

18243

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Tıbbî Biyolojik Bilimler Bölümü
Genetik Anabilim Dalı

**TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN ÇİFTLERDE
SİTOGENETİK İNCELEMELER**

(Yüksek Lisans Tezi)
Tıbbî Bio.Şükriye YILMAZ

T. C.
Yükseköğretim Kurumu
Dokümantasyon Merkezi

Danışman
Öğr.Gör.Dr.Seniha HACIHANEFİOĞLU

İstanbul - 1991

İÇİNDEKİLER

Sayfa

| | |
|--|----|
| ÖNSÖZ | 1 |
| I. GİRİŞ | 2 |
| II. GENEL BİLGİLER | 2 |
| A. Sitogenetik | 2 |
| 1. Sitogenetiğin Tarihçesi | 2 |
| 2. Kromozomların Yapısı ve Fonksiyonları | 3 |
| 3. Kromozomların Varyasyonları | 7 |
| 4. Kromozom Anomalilerinin Sınıflandırılması | 8 |
| 4.1. Kromozomlardaki Sayı Anomalileri | 8 |
| 4.2. Kromozomlardaki Şekil Anomalileri | 10 |
| 5. Kromozom Analiz Metodları | 12 |
| B. Düşük Nedenleri | 19 |
| 1. Anatomik Nedenler | 20 |
| 2. Enfeksiyonlar | 20 |
| 3. Endokrin Nedenler | 21 |
| 4. İmmünolojik Nedenler | 21 |
| 5. Genetik Nedenler | 23 |
| C. Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerdeki Sitogenetik Bulgular | 26 |
| 1. Çiftlerdeki Kromozom Anomalilerinin Sıklığı ve Tipleri | 27 |
| 2. Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Görülen Kromozom Anomalileri | 29 |
| 2.1. Resiprok Translokasyon | 29 |
| 2.2. Robertson Translokasyon | 33 |
| 2.3. İnversiyonlar | 36 |
| 2.4. Ekstra Kromozomlar | 37 |
| 2.5. Seks Kromozom Anöploidileri | 38 |
| 3. Kromozom Heteromorfizmi ve Düşüklü Çiftler | 40 |
| 4. Frajil Bölgeler ve Düşüklü Çiftler | 42 |
| 5. Tekrarlayan Düşükler ve Genetik Danışma | 43 |
| III. MATERYAL VE METOD | 46 |
| A. Materyal | 46 |
| B. Metod | 46 |
| IV. BULGULAR | 51 |
| V. TARTIŞMA | 60 |
| VI. ÖZET | 63 |
| VII. SUMMARY | 64 |
| VIII. KAYNAKLAR | 65 |

ÖNSÖZ

Tecrübe kazandırıcı ve sorumluluk bilinci kazandıran bu ilk bilimsel çalışmamın başarıya ulaşması için gerekli isteği ve gücü araştırmamın başından sonuna kadar kendimde bulmamı sağlayan, hiçbir zaman yardımdan kaçınmayan, değerli bilgilerine ve engin tecrübelerine başvurduğum İ.Ü.C.T.F. Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölüm Başkanı Sn.-Prof.Dr.Asım Cenani'ye;

Bu tezin ortaya çıkması için yaptığım çalışmalara müsaade eden İ.Ü.T.F. Radyodiagnostik Ana Bilim Dalı Başkanı Prof.Dr.Erdem Gökmen'e;

Koordinasyonu altında sürdürdüğüm bir yılı aşkın çalışma boyunca, benzersiz anlayışı, sabrı, hoşgörüsü ve verdiği moralle beni rahatlatan Öğr.Görevlisi Dr.Seniha Hacıhanefioğlu'na;

Tez konumu, beraber irdeleme olanağı sağlayan, bilgi ve tecrübesine başvurduğum Uzman Dr.Fahri Öçer'e;

Her ihtiyacım olduğunda yanımda bulduğum sevgili arkadaşlarım Uzm.Tıbbi Biyolog Aslı Silahtaroğlu ve Uzman Tıbbi Biyolog Yelda Tarkan'a;

Çalışmamın en alt basamağından en üst basamağına değin bir itici güç oluşturan Dr.Özgür Arda'ya;

Sitogenetik Laboratuvar sorumlusu Uzman Biyolog Ayhan Deviren'in şahsında gerekli yardımları esirgemeyen laboratuvar çalışanları, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma;

Olgu teminindeki yardımlarından dolayı Asistan Dr.Tugan Beşe'ye;

Altan Paç ve Mehmet Fahri Yüksel'in şahıslarında diğer tüm arkadaşlarıma;

Ve tüm yaşamım boyunca olduğu gibi bu çalışma sırasında da beni destekleyen ve yardımcı olan aileme ne kadar teşekkür etsem azdır.

Bundan sonra da değerli hocalarım ile -bu kez deneyimli olarak- onların arzuları doğrultusunda benzer bir çalışma ortamında yeni araştırmalar yapmak umuduyla saygı ve şükranlarımı sunmayı borç biliyorum.

Onların öğrencisi olmanın verdiği gurur ve mutluluk ile...

I. GİRİŞ

Spontan düşükler, ölü doğumlar ve erken neonatal ölümlerle sonuçlanan hamilelikler çiftler için istenmeyen üzücü olaylardır. Bu olayların sebepleri kesin belirlenememekle birlikte son yıllarda genetik kliniklerine başvuranların bir bölümünü bu tip tekrarlayan hamilelik kayıpları olan çiftler oluşturmaktadır. Çiftlerin jinekolojik, endokrinolojik, immüno- lojik açıdan incelenmesinin yanısıra sitogenetik olarak incelenmesi de hem klinik hem de çiftlere verilecek genetik danışma açısından oldukça önemlidir. Literatürde sık düşüklere sahip çiftlerin kromozom analizlerinde resip- rok translokasyonlara, dengeli robertson tipi translokasyonlara, ekstra kro- mozomlara, otozomal sayı anomalilerine ve cinsiyet kromozom mozaikleri- ne rastlandığı belirtilmiştir.

Bu çalışmada, toplumumuzda sık düşükleri olan çiftlerin kromo- zomları G ve gerekli görülen durumlarda C bant yöntemleri kullanılarak sitogenetik açıdan incelenmiş ve İstanbul Üniversitesi Rektörlüğü Genetik ve Teratoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine (GETAM) başvuran bu ailelere en iyi şekilde genetik danışma verilebilmesi amacına katkıda bulun- mak hedeflenmiştir.

II. GENEL BİLGİLER

A. SİTOGENETİK

1. SİTOGENETİĞİN TARİHÇESİ

Sitoloji bilimi, 1665 yılında Robert Hook'un çalışmaları ile başlamıştır. Robert Hook mikroskopta ilk kez hücreyi görmüş, bunu izleyen çalışmalarda da hücrenin çekirdek ve stoplazma olarak iki kısma ayrıldığı ve çekirdekte bulunan kromozom isimli organelle genetik materyalin taşındığı anlaşılmıştır. Sitoloji bilimi, hücrenin tümünü, sitogenetik ise yalnızca kromozomların morfoloji ve fonksiyonlarını inceler. Tıbbi sitogenetiğin konusu da, insanda patolojik durumlar meydana getiren kromozom anomalilerinin incelenmesidir.

Sitogenetikle ilgili çalışmalar yüzyıl öncesine dayanmaktadır. İlk hücre bölünmesi Virchow (1857) tarafından gözlenmiştir. Bunu Arnold'un (1879) tümör hücrelerinde kromozomları görmesi izlemiş ve 1888'de Valdeyer bunlara kromozom adını vermiştir. Weismann (1883), Strasburger (1884) ve Von Kollicker (1885) tarafından kromozomlarla kalıtım arasındaki ilişki ileri sürülmüş, 1902 yılında Sutton ve Boveri kromozomların bölünme ve yavru hücrelere taşınma özelliklerinin Mendel kurallarına uygunluk gösterdiklerini ortaya koymuşlardır.

İnsan kromozomlarının sayısının tespitiyle birçok araştırmacı uğraşmış, fakat gerçek sayının bulunması oldukça zaman almıştır. Winiwarter (1912), Ewans (1918), Painter (1923), La Cour (1944), Mittwoch (1952), Darlington (1955) tarafından ileri sürülen 48 rakamı, 1956 yılında Tjio ve Levan ve de onlardan ayrı olarak Ford ve Hamerton'un insan kromozomlarının gerçek sayısının 46 olduğunu göstermelerinden sonra geçerliliğini yitirmiştir.

İnsan kromozomlarının sayısının belirlenmesiyle sitogenetiğin gelişmesinde önemli bir adım atılmıştır. Bunu izleyen zamanda, daha önce tarif edilmiş bulunan bazı sendromların kromozomların sayısındaki değişikliklere bağlı olduğunun anlaşılması fazla uzun sürmemiştir. 1959 yılında Lejeune ve ark. tarafından Mongolizm'in küçük bir kromozomun trizomisine bağlı olduğu gösterilmiş; bunu aynı sene içinde cinsiyet kromozomlarındaki sayı değişikliklerinden kaynaklanan sendromların tanımlanması izlemiştir. 1968-1970 yılları arasında geliştirilen "bantlama teknikleri" kromozomların kesin olarak tanınmalarına imkan vermiştir. 1970 yılından sonra tümör genetiği ve gen lokalizasyonu çalışmaları için de geniş ufuklar açılmıştır(16).

2. KROMOZOMLARIN YAPISI VE FONKSİYONU

Kromozomlar, bölünmekte olan hücrede görülebilen, koyu boyanmış oluşumlardır. İnterfaz hücrelerinde görülmeleri mümkün değildir. Kromozomlar, hücrenin nukleusu içinde bulunan genetik maddenin, bölünme sonucu meydana gelen yavru hücrelere eşit şekilde geçmesini sağlarlar.

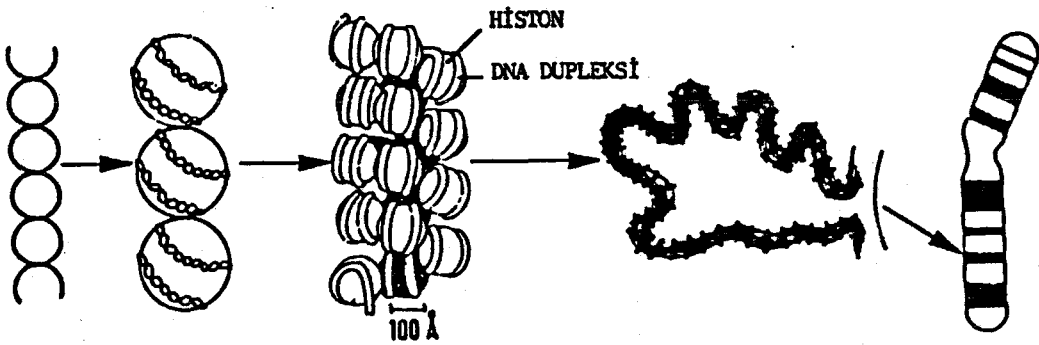
Hücrenin genetik materyali, mitokondrilerde bulunan az miktardaki DNA dışında, kromozomlar üzerinde bulunmaktadır. Kromozomlar 23'ü ($=n$) anneden, 23'ü ($=n$) babadan gelen iki haploid setin zigotta birleşmesi sonucu diploid ($=2n$) set şeklinde bulunurlar. İnsanlarda 22 çift otozom her iki cinste aynı olup, cinsiyet kromozomları dişide XX, erkekte XY şeklindedir.

İnsan diploid hücre nükleusu 6×10^9 DNA baz çifti içerir. 3000 DNA baz çifti yaklaşık 1μ uzunlukta olduğundan, nükleus içindeki DNA'nın uzunluğu 1.74 m 'dir. DNA paketlenmeler sonucunda $10 \mu\text{m}$ çapındaki bir nükleusa sığmaktadır.

Kromozomlarda DNA'dan başka bazı proteinler de vardır. Bu proteinlerin büyük kısmını + yüklü bazik proteinler olan histonlar oluşturmaktadır. 5 tip histondan (H1, H2A, H2B, H3, H4) yalnızca H₁ organizmalara göre farklılık gösterir. Non-histon adı verilen diğer proteinler çok az miktarda bulunur(38).

DNA hücre nükleusu içerisine gittikçe kalınlaşan, üst üste sarılmalar şeklinde yerleşmiş bulunmaktadır. Katlanmaların ilk kademesini nukleozomlar oluşturmaktadır. Bu dönemde paketlenme oranı 10^1 'dir.

Paketlenmenin ikinci kademesini kromatin iplikçığı oluşturur. Kromatin iplikçığı yaklaşık 25 nm çapındadır, nukleozomlar, H₁, Ca^{+2} ve Mg^{+2} bivalent kanyonlarından oluşmuştur. Nukleozom'da olduğu gibi kromatin iplikçığındeki DNA'nın büyük kısmı da dış taraftadır. Bu kademedeki paketlenme oranı 50^1 'dir.

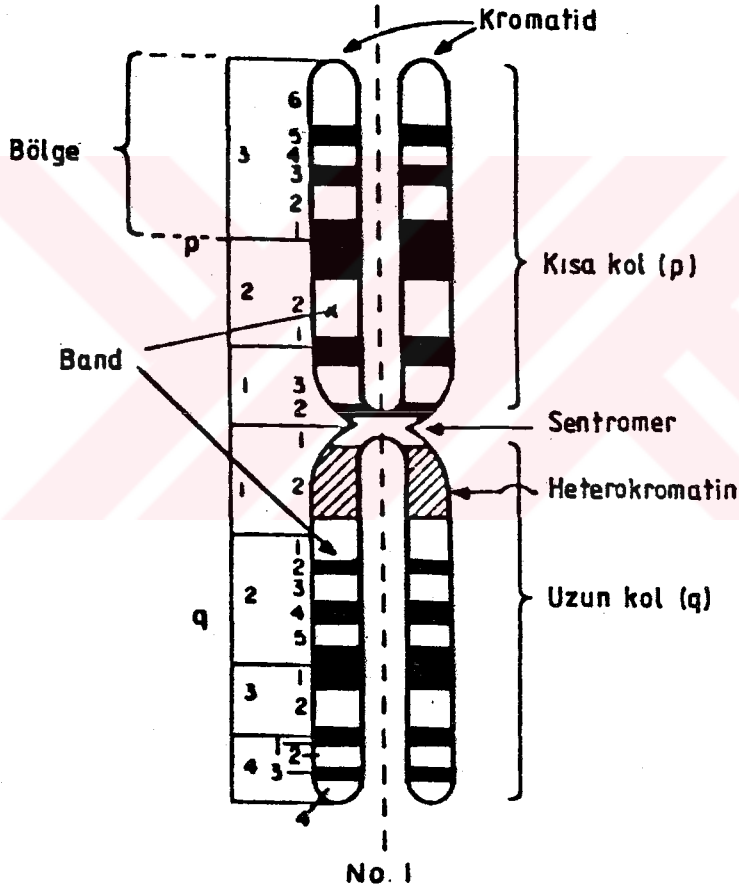


DNA HELİKSİ NUKLEOZOMLAR KROMATİN İPLİĞİ LUP KROMOZOM

Şekil 1: DNA'nın kromozom şeklini alıncaya kadar geçirdiği aşamalar

Paketlenmenin bundan sonraki aşaması, kromomer veya bant oluşumudur. Bu aşamada kromatin iplikçikleri spesifik non-histon proteinler ve bivalent katyonlarla bir kompleks meydana getirirler ve sonunda kromozomları oluştururlar.

Kromozomların Tanımlanması: Kromozomların tarifinde 3 kriter gözönüne alınır. Bunlar kromozomun uzunluğu, kolların birbirine oranı (=kol indeksi) ve sentromerin pozisyonudur.



Şekil 2: 1 no.lu kromozomun şematik görünümü

Sentromer pozisyonuna göre kromozomları, telosentrik, akrosentrik, metasentrik ve submetasentrik olmak üzere 4 grupta tanımlamak mümkündür. Telosentrik kromozomlar; sentromeri uçta bulunan ve çubuk-su şekil gösteren kromozomlardır. Akrosentrik kromozomlar; sentromeri

uca yakın olup, sentromerin ayırdığı kollardan birinin, çoğu zaman ayırd edilemeyecek kadar küçük olduğu kromozomlardır.

Metasentrik kromozomlar; sentromerin ayırdığı iki kolu eş uzunlukta olan kromozomlardır. Submetasentrik kromozomlar ise iki kolu eşit uzunlukta olmayan kromozomlardır(38,78).

Genomdaki DNA Çeşitleri ve Tipleri:

1- Tek diziler (=unique sequences): Toplam DNA'nın yaklaşık % 60'ını oluştururlar. Bunların çoğu protein kodlayan diziler olup genomda bir veya birkaç kopya şeklinde bulunurlar.

2- Az tekrarlayan diziler (=Moderately repetitive sequences): Toplam DNA'nın yaklaşık % 30'unu oluştururlar. Bunlar fonksiyonel genleri içerir ve genom içinde çeşitli yerlerde bulunurlar. Ribozomal RNA, histonlar ve immünglobulin genleri bu türdendir.

3- Çok tekrarlayan diziler (Highly repetitive sequences): Transkripsiyon yapmayan ve genomda binlerce defa tekrarlayan bu dizilerin evolyonda etkili olduğu düşünülmektedir. Türlerine göre değişmesine rağmen genomun % 10'unu oluştururlar. 1, 9, 16 numaralı kromozomların heterokromatin bölgelerinde ve Y kromozomunun uzun kolunda toplanmışlardır. Biraz daha uzunca tekrarlananlar insan kromozomlarının sentromu bölgelerinde bulunmaktadır(38).

Başlıca 3 tip kromatin tarif edilmiştir:

1- Ökromatin (euchromatin): RNA'ya transkripsiyonun gerçekleştiği, kromozomda, hafif boyanan ve hücre siklüsünde erken replike olan kromatin tipidir. R⁺ bantlara tekabül ederler.

2- Heterokromatin: Kromozomun daha kondanse ve koyu boyanan bölümüdür.

Heterokromatin esas olarak konstitüf ve fakültatif olarak ikiye ayrılır. Konstitütif heterokromatin çoğunlukla sentromerde ve Y kromozomunun distalinde lokalizedir. Çoğunlukla satellit DNA'sına benzeyen tekrarlayan dizilerden meydana gelirler. 1, 9, 16 ve Y kromozomunun distal ucu C⁺ boyanır.

Fakültatif heterokromatin, esas olarak ökromatindir, fakat heterokromatin gibi davranır. Bunun sonucunda homologlardan biri diğerinden farklı olarak inaktifleşebilir ve bu nedenle de farklı boyanır. Buna en iyi örnek X kromozomudur.

3- İntercalary (araya giren) heterokromatin: Bu grupta ilgili olarak diğer heterokromatin tiplerinden daha az şey bilinir. Geç replike olan Q⁺ parlak boyanan, kromomer bölgelerdeki konstitütif heterokromatindir(80).

3. KROMOZOMLARIN VARYASYONLARI

Kromozomların büyüklük varyasyonlarının bir kısmı preparat hazırlanırken meydana gelen artefaktlardan kaynaklanabilir. Homolog kromozomlar her zaman aynı büyüklükte görülmezler. Delesyon, izokromozom ve translokasyon sonucunda da homolog kromozomlar arasında büyüklük farkı olabilir. Kromozom varyasyonları 4 ana grupta toplanabilir. Bunlar:

- 1- Yq'nun boyu
- 2- Sentromer bölgesindeki heterokromatinin boyu
- 3- Satellit polimorfizmi
- 4- Frajil bölgeler

1- Yq'nun boyu: Y kromozomunun uzun kolunun büyüklüğüyle ilişkili olan polimorfizmdir. Erkeklerin yaklaşık % 10'unda normalden uzun veya kısa Y kromozomu görülebilir. Y kromozomunun uzun kolu transkribe edilmeyen repetitive DNA içerir ve bu kısım quinacrine gibi boyalarla boyandığında ultra viyole ışığı altında yoğun bir floresan verir.

Bu floresan interfaz nukleusunda da görülebilir ve Y-kromatini olarak adlandırılır.

2- Sentromer bölgelerindeki heterokromatinin boyu: Sentromer bölgesindeki heterokromatinin boyu sıklıkla 1, 9 ve 16 nolu kromozomlarla ilişkilidir. Bu kromozomların sentromer bölgesindeki heterokromatinin varyasyonu homolog kromozomlar arasında büyüklük farklılığına yol açmaktadır.

3- Satelit polimorfizmi; Q bantlama ile boyandığında, satelitlerin boyut ve parlaklık derecelerindeki varyasyonlar, akrosentrik kromozom 13, 14, 15, 21 ve 22'de görülebilir. Varyasyonun çoğu repetitive DNA'dan olmakla birlikte, ribozomal genlerin sayısındaki varyasyondan da olabilir. DNA içeriğindeki farklılıklardan dolayı olan büyüklük varyasyonları repetitive DNA bölgelerinde, mayoz esnasında meydana gelen yanlış çiftleşmeler sonucu olabilir. Bu genellikle eşit olmayan (=unequal) krossing-over olarak adlandırılır.

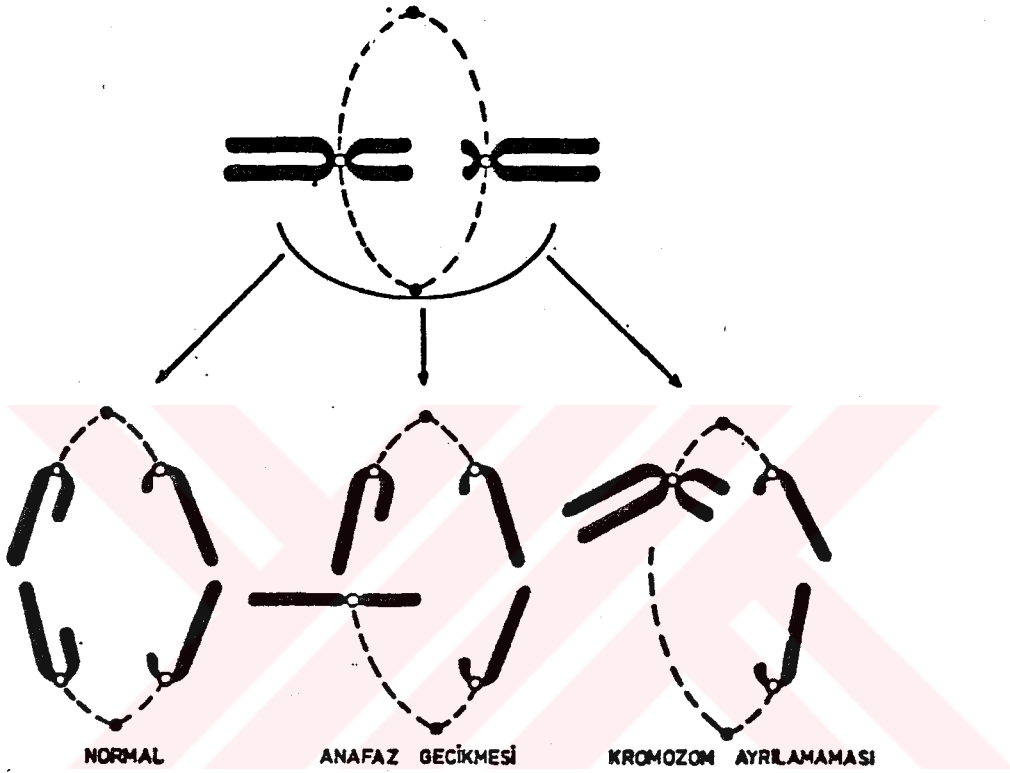
4- Frajil bölgeler: Sentromer bölgesi (primer darlık) dışındaki darlıklara sekonder darlık denir. Sekonder darlıklar özellikle kromatit tipi kırıklardan sorumlu olabilirler (2q13, 6p23, 9q32, 12q13, 20p11 ve Xq27). Bu bölgelerin çoğunun folatsız kültürlerde indüklendiği söylenmektedir. Yalnızca Xq27 klinik olarak anormal bir durumla ilişkilidir. Xq27, X'e bağlı bir mental retardasyon tipinin belirtisi olarak bulunmuştur(22).

4. KROMOZOM ANOMALİLERİNİN SINIFLANDIRILMASI

Kromozom anomalileri sayı ve şekil olarak ikiye ayrılır.

4.1. Kromozom Sayı Anomalileri: Hücrelerdeki kromozom sayısı o organizma için normal olan haploid setin tam katları şeklinde artıyorsa bu poliploidi olarak adlandırılır. Haploid setin 3 kez artması (=3n) triploidi, dört kat artması (=4n) tetraploididir. Poliploidinin oluş nedenleri endomitoz veya endoredüplikasyondur.

Bölünme hatalarına bağlı olan sayı anomalilerinde 2 mekanizma söz konusudur. Şekil 3'te görüldüğü gibi bunlar non-disjunction (= ayrılama) ve anafaz lag (anafazda geri kalma) dir.



Şekil 3: Kromozomların normal (disjunction) ve kusurlu (non-disjunction ve anaphase lag-gig) bölünmeleri(3)

Tek bir kromozomun normalden az ya da çok sayıda bulunması anaploididir. Kromozomların normal sayıdan az olma hali hipoploidi, fazla olma hali hiperploidi. Trizomiler hiperploidiye, monozomiler ise hipoploidiye örnektir.

Pratikte, non-disjunction trizomilerin, anafaz lag monozomilerin nedeni olarak kabul edilir. Bu iki olaydan birinin post zigotik dönemde meydana gelmesi mozaik bireylerin ortaya çıkmasına neden olur.

4.2. Kromozom Şekil Anomalileri: Kromozomlardaki kırılma ve yeniden düzenlenmeler nedeniyle oluşurlar.

Delesyon; kromozomun küçük bir segmentinin iki kırılma sonucu kopmasıdır. Halka kromozom (= ring) delesyonun özel bir tipidir.

Translokasyon; homolog ya da homolog olmayan kromozomlardan kopan parçaların diğer kromozomlara yapışmasıdır. Resiprok (=karşılıklı), robertson (=sentrik füzyon) translokasyon ve insertion (araya girme) diye 3'e ayrılırlar.

Duplikasyon; aynı kromozom segmentinin bir kromozom üzerinde iki defa bulunmasıdır.

İnversiyon; kromozomda meydana gelen iki kırık sonucunda bu segmentin 180° dönüş yapıp, eski yerine yapışma halidir. Bu olay sentromeri içine alacak şekilde olursa, perisentrik; kromozomun aynı kolunda meydana gelirse parasentrik inversiyon olarak adlandırılır.

İzokromozomda bir kolun duplikasyonuna karşılık, diğer kolun delesyonu bulunur. İzokromozomlar normalde olduğu gibi uzunlamasına değil de, enlemesine bölünme sonucu meydana gelirler(3).

KROMOZOM ANALİZLERİNDE KULLANILAN İŞARETLER VE ANLAMLARI(65)

| | |
|----------|---|
| A-G | Kromozom grupları |
| 1-22 | Otozom numaraları |
| X,Y | Seks kromozomları |
| / | Mozaiklerdeki iki türü ayırır. |
| (+)ve(-) | Hemen otozom ve grup harfinden önce geliyorsa o otozomun fazla veya eksik olduğunu gösterir, koldan sonra gelince o koldaki uzunluk veya kısalık anlaşılır. |
| (?) | Bulgunun şüpheli olması halinde kullanılır. |
| * | Bir kromozom hakkında yazı veya resim altında açıklama olduğunu gösterir. |
| : | Terminal delesyon gibi kırılma ve yeniden birleşmeme. |
| :: | Kırılma ve birleşme |
| → | den ye |
| ace | Asentrik |
| cen | Sentromer |
| chi | Kimer |
| del | Delesyon |
| der | Derivatif kromozom |
| dic | Disentrik |
| dup | Duplikasyon |
| end | Endoreduplikasyon |
| h | Sekonder konstriksiyon veya boya almayan kromatin kısımları |
| i | İzokromozom |
| inv | İnversiyon |
| inv ins | Ters dönüp içine katılma (inverted insertion) |
| mar | Marker kromozom (Patolojik özelliği olmayan morfolojik variant) |
| mat | Anne orijinli |
| mos | Mozaik |
| p | Kromozomun kısa kolu |
| pat | Baba orijinli |

| | |
|-------------|--|
| q | Kromozomun uzun kolu |
| r | Ring (halka) kromozom |
| rcp | Resiprok translokasyon |
| rec | Rekombinant kromozom |
| rob | Robertson translokasyon (sentrik füzyon) |
| s | Satellit |
| t | Translokasyon |
| tan | Tandem (duplikasyon) |
| ter | Terminal (= uç) |
| pter | Kısa kolun ucu |
| qter | Uzun kolun ucu |
| tri | Trisentrik (üç sentromerli) |
| tekrarlanan | |
| semboller | Kromozom yapısının duplikasyonu |

5. KROMOZOM ANALİZ METODLARI

Kromozomlar, bölünen hücrelerde doğrudan (kemik iliği, chori-on), bölünmeye indüklenen lenfositlerde veya amnion hücrelerinde uzun ya da kısa süreli kültürlerle elde edilir.

Sitogenetik incelemede hücre kültüründe 3 ana nokta vardır;

- Hücrelerin bölünmesini sağlayacak, zengin bir besi ortamı,
- Üreyen hücrelerin hipotonik şokla patlatılması,
- Hipotonik şok sonucu açığa çıkan kromozomların tespiti,

Bu şekilde elde edilen kromozomlar, aşağıdaki yöntemlerle incelenir.

5.1. Denver Metodu

Kromozomlar boy ve sentromer pozisyonlarına göre sınıflandırılır. Kromozom sayısının tayini, bazı kromozomların tanımı ve kaba strük-

tür anomalilerinin teşhisinde kullanılır.

I- Grup (A): 1-3

Büyük kromozomlar olup, boy ve sentromer pozisyonlarına göre birbirinden ayrılırlar. 1 numaralı kromozom en uzununu olup, metasentriktir. Uzun kolda bazen sekonder konstriksiyon gözlenir. 2 numaralı kromozom 1 numaralı kromozomdan biraz kısa olup, submetasentriktir. 3 numaralı kromozom da metasentrik fakat bu gruptaki en kısa kromozomdur.

II- Grup (B): 4-5

Bu gruptaki dört kromozomda submetasentrik, büyük kromozomlardır. Bu metotla birbirlerinden ayırt edilemezler.

III- Grup (C): 6-12+X

Submetasentrik, orta büyüklükte kromozomlardır. 6, 7, 8 ve 11 grup içinde daha metasentriğe yakın olan kromozomlardır. X kromozomu daha metasentrik olup, büyüklük yönünden 6 numaralı kromozomdan sonra gelir.

IV- Grup: (D) 13-15

Hemen hemen terminal sentromerli (akrosentrik), orta büyüklükte kromozomlardır.

V- Grup (E): 16-18

16 numara hemen hemen median sentromerli, 17 ve 18 no.lu kromozomlar ise submetasentriktir.

VI- Grup (F): 19-20

Metasentrik küçük kromozomlardır. Kendi grupları içinde ayırt edilemezler.

VII- Grup (G): 21-22+Y

Küçük akrosentrik kromozomlardır. Y kromozomunun boyu, kişiden kişiye değişmesine rağmen, uzun kollarının birbirine paralel durmasıy-

la 21 ve 22 no'lu kromozomlardan ayrılabilir(18).

5.2. Otoradyografi:

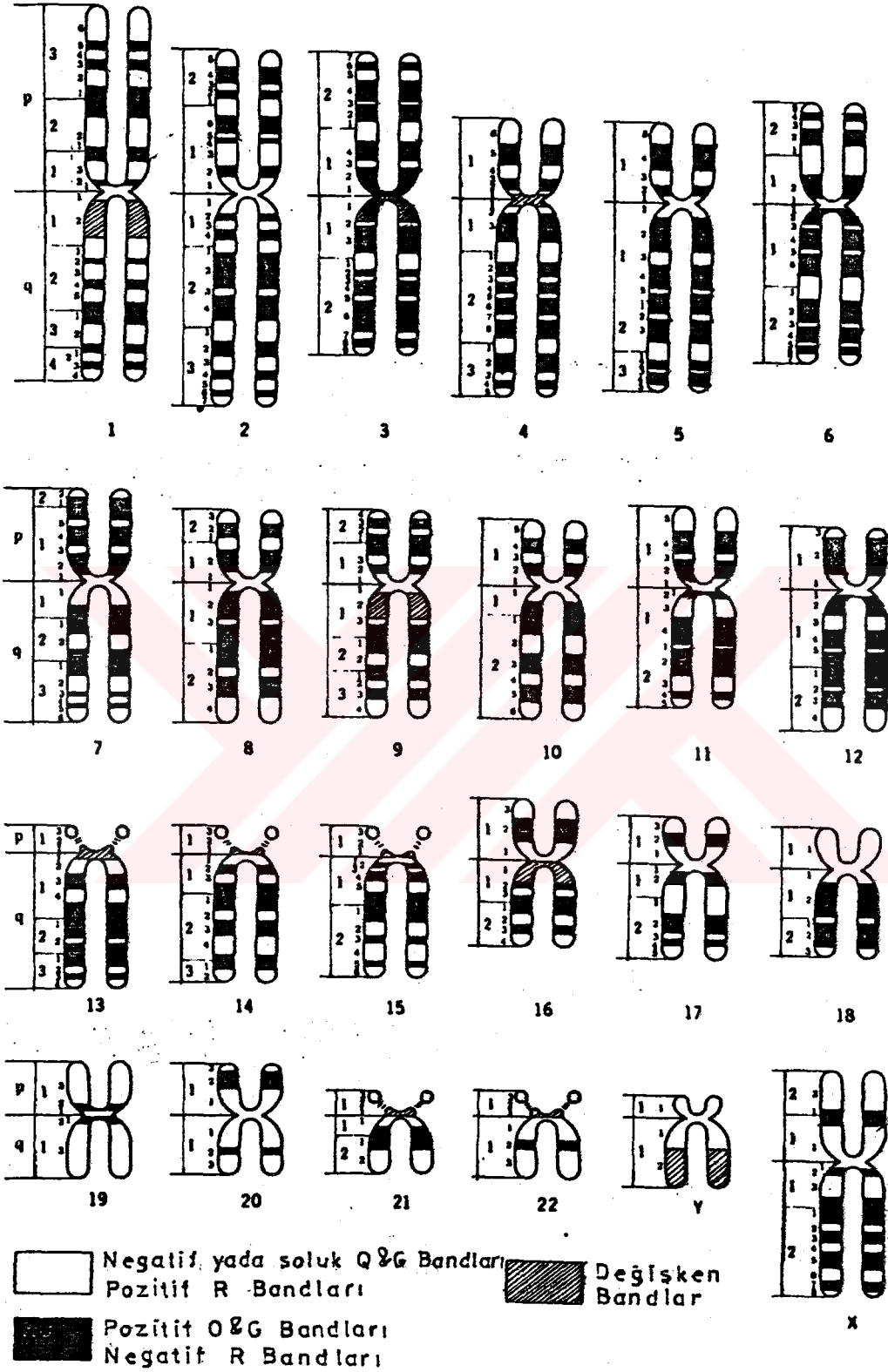
H₃ Timidin'in DNA yapısına katılımı ve belli bir replikasyon örneğini takip etme prensibine dayanır. Denver yöntemiyle ayıramayan kromozomların numaralandırılmasında, inaktif X kromozomunun gösterilmesinde kullanılmıştır. Bazı kromozomlar, örneğin 21 ve 22, 21'in 22'ye göre geç replike olma özelliğinden yararlanılarak birbirlerinden ayrılabilmişlerdir. Otoradyografi'nin kromozomlar üzerinde bulunan tekrarlayan DNA dizilerinin spesifik lokalizasyonu için kullanılan in-situ hibridizasyon tekniklerinde de önemli bir rolü vardır.

5.3. Fluoresan Teknikleri:

Fluoresan boyaları ile boyandıktan sonra kromozomlarda görülen karakteristik fluoresan band örneklerine dayanarak, küçük strüktür anomalilerinin ve kromozom polimorfizmlerinin tanınmasında ve sayı ile şekil anomalilerinin teşhisinde kullanılır.

5.4. Q, G, R-T Bantları:

Q, fluoresan maddenin (quinacrine dihydrochloride, quinacrine mustard) kısaltılmışını ifade eder. Q bantları denilince fluoresan bantlar kastedilmektedir. G, Giemsa bantlarını ifade eder. Q ve G bantları ufak farklarla birbirlerine uygunluk gösterirler. R, (=reverse banding) bantlarında G ve Q bant yöntemlerinde pozitif boyanan bölgeler, negatif, negatif boyanan bölgeler de pozitif olarak boyanır. Q ve G bantlarıyla negatif boyanan kromozomların uç bölgelerinde meydana gelen bir yapı değişikliğini göstermek amacıyla R-bant yöntemi uygulanabilir.



Şekil 4. Bantlanmış insan kromozomları (Paris konferansı, 1971)(80)

C bandı ile yalnızca sentromer bölgesi, intensif olarak boyanır. Bu teknik heterokromatin bölgelerin gösterilmesinde kullanılır.

T bandı, yalnızca kromozomların telomer bölgelerini boyayan banttır(3). Bant yöntemlerinin özellikleri Tablo 1’de görülmektedir.

Tablo 1: Kromozom bantlarının özellikleri(38)

| Özellik | C bandı | Q veya G bandı | R bandı |
|--|---|---|-----------------------|
| - Lokalizasyon | Sentromer, distal Y | Kromozomların kolları | Kromozomların kolları |
| - DNA sekuensi tipi | Çok repetitif, satellit | Repetitif, bazan tek | Tek, bazan repetitif |
| - DNA baz bileşimi | Satellit DNA’ya bağlı olarak GC veya AT’den zengin | A-T den zengin | G-C den zengin |
| - Kromatin tipi | Heterokromatin (sentromerik konstitütif heterokromatin) | Heterokromatin (intercalary konstitütif heterokromatin) | Ökromatin |
| - İnterfazdaki durum | Kondanse | Kondanse | Uzamış |
| - DNA replikasyon fazı | Geç S | Orta-Geç S | Erken S |
| - Transkripsiyon aktivitesi | yok | az | çok |
| - Nüklear membran ya da nükleolusla ilişkileri | az | az | yok |
| - Satellit DNA içeriği | çok | düşük | düşük |

Giemsa bantlama, birçok laboratuvarında rutin olarak kullanılan yöntemdir. Bu bant tekniğiyle metafaz kromozomlarında ~300 bant seviyesinde inceleme yapılır(80). Bant özelliklerinden yararlanılarak kromozom

sayı ve şekil bozukluklarının tespiti yapılabilir (Şekil 4). Her laboratuvarın kendi koşullarına göre modifiye ettikleri bir yöntemi vardır. Yöntemlerin çoğunda esas olan, preparatların birkaç gün yaşlandırıldıktan sonra, enzimlerle proteinlerin sindirilmesi ve DNA boylarıyla boyanmasıdır. En fazla kullanılan yöntem tripsinle muamele edilip Leishman boyasıyla boyamadır.

Uluslararası anlam birliğini sağlamak amacıyla bir kodlama sistemi kullanılır. Sırasıyla, bandın adı, boyanmadan önce ne ile muamele edildiği ve kullanılan boya yazılır.

GTL: Tripsin uygulanmış ve Leishman ile boyanmış G bandı

GAG: Asetil salin solüsyonu uygulanmış ve Giemsa ile boyanmış

G bandı

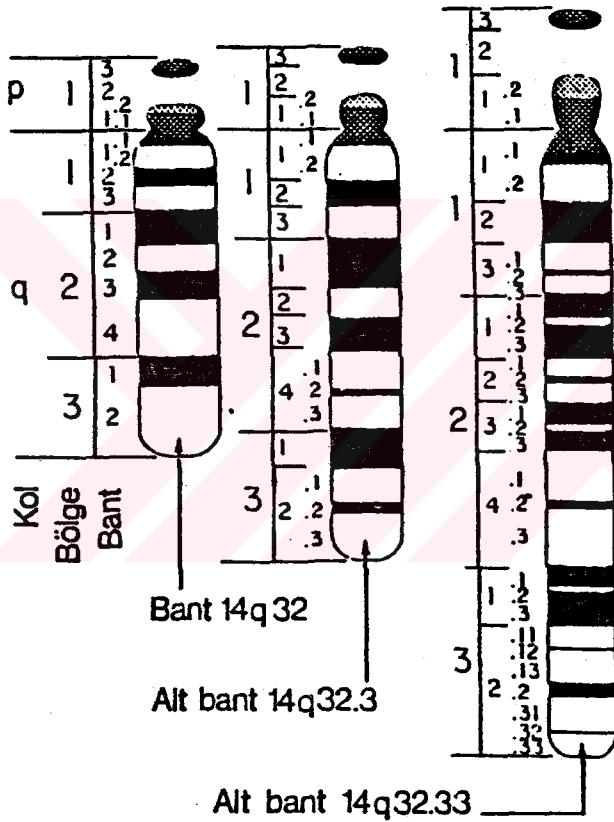
Tablo 2. Bazı majör insan kromozom anomalilerini kesin olarak belirlemek için kullanılan bant örnekleri(65)

| Anomali | Bant tipi Q-G-R-C | Bandın neden faydalı olduğu |
|---|----------------------|---|
| X-Kromozomu defektleri | +++ | Normal X diğer C-grubu kromozomlardan farklı karakteristik bir bant örneğine sahiptir. |
| Y-Kromozomu defektleri | ++ | Y-kromozomu normalde uzun kolunun üzerinde parlak bir Q ve C bandına sahiptir. |
| Trizomiler | +++ | Karakteristik bantlama ekstra kromozomu belirler. |
| Kronik miyeloid lösemilerde 22q-veya Ph kromozomu | +++ | 22 numaralı kromozom uzun kolunda çok küçük bir banda sahipken 21 numara daha büyük bir banda sahiptir. |
| Translokasyonlar ve büyük delesyonlar | +++ | Kromozom kırık noktaları karakteristik bantlar vasıtası ile ortaya konabilir. |

| | | |
|--|------|---|
| Küçük terminal delesyonlar ve bazı translokasyonlar | + | R-bandı genellikle uç bölgelerde pozitif banda sahiptir. Kırık noktalarını belirlemek için bu özelliğinde faydalanılır. |
| Anormal sentromerler | + | Sentromer bölgesinin pozisyonu C-bandı ile belirlenir. |
| Anormal eşleşme veya mayozdaki kromozom yapısı | +++ | Bivalentlerin Q ve G bantları karakteristiktir ve somatik kromozomlara benzer, C-bandı sentromer pozisyonunu belirler. |
| Satellit ve akrosentriklerin kısa kol varyasyonları | ++ | Flouresans derecesi D ve G kromozomlar üzerindeki polimorfizmi belirler. |
| Halka ve anormal kromozom yapısı | ++++ | Karakteristik bantlar normal kromozoma veya normalden sapmaları belirler, C-bandı sentromer bölgesini gösterir. |

5.5. "High Resolution" Bant Yöntemi

1975 yılında J.J. Yunis ve arkadaşlarının geliştirdiği bir bant yöntemidir. Bu teknikteki en önemli nokta kromozomların metafaz yerine profaz veya prometafaz evresinde incelenmesidir. Bu erken evrelerde kromozomların bant seviyeleri arttığından (500-2000 bant kadar) metafaz evresinde tek bir koyu bant olarak gözüken bölge, profaz veya prometafaz evresindeki kromozomlarda açıklı koyulu subbantlara ayrılır(27,53,80) (Şekil 5).



Şekil 5. 14 numaralı kromozomun 320 (sol) 500 (orta) ve 900 (sağ) bant seviyelerinde, kol bölge, bant ve altbantların şematik olarak gösterilmesi(80).

B. DÜŞÜK NEDENLERİ

Gebeliğin 20. haftadan önce son bulmasına düşük denir. Ailenin hiç canlı doğumu yoksa primer, canlı doğumların yanısıra düşüklükler varsa sekonder düşük olarak adlandırılır.

1- ANATOMİK NEDENLER

Jones ve Jones 1953'te çift uterusun düşük sebebi olduğunu ileri sürmüşlerse de(46) unikornis ve didelfis uteruslu birçok kadında başarılı sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Uterus anomalilerinin toplumdaki insidansı kesin olarak bilinmemekle birlikte birçoğunda gebeliğin termine ulaştığı gözlenmektedir. Uterus füsyon ve rekanalizasyonu bulunanlarda, düşük görülme sıklığının yüksek olduğu bildirilmektedir. Fakat Carp ve ark. kendi serilerinde böyle bir artış gözlememişler ve bu grup hastalarda septum rezeksiyonu ya da metroplastinin bir dahaki gebeliğe katkısı bulunmadığını ileri sürmüşlerdir. Uterus anomalilerinin birinci trimesterdeki missed abortuslar yerine, orta trimesterde canlı fetüs düşüklere yol açtığı bilinmektedir(14).

Servikal yetmezlik ikinci trimesterde düşüğe neden olan bir diğer anatomik faktördür. Büyük çoğunluğunun etyo-patogenezinde servikal travma yattığından, genellikle sekonder habituel abortus nedeni olarak jinekologların karşısına çıkmaktadır. Seyrek olarak konjenital servikal yetmezlik olguları da bildirilmiştir.

2- ENFEKSİYONLAR

Klamidya, Brucella, sitomegalovirüs, toxoplasma rubella, herpes mycoplasma ve listeria grubu mikroorganizmaların düşüğe yol açabildiği öne sürülmektedir. Ancak bu organizmaların düşüğün gerçek sebebi olup olmadığı tartışmalıdır. Bazı yazarlar, düşük materyalinde belirlenen mikroorganizmaların sekonder enfeksiyona bağlı olduğunu savunmaktadır. Toksoplazma akut fazda sporadik düşüklere neden olmakla birlikte, tekrarlayan düşüklere neden değildir(1,17).

Sitomegalo virüs ile ilgili farklı bir düşünce vardır. Bu virus, latent kalıp yeniden aktive olabildiğinden birden fazla düşüğe sebep olabileceği ileri sürülmektedir(17).

3- ENDOKRİN NEDENLER

Gebeliğin devamı için, feto-plasenter ünite steroid biosentezini üstleninceye kadar, gebelik korpus luteumuna gereksinim vardır. Habitual abortus etyolojisinde korpus luteum yetmezliğinin % 0 - % 35 arasında değiştiği iddia edilmektedir. Gebeliğin 7. haftasından önce lutektomi yapılan gebeliklerin hemen hepsinin düşükle sonlandığı ileri sürülmektedir. Korpus luteum yetmezliğinde, üretilen progesteron miktarı düşük olduğundan, fertilize ovumun implantasyonu için uygun koşulların sağlanmasında yetersiz kaldığı iddia edilmektedir. Korpus luteum yetmezliğine bağlı olan düşüklerin 7-12 haftalar arasında görüldüğü ileri sürülmektedir. Ancak bazı olgularda endometrial histoloji ile serum progesteron düzeyi arasında ilişki bulunmaması, araştırmacılara serum progesteron değeri normal olanlarda endometriyal defekt nedeninin progesteron reseptör yetersizliğine bağlı olabileceğini düşündürmüştür. Bazı olgularda saptanan serum progesteron düşüklüğünün sebep olmaktan çok, trofoblastik dokunun canlılığını yitirmesine bağlı olarak, hCG sekresyonunun ve dolayısıyla korpus luteum fonksiyonunun azalmasına bağlanabileceği iddia edilmektedir(14).

4- İMMÜNOLOJİK NEDENLER

Düşüğün olası immünolojik sebepleri tedavi edilebilirliği düşüncesiyle son yıllarda üzerinde en çok durulan konulardan birini oluşturmaktadır. Günümüze kadar yapılan araştırmalar kesinlik kazanmamakla birlikte başlıca iki mekanizma üzerinde yoğunlaşmaktadır.

1- Antifosfolipid antikoları,

2- Gebelik ürününün, maternal immünolojik reddinden kurtulmadaki herhangi bir hata. Buna ilave olarak, immun sistemin genetik, endokrin ve psikolojik faktörlerden de etkilenebildiği ileri sürülmektedir.

Antifosfolipid antikoların fetal kayıplara neden olduğu iddia edilmektedir. Antifosfolipid antikolarının ilk trimester düşüklere neden olup olmadığı ve steroidlerle tedavinin doğruluğunun kanıtlanıp kanıtlan-

madığı kuşkuludur. Bu antikorların ikinci ve üçüncü trimesterdeki fetal ölümlerin nedeni olabileceği düşünülmektedir.

Bazı yazarlar, antifosfolipid antikorların kalıtsal tromboz eğilimi varlığında düşüğe neden olabildiğini öne sürmektedir. Bununla birlikte pek çok otoimmün hastalık poliklonaldır. Buna bağlı olarak antifosfolipid antikorların yanısıra, başka antikorların da düşüğe neden olabileceği ileri sürülmektedir(14).

Gebeliğe İmmün Yanıt; uzun zamandır, düşüklerin immün atılımının bir çeşidine bağlı olduğundan şüphelenilmekteydi. Fetal allograftın başarısı anne immün yanıtının baskılanmasına dayanmaktadır. Bu düşünceden yola çıkarak pek çok araştırma trofoblastlar üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Diğer taraftan düşük, embriyo veya trofoblast üzerindeki immün bir ataktan dolayı da olabilir(14).

Normal bir gebelikte, anneden farklı bir antijenik yapıya sahip olan fetoplasental ünite, plasental villiyi kaplayan sinsityotrofoblast hücrelerinin aracılık etmesiyle, maternal immün sistemle doğrudan bir ilişki içerisindedir. Bu direk temasa rağmen, fetusun immünolojik olarak reddedilmemesi aşağıdaki 4 ana mekanizma ile açıklanmaktadır(14,89).

1- Plasenta ve fetus anneden non-toksik ve belki de koruyucu yanıtlar oluşturan major histokompatibilite kompleksleri (MHC) ve diğer antijenleri alır(14).

Habitual abortus saptanan çiftlerde bazı yazarlar, iki veya daha fazla HLA paylaşımı gözlemişlerdir. Bu görüşü reddeder nitelikte çalışmalar da vardır. HLA paylaşımı görülen ailelerdeki düşüklerin, HLA antijenine bağlı resesif halde bulunan bir letal genin, aktif duruma geçmesiyle ilgili olabileceği iddia edilmektedir.

2- Maternal antipaternal antilökositotoksik antikorlar; normal bir gebelik durumunda trofoblast antijenlerine karşı oluşan lökositotoksik

antikorlar ile blastokistin tanındığı ve koruyucu immün mekanizma yolu ile gebelik ürününün atılımının engellendiği ileri sürülmektedir. Maternal antipaternal antilökositotoksik antikorların, farklı maternal ve paternal HLA varlığında oluştuğu iddia edilmektedir. Bloke edici antikorlar koruyucu etkisi olduğu ileri sürülen diğer antikorlardır. Bunlar, maternal lenfositlerin paternal lenfositlere karşı artan immün yanıtlarını bloke ederler.

3- Lenfokinler ve büyüme faktörleri; plasental hücrelerin büyümesini arttırmaları. Lenfokin ve büyüme faktörlerinin, T ve B hücrelerinin proliferasyonu, supressör lenfositler ve antikor üretimi için gerekli olduğu düşünülmektedir.

4- Lokal supressor faktörleri; supressör T hücreleri, lenfosit alt gruplarından biri olup, plasma hücrelerinin IgG yapımını baskılar. Supressör T hücreleri normal gebeliklerde desiduada bulunurlar. Spontan abortuslarda, bu hücreler desiduada gözlenmemiştir(26). Desiduada saptanan progesteron, gebeliğe özgü B₁ glikoprotein ve erken gebelik faktörünün de immün sistemi baskıladığı ileri sürülmektedir.

5. GENETİK NEDENLER

İnsanlarda kromozom anomalilerinin bulunmasından kısa bir süre sonra düşüklerde de kromozom analizi yapılmaya başlanmıştır. Yayınlanan ilk patolojik bulgu, Penrose ve Delhanty tarafından 1961 yılında 44 yaşındaki bir kadının 4. ayda yaptığı düşüğe gözlenmiştir. Sözü geçen fetüsün kültüre edilen hücrelerinde incelenen bütün metafazlarda 69, XXY triploid kromozom seti bulunmuştur.

Literatürde, bunun dışında pekçok araştırmacının yayınladıkları kromozom anomalili tek spontan düşük vakaları mevcuttur. Yayınlanan vakalarda E monozomisi, A₁ monozomisi, E₁₆ ve A₃ trizomileri, 46, XY/69, XXY mozaikleri, 45, X0 kromozom anomalileri gözlenmiştir.

1963'ten bu yana yayınlanan pekçok seride tesbit edilen kromo-

zom anomalileri % 2'den % 64'e kadar oldukça değişken bir yelpaze çizmektedir.

İndüktif düşüklerde kromozom tayini, ilk olarak indükte düşükün serbest olduğu Japonya'da Makino ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Daha sonraları, birçok araştırmacıya ait seriler bildirilmiştir. Ayrıca indükte düşüklerde kromozom analizleri, spontan düşük serilerini kontrol amacı ile de yapılmıştır. Bu grupta bulunan kromozom anomali yüzdesi yenidoğandaki değerlere yakın olarak bildirilmiştir(18).

Arka arkaya düşük yapan aileler vardır. "Habitual" repeated "recurrent" ya da "multipl" abortus diye adlandırılabilir bu durumdan çeşitli nedenler sorumludur. Son 25 yıldır tekrarlayan düşüklerin bir kısmından kromozom anomalilerinin sorumlu olup olmadığı sorusu ortaya çıkmıştır. Düşük materyalinin karyotiplenmesi oldukça zordur. Çünkü kürete edilen plasental doku sıklıkla maternal dokuyla kontamine durumdadır, kültürlenmek istenen düşük materyali genellikle nekroza uğradığından kültürde üretmek zordur. Bu nedenle kromozom anomalilerinin gerçek prevalansı, ileri sürülen % 50'den çok daha farklı olabilir. % 22 ve hatta % 8'lere kadar düşük prevalans değerleri ileri sürülmüştür. 8. haftadan önce görülen düşüklerde kromozom anomalilerinin insidansı % 14-16 gibi düşük oranlarda belirtilmiştir(14,39).

Saptanan anomalilerin % 49'undan fazlasını otozomal trizomiler oluşturmaktadır. Hemen hemen % 20'si seks kromozom anöploididir, % 19'undan fazlası poliploidiler, % 3,8'i yapısal anomaliler (dengesiz resiprok ya da robertson translokasyonlar), % 3,2'si miksploidilerdir (Tablo 3). 13, 18, 21, 22 ve X kromozomlarının trizomileri hariç diğer otozomal trizomilerin hemen hepsi embriyonik gelişmeye imkan vermemektedir. Trisomi 16 ise düşüklerde oldukça sık görülmekte ve embriyonun 2 mm'ye kadar büyümesine olanak sağlamaktadır. Triploid abortuslar, boş bir keseden, anomalileri olan bir embriyoya kadar farklı derecede morfolojik özellik gösterirler.

Tablo 3. Düşüklerde Görülen Kromozom Anomalileri ve Sıklığı

| Kromozom Anomalisi Tipi | Sıklığı % |
|--|-----------|
| Otozomal trizomi | 49 |
| Seks kromozom monozomisi | 20 |
| Poliploidiler | 19 |
| Yapısal Anomaliler (Dengesiz resiprok ya da robertson translokasyonlar) | 3,8 |
| Miksploidiler | 3,2 |
| Diğerleri | 5 |

Genetik nokta mutasyonları, normal bir geni değiştirip letal hale getirme eğilimlerinden dolayı düşüklerin sebebi olabilirler. Bu durumda letalite 2 şekilde meydana gelebilir.

- 1- Yaşamla bağdaşamayacak kadar ciddi anomalilere sebebiyet vererek,
- 2- Annenin immün sisteminin tanımadığı bir antijenik yapı kodlayarak.

Faredeki T kompleksi 17 no'lu kromozom üzerindedir ve iki inversiyon içerir. Farenin MHC kompleksi T inversiyonunun tam ortasında yer alır. Bu inversiyonun, erkek germ hücreleri yoluyla oldukça fazla oranda transmisyona sebep olan, segragasyon bozucularıyla ilişkisi vardır. Homozigot T/T embriyolar nöral tüp ve notokord düzensizlikleriyle 10,5 günde in utero ölmektedir. Heterozigotlarda ise kuyruklarında bir kısalma dışında herhangi bir anomali yoktur. Letal genlerin özel bir H-2 haplotipiyle (=farenin MHC'si) ilişkili olabileceği ve linkage disequilibrium şeklinde kalıtıldığı iddia edilmektedir. Gill (1983) benzer letal genlerin insanlarda da olduğunu ileri sürmektedir(37). Belli bir HLA tipine olan homozigotlukla, belli letal genlerin linkage disequilibrium şeklinde kalıtıldığı ileri sürülmektedir. Amos ve ark. belli HLA haplotipleri ve spina bifida arasında bir ilişki tanımlamışlardır. Ayrıca Amos HLA haplotiplerinin üçüncü ve dördüncü jenerasyonlara yüksek oranda geçtiğini göstermiştir. İnsanlar

büyük bir olasılıkla T genlerinin çoğuna sahiptir. Fakat şu ana kadar letal genlerin hiçbiri insanlardan isole edilememiştir(14).

C. TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN ÇİFTLERDEKİ SİTOGENETİK BULGULAR

Penrose ve arkadaşları (1960) 2 düşük, 2 Down sendromlu çocuk ve bir de normal çocuğu olan 15 ve 21 nolu kromozomlar arasında dengeli robertson tipi translokasyona sahip bir kadın bildirmişlerdir. Forsman ve Lehman (1961) bir yıl sonra babası 21 ve 22 nolu kromozomlar arasında dengeli robertson translokasyon taşıyan, 3 Down Sendromlu çocuğu ve 5 düşüğü olan bir çift yayınlamışlardır(80).

Kromozom anomalilerinin tekrarlayan düşüklere sebep olabileceğini düşünen bazı araştırmacılar, sık düşük yapan kadınları ve bunların kocalarını sitogenetik yönden incelemişlerdir.

İki ya da daha fazla spontan abortus hikayesi olan çiftlerin sitogenetik analiz sonuçlarını ilk bildiren Schmid'tir. Schmid (1962) 10 çiftten oluşan serisinde, yalnız bir erkekte şekil anomalisi tespit etmiştir. Yazar bulduğu G kromozomunun kısa kolunun uzaması halini bir translokasyon olarak kabul etmiş ve düşüklere sebepini buna bağlamıştır(18).

Schmid'in çalışmasını, tekrarlayan abortus hikayesi olan çiftler üzerindeki bir seri sitogenetik araştırma izlemiştir. Araştırma için kullanılan kriterler seriden seriye farklılıklar göstermiştir. Vaka seçiminde tek düşüklü veya iki ya da daha çok düşüklü çiftlere yer verilmiştir. Bazı çalışmalarda yaşayan ve malformasyonlu çocuk veya ikisinden birine sahip çiftler de dahil edilmiştir. Bundan başka örnek sayısı 7 gibi küçük bir sayıdan (Gabriel Khudr)1068 çifte (Fryns ve arkadaşları 1984) ve hatta 2136 çifte (Bourroillou ve arkadaşları 1986) kadar geniş farklılıklar göstermiştir(11,35,50). Bazı çalışmalarda da her tip kromozomal anomali araştırılırken bazılarında da sadece Xkromozomu anöploidileri araştırılmıştır(43,48,65,72).

1. Çiftlerdeki Kromozom Anomalilerinin Sıklığı ve Tipleri

Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde yapılan araştırmalarda kromozom düzensizliklerinin, farklı oranlarda bulunmasına rağmen, ilk sırayı dengeli translokasyonlar almakta, bu sırayı inversiyon ve seks kromozomu mozaizmi izlemektedir. Tablo 4'te değişik araştırmacılara ait sitogenetik çalışmalarda tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde major anomali görülme sıklığı verilmektedir. Major anomali görülme sıklığı seriden seriye değişmektedir. M.De Braekeleer ve T.N.Dao'nun 1990'da yayınladıkları 22.199 çifti içeren ve tekrarlayan düşüklerle ilgili yayınların derlenmesiyle oluşan en büyük seride, major kromozom anomali sıklığı % 4,7 olarak bildirilmiştir. M.De Braekeleer ve T.N.Dao major kromozom anomalisinin varlığı ve dağılımı ile gebelik kaybının tipi arasında istatistiksel olarak belirli bir fark bulamamışlardır. Kromozom anomalilerinin spontan düşüklerin sayısına (1,2>3) göre dağılımının, spontan düşüklerin sayısı fazla bile olsa, inversiyon, seks kromozom anöploidisi ve ekstra kromozom görülme sıklığında bir artış göstermediğini, oysa robertson ve resiprok translokasyonların insidansı ve düşüklerin sayısı arasında bir korelasyon olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yazarlar, major kromozom anomalisinin dağılımı ile normal canlı doğumların bulunup bulunmaması yönünden istatistik olarak belirgin bir fark bulamadıklarını bildirmişlerdir(8).

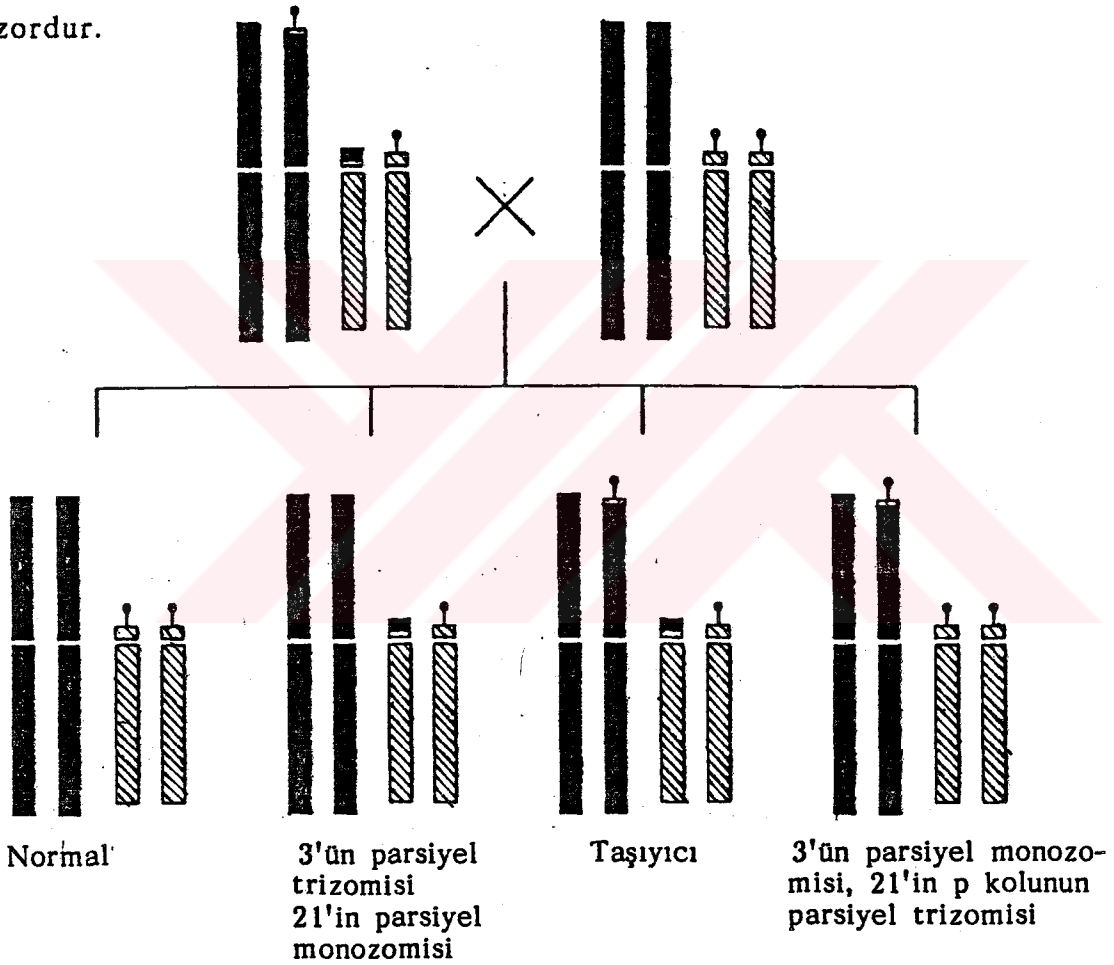
Taşıyıcının cinsiyetine bağlı olarak, eşit olmayan kromozom anomali dağılımı iddia edilmektedir. Kadınların translokasyon (resiprok ya da robertson tipi), inversiyon ve ekstra kromozom taşıyıcısı olmaya daha meyilli olduğu iddia edilmektedir. Eşler arasındaki düzensiz dağılımın bir açıklaması olarak da, diğer hayvan cinslerinde olduğu gibi insanlarda da dişilerde fertilité ile bağdaşabilen kromozom yapı anomalilerinin erkeklerde sterilitéyle ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir(21).

Tablo 4. Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde sitogenetik araştırma yapan değişik yazarlara ait sonuçlar

| Referanslar | Çalışılan Çift Sayısı | Anomali % |
|---------------------------------|-----------------------|-----------|
| Bağcı ve ark.(1989) | 87 | 2,2 |
| Başaran ve ark.(1987) | 339 | 12,4 |
| Bhasin ve ark.(1973) | 21 | 9,5 |
| Bortotto ve ark. (1980) | 145 | 7 |
| Bourrouillou ve ark. (1986) | 2136 | 4,31 |
| Byrd ve ark. (1977) | 55 | 12 |
| Campana ve ark. (1985) | 5445 | 9 |
| Castle ve ark. (1988) | 688 | 6,83 |
| Chapella De La A ve ark. (1979) | 50 | 2 |
| Davis ve ark. (1982) | 100 | 8 |
| Faed ve ark. (1980) | 37 | 16 |
| Fryns ve ark. (1984) | 1068 | 5,5 |
| Heritage ve ark. (1978) | 37 | 8 |
| Holzgreve ve ark. (1984) | 144 | 1,4 |
| Kajji ve ark. (1978) | 391 | 19 |
| Kardon ve ark. (1980) | 50 | 0 |
| Kaosaar ve Mikelsaar (1973) | 28 | 0 |
| Kim ve ark. (1975) | 50 | 8 |
| Lauritsen J.G (1976) | 525 | 0,76 |
| Mameli ve ark. (1984) | 50 | 8 |
| Mennuti ve ark. (1978) | 34 | 14,7 |
| Neu ve ark. (1979) | 31 | 3,3 |
| Nordenson ve ark. (1981) | 20 | 0 |
| Papp ve ark. (1974) | 14 | 7 |
| Sachs ve ark. (1985) | 500 | 10 |
| Schwartz ve ark. (1983) | 164 | 6,7 |
| Sider ve ark. (1988) | 232 | 8 |
| Simpson ve ark. (1982) | 112 | 0,8 |
| Soh ve ark. (1984) | 35 | 1,4 |
| Stoll ve ark. (1981) | 122 | 6,55 |
| Stenchever ve ark. (1977) | 28 | 23,9 |
| Stray Pederson ve ark. | 195 | 1,5 |
| Subrt ve ark. (1980) | 115 | 7,8 |
| Toth ve ark. (1984) | 118 | 3,39 |
| Üçsel ve ark. (1990) | 50 | 12 |
| Tsenghi ve ark. (1976) | 77 | 6,49 |

2. Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Görülen Kromozom Anomalileri

2.1. Resiprok Translokasyonlar: İki non-homolog kromozomun segmentleri arasında gerçekleşen parça değişimidir (Şekil 6). Resiprok translokasyonlar genelde fenotipik anomaliye ve genetik materyal kaybına sebep olmazlar. Bireylerdeki translokasyonun varlığını kişiler üreme yaşına gelene kadar veya kromozom anomalili bir çocuk doğana kadar bilmek zordur.



Şekil 6. Dengeli resiprok translokasyon taşıyıcısının normal bir kişiyle evliliğinden olabilecek çocukların olası genotipleri

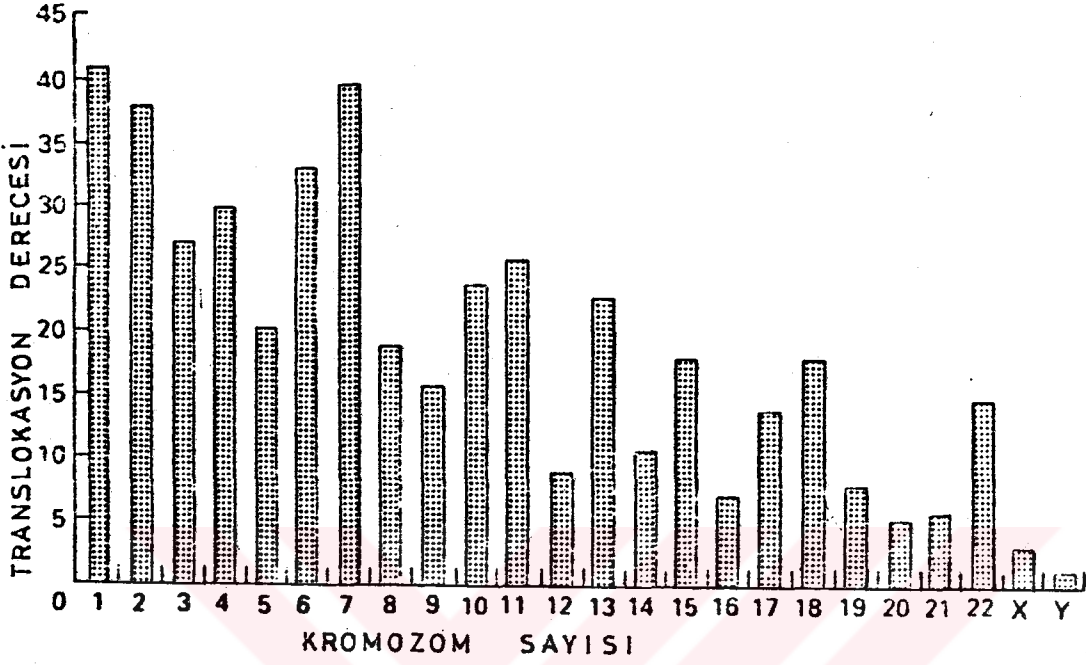
Mayoz sırasında heterozigot translokasyon en az 4 tip gamet üretir. Gametlerin ikisi genetik olarak dengeli, diğer ikisi dengesizdir. Genetik dengeli olanlardan biri kromozom yapısı olarak normaldir. Diğer dengeli gamet ise yeniden düzenlenmiş kromozomları içerir. Bu ikisinin normal

bir gametle fertilize oldukları düşünülürse, birincisi fenotip ve karyotip yönünden normal bir fetus oluşturur, ikincisi taşıyıcı ebeveynlerde olduğu gibi transloke heterozigot bir fetus oluşturur.

İki dengesiz gamet, fertilizasyonda yer alacak olursa, parsiyel monozomali ve trizomili zigot oluşur, bu hataların varlığında da gebelik bir spontan abortus veya ölü doğumla, ya da multipl malformasyonlu bir canlı doğumla sonlanır. Fraccaro ve arkadaşları (1980) ve İseilus ve arkadaşları (1983) aynı translokasyona sahip [t(11 q; 22 q)] ailelerde yaptıkları çalışmalara dayanarak spontan abortus ve parsiyel monozomali ve trizomili canlı doğumların oranlarını sırasıyla % 27,5 ve % 5,6 olarak bildirmişlerdir(34,45).

Transloke heterozigotlarda infertilite ve subfertilite daha sık yayınlanmıştır. Çiftin her ikisinde de aynı translokasyon varlığında sterilizasyonun artacağı bildirilmiştir. Aynı ailede, bazı transloke heterozigot erkeklerde bu durum sterilizasyon etkeni olarak görüldüğü halde, niye benzer translokasyonlara sahip diğer erkeklerin fertil olduğuna dair hiçbir yeterli açıklama yapılamamaktadır. Dengeli translokasyonlu subfertil erkekler ve normal karyotipli subfertil erkeklerde yapılan, sperm sayısı motilite ve morfoloji çalışmalarında da kayda değer bir fark saptanamamıştır(20).

Tharapel ve arkadaşlarının (1985) toplam % 2.9 major kromozom anomalisi tespit ettikleri serilerinde resiprok translokasyon oranı % 1,4 olarak bildirilmiştir. Şekil 7'de görüldüğü gibi resiprok translokasyona en çok uğrayan kromozom 1 numaradır. 1 nolu kromozomu 7 ve 2 takip etmekte, bundan sonra en fazla etkilenenler ise 6, 4, 3 ve 11 olarak bildirilmektedir. Yazar resiprok translokasyona sık oranda katılan kromozomların kırılma yaşlarının (break-age) ve birleşmeye yatkınlıklarının buna neden olduğu görüşünü savunmaktadır(80).



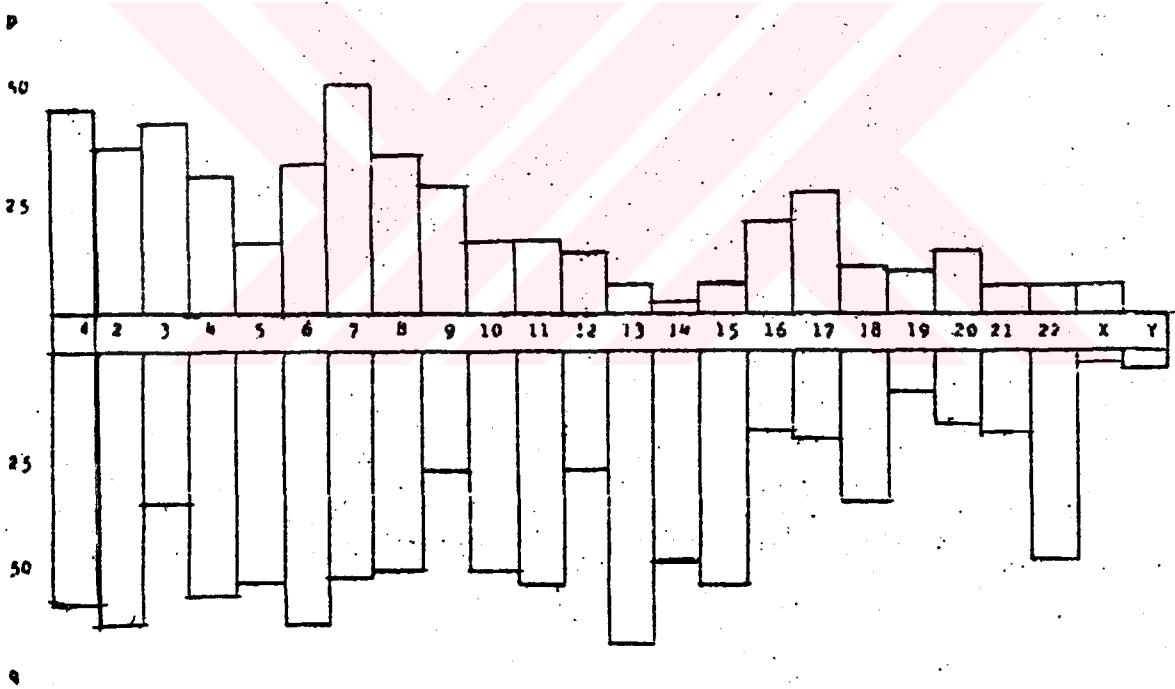
Şekil 7. Resiprok translokasyona katılan kromozomların sıklığı(80)

Tablo 5 : Yenidoğanlarda ve tekrarlayan hamilelik kayıpları olan çiftlerde görülen kromozom aberasyonlarının sıklığı(8)

| Kromozom anomalleri | Hamilelik Kayıpları | | | Yenidoğan | | |
|---------------------|-----------------------|---------------------|-------|-----------------------|---------------------|-------|
| | Çalışılan Olgu Sayısı | Anormal Olgu Sayısı | % | Çalışılan Olgu Sayısı | Anormal Olgu Sayısı | % |
| Resiprok T | 36620 | 460 | 1.3 | 59514 | 51 | 0.085 |
| Robertson T | 33.442 | 198 | 0.6 | 59514 | 55 | 0.092 |
| İnversiyon | 33.442 | 65 | 0.2 | 59514 | 7 | 0.012 |
| Seks krom. anöp. | | | | | | |
| XXY | 16692 | 1 | 0.006 | 36855 | 39 | 0,105 |
| XYY | 16692 | 7 | 0.05 | 36855 | 33 | 0.082 |
| XO | 16692 | 0 | 0.00 | 26659 | 23 | 0.008 |
| XXX | 16692 | 18 | 0.1 | 22659 | 23 | 0,101 |
| Ekstra krom. | 33442 | 11 | 0.03 | 59514 | 13 | 0.023 |

T.translokasyon, krom, kromozom, anöp. anöploidi

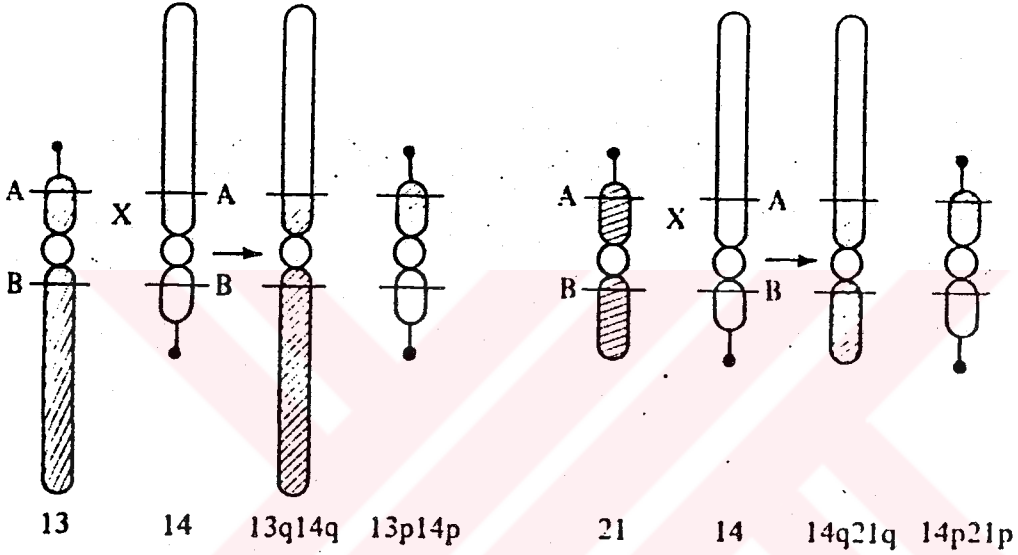
M.De Braekeleer ve T.N.Dao'nun yayınlarında % 1,3 oranında resiprok translokasyon bildirilmiştir. Bu oran kontrol amacıyla canlı doğanlarda yapılan sitogenetik analizlerde saptanandan 15 kat fazladır (Tablo 5). Resiprok translokasyonlarda yer alan kromozomların sıklığı, büyük varyasyon göstermiştir. Şekil 8'de resiprok translokasyona katılan kromozomlar ve bunların kollarına göre dağılımı gösterilmektedir. Yazarlar, yaptıkları istatistiki analizlerde tüm kromozomların kollarının translokasyona katılabildiğini, fakat 2p, 5q, 7p, 7q, 12q, 13q, 17p, 18q ve 22q gibi bazılarının öncelikli olarak olaya katıldığını bildirmektedirler.



Şekil 8. Resiprok translokasyona katılan kromozomların kollarına göre dağılımı(8)

2.2. Robertson Translokasyonlar (Merkezde Birleşme): İki homolog veya non-homolog akrosentrik kromozomun sentromerde birleşmesiyle

oluşurlar. Robertson translokasyonlar tüm akrosentrik kromozom çiftleri arasında meydana gelebilirler (Şekil 9). Mayotik dağılım ve sonuçları homolog veya non-homolog robertson translokasyona göre değişebilmektedir.



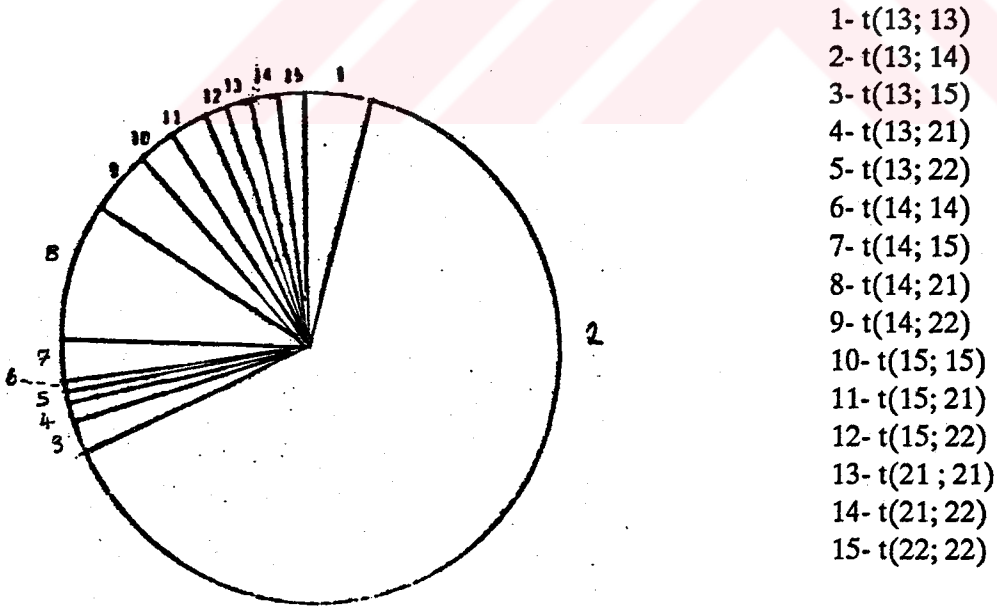
Şekil 9. Robertson Translokasyonu $t(13q; 14q) t(14q; 21q)$

Homolog robertson translokasyon; özel bir durumu anlatır. Mayoz sırasında böyle bir birey iki tip gamet üretir. Bunlardan biri $t(21;21)$ kromozomunu içerir, diğeri 21 no'lu kromozomu içermez. Gametler normal kromozom 21 taşıyan bir gametle fertile olursa, zigot kromozom 21 için trisomik veya monozomik olacaktır. Trizomi 21 fetuslar canlı doğumla sonlanabilirken, monozomi 21 fetuslar ise spontan düşükle sonlanır. Genelde homolog robertson translokasyonu taşıyan çiftlerin canlı doğumlarının tamamı kromozomal olarak anormaldir. Buna rağmen, bu durumun istisnaları da mevcuttur. Palmer ve arkadaşları (1980) homolog robertson translokasyonlu $t(22q;22q)$ annenin dengeli translokasyon taşıyıcı kız çocuğu doğurduğunu bildirmişlerdir. Bu beklenmedik sonuç kromo-

zom 22 için nullisomik olan spermle fertile olma veya zigottan anafaz safhasında ilave kromozom 22'nin erken postzigotik kaybıyla açıklanabilir(62).

Mayoz sırasında non-homolog robertson translokasyon taşıyıcısı eş dağılımlı 6 tip gamet üretir. İki tanesi genetik olarak dengelidir ve normal gametlerle fertile olduğu düşünülürse, normal veya dengeli transloke karyotipli zigotlar oluşur. Kalan dört gamet genetik olarak dengesizdir ve normal bir gametle fertile olduklarında dengesiz karyotipli (trizomi 14, monozomi 14, trizomi 21 ve monozomi 21) zigotlar oluşur. Bunların içinden trizomi 14, monozomi 14 ve monozomi 21 ve trizomi 21'lilerin büyük kısmı uterus içinde ölür ve gebelik kaybına sebep olur. Trizomi 21'lilerin az bir kısmı Down Sendromlu olarak canlı doğar(79).

Robertson translokasyonunun, tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde % 0.59 oranında görüldüğü bildirilmiştir(8).



Şekil 10. Tekrarlayan düşük yapan çiftlerde robertson translokasyonu'nun kromozomlardaki görülme sıklığı

En sık rastlanan robertson translokasyon tipi % 64.3 ile t(13q;14q)'dur. Bunu % 7.7 ile t(14q;21q) izler. t(14q;21q) biraz önce de anlatıldığı gibi Down sendromlu canlı doğumlardan da sorumludur. Robertson translokasyonları; tekrarlayan düşükler bakımından incelenmekte olan çiftlerde, yenidoğanlara oranla 6 kez daha sık bulunmuştur (Tablo 5).

2.3. İnversiyonlar: Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde inversiyonlar % 0.19 oranında rastlanmıştır. Bu rakam yenidoğanlardaki verilerle kıyaslandığında 26 kat fazladır. Prometafaz bantlama (high, resolution) teknikler kullanılmadan bazı inversiyonların saptanması oldukça güçtür. Yenidoğanlar üzerindeki sitogenetik çalışmaların çoğunluğu bantlama yapılmadan gerçekleştirildiğinden, yenidoğanlarda bildirilen inversion sıklığının olduğundan daha az bulunmuş olabileceği ileri sürülmektedir(8).

Parasentrik veya perisentrik inversiyonlu heterozigot bireyler genelde fenotipik olarak normaldir. Fakat mayoz sırasında özellikle ters dönmüş segment büyük ise kromozomal anomalili parça homolog parçalarla birleşebilir. Mayoz sırasında ters dönmüş segment karşılığı olan homolog parçasıyla eş olabilmek için ilmik şeklini alır. Birinci anafaza gelindiğinde inversiyondan ötürü yavru hücreler arasında inversiyon köprüsü kurulur ve minik bir kromozom ortaya çıkar. Kromatid köprüsü sonra ya kopar bir hücreye katılır veya ortada kalarak yok olur. Bölünme bittiğinde 4 çeşit gamet beklenir(78).

- 1- Normal kromatid
- 2- İki sentromerli fakat hem eksik hem de fazla parçaları içeren kromatid
- 3- Eksik asentrik parça
- 4- İnversiyon kromatidi

Fertilizasyonda yer alan bu tür gametlerin dengesiz zigotlar oluşturduğu, bunun sonucu olarak da, dengesiz zigotlarla meydana gelen gebeliklerin spontan abortus veya malformasyonlu canlı doğumlarla sonlanabildiği ileri sürülmektedir(79).

Tekrarlayan düşüklerde kromozom 9'un perisentrik inversiyonunun [inv (9)] rolü hâlâ tartışmalı bir konudur. Inv(9)'un bazı ailelerde tekrarlayan düşüklerle ilgili olduğu görülmesine rağmen seçilmemiş, rastgele çiftler serisi üzerinde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında, Inv(9) ile tekrarlayan düşük arasında bir ilişki görülmediği ileri sürülmektedir(10,40).

Birçok kromozomda perisentrik inversiyon görülmesine rağmen, istatistiksel analizler 2, 5, 7 ve 10 no'lu kromozomların olaya beklenenden daha fazla karıştığını göstermektedir. Bununla birlikte, malformasyonlu çocuk doğumuna yol açan perisentrik inversiyonlar nadir olarak bildirilmektedir. Tekrarlayan düşük yapan çiftlerde birkaç parasentrik inversiyon (21 vaka) bildirilmiştir. Parasentrik inversiyonların 1p, 3q, 5q, 7p, 7q, 11q, 13q ve 14q kromozom kollarını kapsadığı yayınlanmıştır(8).

2.4. Ekstra Kromozomlar: Normal 46 kromozoma ilave olarak görülen ekstra küçük kromozomlardır. Orijinleri ve özellikleri birçok olguda bilinmemektedir. Morfolojik olarak değişik boyutlarda ve şekillerde meydana gelebilirler ve aşağıda yazıldığı gibi görülürler:

- 1- F grubu kromozomlardan daha küçük metasentrik kromozomlar
- 2- G grubu kromozomlarından daha küçük, submetasentrik veya akrosentrik kromozomlar
- 3- Mikroring'ler (= mikro halkalar) veya yuvarlak küçük parçacıklar
- 4- Küçük C (+) bandlı entrik fragmanlar

İki ucunda satellit taşıyan ekstra kromozomların fenotipik olarak normal veya anormal bireylerde de görülebileceği bildirilmiştir. Ekstra kromozomlar, bir aile içerisinde nesiller boyu nakledilebilir ya da de nova olarak artabilir. Soudek (1979)'e göre ekstra kromozomlar genetik olarak iki ayrı gruba ayrılırlar. Gruplardan biri hiçbir fenotipik etkisi olmayan, genetik olarak inaktif heterokromatin içerir. Diğer grup ise yüksek riskli,

genetik olarak aktif ökromatinden oluşur. Soudek'in (1979) yukarıdaki yorumu ekstra kromozomlu bazı bireyler normalden diğerlerinin niye anormal olduğunu açıklayabilir. Normal fenotipli bir bireyde ekstra kromozom varsa bunun genetik olarak inaktif olduğu düşünülmektedir. Bu sebepten, normal bir bireyde veya olası bir spontan abortuslu vakada böyle bir kromozomun varlığının olaya direk sebep olması ve etkimesi konusunda bağlantı kurmak zordur. Ekstra kromozomlar non-disjunction olayları üzerinden hipo veya hiper haploid gametler oluşturabilmek için normal mayoza katılabilirler. Hipo veya hiper haploid gametlerin müteakip defalar fertilizasyona katılması zigotun monozomik veya trizomik olmasına yol açabilir. Bu gibi gebeliklerin bazıları ölü doğum ya da spontan düşükle sonlanır(79).

2.5. Seks Kromozom Anöploidileri: Tekrarlayan spontan düşüklere açısından incelenen çiftlerde seks kromozom anöploidisi nadir olarak görülmektedir. Habituel abortuslu çiftler arasında hiç 45,X0 karyotipine rastlanmamıştır. Aslında 45,X0 kromozom konstitüsyonuna sahip kadınlar genellikle sterildirler ve primer amenore'ye sahiptirler.

Tekrarlayan hamilelik kaybı araştırılan kadınların % 0.1'inde 47,XXX karyotipine rastlandığı bildirilmiştir(8). Bu oran normal popülasyondan görüldenden hiç farklı değildir. 47,XXX'li kadınların hipo ya da hiper haploid gametlere yol açan mayotik non-disjunction bakımından daha yüksek risk içinde olduklarına dair raporlar bulunmasına rağmen(28,54), bu kadınların tekrarlayan hamilelik kaybı bakımından artmış bir risk içinde gözükmedikleri de bildirilmiştir(8).

47,XXX'kadınların büyük kısmı genel popülasyonda normal olarak yaşayan denetimsiz ve herhangi belli bir fenotipi bulunmayan bireylerdir. Anormal kromozom yapısına sahip gebelikler nadir olarak bildirilmiştir. Örneğin 47,XXX'li bir kadının Klinefelter ve Down Sendromlu çocukları ve 45,X0 karyotipli spontan abortus vakası yayınlanmıştır.

47,XYY karyotipi eşi birden çok hamilelik kaybı yaşamış erkek-

lerde % 0.04 oranında bildirilmiştir. Bu oran yenidoğan çalışmalarında % 0,08'dir. 47,XYY'li kromozom konstitüsyonuna sahip olup, anormal karyotipli çocuklara sahip olan erkekler hakkında birkaç yayın mevcuttur. Sandberg ve arkadaşlarının 1961'de yayınladıkları ilk Down Sendromlu çocuğun babasının 47,XYY'li olması ilginç bir rastlantıdır(79).

Multipl düşük hikayeli hastalarda sitogenetik ve klinik araştırmalarla X kromozomunun tesbiti zordur. X kromozomunun anöploid metafazları hakkında pekçok yayın vardır(70,72).

İncelenmiş karyotiplerde rastlanan X kromozom anöploidileri şunlardır(8):

- 45,X/46,XX
- 45,X/45,XX/47,XXX
- 45,X/46,XX/47,XXX/48,XXXX
- 45,X/46,XX/47,XXX/49,XXXX
- 45,X/46,XX/47,XXX/52,XXXXXXXXXX
- 45,X/46,XX/50,XXXXXX
- 46,XX/47,XXX
- 46,XX/47,XXX/48,XXXX
- 46,XX/48,XXXX
- 46,XX/48,XXXX/49,XXXXX
- 46,XX/48,XXXX/50,XXXXXX
- 46,XX/49,XXXXX

Yukarıda görülen anormal hücrelerin periferik kan lenfosit hücrelerinde bulunma oranı yaklaşık % 5'tir. Bu kadınların mayotik non-disjunction açısından daha yüksek risk altında oldukları iddia edilmektedir(28,43,54,72). X Kromozom anöploidili hastaların gebeliklerinin düşükle sonlanma oranı fazlaysa da, başarılı gebelikler sonucu olan canlı doğumlarda kromozomal olarak normal veya anormal çocuklar birlikte meydana gelebilmektedir(72). Down Sendromlu, Klinefelter Sendromlu, Turner Sendromlu ve seks kromozom mozaikleri dahil olmak üzere kromozom

konstitüsyonu açısından anormal canlı doğumlar bildirilmiştir(8). X kromozom anöploidilileri üzerinde yapılan çalışmaların tümünde multipl düşüklükler ile kontrol grupları arasında belirgin bir fark gösterilememiştir(65).

Horsman ve arkadaşları (1987) normal karyotipli ve 2 ya da daha fazla spontan düşüklü 104 kadın ile düşük hikayesi olmayan fertil kadınlarda oluşan kontrol grubu üzerinde yaptıkları, lenfosit kültürlerindeki X kromozom anöploidileriyle ilgili bir "rapor" yayınlamışlardır. Yazarlar, her iki grupta da benzer düzeylerde X kromozom anöploidisi bulmuşlar ve tekrarlayan spontan düşük yapan kadınlar grubunun anöploidili canlı çocuk doğurma riskinin, fertil kadınlardan oluşan kontrol grubunun taşıdığı riskten artmış olduğuna dair herhangi bir veri elde edememişlerdir. Lenfosit kültürlerinde X kromozom anöploid metafazların bulunmasının yapısal X kromozom mozaisizmi ile alakalı olduğu hakkında da herhangi bir ip ucu bulunamamıştır(44).

Hassold ve arkadaşları (1988) 11 tanesi trizomik spontan abortuslu ve 12 tanesi de kromozomal olarak normal spontan abortuslu 23 çift üzerindeki sitogenetik gözlemlerini yayınlamıştır. İki grup arasında seks kromozom anöploidisi yönünden istatistiksel olarak belirgin bir fark bulunmamıştır(39).

3. Kromozom Heteromorfizmi ve Gebelik Kayıpları

Kromozom heteromorfizmleri veya polimorfizmleri normal insan karyotiplerinin minör varyasyonlarını temsil ederler. 1, 9 ve 16 no'lu kromozomların büyüklük varyasyonları, 13, 14, 15, 21 ve 22'nin kısa kollarında satellit taşımaları yanısıra Y kromozomunun uzunluk farklılıklarını içerir.

Tekrarlayan düşüklere olan çiftlerde otozomal polimorfizmlere daha yüksek sıklıklarda rastlandığına dair birçok yayın vardır(29,31,33,52,66). Bunun yanında, spontan düşük yapan ve yapmayan çiftleri karşılaştıran diğer çalışmalar otozomal polimorfizmler ile multipl

düşük riski arasında bir bağlantı olmadığını ileri sürmektedir(40,55).

Y kromozomu bir hayli polimorfiktir ve "kısa Y kromozomları" "uzun Y kromozomları" ve "ters" (=inverted) Y kromozomları'nın var olduğu bilinmektedir.

Eşleri tekrarlayan düşük yapan erkeklerin % 0.07'sinde Y kromozomunun perisentrik inversiyonu görülmüştür. Bu oran yenidoğanlarda yapılan sitogenetik çalışmalarda bulunan inv (Y) sıklığından 3 kat fazladır. Bernstein ve arkadaşları (1986) Güney Afrika'daki yerliler üzerinde yaptıkları araştırmalarında, erkek popülasyonunun perisentrik inversiyon taşıyıcısı olduklarını bulmuşlar, fakat bu erkeklerin üreme kabiliyetleriyle ilgili herhangi bir bozukluk gösterememişlerdir(5).

Y kromozomunun uzunluğuyla ilgili varyasyonlar, uzun kolun distal kısmında yer alan heterokromatin bölgesinden ileri gelmektedir. Yq(+) kromozom yapısının fetal kayıp riskini arttırdığını iddia eden pek çok araştırma yayınlanmıştır(60,64,87). Bunun yanında Y kromozomunun büyüklüğü ile abortus riski arasında herhangi bir ilişki olmadığını ileri süren yayınlar da vardır(86).

Genest ve Genest (1985) "uzun", "kısa", "normal" Y kromozomları taşıyan ataları 17. yüzyılda Fransa'dan Kanada'ya göç eden 4 köklü aile üzerinde çalışmıştır. Yq+ kromozom konstitüsyonuna sahip olan bir ailenin erkeklerinde yüksek, düşük insidansı bildirmiş, bunun aksine erkekleri yine Yq+ kromozom konstitüsyonuna sahip diğer bir ailede ise düşük sıklıkta abortus gözlemişlerdir(36). Erkekleri kısa Y kromozomu (Yq-) taşıyan ailede herhangi bir ters etki bildirmemişlerdir(30,58). Tüm bu sonuçlardan yazar, tüm Yq+ kromozomlarının özdeş olmadığını ve bazı Yq+ kromozom konstitüsyonlarının tetusun canlılığını etkileyebileceğini iddia etmektedir(36).

Kromozom 9'un C band çalışmaları sonucunda, tekrarlayan düşüküklü grupta, kontrol grubuna oranla 9qh+ bulgusunun fazla olduğu bil-

dirilmiştir(33,52). Kromozom 9'un sekonder konstrikسیون bölgesinin birinci mayozda aktif olduğu ve bu durumdan dolayı boyut ve pozisyon değişikliklerinin fetusun canlılığının azalması ve gelişiminin bozulmasıyla ilgili olabileceği ileri sürülmektedir(29,33,52). Polimorfik bölge varyantları taşıyanlarda genetik seyir sorunu tartışılmaktadır(52). C-bant heteromorfismlerinin ölçümü için standart bir metod geliştirilemediğinden literatür bulgularının değerlendirilmesi de oldukça güçtür(29).

Düşükler ve heteromorfik bölgeler arasında eğer bir ilişki varsa; bunun ilerde repetitif dizilerin fonksiyonlarının anlaşılmasıyla birlikte açığa çıkacağını ümit etmekteyiz.

4. Frajil Bölgeler ve Tekrarlayan Spontan Abortuslu Çiftler

Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde sitogenetik bulgu yüzdesi yaklaşık % 5 olarak bildirilmiştir. Yapısal kromozom anomalisi taşımayan olgular, artmış kromozom instabilitesi gösterebilirler. Higgins ve Palmer (1987) tekrarlayan düşüklerin olan çiftlerin lenfosit kültürlerinde anlamlı olarak fazla sayıda tek hücre translokasyonları gözlemişler(42). Turleau ve arkadaşları ise spontan kromozom kırıklarında farkedilir bir artış gözlemişlerdir. Kalıtsal bir frajil bölge taşıyan bireylerin fetal ölüm riski taşıyıp taşımadıkları halen bilinmemektedir(68).

Hecht ve Hecht (1984) belirli bazı frajil bölgelerin mayozda kırılma eğilimi gösterebileceğine dair bazı kanıtlar ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte, daha yeni iki çalışmada dengeli resiprok translokasyonlardaki kırılma noktaları ile frajil bölgeler arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu gösterilememiştir(13,24).

Schlegelberger ve Gripp aphidicolinle indüklenen sık frajil bölgelerin, tekrarlayan düşükleri olan çiftlerdeki dağılımını incelemişlerdir. Çalışma sonuçlarını değerlendirdiklerinde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, tekrarlayan düşükleri olan grupta fazla oranda frajil bölge tespit etmişlerdir. Kontrol grubundaki kadın ve erkekler arasında bir farklılık

görülmezken, çalışma grubundaki kadınlarda erkeklere nazaran fazla sıklıkta gap ve kırıklar gözlemişlerdir. Yazarlar, düşük grubunda tercihi olarak görülen belirli bir frajil bölge bildirmemişlerdir(68).

Düşük yapan çiftlerde gözlenen kırık oranı artışının bilinmeyen ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelmiş olabileceği düşüncesi gözden çıkartılamaz. Tekrarlayan spontan düşük problemi olan çiftlerin en azından bir kısmında, aphidicolin ile indüklenen frajil bölgelerin sıklığının artışıyla ilgili bulguların açıklanabilmesi için frajil bölge ekspresyonunun moleküler mekanizmaları hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç vardır.

5. Tekrarlayan Düşükler ve Genetik Danışma

Multipl gebelik kayıplı çiftlerin eğitilmesi açısından obstetrisyen ve genetikçi tarafından bu gruba genetik danışma verilmesi gereklidir. Tekrarlayan düşük olayları aileyi, özellikle kadınları oldukça fazla psikolojik strese sokmaktadır. Bu bireylerin içten, sıcak bir ilgiye ihtiyaçları vardır. Mümkün olduğunca çiftlerin her ikisiyle de birlikte konuşmaya özen gösterilmelidir. Çiftler, düşüklerin sebebi olarak maternal veya paternal etkenler olabileceği ve bunların laboratuvar araştırmalarına gereksinim gösterebileceği konusunda uyarılmalıdır.

Hiç başarılı doğum yapamayan çiftlerde umutsuzluğa kapılmamak gerekir. İncelenen ve danışma verilen tekrarlayan düşüklü çiftlerdeki normal canlı doğum yüzdesi % 20'den 80'e kadar değişmektedir. Stray Pederson (1984)'un araştırmalarına göre kromozom anomalisi saptanmamış çiftlerin özen gösterilen gebeliklerinde başarı oranı % 86 gibi önemli rakamlara ulaşmaktadır(76). İlk bulgular, aile hikayesinin tekrarı, sayı ve zamana özel dikkat göstererek abortusları, ölü doğumlar abortuslardaki anomalileri, canlı doğumları ve ebeveynlerin kendi medikal hikayelerini içermelidir.

Spesifik danışma ve araştırma obstetrik hikayeye dayanmalıdır. Karyotipi bilinmeyen tek bir spontan abortuslu ve canlı doğum yapmış veya yapmamış çiftlere özel bir önlem ve tavsiyeye gerek yoktur. Ayrıca, bu çift-

lere ait karyotipleri incelemeye veya gelecek gebeliklerinde prenatal tanı önerilmesine kadın 35 yaşın altındaysa yine gerek yoktur. Tablo 6'da düşükleri olan çiftlere verilecek muhtemel danışmalar gösterilmektedir.

Warburton ve arkadaşları (1987) bir düşükte görülen trizominin, ikinci bir düşükte de trizomi olma olasılığını fazla artırmadığını iddia etmektedirler. Düşüklerin kromozomal bir nedenden tekrarlanmadıklarını ileri sürmektedirler(88).

Cenani, sayı anomalisi gösteren abortusa sahip anne ve baba incelemelerinde herhangi bir kromozom anomalisine rastlanmadığını bildirmiştir(19).

Bunların aksine, birinci abortusta anöploidi görülmesinin ikinci abortus için yüksek risk olduğunu iddia eden yayınlar da vardır. Bu konuda tartışmalı düşünceler varsa da anoploid bir abortusa sahip çiftlere prenatal tanı önerilmesi anlamlıdır. Abortusta translokasyon gözlenirse, bunun denova orjinli mi yoksa anne babadan geçme mi olduğunu saptamak için anne babanın karyotiplerinin incelenmesi zorunludur. Etyolojisi bilinmeyen bir ölü doğum ya da perinatal ölüm durumunda canlı normal çocukları bulunsun veya bulunmasın anne ve babanın sitogenetik açıdan incelenmesi gereklidir. Sonuçlar normal dahi olsa ileriki gebeliklerde prenatal tanı yöntemlerinin önerilip önerilmemesi tartışma konusudur. Annenin yaşı ile başka faktörler de karar üzerinde etkilidir. İki fetal düşük olmuşsa anne babanın sitogenetik analizi endikedir. Daha önce anlatıldığı gibi çiftlerden biri ~% 5 oranında bir anomalinin semptomsuz taşıyıcısı olabilir.

Ölü doğumlar ya da multipl spontan düşük hikayesi olan çiftlerde sitogenetik araştırma yapılması endikedir. Anne ya da babanın birinde bir translokasyon bulunması, t(21;21) gibi olaylar dışında; bu çiftin ileriki tüm gebeliklerine prenatal tanı uygulanması endikasyonunu doğurur. t(21,21) taşıyıcısı dengeli bir zigot oluşturamaz. Hamileliğin olası sonuçları ya 21 monozomi ya da 21 trizomilidir. Bir translokasyon bulunması, risk altında olan diğer aile bireylerinin de uyarılmasını bunlara sitogenetik inceleme ve genetik danışma önerilmesini gerektirir(79).

Tablo 6. Obstetrik hikayeye* dayanarak önerilecek araştırmalar(79)

| Obstetrik hikaye | Ailenin sitogenetik araştırılması | Gelecek gebelik için prenatal tanı ^t |
|--|-----------------------------------|---|
| Tek düşük | Hayır | Hayır |
| Tek düşük+normal canlı doğum | Hayır | Hayır |
| Tek sebebi bilinmeyen ölü doğum veya perinatal ölüm ±normal canlı doğum | Evet | Parental karyotipe bağlı |
| Tek düşük+sebebi bilinmeyen ölü doğum veya perinatal ölüm±normal canlı doğum | Evet | Evet |
| İki veya daha fazla düşük±normal canlı doğum | Evet | Evet |

* Düşük ve ölüdoğumların karyotiplerinin bilinmediği ya da normal olduğu farz edilmiştir.

t Bilinen normal parental karyotipler ve ilerlemiş anne yaşı, prenatal tanı tavsiyeleri için önemlidir.

III. MATERYAL VE METOD

A. Materyal

Çalışma, Aralık 1990 ve Ağustos 1991 tarihleri arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik ve Teratoloji Bilim Dalı ve Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı'na tekrarlayan düşük şikayetiyle başvuran 15 çift üzerinde gerçekleştirildi.

Çalışma grubunu oluşturan çiftlerin düşük sayıları 2 ile 6 arasında değişmekteydi ve 11 çiftin düşükleri primer tipte iken, 4 çift sekonder tipte düşüklere sahipti.

B. Metod

Çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Genetik ve Teratoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (GETAM) Sitogenetik laboratuvarında yapılmıştır. Çalışmada, olguların kromozom konstitüsyonlarını göstermek için, GTL band tekniği uygulanmış ve 300 band seviyesinde incelenmiş, gerekli olgularda CBL bantlama yapılmıştır.

Kullanılan Solüsyonlar**1- Besi Ortamı:**

Steril koşullarda

180 ml RPMI 1640 medyum (BDSL)

20 ml Fetal Bovine Serum (BDSL)

0,2 ml (5000 Ü) Penisilin krist. (25.000 Ü/ml)

0,2 ml (0,01 gr) Streptomisin (0.05 gr/ml)

1.5 Phytohemaglutinin (Gibco)

100 ml'lik steril şişede karıştırılarak stok besiyeri hazırlanır. Vidalı kapaklı tüplere stok besiyerinden 5'er ml konarak kapakları kapatıldıktan sonra buzluga kaldırılır.

2- Sörensan Tamponu:

9.47 gr Na_2HPO_4 ve 9.8 gr KH_2PO_4 1 litre distile suda çözülerek hazırlanır.

3- Tripsin Solüsyonu:

0.12 gr Difco toz tripsin 100 ml sörensan tampon içinde eriyinceye kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılır.

4- Leishman Boyası:

0.3 gr toz Leishman 200 ml metanol içinde 60°C 'de 1 gece karıştırılarak hazırlanır. Stok boya solüsyonu süzülerek temiz bir şişede toplanır ve ışık almaması için siyah kılıfla sarılarak saklanır.

5- Boya Tamponu:

pH, 6.8'lik Gurr tablet 100 ml distile suda çözüldürülerek kullanılır.

6- $\text{Ba}(\text{OH})_2$ Solüsyonu:

% 5'lik $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (Merck) solüsyonu düşük ısıda uzun süre karıştırılarak hazırlanır. 37°C 'de etüvde saklanır.

7- 2 X SSC Solüsyonu:

17.552 gr NaCl (Merck) ve 8.823 gr Na-Sitrat (Merck) tartılıp karıştırılır ve 1 litreye distile su ile tamamlanarak stok 20 X SSC solüsyonu hazırlanır. Kullanılacağı zaman bu stoktan 10 ml alınarak 100 ml'ye distile su ile tamamlanır ve 2XSSC elde edilir.

İŞLEMLER

1. KÜLTÜRÜN YAPILIŞI

Buzluktan çıkarılan kültür vasatları oda sıcaklığındaki su içinde bekletilerek çözündürülür. Hastadan heparinle yıkanmış steril enjektöre alınan 1-1,5 ml venöz kan her bir tüpe 0,3 ml (1 no'lu iğne ile 13 damla) olmak üzere besiyerlerine ekilir. Her hasta için en az 3 tip tüp kullanılır. Ekim işlemleri steril odada, steril koşullarda yapılır. Ekim yapılan tüplerin kapakları kapatılır ve hafifçe çalkalandıktan sonra 37°C'lik etüvde kaldırılır. 72 saatlik kültür süresinin 70. saatinde tüplere 0.05 mV kolsemid (GIBCO) ilave edilir ve tekrar etüve konur. 72 saatlik süre sona erdiğinde tüpler etüvden çıkarılarak, içerikleri 15 ml'lik temiz ve kuru santrifüj tüplerine aktarılır ve 7 dakika 1100 rpm'de santrifüj edilir. Üstte toplanan sıvı (süpernatant) aspiratörle çekilerek atılır. Hipotonik şok yapmak amacıyla tüpler vortekste karıştırılırken, çökelti üzerine 37°C'de yarım saat bekletilmiş 0.075 M KCl (5.59 gr/lt KCl) eklenerek 7 ml'ye tamamlanır. Hipotonik şok süresi 15 dakika ile sınırlandırılır. Tekrar 1100 rpm'de 7 dakika santrifüjlenen tüplerdeki süpernatant atılır ve tüpler karıştırıcı üzerinde iken çökelti üzerine taze hazırlanmış ve soğutulmuş Carnoy fiksatif (3 kısım metanol + 1 kısım asetik asit) damlatılarak 7 ml'ye tamamlanır. Tüplerin ağızları, parafilmle kapatılır ve bir gece buzdolabında bekletilir. Ertesi gün tüpler buzdolabından çıkarılır. 7 dakika 1100 rpm'de santrifüj edilir, süpernatant atılır. Karıştırıcı üzerinde taze fikzatif eklenerek 7 ml'ye tamamlanır, tekrar 7 dk 1100 rpm'de santrifüj edilir, aynı işlemler taze fikzatifle 5 ml'ye tamamlanarak iki kez daha tekrar edilir. Süpernatant atıldıktan sonra dipte kalan çökeltiyeye 2-3 damla fiksatif eklenerek hücre süspansiyonu hazırlanır.

2. PREPARATLARIN HAZIRLANMASI

Musluk suyunda yıkanarak temizlenen lamalar, distile su dolu şaleye konarak yayma işlemine kadar, buzdolabında bekletilir. Yayma yapılacağı zaman soğutulmuş lamalar distile su dolu şaleden çıkarılır. Suyun fazlası bir filtre kağıdına emdirilir ve 45° eğimle tutulan ıslak lam üzerine 1-2 damla hücre süspansiyonu 50-60 cm yüksekten damlatılır. Hafifçe silkeldikten sonra havada kurutulur.

3. BANT YÖNTEMLERİ

3.1. G-Bantlama

- Preparatlar ışık mikroskobunda diafram kapalı olarak 10x büyütmeyle incelenir. Bu incelemede metafaz kromozomlarının kalite ve parlaklıklarına göre uygulanacak tripsin zamanı belirlenir.

- Preparatlar, 37°C'de şale içindeki tripsin solüsyonunda önceden belirlenen süre kadar bekletilir.

- Tripsin'den sonra preparatlar söransan tampon içinde çalkalanır ve havada kısa bir süre kurutulur.

- 1 kısım Leishman + 3 kısım pH 6,8'lik Gurr solüsyonundan alınarak çalışma boyası hazırlanır ve preparatlar horizontal pozisyonda 1,5 dakika boyanır.

- Preparatlar akan çeşme suyunda boyası iyice gidinceye kadar çalkalanır ve havada kurutmaya bırakılır.

3.2. C Bantlama

- % 5'lik Ba (OH)₂ solüsyonu kullanılmadan önce bir süre karıştırılır. Daha sonra çözeltinin ısısı 37°C'ye getirilerek, preparatlar 2-8 dakika arasında Ba(OH)₂'te tutulur.

- Akan çeşme suyunda yıkanır.

- 60°C'deki 2 X SSC solüsyonunda 75 dakika bekletilir.

- Akan çeşme suyunda çalkalanır.

- % 10'luk Leishman boyası ile (0.5 ml Leishman X 4,5 ml pH 6,8 Gurr tamponu) 10 dakika boyanır.
- Akan çeşme suyunda yıkanır ve havada kurutulur.

4. MİKROSKOPTA İNCELEME

İncelemeler Zeiss-Axioskop mikroskopta x100 akromat objektifte yapılmış, her olgudan en az 20 metafaz olmak üzere toplam 770 metafaz incelenmiştir. Fotoğraflar Zeiss MC100 otomatik kamarada ILFORD PAN F 50 ASA, KODAK TEKNİCAL PAN ile 25 ASA ve AGFA ORTHO film ile 25 ASA'da çekilmiştir.



IV. BULGULAR

Olgulara ait obstetrik veriler Tablo 7'de verilmektedir. Çiftlerin 11'i primer, 4'ü sekonder tipte habituel abortusa sahiptir. Sekonder tip habituel abortusu olan 2 nolu olgu'nun, biri halen yaşayan diğeri doğduktan bir süre sonra ölen canlı doğumları vardır. 6 no'lu olgu 5 yaşında sağlıklı bir çocuğa sahiptir. Tüm olgulara ait düşüklerle ilgili ayrıntılı bilgi Tablo 7'de verilmiştir.

15 çiftte, her bireye ait en az 20 metafaz olmak üzere toplam 770 metafaz sayılmıştır. 22 sahada anöploidi, 2 sahada yapısal anomali gözlenmiştir. Çiftlere ait sitogenetik bulgular Tablo 8'de ayrıntılı olarak gösterilmektedir.

3 no'lu olguda 100 metafaz sayılarak % 4 oranında 46,XX/45,X0 kromozom konstitüsüyonu saptanmıştır.

4.1 no'lu olgunun sayılan 30 metafaz plağının birinde 46,XX,r(18) konstitüsüyonu gözlenmiştir.

7.1 ve 8.1 no'lu olgular 46,XYq+ olarak değerlendirilmiştir.

9.1 no'lu olguda 46,XY,9qh+ kromozom konstitüsüyonu gözlenmiştir. Sayılan 20 metafazın birisinde 46,XY, 3p14-9qh+ delesyonuna rastlanmıştır.

Çalışma grubumuzda, resiprok ve robertson translokasyona, inversiyona ve ekstra kromozoma rastlanmamıştır.

Tablo 7. Olgulara ait obstetrik veriler

| No | Ad Soyad | Yaş | Akraaba evliliği | Habituel abortus Tipi | Canlı çocuk sayısı | Postnatal ölü bebek | Anomalili Bebek | Ölü Doğum | Abortus | | | | Toplam |
|----|------------|-----|------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|-----------------|------------|--------------|----|--------------|----|--------|
| | | | | | | | | | 1- Trimester | | 2- Trimester | | |
| | | | | | | | | | SA | MA | SA | MA | |
| 1 | NM | 28 | - | Primer | - | - | - | - | 2 | 1 | - | - | 3 |
| 2 | FS | 31 | + | Sekonder | 1 | 1 | - | - | 2 | - | - | - | 2 |
| 3 | GY | 28 | + | Primer | - | - | 17 | - | 3 | - | - | - | 3 |
| 4 | TK | 24 | - | Sekonder | - | 1 | - | - | 1 | - | 2 ϵ | - | 3 |
| 5 | SA | 24 | - | Sekonder | - | 1 | - | - | 3 | - | - | - | 3 |
| 6 | GY | 25 | - | Sekonder | 1 | - | - | - | 1 | 1 | - | - | 2 |
| 7 | SÇ | 23 | + | Primer | - | - | - | - | 2 | - | - | - | 2 |
| 8 | FE β | 28 | + | Primer | - | - | - | - | 2 | 1 | - | - | 3 |
| 9 | FC | 35 | - | Primer | - | - | - | - | 4 | - | - | - | 4 |
| 10 | SÖ | | - | Primer | - | - | - | - | 2 | - | - | - | 2 |
| 11 | ST | 31 | - | Primer | - | - | - | - | 2 | - | - | - | 2 |
| 12 | LA | 26 | - | Primer | - | - | - | 3 γ | 1 | - | - | 2 | 3 |
| 13 | GD | 21 | + | Primer | - | - | - | - | 1 | - | - | 1 | 2 |
| 14 | MY | 29 | - | Primer | - | - | - | 2 α | - | 5 | - | 1 | 6 |
| 15 | AG | 23 | - | Primer | - | - | - | - | 2 | - | - | - | 2 |
| | | | | | 2 | 3 | 1 | 5 | 2 | 8 | 8 | 24 | 42 |

SA = Spontan Abortus

MA = Missed abortus. Fetusun in utero ölüp, düşük olayının bir süre sonra meydana gelmesidir.

 α = 7 aylık doğum sonucu hidrosefal+spina bifidalı bebek (ölü doğum) β = 1 ektopik gebeliği mevcut, hasta bize başvurduğunda hamileydi. γ = 7-8 aylık ölü bebekler doğmuş ϵ = Dizigotik ikiz düşüklüklerde kromozom analizi yapıldı elde edilebilen az saydaki metafazlarda 46, XX ve 46,XY kromozom yapıları saptandı.

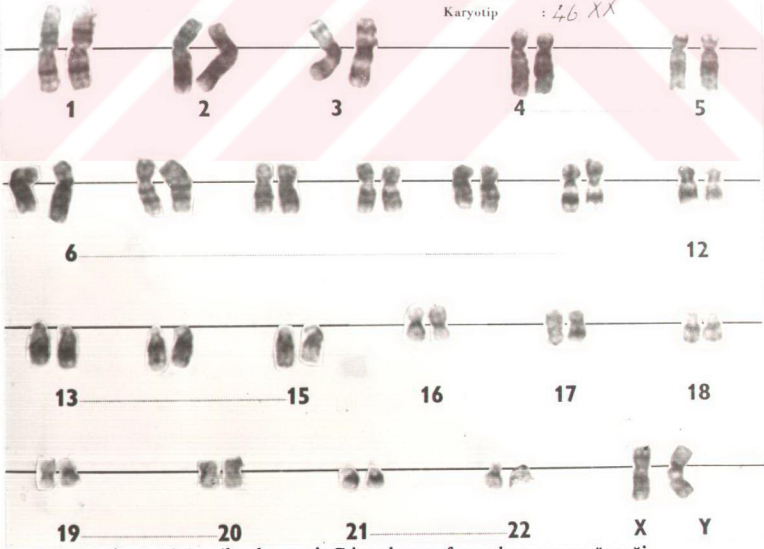
Tablo 8. Çiftlere Ait Sitogenetik Uygulama

| Adı Soyadı | Cinsi | Sayılan Metafaz Sayısı | Kromozom Konstitüsyonu | Normal Yapılı Saha | Anomalili Metafaz Sayısı | Anomalili Metafazların Formülleri |
|---------------|-------|------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| 1 | K | 42 | 46,XX | 39 | 3 | 45,XX,-12;45,XX,-14;45,XX,-11 |
| 1.1 | E | 25 | 46,XX | 23 | 2 | 45,XY,-21;45,XX,-15 |
| 2 | K | 20 | 46,XX | 20 | - | |
| 2.1 | E | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 3 | K | 100 | 46,XX/45,XO | 94 | 6 | (4)45,XO;45,XX,-13;45,XX,-20 |
| 3.1 | E | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 4 | K | 21 | 46,XX | 21 | - | |
| 4.1 | E | 30 | 46,XY | 29 | 1 | 46,XY, r(18) |
| 5 | K | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 5.1 | E | 25 | 46,XY | 24 | 1 | 46,XY, -16 |
| 6 | K | 30 | 46,XX | 30 | - | |
| 6.1 | E | 32 | 46,XY | 29 | 3 | 45,XY,-14;45,XY,-12;45,XY,-22 |
| 7 | K | 25 | 46,XX | 25 | - | |
| 7.1 | E | 30 | 46,XY,q+ | 30 | - | |
| 8 | K | 20 | 46,XX | 25 | - | |
| 8.1 | E | 20 | 46,XX,q+ | 20 | - | |
| 9 | K | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 9.1 | E | 20 | 46,XY,9 qh+ | 19 | 1 | 46,XX, 3 p14-, 9qh+ |
| 10 | K | 22 | 46,XX | 20 | 2 | 45,XX,-22;45,XX,-7 |
| 10.1 | E | 25 | 46,XX | 23 | 2 | 45,XY,-15;45,XY,-20 |
| 11 | K | 20 | 46,XX | 20 | - | |
| 11.1 | E | 23 | 46,XX | 22 | 1 | 45,XY, -10 |
| 12 | K | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 12.1 | E | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 13 | K | 20 | 46,XX | 18 | 2 | 45,XX,-22;45,XX,-8 |
| 13.1 | E | 20 | 46,XY | 10 | - | |
| 14 | K | 20 | 46,XX | 20 | - | |
| 14.1 | E | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 15 | K | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| 15.1 | E | 20 | 46,XY | 20 | - | |
| Toplam | | 770 | | 746 | 24* | |

* = 2'si yapısal anomali saha; 22'si sayısal anomali saha



Laboratuvar No.: G 117 111
Karyotip : 46 XX



Resim 1: 13.1 no'lu olguya ait G bantlı metafaz ve karyogram örneği



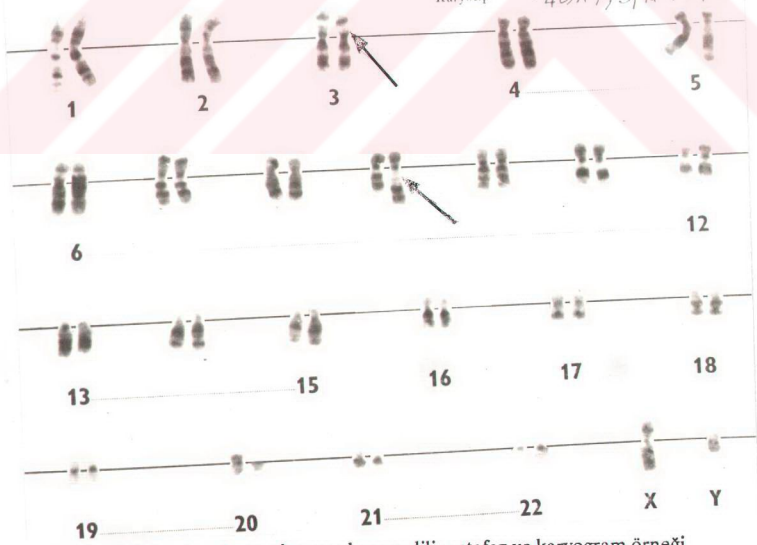
Resim 2: 7 no'lu olguya ait G bantlı metafaz ve karyogram örneği



Resim 3: 9.1 no'lu olguya ait G bantlı metafaz ve karyogram örneği



Laboratuvar No: G-59/11
Karyotip : 46,XY,3p11-,9qh+



Resim 4: 9.1 no'lu olguya ait yapısal anomali metafaz ve karyogram örneği



Resim 5: 7 nolu olguya ait C bandlı metafaz örneği, 46XX



Resim 6: 9.1 nolu olguya ait C bandlı metafaz örneği, 46, XY, 9qh+



Resim 7: 8.1 no'lu olguya ait C bantlı metafaz örneği, 46, XY,q +

TARTIŞMA

Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerle ilgili çalışmalar sonucunda, düşüklerin pekçok nedeni olduğu anlaşılmıştır. Anatomik, endokrin, immünolojik ve genetik nedenler bunların içindedir. Bazen de tüm bu nedenler söz konusu olmadan da düşükler görülmüştür. Tekrarlayan düşüklere neden olan parental kromozom anomalilerinin düşüğe sebebiyet vermesinin % 5 oranında olduğu bildirilmektedir. Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde, sırasıyla en çok resiprok translokasyonlar, robertson translokasyonlar, inversiyonlar, seks kromozom anöploidileri görülmektedir(8,11,15,73,79). Tüm bu anomalilerin saptanması için rutin uygulamada kolaylıkları gözönünde bulundurularak G bant tekniği kullanılmıştır. Gerekli görülen olgularda heterokromatin bölgelerin gösterilmesi için C bant tekniği de uygulanmıştır.

Bantlı metafaz plaklarının fotoğraflarının eldesinde İLFORD PAN F (50 ASA), KODAK TECHNICAL PAN (25 ASA) ve AGFA ORTHO (25 ASA) siyah-beyaz filmler denenmiş, elde edilen sonuçlar değerlendirilerek yeşil ve yeşilin tonlarına duyarlı ve ince grenli bir film olan AGFA ORTHO (25 ASA) hem bu özelliğinden, hem de diğer iki filme göre daha ekonomik olmasından ötürü tercih edilmiştir.

Çalışma grubunda sayılan 770 metafazın 22'sinde otozom anöploidisi görülmüştür. Fakat aynı bireyde rastlanan anöploid metafazların hep-

si farklı kromozomların anöploidileri olduğundan, bunların teknikten kaynaklandığı ve gerçek bir mozaik yapıyı yansıtmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

1, 9, 16 numaralı kromozomlar üzerindeki heterokromatin bölgelerin polimorfizmi ile tekrarlayan düşükler arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu ileri süren yayınlar olduğu gibi(29,31,33,52), bunun aksini savunan yayınlar da vardır(7,40,55).

Gagne ve ark. özellikle 9 numaralı kromozom üzerindeki heterokromatin bölgesinin I. mayoz bölünme sırasında mikronukleus ile ilişkide olduğunu göstermişlerdir(29). Bazı yazarlar bu bulguya dayanarak, 9qh bölgesinin boyut ya da pozisyon farklılıklarının fetusun gelişimini bozup, canlılık oranını azaltabileceğini ileri sürmektedirler(52). Biz de çalışma grubumuzda yer alan bir olguda 46,XY, 9qh+ kromozom yapısı saptadık. Yine aynı olgunun bir metafazında rastlanan 3 no'lu kromozomun kısa kolunun, proksimal bölgesinin (3p14 bölgesi) delesyonu ve iki ayrı metafazda görülen 2 ve 18 numaralı kromozomun kromatid tipi kırıkları, hastanın radyoloji bölümünde çalıştığı gözönüne alınarak, somatik mutasyon olarak değerlendirilmiştir.

1, 9, 16 no'lu kromozomlar üzerindeki heterokromatin bölgeler yanısıra Y kromozomunun uzun kolunun distalindeki heterokromatin bölgesinin polimorfizminin de tekrarlayan düşüklerle ilişkili olduğunu ileri süren yayınların yanısıra(60,64,87) tersini savunan yayınlarda(7,86) bulunmaktadır. Bizim çalışma grubumuzda 2 erkekte Yq+ tesbit edilmiştir.

4.1 no'lu olguda sayılan 30 metafazdan birinde 46,XY, r(18) kromozom yapısı saptanmıştır. Fakat küçük mozaiklerin gerçek olup olmadığının anlaşılmasındaki güçlük ve kültür koşullarından kaynaklanabilecek artefaktlar gözönünde bulundurulurken, bir tek metafazda gözlenen bu anomali sporadik bir olay olarak değerlendirilmiştir(19). Söz konusu çiftin takibi sırasında 6 aylık dizigotik ikiz düşükleri oldu. Düşüklerde yapılan kromozom analizlerinde az sayıda ve kalitesiz metafazlar elde edilebildi. Bantla-

ma çalışmaları başarılı olmadı sayılabilen metafazlarda 46,XX; 46,XY kromozom yapıları gözlemlendi. Bu bulguda babada saptanan 46,XY, r(18) yapısının sporadik bir olay olduğu kanımızı güçlendirdi. İkinci trimester düşükleri daha çok anatomik nedenlerden dolayı olduğundan ve 4 no'lu olguda servikal yetmezlik bulunduğu ve düşüklerin patolojik inceleme sonuçlarında da herhangi bir anomaliye rastlanmadığından dizigotik ikizlerde anormal bir sitogenetik bulgu beklenmemekteydi.

Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerin seks kromozom anöploidileri yönünden normal popülasyona göre artmış bir riske sahip olduğu ile ilgili yayınların yanısıra(72), bunun aksine, herhangi bir fark olmadığını, ileri süren yayınlar da vardır(39,44).

Singh ve ark. tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda X kromozom mozaizmini, yenidoğan popülasyonunda gözlenen orandan 8 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir(72). Çift uterus bulgusu olan 3 no'lu olguda % 4 oranında 45,XO/46,XX kromozom yapısı gözledik. Bu bulgumuz Sider ve ark. (1988) yayınlarıyla uyum içerisindedir(70). Küçük oranda mozaik saptanan olgularda lenfosit kültürünün yanısıra deri fibroblast ve gonadal doku kültürleri de yapılmalıdır. Çünkü, çok sık bölünmeye uğrayan lenfosit hücrelerinde mozaizm oranı normal kromozom yapısındaki hücreler lehine değişebilmektedir(19,72).

Bu tez düşük yapan çiftlerin rutin incelenmelerinde hangi sitogenetik yöntemlerin kullanılmasının uygun olacağını tesbiti amacıyla yapılmış bir ön çalışmadır.

ÖZET

Tekrarlayan düşükleri olan çiftler toplumun % 1'ini oluşturmaktadır. Çiftlerin jinekolojik, endokrinolojik, immünolojik açıdan incelenmelerinin yanında, sitogenetik olarak da incelenmesi hem klinik, hem de çiftlere verilecek genetik danışma açısından oldukça önemlidir.

Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde % 5 oranında kromozomal aberasyonlara rastlanılmaktadır. En sık görülen anomaliler, sırasıyla resiprok translokasyonlar, robertson translokasyonları, inversiyonlar, seks kromozom anöploidileridir.

Çalışmada, tekrarlayan düşükleri olan 15 çift ve iki düşük materyali sitogenetik açıdan G ve gerekli olduğunda C bant yöntemleri kullanılarak incelenmiştir. Sayılan toplam 770 metafazın 22'sinde anöploidi, 2'sinde yapısal anomali bulunmuştur.

Tartışma bölümünde bulgular literatürle karşılaştırılarak yorumlanmıştır.

Bu çalışma, ilerde düşük yapan çiftlerin rutin incelemelerinde hangi sitogenetik yöntemlerin kullanılmasının uygun olacağını tespiti amacıyla yapılmış bir ön çalışmadır.

SUMMARY

The couples who have multiple abortions form the 1% of the whole population. Besides gynecological, endocrinological and immunological examination the cytogenetic analysis is quite essential for the genetic counselling given to them.

In the 5% of the couples with multiple miscarriages chromosomal aberrations are found. Reciprocal translocations, robertsonian translocations, inversions and sex chromosome aneuploidies are the most frequently seen anomalies respectively.

In this study, 15 couples and 2 abortus materials were analyzed cytogenetically, using G and when necessary C banding methods. 22 aneuploidies and 2 structural anomalies were found among 770 metaphases counted.

In the "Discussions" part the findings were interpreted by comparison with the literature.

This study is a preliminary study which is done to determine which cytogenetic method will be convenient to be used in the future routine examinations of the couples having repeated abortions.

KAYNAKLAR

- 1- Atasü T., Onat E, Kadri (1985) Toksoplazmoz ve Gebelik.
- 2- Bağcı H., Bağcı G., Lüleci G., Güz K., Acar A. (1989): Spontan abortus, ölü doğum ve erken yaş bebek ölümleri (Üreme Kayıpları) olan çiftlerde sitogenetik çalışmalar. Akd.Ü.Tıp Fak. Dergisi, Cilt: IV, Sayı: 1.
- 3- Başaran N., Tıbbi Genetik (1985).
- 4- Başaran N., Hassa H., Özalp S., Solak M., Başaran A., Artan S. (1987): Multipl spontan abortuslu çiftlerde kromozom analizi. Anadolu Tıp Dergisi, C: 9, s.285-295.
- 5- Bernstein R., Wade A., Rosendorff J., Wessels A., and Jenkins T. (1986): Inverted Y chromosome polymorphism in the gujerati muslim indion population of south africa. Hum. Genet. 74.223.229.
- 6- Bhasin M.K., Foerster W., and Fuhrmann W. (1973): A Cytogenetic Study of Recurrent Abortion Humangenetik 18.139-148.

- 7- Blumberg B.O., Shulkin J.D., Rotter J.I., Mohandas T. and Kaback M.M. (1982): Minor chromosomal variants and major chromosomal anomalies in couples with recurrent abortion. *Am.J.Hum.Genet.* 34.948-960.
- 8- Braekeleer M., and Dao T.N. (1990): Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum. Reproduction*, Vol. 5, No: 5, pp.519-528.
- 9- Bortotto L., Baccichetti C., Lenzini E., Tenconi R., Delfendi N. and Cauvfin D. (1980): Cytogenetic survey of couples with habitual abortion and other reproductive wastage. *clin. Genet.*: 17, 56-57.
- 10- Boue J., Taillemite J.L., Hazael-Massieux P., Leonard C. and Boue D. (1975): Association of pericentric inversion of chromosome 9 and reproductive failure in ten unrelated families. *Hum. Genet.* 30.217-224.
- 11- Bouroullou G., Colombies P. and Dastugue N. (1986): Chromosome studies in 2136 couples with spontaneous abortion. *Hum Genet.* 74.399-401.
- 12- Byrd J.R., Askew D.E. and Mc Donough P.G. (1977): Cytogenetic findings in fifty-five couples with recurrent fetal wastage. *Fertil. Steril* 28-246-250.
- 13- Campana M., Serra A. and Neri G. (1986): Role of chromosome aberrations in recurrent abortion. A Study of 269 balanced translocations. *Am. J. Med. Genet*: 24, 341-356.
- 14- Carp H.J.A., Toder V., Mashiach S., Nebel L. and Serr D.M. (1990): Recurrent Miscarriage: A Review of current concepts, immune mechanisms, and results of treatment. *Obstet.Gynecol. Survey* Vol: 45:10.

- 15- Castle D. and Bernstein R. (1988): Cytogenetic Analysis of 688 couples experiencing multiple spontaneous abortions. *Am.J.Med.Genet.* 29, 549-556.
- 16- Cenani,A.: Sitogenetik Ders Notları (1987). İ.Ü.C.T.F. Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü.
- 17- Cenani A.: Genetik Hastalıkları ve Genetik Danışma. Ayın Kitabı (1989). Teratojenik faktörlerle oluşan hastalıklar ve genetik danışma 38-51.
- 18- Cenani A. (1970): Normal yenidoğan plasentası ve spontan düşüklerin fibroblast kültürlerinde sitogenetik araştırmalar. Doçentlik Tezi.
- 19- Cenani A. (1973): Kromozom anomalili çocuklar ve fetüslerin anne ve babalarında kromozom incelemeleri. *İst. Çocuk Kliniği C.9*, Sayı: 1-2, s.41-46.
- 20- Chandley A.C., Maclean N., Edmond P., Fletcher J. and Watson G.S. (1976): Cytogenetics and infertility in man II. Testicular histology and meiosis. *Ann.Hum.Genet.* 40, 165-176.
- 21- Chandley A.C., Edmond P., Christie S., Gowans L., Fletcher J., Frackiewicz A. and Newton M. (1975): Cytogenetic and infertility in man. I.Karyotype and seminal analysis. *Ann.Hum.Genet.*, 39, 231-254.
- 22- Connor J.M., Ferguson-Smith M.A. (1991) *Essential Medical Genetics*. (Third Edition).
- 23- Chappelle De La A., Schröder J. and Kokkonen J. (1973): Cytogenetics of recurrent abortion or unsuccessful pregnancy. *Fertil. Steril* 18:245-249.

- 24- Davis J.R. and Hagaman R.M. (1987): Fragile sites on unrelated to reciprocal translocation breakpoints. *Clin* 31:208310.
- 25- Davis J.R., Weinstein L., Veomett I.C., Shenker L., Giles H.R. and Hauck L. (1982): Balanced translocation karyotypes in patients with repetitive abortion. Case Study and Literature Review, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 144, 229-232.
- 26- Daya S., Clark D.A., Devlin C., Jarell J. (1985): Preliminary characterization of two types of suppressor cells in the human uterus. *Fertil. Steril.* Vol.: 44, No:6, 778-785.
- 27- Deviren A.: Prometafaz bantlama (High Resolution Banding) yönteminin metafaz bantlama yöntemine üstünlükleri. Yüksek Lisans Tezi (1987).
- 28- Drugan A., Koppitch F.C., Williams J.C., Johnson M.P., Maghissi K.S. and Evans M.I. (1990): Prenatal genetic diagnosis following recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol.* Vol. 75, No: 3, Part 1, 381-384.
- 29- Erdtmann B. (1982): Aspects of evaluation, significance and evolution of human C band heteromorphism. *Hum.Genet.* 61:281-294.
- 30- Faed M.J.W., Robertson J., Lamont M.A. and Wolstenholme J. (1980): Cytogenetic Studies in patients with a history of multiple abortions. *Clin.Genet.* 17, 64.
- 31- Ford J.H., Callen D.F., Jahnke A.B. and Roberts C.G. (1983): Interactions between C bands of chromosomes 1 and 9 in recurrent reproductive loss. *Hum.Genet.* 65, 58-62.

- 32- Ford J.H., Russell A.J. (1985): Differences in the error mechanisms affecting sex and autosomal chromosomes in women of different ages within the reproductive age group. *Am.J.Hum.Genet.* 37:973-983.
- 33- Ford J.H., Callen D.F., Jahnke A.B. and Roberts C.G. (1982): Within pair differences of human chromosome 9, C bands associated with reproductive loss. *Hum.Genet.* 61:360-363.
- 34- Fraccaro M., Lindsten J., Fard C.E. and Isellius L. (1980): The 11q;22q translocation a European collaborative analysis of 43 cases. *Hum.Genet.* 56, 21-51.
- 35- Fryns J.P., Kleczkowska A., Kubien E., Petit P. and Vanden Berghe H. (1984): Cytogenetic survey in couples with recurrent fetal wastage. *Hum.Genet.* 65, 336-354.
- 36- Genest P., Genest F.B. (1985): The influence of the length of the human X chromosome on spontaneous abortions. A prospective study in family lines with inherited polymorphic X chromosomes. *Ann. Genet. (Paris)* 28, 143-148.
- 37- Gill J.T.: Immunogenetics of spontaneous abortions in humans. *Transplant.* (1983), Vol. 35, No: 1, 1-6.
- 38- Hacıhanefioğlu S.: 1990-1991 Sitogenetik Ders Notları. İ.Ü.C.T.F. Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü.
- 39- Hassold T.J., Jacobs P.A., and Pettay D. (1988): Cytogenetic studies of couples with repeated spontaneous abortions of known karyotype. *Genet.Epidemiol.* 5, 65-74.
- 40- Hemming L., and Burns C.: Heterochromatic polymorphism in spontaneous abortion, 1 (1979), *J.Med.Genet.* 16:358-362.

- 41- Heritage D.W., English S.C., Young F.B. and Chen A.T.L. (1978): Cytogenetics of recurrent abortions. *Fertil, Steril* 29, 414-417.
- 42- Higgins M.D., Palmer C.G.: Single cell translocations in couples with multiple spontaneous abortions. *Hum.Genet.* (1987), 75:24-27.
- 43- Holzgreve W., Schonberg S.A., Douglas R.G., and Golbus M.S. (1984): X-chromosome hyperploidy in couples with multiple spontaneous abortions. *Obstet.Gynecol.* 63, 237-240.
- 44- Horsman D.E., Dill F.J., Mc Gilliuray B.C. and Kalousek D.K. (1987): X chromosome aneuploidy in lymphocyte cultures from women with recurrent spontaneous abortions. *Am.J.Med.Genet.* 28, 981-987.
- 45- Iselius L., Lindsten J., Aurias A., and Fraccaro M. (1983): The 11q;22q translocation: A collaborative study of 20 new cases and analysis of 110 families. *Hum.Genet.* 64, 343-355.
- 46- Jones W.H., Jones G.E.S.: Double Uterus as an etiological factor in repeated abortion: Indications for surgical repair (1953). *Am.J.Obst.Gynec.* Vol. 65, No 5, 325-339.
- 47- Kajii T., and Ferrier A. (1978): Cytogenetics of aborters and abortuses. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 131, 33-38.
- 48- Kaosaar M.E., and Mikelsaar A.V.N. (1973): Chromosome investigation in married couples with repeated spontaneous abortions. *Hum.Genet.* 17, 277-283.
- 49- Kardon N.B., Davis J.G., Berger A.L. and Broekman A. (1980): Incidence of chromosomal rearrangements in couples with reproductive loss. *Hum.Genet.* 53, 161-164.

- 50- Khudr G. (1974): Cytogenetics of Habitual Abortion. *Obstet.Gynecol.Surv.* 29:299-310.
- 51- Kim H.J., Hsu L.Y.F., Pociuc J., Christian S., Quintana A. and Hirschedhorn K. (1975): Cytogenetics of fetal wastage. *N.Engl.J.Med.* 293, 844-847.
- 52- Korsak E. (1981): The 1, 9 and 16 polymorphic chromosomes in families with reproductive failure. *Clin.Genet.* 19:513.
- 53- Kroisel M.P., Rosenkranz W.: High resolution banding of an unusual reciprocal translocation in recurrent abortions. (1990). *Clin.Genet.* 37:230-234.
- 54- Lauritsen J.G. (1976): Aetiology of spontaneous abortion. A cytogenetic and epidemiological study of 288 abortuses and their parents. *Acta.Obstet.Gynecol.Scand.* (Suppl) 52.
- 55- Maes A., Staessen C., Hens L., Vamos E., Kirsch-Volders M., Lauwers M.C., Defrise-Gussenhoven E. and Susanne C. (1983): C heterochromatin variation in couples with recurrent early abortions. *J.Med.Genet.*, 20, 350-356.
- 56- Mameli M., Cardia S., Milia A., Aste A., Santucci S., Gennazzani A.R. (1984). Cytogenetic study in 50 couples with recurrent abortions. *Gynecol.Obstet.Invest.* 17, 84-88.
- 57- Mennuti M.T., Jingeleski S., Schwartz R.H., and Mellman W.J. (1978): An evaluation of cytogenetic analysis as a primary tool in the assesment of recurrent pergnancy wastage. *Obstet.Gynecol.* 52, 308-313.

- 58- Nazarenko S.A. and Puzgrev V.P. (1985): Genetic drift of marker Y chromosome del (Y) (q12) in Khanty from the lower Ob river. *Hum. Genet.* 71:100,102.
- 59- Neu R.L., Entes K. and Bannerman R.M. (1979): Chromosome analysis in cases with repeated spontaneous abortions. *Obstet.Gynecol.* 53, 373-375.
- 60- Nielsen J. (1978): Large Y chromosome (Yqt) and increased risk of abortion. *Clin.Genet.* 13, 415-416.
- 61- Nordenson I. (1981): Increased frequencies of chromosomal abnormalities in families with a history of fetal wastage. *Clin.Genet.* 19:168-173.
- 62- Palmer C.G., Schwartz J. and Hodes M.E. (1986): Transmission of a balanced homologous t(22q;22q) translocation from mother to normal daughter. *Clin.Genet.* 17, 418-422.
- 63- Papp Z., Gardo S. and Dolhay B. (1974): Chromosome study of couples with repeated spontaneous abortions. *Fertil.Steril.* 25:713-737.
- 64- Patil S.R. and Lubs H.A. (1977): A possible association of long Y chromosomes and fetal loss. *Hum.Genet.* 35:233-235.
- 65- Priest J.H.: *Medical cytogenetics and cell culture second edition.* 1977, Philadelphia.
- 66- Reinisch L.C., Silver K.L. and Dumars K.W. (1981): Sex chromosome mosaicism in couples with repeated fetal loss. *Am.J.Hum.Genet.* 33, 117S.

- 67- Sachs E.S. Jahoda M.G.J., Van Hemel J.O., Hoogeboom A.J.M. and Sandkuyl L.A. (1985): Chromosome studies of 500 couples with two or more abortions. *Obstet.Gynecol.* 65:375-378.
- 68- Schlegelberger B., Gripp K., Grote W.: Common fragile sites in couples with recurrent spontaneous abortions (1989). *Am.J.Med.Genet.* 32:45-51.
- 69- Schwartz S. and Palmer C.G. (1983): Chromosomal findings in 164 couples with repeated spontaneous abortions. With special consideration to prior reproductive history. *Hum. Genet.* 63, 28-34.
- 70- Sider D., Wilson W.G., Sudduth K., Atkin J.F., Kelly T.E.: Cytogenetic studies in couples with recurrent pregnancy loss (1988). *South-Med.J.* Vol. 81, No 12, 1521-1524.
- 71- Simpson J.L., Elias S. and Martin A.O. (1981): Parental chromosomal rearrangements associated with repetitive spontaneous abortions. *Fertil.Steril.* 36:584-590.
- 72- Singh D.N., Hara S., Foster H.W. and Grimes E.M. (1980): Reproductive performance in women with sex chromosome mosaicism. *Obstet.Gynecol.* 55:608-611.
- 73- Soh K.I., Yajima A., Ozawa N., Abe Y., Takabayashi T., Sato S., Sou S., Suzuki M. (1984): Chromosome analysis in couples with recurrent abortions. *Tohoka J.Exp.Med.* 144, 151-163.
- 74- Stenchever M.A., Parks K.S., Daines T.L., Allen M.A., Stenchever M.R. (1977): Cytogenetics of habitual abortion and other reproductive wastage. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 127:143-150.
- 75- Stoll C. (1981): Cytogenetic findings in 122 couples with recurrent abortions. *Hum.Genet.* 57, 101-103.

- 76- Stray-Pedersen B. and Stray-Pedersen S. (1984): Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortions . *Am.J.Obstet.Gynecol.* 148; 140-146.
- 77- Subrt I. (1980): Reciprocal translocation with special reference to reproductive failure. *Hum.Genet.* 55, 303-307.
- 78- Saylı B.S.: *Medikal Sitogenetik* (1986).
- 79- Tharapel A.T., Tharapel S.A. and Bannerman R.M. (1985): Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *Br.J.Obstet.Gynaecol.* 92, 899-914.
- 80- Therman E.: *Human chromosomes* (1986).
- 81- Üçsel F., Kuseyri F., Karaman B., Güler A., Kılıç G., Başaran S., Yüksel-Apak M.: Yineleyen düşükleri olan çiftlerde sitogenetik bulgular. II. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi, 1990.
- 82- Toth A., Goal M., Bosze P. and Zaszlo J. (1984): Chromosome abnormalities and 118 couples with recurrent spontaneous abortious. *Gynecol.Obstet.Invest.* 18, 72-77.
- 83- Tsenghi C., Metaxotou-Stavridaki C., Strataki-Benetou M., Kalpini-Mavrou A. and Matsaniotis N.: Chromosome studies in couples with repeated spontaneous abortions (1976). *Obstet.Gynecol.* Vol. 47, No 4, 463-468.
- 84- Tsenghi C., Metaxotou C., Kalpini-Movrov A., Strataki-Benetou M. and Matsaniotis N. (1981): Parental chromosomes translocations and fetal loss. *Obstet.Gynecol.* 58, 456-458.

- 85- Verma R.S., Evans Mc Calla M., Dosik H.: Human chromosomal heteromorphisms in American Blacks. II. Higher Incidence of Longer Y Owing to Non-Fluorescent (nf) Segment (1982). J.Med.Genet. 19:297-301.
- 86- Werma R.S., Shah I.V., and Dosik H. (1983): Size of Y chromosome not associated with abortion risk. Obstet. Gynecol. 61, 633-634.
- 87- Verp M.S., Rzeszotarski M.S., Martin A.O., and Simpson J.L. (1983): Relationship between Y chromosome length and first trimester spontaneous abortions. Am.J.Obstet.Gynecol. 145, 433-438.
- 88- Warburton D., Kline J., Stein Z., Hutzler M., Chin A., Hassold T.: Does The karyotype of a spontaneous abortion predict the karyotype of a subsequent abortion? Evidence from 273 women with two karyotype spontaneous abortions (1987). Am.J.Hum.Genet. 41:465-483.
- 89- Yaralı H., Aksu T., Gökşin E.: Tekrarlayan düşük ve fetal kayıpta immünolojinin rolü. Jin. ve Obstet. Dergisi, 5:45-49 (1991).