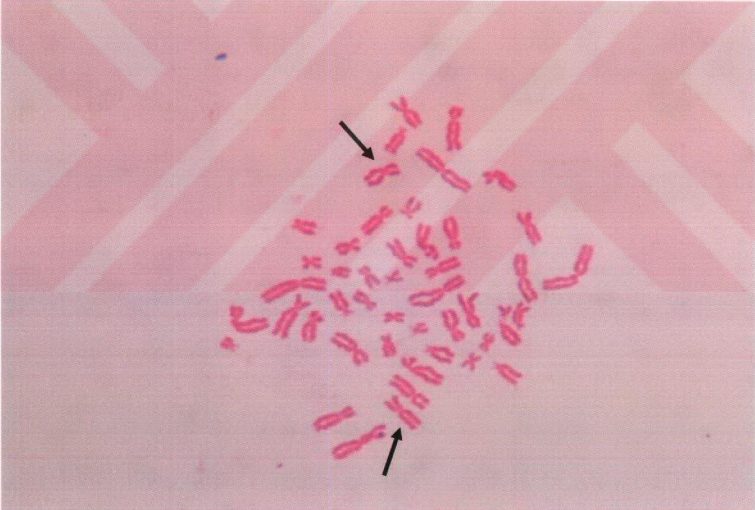
Karyotip		Tüm Olgular İçerisindeki %'si	Tüm Anomaliler İçerisindeki %'si
Sayı	Tip		
9	46,XX	29.0	-
4	46,XY	12.9	-
3	69,XXY	9.6	16.6
1	69,XXX	3.2	5.5
2	45,XO	6.4	11.1
2	47,XXY	6.4	11.1
2	47,XY,+21	6.4	11.1
1	46,XY/47,XY,dmn+ (% 10)	3.2	5.5
1	46,XX/45,XX, anöplöidi (% 20), del(15)(q14),ring(19)	3.2	5.5
1	46,XX,inv(9)(p11;q13)	3.2	5.5
1	46,XX,inv(X)(p11;q13)	3.2	5.5
1	46,XY,dup(16)(q12q21)	3.2	5.5
1	46,XY,der(18) t(18;?)(q23;?)	3.2	5.5
1	46,XX,15p+	3.2	5.5
1	46,XX,9qh+	3.2	5.5

Çizelge 9. İlk trimester düşüklüklerde saptanan kromozom bozukluklarının görülme sıklıkları

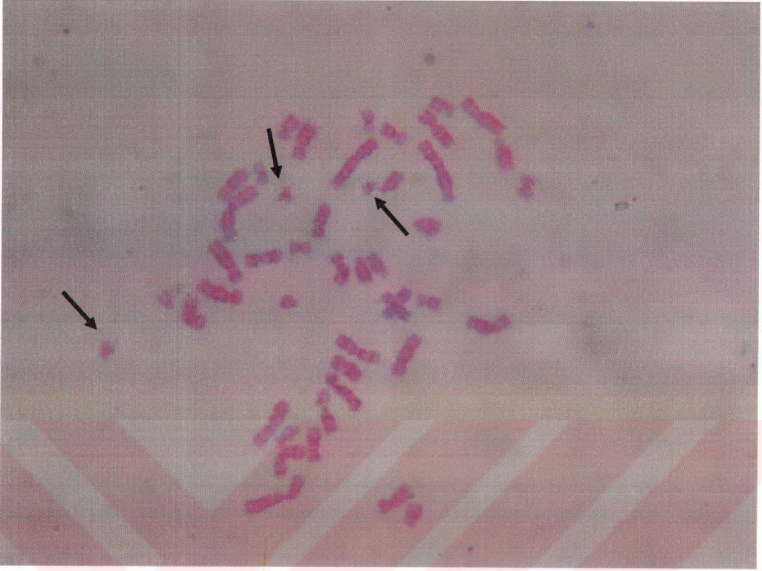
Anormal Karyotip	Sayı	Anomalili Olgular İçerisindeki %'si	Tüm Olgular İçerisindeki %'si
Sayısal Bozukluklar			
Gonozomal Anöplöidiler	4	22.2	12.9
Otozomal Anöplöidiler	4	22.2	12.9
Öplöidiler	4	22.2	12.9
Toplam	12	66.7	38.7
Yapısal Bozukluklar			
Dengeli Yeniden Düzenlenimler	4	22.2	12.9
Dengesiz Yeniden Düzenlenimler	2	11.1	6.5
Toplam	6	33.3	19.3



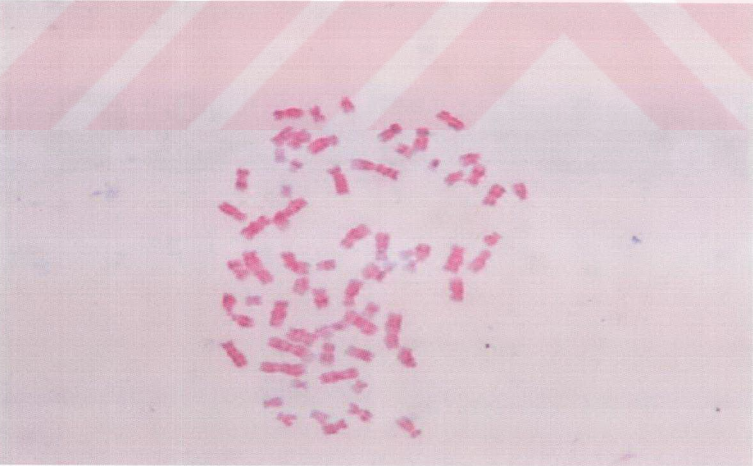
Şekil 5. XO karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme).



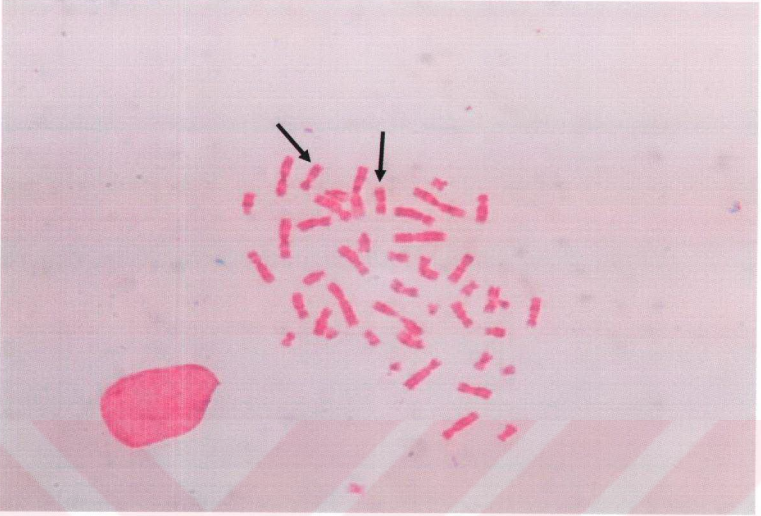
Şekil 6. XXY karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme).



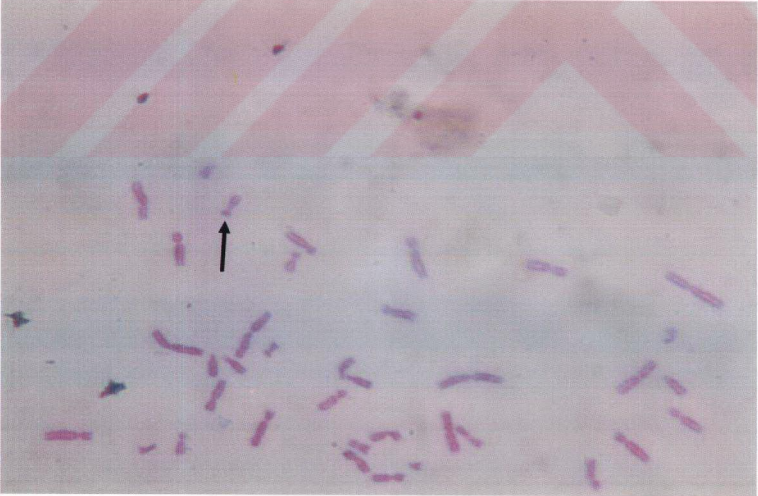
Şekil 7. 47,XY,+21 karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme).



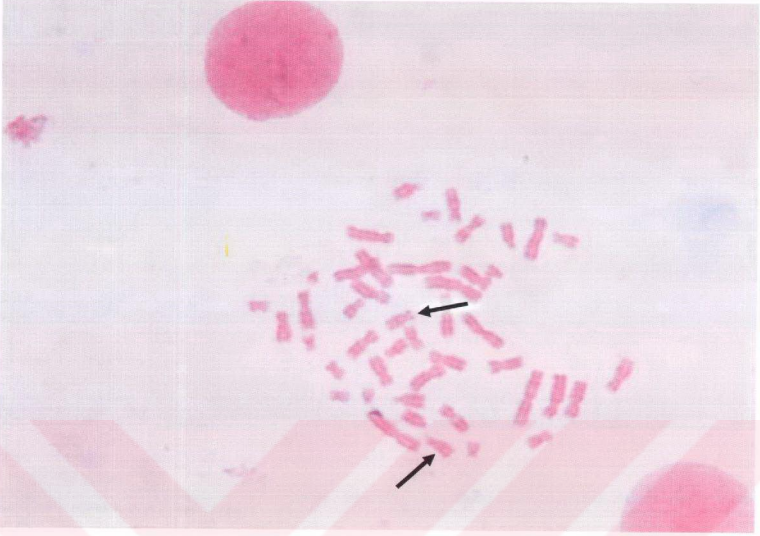
Şekil 8. 69,XXX karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme)



Şekil 9. 46,XX,inv(9)(p11;q13) karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme).



Şekil 10. 46,XY,dup(16)(q12q21) karyotipli bir metafaz plağının fotoğrafik görüntüsü (10X100 büyütme)



Şekil 11. 46,XX,15p+ karyotipli bir metafazın fotoğraflık görüntüsü (10X100 büyütme)

İncelenen fetal karyotipler cinsiyete göre değerlendirildiğinde, 14 erkek (%45.2) ve 17 kız olgu (%54.8) bulunmakta ve primer cinsiyet (erkek/kız) oranı 0.82 olmaktadır (Çizelge 11). Erkek olgularda anne yaşları ortalaması 25.8 ± 5.4 , gebelik sayıları ortalaması 3.2 ± 1.8 ve kız olgularda anne yaşları ortalaması 26.8 ± 6.6 , gebelik sayıları ortalaması 4.0 ± 2.4 'tür (Çizelge 7). Düşük sayıları ortalaması, erkek olgularda 3.1 ± 1.8 , kız olgularda 3.6 ± 2.1 ; düşük haftaları ortalaması erkek olgularda 11.2 ± 2.6 ve kız olgularda 8.1 ± 3.3 'tür (Çizelge 7). 14 erkek olgunun 4'ünde normal ve 10'unda anormal kromozom kuruluşu saptandı. Buna göre; erkek olgularda anormal karyotip sayısı, normal karyotip sayısından 2.5 kat daha fazladır (Çizelge 10). Erkek olgularda görülen anomalilerin, 5'i trizomi (tüm anomalilerin %27.8'si), 3'ü triploidi (%16.7) ve 2'si (%11.1) yapısal anomali şeklindedir (Çizelge 11). Toplam 17 kız olgunun 9'u normal, 8'i anormal kromozom kuruluşuna sahiptir. Kız olgularda anormal karyotiplerin normal karyotiplere oranı 0.88'dir (Çizelge 10). Kız olgularda görülen anomalilerin 3'ü monozomi (tüm anomalilerin %16.6'sı), 1'i triploidi (%5.5) ve 4'ü de (%22.2)

yapısal anomali şeklindedir (Çizelge11) . Anomalili erkeklerin anomalili kızlara oranı 1.25 ve normal erkeklerin normal kızlara oranı 0.44 şeklindedir (Çizelge 10).

Çizelge 10. Anomali sayısı ve oranının cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Anomali		
	Var	Yok	Oran
Erkek	10	4	2.50
Kız	8	9	0.88
Oran	1.25	0.44	

Çizelge 11. Spontan düşüklerde kromozom anomalilerinin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet				Anormal Karyotip Tipi							
	Sayısı	%’si	Oran	Monozomi		Trizomi		Triploidi/ Tetraploidi		Yapısal Anomaliler	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
				Erkek	14	45.2	0.82	-	-	5	27.8
Kız	17	54.8	3	16.6	-	-		1	5.5	4	22.2

Düşük haftası göz önüne alındığında, olguların büyük kısmını ilk trimesterde termine olmuş gebelikler oluşturmaktadır. Çizelge 12’ye bakıldığında, gebeliğin 3 ile 8. haftalar arasında sonlandığı 9 olgunun varlığı gözlenmektedir. Bu olguların 4’ünde gebelik 8. haftada, 3’ünde 3. haftada ve 2’sinde 4. haftada sonlanmıştır. Bu gruptaki olgular, tüm olguların %29’unu oluşturmaktadır. Bu olguların 4’ünde anomali saptandı. Bu sayı, gruptaki olguların %44.4’ünü ve tüm anomalilerin %22.2’sini oluşturmaktadır. Bu anomalilerden 1’i monozomi, 1’i trizomi ve 2’si de triploidi şeklindedir (Çizelge 6,12, 13).

Çizelge 12. Düşük haftalarına göre olguların dökümü

Düşük Haftası	Graptaki Olgu sayısı	Graptaki Anomali Sayısı ve %si		Anomalilerin	
				Tüm Olgular İçerisindeki %’si	Tüm Anomaliler İçerisindeki %’si
3-8	9	4	44.4	12.9	22.2
9-12	17	9	52.9	29.0	50.0
13-18	5	5	100	16.1	27.7

Çizelge 13. Spontan düşüklerdeki kromozom anomalilerinin frekansı ve tipinin düşük haftasına göre dağılımı

Düşük Haftası	Abortus Sayısı	Anomalili Abortusların		Anomalili Abortusların Karyotip Tipi, Sayısı ve Tüm Anomaliler İçerisindeki %'leri							
		Sayısı	% 'si	Monozomi		Trizomi		Triploidi/Tetraploidi		Yapısal Anomaliler	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
3-8	9	4	22.2	1	5.5	1	5.5	2	11.0	-	-
9-12	17	9	50.0	2	11.1	2	11.0	1	5.5	4	22.2
13-18	5	5	27.7	-	-	2	11.0	1	5.5	2	11.0
Toplam	31	18	100	3	16.6	5	27.5	4	22.0	6	33.2

Gebelik sonlanması 9 ile 12. haftalar arasında gerçekleşen 17 olgu bulunmaktadır. Bu olguların 6'sında gebelik 11., 5'inde 9., 4'ünde 10. ve 2'sinde 12. haftada sonlanmıştır (Çizelge 6). Bu gruptaki olgular, tüm olguların %54.8'ini oluşturmaktadır. Bu 17 olgunun 9'unda anomaliye rastlandı. Bunlar, gruptaki olguların %52.9'unu ve tüm anomalilerin %50'sini oluşturmaktadır (Çizelge 12,13). Bu anomalilerden 2'si monozomi, 2'si trizomi, 1'i triploidi ve 4'ü yapısal anomali şeklindedir (Çizelge 13). Gruptaki anomaliler, sayısal (%55.5) ve yapısal anomaliler (%44.5) şeklinde de gruplandırılabilir. Olguların 5'inde gebelik sonlanması 12. haftadan (13-18 hafta) sonra gerçekleşmiştir. Buna göre; gebelik sonlanması 2 olguda 13., 2 olguda 14. ve 1 olguda 18. haftada gerçekleşmiştir. Bu 5 olgunun tamamında anomali bulundu (Çizelge 6, 13). Bu anomalilerin 2'si trizomi, 1'i triploidi ve 2'si de yapısal anomali şeklindedir. Bu grup, tüm anomalilerin %27.7'sini ve tüm olguların %16.1'ini oluşturmaktadır (Çizelge 12,13).

Çalışmamızda 2, 3, 4, 5, 9 ve 11 düşükklü annelerin son düşüklerinin karyotip analizleri yapıldı. Çalışma kapsamında 2 düşükklü 12 olgu çalışıldı. Bu sayı bütün olguların %38.7'sini oluşturmaktadır. Bu olguların 10'unda (%83.3) anomali gözlemlendi ve 2 olgunun da normal kromozom kuruluşuna sahip olduğu saptandı (Çizelge 6, 14). 3 düşükklü 10 olgu çalışıldı. Bu sayı sonuçlandırılan olgular içerisinde %32.2'lik dilimi oluşturmaktadır. Bu olguların 4'ünde anomali gözlemlendi. Bu sayı, gruptaki olguların %40'ını oluşturmaktadır. Geriye kalan 6 (%60) olguda normal kromozom kuruluşuna rastlandı (Çizelge 6, 14). 4 düşükklü

4 olguda (%12.9), sadece 1 anomali (%25) gözlemlendi (Çizelge 6, 14). 5 düşüklü 3 olguda (%9.7) ise, 2 anomali (%66.6) gözlemlendi (Çizelge 14). Son olarak 9 ve 11 düşüklü 2 olgu çalışıldı. Bunların her biri sonuçlandırılan tüm olgular içerisinde %3.2'lik dilimi oluşturmaktadır. 9 düşüklü olguda anomalili, 11 düşüklü olguda normal kromozom kuruluşu tespit edildi (Çizelge 6, 14).

Çizelge 14. Düşük sayısına göre olguların dökümü

Düşük Sayısı	Olgu Sayısı	Tüm Olgular İçerisindeki %'si	Normal		Anormal	
			Sayı	%	Sayı	%
2	12	38.7	2	16.6	10	83.3
3	10	32.3	6	60	4	40
4	4	12.9	3	75	1	25
5	3	9.7	1	33.3	2	66.6
9	1	3.2	-	-	1	100
11	1	3.2	1	100	-	-

Olgularımızda anne yaşlarının aritmetik ortalaması 26.3 ± 6.2 olarak bulundu (Çizelge 7). Çizelge 15 ve 16'da verilen yaş aralıkları göz önüne alınarak değerlendirme yapıldığında, anne yaşının 20'den küçük olduğu 1 olgunun varlığı gözlenecektir. Bu olguda, anne yaşı 18'dir ve fetal karyotip anomalili çıkmıştır (Çizelge 6,15,16). 20-24 anne yaşı aralığında 12 olgu bulunmaktadır. Bu sayı sonuçlandırılan olguların %38.7'sini oluşturmaktadır. Bu olguların 5'inde maternal yaş 20, 3'ünde 21, 1'inde 22, 1'inde 23 ve 2'sinde 24'tür (çizelge 6). Bu olguların 7'sinde anormal kromozom kuruluşu tespit edildi. Bu sayı, gruptaki olguların %58.3'ünü ve tüm anomalilerin %38.8'ini oluşturmaktadır. Gözlenen anomalilerin 1'i monozomi, 2'si trizomi, 3'ü triploidi ve 1'i de yapısal anomali şeklindedir (Çizelge 6,15,16). 25-29 anne yaşı aralığında 11 olgu bulunmaktadır. Bu olgular, tüm olguların %35.4'ünü oluşturmaktadır. Bu olguların 5'inde anne yaşı 25, 1'inde 26, 1'inde 27, 3'ünde 28 ve 1'inde 29'dur. Bu gruba giren olguların 7'sinde anormal kromozom kuruluşu saptandı. Bu sayı, gruptaki olguların %63.6'sını ve tüm anomalilerin %38.8'ini oluşturmaktadır. Bu gruptaki anomaliler; 1 monozomi, 2 trizomi, 1 triploidi ve 3 yapısal anomali şeklindedir (Çizelge 6,15,16). 30-34 anne yaşı aralığında sadece 1 olgu bulunmaktadır. Yapısal anomali tespit edilen bu olguda anne yaşı 31'dir(Çizelge 6, 15,16). Anne yaşı 34'ten büyük, 6 olgu bulunmaktadır. Bu sayı tüm olguların %19.3'ünü oluşturmaktadır. Bu olguların

2'sinde anne yaşı 35, 2'sinde 37, 1'inde 38 ve 1'inde 40'tır. Bu gruptaki olgular arasında, 1'i trizomi ve 1'i de monozomi şeklinde olmak üzere 2 anomali saptandı. Gözlenen anomali sayısı, gruptaki olguların %33.3'ünü ve tüm anomalilerin %11.1'ini oluşturmaktadır (Çizelge 6, 15, 16).

İncelenen 31 örneğin baba yaşlarına bakıldığında; 19 yaşından küçük babanın bulunmadığı görülmektedir. Baba yaşı, 20-24 aralığında 7 (4'ü anormal), 25-29 aralığında 9 (6'sı anormal), 30-34 aralığında 6 (3'ü anormal), 35-39 aralığında 4 (tamamı anormal) ve 40 yaşından büyük 5 (1'i anormal) olgu bulunmaktadır (Çizelge 15).

Çizelge 15. Analiz edilen düşük materyallerinde ebebeyn yaşlarının dağılımı

Yaş Grupları	Anne				Baba			
	Sayısı	Oranı (%)	Anormal Karyotip Sayısı	Anomaliler İçerisindeki %'si	Sayısı	Oranı (%)	Anormal Karyotip Sayısı	Anomaliler İçerisindeki %'si
≤19	1	3.2	1	5.5	-	-	-	-
20-24	12	38.7	7	38.8	7	22.5	4	22.2
25-29	11	35.5	7	38.8	9	29.0	6	33.3
30-34	1	3.2	1	5.5	6	19.3	3	16.6
35-39	5	16.1	1	5.5	4	12.9	4	22.2
≥40	1	3.2	1	5.5	5	16.1	1	5.5

Çizelge 16. Spontan abortuslarda saptanan kromozom düzensizliklerinin tip ve frekanslarının maternal yaşa göre dağılımı

Maternal Yaş	Abortus Sayısı	Anomalili Abortusların		Anomalili Abortusların Karyotip Tipi, Sayısı ve Tüm Anomaliler İçerisindeki %'leri							
		Sayısı	%’si	Monozomi		Trizomi		Triploidi/Tetraploidi		Yapısal Anomaliler	
				Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
≤19	1	1	5.5	-	-	-	-	-	-	1	5.5
20-24	12	7	38.8	1	5.5	2	11.0	3	16.5	1	5.5
25-29	11	7	38.8	1	5.5	2	11.0	1	5.5	3	16.5
30-34	1	1	5.5	-	-	-	-	-	-	1	5.5
35-39	5	1	5.5	-	-	1	5.5	-	-	-	-
≥40	1	1	5.5	1	5.5			-	-	-	-
Toplam	31	18	100	3	16.5	5	27.5	4	22.0	6	33.0

Çalışmamız kapsamında 31 çiftin (62 bireyin) karyotip analizleri de yapıldı. Bu çiftlerin 4’ünde (%12.9) anne yada babada anomali tespit edildi. Geriye kalan 27 çiftte (%87.1) normal kromozom kuruluşu tespit edildi. Bu anomalilerin 2’si maternal ve 2’si de paternaldır. Anormal maternal karyotiplerin 46,XX,9qh+ ve 46,XX,inv(9)(p11;q12); anormal paternal karyotiplerin ise 46,XY,15p+ ve 46,XY,9qh+ şeklinde kromozom kuruluşu gösterdikleri, saptandı. Bu olgulardan 46,XY,15p+ karyotipinin paternal geçiş gösterdiği ve fötüsün de aynı karyotipi taşıdığı tespit edildi. Diğer parental anomalilerin, fötüye kalıtım yoluyla geçmediği gözlemlendi (Çizelge 6).

5. TARTIŞMA

Çalışmamıza kabul edilen 40 örneğin, 9'u üretilmedi(%22.5) . Kalan 31 örneğin (%77.5) kültürü başarıyla yapıldı. Benzer çalışmaların bir kısmında; daha yüksek bir üreme başarısı elde edildiği bildirilmektedir^{2,40}. Üretilmeyen örneklerin 2'sinde mantar, 1'inde bakteri kontaminasyonu saptandı. Bu örneklerin, alınma ve/veya taşınma işlemleri sırasında enfekte oldukları düşünülmektedir. Enfeksiyona bağlı başarısızlık oranımız %7.5 olarak saptandı (3/40). 6 örnekte (%15) ise herhangi bir enfeksiyon gelişmediği halde, üremenin gerçekleşmediği gözlemlendi. Bu örneklerin 1'i koryonik villus, 5'i fetal doku örneği idi. Bu örneklerde üremenin olmaması; gelen materyalin azlığına, aşırı kanlı olmasına veya dokunun uzun süre bekletilmiş olmasına bağlı olabilir. Nitekim 2 fetal doku örneği, bir yanlış anlaşılardan dolayı yaklaşık bir hafta bekletildikten sonra laboratuvarımıza ulaştırıldı ve bunlarda üremenin meydana gelmediği gözlemlendi.

Çalışılan 31 örneğin 18'inde anomali saptandı. Kalan 13 örnekte normal kromozom kuruluşu tespit edildi. Yüzde olarak ifade edecek olursak olguların %58'inde anomali saptandı. Yapılan benzer çalışmalarda anomali oranlarının %40-60 arasında olduğu bildirilmiştir^{5,6,7,9,12}. Çalışmamızda elde edilen anomali oranı ile literatür bilgileri uyumludur ve tekrarlayan düşükler ile kromozom anomalileri arasındaki ilişkiyi teyit etmektedir. Diğer taraftan bazı çalışmalarda, sporadik düşük vakalarından oluşturulan çalışma gruplarında da %50'nin üzerinde anomali tespit edildiği bildirilmiştir^{41,42}. Dolayısıyla saptadığımız anomali oranı, düşüklerin tekrarlayan yada spontan olup olmadığı konusunda net bir bilgi vermemektedir. Bu konuda ileride yapılacak olan ve çok sayıda olguyu kapsayan çalışmaların daha açıklayıcı bir sonuç verebileceği düşünülebilir. Çalışmamızda anne yaşı ortalaması; normal olgularda 27.8 ± 6.5 , anomali olgularda 25.3 ± 5.5 olarak hesaplandı. Anne yaşının normal olgularda daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu dikkate değer bir durumdur. Çünkü, benzer çalışmalarda anne yaşı ortalamasının anomali olgularda daha yüksek olduğu bildirilmiştir^{12,16,43}. Dolayısıyla bu konuda, literatür bilgileri ile çelişen bir durum mevcuttur. Bunun nedeni tam olarak izah edilememekle birlikte,

bölgemizdeki doğurganlık yaşının düşük olmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir.

Anomalili 18 olgumuzun, 12'sinde sayısal ve 6'sında yapısal anomaliye rastlandı. 12 sayısal anomalinin; 4'ü triploidi, 5'i trizomi, 2'si cinsiyet monozomisi ve 1'i de mozaik anöploidi şeklindedir. Çalışmamızda, triploidiler tüm anomaliler içerisinde %22.2'lik bir paya sahiptirler. 2004 yılında Philipp ve arkadaşlarının 254 olgu ile yaptıkları bir çalışmada; saptanan tüm anomalilerin %9.9'unun triploidilerden oluştuğu rapor edilmiştir⁴⁴. Yapılan başka çalışmalarda ise anomalilerin % 14 ile %15'inin triploidilerden oluştuğu rapor edilmiştir^{2,31}. Bu çalışmalarla kıyaslandığında; triploidi oranımızın daha yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmamızda saptanan triploidilerin 3'ü 69,XXY ve 1'i 69,XXX kromozom kuruluğu göstermektedir. 69,XXY karyotipli olguların 2'si, ikinci düşük ve 1'i dördüncü düşük şeklindedir. 69,XXX karyotipli olgu ise ikinci düşük şeklindedir. Bu olgularda düşük olayı 8, 8, 9 ve 13. haftalarda (aritmetik ortalaması 9.5) gerçekleşmiştir. Philipp ve arkadaşları ise triploidik olguların, çoğunlukla gebeliğin 10, 11 ve 12. haftalarında düşükle sonuçlandıklarını bildirmişlerdir⁴⁴. Dolayısıyla triploidik olguların düşük haftaları bakımından iki çalışma arasında bir paralellik bulunmaktadır. Ayrıca, triploidik olguların %98-99'unun düşükle sonlandığı ve bu olayın gelişimin 6-10. haftaları arasında meydana geldiği bildirilmiştir⁴⁴.

Çalışmamızda saptanan anomalilerin %27.5'i (5) trizomi şeklindedir. Bu oran benzer çalışmalarda, %67 ve %52.5 olarak rapor edilmiştir^{2,12,31}. Görüldüğü gibi, trizomi olgularına farklı oranlarda rastlanabilmektedir. Olgu sayımızın görece azlığı göz önüne alındığında %27.5'lik trizomi oranı önemli bir orandır. Çalışmamızda anne yaşları ortalaması, tüm olgular için 26.3 ve trizomili olgular için 25.8 olarak hesaplandı. Buna göre, trizomili olguların anne yaşlarının ortalaması, genel anne yaşları ortalamasından düşük çıkmaktadır. Buna karşın Bahçe ve arkadaşları, tüm olgulardaki anne yaşları ortalamasını 27.2 ve trizomili olgulardaki anne yaşları ortalamasını 36.3 olarak rapor etmişlerdir³⁰. Buna paralel olarak Stephenson ve arkadaşları, 131 trizomik olgunun 88'inde anne yaşının 36 ve üzeri olduğunu rapor etmişlerdir¹². Trizomik olgularda anne yaşları ortalamasının yüksek olduğunu vurgulayan

başka bir çalışmaya da rastlandı¹⁰. Bu konuda çalışmamız ile diğer çalışmalar arasında görülen uyumsuzluğun; olgularımızın yaş sınırlarının düşük olmasından, olgu sayımızın ve dolayısıyla trizomili olgu sayımızın az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Saptanan trizomilerin 1'i 46,XY/47,XY,dmn+(%10) karyotipli mozaik bir olgu, 2'si 47,XXY (Klinefelter sendromu) karyotipli cinsiyet trizomisi ve 2'si de 47,XY,+21 (Down sendromu) karyotipli otozomal trizomi şeklindedir. 47,XY,+21 ve 47,XXY şeklindeki trizomiler, toplumda gözlenen en yaygın genetik hastalıklardır. Bu genetik dengesizlikler tek başlarına düşük sebebi sayılamazlar. Bunlarla ilgili bir çalışmada; gebeliğin 10. haftası ile sonu arasındaki sürede, trizomi 21'li fötüslerin %30 ile %75'inin düşükle sonlandığı rapor edilmiştir⁴⁵. Trizomi 21'li fötüslerin bir kısmı düşükle sonlanırken, diğer kısmının yaşamasının neye bağlı olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir. Ancak Kuo PL⁴⁵'nin yaptığı çalışmada; 2 vakada, maternal endokrin disfonksiyonlarının eşlik ettiği trizomi 21'lerin düşükle sonlandığı rapor edilmiştir. Bu örnekte görüldüğü gibi, trizomi 21 ile bazı hastalık faktörlerinin bir arada bulunduğu fötüsler, gestasyon sürelerini doldurmadan atılmaktadırlar. 47,XXY kromozom kuruluşunun fetal kayıplara neden olduğu ile ilgili kesin bir bilgi yoktur. Ancak son zamanlarda yayınlanan bir çalışmada; 47,XXY, 47,XXX ve 47,XYY (seks kromozomu polizomileri olarak bilinirler) karyotipli olguların %37'sinin düşük ile sonuçlandığı vurgulanmıştır⁴⁶. Bu da bize, abortus olgularında 47,XXY karyotipine önemli oranda rastlanabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda ise tüm olguların %6.4'ünde ve tüm anomalili olguların %11.1'inde 47,XXY karyotipine rastlandı. Bu durumda elde edilen sonuç literatür ile uyumludur⁴⁶. Diğer trizomilerde olduğu gibi 47,XXY karyotipli olgularda da ileri maternal yaş endikasyonu önemlidir. Yukarıda sözü edilen çalışmada seks kromozomu polizomilerinde maternal yaş ortalamasınının 36.9 olduğu bildirilmiştir⁴⁶. Çalışmamızda ise 47,XXY karyotipli iki olgunun anne yaşlarının ortalaması 31.5 (28 ve 35) olarak bulundu. Diğer çalışma ile kıyaslandığında bu değer düşük olduğu görülmektedir. Ancak, çalışmamızda hem tüm olgularda ve hem de trizomik olgularda anne yaşının diğer çalışmalara göre daha genç olduğu göz önünde alındığında elde edilen ortalama yaşın yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Son

olarak, 46,XX/47,XX,dmn+ (%10) karyotipli mozaik trizomik olgumuzun incelenen metafaz plaklarının %10'unda, bir minut kromozoma rastlandı. Minut kromozomlar, klinik genetikte, genetik danışmada ve üreme başarısızlıklarında sıkça sözü edilen ekstra kromozomal yapılardır⁴⁷. Ancak olgumuzda sınırlı sayıda metafazda görülen minut kromozomun, fütal kayba yol açmış olma olasılığı düşük görünmektedir.

Çalışmamız kapsamında 3 olguda monozomi saptandı. Monozomik olgular, tüm anomalilerin %16.6'sını oluşturmaktadır. Bu olguların 2'si 45,X0 (Turner sendromu) kromozom kuruluşu göstermektedirler ve tüm anomalilerin %11.1'ini oluşturmaktadırlar. Benzer çalışmalarda; Carp ve arkadaşları² anomalili olguların %13.8'inin, Stephenson ve arkadaşları¹² %9.2'sinin ve Eiben ve arkadaşları⁴⁸ %10.5'nin 45,XO karyotipli olgulardan oluştuğunu rapor etmişlerdir. Bu oranların, bulgumuzla uyumlu oldukları görülmektedir. Çalışmamızda 45,X0 olguların anne yaşlarının ortalaması 24 olarak hesaplandı. Genel yaş ortalamasının 26.3 olduğu göz önüne alındığında, 45,X0 olgularda anne yaşları ortalamasının düşük olduğu görülmektedir. Bu durum, literatür bilgileri ile uyumludur^{46,48}. 45,X0 olgularının %80'i prenatal dönemde atılmaktadır⁴⁹. Dolayısıyla 45,X0 kromozom kuruluşu, büyük oranda düşük nedenidir. Bir olgumuzun karyotipi 46,XX/45,XX, anöploidî(%20), del(15)(q14),ring(19) şeklinde kompleks bir yapı göstermektedir. Bu olguda metafazların %20'sinde farklı kromozomlar bakımından monozomi durumu söz konusudur. Ayrıca 46,XX olan metafazlarda değişik oranlarda ring(19) yapısı ve 15. kromozomun q kolunda delesyon saptandı. Bu derece kompleks yapıda anormal kromozom kuruluşuna sahip hücre hatları içeren bir fütüsün, prenatal dönemde atılması olası görünmektedir.

Çalışmamızda saptanan yapısal anomaliler, 46,XY,inv(9)(p11;q13), 46,XX,inv(X)(p11;q13), 46,XY,dup(16)(q12q21), 46,XY,der(18)t((18;?)(q23;?), 46,XX,15p+ ve 46,XX,9qh+ şeklindedir. Yapısal anomaliler, tüm olguların %19.3'ünü ve tüm anomalilerin %33.3'ünü oluşturmaktadırlar (Çizelge 9). Carp ve arkadaşları², yapısal anomalilerin tüm olgulara oranını %1.6, Stephenson ve arkadaşları^{3,12} iki ayrı çalışmada %3.6 ve %1.9 olarak saptamışlardır. Bu oranlar ile kıyaslandığında, yapısal anomali oranımızın çok yüksek olduğu

görülmektedir. Ancak 9. kromozomun q kolu ile ilgili varyasyonları polimorfizm olarak değerlendirdiğimizde, geriye 4 yapısal anomalili olgu kalmaktadır⁵⁰. Bu durumda, tüm olguların %12.9'u yapısal anomalili olgulardan oluşmuş olur. Bu oran da yine literatüre göre yüksektir. Bu durumu, ancak olgu sayımıza ve/veya popülasyonumuza özgü bir durum olarak niteleyebiliriz. Yapısal anomalili olgularımızın 2'sinde; 46,XX,9qh+ ve 46,XX,inv(9)(p11;q13) kromozom kuruluşu saptandı. 9. kromozomda görülen bu şekildeki yeniden düzenlenmeler genelde polimorfizm olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte 9. kromozomdaki bu inversiyonla ilgili uniparental dizomiye bağlı olarak gelişme geriliği ve oligohidroamnios'un geliştiği, bu nedenle intra uterin ölümlerin gerçekleştiği bildirilmiştir⁵¹. Bu da olgumuzdaki inversiyonlu 9. kromozomun uniparental kalıtımla geçmiş olabileceği şüphesi uyandırmaktadır. Bir olguda 46,XY,dup(16)(q12q21) karyotipi saptandı. Bu olguda 16. kromozomun q kolunun perisentrik bölgesinde önemli bir artış söz konusudur. 16. kromozomun heterokromatin bölgesinde görülen değişiklikler polimorfizm olarak değerlendirilmektedir. Ancak olgumuzdaki bu artışın polimorfik bir kazanım olmadığı, duplikasyon tipi bir artış olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu artışın fetal kayba yol açmış olabileceği söylenebilir. Olgularımızın 1'inde 46,XX,15p+ kromozom kuruluşu tespit edildi. 15. kromozomun p kolunda meydana gelen artışlar polimorfizm olarak kabul edilmektedirler⁵² ve dolayısıyla düşük nedeni değildirler. Bir olguda 46,XX,inv(X)(p11;q13) kromozom kuruluşu saptandı. Anormal X kromozomlarının inaktivasyon sürecine girdikleri göz önüne alındığında gözlediğimiz bu perisentrik inversiyonun fetal kayba neden olmayacağı düşünülebilir⁵³. Literatür bilgileri de bu görüşü desteklemektedir^{54,55,56}. Ancak Xq'daki parasentrik inversiyonlar dışındaki spesifik inversiyonların turner sendromuna benzer fenotipik belirtiler verdiği bildirilmiştir⁵⁷. Bu da bulgumuzdaki X perisentrik inversiyonunun turner benzeri bir düşünüşe neden olabileceğini düşündürmektedir. Son bir olgumuzda 46,XY,der(18)t(18;?)(q23;?) kromozom kuruluşu saptandı. Bu olguda 18. kromozomun q kolunda kaynağı bilinmeyen parça artışı meydana gelmiştir. Bu

artışın gen dozajında dengesizlik yaratacağı göz önüne alındığında, fetal kayba yol açmış olabileceği düşünülebilir.

İncelediğimiz 31 olgunun anne yaşlarının aritmetik ortalaması 26.3 ± 6.2 olarak hesaplandı. Ülkemizde bu oran, Bahçe ve arkadaşlarının³⁰ 127 olgu ile yaptıkları çalışmada 27.5 ± 5.06 ; Artan¹⁶'ın 40 olgu ile yaptığı çalışmada, normal olgularda 28.6 ± 1.6 ve anomalili olgularda 31.8 ± 3.2 olarak bulunmuştur. Artan'ın yaptığı çalışmada, normal olguların 2 kat daha fazla olduğu düşünülürse ortalama anne yaşının 29'a yakın bir değerde olduğu görülecektir. Yurt dışında yapılan çalışmalarda; Stephenson ve arkadaşları¹² 285 olguda anne yaşları ortalamasını 34.3, Makino ve arkadaşları⁵⁸ 1120 olguda 31.5, Carp ve arkadaşları² ise 125 olguda 31.9 olarak rapor etmişlerdir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda elde edilen anne yaş ortalaması ile bizim hesapladığımız ortalama arasında paralellik bulunmaktadır. Oysa yurt dışında yapılan çalışmalarda bu ortalamanın daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durumun, yurdumuzda evlenme yaşının ve dolayısıyla gebe kalma yaşının küçük olmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür³⁰. Olgularımızın %81'inde anne yaşının 35'in altındadır. Ancak olguların %19.3'ünde anne yaşı 35 ve üzeridir. 35 altı yaş grubundaki annelerin %64'ünde anomali saptandı. Anne yaşının 35 ve üzeri olduğu 6 olgunun, sadece %33'ünde (2 olgu) anomali gözlemlendi. Görüldüğü gibi 35 altı yaş grubunda anomali yüzdesi çok daha yüksek çıkmaktadır. Oysa bu durum literatür bilgileri ile uyumlu değildir. Anne yaşının 35 ve üzeri olduğu grupta olgu sayısı az olduğundan, sadece yüzde değerine bakarak yorum yapmanın hatalı olabileceği kanaatindeyiz.

Olgularımızın düşük sayıları 2 ile 11 aralığındadır ve aritmetik ortalaması 3.4 ± 2.0 şeklindedir. Düşük sayılarının ortalaması, normal olgularda 3.8 ± 2.2 ve anomalili olgularda 3.0 ± 1.7 'dir. Görüldüğü gibi anomalili olgularda ortalama düşük sayısı normal olgulara göre daha düşük çıkmaktadır. Bu önemli bir bulgudur. Çünkü son çalışmalarda; düşük sayısı ile düşükün genetik bir nedenden dolayı olması arasında ters bir orantının bulunduğu ileri sürülmüştür^{12,31,32}. Çalışılan 31 olgunun 12'sinin (%39) 2. düşük olgular oldukları ve bu olguların 10'unda (%83) anomali saptandığı görülecektir. Yine incelenen 10 olgu da 3. düşük olgular şeklindedir ve bu olguların 4'ünde (%40)

anomali saptanmıştır. 4., 5., 9. ve 11. düşük olguları içeren gruplar, karşılaştırma yapmak için yeterli sayıda olgu içermemektedirler. 2. ve 3. düşük olgu gruplarının anomali yüzdeleri karşılaştırıldığında, 2. düşük olgularda daha yüksek oranda anomali görülmektedir. Bulgularımız diğer çalışmalarda ileri sürülen “düşük sayısının artması ile kromozomal anomali oranı düşer” tezini desteklemektedir^{12,31,32}. 3 ve üzeri düşüklü olgular baz alındığında, 19 olgumuz bulunmaktadır^{1,59}. Bunların 8'i (%42), anormal kromozom kuruluşu göstermektedir.

Düşük haftalarının (gestasyonel yaş) aritmetik ortalaması; tüm olgularda 9.5 ± 3.5 , normal olgularda 8.2 ± 3.3 ve anomalili olgularda 10.5 ± 3.1 olarak hesaplandı. Görüldüğü gibi anomalili olgularda gestasyonel yaş biraz daha yüksektir. Çalışılan 31 olgunun 17'si (%55), 9 ile 12. haftalar arasında düşmüşlerdir ve bu olguların %50'sinde anomali saptanmıştır. Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada; anomali insidansının, 8. haftadan önce düşen olgularda daha yüksek olduğu belirtilmiştir¹⁶. Diğer bir çalışmada; anomali insidansının, 6. haftadan önce düşen gebeliklerde %42, 6-10. haftalar arasında düşen gebeliklerde %50, 10-20. haftalar arasında düşen gebeliklerde ise %42 olduğu bildirilmiştir¹². Görüldüğü gibi bu çalışmada gestasyonel yaş ile anomali insidansı arasında doğrusal bir ilişki yoktur ve anomali oranı, 6-10 arasındaki haftalarda düşen olgularda daha yüksektir. Bu konuda, çalışmamızla uyumlu bir literatür bilgisine rastlanmadı. Ayrıca, gebeliğin 13 ile 18. haftalar arasında sonlandığı 5 olgumuz bulunmaktadır. Bu olguların tamamında anomali saptandı.. Bu dikkate değer bir bulgudur. Ancak, gruptaki olgu sayısı az olduğundan bu konuda yorum yapılamamaktadır.

Çalışmamızda analizi yapılan olguların cinsiyet durumuna bakıldığında; tüm olguların %45.2'sinin erkek ve %54.8'inin kız olduğu görülmektedir. Bu ayırım yapılırken karyotipinde Y kromozomu bulunan bütün olgular erkek, bulunmayanlar kız olarak değerlendirildi. Dolayısıyla bu ayırımı cinsiyet anomalileri de dahildir. Erkek/kız oranı 0.82 olarak bulundu. Anomalili olgular dışında 4 normal erkek ve 9 normal kız olgusu bulunmaktadır. Bu durumda erkek/kız oranı 0.44'e inmektedir. Bu oran, Artan'ın çalışmasında 0.69; Bartels ve Hansmann'ın yaptığı çalışmada ise 0.77 olarak bildirilmiştir^{16,60}. Buna göre;

normal olgularımızdaki erkek/kız oranı, diğer çalışmalarla kıyaslandığında düşük çıkmaktadır. Bu durum maternal kontaminasyon riskini akla getirmektedir. Ancak tüm olguları esas alarak yaptığımız oranlama (0.82), bu şüpheyi büyük çapta gidermektedir. Ayrıca kız karyotipli olgu sayısının fazla olduğu tekrarlayan düşük çalışmaları da bulunmaktadır^{20,48}. Bartels ve Hansmann⁶⁰'a göre düşüklerde, özellikle erken düşüklerde, dişi karyotipli olgu sayısının fazla olması normaldir. Bu araştırmacılara göre; gebeliğin ilk dönemlerinde dişi fetüslerde X kromozomu inaktivasyonu veya reaktivasyonu sırasında meydana gelen düzensizlikler, bazen gebeliğin düşükle sonlanmasına neden olabilmektedirler. Nitekim son zamanlarda yapılan bir çalışmada Beever ve arkadaşları⁵⁹, X kromozomunun rastgele olmayan inaktivasyonu ile trizomik karyotipli tekrarlayan düşükler arasında bir ilişkinin bulunduğunu, bu nedenle düşen fütüslerin cinsiyetinin çoğunlukla kız olduğunu ve bundan dolayı böyle düşük öyküsü bulunan kadınların erkek çocuk sahibi olma şanslarının daha fazla olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca bunun aksini iddia eden bir çalışmada bulunmaktadır⁵³. Çalışma grubumuzu oluşturan olgular cinsiyete göre anomali dağılımı yönünden incelendiklerinde, toplam 14 erkek olgunun 4'ünde normal ve 10'nunda anormal karyotip görülmektedir. Dolayısıyla erkeklerde anomali/normal oranı 2.5'tir. Bir başka deyişle, erkek cinsiyetli düşüklerde anormal karyotip sayısı, normal karyotip sayısının 2.5 katıdır. Toplam 17 kız olgunun 9'unda normal ve 8'inde anormal karyotip saptandığı göz önüne alınırsa, anomali/normal oranının 0,88 olduğu görülmektedir. Dolayısıyla kız olgularla karşılaştırıldığında, erkek olgularda anomali görülme sıklığı artmaktadır.

İncelenen 31 düşük olgusunun ebeveynlerinin kromozom analizleri de yapıldı. Buna göre; 2'si maternal ve 2'si de paternal olmak üzere toplam 4 çiftte parental kromozom anomalisi saptandı. Anomalili kromozom kuruluşları sırasıyla; 46,XX,9qh+, 46,XY,15p+, 46,XX,inv(9)(p11;q13) ve 46,XY,9qh+ şeklindedir. Anomali oranı, çiftlerde %13 ve bireylerde %6.5 olarak saptandı. Benzer bir çalışmada; Pantzar ve arkadaşları⁶¹ 2 veya daha fazla sayıda düşük öyküsü bulunan 318 çiftten oluşturdukları çalışma grubunda; çiftler bazında %2.2 ve bireyler bazında %1.1 oranında anomali saptamışlardır. Benzer

şekilde, Husslein ve arkadaşları⁶² 2 veya daha fazla sayıda düşük öyküsü olan 150 çiftin %4.7'sinde, Schmepp ve Wolff⁶³ ise 117 çiftin %4.3'ünde anomali bulduklarını belirtmişlerdir. Bu anomali oranları ile karşılaştırıldığında, bulduğumuz anomali oranı yüksek çıkmaktadır. Fakat Michels ve arkadaşları, tekrarlayan düşük öyküsü bulunan çiftlerde %1 ile 31 arasında anomali görüldüğünü belirtmişlerdir⁶⁴. Bu bildirim göz önüne alındığında, bulduğumuz anomali oranının normal sınırlar içerisinde olduğu anlaşılır. Ayrıca bulduğumuz 46,XY,9qh+, 46,XX,9qh+ ve 46,XY,15p+ şeklindeki polimorfik karyotipleri dışladığımızda geriye anomalili 1 olgumuz kalmaktadır. Bu durumda anomali oranı % 3.2'ye gerilemekte ve literatürde bildirilen oranlarla uyumlu hale gelmektedir. Son olarak bir babada görülen 46,XY,15p+ karyotipinin aynı şekliyle fötüse geçtiği tespit edildi. Ancak 15. kromozomun p kolundaki artış normal varyasyon olarak kabul edildiğinden, bu durum dikkate alınmadı.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yaklaşık 35 yıldan beri tekrarlayan düşük olguları ile kromozom anomalileri arasındaki ilişkiyi göstermeye yönelik pek çok çalışma yapılmış ve yapılmaktadır. Bu çalışmalara paralel olarak tekrarlayan düşük öyküsü olan ailelerde, ebeveynlerden de karyotip analizleri yapılmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda, normal popülasyondan farklı anomali sonuçları rapor edilmektedir. Bu sonuçlardan, tekrarlayan düşük öyküleri ile kromozom anomalileri arasında bir ilişkinin olduğu ortaya çıkmaktadır. Günümüzde tekrarlayan düşükler ile ilgili olarak popülasyon taraması düzeyinde çalışmalar yapılmaktadır. Buradan elde edilen sonuçlar, topluma genellenebilir düzeye ulaşmıştır. Bu durumun sitogenetik tanı ve genetik danışma açısından çok önemli olduğu ortadadır. Bu konu ülkemizde, 1992 yılından beri çalışılmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, dünya literatüründeki sonuçları destekler niteliktedirler ve tekrarlayan düşükler ile kromozom anomalileri arasındaki ilişkiyi teyit etmektedirler. Sadece anne yaşı ile ilgili bulgular, dünya literatüründeki bulgular ile çelişmektedir. Bunun, ülkemizdeki evlenme yaşının ve dolayısıyla anne olma yaşının küçük olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızla ilgili olarak şu sonuçlar öne çıkmaktadır.

Çalışmamızda kullanılan uzun süreli doku kültür yöntemi, zaman alıcı ve sabır gerektiren bir yöntem olmasına karşın, elde edilen metafaz plaklarının kaliteli olması bakımından tercih edilebilir bir yöntemdir. Bu sayede analiz kolaylaşmakta ve daha az zaman harcanmaktadır. Doğumevlerindeki fiziki koşulların yetersizliği nedeniyle steriliteye pek önem verilmemesine rağmen, elde ettiğimiz %78'lik kültür başarıları da önemlidir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların %58'inde kromozom anomalisinin saptanması önemlidir. Bu anomalilerin %66.6'sı sayısal anomalilerdir. Sayısal anomalilerin %42'sini trizomiler, %33'ünü triploidiler ve %25'ini monozomiler oluşturmaktadır. Ayrıca 45,XO olguların anne yaşlarının aritmetik ortalaması, trizomik olgulardan daha düşüktür. Bu veriler literatür bulguları ile uyumludur. Anomalilerin %33'ünü yapısal anomaliler oluşturmaktadır. Bu oran, kimi çalışmalara göre yüksek bir orandır. Saptanan

yapısal anomalilerin %67'si dengeli yeniden düzenlenmeler şeklindedir. Yapısal anomalilerin %50'si, polimorfizm olarak bilinen yeniden düzenlenmelerdir. Çalışmamızda; anomalili olguların anne yaşlarının aritmetik ortalamasının, normal olgulardan daha düşük çıkmış olması da dikkate değer bir bulgudur. Aynı zamanda, anomalili olgularda gestasyonel yaşın normal olgulardan daha yüksek çıkmış olması önemli bir bulgudur. Ayrıca erkek olgularda anomali oranının 2.5 kat daha fazla çıkmış olması da, yine vurgulanması gereken bir durumdur. Olgularımızın anne ve babaların karyotip sonuçları değerlendirildiğinde, çiftlerin %12.9'unda eşlerin birinde anomali bulunmaktadır. Bu oran, diğer çalışmalarla kıyaslandığında yüksektir.

Bütün bu veriler ışığında; elde ettiğimiz sonuçların oldukça önemli oldukları ortadadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre; tüm gebeliklerin %15-40'ı spontan abortus ile sonuçlanmakta ve düşüklerin yaklaşık %40'ının nedeni halen açıklanamamaktadır. Dolayısıyla bu konu, üreme sağlığı açısından oldukça önemli bir sorundur. Böyle çalışmalardan elde edilecek sonuçlar, hem düşüğün etiolojisinin belirlenmesinde ve hem de anne adaylarının bir sonraki gebeliklerinde yol gösterici olacaklardır.

Sonuç olarak, tekrarlayan düşük öyküsü bulunan anne adaylarına eksiksiz bir genetik danışmanın verilebilmesi ve üreme başarısızlıklarının temel nedenlerinin açıklanması için bu konuda çok sayıda olguyu kapsayacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Umarız araştırmamızdan ortaya çıkan sonuçlar, bu konuya önemli katkılar sağlar. Ayrıca, çalışmamız laboratuvarımıza fetal dokudan sitogenetik analiz yönteminin yerleşmesini sağlamıştır.

7. KAYNAKLAR

1. **Yakut S, Berker-Karauzum S, Simsek M, Zorlu G, Trak B, Luleci G.** Telomere-specific fluorescence in situ hybridization analysis of couples with five or more recurrent miscarriages. *Clin Genet*, **2002**; 61: 26-31.
2. **Carp H, Toder V, Aviram A, Daniely M, Mashiach S, Barkai G.** Karyotype of the abortus in recurrent miscarriage. *Fertil Steril*, **2001**; 75: 678-682.
3. **Stephenson MD.** Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril*, **1996**; 66:24-29.
4. US Department of Health and Human Services, **1982+**. #US-DEPARTMENT-OF-HEALTH-AND-HUMAN-CERVIC.
Erişim: (<http://humrep.oupjournals.org/cgi/content/full/17/2/>) 2004. Erişim tarih: 12.9.2004
5. **Daniely M, Aviram A, Carp HJ, Shaki R, Barkai G.** The association between sporadic somatic parental aneuploidy and chromosomally abnormal placentae in habitual abortions. *Early Pregnancy*, **2001**; 5: 153-163.
6. **Schmutz SM, Moker JS, Clark EG, Orr JP.** Chromosomal aneuploidy associated with spontaneous abortions and neonatal losses in cattle. *J Vet Diagn Invest*, **1996**; 8(1): 91-95.
7. **Kalousek DK, Pantzar T, Tsai M, et al.** Early spontaneous abortion: morphologic and karyotypic findings in 3,912 cases. *Birth Defects*, **1993**; 29: 53-61
8. **Lauritsen JG.** The significance of oral contraceptives in causing chromosome anomalies in spontaneous abortions. *Acta Obstet Gynecol Scand*, **1975**; 54: 261-264.
9. **Hassold T.** Chromosome abnormalities in human reproductive wastage. *Trends Genet*, **1986**; 2: 105-110.
10. **Robinson WP, McFadden DE, Stephenson MD.** The origin of abnormalities in recurrent aneuploidy/polyploidy. *Am J Hum Genet*, **2001**; 69(6): 1245-1254.
11. **Hassold TJ, Chen N, Funkhouser T, Jooss T, Manuel B, Matsuura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane JA, Jacobs PA.** A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet*, **1980**; 44: 151-178.
12. **Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP.** Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case±control study. *Hum Reprod*, **2002**; 17: 446-451.
13. **Strom CM, Ginsberg N, Applebaum M, Bogorzi N, White M, Caffarelli M, and Verlinsky Y.** Analysis of 95 1st-trimester spontaneous abortions by chorionic villus sampling and karyotype. *J Assist Reprod Genet*, **1992**; 9: 458-461.
14. **Boue J, Boue A, Lazar P.** Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. *Teratology*, **1975**; 12: 11.
15. **Kim SK, Kim HJ, Yang YH, Kim IK, Bai SW, Kim JY, Park KH, Cho DJ, Song CH.** A case with balanced chromosome rearrangement involving chromosomes 9, 14, and 13 in a woman with recurrent abortion. *Yonsei Med J*, **2001**; 42(3): 345-348.

16. **Artan S.** İlk Trimester Spontan Abortus Materyallerinde Sitogenetik ve Elektron Mikroskopik Analizler. *Doktora tezi*, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, **1992**.
17. **Thompson MW, McInnes RR, Willard HF.** *Clinical Cytogenetics: General Principles and Autosomal Abnormalities: Genetics in Medicine*. 5th Ed., Philadelphia: MJ.(ed) W.B. Saunders. **1992**; 201-229.
18. **Bernirschke K. Normal Development, In: Creasy RK, Resnik R.** *Maternal Fetal Medicine: Principals and Practice*. 2nd ed., W.S. Saunders Co. PA. **1989**; 27-116.
19. **Cowchok FS, Gibas Z, Jackson LG.** Chromosome errors as a cause of spontaneous abortion: The relative importance of maternal age and obstetric history. *Am Fertil Soc*, **1993**; 59:1011-1014.
20. **Ohno M, Maeda T, Matsunobu A.** A cytogenetic study of spontaneous abortions with direct analysis of chorionic villi. *Obstet Gynecol*, **1991**; 77: 394-398.
21. **Andrews T, Dunlop W, Roberts DF.** Cytogenetic studies in spontaneuos abortuses. *Hum Genet*, **1984**; 66:77-84.
22. **Bahçe M.** Tekrarlayan Spontan Düşüklerde Fetal, Maternal ve Paternal Sitogenetik İncelemeler ve Klinik Korelasyonları. *Doktora tezi*, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Bilim Dalı Başkanlığı, Ankara, **1995**.
23. **Kaya I.** Konjenital anomaliler. *Sendrom*, **2001**; 49-55.
24. **Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H.** *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. **2002**:177.
25. **Mille OJ, Therman E.** *Human chromosomes*. 4th.Ed., Newyork: Springer verlag. **2001**: 187-201.
26. **Başaran N.** *Tıbbi Genetik*. 4. Baskı, Eskişehir: Bilim ve Teknik Yayınevi, **1996**:154.
27. **Shaw J.** Chromosome Deletion Outreach, Inc. Introduction to Chromosome Abnormalities Erişim: (<http://www.chromodisorder.org/intro.htm>) 2003. Erişim tarih: 20.10.2004.
28. **Şaylı BS.** *Temel Medikal Genetik 1*. 1. Baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, **1966**:26-67.
29. **Tulppala M, Palosuo T, Ramsay T, Miettinen A, Salonen R, Ylikorkala O.** A prospective study of 63 couples with a history of recurrent spontaneous abortion: contributing factors and outcome of subsequent pregnancies. *Hum Reprod*, **1993**; 8:755-758.
30. **Bahçe M, İmirzalıoğlu N, Yılmaz E, Özen S, Baltacı V, Oğur G.** Tekrarlayan spontan düşüklerde fetal, maternal ve paternal sitogenetik incelemeler: 282 materyalin evalüasyonu. *GATA Bülteni*, **1997**; 39:163-171.
31. **Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K.** Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril*, **2000**; 73:300-304.
32. **Rubio C, Simon C, Vidal F, Rodrigo L, Pehlivan T, Remohi J, Pellicer A.** Chromosomal abnormalities and embriyo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Rep*, **2003**; 18:182-188.

33. **Berg CVD, Opstal DV, Brandenburg H, Wildschut HLJ, Hollander NSD, Piipers L, Galiaard RJH, Los FJ.** Accuracy of abnormal karyotypes after the analysis of both short and long term culture of chorionic villi. *Prenat Diagn*, **2000**; 20:956-969.
34. **Raddatz BS, Bouman K, Bemelmans CCV, Stoepker M, Mantingh A, Beekhuis JR, Jong BD.** Four years' cytogenetic experience with the culture of chorionic villi. *Prenat Diagn*, **2000**; 20:950-955.
35. **Lathi RB, Milki AA.** Tissue sampling technique affects accuracy of karyotype from missed abortions. *Fertil Steril (Suppl. 1)*, **2002**; 78:P-114.
36. **Goumy C, Bonnet-Dupeyron MN, Cherasse Y, Laurichesse H, Jaffray JY, Lacroute G, Geneix A, Lemery D, Vago P.** Chorionic villus sampling (CVS) and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for a rapid first-trimester prenatal diagnosis. *Prenat Diagn*, **2004**; 24:249-256.
37. **Wegner RD, Toennies H.** Chorionic villi sampling Wegner RD. Ed. *Diagnostic Cytogenetics*, Berlin: Springer-Verlag; **1999**:231-247.
38. **Seabright M.** Improvement of Tyripsin Method for Banding Chromosomes. *Lancet*, **1973**; I: 1249.
39. **Köhler A.** Chromosome staining In: Wegner RD. Ed. *Diagnostic Cytogenetics*, Berlin: Springer-Verlag; **1999**:56-60.
40. **Sierra S, Langlois S, Stephenson MD.** Reproductive outcomes in patients with recurrent pregnancy loss associated with a structural chromosome abnormality. *Fertil Steril (Suppl. 3)*, **2003**; 80:Q-210.
41. **Stein Z.** Early fetal loss. *Birth Defects*, **1981**; 17:95-99.
42. **Sanchez JM, Franzi L, Collia F, De Diaz SL, Panal M, Dubner M.** Cytogenetic study of spontaneous abortions by Transabdominal villus sampling and direct analysis of villi. *Prenat Diagn*, **1999**; 19:601-603.
43. **Warburton D, Kline J, Stein Z, Hutzler M, Chin A, Hassold T.** Does the karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of a subsequent abortion? Evidence from 273 women with two karyotyped spontaneous abortions. *Am J Hum Genet*, **1987**; 41:463-483.
44. **Philipp T, Grillenberger K, Separovic ER, Philipp K, Kalousek DK.** Effects of triploidy on early human development. *Prenat Diagn (Elektronik Journal)*, **2004**; 24:276-281.
Erişim: (www.interscience.wiley.com)
45. **Kuo PL.** Maternal trisomy 21 mosaicism and recurrent spontaneous abortion. *Fertil Steril*, **2002**; 78:432-433.
46. **Brun JL, Gangbo F, Wen ZQ, Galant K, Taine L, Laulom BM, Roux D, Mangione R, Horovitz J, Saura R.** Prenatal diagnosis and management of sex chromosome aneuploidy: a report on 98 cases. *Prenat Diagn*, **2004**; 24:213-218.
47. **Tan YQ, Li LY, Lu GX.** Molecular cytogenetic detection of minute chromosomal structural abnormality on the chromosomal terminal region. *Yi Chuan Xue Bao*, **2002**; 29:753-756.

48. **Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch S, Borgmann S.** 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 Med Genet*, **1990**; 47:656-663
49. **Hall JG, Gilchrist DM.** Turner syndrome and its variant. *Pediatr Clin North Am*, **1990**; 37:1421-1440.
50. **Mameli M, Cardia S, Milia A, Aste A, Santucci S, Genazzani AR.** Cytogenetic study in 50 couples with recurrent abortions. *Gynecol Obstet Invest*, **1984**; 17:84-88.
51. **Cotter PD, Babu A, McCurdy LD, Caggana M, Willner JP, Desnick RJ.** Homozygosity for pericentric inversions of chromosome 9. prenatal diagnosis of two cases. *Ann Genet*, **1997**; 40:222-226.
52. **Blumberg BD, Shulkin JD, Rotter JI, Mohandas T, Kaback MM.** Minor chromosomal variants and major chromosomal anomalies in couples with recurrent abortion. *Am J Hum Genet*, **1982**; 34:948-960.
53. **Lanasa MC, Hogge AW, Hoffman EP.** Sex Chromosome Genetics '99, The X Chromosome and Recurrent Spontaneous Abortion: The Significance of Transmanifesting Carriers. *Am J Hum Genet*, **1999**; 64:934-938.
54. **Evans MI, Simpson JL, Larson JW, Martin AO, Sarto GE, Schulman JD.** Pericentric X chromosome ascertained during antenatal diagnosis. *Clin Genet*, **1980**; 18:30-33.
55. **Keitges EA, Palmer CG, Weaver DD.** Pericentric X inversion in dizygotic twins who differ in X chromosome inactivation and menstrual cycle function. *Hum Genet*, **1982**; 62:210-213.
56. **Wegner SL, Cutenese C, Brancazio LR.** Detection of pericentric inversion of X chromosome in a male fetus. *Am J Med Genet*, **1999**; 87:339-341.
57. **Pettenati MJ, Rao PN, Phelan MC, Grass F, Rao KW, Cospers P, Carroll AJ, Elder F, Smith F, Smith JL, Higgins MD.** Paracentric inversions in humans: a review of 446 paracentric inversions with presentation of 120 new cases. *Am J Med Genet*, **1995**; 55:171-187.
58. **Makino T, Hara T, Oka C, Toyoshima K, Sugi T, Iwasaki K, Umeuchi M, Lizuka R.** Survey of 1120 Japanese women with a history of recurrent spontaneous abortions. *Eu J Obstet Gynecol Rep Biol*, **1992**; 44:123-130.
59. **Beever CL, Stehenson MD, Penaherrera MS, Jiang RH, Kalousek DK, Hayden M, Field L, Brown CJ, Robinson WP.** Skewed X-chromosome inactivation is associated with trisomy in women ascertained on the basis of recurrent spontaneous abortion or chromosomally abnormal pregnancies. *Am J Hum Genet*, **2003**; 72:399-407.
60. **Bartels I, Hansmann I.** Excess of females in chromosomally normal spontaneous abortuses. *Am J Med Genet*, **1990**; 35:297-298.
61. **Pantzar JP, Allanson JE, Kalousek DK, Poland BJ.** Cytogenetic findings in 318 couples with repeated spontaneous abortion; a review of experience in British Columbia. *Am J Med Genet*, **1984**; 17:615-620.
62. **Husslein P, Huber J, Wagenbichler P, Schnedl W.** Chromosome abnormalities in 150 couples with multiple spontaneous abortions. *Fertil Steril*, **1982**; 37:379-383.

63. **Schempp W, Wolff G.** Cytogenetic studies in couples with multiple spontaneous abortions. *Acta Anthropogenetica*, **1983**; 7:113-118.
64. **Michels VV, Medrano C, Venne VL, Riccardi VM.** Chromosome translocations in couples with multiple spontaneous abortions. *Am J Hum Genet*, **1982**; 34:507-513.



EKLER

EK-1

VAKA BİLGİ FORMU

Annenin

- Adı :
- Soyadı :
- Yaşı :
- Doğum yeri :

- Gebelik Süresi (hafta,ay) :
- Kaçınıcı gebelik olduğu:
- Daha önceki düşüklerin gebelik süreleri ve varsa cinsiyetleri :
 1. Düşük :
 2. Düşük :
 3. Düşük :
- Diğerleri :
- Daha Önceki düşüklerin nedenleri ve patolojileri :

- Ebeveynlerin akrabalık dereceleri :

- Babanın adı, soyadı, doğum yeri ve yaşı :
- Yaşayan çocuk sayısı, yaşları ve cinsiyetleri :
- Ebeveynlerin ailelerinde düşük ve diğer kalıtsal hastalık öyküleri :

- Annenin gebeliği süresince aldığı ilaçlar, maruz kaldığı radyasyon ve diğer fiziksel etkenler :

- Yapılmışsa ebeveynlerin kromozom analiz sonuçları :

- ADRES ve TEL :

EK-2

Ç. U. T. F. TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI
... [ÇALIŞMANIN TAM BAŞLIĞI]
ÇALIŞMASI

BİLGİLENDİRME ve RIZA FORMU

Doç. Dr. Osman Demirhan yönetiminde, Biyolog Erdal Tunç tarafından yüksek lisans tez çalışması olarak sürdürülen araştırmamız çerçevesinde kendiliğinden olan düşüklerin genetik özelliklerle bağlantısı incelenmektedir.

Çalışmamız çerçevesinde birden fazla düşük yapmış çiftlerin, son düşüğe kaybetmiş oldukları fetüstan, göbük kordonundan ve plasentadan küçük örnek parçalar ve ayrıca eşlerin her birinden de 3-4 ml kan alınarak Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında incelenecektir. Sonuçlar sadece bilimsel amaçla kullanılacak, kişisel bilgileriniz gizli tutulacak, sorun saptanması halinde durum size bildirilecektir. Çalışma öncelikle bilimsel bilgi birikimine katkı sağlamayı amaçlamakla birlikte, sizde düşüğe neden olan sorunun net olarak belirlenmesi halinde size doğrudan yarar da sağlayabilecektir. Parasal bir bedel ödemenizi gerektirmeyen ve size de bir ödeme yapılması söz konusu olmayan bu çalışmaya katılmama hakkınız bulunmaktadır. Ek bilgi talebiniz olursa sözlü olarak karşılanacaktır.

Düşük bölümlerinden araştırmamız için parça alınmasını ve eşinizle birlikte incelenmek üzere kan vermeyi kabul ediyorsanız, lütfen aşağıdaki bölüme adınızı-soyadınızı yazıp tarih ve imza atınız.

YÜKARIDA BELİRTİLEN KOŞULLAR ALTINDA DÜŞÜK MATERYALLERİNDEN PARÇA ALINMASINI VE KAN VERMEYİ KABUL EDİYORUM.

AD-SOYADI
İMZA
TARİH

AD-SOYADI
İMZA
TARİH

EK-3

Hasat işlemleri için kullanılan çözeltiler

A) Hipotonik solüsyonunun Hazırlanışı

0,075 M KCl olarak hazırlanmıştır. Bunun için 5,592 g KCl alınmıştır ve 1000 ml distile su ile tamamlanmıştır.

B) Fiksatif solüsyonunun hazırlanışı

3 birim metanol ile 1 birim glasiyel asetik asit karıştırılarak hazırlanmıştır. Her uygulama için uygulama öncesi taze olarak hazırlanmıştır.

EK-4

Amfoterisin B kullanım solüsyonunun hazırlanışı

Eczanelerden temin edilen şeklinden (stok solüsyonu) 1 ml alınmış ve 19 ml bidistile su ile tamamlanmıştır.

EK-5

A) Tripsin solüsyonu (Stok solüsyonu, 30 mg/ml)

0,3 g tripsin, 10 ml % 0.9'luk NaCl içerisinde çözülmüştür. 1,5 ml'lik kısımlara ayrılarak -20°C 'de saklanmış ve gerektiğinde çözülerek kullanılmıştır.

B) Fosfat tamponu

İki ayrı solüsyon olarak hazırlanmış ve eşit miktarlarda karıştırılmıştır.

1. **Solüsyon:** 9.073 gr KH_2PO_4 alınmış ve 1000 ml bidistile suda çözülmüştür.

2. **Solüsyon:** 11,87 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ alınmış ve 1000 ml bidistile suda çözülmüştür.

ÖZGEÇMİŞİM

1976 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi burada tamamladım. 1995 yılından Dokuz Eylül Üniversitesi Hukuk Fakültesini kazandım ve bir dönem okuduktan sonra bıraktım. 1997 yılında Fırat Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümüne girdim. 2001 yılında buradan mezun oldum. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans yapmaya hak kazandım.

