

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HABİTUEL SPONTAN ABORTUS VE KÖTÜ OBSTETRİK  
ANAMNEZ OLGULARINDA KROMOZOMAL POLİMORFİZM**

TEZ YÖNETİCİSİ  
Doç. Dr. Dilara SÜLEYMANOVA KARAHAN

Arş.Gör. Nilgün TANRIVERDİ

DOKTORA TEZİ

Ç.Ü. Araştırma Fonu, SBE-95-2

26401

ADANA-1999

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM ENLİK VE  
KÜLTÜR BAKANLIĞI

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Doktora/Yüksek Lisans Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan "Habituel Spontan Abortus ve Kötü Obstetrik Anemnez Olgularında Kromozomal Polimorfizm" adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

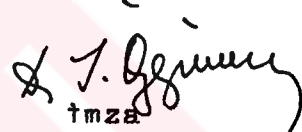
Tez Savunma Tarihi: 14.01.1998



imza  
Doç.Dr.Dilara SULEYMANOVA  
Ç.U.Tıp Fakültesi  
Jüri Başkanı



imza  
Prof.Dr.Bülbin Sunar AKBAŞAK  
İnönü Univ. Tıp Fakültesi



imza  
Prof.Dr.Tuncay ÖZGÜNEN  
Ç.U.Tıp Fakültesi

Yukarıdaki tez, Yönetim Kurulunun 16.2.1998 tarih 8/17..sayılı kararı ile kabul edilmiştir.



Enstitü Müdürü

Prof.Dr Kadri ÖZCAN  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. Bana doktora yapma imkanı tanıyan Prof. Dr. Sayın Tuncay Özgünen'e ve diğer hocalarıma, çalışmamda yardımlarını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Sayın Dilara Süleymanova Karahan'a, emeği geçen tüm arkadaşlarıma ve Yrd. Doç. Dr. Seçil Binokay'a teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

Önsöz	II
İçindekiler dizini	III
Şekiller dizini	V
Çizelgeler dizini	VI
Simgeler ve kısaltmalar dizini	VII
Özet	VIII
Abstract	IX
Giriş	1
Genel Bilgi	
Giriş	3
1. Polimorfizm	3
1.1 Genel olarak polimorfizm	3
1.2 Heterokromatik polimorfizm ve özellikleri	4
1.3 Heterokromatin boyutunun farklı olma nedenleri	5
1.4 "Hot point" olarak heterokromatin bölgeler	5
2. C-bantlamanın tarihçesi	6
2.1 C-bantlamanın temeli "in situ" hibridizasyon	6
2.2 C-bantlamanın uygulama alanları	7
2.3 C-varyant polimorfizmi konusundaki çalışmalar	8
2.3.1 Habituel abortusta C-polimorfizminin yeri	8
2.3.2 Kötü obstetrik anemnezde C-bantlamanın yeri	9
2.3.3 Normal popülasyonda C-bantlamanın yeri	10
2.3.4 Irklar arası çalışmalarda C-bantlamanın önemi	11
2.3.5 Zigosite tayininde C-bantlama	13
2.3.6 C-bantlamanın kanserdeki önemi	14
3. NOR- bantlama	16
3.1 Nükleolus organize edici bölgeler	16
3.2 NOR- bantlama yöntemi ve tarihçesi	16
3.3 İnsanda NOR'ların lokalizasyonu ve sayısı	17
3.4 Trizomilerde NOR değişimlerinin önemi	17

3.5 NOR- bantlama yöntemini etkileyen faktörler	18
3.6 NOR- bantlama konusunda yapılan çalışmalar	18
3.6.1 Zigosite tayininde NOR- bantlamanın yeri	19
3.6.2 Normal popülasyonda NOR bantlamanın yeri	19
3.6.3 NOR ve kromozom ayrılabilmesi	20
3.6.4 NOR ve malignensi	20
3.6.5 Abortus ve NOR	21
4. Spontan abortusta genetiğin önemi	22
Gereç ve yöntem	
1. Olgu ve kontrol grupları	23
1.2 Polimorfizm değerlendirilme yöntemleri	23
2. Kromozom preparatlarının hazırlanması	23
2.1 Kromozom çalışmalarında uyulması gerekli kurallar	23
2.2 Kromozom çalışma yöntemi	24
2.3 Bantlama yöntemleri	25
2.3.1 C-bantlama yöntemi	26
2.3.2 NOR-bantlama yöntemi	27
3. Preparatların hazırlanması ve değerlendirilmesinde kullanılan araçlar	28
4. Uygulanan istatistik	28
Bulgular	
1. C-polimorfizm bulguları	29
2. NOR-polimorfizm bulguları	41
Tartışma	51
Sonuçlar ve öneriler	57
Kaynaklar	59
Özgeçmiş	64

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. C-bantlama yönteminde puanlama sistemi.	27
Şekil 1.2. C-bantlama görülen 4 metafaz plağını içeren resim.	31
Şekil 1.3. C-bantlamanın 4 farklı metafazda gösterilmesi.	33
Şekil 1.4. Kontrol, HSA ve KOA grubu kadınlarda 1. kromozom açısından 5 puanlık sisteme göre % değerlerin karşılaştırması.	36
Şekil 1.5. Kontrol, HSA ve KOA grubu kadınlarda 9.kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	37
Şekil 1.6. Kontrol, HSA, KOA grubu kadınlarda 16. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	37
Şekil 1.7. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 1. kromozom açısında % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	38
Şekil 1.8. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 9. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	39
Şekil 1.9. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 16. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	39
Şekil 1.10. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde Y kromozomu açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.	40
Şekil 2.1. Kadınlarda gruplar arası ortalama NOR dağılımı	42
Şekil 2.2. Erkeklerde gruplar arası ortalama NOR dağılımı	43
Şekil 2.3. NOR-bantlamanın 4 farklı metafaz plağında gösterilmesi.	48
Şekil 2.4. NOR-bantlamanın 4 farklı metafaz plağında gösterilmesi.	50

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Denek ve kontrol gruplarında C-bant boyutlarının % dağılım oranları	30
Çizelge 1.2. HSA ve KOA grubu kadınları ve kontrol arasında C-bant boyutlarının karşılaştırması	34
Çizelge 1.3. HSA ve KOA grubu erkekleri ve kontrol arasında C-bant boyutlarının karşılaştırması	35
Çizelge 2.1. HSA ve KOA grubu kadınları ve kontrol arasında NOR bant açısından değerlerin karşılaştırması	41
Çizelge 2.2. HSA ve KOA grubu erkekleri ve kontrol arasında NOR bant değerlerinin karşılaştırması	43
Çizelge 2.3. HSA, KOA ve kontrol gruplarında kromozomlardaki ortalama NOR dağılımı ve hücre başına düşen NOR'lu kromozom sayısı	45
Çizelge 2.4. Rozet formasyon görülme sıklığı	46
Çizelge 2.5. Kromozomlarda NOR'ların büyük bloklar halinde dağılım sayıları	47

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AgNO<sub>3</sub> : Gümüş Nitrat  
ALL: Akut Lenfoblastik Lösemi  
AT: Adenin-Timin  
Ba(OH)<sub>2</sub> : Baryum Hidroksit  
C-band: Sentromer (heterokromatin) Bantlama  
G-band: Giemza Bantlama  
gh: Heterokromatin  
gh(+): Heterokromatin pozitif  
gh(-): Heterokromatin negatif  
HSA: Habituel spontan abortus  
KML: Kronik Miyeloid Lösemi  
KOA: Kötü obstetrik anamnez  
NOR: Nükleolus organize edici bölge  
Q-band: Kinakrin Bantlama  
rDNA: Ribozomal DNA



## ÖZET

### Habituel Spontan Abortus ve Kötü Obstetrik Anamnez Olgularında Kromozomal Polimorfizm

Kromozomal polimorfizmin habituel spontan abortus (HSA) ve kötü obstetrik anamnez (KOA) denek gruplarında yeri ve önemini anlamak amacıyla yapılan bu çalışmada C- ve NOR-bantlama yöntemleri uygulandı.

Denek ve kontrol grupları 30'ar çiftten oluşturuldu (toplam 180 kişi). Her vakadan 20 metafaz plağı değerlendirildi.

C-bantlama yönteminde kromozomların sentromer bölgeleri ile Y kromozomunda uzun kolun 1/2-1/3 distal kesimi koyu boya almaktadır. Özellikle 1,9,16 ve Y kromozomunda boyanan heterokromatin bölgeler polimorfizm göstermektedir. Çalışmamızda kromozomlardaki heterokromatin bölgelerin boyutları 5 puanlık sisteme göre değerlendirildi. Sonuçta, denek grupları (HSA ve KOA) ile kontrol arasındaki fark, Ki-kare yöntemine göre anlamlı bulundu.

NOR-bantlama yönteminde akrosentrik kromozomların(13, 14, 15, 21, 22) kısa kolları koyu boyanmaktadır. NOR-bantlama yönteminde bant örüntüleri sayı ve boyut açısından polimorfizm göstermektedir. İnsanda görülen ortalama NOR sayısı 4-10'dur. Yapılan istatistiksel değerlendirme sonucu, HSA grubu kadınlarında 21., erkeklerinde ise 22. kromozom dışında aradaki fark anlamlı bulunmadı.

Sonuç olarak; seçilen denek gruplarında G-bantlamanın yanı sıra NOR ve özellikle de C-bant yapılması uygun görülmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Kromozom, Polimorfizm, C-bantlama, NOR-bantlama.

## ABSTRACT

### Chromosomal Polymorphism in the Cases of Habitual Spontaneous Abortus and Bad Obstetric Anamneses

In this study, C- and NOR-banding techniques were used to determine the occurrence and importance of chromosomal polymorphism in the cases of habitual spontaneous abortus (HSA) and bad obstetric anamneses (BOA). Subject and control groups were composed of 30 couples, each (a total of 180 cases). Twenty metaphase plaques were evaluated for each case.

In the C-banding technique; centromere region of the chromosomes, and 1/2-1/3 distal region of the long arm of Y chromosome were stained dark. Heterochromatin regions stained in the chromosomes 1,9,16 and Y, especially showed polymorphism. In this study, sizes of heterochromatin regions in the chromosomes were evaluated on the basis of 5-point system, and the difference between the subject and control groups was found to be significant when analysed by Chi-Square test.

In the NOR-banding technique, short arms of acrocentric chromosomes (13,14,15,21,22) were stained dark. In this technique, the banding patterns showed polymorphism in terms of number and size. The average number of NOR observed in the humans is about 4-10. Except chromosome 21 in the females and chromosome 22 in the males, the difference was found to be nonsignificant in the HSA group.

Overall evaluation of our results led to the conclusion that NOR-and especially C-banding should be performed in these subject groups, besides the G-banding technique.

**Key Words:** Chromosome, Polymorphism, C-banding, NOR-banding.

## GİRİŞ

Canlıların yaşama nedeni üreme ve kendi kalıtımsal özelliklerini bir sonraki kuşağa aktarmadır. Fizyolojik koşullarda oluşan bir gebelik normal doğum ile sonuçlanırken sağlıklı bir bebek doğmaktadır.

Günümüzde çevre kirliliğinin artması mutasyon sıklığını da artırabilmektedir. Belki de olası bu tür bir etmen gebeliğin normal doğuma kadar gitmesini önlemekte ya da anormal bebek doğumlarına yol açabilmektedir.

Bilindiği gibi bölgemizde tarım ilaçları, insektisitler veya çevre kirliliğine yol açan diğer kimyasal etkenler yoğun olarak kullanılmaktadır; bu çalışma, bu tür mutajen etkenlerin gebelik ve doğumu nasıl etkileyebileceği sorusundan yola çıkarak düzenlendi. Böyle bir çalışmada olgu grubunu oluşturmak için yapılacak şeylerden biri, mutajen etkenin doğrudan gebe kadına uygulanması, diğeri ise seçilen bir deney hayvanına uygulanmasıdır. Ancak böyle bir modelin insanda deneysel olarak oluşturulup mutasyon geliştirilmesi hiçbir şekilde mümkün olmayıp; deney hayvanı modellerinden elde edilen sonuçlar da genetik özellikleri tamamen farklı olan insandaki durumu tam olarak yansıtamayacaktır. O halde, böyle bir çalışmada tek seçenek, normal gebelik ve/veya doğumdan sapma gösteren olguların diğer bir deyişle doğanın kendi yarattığı olguların denek grubu olarak kullanılmasıdır. Çalışmamızda bu amaçla HSA ve KOA olguları denek grubu olarak seçilmiştir.

Kromozomlarda polimorfizm gözlenen bölgeler kırılma ve yeniden düzenlenmelerin yoğun olduğu yerlerdir. Kromozomlarda mutajenlerin etkileri en fazla bu noktalarda gözlenir. Tüm bu nedenlerden dolayı seçilen olgu grubunun kromozomal polimorfizm yönünden değerlendirilmesi planladı.

Ç.Ü Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine HSA ve KOA nedeniyle baş vuran çiftlerden Genetik Polikliniğine kromozom analizi için sevk edilenler

arasından karyotipi (G-bantlama) normal bulunan çiftlerde kromozomal polimorfizm değerlendirildi. Bu çalışmada hazırladığımız preparatlara C- ve NOR-bantlama yöntemlerini uyguladık.

Habituel abortuslu grubu jinekolojik olmayan ve bilinen tanı yöntemleri ile nedeni belirlenememiş (örneğin mikrobiyolojik ve/veya bakteriyel) en az üç düşük yapan çiftler, kötü obstetrik anemnezli grubu ise erken doğum, ölü doğum, erken çocuk ölümü ya da malformasyonlu çocuğu olan çiftler oluşturdu. Kontrol grubu, hiç düşük yapmamış ve sağlıklı çocuğu olan çiftlerle oluşturuldu. Olgu ve kontrol grupları üreme dönemi sürmekte olan 20-40 yaşlarındaki akraba evliliği olmayan kişilerden seçildi.

Pardeu ve Gall ile Arighi ve Hsu(1971) kromozomların sentromerleri ile 1,9,16. kromozomların ikincil boğum bölgeleri ve Y kromozomunun uzun kolun 1/2 - 1/3 distal bölgesinin boyandığı bir teknik geliştirerek buna "constitutive" kelimesinden kaynaklanan C-bantlama adını verdiler. C-bantlarının genişliğinde belirgin bir polimorfizm bulunmakta olup kromozomal polimorfizmin ve yeniden düzenlenmelerin araştırılmasında kullanılabilir<sup>1,2</sup>.

İnsanda çekirdekci organize edici bölgeler kromozomlarda akrosentriklerin (13,14,15,21,22) kısa kollarına lokalizedir. Aktif transkripsiyona sahip gen bölgelerinin gümüş nitratla selektif olarak boyandığı düşünülmektedir(NOR boyama). Gümüş boyama ile akrosentriklerin bazıları boyanabilirken, NOR un boyutu da kişiler arasında polimorfizm gösterebilir. Gümüş nitrat ile boyama sonucunda her birey için özel bir boyama örüntüsü (boyut, şekil ve sayı açısından) gözlenir. Metafaz plaklarındaki ortalama NOR sayısı 4-10'dur<sup>3,4</sup>.

## GENEL BİLGİ

### Giriş

Gebeliğin sürdürülmesinden ve normal doğumdan sorumlu olan nöro-endokrinolojik mekanizmalardan sapmalar, fötusun kaybı ile sonuçlanmakta; bu durumu çevresel etmenler de bir ölçüde etkilemektedir. Jinekolojik bir neden saptanamayan habituel abortus olguları ile, bilinen klasik inceleme yöntemleri ile kötü obstetrik öyküye (erken doğum, ölü doğum, anomalili bebek, erken bebek ölümü gibi) neden olan etmenin belirlenemediği olgularda, fizyopatolojik sapmaların saptanabilmesi için hücre ve/veya çekirdek düzeyinde incelemelere gereksinim doğmaktadır; çünkü organizmanın normal veya anormal işleyişini ilgilendiren tüm bilgi çekirdektedir.

Sitogenetik veya gen mühendisliği çalışmalarından elde edilen sonuçlar, hem habituel abortus ve kötü obstetrik öykü nedenlerine gen düzeyinde bir açıklama getirebilecek; hem de gebeliğin sağlıklı sürdürülmesinden ve normal doğumdan, sonuçta da anne ve bebeğin sağlığından sorumlu olan genetik etmenlerin fizyolojik işlergelere olan yansımalarına ışık tutacaktır. Konuyla ilgili genetik bilgiler aşağıda sunulmuştur.

### 1. Polimorfizm

#### 1.1. Genel Olarak Polimorfizm

Genetik polimorfizm ortak olmayan herhangi bir lokuste en az iki alelin bulunması demektir(örneğin daha seyrek olanlar %1'den daha yüksek sıklıkta). Diğer bir ifadeyle polimorfizm; birbirlerinden kesinlikle ayrılabilen fakat aynı lokusteki genlerle oluşturulabilen iki ya da daha çok seçenekli fenotipin



DNA bazlarından oluşmasıdır. Satellitler, AT'den zengin heterokromatin bölgelerdir<sup>7</sup>.

### 1.3. Heterokromatin Boyutunun Farklı Olma Nedenleri

Heterokromatin boyutları kişiden kişiye farklılık gösterebilir. Bu konuda 4 farklı hipotez ileri sürülmektedir: 1. Eşit olmayan crossing over, 2. Replikasyonun bozulması ve sonucunda dublikasyon, amplifikasyon veya replikasyonun sonuçlanması, 3. İnversiyonla ökromatin bölgenin gh'ninin değişebilmesi, 4. Gen kontrolünde olan gh'nin decondansasyonu

Bu parametrelerin her birinin gh değişimine yol açabildiği sitogenetik yöntemlerle gösterilebilmektedir<sup>6</sup>.

### 1.4. "Hot-point" Olarak Heterokromatin Bölgeler

Heterokromatin bölgeler "hot point" olmakta, mutajenlerin etkisiyle kromozomlarda oluşabilen spontan kırılmalar ve translokasyonlar genelde bu noktalarda görülmektedir. Heterokromatinin ektopik birleşmesi ve onların kırılma eğilimi, kırık ve translokasyonu uyarmakta ve sonuçta heterokromatin ölçüleri artmakta veya azalabilmektedir<sup>7</sup>.

Diskret, subbölgelerden heterokromatin oluşumunun önce Y kromozomunun distalinde daha sonra da 1. ve 9. kromozomlarda oluştuğunu gösterdi. İn situ hibridizasyon yöntemi ile sekonder strangüler bölgelerde sık tekrarlanan DNA sekansları gösterilebilmektedir<sup>10</sup>.

C-heterokromatinin boyutu stabil olup kalıtsaldır ve kuşaklarda segregasyona Mendel Kanununa göre uğramaktadır (Balicek et al<sup>11</sup>). Kişilerde bulunan C-heterokromatin varyantları ebeveynlerin birinde saptanabilir.

## 2. C- Bantlamanın Tarihçesi

C-bandlama, çeşitli boyama yöntemleri arasında oldukça etkin olup belirli kromozomal bölgeler için spesifikite gösterir. İn situ hibridizasyon tekniği kullanılarak metafaz kromozomlarında satellit DNA'lar lokalize edilir. Pardeu ve Gall (1970), farklı boyanmış perisentrik bölgeler bildirdiler. Arrighi ve Hsu (1971), Giemsa kullanarak kromozomların sadece sentromer kesimleriyle 1,9,16. kromozom çiftlerinin ikincil büzüntü bölgeleri ve Y kromozomunun uzun kolunun 1/2 - 1/3 distal parçasının boyandığı bir teknik geliştirdiler ve buna "constitutive" kelimesinden kaynaklanarak C-bandlama adını verdiler. Arrighi ve Hsu tarafından tarif edilen yöntem (1971), sıcak tuz solüsyonundaki inkübasyonu takiben kromozomal DNA'nın alkali denatürasyonunu içermektedir. Alkali denatürasyon, NaOH kullanılarak yapılır. Daha sonraları Sumner tarafından geliştirilen ve modifiye edilen metotta ise hafif alkali olarak Ba(OH)<sub>2</sub> kullanılmıştır (1972). Bu yöntem ile denatürasyon uygulanımı daha kolay kontrol edilebilir olmuştur. C- bantları, insan kromozomlarında ve diğer türlerde genellikle sentromerik bölgelere lokalizedir (Arrighi ve Hsu (1971)). Yunis ve arkadaşları (1976), C-bantlamayı yüksek rezolüsyonlu bantlama tekniğini kullanarak gerçekleştirdiler. Bu yolla gösterilebilen heteromorfik bölgelerin sayısı artarken kromozomlardaki non-disjunction ve translokasyonlar daha kolay gösterilebilir olmuştur<sup>1,2,5</sup>. İnsan kromozomlarının C-bantlama yönünden standardizasyon çalışmalarında, Paris komisyonunun teklifine göre 5 puanlık sisteme geçilmiştir<sup>10</sup>. Holmquist<sup>12</sup> ve Dancis (1979) tarafından gerçekleştirilen diğer bir DNA ekstraksiyonu çalışmasında DNA sırasıyla asit ve alkaliyle muamele edilmekte ve depürinasyon ile denatürasyon gözlenmektedir.

### 2.1. C-Bantlamanın Temeli, "in situ" Hibridizasyon

İN SITU HİBRİDİZASYON YÖNTEMİNDE ASİT, ALKALİ VE SICAK



salin sitratla muamele bulunmaktadır. Preparatlar daha sonra Giemsa ile boyandığında C-bandları görülebilmekte ve bu durum C- bandlarının oluşumunda DNA denatürasyonunun sorumlu olduğunu telkin etmektedir. Bu işlemlerin kromozomlardan DNA yitirilmesine neden olduğu, kaybın da C-bandlamadaki farklı boyanmaya yol açtığı düşünülmektedir. Günümüzde denatürasyon işlemi genelde Ba(OH)<sub>2</sub> çözeltisi ile yapılmaktadır<sup>1,2,12</sup>.

Denatürasyon mutlaka dönüşmesiz (irreversibl) bir olgu değildir<sup>6</sup>. Isıtılan DNA eriyiği, birkaç saatte yavaş yavaş soğutulursa ayrılan dallar birleşir ve çift dallı düzgün DNA molekülü olur. Renatürasyon denen bu olgu iki mekanizma ile tamamlanır: 1) Nükleasyon: ayrılmış dallar yerel olarak eşleşir. 2) Kenetlenme: yeniden birleşme olayı, esasen eşleşmiş bazlardan itibaren adım adım ilerliyerek tamamlanır. Ortamın tuz yoğunluğunun düşüklüğü yeniden birleşmeyi önler. Yeniden birleşmenin gecikmesine hysteresis denir. Tekrarlayıcı DNA fraksiyonları diğerlerinden daha çabuk renatüre olur<sup>6</sup>.

## 2.2. C-Bantlamanın Uygulama Alanları

C- bantlama yönteminin klinik açıdan en az iki uygulama alanı bulunmaktadır: 1. polimorfik bölgelerin incelenmesi ile kromozomlarda paternal ve maternal homologlar birbirinden ayırd edilebilir. 2. uygulama yeri ise yeniden düzenlenen kromozomların incelenmesidir. Bu yolla, sentromer gh'inin ne ölçüde yeniden düzenlenmeye katıldığı tesbit edilebilir. Ayrıca küçük markır kromozomlar da G-bantlamanın tamamlayıcısı olarak daima bu yöntemle incelenmelidir.

Bir, 9 ve 16. kromozomlara yerleşen sekonder darlık bölgeleri, uzun koldaki sentromer heterokromatini ile birleşiktir. Paris konferansına(1971-1975) göre heterokromatin bölgeler gh sembolü ile gösterilir. Heterokromatik bölgeler normalden büyük olduğunda gh(+), küçük olduğunda ise gh(-) şeklinde gösterilir<sup>10</sup>.

### 2.3. C- Polimorfizmi Konusundaki Çalışmalar

Heterokromatinin C- bant polimorfizmi konusundaki çok sayıda çalışmada, varyantların cinsiyet, yaş ve ırka bağımlı olduğu vurgulanır. Bu konudaki çalışmalar özellikle ikiz zigotesini saptama, inversiyon sıklığı, ırklar arasında gözlenebilen heterokromatik polimorfizm, üremenin bozulduğu durumlarda, habituel abortusda, kötü obstetrik öyküsü olanlarda, KML, ALL ve tüm solid tümörleri kapsayan onkolojik hastalarda yoğunlaşmıştır.

#### 2.3.1. Habituel Abortusda C- polimorfizminin Yeri

"Karetnikova<sup>13</sup>" HSA öykülü ebevenyler ile yaptığı bir çalışmada, karyotiplerinde gh(+) olan kişilerin dermatoglik ve patolojik işaretleri de var ise, çocuklarının durumunun daha ağır olacağını ileri sürdü. Anormal dermatoglik bulgular ile gebeliğin düşükle sonuçlanması arasında pozitif bir ilişkinin olabileceği düşünülerek, bu grup ailelerin yüksek risk altında değerlendirilip prenatal tanı yaptırması önerildi. Heterokromatin fazlalığı veya heterokromatin inversiyonu olan çiftlerde üreme fonksiyonunun bozulduğu, özellikle 1 ve 9. kromozomlarda gh(+) durumlarında diğer gh varyantlardan daha sık spontan abortusun olabileceği ya da anormal çocuk doğumu görülebileceği belirtildi.

Üçüncü kromozomda kalıtsal perisentrik inversiyon gözlenen kalabalık bir ailede 9 erkek 13 kadın olmak üzere toplam 22 kişiyle çalışan" Lindberg et all<sup>14</sup>"; ortalama %33 oranında inversiyon saptadılar. Bu grupta gözlenen düşük frekansı Avrupa oranının altında idi. İversiyon oranının kadınlar ve erkekler arasında farklı olmasına rağmen, fenotipik olarak normal olan aile bireylerinde dengeli familial inversiyonun hiç bir yan etkisinin olmadığı ileri sürüldü.

"Patil and Lubs<sup>15</sup>" a göre, Y kromozomunda gh+ olduğu durumlarda spontan abortus ve defektli çocuk doğma riskinin

arttığı bildirilmektedir.

Dokuzuncu kromozomdaki gh değişikliğinin mitozda kromozom ayrılmasına yol açabildiği ve perisentrik inversiyon varlığında üreme fonksiyonunun bozulduğu ileri sürülmektedir<sup>10</sup>.

"Turczynowicz et all<sup>16</sup> " HSA gözlenen bir ailede babanın karyotipi: 46,XY,inv(14), annenin karyotipi ise 46,XX,var(9) şeklindedir. Yaşayan normal çocuk her iki ebeveyn den gelen rekombinant genotipe sahipti. Dokuzuncu kromozomdaki varyantın, 3 jenerasyonda da bulunmasına rağmen, taşıyıcıların zeka ve fenotipi normaldi. Bu çalışma bir ya da daha fazla kromozomda gözlenebilecek yeni düzenlenme varlığında dahi normal fenotip olabileceğini gösterdi. Bu durum özellikle genetik danışmanlıkta önem taşımaktadır.

"Uehara et all<sup>17</sup> " çalışmalarında spontan düşük öyküsü olmayan bir annenin karyotipinde 14. kromozomun uzun kolunda kalıtsal heterozigot parasentrik inversiyon gözlediler. Aynı olguda baba ile yeni doğan, normal karyotip ve fenotipe sahipti.

Almanya'da "Bajnoczky and Gardo<sup>18</sup> " tarafından spontan abortus yapan çiftlerde yapılan bir araştırmada, olası her türlü anormal sentromer oluşumunun hücre bölünmesinde hasar yapabileceğini ve sonuçta gebeliğin spontan abortusla sonuçlanabileceğini bildirdiler.

### 2.3.2. KOA'li Ailelerde C-bantlamanın Yeri

Kötü obstetrik anemnezli(KOA) grubu: erken doğum ve ölü doğum yapan, erken çocuk ölümü gözlenen ya da malformasyonlu çocuğu olan çiftler oluşturmaktadır.

"Hansson and Mikkelsen<sup>19</sup>" homolog kromozomlardan birinde heterokromatin blok fazla ise konjugasyonda bozukluğun oluşabileceğini ve sonraki mayoz sürecinin aksıyabileceğini ileri sürdüler. Heterokromatinin büyük olduğu durumlarda konjugasyon bozulabilmekte, doğru olmayan bivalentler oluşmakta, I. mayoz bölünme anormal geçmekte ve sonuç olarak

anormal gametler oluşmaktadır.

"Butomo and Khitrıkova<sup>20</sup>" Down sendromlu çocuklarla yaptıkları bir çalışmada 9. kromozomdaki C- bant varyantlarında artış gözlediler. Down'lı çocukların 9 ve 16. kromozomlarında homologlar arasındaki heteromorfizm daha fazla iken inversiyon açısından arada fark olmadığını ileri sürdüler.

Down ebevenylerinde eksternal varyantların daha sık görüldüğü özellikle 9. kromozomdaki C- blokların daha büyük ve heteromorfizmin daha fazla olduğu belirtildi<sup>10</sup>.

KOA'li ailelerde, ayrıca 16. kromozomda cinsiyetler arasında fark olduğu ve Y polimorfizminin daha az gözlendiği ileri sürüldü<sup>10</sup>.

"Matsuura et all<sup>21</sup>" mental retardasyonlu çocuklarla yaptıkları bir çalışmada, zeka geriliği hafif olanlarda C- bloklar istatistiksel olarak kontrolden farksızken, zeka geriliği ileri boyutta olanların ise anlamlı oranda gh(-) olduğunu bildirdiler. Zeka özürlü çocuklarla çalışan diğer bir grup ise kromozomlardaki eksternal C-varyantların normal popülasyon ile aynı olduğunu ileri sürdüler. Çocuklarda görülen non-spesifik mikrodismorfogenez belirtilerini ve mikroanomali embriyogenezdeki genel bozukluğun bir göstergesi olarak değerlendirdiler<sup>10</sup>.

### 2.3.3. Normal Popülasyonda C-bantlamanın Yeri

İskoçya popülasyonunda 467 çocukta "Buckton et all<sup>22</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada; 13 çocukta 1. kromozomda (%1.4), 35 çocukta 9. kromozomda(%3.7) parça inversiyonu ve 7 çocukta ise tam inversiyonu(%0.7) saptarken, 16.kromozomda ise hiç inversiyona rastlamadıklarını bildirdiler.

Normal popülasyonda 1,9,16. kromozomlarından birinde C bloklar %4-9 oranında büyük olabilirken bu durum fenotipte herhangi bir etki yaratmayabilir. Fakat yinede C blok taşıyıcılarının çocuklarında bazı hastalıkların ve gelişme geriliğinin daha sık görüldüğü ileri sürülmektedir. Buradan

çıkartılabilecek sonuç: heterokromatin fazlalığı ancak belli sınırlarda ise etkisiz olabilmekte fakat fazlalık büyükse onlarda veya onların çocuklarında gelişme geriliği gözlenebilmektedir<sup>23</sup>.

"Butomo et all<sup>24</sup> ", fenotipik olarak normal ve fertil kişilerde semi kantitatif metod ile yaptıkları C bantlama çalışmasında, 1,9,16 ve Y kromozomlarını 5 puanlık sisteme göre değerlendirdiler. Metafazların yaklaşık 1/3'ünde 2 den 3 e kadar değişen ekstra varyant örnekleri saptadılar. 9. kromozomda paryetal inversiyonu %8, homologlar arasındaki heteromorfizmi ise yaklaşık %60 oranında buldular. Kadınların 16. kromozomundaki gh(+)'nin, istatistiksel açıdan daha anlamlı olduğu ileri sürüldü.

Litvanya'da, "Kruminja and Kroshkina<sup>25</sup>" tarafından normal popülasyonda yapılan bir çalışmada, cinsiyetler arasında heterokromatin polimorfizmi açısından farkın olmadığı gösterildi. Ayrıca, gh boyutunun 1. kromozomda büyük, 16 ve Y kromozomlarında ise daha küçük olduğunu bildirildi.

"Ibraimow et all<sup>26</sup> ", orta asyada kazak, mongol ve dungans (Kırgızistan'da yaşayan etnik bir grup) ırklarında yaptıkları çalışmada; C-bantların boyutu ve homolog kromozomlardaki heteromorfizm açısından arada fark olmadığını gösterdiler.

"Müller et all<sup>27</sup> " ile " Bucktan<sup>22</sup> et all", otozomal kromozomlardan 1,9,16' da değişimin en fazla olduğu, inversiyonun en sık 9.kromozomda gözleendiği, bunun nedeninin de 9. kromozomdaki gh'nin moleküler yapısından kaynaklanabileceği öne sürdüler.

#### 2.3.4. Irklar Arası Çalışmalarda C-bantlamanın Önemi

Amerika'da yeni doğan bebeklerde ırklar arasındaki heterokromatin polimorfizmini araştıran "Lubs et all<sup>28</sup> "; heterokromatin bölgelerindeki "küçük" varyantları, beyazlarda %38.69 zencilerde %51.80 oranında gözlediler. Y kromozomunun uzunluğu gruplar arasında farksızdı. C-varyantları IQ ile

karşılaştırıldığında; zencilerde düşük IQ da 9.kromozomda heterokromatin fazlalığı daha sık görüldü. Bu gruplarda 1. kromozomda parça inversiyonu beyazlarda %0.45 zencilerde %0.06 iken, inv 9 zencilerde daha sık görüldü(%1.07 ve %0.13). Aynı araştırmada IQ ve Q- polimorfizmi arasında korelasyon aranmış fakat bulunamamıştır.

Irklar arasındaki farklılığa yönelik diğer bir çalışmada Y kromozomu açısından yapılmış ve Japonlarda ekstra blok daha büyük bulunmuştur<sup>10</sup>.

Y kromozomundaki polimorfizm konusunda "Spurdle and Jenkins<sup>29</sup>" tarafından Güney Afrika'nın Hindistan popülasyonundan Gujarati Müslümanlarında yapılan bir çalışmada tüm olgularda perisentrik inv(Y) gözlemlendi. Sonuçta, bu inversiyonun Gujarati Müslümanlarının genetik orjinini oluşturduğu belirtildi.

Sovyetler birliğinde "Kuznetsova<sup>30</sup>" adlı araştırmacı uzun süreli yaşam (70 yaş üzeri) ile C-bant polimorfizmi arasında bir ilişkinin olabileceğini düşündü. İki farklı grupta yaptığı çalışmada (Ukrayna ve Abkhasian), Y kromozomunun C segmentinin uzun yaşayanlarda arttığı, yaşa bağlı olarak Abkhasia kadınlarında kromozom 1 deki C segmentin kısaldığı, 9. kromozomda ise arttığı, Ukrayna'lılarda ise yaşa bağlı olarak kromozom 1'de gh arttığı, 16 da azaldığını tesbit ettiler.

Brezilya'da yaşayan Kızılderililer ve Japonlar arasında "Cavalli et all<sup>31</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada, kızılderili kökenlilerde 1, 9, 16. kromozomlarda gözlenen bloklar daha büyük iken, istatistiksel anlamlılık sadece 9 da bulundu. Japon erkeklerinde Y band daha büyüktü. Heterokromatinin total değerleri açısından Japon ve Kızılderililer arasında fark yoktu. Her iki grupta cinsiyetler arası fark gözlenmezken kromozom 9, kızılderililerde daha büyük olup parsiyel inversiyon da yine sadece kızılderililerde saptandı.

Newyork'da yaşayan 2334 beyaz (Avrupalı), 1795 siyah Amerikalı, hispanik kromozomal taşıyan 1737 kişi ve 384 asyalıdan oluşan 4 büyük grup ile çalışılan "Hsu et all<sup>32</sup>", major kromozomal polimorfizm olarak; 9. kromozomdaki inversiyon siyah popülasyonda % 3.57, hispaniklerde %2.42, beyazlarda

%0,73, asyalılarda %0.26 olduğu, Y kromozomunun ise asyalılarda ve hispaniclerde beyazlardan ve zenci gruptan daha büyük olduğu bildirildi. Ayrıca, 9.kromozomdaki gh(+)'nin, 1 ve 16. kromozomlardan daha büyük olduğunu ileri sürdüler.

"Tsvetkova<sup>33</sup>" tarafından infertil çiftlerle normal çocuğa sahip kişiler arasında yapılan bir çalışmada, gh'nin lokalizasyonuna ve homologlar arası heteromorfizme bakıldı. Homologlar arası heteromorfizm ve bant boyutu açısından kontrol ile aradaki fark sadece 9. kromozomda iken, infertil kadınlarda C-bant varyantlarının erkeklerden istatistiksel olarak daha büyük olduğu ileri sürüldü.

Ukrayna'da uzun yaşama ile heterokromatin polimorfizmi arasındaki ilişkinin C-bantlama yönünden değerlendirildiği "Kuznetsova et al<sup>34</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada, yaşları 40-100 arasında değişen toplam 73 kişi çalışıldı. Sonuçta, cinsiyetler arasında genelde anlamlı bir fark bulunmazken, sadece 40-85 yaşlarındaki kadınlarda 9. kromozomdaki C bloğu aynı yaşta erkeklerden fazla buldular. 1 ve Y kromozomu açısından 40-85 yaş grubundakilerin, 90-100 yaşlarında olanlardan daha büyük C bloğa sahip olduğu ileri sürüldü.

#### **2.3.5. Zigosite Tayininde C-bantlama**

Heterokromatin blokların anne veya babadan kalıtsal olarak bir sonraki kuşağa geçtiği düşünülmektedir. Monozigotik ikizler, kalıtsal bakımdan özdeş iki bireyi oluştururken dizigotlarda rastgele iki kardeşin kalıtsal benzerliği durumu gözlenir. Mono ve dizigotik ikizlerle yapılan bir çalışmada, gh boyutu açısından farklılığın sadece dizigotik ikizlerde olduğu vurgulandı. Buradan C blokların kalıtsal olduğu sonucuna varıldı<sup>10</sup>.

Mono ve dizigotlarda "Goroschenko et al<sup>35</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada 1, 9, 16 ve Y kromozomlarındaki C-bantlar ölçüldü. İkizlerde kullanılan formül yardımıyla çiftlerin her bireyi arasında C-bant boyutu karşılaştırıldığında, monozigot

ikizlerde benzer değerler elde edilirken dizigotlarda farklılığın gözleendiği ve zigosite tayininde C-bantlama yönteminin rahatlıkla kullanılabileceği vurgulandı.

### 2.3.6. Kanserde C-bantlamanın Önemi

Kanserli hastalarda kromozomal polimorfizm açısından ne tür bir farklılığın olduğu merak konusu olmuştur. Bu amaçla bazı grup onkolojik hastalarda gh polimorfizmini araştırmak amacıyla C-bantlama yöntemi uygulanmıştır.

Kronik miyeloid lösemilerde (KML), C- band polimorfizminin yerini araştırmak üzere Ph(+) olan hastalar ile kontrolü çalışan "Kristofersson et al<sup>36</sup>", 16. kromozomda gh(+) ( $p < 0,01$ ) ve 9. kromozomda ise paryetal inversiyon ( $p < 0.05$ ) saptadılar.

"Verma et al<sup>37</sup>" tarafından KML ve Y polimorfizmi arasında ilişki varmı diye yapılan bir çalışmada kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı bir fark bulamıyarak Y kromozomundaki gh bölge ile malignensi arasında ilişkinin olmadığı sonucuna vardılar.

"Tsezou et al<sup>38</sup>" tarafından yapılan akut lenfoblastik lösemili (ALL) çocuklar ve kontrol gruplarını içeren bir çalışmada; hasta grubunun 1 ve 9.kromozomlarındaki gh'nin kontrolden daha fazla olduğunu ileri sürdüler.

Floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve C-bantlama yöntemlerini kullanarak AML vakalarında çalışan "Paskulin et al<sup>9</sup>", t(8:21) translokasyonunu gösterdiler. FISH tekniği kullanıldığında kromozomlardaki yeni düzenlenmelerin en ince ayrıntılarına kadar gösterilebildiği vurgulandı.

Heterokromatin bölgeler konusunda çalışan " Podugolnikova et al<sup>10</sup>", 1. kromozomun heterokromatin bölgesinde oluşan gap bölgelerin kanser ile olan ilişkisini vurguladılar.

Solid tümörlü hastalar ile çalışan "Suciu<sup>39</sup>": 1. kromozomda kontrol ve hasta grupları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu gösterdi. Perisentrik inversiyon oranı;



1. kromozomda %9.9, 9. kromozomda ise % 12.9 idi. Sonuçta kromozomlardaki heterokromatinin kanser ile ilişkili olduğunu ileri sürdüler.

Over ve meme kanserli hastalar ile sağlıklı kadın kontrolü kapsayan "Kivi and Mikelsaar<sup>40</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada: kromozomlar C-bant boyutu, heteromorfizm ve inversiyon yönünden kantitatif ve semi kantitatif yöntemle değerlendirildi ve sonuçta aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı bildirildi.

Hindistanda "Adhvaryu and Rawal<sup>41</sup>" tarafından yapılan benzer bir çalışmada ise: kontrol grubunda heteromorfizm %22.86 iken hasta grubunda %70.42 dir. Kontrol grubunun %8.57'si, hasta grubunun ise %42.25'inde inversiyon içeren varyantlar vardı. Her iki kriterin toplamı kontrolde %31.43, kanserli grupta %80.28 idi. Bu sonuçlara göre, malignensi oluşumunun heteromorfizm ile ilişkili olduğu vurgulandı.

"Berger et al<sup>42</sup>" tarafından yapılan 54 meme kanseri ve 78 kontrolü içeren çalışmada; 1 ve 9. kromozomlarda inversiyon insidansı fazla bulundu. Pre- ve postmenapozal kanserde 9. kromozomdaki inversiyonun, familyal ve sporadik olgularda ise 16. kromozomdaki C-bant boyutunun farklı olduğu ileri sürüldü.

Over kanserli hastalarda "Islam et al<sup>43</sup>" tarafından terapiye bağlı kromozom aberasyonları ve heterokromatik bölgeler konulu yapılan bir çalışmada G ve C bantlama yöntemleri kullanılmıştır. Sonuçta: homologlar arasındaki heteromorfizmin 9. kromozomda, inversiyon oranlarının ise 1. kromozomda daha fazla olduğu vurgulandı.

Kolon ve rektumda adenomatosisi olanlarda yapılan bir çalışmada, parsiyel ve total heterokromatin inversiyonlarının Y kromozomlarında kontrolden fazla olduğu, diğer parametreler arasında anlamlı bir farkın olmadığı vurgulandı<sup>10</sup>.

Rusya'da endometrial kanserli hastalar ve kontrol ile çalışan "Polishchuk and Nesina<sup>44</sup>", olgu grubunda konstitütif heterokromatin polimorfizminde ve heteromorfizmde artış olduğunu saptadılar. Ayrıca ailesinde kanser olanlarda polimorfizmin daha fazla olduğunu ileri sürdüler.

### 3. NOR-BAN TLAMA

#### 3.1. Nükleolus Organize Edici Bölgeler

Memeli kromozomlarının ekirdekcik organize edici bölgeleri rRNA genlerini içermektedir. Aktif transkripsiyona sahip gen bölgelerinin gümüş nitratla (AgNO<sub>3</sub>), selektif olarak boyanabildiği düşünülmektedir (NOR-boyama). İnsanda rRNA genleri, akrosentrik kromozomların (13, 14, 15, 21, 22) kısa kollarına lokalize olmuştur. Gümüş boyama bu bölgeleri selektif olarak identifiye eder. Boya alan akrosentriklerin sayısı ve boyutu polimorfizm gösterir. Her bireyde özel bir boyama örüntüsü mevcut olup bu polimorfizm kalıtsaldır. Dolayısıyla gümüş boyama araştıırma ve klinikte büyük önem taşıır<sup>1,2,6,45</sup>.

#### 3.2 NOR-bantlama Yöntemi ve Tarihçesi

Yöntemin temel uygulama yeri satellitli kromozomların incelenmesidir. Akrosentrik kromozomların (13-15 ve 21-22) kısa kollarındaki satellitler ile olası diğer kromozomal satellitler daima bu yöntemle incelenebilmektedir. En sık görülen tablolar arasında satelliti olan küçük ekstra markırlar bulunur. Polimorfizmin değerlendirilmesinde NOR boyama diğer yöntemlerle kombine olarak kullanılır<sup>1,2,6,46</sup>.

Sitolojik çalışmalarda, kromozomlarda gümüş kullanımı Howell ve ark. tarafından 1975 de tanımlandı. Bu kişiler insan akrosentrik kromozomlarının satellit kısımları olarak belli kromozomal bölgeler için spesifik bir boya olan qumoniazak gümüş (Ag-SAT) boyasını modifiye ettiler. Bunu takiben diğer araştıırmacılar daha basit uygulanabilen bir yöntem olan 18S ve 28S ribozomal sistronlarından ibaret nükleolus organize bölgeleri için (NOR<sub>s</sub>) spesifik bir yöntem ürettiler (Goodpast r ve Bloom 1975, Bloom ve Goodpasture 1976)<sup>1</sup>.

Gümüş boyama insan akrosentrik kromozomlarının sap bölgesine lokalize olur. Ag-NOR tekniği ile transkripsiyonel

olarak aktif NOR' ların boyanabildiği bildirilmiştir (Miller ve ark 1976, Schwarzancher ve ark. 1978)<sup>1</sup>.

### 3.3. İnsanda NOR'ların Lokalizasyonu ve Sayısı

NOR<sub>s</sub> bölgeleri, NOR mitozu sonunda nükleolusun geliştiği yerdedir (Mc Clintock 1934). Kromozomlar boyandığında daha az boyanan sekonder dar geçit bölgesinde yer alır. İn situ hibridizasyon tekniği NOR'da küme halinde 18 S ve 28 S RNA'yı göstermede kullanılırken 5 S RNA geni genomda birkaç yerde dağınık olarak bulunur (Wimber and Steffensen 1973, Pardue and Birnstiel 1973, Pardue et al 1973, Henderson et al 1972, 1974, Evans et al 1974, Hsu et al 1975, Pardue and Hsu 1975). NOR lar insan akrosentrik kromozomlarının kısa kollarına lokalize olup total sayısı 10'dur. Ag-NOR ile boyanan akrosentrik kromozomlar aracılığıyla aktif ribozomal sistronlar gösterilmiş olur. Aktif NOR oranının farklı bireylerde 4-10 arası olduğu tahmin edilir (Goodpasture et al 1976, Varley 1977). Ag- boyama sayısı, rDNA ve NOR aktivitesi ile orantılıdır. Her kromozomdaki aktivite hücreden hücreye değişir ve kalıtsaldır. NOR<sub>s</sub>-bandlı kromozomlardaki genel karakteristiklerden biri, onların metafaz fazında birleşmesi olarak tanımlanır. Bu birleşik aslında metafazdaki nükleolus formasyonundaki NOR aktivitesine eşittir. NOR bölgeleri sadece D ve G grubu kromozomlarda yer aldığından akrosentrik birleşim olarak tanımlanması daha uygundur. Birleşimdeki kromozomlar fiziksel bağlantılar olup rDNA'dan ibarettir ve bu kromozomların frekansı diğer birçok faktörün yanısıra sap uzunluğuna da bağlıdır<sup>1</sup>.

### 3.4. Trizomilerde NOR Değişimlerinin Önemi

NOR değişimleri, büyük kromozomal değişikliklerden sorumludur. Patau ve Down sendromları 13 ve 21. kromozomlardaki

trizomik durum olup, en sık rastlanan NOR anomalisini oluşturur (Cooke 1972, Rosenkraud and Holzer 1972, Curtis 1974). Kromozom ayrılamamasına yol açan etkenin pakiten fazında nükleolusun fibriller merkezinde NOR<sub>1</sub> ve RNA'nın farklı birleşimi sonucu olduğu ve bunun da bu tür trizomilerin birinci nedeni olduğu düşünülür. Kromozom ayrılamamasına yol açan etken, genelde maternal mayoz orjinlidir (Jacobs and Morton 1977, Mattei et al 1979, Verma et al 1985). Trizomilerin yanı sıra Robertson tipi translokasyonlar (sentrik kaynaşma tipi translokasyon) şeklindeki yapısal düzenlemeler de NOR'la ilgilidir (Ohno et al 1961). İnsanda NOR'un olası rolü ve bu translokasyonun mekanizması Stah ve ark. tarafından (1983) tanımlanmıştır. Fazla kromozomların ve benzer mekanizma ile artan satellitlerin aslında NOR dan ibaret olduğu ileri sürüldü (Babu and Verma 1985). NOR ile nükleolus arasındaki yapısal ve fonksiyonel ilişki ile rDNA regülasyonu ve amplifikasyonu bir çok araştırmacı (Mac Gregor 1982, Cullis 1982, Moss and Birnstiel 1982, Schwarzacher and Wachtler 1983) tarafından çalışıldı'.

### 3.5. NOR-bantlama Yöntemini Etkileyen Faktörler

AgNO<sub>3</sub> kullanılarak yapılan NOR bantlama yöntemi: ribozomal genlerin sayısı, ribozomal genlerin transkripsiyon aktivitesi, ve teknik faktörlerden etkilenir<sup>10,47</sup>.

NOR ile polimorfizm 4 düzeyde değerlendirilebilir:

- 1) Kromozomal (hangi kromozomda daha fazla), 2) Hücre, 3) Kişiler arasında, 4) Popülasyon (toplumlar arası)

### 3.6. NOR-bantlama Konusunda Yapılan Çalışmalar

Bu konudaki çalışmalar zigosite tayini, kanserli olgularda, normal popülasyon taramalarında, akrosentriklerde gözlenen trizomiler konularında yoğunlaşmaktadır.

### 3.6.1. Zigosite Tayininde NOR- bantlamanın Yeri

"Zakharov et all<sup>47</sup>" 20'si monozigot ikiz, 20'si ise dizigot ikiz olan 40 kişiyi incelediler. Sonuçta NOR sayısı ve boyutlarının monozigotlarda aynı, dizigotlarda farklı olduğunu açıkladılar. Kalıtsal bakımdan monozigotlar özdeş iki birey gibi davranırken dizigotlar rastgele iki kardeş kadar birbirlerine benzerler.

Aktif NOR sayılarının hücreden hücreye değişimi ile ilgili olarak 14 monozigot ikizde yapılan bir çalışmada, bu olgunun gerçekte var olan interselüler değişim ile ilgili bazı özelliklerle karakterize edilebileceğini gösterdiler<sup>10</sup>.

"Davudov et all<sup>3</sup>" 20 çift monozigot ve 20 çift dizigot ikizi kapsayan bir çalışmada, lenfosit kan kültürlerinden 13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomlardaki NOR polimorfizmine baktılar. Monozigotların tümünde, dizigotların ise sadece 1 çiftinde sonuçlar benzerdi. Holzinger formülünü kullanarak çiftler arası varyans analizi yaptıklarında NOR sayısının yüksek oranda kalıtsal özellik gösterdiğini ileri sürdüler.

### 3.6.2. Normal Popülasyonda NOR- bantlamanın Yeri

"Davudov et all<sup>3</sup>" yapılan bir çalışmada, NOR'lar en çok gigantik satellitli 15. kromozomda görülürken, en büyük blok da yine aynı kromozomdaydı.

Fibroblast ve lenfosit kültürlerinden "Mikelsaar<sup>4</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada, hazırlanan preparatlar Ag-ile boyandığında bireysel patern gösterdiğini gözlediler. Sonuçta popülasyondaki kişilerin, akrosentrik kromozomlarının NOR açısından polimorfizm gösterdiğini gözlediler.

Karyotipi normal kişilerin lenfosit kültürlerinden hazırlanan preparatların Ag boyanması ile elde edilen NOR'lardaki polimorfizme 40 kişilik denek grubunda bakıldı. Akrosentriklerde NOR frekansı ve aktivite derecesi farklı bulundu<sup>10</sup>.

### 3.6.3. NOR ve Kromozom Ayrılamaması

Heterokromatinin patoloji ile olan ilişkisi, Down sendromlu çocukların ebevenyeleri ile yapılan bir çalışmada ileri sürüldü. Akrosentrik kromozomların satellitlerinin bir arada bulunmaları (satellit asosiasyonu), gerek mitozda ve gerekse mayozda kromozom ayrılamamasına yol açmakta ve sonuçta +21 kromozumlu gametlerin oluştuğu düşünülmektedir<sup>10</sup>. D/G translokasyonu olanlarda otoradyografik gümüş boyamada kromozomal in situ hibridizasyon tekniklerini kullanan "Wang<sup>48</sup>" tarafından yapılan çalışmada markır kromozomda p<sup>+</sup> boyunca gümüş noktacıklara rastlanmadı. Önceki raporlarla çelişen bu durum p<sup>+</sup> formasyon mekanizmasının çeşitli olgular arasında farklılık gösterebileceği şeklinde yorumlandı. NOR'lar kromozomların rRNA gen bölgesinde yer almaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu D/G translokasyonunun hibridizasyon olgularında NOR ların kaybolduğu gösterildi. Çok küçük markır kromozomlarda ve Yqs olgularında fenotip tamamen normaldi.

### 3.6.4. NOR ve Kanser

Prostatik kanserli hastalarda Ag-NOR sayısının kanserle olan ilişkisini ve hiperplastik prostatik dokuda yüksek oranda olup olmadığını araştırmak amacıyla "Lundgred<sup>49</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada Ag-NOR noktaları prostatik adeno karsinomalarda daha fazla görülmektedir. Zayıf diferensiye olmuş adeno karsinomalar orta derecede, iyi diferensiye olmuş kanserlerde daha çok Ag-NOR'a sahiptir. Bu verilere göre Ag boyama yöntemi ile benign ve malign prostatik tümörlerde ve yüksek malign ve düşük malign karsinomalar arasında ayırım yapılabileceği ileri sürüldü.

Normal pankreatik duktus ile egzokrin pankreatik tümörleri olanlarda hücrel aktiviteyi belirlemek için "Ohta et al<sup>50</sup>" tarafından yapılan ve NOR bakılan bir çalışmada: hücrel proliferatif aktivite normalde ve seroz sistadenomada düşük,

müsinöz sistadenomada orta, müsinöz sistadeno karsinomada ve duktus hücre adeno karsinomasında ise çok yüksek bulunmuştur. Sonuçta pankreatik duktusdaki tümörlerin grade seviyesi arttığında aktive olan NOR sayısının arttığı öne sürülmüştür.

Yirmi normal kontrol 32 Çöliak (celiak) hastasında (CD), "Slavutsky et al<sup>51</sup>" tarafından NOR-bantlama çalışıldı. Ag-boyama tekniğinin kullanıldığı ve her örnekten 20 metafaz plağının değerlendirildiği bu çalışmada NOR'ların yüzde oranları incelendi. Ag-NOR ların yüzdesi kontrolden daha fazla idi. Grupta NHL paterni olan 3 ailede bulunmaktaydı ve bunlarda CD olgularından daha fazla Ag-NOR, olduğunu gözlediler. Sonuçta rDNA nın transkripsiyonel aktivitesinin kanserde ve bu patolojide arttığı ileri sürüldü.

Üç kuşakta 16 yıldır AML görülen yedi üyeli aile ile çalışan "He et al<sup>52</sup>", genetik anormalliklerin seks'e bağlı olmadığı ve Mendelyen dominant geçiş gösterdiğini gözlediler. Ailedeki sağlıklı 19 kişi ile 10 kontrolü içeren çalışmada karyotipler G banda göre normal iken, Ag-NOR akrabalarında daha düşük bulundu. Lösemide Ag-NOR'un yüksek bir risk oluşturduğu ileri sürüldü.

#### 3.6.5. Abortus ve NOR

Fenotipik olarak normal ve öyküsünde 9 tane 1. trimestri düşüğü olan 32 yaşında bir kadın ile "Multani et al<sup>53</sup>" tarafından yapılan sitogenetik çalışmada karyotip: 45,XX, t(22;22)(p11.1;q11.1) olarak bulundu. Ag-NOR tekniği kullanıldığında transloke olan iki akrosentrikte de NOR, un kayıp olduğu, diğer akrosentrik kromozomlarda NOR aktivitesinin arttığı ve açığın bu şekilde kapatıldığı ileri sürüldü.

#### 4. Spontan Abortusda Genetiğin Önemi

Birinci trimester abortuslarında kromozom anomalileri çoğunlukla otozomal trizomilerde gözlenmektedir. Abortus materyallerinde anormal karyotip oranı % 50-60 olup bunlar: otozomal trizomiler, poliploidi, X-monozomi ve farklı yapısal anomalilerdir. Mitotik ve mayotik hataların tekrarlamada büyük risk yaratmadığı, bu anomalilerin kazara geliştiği düşünülmektedir. Çünkü doğal seleksiyonla anormal karyotipli fötuslar aborte olmaktadır. Normal kromozoma sahip olanlarda 46,XX dominanttı<sup>54,55</sup>. Abortus materyallerinde FISH tekniği kullanılarak kromozomlardaki yeni düzenlenmeler daha iyi gösterilebilmektedir<sup>56</sup>.

Tayvan'da yapılan bir çalışmada 102 spontan abortus materyali karyotiplendirildi. Bunlardan 29'unun aile öyküsünde HSA gözlenirken(A grubu), 73 ailenin abortus öyküsü yoktu(B grubu). Maternal yaş açısından iki grup arasında farkın olmadığı bu çalışmada, spontan abortus frekansı istatistiksel açıdan benzer bulundu<sup>57</sup>.

Japonya'da " Makino et all<sup>58</sup>" tarafından yapılan bir çalışmada 1120 spontan abortus yapan kadın 7 yıl süresince takip edildi. Bu sürede olan 3216 gebelikten 2898 tanesi abortusla (%90,1) sonuçlandı. Birinci trimester düşüklerinde oran %84.2 ,12-15 hafta arasında ise oran %11.1 olarak bulundu.

Spontan abortusu olan kadınlarda eğer yaşayan çocuk var ise tekrarlama riski daha düşüktür. Yaşayan çocuğun olmadığı durumlarda artan sayıdaki her düşük tekrarlama riskini artıracaktır<sup>55</sup>.



## **GEREÇ VE YÖNTEM**

### **1. Olgu ve Kontrol Grupları**

Olgu grubunu oluşturan çiftler Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğinden HSA ve KOA nedeniyle Genetik Polikliniğine sevk edilen hastalardan seçildi. HSA grubu, jinekolojik ve mikrobiyolojik olmayan nedenlerle en az 3 abortus yapmış çiftlerden oluşturuldu. KOA grubunu; erken doğum, erken çocuk ölümü, ölü doğum ve malformasyonlu çocuğa sahip kişiler oluşturdu. Kontrol grubu ise abortus öyküsü olmayan çocuk sahibi çiftlerden seçildi. Olgu ve kontrol grupları, akraba evliliği yapmamış, yaşları 20-40 arasında değişen 30'ar çiftten (30 erkek, 30 kadın) oluşturuldu. Toplam 180 kişi çalışıldı.

### **1.2. Polimorfizm Değerlendirilme Yöntemleri**

HSA ve KOA'li olgular ile kontrol grubunu oluşturan çiftlerin karyotiplerine G-bantlama yöntemi ile bakıldı. Karyotipi normal olan kişilerin kromozomal polimorfizm yönünden değerlendirilmesi amacıyla yapısal heterokromatin bantlama (C-bantlama) ve nükleolus organize edici bölge bantlaması (NOR-bantlama) yapıldı. Bu amaçla yapılabilecek diğer bir bantlama yöntemi olan kinakrin bantlama (Q-bant) tezin kapsamına alınmadı.

## **2. Kromozom Preparatlarının Hazırlanması**

### **2.1. Kromozom Çalışmalarında Uyulması Gerekli Kurallar**

Karyotip çalışmalarında hücre kültürlerinde kontaminasyon olasılığını azaltmak için steriliteye dikkat edilir. Kromozom

çalışmaları sırasında optimum miktarda hücre elde etmek için: sterilite, kültür kaplarının temizliği, sıcaklık ve pH, vasat ve zenginleştiricilerin istenilen koşullarda olmasına özen gösterildi<sup>2</sup>. Hazırlanan besi yeri konik tabanlı kültür tüplerine bölünerek ekim yapıldı.

## 2.2. Kromozom Çalışma Yöntemi

Kolay elde edilebilen bol ve kaliteli mitozla sahip doku olduğundan çalışmamızda periferik venöz kan kullanıldı<sup>2,5</sup>. Periferik kandan karyotip analizi çalışmasında değer taşıyan hücre lenfositlerdir. Sağlıklı bir erginde lökositlerin tam diferansiye formları hiçbir zaman aktif üreme göstermezken sadece lenfositler uygun koşullar sağlandığında bölünebilirler ve o yüzden de genetik açıdan büyük önem taşırlar.

Periferik kan kullanılarak yaptığımız kromozom analizinde ilk kez 1960 yılında Nowell tarafından uygulanan ve Moorhead ve arkadaşları tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır<sup>2</sup>.

Deneklerden 1cc heparinize venöz kan alınarak hava akımının olmadığı bir ortamda 2.5cc besi yerine 3 damla olacak şekilde bek arkasında ekim yapıldı. Deneylede RPMI 1640 (Sigma R 5632) ile hazırlanan besi yeri kullanıldı. 37°C'da 71 saat enkübe edilen kültürlerle 10 µg/ml olacak şekilde colcemid (Seromed L 6211) ilave edildi. 1 saat 37°C 'da enkübe edilen kültür, 10 dakika (800-1000 rpm/dak) santrifüj edildi. Çökeltinin üzerinde 0.5cc solüsyon kalacak şekilde üstteki süpernatant uzaklaştırıldı. Karışım süspanse edilerek üzerine hipotonik solüsyon olarak 0.075M KCL(Merck TA 520735) den 6cc eklendi. 37°C'da 20 dakika enkübe edildikten sonra santrifüj yapıldı ve süpernatant atılarak üzerine 3 kısım metanol(Merck K 24172108) / 1 kısım glisial asetik asit(Merck K 18855556) ile hazırlanan soğuk fiksatif ilave edildi. +4°C'da 10 dakika bekletilen kültür tüplerinin santrifüjü sonrası süpernatant atıldı ve hazırlanan fiksatiften 6cc eklenerek (fiksasyon işlemi) tekrarlandı. En az 2 saat, ortalama 1 gece +4°C'de

bekletilerek santrifüj sonrası fiksasyon işlemi tekrarlandı. Otuz dakika daha fiksatifte bekletme sonucu santrifüj sonrası süpernatant atılarak soğuk ve ıslak lamlara yayma yapıldı. İki gün 37°C'da bekletilen preparatlar boyanarak değerlendirildi<sup>2</sup>.

### 2.3. Bantlama Yöntemleri

Memeli kromozomlarının rutin boyanmasında en yaygın olarak kullanılan yöntem Giemsa bantlama (G-bantlama)'dır<sup>2,5</sup>. Bu bantlama yönteminde preparatlar genellikle tripsin gibi bir proteazla muamele edilir ya da sıcak sulu sitrat ile enkübe edilir. Bantlama yöntemi ile kromozomların hem yapısal ve hemde işlevsel kompozisyonları yansıtılmaktadır. Koyu boyanan bantları pakiten kromomerlerine karşılık olmakta, DNA'larını genellikle geç S-fazında replike etmekte, A-T'den zengin DNA içermekte, nisbeten az sayıda aktif gen kapsamakta ve protein içerikleri açısından açık boyanan bant bölgelerinden farklılık göstermektedir. Kromozomların farklı bölgelerinde fiksasyon veya bantlama ön işlemleri sırasında farklı protein ekstraksiyonunun olması bantların eldesinde önemli bir faktör olabilir. G-bantlamada optimum sonuç almak için lamların yaşlandırılması gerekmektedir. Bizde bu amaçla çalışmamızda preparatları en az 2 gün 37°C da bırakmaktayız.

#### Kullanılan Besi Yerinin Hazırlanışı

Materyal	Derişim	Hacım(ml)
RPMI 1640	1X	100
Calf serum (Serva 47910)	-	20
L-Glutamin(Seromed K0282)	200mM(100X)	1
Penisilin/	10.000IU/ml+	
Streptomisin(Seromed A2212)	10.000µg/ml	1.0
PHA (Seromed M5040)	-	1.5

### 2.3.1. C-Bantlama Yöntemi

Çalışmamızda uygulanan C-bantlama yönteminde denatürasyon ajanı olarak satüre  $Ba(OH)_2$  çözeltisinin kullanıldığı Salamanda Armendares tarafından geliştirilen yöntem uygulanmıştır<sup>2</sup>.

#### Ayırıcılar:

a. Baryum hidroksit  $Ba(OH)_2$  (Merck A977735) 11.04g/lt konsantrasyonda hazırlanan çözeltinin kullanılıncaya kadar hava ile teması önlenir.

b. 2xSSC çözeltisi; 1 kısım 0.03M trisodyum sitrat (Merck K 14205132), 1 kısım 0.03M NaCl (Merck) çözeltileri karıştırılır.

c. 0.2 M HCl (Merck)

d. Giemsa (Merck 9204) boya çözeltisi, %2'lik olacak şekilde PBS ile hazırlanır.

PBS (fosfat tamponlu salin); NaCl 8.0 gr  
KCl 0.2 gr  
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.92 gr  
KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2 gr

Distile su ile 1 litreye tamamlanarak hazırlanır (PBS hazırlanmasında kullanılan kimyasallar Merck markadır.).

#### C-bantlama yönteminde preparatların hazırlanması

a. Süzülmüş  $Ba(OH)_2$  çözeltisi konan şale 37°C'a, 2xSSC konmuş diğer şale ise 65°C'deki su banyosuna bırakılır.

b. Lamlar, oda sıcaklığında 0.2M HCl'de 30 dakika bekletilir.

c. İki kez saf su veya deiyonize suda çalkalanır.

d. Lamlar, 37°C'da 0.07M  $Ba(OH)_2$  çözeltisinde 10 dakika tutulur.

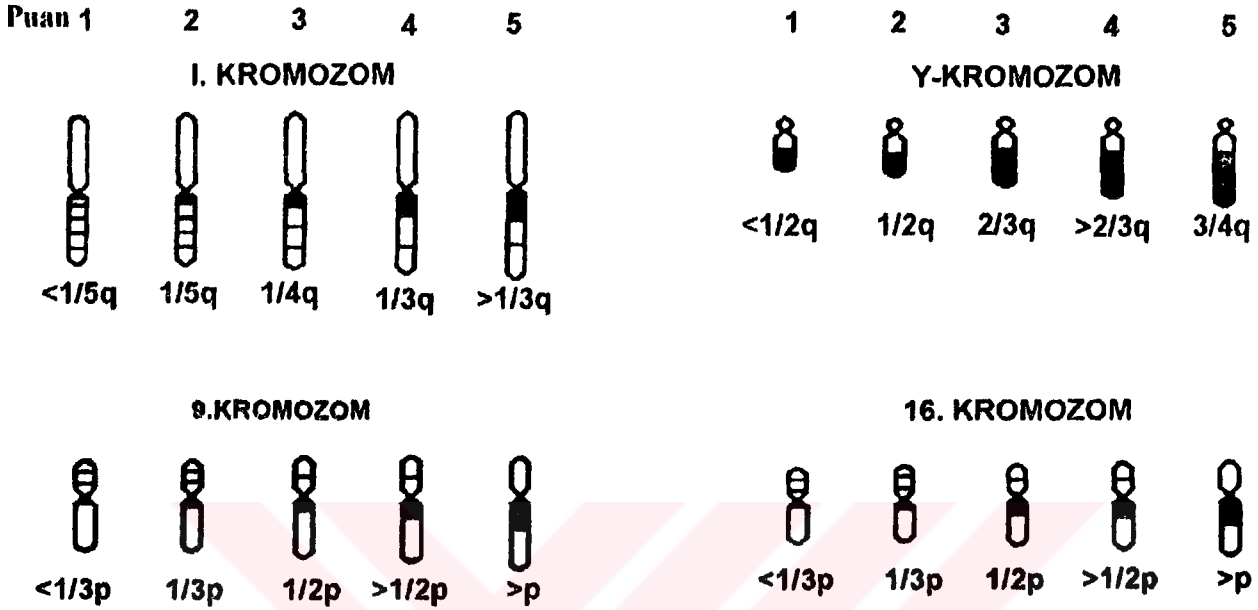
e. Üç kez saf su veya deiyonize su ile çalkalanır.

f. Lamlar 65°C'deki 2xSSC çözeltisinde 2 saat enkübe edilir.

g. Saf su veya deiyonize su ile çalkalanır.

h. 10 - 15 dakika Giemsa ile boyanır.

i. Lamlar çalkalanarak havada kurutulur.



Şekil 1.1. C-bantlama yöntemine göre puanlama sistemi.

### 2.3.2. NOR-bantlama Yöntem

Kullanılan Ayıraçlar:

- %50'lik  $\text{AgNO}_3$  (Merck K21696410) solüsyonu
- Jelatin developer solüsyonu: 1gr jelatin tozu (fluka) 50ml distile suda çözülür. 0.5ml saf formik asit eklenir ve çalkalanarak iyice karıştırılır.
- Boya %2 Giemsa ile Sörensen buffer kullanarak (pH 6.8-7.0) hazırlanır. Sörensen tampon: 11.34g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Sigma P 5379) distile su ile 250ml ye tamamlanarak A solüsyonu hazırlandı. 14.83g  $\text{NaHPO}_4$  (Merck Art 6345) distile su ile 250 ml ye tamamlanarak B solüsyonu hazırlandı.

### **NOR-bantlama yönteminde preparatların hazırlanması**

a. Temiz kromozom slaytları seçilir. Olası tozların uzaklaştırılması için %75'lik alkol ile yıkanır ve kurutulur. Kirli preparatlardaki tozlar gümüş taneciklerin zemini kirletmesine ve kalitesiz bir boyama yapmasına yol açar.

b. Petri kutusu 70°C ısıdaki su banyosuna konur.

c. Kromozom slaytları petride cam borular üzerine bırakılır. Preparatların üzerine 12 damla jelatin devoloper ve 4 damla AgNO<sub>3</sub> solüsyonu konarak karıştırılır ve lamelle kapatılır.

d. 30-60 saniye preparatlar gözlenir. Renksiz olan karışım sarı-koyu kahverengi olur. Lamlar petriden alınarak 70°C' daki distile su ile yıkanır. Havada kurutulur ve mikroskop altında bakılır.

e. Kromozomlar altın sarısı renkte ve NOR'lar siyah ise Giemsa ile boyanır.

### **3. Preparatların Hazırlanmasında ve Değerlendirilmesinde Kullanılan Araçlar**

Ekim yapılan besiyerleri 37°C'a ayarlanabilen gaz girişi olmayan bir inkübatörde enkübe edildi.

Santrifüj işlemlerinde 800-1000 rpm'e ayarlanabilen santrifüj kullanıldı.

Su banyosu gerektiren işlemler için 37-70°C'a ayarlanabilen su banyosu kullanıldı.

Hazırlanan preparatların değerlendirilmesi ve resimlerin çekilmesinde Olympus marka mikroskop ve otomatik resim çekme düzeneği kullanıldı (Olympus BH-2 mikroskobu, Olympus AD sistem Exposure Control Unit).

### **4. İstatistik**

Verilerin değerlendirilmesi ve kontrol grubu ile karşılaştırılmasında Khi-Kare Testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

### 1. C-polimorfizm bulguları

Çalışmamızda kromozomal polimorfizmin değerlendirilmesinde C- ve NOR- bantlama yöntemini kullandık. Bu çalışmada her gruptan 30'ar çiftte(60 kişi) bakıldı ve bireylerde 20 metafaz plağı değerlendirildi.

C- bantlama yönteminde kromozomların sentromer bölgeleri boya alırken en fazla polimorfizm 1,9,16 ve Y kromozomlarında görüldü(Şekil 1.2, 1.3).

C- bant boyutları 5 puanlık yöntemle göre değerlendirildi (Şekil 1.1). Kromozomlarda dağılımın 2-3 puanlık bölgede olduğu gözlemlendi.

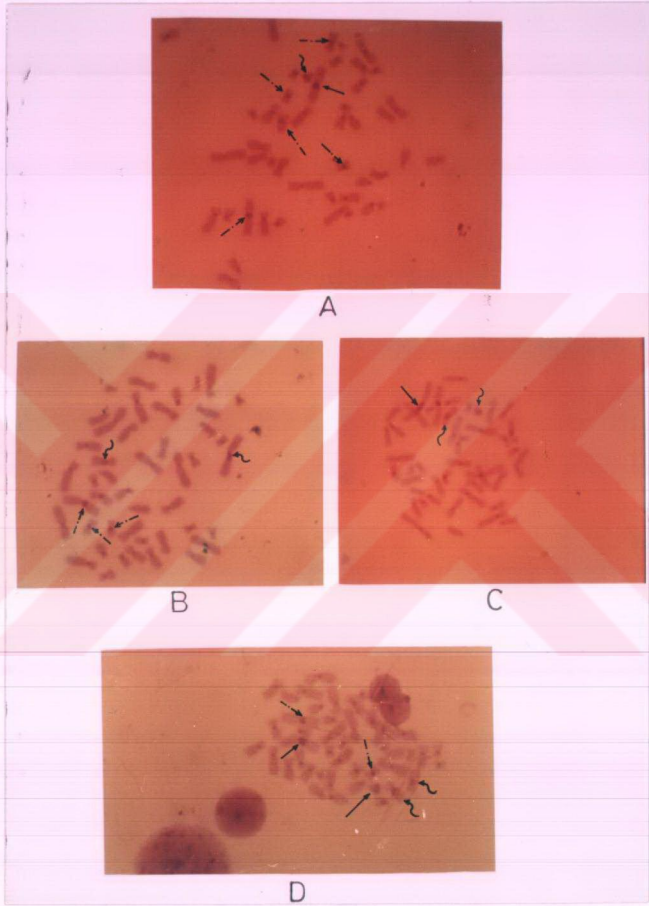
Çizelge 1.1'de denek ve kontrol gruplarının % dağılım oranları cinsiyet farkına göre gösterilmektedir. Bu tabloya göre; % dağılım oranlarının HSA ve KOA gruplarında 1,9. kromozomlarda 3 puanlık bölgede, kontrol grubunda ise 2 puanlık bölgede daha fazla yer aldığı görülmektedir. Onaltıncı kromozomda, olgu ve kontrol gruplarında % oranları 2 puanlık bölgede daha fazla yer almaktadır. HSA ve KOA gruplarında % oranları 3 puanlık bölgede kontrolden daha fazladır. Y kromozomunda 2 puanlık bölge kontrolden az iken, 3 puanlık bölgede HSA, kontrol ve KOA'ya göre daha fazladır.

Değerlendirilen metafaz plaklarında 5 puanlık bölgede yer alan kromozom sayısı çok azdır. Y kromozomundaki C- bantlar en çok 3 (Şekil 1.2 a,c) puan iken, 2 (Şekil 1.3 a,c) ve 4 puanlık (Şekil 1.2 d) bölgeler onu takip etmektedir. Y kromozomunun 1 puanlık bölgesinde çok az metafaz bulunmaktadır (Şekil 1.3 d).

Çizelge 1.1. Denek ve Kontrol Gruplarında C-bant Boyutlarının & Dağılım Oranları.

KROMOZOM	PUAN	HSA GRUBU			KOA GRUBU			KONTROL		
		KADIN	ERKEK	ÇİFT	KADIN	ERKEK	ÇİFT	KADIN	ERKEK	ÇİFT
1	I	4.5	4.33	4.41	3.5	4.17	3.83	6.83	8.25	7.54
	II	43.42	42.50	42.96	45.66	42.75	44.2	46.58	45.58	46.08
	III	47.07	47.58	47.32	46.17	46.25	46.2	42.08	41.5	41.79
	IV	5.25	5.58	5.41	4.67	6.83	5.75	4.5	4.66	4.58
	V	0.083	0	0.04	0	0	0	0	0	0
9	I	1.33	3.17	2.25	1	0.58	0.8	1.16	2.2	1.68
	II	39	38.92	38.96	37.83	37.33	37.58	47.43	48.0	47.86
	III	50.25	52.57	51.41	51.16	52.33	51.75	49	45.1	47.05
	IV	8.17	6	7.08	10.0	9.42	9.71	2.41	4.7	3.55
	V	0.83	0.75	0.79	0	0.33	0.16	0	0	0
16	I	3.75	5.17	4.46	4.58	3.66	4.12	4.83	4.1	4.46
	II	65.58	66.33	65.95	69.58	63.42	66.5	71.5	70.6	71
	III	28.58	27.25	27.91	24.46	30.25	27.35	22.66	24.2	23.43
	IV	1.75	1.25	1.5	1.57	2.25	1.91	1	1.6	1.3
	V	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Y	I		3.35			3.34			0	
	II		33.35			30			36.6	
	III		53.3			50			50	
	IV		10			16.66			13,4	
	V		0			0			0	





Şekil 1.2. C-bantlama görülen 4 metafaz plağını içeren resim. Oklara göre puan durumu:  $\curvearrowright$  1 puan,  $\rightarrow$  2 puan,  $\sim$  3 puan,  $\rightarrow$  4 puan.

C-bantlama Şekil 1.2 ve Şekil 1.3 görülmektedir.

Şekil 1.2 A KOA grubu bir erkek hastaya aittir. Buna göre 1. kromozomun biri 4, diğeri iki puan; 9 ve 16. kromozomlar ise 2 puanlıktır. Y kromozomu ise 3 puanlıktır.

Şekil 1.2 B HSA grubu bir kadın hastaya aittir. Birinci ve 9. kromozomların biri 3 diğeri 2 puanlık bölgededir. Onaltıncı kromozom ise 2 puanlıktır.

Şekil 1.2 C KOA grubu bir erkek hastaya aittir. Birinci kromozomun biri 4 diğeri 2 ve Y kromozomu 3 puanlıktır. Dokuzuncu ve 16. kromozomların biri 3 diğeri 2 puanlık bölgededir.

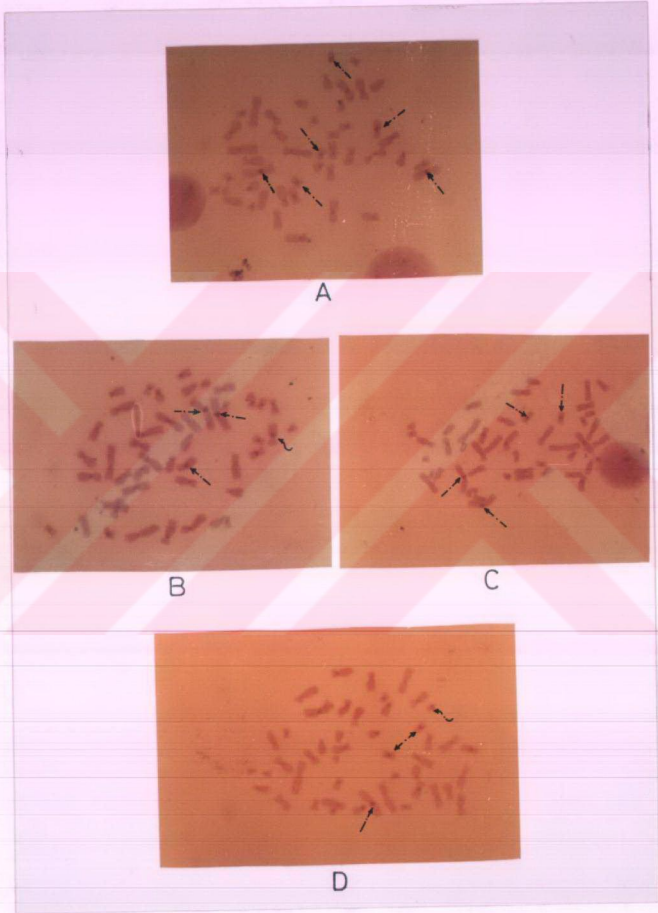
Şekil 1.2 D HSA grubu bir erkek hastaya aittir. Birinci kromozomun biri 4 diğeri 2; 9. kromozomlar 3; 16. kromozom 2 ve Y kromozomu ise 4 puanlık bölgededir.

Şekil 1.3 A HSA grubu bir erkek hastaya aittir. Bir, 9, 16 ve Y kromozomlarının tamamı 2 puanlık bölgededir.

Şekil 1.3 B KOA grubu bir kadın hastaya aittir. Bir ve 16. kromozomlar 2; 9. kromozomun biri 3 diğeri 2 puanlık bölgede yer almaktadır.

Şekil 1.3 C kontrol grubu bir erkeğe aittir. Bir, 9, 16 ve Y kromozomlarının tamamı 2 puanlık bölgede yer almıştır.

Şekil 1.3 D KOA grubu bir erkek hastaya aittir. Bir, 9, 16. kromozomlar 2; Y kromozomu 1 puanlık bölgede yer almıştır.



Şekil 1.3. C-bantlamanın 4 farklı metafazda gösterilmesi. Oklara göre puan durumu  
↪ 1 puan,    ↪ 2 puan,    ↪ 3 puan,    ↪ 4 puan.

C-bantlama yönteminin istatistiksel değerlendirilmesinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Çizelge 1.2'de HSA ve KOA grubu kadınları, kontrol ile karşılaştırıldığında elde edilen Ki-kare değerleri gösterilmektedir.

Çizelge 1.2. HSA ve KOA grubu kadınları ve kontrol arasında C bant boyutunun karşılaştırması.

KROMOZOM	PUAN	Kİ-KARE	
		HSA	KOA
1	1	103.66***	76.6***
	2	84.83***	55.97**
	3	83.27***	74.11***
	4	86.33***	60.91***
	5		
9	1	23.97***	26.0***
	2	105.4***	72.22***
	3	52.02**	51.96**
	4	88.73***	92.61***
	5		
16	1	60.66***	107.66***
	2	90.09***	57.19**
	3	211.51***	184.19***
	4	33.0***	20.88***
	5		

\*\*\* p<0.001

\*\* p<0.01

5 puanlık seviyede yer alan metafaz sayısı az olduğundan Ki-kare değerleri bulunamadı.

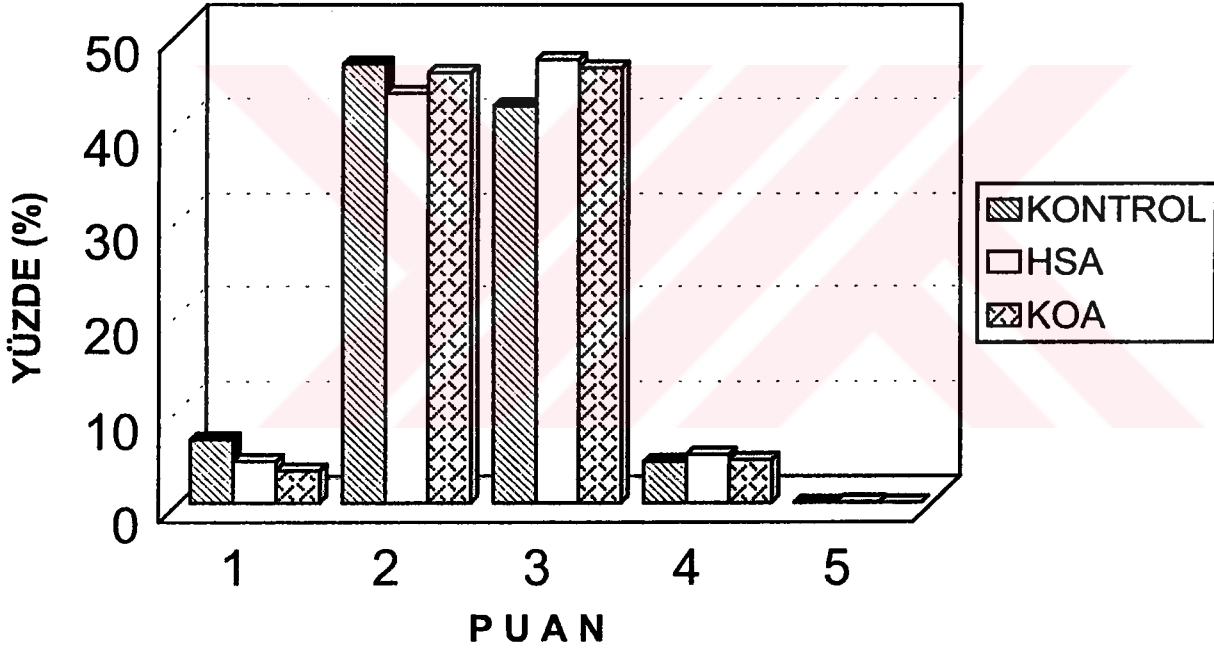
Çizelge 1.3'de HSA ve KOA grubu erkekleri 5 puanlık sisteme göre 1.,9.,16 ve Y kromozomlarının değerleri kontrol ile Ki-kare yöntemine göre karşılaştırıldı. İstatistiksel analiz sonucu tüm parametreler arasındaki fark p<0.001 değerine göre anlamlı bulundu.

Çizelge 1.3. HSA ve KOA grubu erkekleri ve kontrol arasında C bant boyutlarının karşılaştırması.

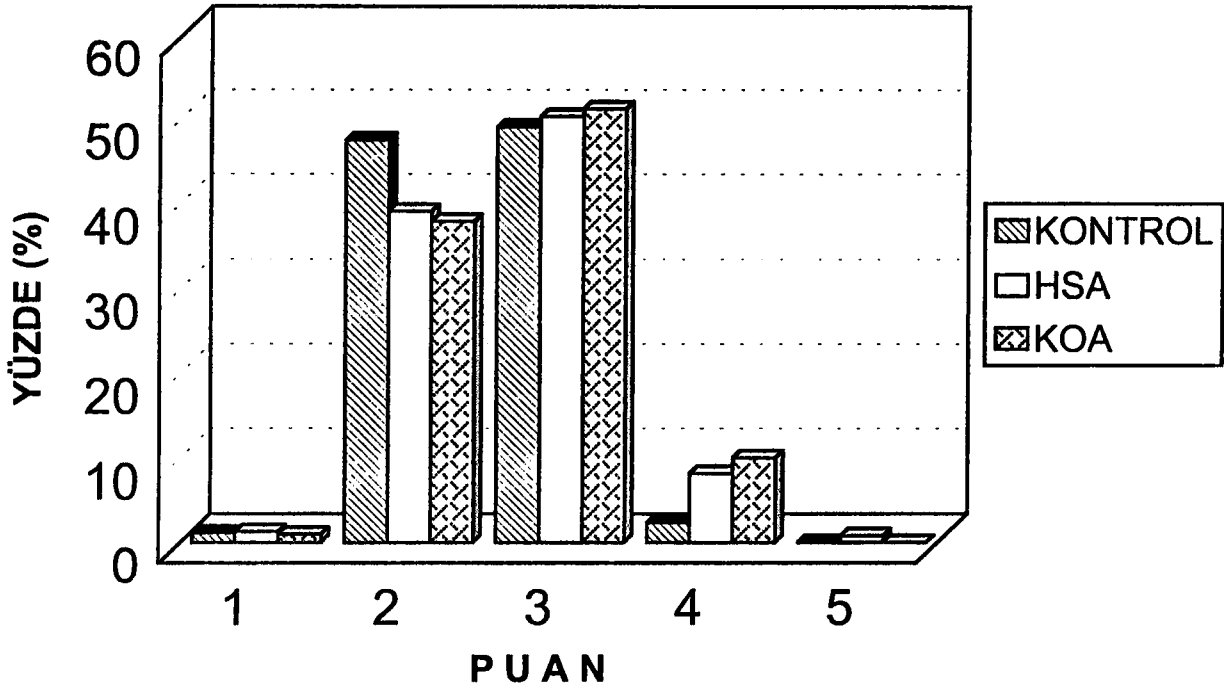
KROMOZOM	PUAN	Kİ-KARE	
		HSA	KOA
1	1	107.3***	71.63***
	2	157.83***	81.23***
	3	172.87***	145.45***
	4	109.18***	106.9***
	5		
9	1	47.7***	34.0***
	2	140.42***	172.31***
	3	143.32***	112.07***
	4	114.07***	118.85***
	5		
16	1	89.82***	62.51***
	2	75.02***	77.06***
	3	212.97***	210.72***
	4	35.0***	41.16***
	5		
Y	1		
	2	259.64***	319.19***
	3	299.67***	360.0***
	4	140.0***	139.5***
	5		

\*\*\* p<0.001

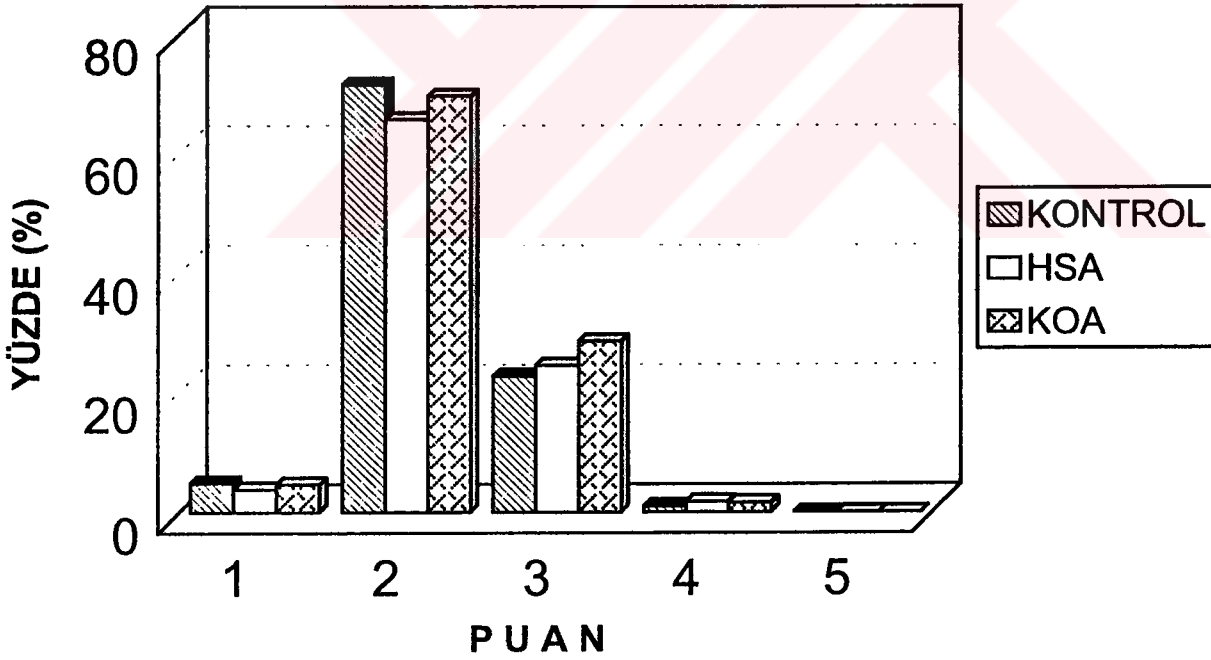
Aşağıda yer alan Şekil 1.4, 1.5, 1.6 numaralı grafikler kontrol, HSA, KOA grubu kadınların 5 puanlık sisteme göre % dağılımlarının sırasıyla 1., 9. ve 16. kromozomlar açısından karşılaştırılmasını göstermektedir. Grafikler incelendiğinde 1; 4 ve 5 puanlık bölgelede yer alan kromozom oranının daha düşük olduğu, 1 ve 9. kromozomlar 2 ve 3; 16. kromozom ise daha çok 2 puanlık bölgede yığılım gösterdiği görülmektedir.



Şekil 1.4. Kontrol, HSA, KOA grubu kadınlarda 1. kromozom açısından 5 puanlık sisteme göre % değerlerin karşılaştırıldığı grafik.

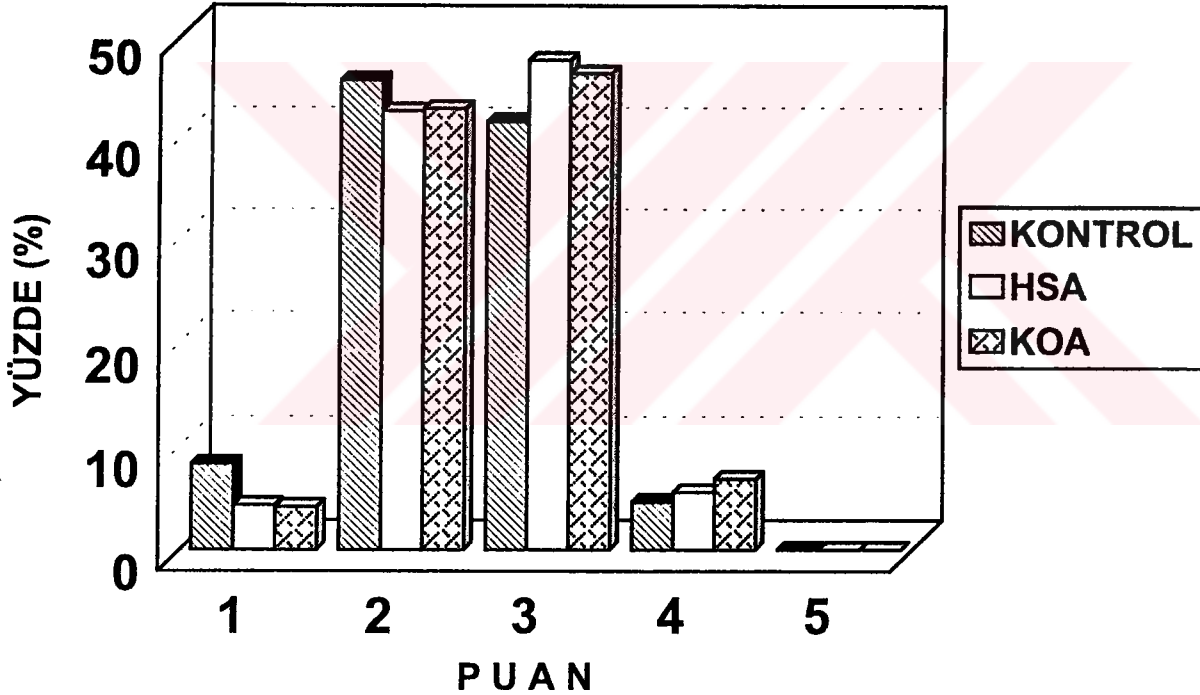


Şekil 1.5 Kontrol, HSA ve KOA grubu kadınlarda 9. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.



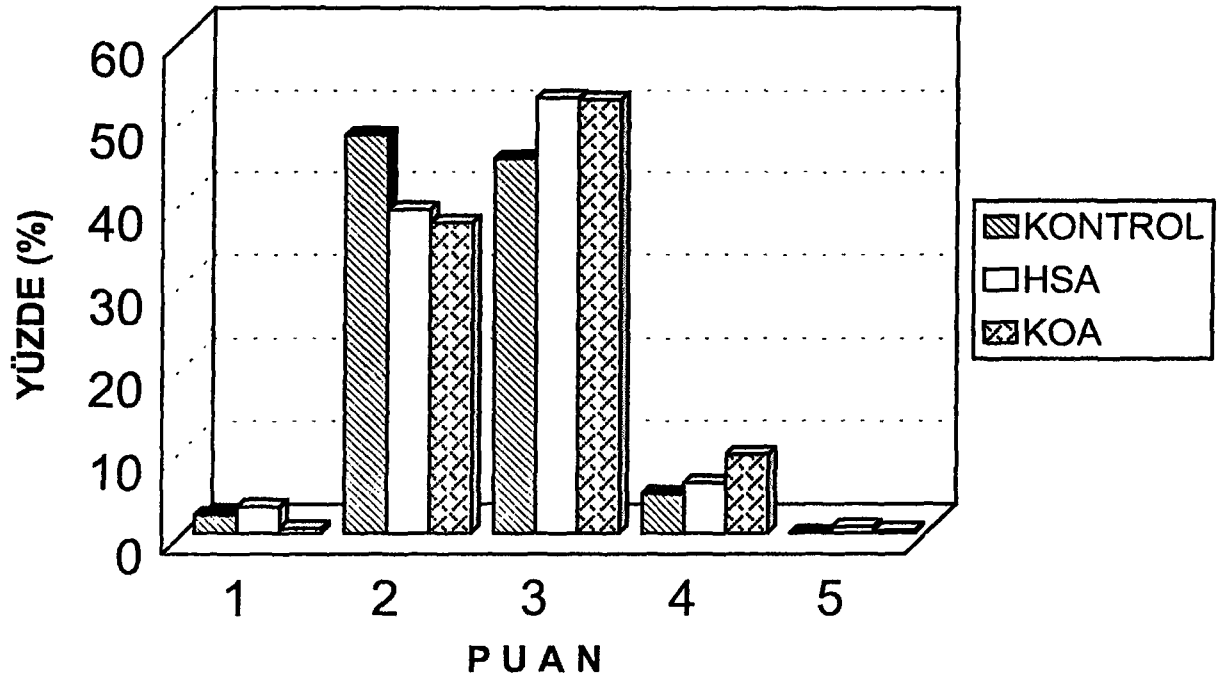
Şekil 1.6. Kontrol, HSA ve KOA grubu kadınlarında 16. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.

Aşağıda yer alan şekil 1.7, 1.8, 1.9 ve 1.10 numaralı grafikler kontrol, HSA, KOA grubu erkeklerde sırasıyla 1, 9, 16 ve Y kromozomlarında 5 puanlık sisteme göre yüzde dağılım değerlerini göstermektedir. Grafiklerden de anlaşılacağı üzere 1., 9.ve Y kromozomlar en fazla 2 ve 3 puanlık bölgede yer alırken 16. kromozom 2 puanlık bölgede daha fazla görülmektedir.

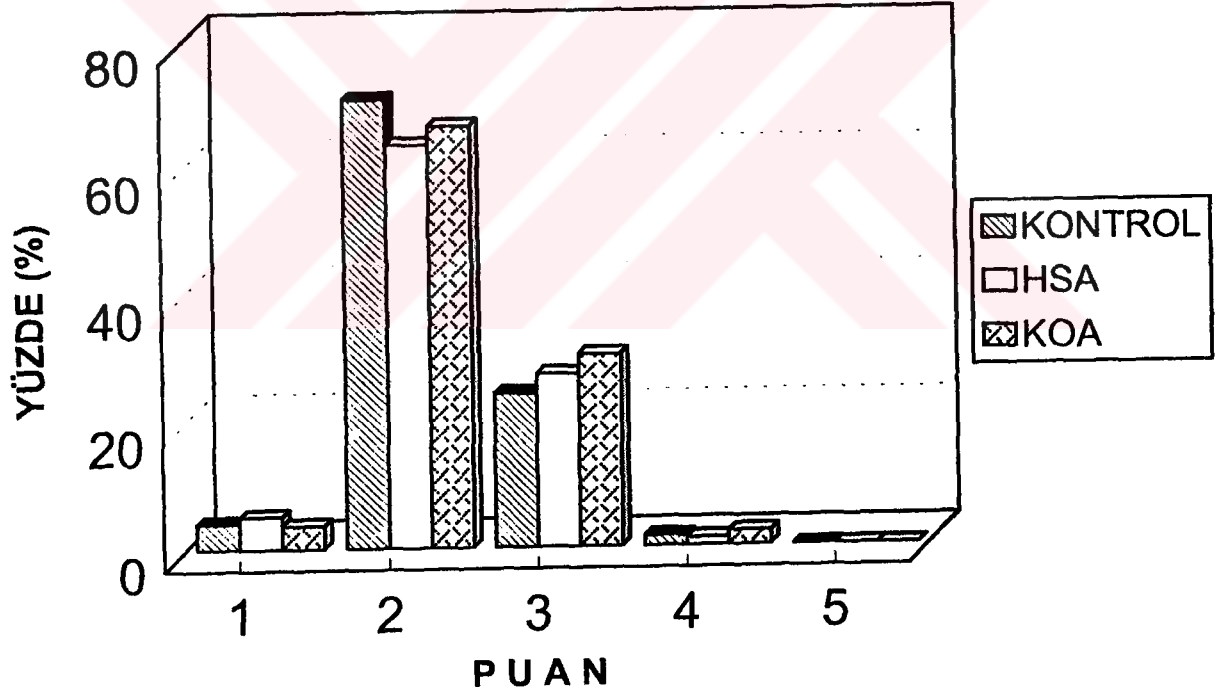


Şekil 1.7. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 1. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.

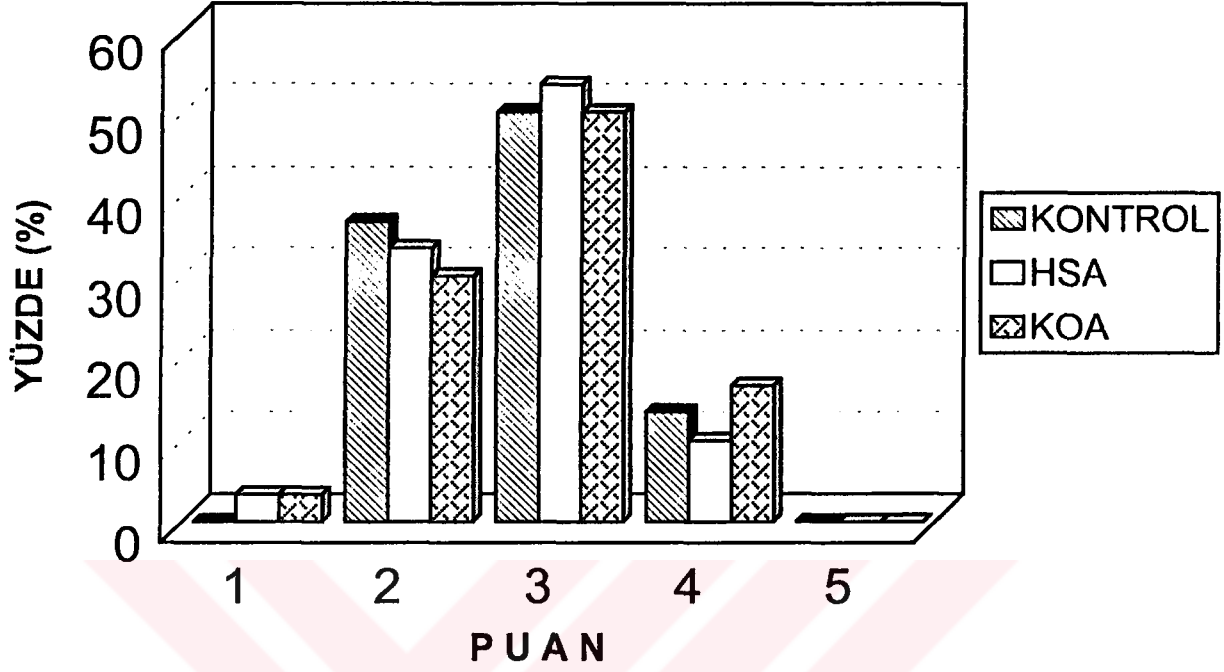




Şekil 1.8 Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 9. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.



Şekil 1.9 Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde 16. kromozom açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.



Şekil 1.10. Kontrol, HSA ve KOA grubu erkeklerde Y kromozomu açısından % dağılım değerlerinin karşılaştırması.

## 2. NOR-polimorfizm bulguları

Ribozomal RNA'lar akrosentrik kromozomların sap bölgelerinde bulunmakta, bunlardan aktif olanlar NOR bantlama sonucu boya alabilmektedir. Metafaz plağındaki akrosentriklerin sayısı 10 tanedir. Her akrosentrikte 2 adet sap bölgesi bulunduğundan tamamı boya alsa 20 noktacık sayılır. Her metafazda NOR ile boyanan kromozom sayısı en az 3-4 iken en fazla 10'dur. NOR bantlama açısından polimorfizm sadece sayı açısından olmayıp boyut açısından da olabilmektedir. Bu çalışmada 30'ar çiftle oluşturulan gruplarda (toplam 180 kişi) her vaka'dan 20 metafaz plağı değerlendirildi.

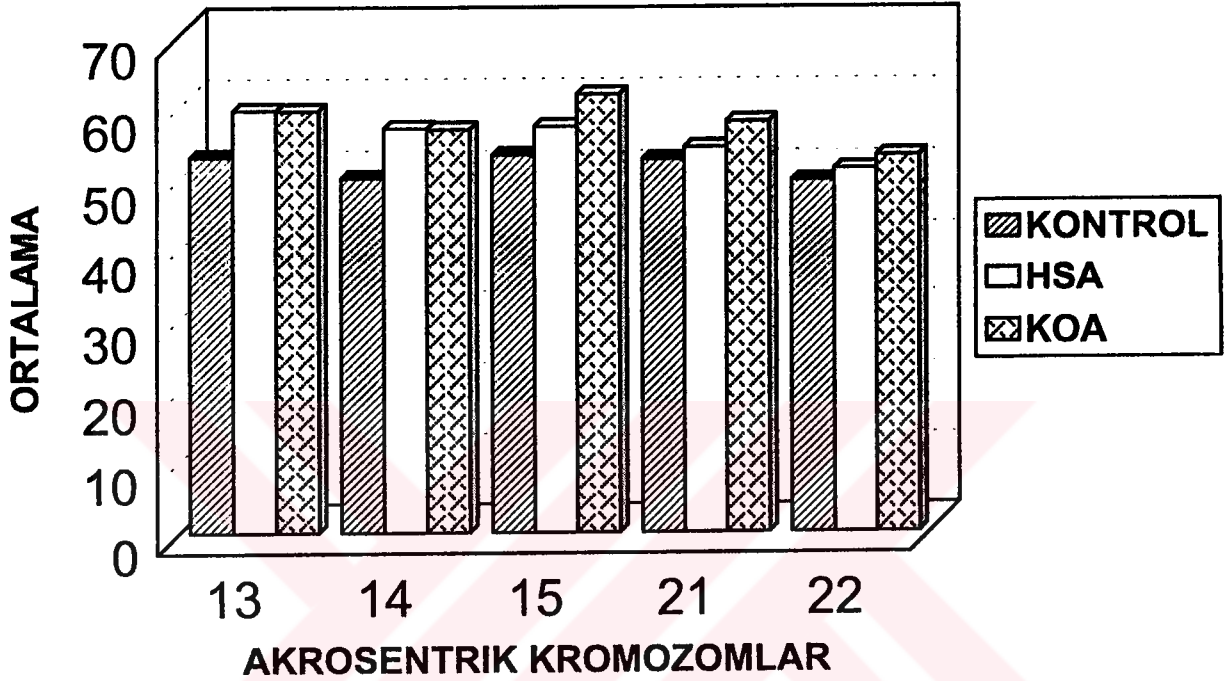
NOR bantlama yönteminde olgu ve kontrol grupları arasında yapılan istatistiksel analizde Ki-kare yöntemi kullanıldı. Çizelge 2.1 HSA ve KOA grubu kadınları ve kontrol arasında uygulanan Ki-kare yöntemi sonrası elde edilen Ki-kare değerlerini göstermektedir. Buna göre sadece HSA grubu kadınlarında 21. kromozomda istatistiksel olarak anlamlılık ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur.

Çizelge 2.1. HSA ve KOA grubu kadınları ve kontrol arasında NOR bant açısından değerlerin karşılaştırılması.

KROMOZOM	Kİ-KARE	
	HSA	KOA
13	15.47*	6.66*
14	16.14*	6.59*
15	21.0*	11.07*
21	94.63***	8.85*
22	37.71*	11.52*

\*  $p > 0.05$  \*\*\*  $p < 0.001$

Kontrol, HSA, KOA grubu kadınların akrosentrik (13, 14, 15, 21, 22) kromozomlarında görülen ortalama NOR değerleri Şekil 2.1'deki grafikte gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Kadınlarda gruplar arası ortalama NOR dağılımı.

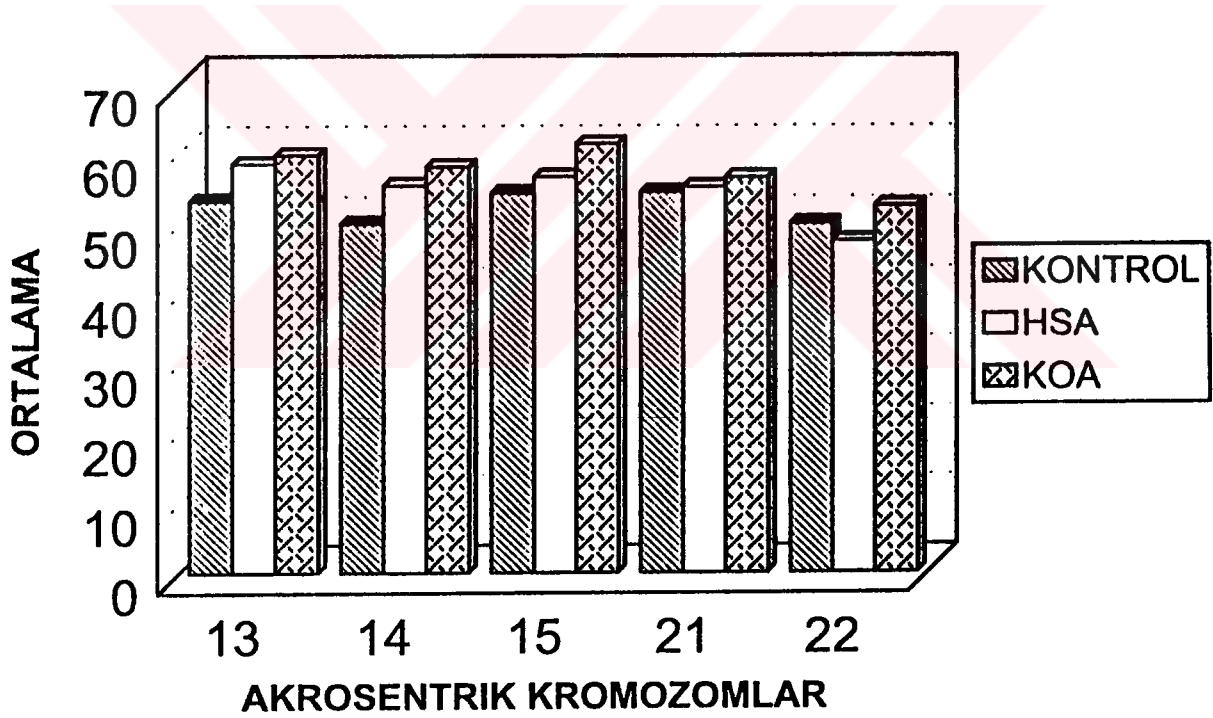
HSA ve KOA grubundaki erkeklerin kontrol erkekleri ile Ki-kare yöntemine göre karşılaştırması sonucu bulunan Ki-kare değerleri Çizelge 2.2'de gösterildi. Çizelge 2.2'ye göre HSA grubunda 22. kromozomda aradaki fark anlamlı çıkarken ( $p < 0.001$ ), diğer parametreler istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Kontrol, HSA, KOA grubu erkekler arasında NOR almış akrosentrik kromozomların ortalama değerlerinin karşılaştırıldığı grafik Şekil 2.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. HSA ve KOA grubu erkekleri ve kontrol arasında NOR bant değerlerinin karşılaştırılması.

KROMOZOM	Kİ-KARE	
	HSA	KOA
13	16.96*	4.11*
14	14.28*	8.42*
15	30.50*	29.0*
21	28.44*	16.41*
22	68.75***	11.44*

\* $p > 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$



Şekil 2.2. Erkeklerde gruplar arası ortalama NOR dağılım değerleri.

Çizelge 2.3, gruplar ve cinsiyetler arası ortalama değerleri göstermektedir. Buna göre HSA grubu kadınlarında en fazla NOR kromozom 13'de gözlenirken en az da 22. kromozomda bulunmuştur. Bu grupta hücre başına düşen ortalama NOR almış kromozom sayısı 7 olarak bulundu. KOA grubu kadınlarda NOR en fazla 15. kromozomda gözlenirken onu 13 ve 21.kromozomlar takip etmektedir. Akrosentriklerdeki ortalama değer 57,9 olup metafaz başına düşen sayı 14,48, hücrede NOR'lu kromozom sayısı 7,24 olarak bulunmuştur.

Kontrol grubu kadınlarında kromozomlar arası ortalama değer 51,85 olup hücre başına düşen NOR almış ortalama kromozom sayısı 6,48 dir. Kontrol grubunda değerler biraz daha birbirine yakın olmakla birlikte NOR'a en fazla 15 en az da 22 numaralı kromozomda rastlanmıştır. HSA grubu erkeklerinde ortalama NOR değeri 54,75 olup metafaz başına düşen bantlı kromozom sayısı 6,84 olarak bulundu. NOR ortalaması en yüksek kromozom 13 en düşük ise 22. kromozomdur. Bu grupta 21. kromozomuda hiç NOR almamış bir olgu bulunmaktadır.

KOA grubu erkeklerinde ortalama NOR sayısı en fazla 15, en az ise 22. kromozomdadır. Akrosentriklerin tümündeki ortalama değer 57,72 olup metafaz başına düşen NOR'lu kromozom sayısı 7,22 'dir. Kontrol grubu erkekleri için akrosentrik kromozomlardaki ortalama değerler birbirine yakın olmakla birlikte en fazla 21 ile 15, en az ise en az ise 14 ve 22. kromozomlardadır. Bu grup için akrosentrik kromozomların ortalaması 52,57 olarak bulundu. Metafazlarda gözlenen ortalama NOR almış kromozom sayısı 6,57'dir.

Sonuçta istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gerek kadın gerekse erkeklerde ortalama NOR dağılımı en fazla olan KOA grubu iken, HSA grubu onu takip etmektedir. Ortalama NOR dağılımının en düşük olduğu grup ise kontroldür.

**Çizelge 2.3.** HSA, KOA ve kontrol gruplarında kromozomlardaki ortalama NOR dağılımı ve hücre başına düşen NOR'lu kromozom sayısı.

Gruplar	13 ±SE	14 ±SE	15 ±SE	21 ±SE	22 ±SE	Hücre NOR Sayısı
HSA K	59.6 ±1.28	57.07 ±1.39	57.33 ±1.52	54.33 ±2.56	51.57 ±1.82	7
KOA K	59.5 ±0.81	56.93 ±0.74	61.8 ±1.03	58.0 ±0.9	53.27 ±0.63	7.24
KONT K	53.13 ±0.79	50.2 ±0.83	53.37 ±0.66	52.77 ±0.81	49.8 ±0.78	6.48
HSA E	58.53 ±1.29	55.5 ±1.05	56.7 ±1.53	55.3 ±1.45	47.7 ±1.88	6.84
KOA E	59.8 ±0.95	58.13 ±0.97	61.4 ±1.22	56.63 ±1.20	52.67 ±0.85	7.22
KONT E	53.37 ±0.85	50.2 ±0.66	54.5 ±0.88	54.6 ±1.0	50.2 ±0.81	6.57

Bu çalışmada her gruptaki denek sayısı 60 kişi (30 erkek, 30 kadın) olarak belirlendi ve her vakadan 20 metafaz plağı incelendi. Akrosentrik kromozomların satellitleri birbirine çok yakın düştüğünde rozet formasyon olarak adlandırılır. Metafaz plaklarının bazılarında rozet formasyon görülebilmektedir. Polimorfizm olarak değerlendirilebilecek bu durum normalde de görülebilmektedir. Rozet formasyon durumunda yakın düşen satellitler sanki bir blokmuş gibi davranır (Şekil 2.3d-2.4b,d).

HSA gözlenen grupta toplam 274 adet rozet formasyon

görüldü. Her grupta toplam 60 vaka olduğundan bir kişi için ortalama görülme sayısı 4,57 olarak bulunmuştur. Bunun% oranı ise %22,83'dür (Çizelge 2.4).

KOA grubunda değerlendirilen alanlarda görülen rozet formasyon sayısı 282 olup kişi başına düşen rakam 4,7'dir. Yüzde olarak bakıldığında düşen rakam ise %23,5'dir (Çizelge 2.4).

Kontrol grubunda aynı sayıdaki metafazda 102 rozet formasyon görülmüş olup kişi başına düşen sayı 1,7'dir. Yüzde olarak karşılığı ise %8,5'dir (Çizelge 2.4).

Sonuçta rozet formasyon en fazla KOA grubunda görüldü. HSA grubu onu takip etmekteydi. Kontrol grubunda ise rozet formasyon sıklığı denek gruplarından daha düşük olarak bulundu.

Çizelge 2.4. Rozet formasyon görülme sıklığı.

Gruplar	Toplam sayı	Kişideki sayı	% Oran
HSA	274	4.57	22.83
KOA	282	4.7	23.5
KONTROL	102	1.7	8.5

n=60

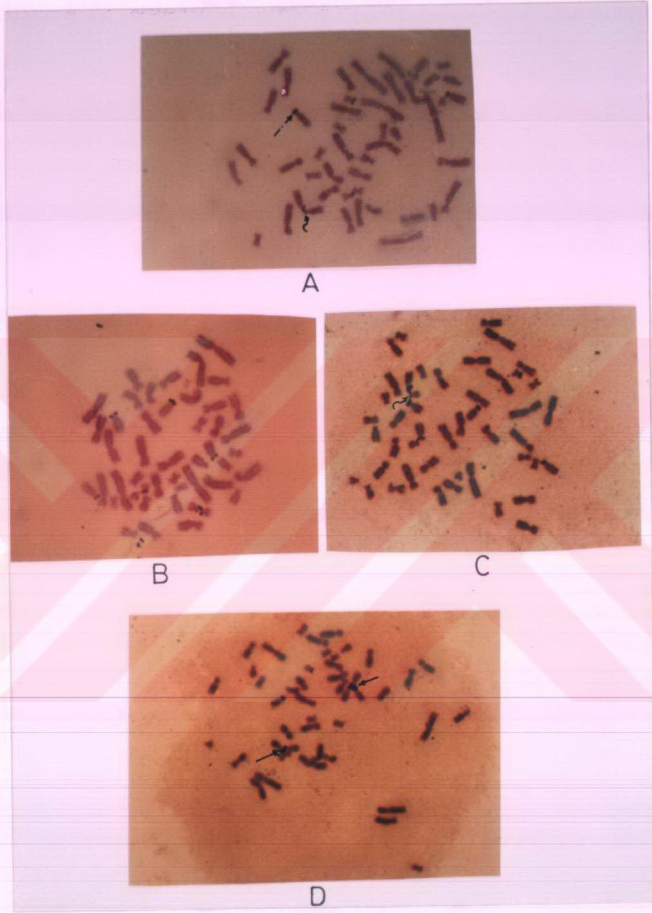


Çizelge 2.5. Kromozomlarda NOR'ların büyük bloklar halinde dağılım sayıları.

Gruplar	13	14	15	21	22
HSA	2	1	4	2	1
KOA	2	2	4	2	1
KONTROL	1	0	1	1	0

n=60

NOR bant boyutları farklı olabilmektedir. NOR-bantların bazıları çok küçük olup ancak görülebilirken (Şekil 2.4 A), bazen de çok büyük bloklar(Şekil 2.3 A) halinde olabilmektedir. Genelde bu büyük bloklar heteromorfik olmakta, homolog kromozomlardan sadece birinde görülmektedir. Blok gözlenen kromozomlar o kromozomun tüm metafaz plaklarında görülmektedir. Bu konudaki veriler Çizelge 2.5'de gösterildi (Şekil 2.3 a). HSA ve KOA gruplarında blok NOR'lu kromozom sayısı kontrol grubundan daha fazla görüldü (Çizelge 2.5). HSA ve KOA gruplarında blok 15. kromozomda daha fazla görüldü. Kontrol ile aradaki fark özellikle 15. kromozom açısından fazlaydı.



Şekil 2.3 NOR-bantlamanın 4 farklı metafaz plağında gösterimi.

→ : Rozet formasyon, ~ :satellit asosiasyonu, → : blok NOR

NOR-bantlama Şekil 2.3. ve Şekil 2.4. de görülmektedir.

Şekil 2.3. A KOA grubu bir kadına aittir. Buna göre 13-14 arasında satellit asosiasyonu, diğer 14. kromozomda ise blok NOR görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 6'dır.

Şekil 2.3. B kontrol grubu bir erkeğe aittir. 21 ve 22. kromozomlar arasında satellit asosiasyonu görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 7'dir.

Şekil 2.3. C HSA grubu bir erkeğe aittir. Kromozomlar arasında 3'lü ve 2'li satellit asosiasyonları görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 8'dir.

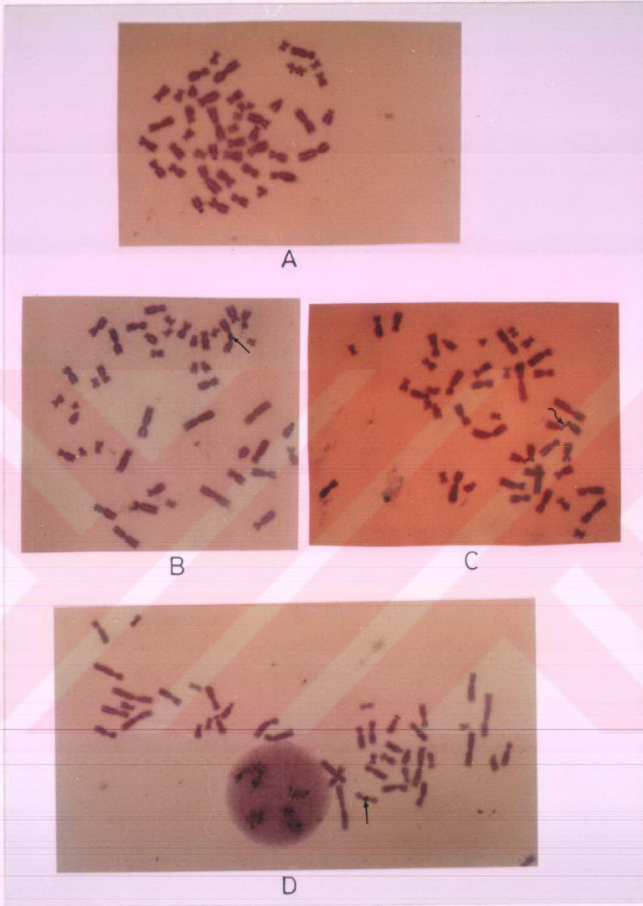
Şekil 2.3. D KOA grubu bir erkeğe aittir. Kromozomlar arasında 2'li ve 3'lü rozet formasyonlar görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı toplam 8'dir.

Şekil 2.4. A kontrol grubu bir kadına aittir. Rozet formasyon gözlenmediği NOR'ların küçük olduğu görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 6'dır.

Şekil 2.4. B HSA grubu bir kadına aittir. Ondördüncü kromozomlar arasında rozet formasyon görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 5'dir.

Şekil 2.4. C HSA grubu bir kadına aittir. Ondört-15 ve 13-15 kromozomları arasında satellit asosiasyonu görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 7'dir.

Şekil 2.4. D KOA grubu bir kadına aittir. Yirmibirinci kromozomlar arasında rozet formasyon görülmektedir. NOR görülen kromozom sayısı 8 olup biri çok küçüktür.



Şekil 2.4. NOR-bantlamanın 4 farklı metafaz plağında gösterilmesi.

→: Rozet formasyon, ~: satellit asosiasyonu, - ->: blok NOR

## TARTIŞMA

Kromozomal polimorfizmin değerlendirilmesinde Q, C, NOR-bant yöntemleri kullanılmaktadır<sup>1,5,10</sup>. Kromozomal polimorfizm heterokromatine ait bir bulgu olup büyüklüğü ve yapısı C-bantlama ile gösterilebilir. En sık görülen polimorfizm 1,9,16. kromozomların heterokromatik bölgeleri ile Y kromozomunun uzun kolundadır<sup>7</sup>. Diğer heterokromatik bölgeler; kromozomların sentromerik bölgeleri ile akrosentrik kromozomların kısa kollarındadır<sup>2</sup>. Bizim çalışmamızda da heterokromatik varyantlar beklenen noktalarda görüldü. Günümüzde ileri moleküler sitogenetik çalışmalar sayesinde restriksiyon enzimleri kullanılarak en küçük polimorfik bölgeler dahi gösterilebilir olmuştur. Polimorfizmin değerlendirilmesinde daha gelişmiş bir teknik olan FISH yöntemi<sup>8,9</sup>, pahalı olduğundan gerektiğinde kullanılmakta fakat rutinde bantlama yöntemleri yine de önemini korumaktadır. Bizde çalışmamızda o nedenle bantlama yöntemlerini uygularken bir sonraki basamakta FISH tekniğini kullanmayı planladık.

İnsan kromozomlarında heterokromatik polimorfizm; normal popülasyon taramalarında, heterokromatik varyantların saptanması ve eksternal varyantların klinik anlamının araştırılmasında, polimorfizmin doğasının araştırılmasında kullanılmaktadır. Polimorfik markırların incelenmesi ile paternal ve maternal homologların birbirinden ayırd edilmesinde ve yeni oluşan kromozomlarda yeniden düzenlenmeye sentromerlerin ne ölçüde katıldığıının gösterilmesinde C-bantlama kullanılabilir<sup>1,2</sup>. Çalışma grubu olarak seçtiğimiz HSA, KOA ve kontrol gruplarındaki olası polimorfik bölgelerin saptanması için C ve NOR-bantlama yöntemleri uygulandı.

C-bantlama yönteminin temelinde asit, alkali ve sıcak salin sitratla muamele bulunmaktadır. Çalışmamızda günümüzde en çok kullanılan denatürasyon aracı olan Ba(OH)<sub>2</sub> kullanıldı<sup>1,4</sup>.

AT'den zengin gh bölgeler (Adenin-timin arasında 2 hidrojen bağı olduğundan parçalanmasında guanin-sitozine göre daha düşük enerji gerektirir) "hot point" olmakta ve mutajenlerin etkisi ile oluşan spontan kırılma ve translokasyonlar genelde bu noktalarda görülmektedir.<sup>6</sup> Heterokromatinin ektopik birleşmesi ve onların kırılabilirliği, kırık ve translokasyonları stümüle ederken sonuçta gh ölçüleri artmakta ya da azalmaktadır<sup>1,6,7</sup>. C heterokromatinin boyutunun stabil olduğu ve kuşaklara Mendel kanununa göre aktarıldığı, bu varyantların ebeveynlerden birinde bulunduğu düşünülmektedir<sup>11</sup>.

C-bantlamada gh boyutları az veya çok olabilmekte ve sonuçlar: gh(+), gh(-) şeklinde gösterilmektedir<sup>10</sup>. Semi kantitatif yöntemle yaptığımız çalışmamızda değerlendirme 5 puanlık sisteme göre yapılmıştır(Şekil 1.1.).

Denek grubunu Ç.Ü. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğinden Genetik Polikliniğine HSA, KOA nedeniyle gönderilen çiftlerden oluşturuldu. Kromozom analizi için gönderilen bu vakaların karyotipleri G-bantlama yöntemi ile değerlendirildi. Kromozomal polimorfizmin, karyotipi normal kişilerde, mayozda kromozom anomalisine yol açabileceği düşünülerek 30'ar çift seçilerek olgu grupları oluşturuldu. Kontrol grubu ise abortus öyküsü bulunmayan ve sağlıklı çocuğa sahip 30 çiftten oluşturuldu.

HSA ve KOA gruplarında kromozomal polimorfizmin yeri ve önemini araştırmak için yaptığımız bu çalışmada olgu grupları ve kontrol arasında 5 puanlık sisteme göre elde ettiğimiz verilerin istatistiksel değerlendirmesinde Ki-kare yöntemi kullanıldı. Bu konudaki bulgularımız çizelge 1.2 ve 1.3'de gösterilmiş olup tüm parametreler açısından anlamlı ( $p < 0.01$ ) bulundu.

Polimorfizm gözlenen kromozomların genelde 2-3 puanlık bölgede yer aldığı gözlemlendi. HSA ve KOA gruplarında 1. ve 9.

kromozomlarda 3 puan, 16. kromozom ise 2 puanlık bölgede % dağılım daha fazlaydı. Kontrol grubunda ise 1, 9 ve 16. kromozomlar 2 puanlık bölgede daha yüksek oranda yer aldı. Y kromozomunun % dağılımı her üç grupta da 3 puanlık bölgede daha fazlaydı (Çizelge 1.1). Değerlendirilen metafazlarda 5 puanlık bölgede yer alan kromozom sayısı çok azdı. Ayrıca özellikle Y kromozomunda 1 puanlık bölgede yer alan metafaz sayısı da çok azdı. Bu konudaki verilerimizin Karetnikova<sup>13</sup>'nin çalışmasına uyduğu gözlemlendi.

Heterokromatin boyutunun kalıtsal özelliğini en iyi gördüğümüz kromozom Y kromozomudur. Y kromozomunun uzun kolunun 1/3-1/2 distal bölgesinde yer alan heterokromatin blok babadan oğula aynı şekilde geçmektedir. Güney Afrika'nın Hindistan popülasyonundaki Gujarati Müslümanlarında<sup>29</sup> ırka bağlı olarak Y kromozomunda görülen inversiyon da heterokromatinin kalıtsal özelliğini yansıtmaktadır. Bizim çalışmamızda Y kromozomunda herhangi bir inversiyona rastlanmadı.

Müller<sup>27</sup> ve arkadaşlarına göre 9. kromozomdaki heterokromatinin moleküler organizasyonu nedeniyle inversiyona en sık bu kromozomda rastlandığı belirtildi. Bizim çalışmamızda kontrol grubunda 1, denek grubunda 1 kişide 9 inversiyon görüldü. Bu konudaki bulgumuz Müller ve arkadaşlarının çalışmasına uygunluk göstermektedir. Familial inversiyon varlığında<sup>14</sup>, abortus frekansının etkilenmediğini öne süren çalışmalar vardır. Çalışmamızda inversiyonlu kişi sayısı düşük olduğundan etkili ya da etkisiz yorumu yapılamayacaktır.

Y kromozomunda gh+ olduğu durumlarda spontan abortus ve defektli çocuk doğma riskinin arttığı ileri sürüldü<sup>15</sup>. Çalışmamızda Y kromozomundaki % dağılım değerleri Çizelge 1.1'de yer aldı. Buna göre tüm gruplardaki % dağılım değerleri 3 puanlık seviyede daha fazla iken, 4 puan seviyesinde HSA grubu en düşüktü ve kontrol grubu onu izlemekteydi. Dört puanlık seviyede KOA grubunun % dağılımı en fazladır. Çalışma

gruplarımızda Y kromozomu açısından 5 puanlık bölgede yer alan kromozom bulunmamaktadır. Sonuçta gh+ olduğu durumlarda daha çok spontan abortus olabileceği düşüncesine bulgularımız uymamaktadır. Her gruptan 30'ar erkeğin bulunduğu çalışmamızda olgu grupları ile kontrol arasındaki fark Ki-kare yöntemine göre anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ).

HSA olupda karyotiplerinde gh+ olan ailelerde eğer dermatoglifik bulgular da normal değilse üreme fonksiyonunun bozulacağı ve abortus riskinin artacağı ileri süren araştırmacılar<sup>13</sup> olmakla birlikte bizim çalışmamızda dermatoglifik bulgular değerlendirmeye alınmadı.

Down ebeveynleri ile yapılan bir çalışmada özellikle 9. kromozomdaki C blokların normalden daha büyük olduğunu ileri sürdüler<sup>10</sup>. Bizim çalışmamızda 1,9,16. kromozomlarda 4 ve 3 puanlık seviyede HSA ve KOA gruplarının % dağılım oranları kontrolden daha yüksek bulundu. Ki-kareye göre yapılan istatistiksel analiz yönteminde aradaki fark anlamlıydı ( $p < 0.01-0.001$ ). Sonuç olarak bulgularımıza göre sadece 9. kromozom değil 1 ve 16. kromozomlar açısından da aradaki fark kontrolden anlamlı olarak büyüktü.

Normal popülasyon taramalarında semikantitatif yöntemle yapılan C-bantlama çalışmalarında 2-3 puanlık düzeyde yer alan heterokromatin fazlalığı o kişide ya da sonraki kuşakta etkisiz olduğu ileri sürüldü<sup>23</sup>. Bizim çalışmamızda da kontrol grubunda gözlenen 2-3 puan seviyesindeki gh'in, fenotipte etkisiz olduğu gösterildi.

HSA, KOA ve kontrol grupları arasında 5 puanlık sisteme göre yapılan C-bantlama sonucu elde ettiğimiz verilerde olgu ve kontrolü kıyasladığımız çalışmamızda bulgular Ki-kare yöntemine göre karşılaştırıldı ve aradaki fark anlamlı bulundu (Çizelge 1.2, 1.3).

Mememli kromozomlarının çekirdekcik organize edici bölgeleri rRNA genleri içerir. Aktif transkripsiyona sahip gen



bölgelerin AgNO<sub>3</sub> ile selektif olarak boyanabilmektedir (Nor boyama). İnsanda rRNA genleri akrosentrik kromozomların (13, 14, 15, 21 ve 22) kısa kollarına lokalizedir (Şekil 2.3, 2.4). Sadece aktif olan akrosentrikler boya alırken o kişi için bant boyutu sabit olmakta, NOR sayısı daha az ya da daha çok olabilmektedir. Sonuçta bireylerdeki boyama örüntüsü ve NOR sayısı polimorfizm göstermektedir<sup>1,2,6</sup>. Aktif NOR sayısı 4-10 arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda bulduğumuz ortalama NOR değeri yaklaşık 7'dir (6,48-7,24 arasında değişmektedir). Sonuçta istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte gerek kadın ve gerekse erkeklerde NOR en fazla KOA grubunda gözlemlendi. HSA grubunun onu takip ettiği bulgularımızda ortalama değer kontrol grubunda en düşüktü (Çizelge 2.3).

Denek ve kontrol grupları arasında, NOR sayılarının istatistiksel değerlendirilmesinde, Ki-kare yöntemi uygulandı. HSA grubu kadınlarında 21, erkeklerinde ise 22.kromozom dışında aradaki fark anlamlı bulunmadı (Çizelge 2.1, 2.2).

Ag(NO<sub>3</sub>), kullanarak yapılan NOR bantlama yöntemi: ribozomal genlerin sayısı, onların transkripsiyon aktivitesi, ve teknik faktörlerden etkilenir. NOR polimorfizmi: 1. Kromozomal (hangi kromozomda daha çok), 2.Hücre, 3. Kişiler arası, 4.Popülasyonlar arası düzeylerinde değerlendirilir<sup>47</sup>. Bizde çalışmamızda hücre, kromozomal ve gruplar arası kıyaslama yaptık.

Normal popülasyon taraması yapan Davudov<sup>3</sup> ve arkadaşlarına göre NOR'un 15. kromozomda en çok olduğu vurguladı. Bizim çalışmamızda da istatistiksel açıdan anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubu erkeklerinde 21 ve 15., kadınlarında ise 15. kromozomda en fazla NOR saptandı.

Down sendromlu ebeveynleri ile yapılan bir çalışmada akrosentrik kromozomlarda satellitlerinin asosiasyonu (Şekil 2.3 a, b, c, 2.4 c) ve rozet formasyonu (Şekil 2.3 d, 2.4 b,d) nedeniyle gerek mitoz gerekse mayozda kromozom ayrılamamasına

yol açabileceği ve sonuçta da +21 kromozomlu gametlerin oluşabileceği öne sürüldü<sup>10</sup>. Bizim çalışmamızda, Down sendromlu ebeveynleride içeren KOA grubu ve kontrol arasında, Ki-kare yöntemine göre anlamlı bir fark bulunmadı.

Rozet formasyon varlığında akrosentrik kromozomların satellitleri birbirine çok yakın olduğundan NOR bölgeleri sanki tek bir blokmuş gibi görünmektedir (Şekil 2.3 d, 2.4 b,d). Denek ve kontrol grupları karşılaştırıldığında aradaki ilişki ikisi dışında anlamlı çıkmaz iken rozet formasyon açısından bakıldığında (Çizelge 2.4), % oran en çok KOA grubunda iken HSA onu takip etmektedir(%23.5, %22,83). Kontrol grubunda rozet formasyon sıklığı daha düşük bulundu(%8.5). Belkide HSA ve KOA için etkin olabilecek olası bir neden rozet formasyondur. Rozet formasyon durumu bir sonraki mitozaya geçerken kromozom ayrılmasına yol açabilmektedir.

NOR bantlama sonucu kromozom örüntüleri birbirinin aynı değildir. Bantlar kimi zaman çok büyük iken, bazen de ancak görülebilecek kadar küçük olabilmektedir. Bu konudaki değerlendirmeler Çizelge 2.5'de gösterildi. Büyük bloklar genelde heteromorfik olmakta yani homolog kromozomlardan sadece birinde görülmektedir(Şekil 2.3 a). Blok NOR'ların bir sonraki jenerasyona aynen aktarıldığı düşünülmektedir<sup>10</sup>. Çalışmamızda gözlediğimiz NOR bloklar aynı vakanın diğer metefaz plaklarında da saptandı. Çizelge 2.5'e göre özellikle 15. kromozomda HSA ve KOA gruplarında 4 olan blok NOR sayısı kontrol grubunda 1'dir. Diğer akrosentriklerde de kontrolden daha fazla blok NOR görülmüştür. Bu tabloda her gruptaki denek sayısı 30 erkek 30 kadın olmak üzere toplam 60 dır. Sonuç olarak blok NOR sayısı 15. kromozomda en fazla iken olgu gruplarında kontrolden daha yüksek bulundu.

Çalışılan toplam 180 kişiden HSA grubunda bir erkekte 22. kromozomda, bir kadında ise 21. kromozomda hiç NOR görülmedi. Bunun nedeni ya da etkisi tam bilinmemektedir.

## SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Olgu grupları Genetik polikliniğine HSA (bilinen herhangi bir nedene bağlı olmaksızın) ve KOA nedeniyle gelen ve karyotipi G-bantlama sonucu normal çıkan 30'ar çiftten oluşturuldu.
2. C-bantlama yönteminde kromozomlar 5 puanlık sisteme göre değerlendirildi. Bir, 9 ve Y kromozomlarının % dağılım değerleri HSA ve KOA gruplarında 3; 16. kromozomda 2 puan; kontrol grubunda ise 1,9 ve 16. kromozomlarda 2 puanlık bölgede daha fazla bulunmaktaydı.
3. Heterokromatin boyutu açısından 5 ve 1 puanlık bölgede yer alan kromozom sayısı oldukça azdı.
4. C-bantlama yönteminde, HSA ve KOA gruplarında Ki-kare ile yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol ile aralarındaki fark anlamlı bulundu( $p<0.01$ ,  $p<0.001$ ).
5. NOR-bantlama ile akrosentrik kromozomların kısa kollarının boya aldığı görülmektedir.
6. NOR ile boyanan kromozom sayısı 4-10 olup çalışmamızda ortalama değer yaklaşık 7 bulundu. Gruplarda, hücre başına düşen NOR'lu kromozom sayısı kontrolde en az, denek gruplarında ise daha fazla görüldü(6.48-7.24).
7. Rozet formasyon akrosentrik kromozomların kısa kollarının birbirine çok yakın düşmesi durumudur. NOR-bantlama yapılmış preparatlar, rozet formasyon varlığında sanki birbirine bağlı gibi görülür. Rozet formasyon gözlenen metafaz sayısı, denek gruplarında kontrolden daha yüksek bulundu (HSA %22.83, KOA %23.5, Kontrol %8.5).
8. NOR-bant boyutları birbirinden farklı olup bazen blok şeklinde çok büyük, bazen de ancak görülebilecek kadar küçük

olmaktadır. Blok NOR'ların sayısı denek grubunda kontrolden fazla bulundu.

9. NOR-bantlamada, HSA ve KOA gruplarının kontrol grubu ile olan ilişkisi araştırıldı. Bunun için Ki-kare yöntemi uygulandı. Olgu grupları ile kontrol arasındaki fark HSA erkeklerinde 22.kromozomda, HSA kadınlarında ise 21. kromozomda anlamlı ( $p<0.001$ ), diğer parametrelerde anlamsız bulundu.

10. HSA ve KOA olgularında G-bantlamanın yanısıra C-bantlama ile, eğer rozet formasyon var ise NOR-bantlamanın da yapılmasının uygun olduğu görülmektedir.

11. İleriye dönük çalışmalarda aynı denek grubunda sayının arttırılması, kanserli hastalardan ikinci bir grup oluşturulması planlanmakta ve tüm gruplara C- ve NOR-bantlamanın yanı sıra FISH uygulanması düşünülmektedir.

12. Kromozomal polimorfizmin değerlendirilmesinde kullanılan C- ve NOR-bantlama yöntemleri eski birer yöntem olmakla birlikte metodun kolaylığı ve ekonomik olması nedeni ile özellikle popülasyon taramalarında yine de önemini korumaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Babu A and Verma RS. Chromosome structure: Euchromatin and heterochromatin. *international Review of Cytology* 1987;108: 1-60.
2. Benn PA and Perle MA: Chromosome staining and banding techniques. In:Rooney DE and Czepulkowski BH.Eds. *Human Cytogenetics*, Oxford: Irlpress;1986: 57-83.
3. Davudov AZ, Benjush VA, Zakharov AF and Egolina NA. Hereditary determination of NOR's polymorphisms in human chromosomes as studied in twins. *Polymorphism in Human Chromosomes*. Medical Academy of Sciens, Moskov. 1981: 154-162.
4. Mikelsaar AVN. Ag-NOR polymorphism in man. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Moskov: Medical Academy of Sciens. 1981: 130-139.
5. Başaran N. *Tıbbi Genetik*. 6.Baskı,Eskişehir: Bilim Teknik Yayınevi, 1996.
6. şaylı BS . *Biyokimyasal Genetik*. 2. Baskı, Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, 1977.
7. Miller OJ: Chromosomal basis of inheritance. In: Emery AEH, Rimoin DL. Eds. *Principles and Practice of Medical Genetics* 2nd Ed., Edinburgh London: Churchill Livingstone, 1990: 77-93.
8. Surralles J, Darroudi F, Natarajan AT. Low level of DNA repair in human chromosome 1 heterochromatin. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997, 20; 2: 173-184.
9. Paskulin GA, Philips G, Morgan R, Sandberg A. Pre-clinical evaluation of probes to detect t(8:21) AML minimal residual disease by fluorescence in situ hybridization. *Genes Chromosomes Cancer*. 1998, 21;2 :144-151.
10. Prokofyeva AA. *Heterochromatin of Human Chromosomes*. Moskov: Medical Academy of Sciens. 1986: 309-361.
11. Baliçek P, Zizka J, Shalska H. Variability and familial transmission of constitutive heterochromatin of human chromosomes evaluated by the method of linear measurement. *Humangenetic*, 1978, 42: 257-265.

12. Holmquist GP. Evolution of chromosome bands. Molecular ecology of noncondensing DNA. *J. Mol Evol* 1989; 28: 469-486.
13. Karetnikova NA. Cytogenetic clinical and dermatoglyphics findings in married couples with reproductive failure. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Medical Academy of Scienc. Moskov. 1981 : 176-185.
14. Lindberg L, Pelto K and Borgstrom GH. Familial pericentric inversion (3)(p12q24). *Hum-Genet*, 1992; 89(4): 433-436.
15. Patil SR, Lubs HA. A possible association of long Y-chromosomes and fetal loss. *Hum.Genet.* 1977, 35: 233-235.
16. Turczynowicz S, Sharma P, Smith A and Davidson AA. Paracentric inversion of chromosome 14 plus rare 9p variant in a couple with habitual spontaneous abortion. *Ann-Genet*, 1992; 35(1): 58-60.
17. Uehara S, Tanigawara S and Takeyama Y. Paracentric inversion of chromosome 14: a case report. *Jpn.J.Hum.Genet*, 1994; 39(3): 353-356.
18. Bajnoczky K and Gardo S. "Premature anaphase" in couple with recurrent miscarriages. *Hum-Genet* 1993; 92(4): 388-390.
19. Hansson A, Mikkelsen M. The origin of the extra chromosome 21 in Down syndrome: studies of fluorescent variants and satellite association in 26 informative families. *Cytogenet and Cell Genet.*, 1978, 20: 194-203.
20. Butomo IV and Khitrikova LE. Semiquantitative analysis of C-band polymorphisms of chromosomes 1,9,16 and the Y in children with Down's Syndrome. *Polymorphism in Human Chromosomes*. Medical Academy of Scienc, Moskov, 1981: 205-212.
21. Matsuura J, Mayer M, Jacobs P. A cytogenetic survey of an institution for mentally retarded. II. C-band chromosome heteromorphisms. *Hum.Genet.*, 1978, 45: 33-42.
22. Buckton KE, Riordan ML, Jacobs PA. C and Q-band polymorphisms in the chromosomes of three human populations. *Ann. Hum. Genet.*, 1976, 40: 99-112.
23. Craig-Holmes AP, Moore FB, Shaw MW. Polymorphism of human C-band heterochromatin. *Amer.J.Hum.Genet.*, 1975; 27:178-189.
24. Butomo IV, Verlinskaya DK, Prozorova MV and Khitrikova LE. C-band polymorphisms in phenotypically normal individuals. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Medical Academy of Scienc, Moskov, 1981:15-23.

25. Kruminja AR and Kroshkina VG. C- and Q-band polymorphisms in phenotypically normal Latvian individuals. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Medical Academy of Sciens. Moskov. 1981: 47-56.
26. İbraimov AI, Nazarenko SA and Aksenrod EI. C-polymorphisms in human populations of the central asia. *Polymorphism in Human Chromosomes*. Medical Academy of Sciens. Moskov, 1981: 88-93.
27. Müller H, Klinger HP, Glasser M. Chromosome polymorphism in a human newborn population. *Cytogenet. and Cell Genet.* 1975; 15: 239-255.
28. Lubs HA, Kimberling WI, Hecht F. Racial differences in the frequency of Q and C chromosomal heterochromorphisms. *Nature.* 1977;268:631-3.
29. Spurdle A, Jenkins T. The inverted Y chromosome polymorphism in the Gujarati Muslim Indian population of south Africa has a single origin. *Hum-Hered.* 1992; 42(5): 330-332.
30. Kuznetsova SM. Polymorphism of heterochromatin areas on chromosomes 1, 9, 16 and Y in long-lived subjects and persons of different ages in two regions of the Soviet Union. *Arc-Gerontol-Geriatr,* 1987; 6: 177-186.
31. Cavalli IJ, Mattevi MS. Erdtmann B, Sbalqueiro IJ and Maia A. Equivalence of the total constitutive heterochromatin content by an inter chromosomal compensation in the C-band size of chromosomes 1,9,16 and Y in Caucasian and Japanese individuals. *Hum. Hered,* 1985; 379-387.
32. Hsu LY, Benn PA, Tannenbaum HL, Perlis TE and Carlson AD. Chromosomal polymorphism of 1, 9, 16 and Y in 4 major ethnic groups: a large prenatal study. *Am.J.Med. Genet.* 1987; 26: 95-101.
33. Tsvetkova TG: C-polymorphisms of chromosomes in human populasyon married couples with reproductive failure *Polymorphism in Human Chromosomes*. Moskov: Medical Academy of Sciens. 1981: 163-175.
34. Kuznetsova SM and Cherkaskaya EA. Chromosomal polymorphisms of structural heterochromatin in representatives of the Ukrainian population aged 40-100 years. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Medical Academy of Sciens. Moskov, 1981: 36-46.
35. Goroschenko UL, Fedortzeva RF, Podugolnikova OA and Parfenova IV: Use of polymorphisms of the heterochromatic regions in chromosomes 1, 9, 16 and the Y in twin-zygosity diagnostics. *Polymorphism in Human Chromosomes*, Medical Academy of Sciens Moskov, 1981: 57-66.

36. Kristoffersson U, Bernheim A, Berger R, Nilsson B and Heim S. Constitutional C-band polymorphism in lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia. *Hereditas*, 1989; 110: 145-148.
37. Verma RS, Thomas S, Coleman M, Silver RT and Dosik H. Length polymorphism of the human Y chromosome in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer-Genet.Cytogenet*, 1987; 27: 295-297.
38. Tsezou A, Kitsiou-Tzeli S, Kosmidis H, Paidousi K and Katsouyanni K. Constitutive heterochromatin polymorphism in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Hematol.Oncol*, 1993; 10:7-11.
39. Suciu S . Constitutive heterochromatin studies in patients with solid tumor. *J.Cancer.Res.Clin.Oncol.*, 1986; 111: 291-294.
40. Kivi S and Mikelsaar AV. C-band polymorphism in lymphocytes of patients with ovarian or breast adenocarcinoma. *Cancer-Genet-Cytogenet*, 1987; 28: 77-85.
41. Adhvaryu SG and Rawal UM. C-band heterochromatin variants in individuals with neoplastic disorders: carcinoma of breast and ovary. *Neoplasma*, 1991; 38(4): 379-384.
42. Berger R, Bernheim A, Kristofferson U, Mitelman F and Olsson H. C-band heteromorphism in breast cancer patients. *Cancer-Genet-Cytogenet*, 1985; 18: 37-42.
43. Islam MQ, Kopf I, Levan A, Granberg S, Friberg LG and Levan G: Cytogenetic findings in 111 ovarian cancer patients: Therapyrelated chromosome aberrations and heterochromatic variants. *Cancer-Genet-Cytogenet*, 1993; 65: 35-46.
44. Polishchuk LZ and Nesina IP. Polymorphism of the C-band segments of chromosomes 1, 9 and 16 in the peripheral blood lymphocytes of patients with endometrial cancer. *Tsitol-Genet*, 1993;27(4): 66-71.
45. Russell PJ. *Essential Genetics*. 2nd Ed. Oxford London: Blackwell Scientific Publications. 1977: 121-127.
46. Faust.J and Voge W. Are 'N bands' selective staining of specific heterochromatin. *Nature*, 1974; 249.24 : 352-353.
47. Zakharov AF, Davudov AZ, Benjush VA and Egolina NA. Polymorphisms of NOR's in man as studied with the aid of abstaining. *Polymorphism in Human Chromosomes*.Moskov: Medical Academy of Sciens, 1981: 140-153.
48. Wang Y. Molecular cytogenetic study of short arm aberrations in human D and G group chromosomes. *Chung-Kuo-Hsueh-Ko-Hsueh-Yuan-Hsueh-Pao*,



1992; 14(5): 339-345.

49. Lundgren R: Cytogenetic studies of prostatic cancer. *Scand J.Urol. Nephrol*, 1991; 136: 1-35.
50. Ohta T, Nagakava T, Tsukioka Y, Mori K. Argyrophilic nucleolar organizer region counts in exocrine pancreatic tumors. *Int.J.Pancreatol*, 1992; 12(3): 201-209.
51. Slavutsky I, Gomez JC, Pedreira S and Niveloni S. Increased rDNA transcriptional activity in celiac disease. *J.Clin.Gastroenterol*. 1992; 14(1): 11-14.
52. He LZ, Lu LH, Chen ZZ. Genetic mechanism of leukemia predisposition in family with 7 cases of acute myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.*, 1994; 76(1): 65-69.
53. Multani AS, Radhakrishna U, Sheth FJ and Shah VC. Translocation t(22;22)(p11.1;q11.1) and NOR studies in a female with a history of repeated fetal loss. *Ann.Genet.*, 1992; 35(2): 105-109.
54. Gardo S. Spontaneous abortion and genetic natural selection. *Orv-Hetil*, 1993;134(27): 1459-1460.
55. Simpson LJ and Golbus MS. *Gynecology* 2nd Ed., Philadelphia: M.B. Saunders Company, 1995 : 59-223.
56. Huang H, Zhang X, Chen Y, Cui Y. A study on complicated chromosome translocation by fluorescence in situ hybridization (FISH) of G-banded chromosomes. *I Chuan Hsueh Pao*. 1996, 23;5 :338-342.
57. Hwa HL, Tseng LH, Ho HN and Ko TM. Cytogenetic study of spontaneous abortions with the giemsa banding method. *J-Formos -Med-Assoc*, 1994; 93(10): 855-858.
58. Makino T, Hara T, Oka C and Toyoshima K. Survey of 1120 Japanese women with a history of recurrent spontaneous abortions. *Eur.J.Obstet. Gynecol.Reprod.*, 1992: 44(2): 123-130.
59. Razumovic JJ, Tentor D, Petrovecki M and Radman I. Nucleolar organizer regions and survival in patients with Non-Hodgkin Lymphomas classified by the working formulation. *J.Clin.Pathol*. 1993; 46: 943-947.

## ÖZGEÇMİŞ

1959 Tarsus doğumluyum. İlk öğrenimimi Dua Tepe İlkokulunda tamamladım. Tarsus Lisesi Orta kısmından mezun olduktan sonra Adana Kız Lisesinde 1973-1976 yıllarında yatılı öğrenci olarak okudum. 1976'da 1 yıl İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik bölümünde okudum. 1977 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya-Metalurji Fakültesi Kimya Mühendisliği bölümüne girdim.

1985 yılında Çukurova Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalında Araştırma görevlisi kadrosunda çalışmaya başladım. O tarihten bu yana önce Fizyoloji Anabilim Dalında, 1992 yılından bu yana da Ç.Ü. Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Genetik Biriminde Sitogenetik laboratuvarında çalışmaktayım.

1987 yılında master öğrenimime başladım ve 1991 yılında Kardeş Kromatid Değişimi konulu Bilim Uzmanlığı tezimi Fizyoloji Anabilim Dalında tamamladım. Doktora eğitimime 1992 yılında başladım.

Evliyim, iki çocuğum var.