

T. C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Anabilim Dalı Başkanı
Doç. Dr. Turgay BUDAK

Prematüre Yenidoğan Bebeklerde Kromozom Analizi

(DOKTORA TEZİ)
Araş. Gör. S. Sennur DEMİREL

DOKTORA YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Nurettin BAŞARAN

FIŞLENDİ

T. C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	
Tasnif No.	

DİCLE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	38261
Tasnif No.	618.920 DEM
	1984

Diyarbakır, 1984

T E Ő E K K Ü R

Çalışmalarım süresince, büyük yardım ve desteklerini gördüğüm, doktora yöneticim sayın Doç.Dr. Nurettin BAŞARAN'a, yakın ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, Anabilim Dalı Başkanımız sayın Doç.Dr. Turgay BUDAK'a, öğretim üyeleri; sayın Doç.Dr. Ferhan PAYDAK'a, sayın Doç.Dr. Ali KELLE'ye ve araştırma görevlisi sayın Dr. M.Nail ALP'e, materyal alımında her türlü kolaylığı gösteren, Fakültemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ile Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı sayın öğretim üyelerine, araştırma görevlilerine, hemşirelerine ve tüm mesai arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

Arş.Gör. S.Sennur DEMİREL

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa No</u>
GİRİŞ	1 - 3
GENEL BİLGİLER	4 - 16
GEREÇ VE YÖNTEM	17 - 23
BULGULAR	24 - 49
TARTIŞMA	50 - 58
SONUÇ	59 - 60
ÖZET	61 - 62
KAYNAKLAR	63 - 72

G İ R İ Ő

1956 yılından sonra geliştirilen teknikler yardımı ile insan kromozomlarının ışık mikroskobu altında kolaylıkla gözlenip, incelenebilmesi, kromozomlardaki sayı ve yapı değişimleri ile ilgili birçok sendromun oldukça ayrıntılı bir şekilde tanımlanmalarına olanak sağlamıştır.

İnsan kromozomları ilk kez 1879 yılında Arnold tarafından tümör hücrelerinde tarif edilmiştir. 1891'de Hansemann, 1898'de Flemming, insan kromozom sayısını saptamaya çalışmışlar, ancak kesin sayıyı öğrenebilmek için 1956 yılına kadar beklemek gerekmiştir. 1929 yılında Kemp'in doku kültürü tekniğini geliştirmesi, 1952'de Hsu ve Hughes'in hücreleri hipotonik bir eriyikte bekletip, kromozomların iyice açılmasını sağlamalarından sonra 1956'da Tjio ve Levan (71), insan fötusu akciğer fibroblastlarıyla yaptıkları doku kültürlerinde, bir mitotik iğcik ketvurucusu olan kolşisini (colchicine) ilk kez kullanarak, elde ettikleri metafaz plaklarında insan kromozom sayısının 46 olduğunu göstermiş (7, 64, 65, 69), aynı yıl bu bulgu Ford ve Hamerton (23) tarafından doğrulanmıştır. Daha sonraki yıllarda modern sitogenetik yöntemlerin uygulanması ile 1958'de Ford ve arkadaşları (24), aynı yıl Tjio ve Puck (72), 1959'da Chu ve Giles (15), 1960'da Moorhead ve arkadaşları (43) tarafından somatik hücrelerde diploid sayının 46 olduğu kesinlikle ortaya konmuştur.

1959 yılında, Lejeune ve arkadaşlarının Down sendromunun hücre bölünmesindeki bir hataya bağlı olduğunu ve aynı yıl Jacobs ve Strong'ın Klinefelter sendromunda bir başka kromozom düzensiz-

liği bulunduğunu bildirmeleri (65), mikroskopik olarak tanınabilen kromozom düzensizliklerinin insanda hastalık nedeni olabileceği konusunda araştırmaların yoğunlaşmasına neden olmuştur.

Başlatılmış bulunan bu yoğun çalışmalar, değişik kromozom düzensizlikleri ile seyreden birçok klinik sendromun peş peşe tanısına olanak sağlamıştır. Aynı şekilde çeşitli kanser olguları ile kromozom düzensizliği ilişkisi araştırılmış, normalde pek sık rastlanmıyan değişik düzensizlikler saptanmıştır (2, 58, 59). Böylece çeşitli sendromlarda kromozomların incelenmesi klinik olarak da anlam ve önem kazanmıştır.

Günümüzde saptanmış bulunan, kalıtsal hastalıkların bir kısmının tedavisi henüz mümkün değilken, bazılarının tedavisi çareleri bulunmuştur. Tedavisi olanaksız bir hastalığın önlenmesi, hastalığın prenatal tanısı ve medikal abortus ile mümkün görülmektedir. Gerek medikal abortusa başvurmak ve gerekse tıbbi müdahalelerle tedavi edilebilir kalıtsal hastalıkların gerekli önlemlerini gecikmeden alabilmek için, prenatal tanıyı sağlamak amacı ile amniosenteze başvurmak gerekir. Ancak şunu hemen ilave edelim ki; amniosentez kendine özgü riskleri olan ve hekimin mutlak gereksinim duyduğu hallerde başvurulması gereken bir işlemdir.

Yenidoğanlarda çeşitli fiziki kusurları gidermek amacıyla yapılacak tıbbi ve cerrahi müdahalelere karar vermede, özellikle seksüel gelişme bozukluklarının giderilmesi konusunda yapılacak müdahalenin yönünü saptamada kromozom analizi n koşuldur.

Yukarıda sözü edilen noktalardan hareketle, erken doğumlarla, kromozom düzensizlikleri arasında bir ilişkinin olup olma-

dığını araştırmayı amaçlayan bu çalışma ile belirli sayıda yeni-
doğan prematüre bebeğin kromozom analizleri yapılarak, toplum
sağlığı açısından da önemli bir görev yerine getirilmeye çalışıl-
mıştır.

GENEL BİLGİLER

İnsan kromozomlarının ilk kez 1857 yılında, Virchow tarafından görülmesine karşın, kromozom ile kalıtım arasındaki ilişki bu tarihten ancak çeyrek yüzyıl kadar sonra Weissman (1883), Strasburger (1884) ve von Kölliker (1885) tarafından ortaya konabilmiştir (2).

Kromozomların Morfolojik Özellikleri

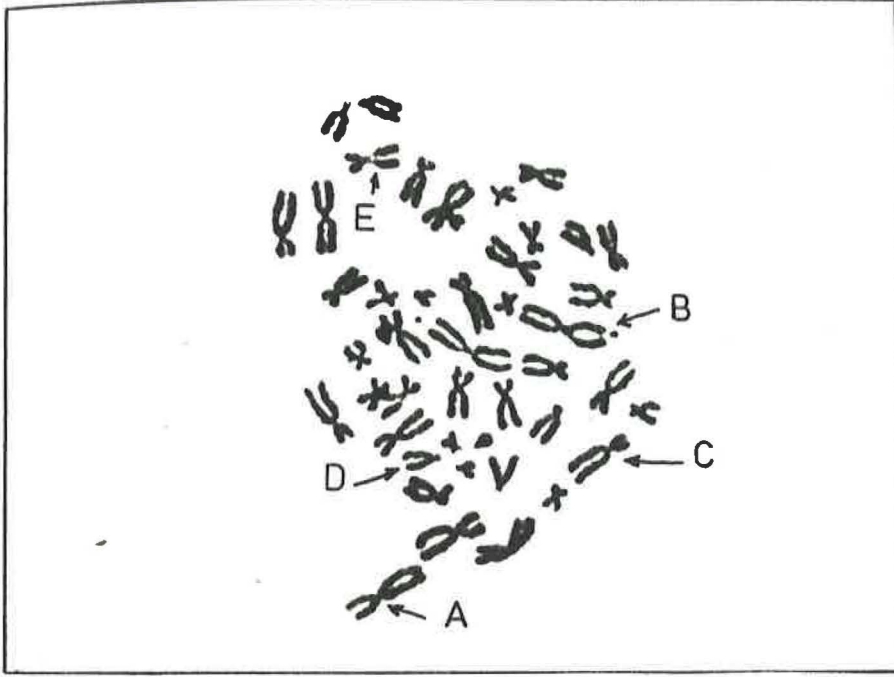
Sayıları 23 çift ($2n=46$) olan insan kromozomları ışık mikroskopu kullanılarak mitoz bölünmenin metafaz evresinde incelenirler. Normal kromozomlarda görülen bazı morfolojik özellikler şunlardır (Şekil 1, 2).

a) Sentromer. Her kromozomda yalnızca bir tane olan ve hücre bölünmesi sırasında kromozomların iğ iplikçiklerine tutunmasını sağlayan sentromer, kromozomların en soluk boya alan kesimidir (Şekil 1,A). Kromozomlar sentromerlerinin lokalizasyonuna göre üç gruba ayrılırlar ve bunların dışındaki örnekler genellikle normal sayılmazlar.

1) Median (metasentrik) kromozom. Sentromeri ortada ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlar (Şekil 1,B).

2) Submedian (submetasentrik) kromozom. Sentromeri merkezden uzak ve iki kolu birbirine eşit olmayan kromozomlar (Şekil 1,C).

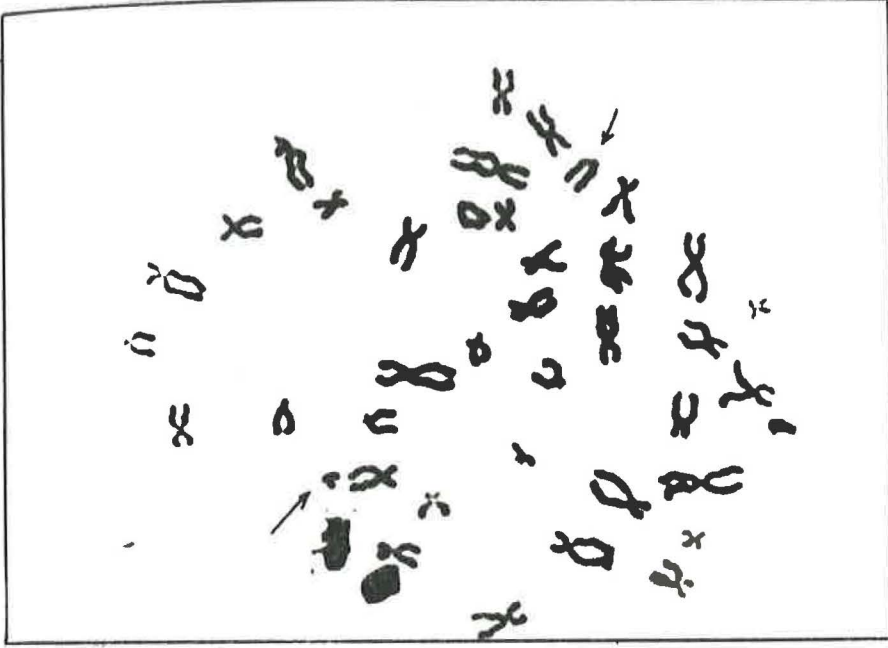
3) Akrosentrik kromozom. Sentromeri kromozomun bir ucuna yakın olan kromozomlar (Şekil 1,D).



Şekil 1. A. Sentromer, B. Median kromozom
C. Submedian kromozom, D. Akro-
sentrik kromozom, E. Sekonder
darlık.

b) Satellit (uydu). Belirli kromozomların kısa kollarına ince bir sapla bağlanan, yuvarlak düğme şeklindeki kromatin materyalidir (Şekil 2). D(13-15) ve G(21-22) grubu kromozomların hepsinin kısa kollarında bir satellit bulunur. Bunlar telofaz evresinden sonra çekirdekçiği yeniden meydana getiren oluşumlardır.

c) Sekonder darlık. Sentromerin tüm kromozomlarda bulunmasına karşın bu oluşumlar ancak belirli bazı kromozomlarda (1, 3, 6, 9, 11 ve 16 nolu kromozomlar) görülürler (Şekil 1, E). Bunların da satellitler gibi çekirdekçik oluşumu ile ilgili oldukları sanılmaktadır (7).



Şekil 2. Satellit (uydu).

Kromozomların Adlandırma Sistemi

İnsan somatik hücre kromozomlarını sınıflandırmaya ait çalışmalar Ford ve arkadaşları (24), Tjio ve Puck (72), Chu ve Giles (15), Levan ve Hsu (37), Fraccaro ve Lindsten (25) tarafından yapılmıştır. Bulguları standartlaştırmak ve belli ilkeleri saptamak için 1960 yılında Denver'de (A.B.D.) genetikçilerin ilk uluslararası toplantısı yapılmıştır. Bu toplantıda kabul edilen sisteme, Denver Klasifikasyonu denilmektedir (36, 53). Ancak, ortaya konan sistemin eksiklerini tamamlamak üzere daha sonra bir dizi uluslararası toplantılar yapılmıştır (1963 Londra, 1966 Chicago ve 1971 Paris Konferansı) (7,65, 69). Böylece Denver Klasifikasyonu geliştirilmiş ve insan kromozomları standardizasyona tabi tutularak ortak bir adlandırma sistemi kabul edilmiştir. Buna göre ifade edilmek istenen tüm bilgi bir formülle verilmektedir. Formülde önce total kromozom sayısı, sonra cinsiyet kromozom-

larının yapısı ve sonra da eğer varsa, kromozom düzensizlikleri belirtilmektedir.

Kabul edilen sisteme göre insan kromozomları 7 gruba ayrılmakta (A, B, C, D, E, F, G) ve cinsiyet kromozomları dışındaki kromozomlar en büyükten başlamak üzere 1-22 arasında numaralanmaktadır. Bazı kriterler esas alınarak ayrılan kromozomlar Denver Sistemine göre sıralanarak karyotip hazırlanmaktadır (Şekil 3, 4).

Kromozom Düzensizlikleri

Karakterlerin kuşaktan kuşağa değişmeden aktarılmasını sağlayan kromozomlar, şekil, büyüklük ve sayı bakımından her canlı türü ve o tür içindeki ait olduğu birey bakımından sabit ve karakteristiktir. Normalde 46 olan insan kromozomları bazen hem sayı hem de yapı bakımından değişiklikler gösterebilir.

A. Sayısal Düzensizlikler

1) Üploid (euploidy). Kromozom sayısındaki artış ya da azalmaların temel kromozom sayısının ($n=23$) tam katları kadar olması.

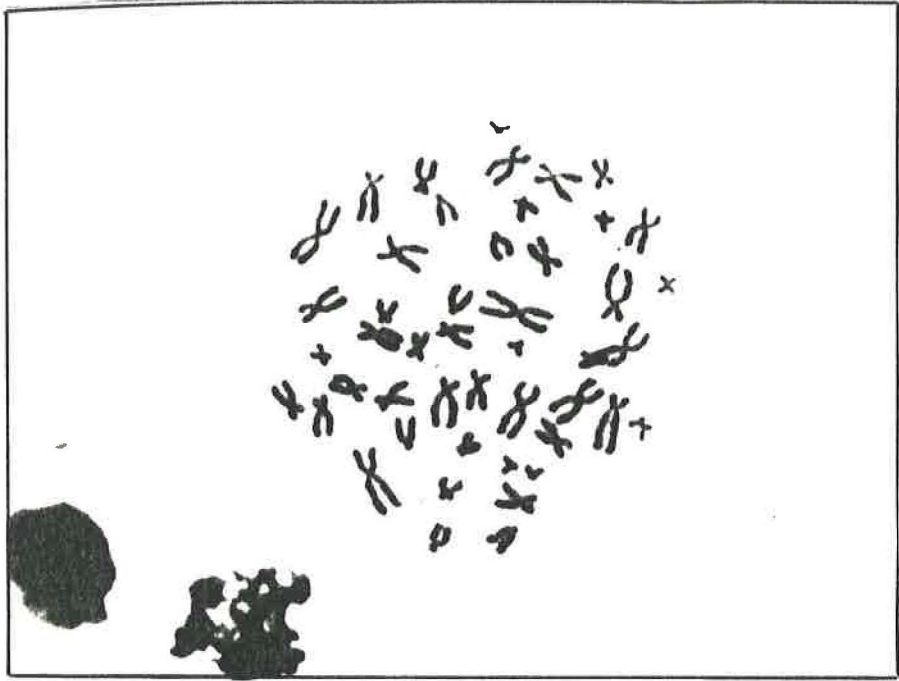
a) Triploid. Temel sayının 3 katı kromozom bulunması.

b) Tetraploid. Temel sayının 4 katı kromozom bulunması (Şekil 23).

c) Yüksek poliploidiler. Karyotipte $4n$ den daha fazla kromozom bulunması.

2) Anöploid (aneuploidy). Temel sayının tam katları kadar olmıyan artma ya da eksilmelerdir.

a) Hiperploid (hyperploidy). $2n+1$ ve $2n+2$ gibi



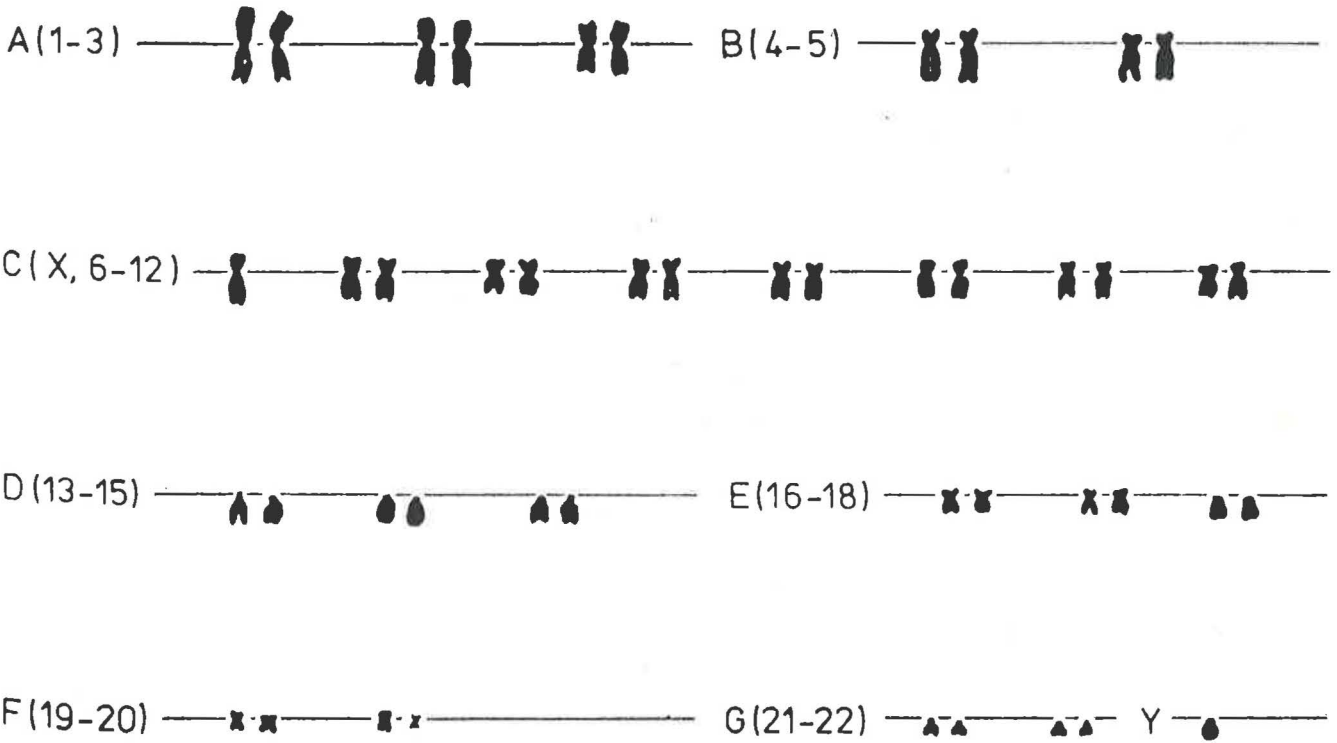
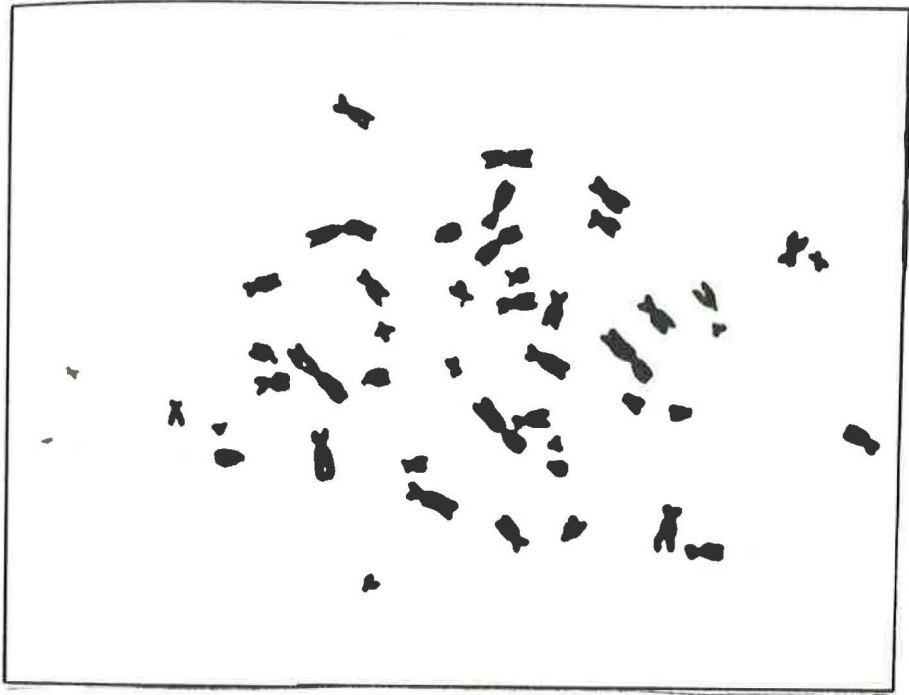
A(1-3) — X X — X X — X X — B(4-5) — X X — X X —

C(X, 6-12) — X X — X X — X X — X X — X X — X X — X X — X X —

D(13-15) — A A — A A — A A — E(16-18) — X X — A A — A A —

F(19-20) — X X — X X — G(21-22) — A A — A A — Y —

Şekil 3. Denver sistemine göre hazırlanmış normal bir kadına ait karyotip.



Şekil 4 . Denver sistemine göre hazırlanmış normal bir erkeğe ait karyotip.

kromozom sayısındaki artmalar (Şekil 7).

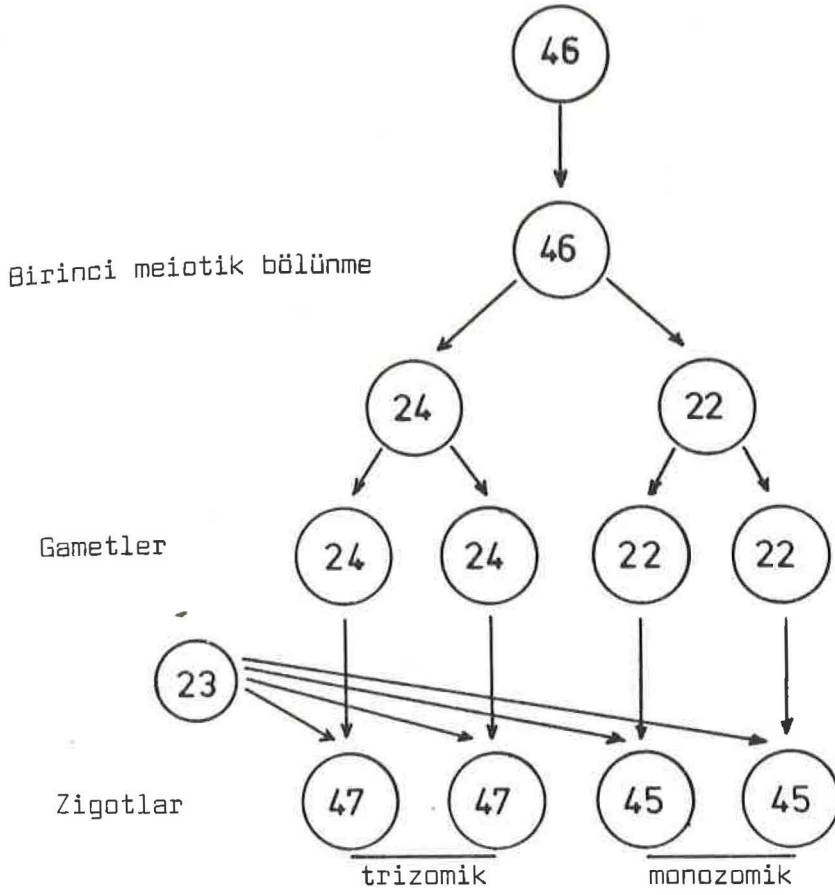
b) Hipoploidi (hypoploidy). $2n-1$ ve $2n-2$ şeklindeki kromozom sayısı azalması.

Anöploidinin Oluş Nedenleri

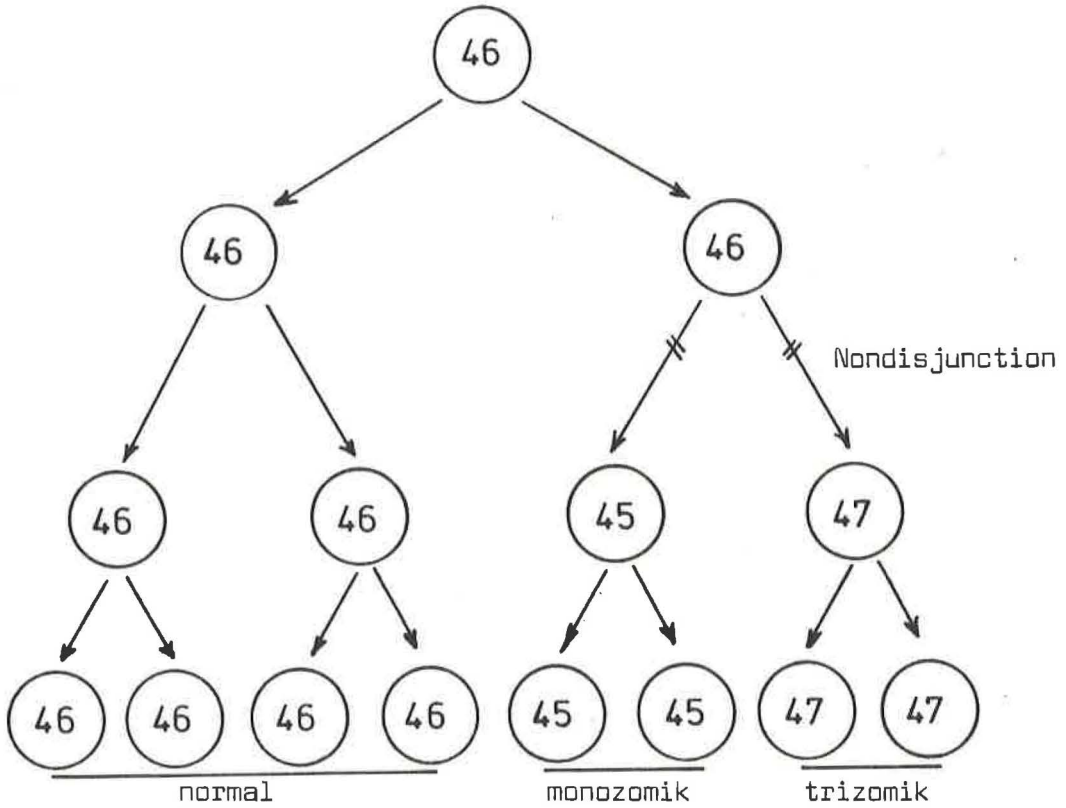
Hücrenin bölünmesi sırasında ortaya çıkan kusurlar nedeniyle anöploidiler oluşur ve başlıca iki yolu vardır:

1) Kromozom Ayrılmaması (nondisjunction). Bu olay, iki ayrı hücreye gitmesi gereken bir kromozom çiftinin her iki üyesinin birbirinden ayrılmayıp yeni hücreye gitmesidir. Böylece gametlerden birinde adı geçen kromozomdan hiç bulunmayacak, diğer gamette ise normalde bir adet bulunması gereken kromozomdan iki adet bulunacaktır. Böyle bir gamet söz konusu kromozomdan normal olarak bir adet ihtiva eden karşı cinsteki gametle birleşince meydana gelen zigotta bu kromozomdan üç adet bulunacaktır (Şekil-5). Böyle bir hücreye trizomik adı verilmektedir. Buna karşılık, bölünme kusuru sonucu ilgili kromozomu taşımayan gamet normal gametle birleşecek olursa, o zaman da kişide normalden bir kromozom eksik olacak ki böylelerine de monozomik denilmektedir (Şekil-5). Trizomik duruma örnek: Down sendromu (trizomi 21), Klinefelter sendromu (47,XXY), Edwards sendromu (trizomi 18) (Şekil 7). Monozomik duruma örnek: Turner sendromu (45,X0), monozomi G sendromu.

Mitoz bölünmedeki kromozom ayrılamaması, döllenmeden sonraki evrelerde olacak olursa, kusurun ortaya çıktığı zamana bağlı olarak, kişinin hücrelerinin kromozom sayısı bir kısmında normalden fazla bir kısmında normalden az olacaktır. Yani kişinin hücrelerinin bir kısmı monozomik bir kısmı trizomik olacak, dolayısıyla kişi mozaik olacaktır (Şekil 6).



Şekil 5. Kromozomların ayrılmaması (nondisjunction) olayı.



Şekil 6. Post-zigotik nondisjunction sonucu mozaisizmin meydana gelişi.

2) Kromozomların Anafazda Geri Kalması (anaphase lagging).

Normal olarak uzunlamasına bölünerek kutuplara çekilmekte olan kromozomlardan biri anafazda geri kalır. Hareket etmekte geç kalan bu kromozom ya özdeşinin bulunduğu kromozom grubuna katılır ya da bölünme sırasında ortadan kaybolur. Eğer özdeşinin bulunduğu hücrede kalacak olursa, bir hücrede aynı kromozomdan bir yerine iki tane bulunurken diğer hücrede hiç bulunmayacağı için sonuç bakımından kromozom ayrılamamasına benzer.

B) Yapısal Düzensizlikler

1) Eksilme (deletion). Kromozomun küçük bir parçasının kopup ayrılması (Şekil 17, 24, 35).

2) Artma (duplication). Homolog (eş) olan ya da olmıyan iki kromozomdan birinden kopan bir parçanın diğer kromozoma eklenmesi.

3) Kırık. Kromozomun herhangi bir bölgesinde, bir kromatid enini aşan ve kromozom ekseninden sapan boyanmamış bölgeler.

a) Kromatid kırığı. Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin, kromozomun bir kromatidinde görülmesi (Şekil 15, 19, 20, 21).

b) İzokromatid kırığı. Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin, kromozomun her iki kromatidinde ve eş kesimlerde görülmesi (Şekil 36).

4) Gap (aralık). Kromozomun her hangi bir bölgesinde, kromatidin enini geçmiyen ve kromozom ekseninden sapmamış, boyanmamış bir bölgenin görülmesi.

a) Kromatid gap. Gap olarak değerlendirilen düzensizliğin, kromozomun bir kromatidinde görülmesi (Şekil 17, 18).

b) İzokromatid gap. Gap'in kromozomun her iki

kromatidinde görülmesi (Şekil 24, 37).

5) İki sentromerli kromozom. Kromozomda bir yerine iki sentromerin (dicentric) bulunması (Şekil 33).

6) Sentromersiz kromozom (asentrik kromozom). Biri-birine paralel duran, sentromerleri görünmeyen ya da bulunmayan kromozomlar (Şekil 22).

7) Halka (yüzük, ring) kromozom. Kromozom iki ucunun birleşerek yüzük görünümü oluşturması.

8) Satellit asosiasyonu. Büyük ve küçük akrosentrik kromozomların metafaz plaklarında beklenenden daha sık olmak üzere kısa kollarındaki uyduları birbirine çevirmiş biçimde biraraya gelerek, rozet biçimi toplanmaları (Şekil 26, 27, 28, 29).

9) İri satellitler. D ve G grup kromozomlardaki satellitlerin normalden büyük görülmeleri (Şekil 32).

Kromozomlarda Sayısal ve Yapısal Düzensizliklere Neden Olan Çevresel Faktörler

Fiziksel (iyonize ışınlar), kimyasal (farmakolojik ürünler, pestisidler) ve biyolojik (virüsler) etkenlerin memeli hayvanlarda ve insanlarda başkalaştırıcı (mutajenik) etkiye sahip olmaları nedeniyle, kromozom düzensizlikleri oluşturdukları birçok araştırıcı tarafından rapor edilmiştir (10, 11, 12, 20, 51, 65, 69).

Bir ajanın teratojenik olup olmadığı annenin gebelik esnasında belirli bir ajanın etkisinde kalması sonucu, çocuklarında spontan sıklığından daha fazla sıklıkla anomali görülmesi ile kanıtlanabileceği gibi, deney hayvanlarında yapılan incelemelerle de teratojenik faktörler belirlenebilmektedir (19, 42, 44, 63).

Fiziksel Mutajenler

iyonize ışınımın (radyasyon) kromozomlarda yaptığı morfolojik değişiklikler çok öncelerden beri bilinmektedir. Son yıllarda ufak dozlarda ve uzun süre etkili olabilen radyasyonun, nükleer patlamalardan daha tehlikeli olduğu; genetik materyalinde başkalaşıma (mutasyon) sebep olarak, sonraki kuşaklara kadar devam eden bir etki meydana getirebileceği açıklanmıştır (69).

Tedavi veya tanı nedeniyle kullanılan bir rad kadarlık küçük dozdaki maternal irradiasyonun, özellikle yaşlı kadınlarda trizomi görülme olasılığını artırdığı ileri sürülmektedir (19).

Hiroşima ve Nagasaki'de, atom bombasının etkisi ile mikro-sefalili bebeklerin doğum sıklığının arttığı, atomik komisyonca hazırlanan raporlarda bildirilmiştir (1).

Diğer fiziksel etkenlerden ısının da teratojenik etkisi hayvanlarla yapılan deneylerde açıklanmıştır. Anormal ısının baş, gözler ve kalpte anomaliler oluşturduğu ileri sürülmüştür (16, 17).

Kimyasal Mutajenler

Alkilleyici ajanlar, baz analogları, proflavin, akridin boyaları, hidroksil amin, ozon, antibiyotikler, pestisidler, LSD ve sitotoksik ilaçları kimyasal mutajenler arasında sayabiliriz.

Zamanımızda insanlığın kullanımına sunulan iki milyon geçitten fazla sayıda kimyasal madde mevcuttur. Her geçen yıl ortalama iki bin ile dört bin yeni kimyasal madde kullanıma sunulmaktadır. Bunlardan sadece belirli bir kısmının mutajenik ve kanserojenik etkileri incelenmiş, geriye kalan büyük çoğunluğun insanlara ne getirip ne götürdüğü bilinmemektedir (6). Besin maddelerinde

doğal olarak bulunan bazı flavonoidler, pyrolizinidin alkaloidleri, renk verici ve koruyucu olarak kullanılan birçok maddenin de mutajenik özelliklerinin varlığı yeni yeni anlaşılmaktadır(6).

Pestisid adı verilen tarım ilaçlarının yoğun biçimde kullanılması, besin zinciri boyunca kademe kademe yoğunlaşarak birikmekte ve birçok olumsuz etkiler meydana getirmektedirler. Bitkisel ve hayvansal, tüm besinlerde biriken bu tür insektisid rezidüleri, beslenme zincirinin son halkasında bulunan insan için sürekli bir zehirlenme potansiyeli yaratmaktadır. Teratojen etkileri olup olmadığı kesin olarak kanıtlanmamış olmakla birlikte (34, 60, 74) erken ve anormal doğan bebeklerin kanında, normal sürede doğanlarınkine oranla daha fazla DDT türevlerine rastlanmıştır (55).

İlaçların insan kromozomlarına olan etkisi ancak 1960'lardan sonra, kromozom tekniklerinin gelişmesini takiben incelenmeye başlanmıştır. Bu çalışmalardan sonra, birçok ilacın insan kromozomlarında morfolojik değişmelere neden olduğu ortaya konmuştur. Birçok ilacın prenatal gelişmeyi bozduğu, bazı ilaçların embriyotoksik etkiye sahip olması yanında, bazıları da anomali nedenidirler.

Bazı toplumlarda LSD'nin kontrolsüz bir şekilde kullanılması, kromozomlarda morfolojik bozukluklara neden olmuş, anneleri hamilelikleri sırasında LSD kullanan bebeklerin ekstremitelerinde şekil bozukluklarının meydana geldiği saptanmıştır (5, 13, 27, 73).

Thalidomide gibi bazı ilaçların alınımı da, insan fötüsü üzerinde büyük şekil bozukluklarına neden olduğu 1959 yılından beri bilinmektedir.

Son yıllarda kronik alkolizmin teratojenik olduğu Jones ve arkadaşları (32, 33) tarafından bildirilmiş, gebelik öncesi ve gebelik sırasında bu tür alkolik annelerin bebeğinde çeşitli anomalilerin olduğu kaydedilmiştir.

Virüslerin Kromozomlara Etkisi

Virüslerin kromozom düzensizliklerindeki etyolojik rolü son yıllarda birçok araştırmacıya konu olmuştur (1, 31). SV 40 virüsü, kızamıkçık, kızamık, kabakulak, su çiçeği, enfeksiyöz hepatit, Rous Sarkom Virüsü, EB Virüsü gibi birçok virüsün in vitro ve in vivo etkileri incelenmiş, kromozom düzensizliklerine neden oldukları saptanmıştır (69).

Gebeliğin ilk aylarında annenin kızamıkçık geçirmesinin katarakt oluşumuna neden olduğu (41), enfeksiyöz hepatit geçiren annelerde Down sendromu olasılığının arttığı düşünülmüştür (68).

Özet olarak, doğumsal anomalilerin kimyasal, mekanik, metabolik, enfeksiyöz ve immünolojik gibi ekzojen faktörler sonucu olduğu, çoğunlukla tek sorumlu ajan belirlemenin güç olduğu anlaşılmaktadır.

G E R E Ç V E Y Ö N T E M

A. GEREÇ

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Prematüre Bebek Servisine yatan, ağırlıkları doğum yaşına göre az olan 96 prematüre bebekte kromozom analizi yapılmıştır. Ayrıca kadın doğum kliniğinde normal doğan 20 bebek kontrol grubu olarak alınmıştır.

1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- a. Chromosome Medium 1A, Lyo. (Gibco)
- b. Chromosome Medium 1A, Diluent (Gibco)
- c. Colcemid
- d. Potassium Chloride
- e. Heparin (Liquémine, Roche)
- f. Acetic Acid Glacial (Merck)
- g. Methanol (Merck)
- h. Giemsa Stain, pH 6.8 (Merck)
- ı. Xylol (Merck)
- i. Kanada Balzamu (Rhenohistol, Merck)

2. Aygıtlar ve Gereçler

- a. Kuru hava sterilizatörü (Kötterman)
- b. Etüv (Heraeus)
- c. Zaman ayarlı santrifüj (Hettich Universal II)
- d. Mikroskop (Bausch-Lomb)
- e. Elektronik duyarlı terazi (0.1 mg'a kadar hassas Bosch)

- f. Mikrofotografi aygıtı (Ernst Leitz Wetzlar Germany Mikroskop + Reichert Austria Kam ES-Electronic Camera System for Photomicrography)
- g. Değişik çapta enjektörler ve pipetler
- h. Şaleler
- ı. 15 ml'lik konik santrifüj tüpleri
- i. Lam ve lamel (24x32 mm)
- j. Mezürler
- k. Film (Orwo, 15 DIN 25 ASA, siyah-beyaz)
- l. Capillary Tubes
- m. Rubber Bulbs
- n. Rubber Stoppers

B. YÖNTEM

Kromozomlar biribirlerinden ayrılmış olarak ancak hücre mitotik bölünmesinin metafaz evresinde görülebilirler. Kromozom analizlerinin yapılabilmesi için elimizde yeterli sayıda metafaz plağı bulunmalıdır. Oysa normal insanda lenfositler % 1 gibi çok düşük bir oranda spontan mitoz bölünme gösterirler (40). Bu nedenle fitohemaglutinin (phytohemagglutinin) denilen bir madde ile hücre kültürlerindeki lenfositlerin suni olarak mitoz sokulmaları (9) ve sonra da kolşisin adlı diğer bir madde ile hücrelerin bölünmelerinin metafazda durdurulması gerekir.

Lenfositlerin fitohemaglutininle temastan 48 saat sonra birinci ve 72 saat sonra daha büyük bir oranda olmak üzere ikinci mitotik bölünmeye girdikleri bilinmektedir (9). Bu nedenle rutin çalışmalarda hücreler kültür ortamlarında 72 saat bırakılırlar. Bu süre içinde hayatiyetlerini devam ettirebilmeleri için hücreler,

esasını amino asitler, vitaminler ve minerallerin teşkil ettiği kültür ortamları içinde muhafaza edilirler. Bu ortamlarda ayrıca % 15 oranında insan veya dana serumu bulunmalıdır. Ortamın ısısı 37^o C ve pH sı 7,2-7,4 olmalıdır.

Bu çalışmada Moorhead ve arkadaşlarının (43) geliştirmiş oldukları makrokültür tekniğinin modifiye edilmiş şekli olan ve mikroteknik ya da tüm kan tekniği olarak bilinen yöntem (2, 7, 65, 69) uygulanmıştır.

Bu yöntemin aşamaları şöyle olmaktadır:

1. Özel sulandırıcı ve liyofilize chromosome medium kullanılmadan önce oda ısısında bir süre bekletilir.
2. Beş ml özel sulandırıcı (special diluent) ile liyofilize chromosome medium sulandırılır. Ölçüm işleminde 5 ml'lik serolojik pipet kullanılır.
3. Sulandırılan vasat 15 dakika kadar 37^oC lik etüvde bekletilir.
4. Kan alınırken topuk ya da parmak ucu, steril bir gazlı bez kullanılarak alkolle temizlendikten sonra steril lansetle delinir. Lanset yalnızca bir kez kullanılır.
5. Kapiller tüpe lastik damlalığı takılarak hazırlanır.
6. Steril koşullarda kapiller tüp heparin ile doldurulup boşaltılarak ıslatılır.
7. Heparinize kapiller tüp, steril lansetle delinen yere konularak kapiller tüpün tamamen dolması sağlanır. Lastik damlalık sıkılarak tüpteki kan etüvdeki 5 ml'lik kültür vasatınaboşaltılır.
8. Vasat şişesinin ağzı kapatılarak kan ve vasatın karışması için iki el arasında yeterince çevrilir.

9. Hücreler 37°C lik etüvde 70 saat süreyle inkübe edilir.

10. İnkübasyon periyodunun 70 inci saati dolmadan 30 dakika kadar önce, 5 ml distile su ile sulandırılan liyofilize colcemid 37°C lik etüve konulur. Eğer sıvı colcemid solüsyonu kullanılacaksa önce bunu çözülüp sonra etüvde 15 dakika bekletilir.

11. Yetmiş saat sonra hücre kültürünün inkübasyonu tamamlanmıştır. Bu süre sonunda kültür şişesi etüvden çıkarılarak iki el arasında dikkatlice çevrilerek hücrelerin karışması sağlanır.

12. Her kültür şişesine iki damla (0,05 ml) colcemid solüsyonundan konulur.

13. Kültür şişesi iki el arasında çevrilerek karıştırılır, iki saat süreyle 37°C lik etüvde bekletilir.

14. Kültür şişesi iki saat sonra etüvden çıkarılır, dikkatlice çevrilerek karıştırılır. 15 ml hacimli santrifüj tüpüne boşaltılır.

15. Tüpler 8 dakika süre ile 750-900 rpm de santrifüj edilir. Santrifüj işlemi sürerken, hipotonik solüsyon (0,075 M Kcl) etüve konarak sıcaklığı 37°C ye getirilir.

16. Santrifüj işlemi sonunda tüpteki süpernatant (üstteki sıvı) atılarak dipte 0,25-0,5 ml hücre çöküntüsünün (sediment) kalması sağlanır. Bu çöküntü hafif hafif pipetaj (pipetle süspanse etme) yapılarak karıştırılır.

17. Hipotonik solüsyondan 2 ml'lik partiler halinde her tüpe 6 ml konulur ve konulan her 2 ml den sonra hafifçe pipetaj yapılır.

18. 37°C lik etüve konarak 8 dakika bekletilir. Bekleme sırasında tespit solüsyonu (3 metanol - 1 asetik asit) hazırlanır ve buzdolabına bırakılır.

19. Tüpler etüvden alınarak 750-900 rpm de 8 dakika süreyle santrifüj edilir.

20. Süpernatant pipetle alınır, dipteki çöküntü pipetaj yapılarak yavaşça karıştırılır.

21. Tüpteki çöküntü üzerine soğuk tespit solüsyonundan 2 ml lik partiler halinde 6 ml konularak dikkatlice pipetaj yapılır.

22. Tüplerin ağzı lastik tıpa ile sıkıca kapatıldıktan sonra buzdolabına konularak en az 30 dakika bekletilir.

23. Tüplerin tıpaları çıkarıldıktan sonra 8 dakika süreyle 750-900 rpm de santrifüj edilir.

24. Süpernatant atılır, çöküntü hafifçe pipetaj yapılarak karıştırılır.

25. Madde 21 deki işlem tekrarlanır. Tüpün ağzı kapatılarak en az 30 dakika süreyle buzdolabında bırakılır.

26. Tüpler 750-900 rpm de 8 dakika santrifüj edilir, süpernatant atılır.

27. Tüp dibindeki çöküntü karıştırılarak bir pastör pipetine yavaşça çekilir.

28. Bir pensle % 70 lik metanol dolu şaledeki soğutulmuş lamlardan biri çıkarılır, kurutma kağıdı üzerinde durdurularak fazla metanolü alınır.

29. Pastör pipetine çekilen hücre suspansiyonundan 6-8 damla lam üzerine damlatılır.

30. Pensle tutulan lam bunzen beki alevinden hızla geçirilir, etüvde kurutulur. Su ve alkol lekeleri kaybolduktan sonra lam etüvden alınır ve her lamın kime ait olduğu üzerine yazılır.

Boyama

1. % 5 lik Giemsa boyası bir şale içerisine boşaltılır, daha önce kurutulmuş ve hazırlanmış olan lamalar bu şalenin içine dizilir.

2. Lamlar 6-8 dakika sonra fazla boyaları gidinceye kadar musluk suyuna tutulur ve havada kurumaya bırakılır.

3. Lamlar iyice kuruduktan sonra içi xylol dolu şalelere batırılır ve lam üzerindeki fazla xylol kurutulur.

4. Lam üzerine kanada balzamu damlatılarak lamel kapatılır, balzamin fazlası sıkıştırılarak alındıktan sonra preparat kuruma-ya bırakılır.

Değerlendirme

Üzerine ait olduğu kişinin protokol ve preparat numarası yazılmış preparatlar, mikroskopta incelemeye alınır. Önce küçük büyütmeleli objektifle taranarak iyi nitelikli hücreler (metafaz plakları) önceden hazırlanmış bilgi işlem formuna yazılır. Hücreler daha sonra immersiyon objektifi ile incelenerek sırasıyla şunlar yapılır;

1. Her olgu için yeteri sayıda (30-40) hücredeki kromozomlar sayılarak varsa düzensizlikleri ile birlikte bilgi işlem formundaki özel bölümlerine yazılır.

2. Mikroskop incelemesi ile ortaya çıkan bilgi işlem formundaki bilgiler değerlendirilir. Kusurlu hücrelerin sayısına, yapısına ve oranına bakılır. İncelenen kişinin durumu normal görünüyorsa, inceleme bu aşamada bırakılır. Bazı kusurlar saptanmışsa bir diğer aşama olan fotoğraf çekimi işlemine geçilir.

3. Seçilen hücrenin (metafaz plağının) fotoğrafı, immersion objektifi ve 25 ASA lı film kullanılarak çekilir. Her pozdan ikişer adet fotoğraf kartına basılır. Kart üzerinde sayısal ve yapısal düzensizlik değerlendirilmesi tekrarlanır. Biri kontrol olarak bırakılır, diğeri ile karyotip yapılarak düzensizliğin hangi grup kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışılır.

B U L G U L A R

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Prematüre Bebek Servisine yatan bebeklerden 24 kız, 72 erkek olmak üzere toplam 96 prematüre bebeğin kromozom analizleri yapılmış, kromozomlardaki sayısal ve yapısal düzensizlikler araştırılmıştır.

Prematüre bebeğe sahip olan annelerin hamile oldukları süre içinde ilaç kullanıp kullanmadıkları, herhangi bir hastalık geçirip geçirmediikleri, radyolojik tetkiklerin yapılıp yapılmadığı, sigara ve içki alışkanlıkları ve eşleri ile olan akrabalık durumları araştırılmıştır. Elde edilen bilgiler Çizelge 1A,B de verilmiştir. Bu çizelgedeki akrabalık durumu sütunundaki birinci yeğen; ayrı ayrı yani yabancı kimselerle evlilik yapmış kardeş çocukları arasındaki akrabalık; ikinci yeğen; yabancı kimselerle evlilik yapmış birinci yeğen çocukları arasındaki akrabalık; üçüncü yeğen; yabancı kimselerle evlilik yapmış ikinci yeğen çocukları arasındaki akrabalık olarak belirtilmiştir. Çalışmamızda kan yakını evlilik oranı % 38 olarak saptanmıştır. Annenin geçirdiği hastalıklar sütununda hamilelik sırasında veya hamilelikten kısa süre önce geçirilen hastalıklar gösterilmiştir.

Çalışmamız sırasında sayısal ve yapısal kromozom düzensizlikleri saptadığımız 29 bebeğin cinsiyetleri, ağırlıkları, incelenen metafaz plağı sayıları Çizelge 2A,B de verilmiştir. Bu çizelgedeki bebek adı ve soyadı sütununda isimlendirilmemiş bebekler X olarak, ikizler de yıldız işareti ile belirtilmişlerdir. Satellit

asosiasyonu sütunundaki N normal, S sık anlamında kullanılmıştır.

Kromozom analizlerini yaptığımız 96 bebekten birinde sayısal (% 1,04) (Trizomi 18 Sendromu, Şekil 7), 29 unda yapısal (% 30,2) düzensizlikler saptanmıştır. Çizelge 2A,B de görüldüğü gibi hastanemize başvuran erkek bebek sayısı, kız bebek sayısından oldukça fazladır. Ancak kromozom düzensizlikleri kız bebeklerde daha yüksek oranda bulunmuştur (% 33,3). Erkeklerde ise % 29,1 oranındadır.

Prematüre bebeklerde ikiz olma oranı % 6 gibi yüksek bir değerde saptanmıştır. İkizlerden iki tanesi doğum sırasında, bir tanesi kromozom araştırması için kan alındıktan bir gün sonra eksite olmuşlardır. Tek yumurta ikizi olan diğer iki bebeğin kromozom analizlerinde mitotik indeksin çok yüksek olduğu (Şekil 8), satelit asosiasyonu oranının her iki bebekte aynı ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 9).

Çizelge 2A,B deki 12 sıra numaralı trizomi 18 sendromu ilk kez 1960 yılında Edwards tarafından tarif edilmiştir. Klasik ya da basit trizomili olgularda, 18 numaralı kromozomun iki yerine karyotipte üç tane bulunması sonucu çok sayıda doğumsal anomali ortaya çıkmaktadır. Hastamızdaki doğumsal anomalileri şöyle sıralıyabiliriz:

- 1) İntrauterin gelişme geriliği (1650 gr),
- 2) Şekil bozukluğu gösteren düşük kulaklar ve çökük burun kökü (Şekil 10),
- 3) Küçük ağız ve küçük çene,
- 4) Parmaklar fleksiyon pozisyonunda, işaret parmağı orta parmak ve beşinci parmak dördüncünün üzerine binmiş durumda (Şekil-11),

- 5) Tipik dermatoglifik bulgular ve el ayasındaki simian çizgi (Şekil 12),
- 6) Ayaklarda anomali, baş parmak öne doğru çıkık (Şekil - 13),
- 7) Testislerden biri skrotuma inmemiş (Şekil 14),
- 8) Ses kısıklığı ve emme zorluğu,
- 9) Mental ve motor gerilik.

Ayrıca aynı olguda kromozom kırıkları da saptanmıştır (- Şekil 15).

Hastamızın prognozu ve cerrahi müdahalelerin gereksizliği aileye açık olarak anlatılmış, ayrıca ilerde doğacak çocuklarda aynı hastalığın görülme olasılığına ait genetik bilgi verilmiştir. Bu sendrom şitogenetik olarak mutant tipte olduğundan, yani bir fazla 18 numaralı kromozomun bulunuşu (Şekil 7) sebebiyle meydana geldiğinden, tekrarlama ihtimali bu hastalığın normal populasyonda görülme oranından fazla değildir. Üç araştırmacıya göre bu oran 1/4500 (14), 1/7000 (7), 1/15 000 (67) olarak verilmiştir.

17 sıra numaralı vakanın sağ el parmaklarında adaktili (Şekil 16), sitogenetik araştırmalarında da terminal delesyon, minik kromozom ve kromatit kırıkları saptanmıştır (Şekil 12). Annenin hamileliğinin başlangıcında, hamile olduğunu bilmeden safra kesesi enfeksiyonundan dolayı yüksek dozda ilaç kullandığı ve radyolojik tetkik yaptırdığı öğrenilmiştir.

Üç ölü doğumdan sonra dünyaya gelen 87 sıra numaralı bebeğin kromozomlarında gap (Şekil 18) ve kırıklar (Şekil 19,20,21) saptanmıştır. Ancak annenin solunum yolları enfeksiyonundan dolayı antibiyotik tedavisi gördüğü öğrenilmiştir.

Doğum ağırlığı 1350 gr olan 14 sıra numaralı bebek, üç normal ve üç abortustan sonra dünyaya gelmiştir. Kromozom çalışmalarında sentromersiz kromozom saptanmıştır (Şekil 22). Anne üç normal doğumdan sonra böbrek ameliyatı geçirdiğini ve sürekli tansiyon ilacı kullandığını, abortusların ve bu bebeğin ameliyattan sonra meydana geldiğini belirtmiştir. Normal doğan çocuklardan birinde septal defekt diğerinin geri zekalı oldukları, annenin kendi kardeşinin de geri zekalı olduğu öğrenilmiştir. Bu olguda babanın sürekli alkol kullandığı da saptanmıştır.

Doğum ağırlığı 1100 gr olan 42 sıra numaralı bebekte poliploidi (Şekil 23) ve diğer sayısal düzensizlikler saptanmıştır. Bebek doğumunun dördüncü gününde eksite olmuştur.

Klinik bulguları, ayak eklemleri düzensiz, göz kapakları şişkin ve sesi kalın olan 63 sıra numaralı bebeğin sitogenetik araştırmasında izokromatid gap, delesyon (Şekil 24) ve satellit asosiasyonunun yüksek olduğu saptanmıştır (Şekil 25,26,27).

Bazı preparatlarda sık gözlenen, bugün için bir düzensizlik gibi değerlendirilmeyen, ancak anöploidilerin genezisinde rol oynadıkları düşünülen satellit asosiasyonlarının çeşitli tipleri Şekil 28,29,30 ve 31 de gösterilmiştir.

Birçok kromozom düzensizliklerine neden olan kırıklar, özellikle anneleri hamilelikleri sırasında mutajenik etkilerle karşılaşmış olan bebeklerde daha sık görülmüştür. Kırıklar daha çok kromatid kırığı şeklinde saptanmıştır (Şekil 19,20,21).

Bazı preparatlarda D ve G grup kromozomlarında satellitler normalden büyük olarak gözlenmiştir (Şekil 32).

Bazı olgularda seyrek olarak disentrik kromozom (Şekil 33, 34), delesyon (Şekil 35), izokromatid kırık (Şekil 36), izokromatid gap (Şekil 37), kırık ve gaplar görülmüş, satellit asosiasyonlarına sıklıkla rastlanmıştır.

B U L G U L A R I N
Ş E K İ L V E Ç İ Z E L G E L E R İ

SIRA NO	ANNE YAŞI	BABA YAŞI	AKRABALIK DURUMU	ANNENİN İLAÇ KULLANIP KULLANMADIĞI	ANNENİN GEÇİRDİĞİ HASTALIK	RÖNTGEN ÇEKTİRİP ÇEKTİRMEDİĞİ	ALKOL ALIŞKANLIĞI		SİGARA ALIŞKANLIĞI	
							ANNE	BABA	ANNE	BABA
2	30	37	İkinci yeğen	-	-	-	-	+	-	+
3	32	32	-	-	-	+	-	-	-	-
6	28	38	-	-	-	-	-	+	-	+
8	38	38	-	-	-	-	-	-	-	-
9	23	30	-	ANTİBİYOTİK	İDRAR YOL EN.	-	-	+	+	+
12	20	21	Birinci yeğen	ANTİBİYOTİK	BÖBREK EN.	-	-	-	-	+
14	28	35	-	TANSİYON İL.	BÖBREK AME.	+	-	+	-	+
17	25	30	-	ANTİBİYOTİK	SAFRA KESE.	+	-	-	-	+
19	21	21	-	-	-	-	-	-	-	+
23	23	26	-	-	-	-	-	-	-	+
26	32	40	Birinci yeğen	-	-	-	-	-	-	+
27	32	40	Birinci yeğen	-	-	-	-	-	-	+
33	20	25	-	-	-	-	-	-	+	+
37	25	35	-	-	-	-	-	-	+	+

ÇİZELGE I A. KROMOZOM DÜZENSİZLİKLERİ SAPTANAN BEBEKLERİN ANNE VE BABALARININ DOĞUM ÖNCESİ DURUMLARI.

SIRA NO	ANNE YAŞI	BABA YAŞI	AKRABALIK DURUMU	ANNENİN İLAÇ KULLANIP KULLANMADIĞI	ANNENİN GEÇİRDİĞİ HASTALIK	RÖNTGEN ÇEKTİRİP ÇEKTİRMEYİ	ALKOL ALIŞKANLIĞI		SİGARA ALIŞKANLIĞI	
							ANNE	BABA	ANNE	BABA
41	27	32	-	-	-	-	-	+	-	+
42	27	32	-	-	-	-	-	+	-	+
49	22	24	İkinci yeğen	-	-	-	-	-	-	+
50	26	33	-	ANTİBİYOTİK	TÜBERKÜLOZ	+	-	+	-	+
55	33	43	Birinci yeğen	-	-	-	-	-	-	-
58	31	39	-	-	-	-	-	-	-	-
63	20	27	Birinci yeğen	-	-	-	-	+	-	+
71	26	30	-	-	-	-	-	-	-	+
73	28	35	-	-	-	-	-	+	-	+
79	23	27	Birinci yeğen	-	-	-	-	-	+	+
84	24	28	-	-	-	-	-	+	-	+
85	29	38	-	-	-	-	-	+	+	+
87	20	21	Üçüncü yeğen	ANTİBİYOTİK	SOLUNUM YOLU	-	-	-	-	-
94	19	25	İkinci yeğen	-	-	-	-	-	-	-
95	21	30	Birinci yeğen	-	-	-	-	+	-	+

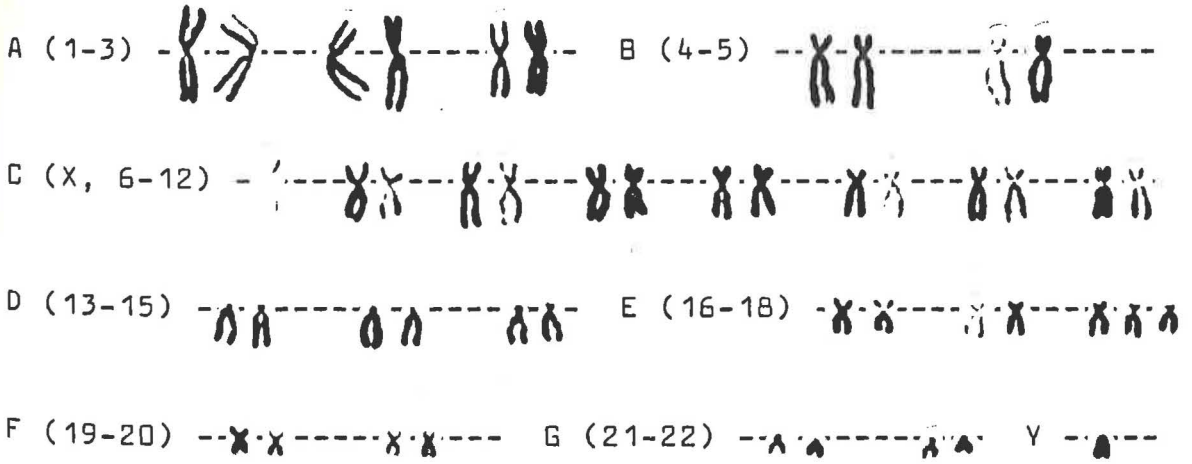
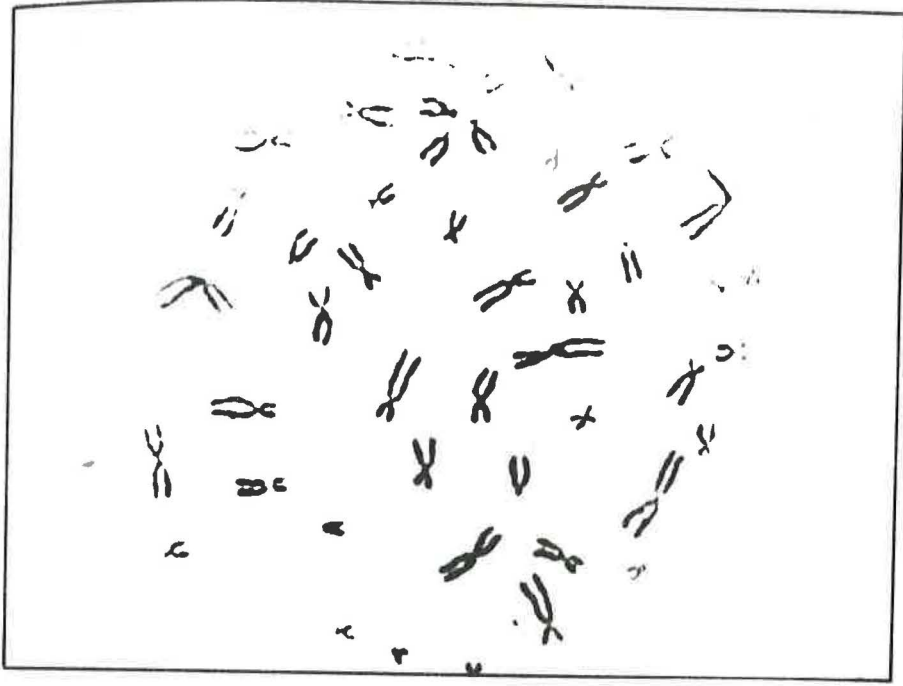
ÇİZELGE 1B. ÇİZELGE 1A'nın DEVAMI

SIRA NO	BEBEK SAYISI	CİNSİYETİ		AĞIRLIĞI (GR)	KROMOZONLARIN SAYISAL DAĞILIMI				İNCELENEN TOPLAM METAFAZ PLA.	GÖZLENEN YAPISAL DÜZENSİZLİKLER										
		K	E		45	46	47	47>		Delesyon	Kromatid Gap	izokrom. Gap	Kromatid Kırık	izokrom. Kırık	Disentrik Kromozom	Asentrik Kromozom	Minüt Kromozom	Gülle Satelite	Satelite Assosias.	
2	X. M	-	+	1650	1	38	1	-	39	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	N
3	A. O	-	+	1950	3	39	-	-	42	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	N
6	Q. M	+	-	2350	-	36	1	-	37	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
8	R. G.	-	+	1700	-	38	-	-	38	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	N
9*	X. T.	+	-	1370	-	38	1	1	40	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	N
12	İ. T.	-	+	1650	1	2	37	-	40	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	N
14	M. D.	-	+	1350	2	36	1	-	39	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	N
17	İ. A.	-	+	2250	1	37	-	-	38	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	N
19	X. K.	-	+	2200	-	35	-	-	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
23	X. İ.	+	-	2500	2	33	-	-	35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	N
26*	H. Ö.	-	+	2000	1	33	1	-	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
27*	H. Ö.	-	+	2050	-	33	2	-	35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	S
33	U. F.	-	+	2400	2	35	-	-	37	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	S
37	X. K.	-	+	1300	1	36	-	-	37	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	S

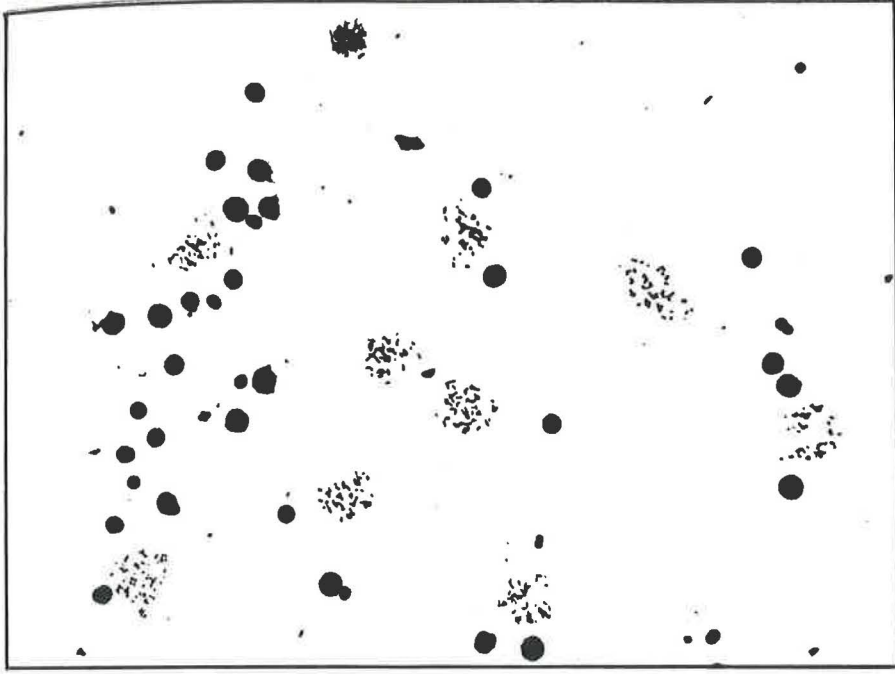
ÇİZELGE II A. DÜZENSİZLİK SAPTANAN BEBEKLERİN İNCELENEN HÜCRELERİNDE KROMOZOMLARIN SAYISAL DAĞILIMI VE YAPISAL DÜZENSİZLİKLER.

	BEBEK ADI SOYADI	CİNSİYETİ		AĞIRLI.	KROMOZOMLARI SAYISAL DAĞILIMI				İNCELENEN TOPLAM METAFAZ PLA	GÖZLENEN YAPISAL DÜZENSİZLİKLER										
		K	E		45	46	47	47>		Delesyon	Kromatid Gap	izokrom. Gap	Kromatid Kırık	izokrom. Kırık	Disentrik Kromozom	Asentrik Kromozom	Minüt Kromozom	Gülle	Satellite	Satellite Assosias.
41	*A. D.	+	-	1600	2	37	1	-	40	-	-	-	-	-	-	+	-	-	N	
42	*A. D.	+	-	1100	6	33	1	1	41	-	-	-	-	-	+	-	-	-	N	
49	X. K	-	+	1850	2	32	1	-	35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	S	
50	C. Y.	-	+	2300	1	35	1	-	37	-	-	-	+	-	-	-	-	-	N	
55	H. I.	+	-	1900	1	36	-	-	37	-	-	-	-	+	-	-	-	-	N	
58	X. C.	-	+	1900	-	37	1	-	38	-	-	-	+	-	-	-	-	-	S	
63	O. D.	-	+	2250	1	38	-	-	39	+	+	+	-	-	-	-	-	-	S	
71	X. A.	+	-	1450	-	36	2	-	38	-	-	-	-	-	-	-	-	+	N	
37	X. G.	-	+	1700	1	37	1	-	39	-	-	-	-	-	-	-	+	-	S	
79	X. C.	-	+	1300	1	32	-	-	33	+	-	-	-	-	-	-	-	-	S	
84	X. Y.	-	+	1700	1	35	-	-	36	-	-	-	+	-	-	-	-	-	N	
85	*X. K.	-	+	1200	2	36	-	-	38	-	+	-	-	-	-	-	-	-	N	
87	X. I.	-	+	2450	1	37	1	-	39	-	+	-	+	-	-	-	-	-	N	
94	A. K	+	-	1950	2	35	1	-	38	+	-	-	-	-	-	-	-	-	N	
95	X. B.	-	+	1250	1	37	1	-	39	-	-	-	+	-	-	-	-	-	S	

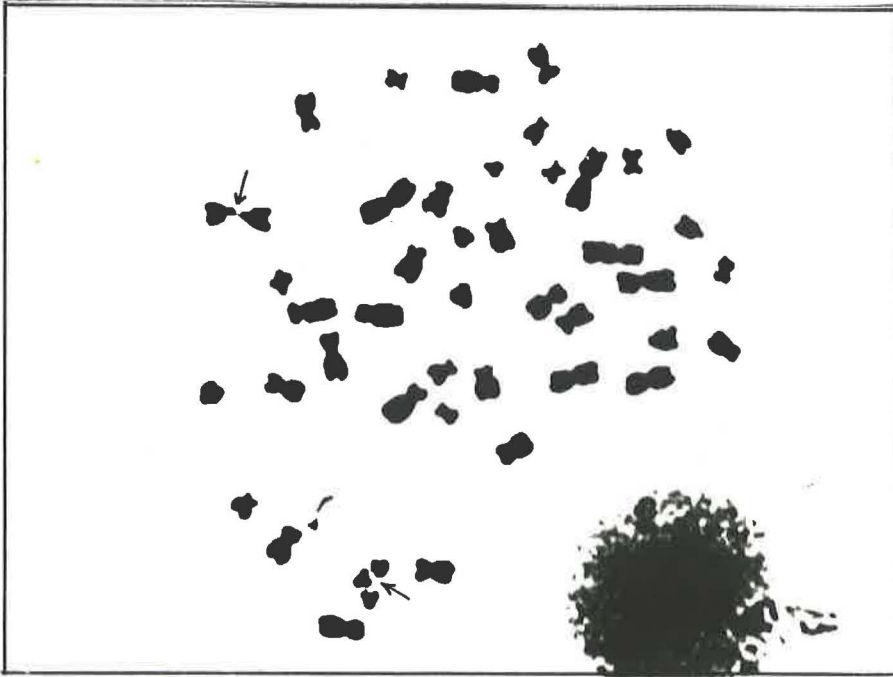
ÇİZELGE II B. ÇİZELGE I A'nın DEVAMI.



Şekil 7. Denver sistemine göre hazırlanmış Trizomi 18 Sendromu (47,XY, +18).



Şekil 8. Metafaz plakları (10x).



Şekil 9. Satellit asosiasyonu (DD,GGG).



Şekil 10. Düşük kulaklar, çökük burun kökü, küçük ağız.



Şekil 11. Parmaklar fleksiyon pozisyonunda.



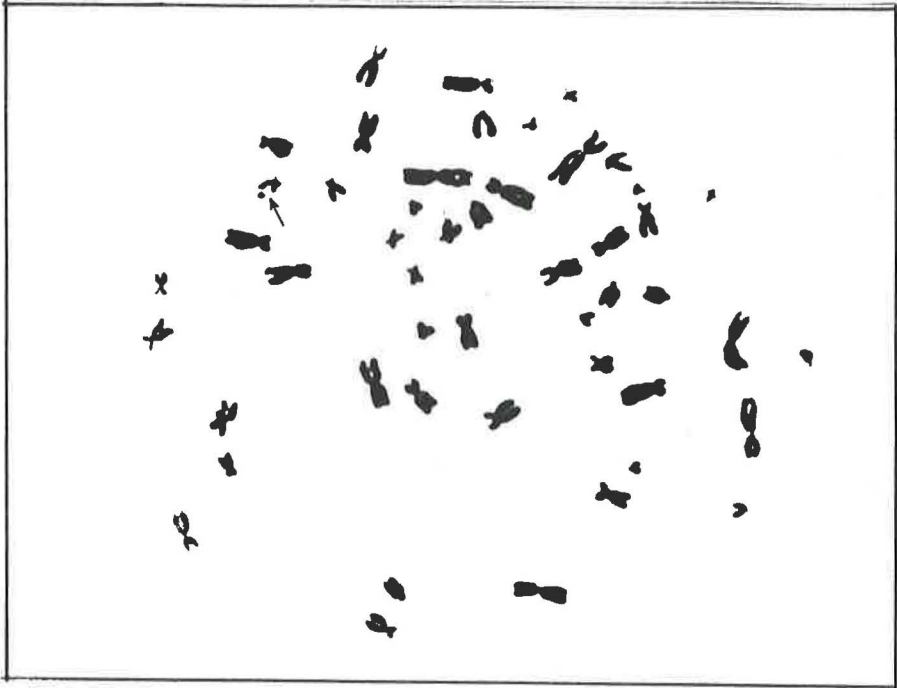
Şekil 12. Simian çizgi ve beşinci parmakta tek fleksiyon çizgisi.



Şekil 13. Ayaklarda anomaliler; başparmaklar öne doğru çıkık, bilekler bükük.



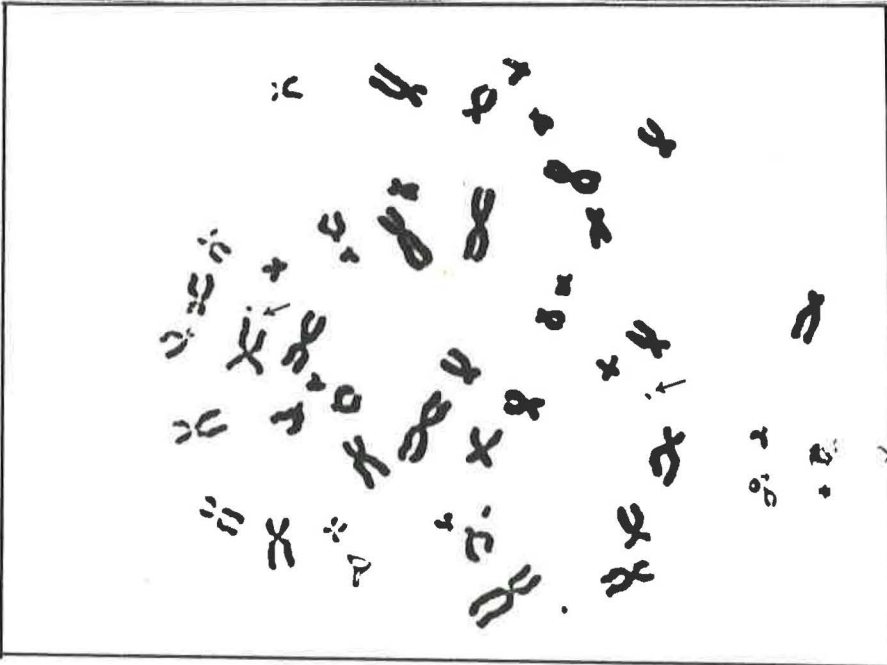
Şekil 14. Testislerden biri skrotuma
inmemiş.



Şekil 15. Kromatid kırık.



Şekil 16. Adaktili (sağ el parmakları yok).



Şekil 17. Terminal delesyon, minik kromozom,
gap.



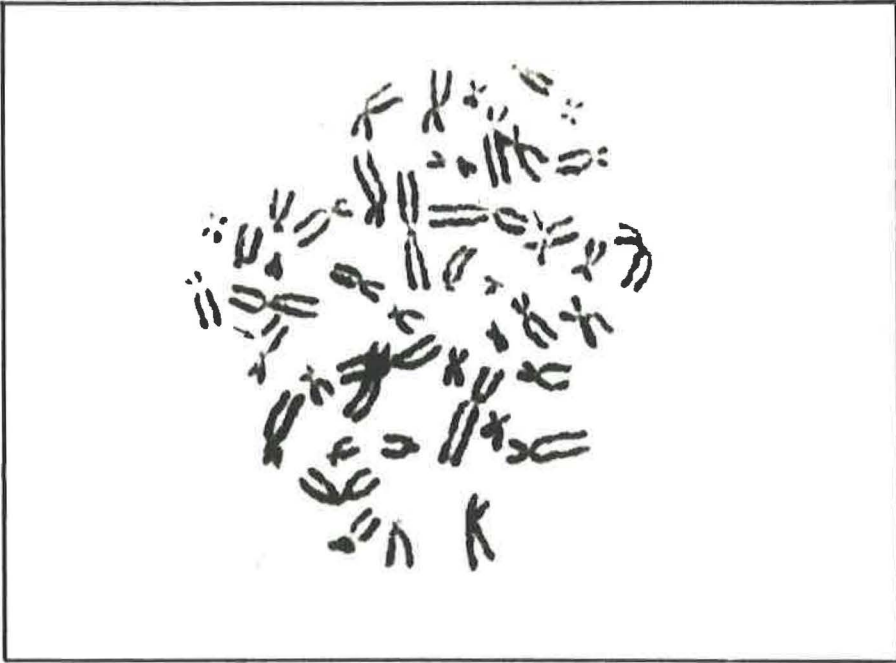
Şekil 18. Kromatid gap.



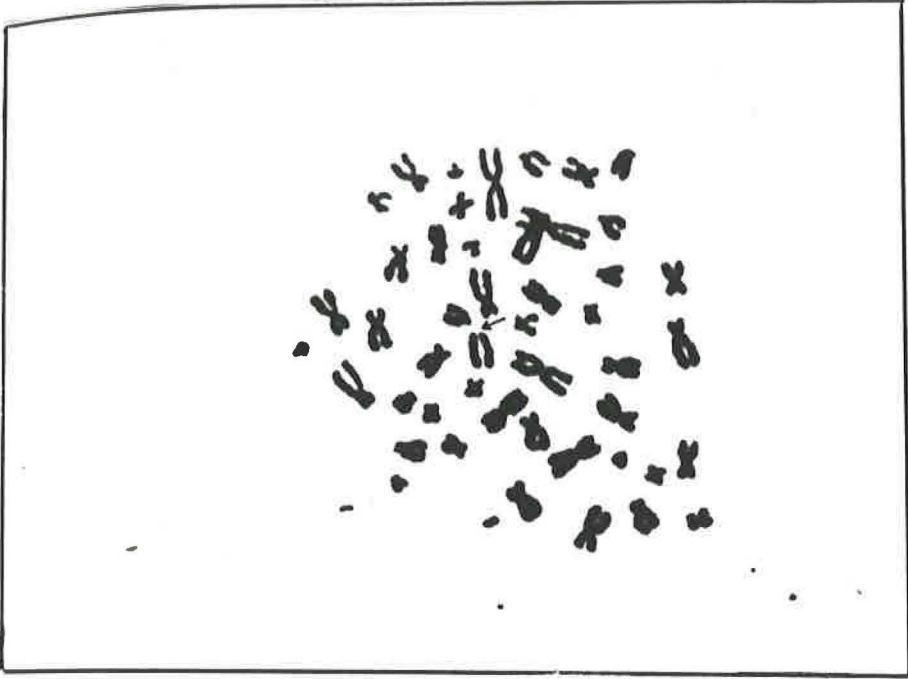
Şekil 19. Kromatid kırık.



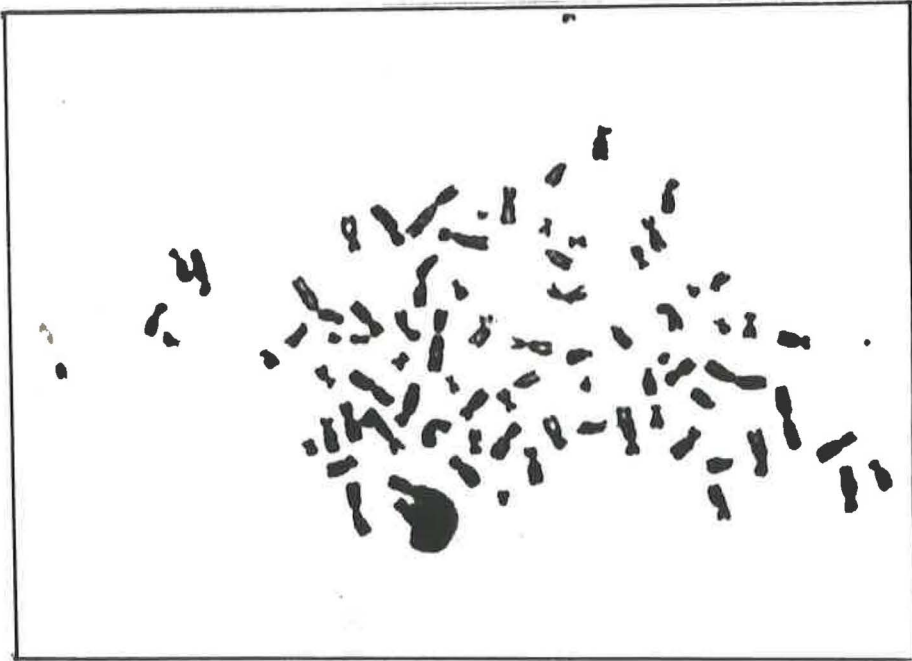
Şekil 20. Kromatid kırık.



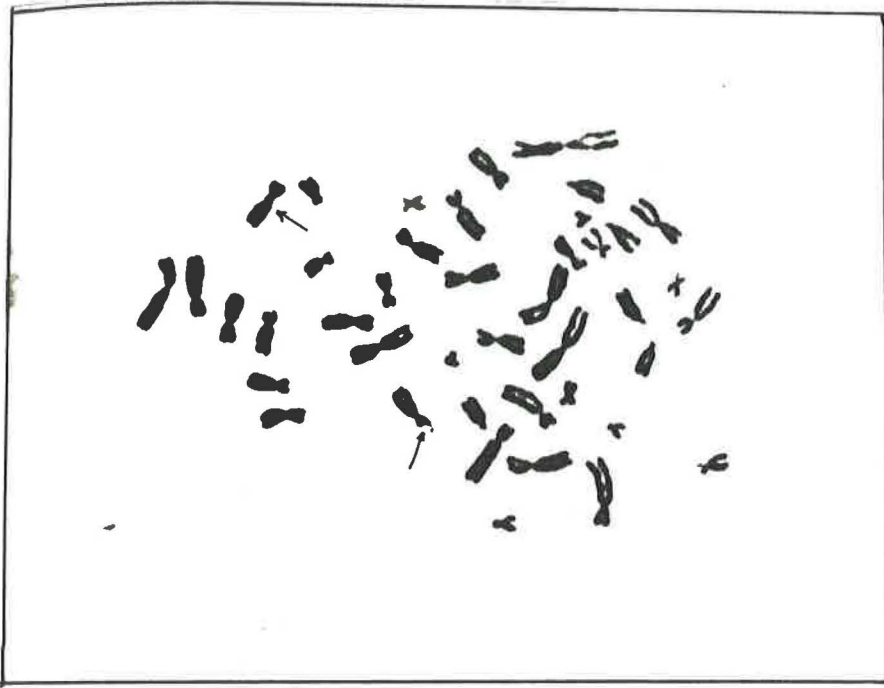
Şekil 21. Kromatid kırık.



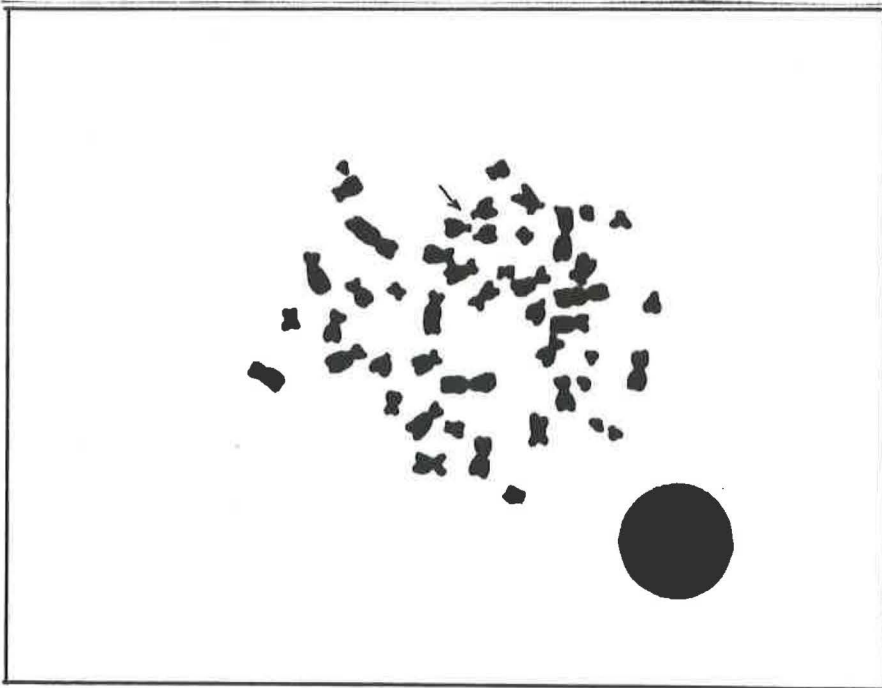
Şekil 22. Sentromersiz kromozom.



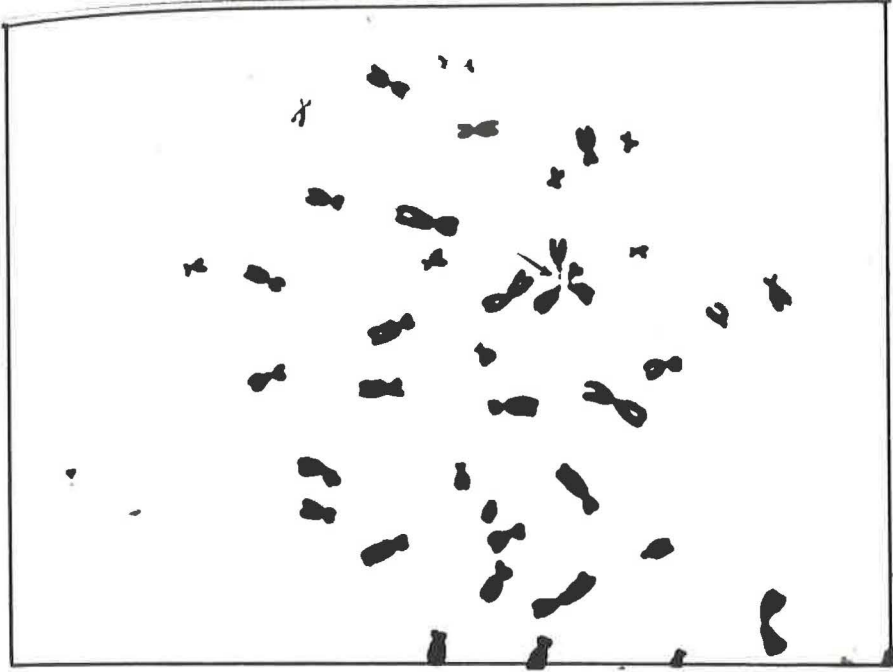
Şekil 23. Poliploid hücre (4n).



Şekil 24. İzokromatid gap, delesyon.



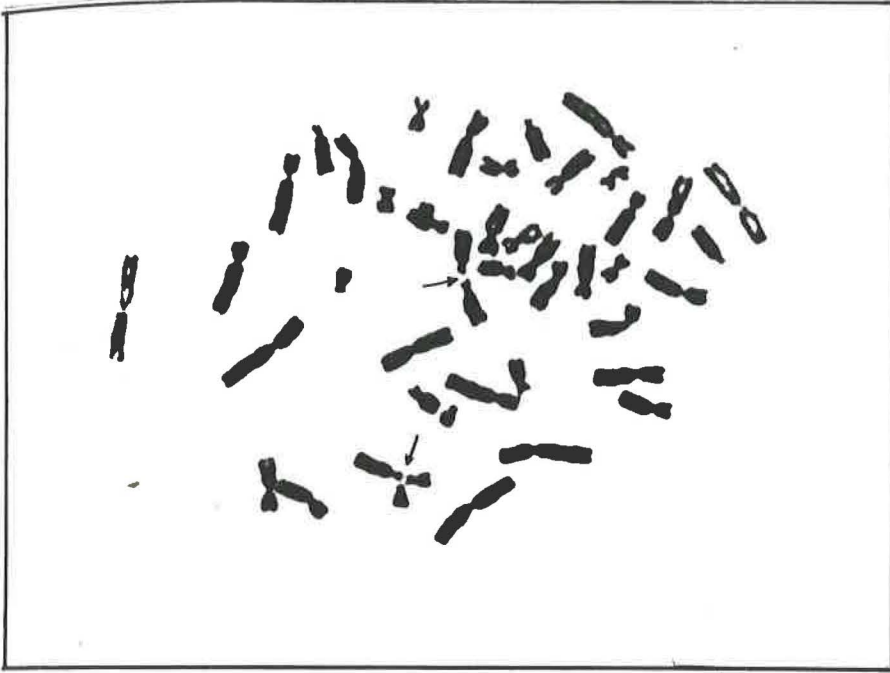
Şekil 25. Satellit asosiasyonu (DDD).



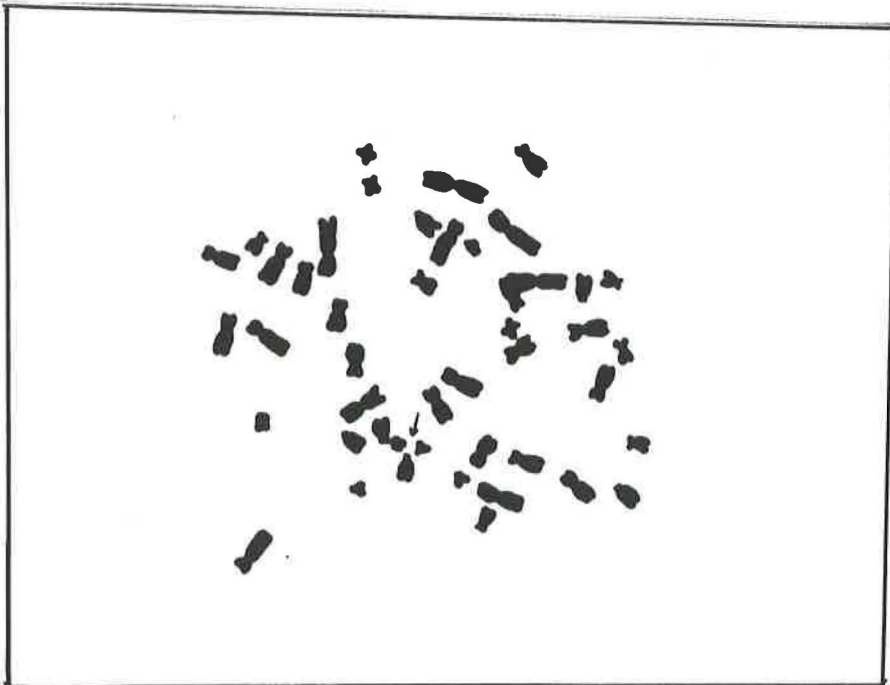
Şekil 26. Satellit asosiasyonu (DDDG).



Şekil 27. Satellit asosiasyonu (DDD, DG).



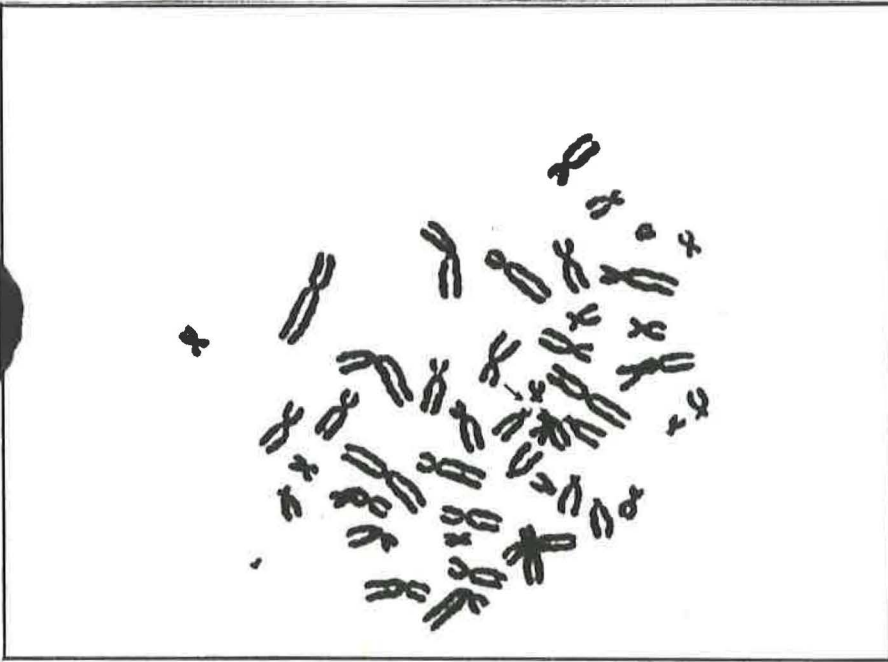
Şekil 28. Satellit asosiasyonu (DGG,DD).



Şekil 29. Satellit asosiasyonu (DDGG).



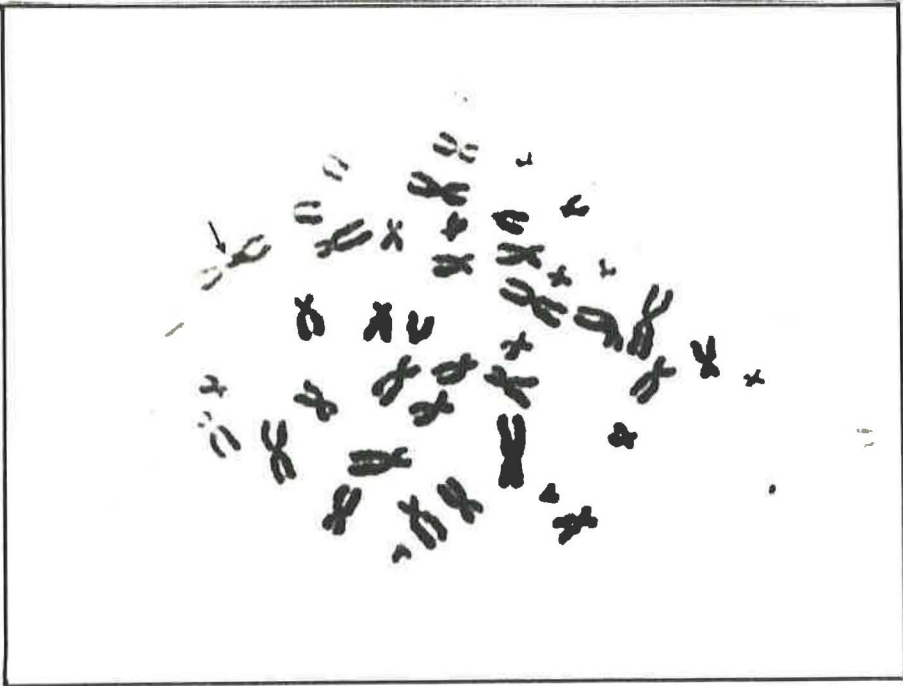
Şekil 30. Satellit asosiasyonu (DG),
kırık.



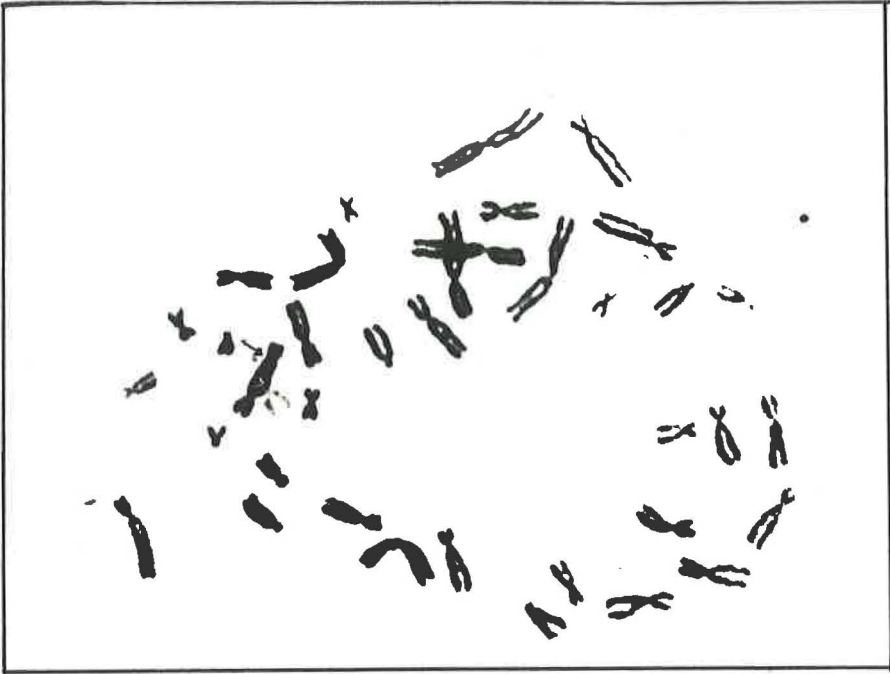
Şekil 31. Satellit asosiasyonu (DDG).



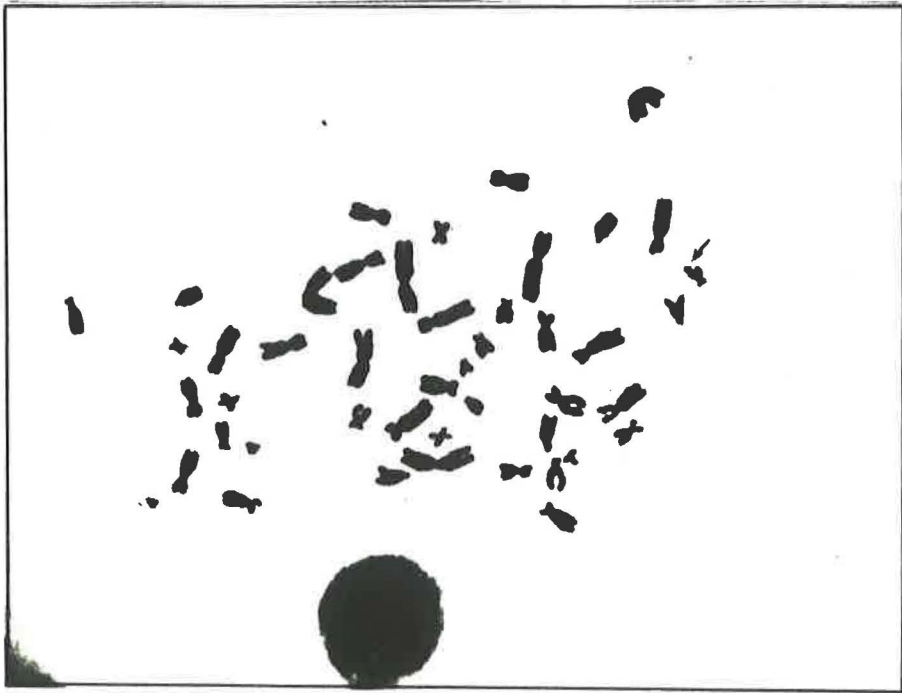
Şekil 32. İri satellit.



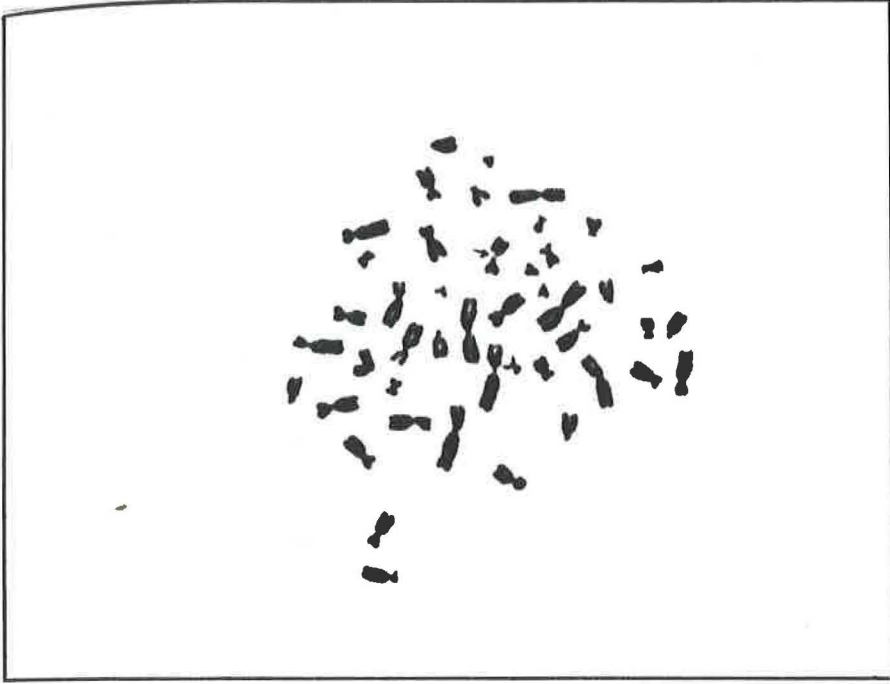
Şekil 33. Disentrik kromozom.



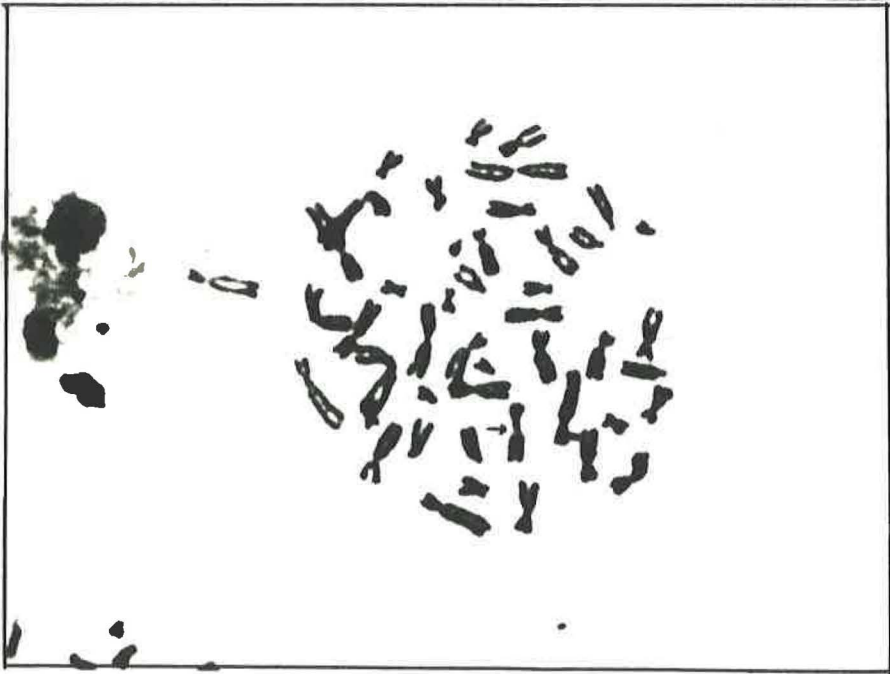
Şekil 34. Disentrik kromozom.



Şekil 35. Delesyon.



Şekil 36. İzokromatid kırık.



Şekil 37. İzokromatid gap.

T A R T I Ő M A

İster çevresel, ister genetik faktörlere bağlı olsun, koşullar çoğalma için uygun değilse, çeşitli derecelerde olmak üzere reprodüktif yetersizlik hali ortaya çıkmaktadır. Bu da diğer bazı biyolojik olaylar gibi kendini bir spektrum halinde belli eder. En kötü koşullarda steriliteye yol açarken, en iyi koşullarda dünyaya gelen bebek normal olabilir. Bu iki uç arasında, durumun Őiddetine göre düşük, ölüdoğum, prematüre doğum ve neonatal ölüm meydana gelmektedir. Bu son durum göstermektedir ki yenidoğanlarda mevcut bütün anomaliler saptansa bile düşük ve ölü doğumlar bu yönden incelenmedikçe doğumsal anomalilerin gerçek insidansı saptanamıyacaktır. Bu araştırmadaki bulgularımız; düşük, ölüdoğum, neonatal ölüm ve seçilmemiş yenidoğan bebekler üzerinde yapılan kromozom araştırmaları sonuçları ile karşılaştırmalı olarak tartışılmıştır.

Çalışmamızda bir günlük ile 30 günlük dönem arasındaki prematüre bebekleri materyal olarak seçtiğimizden neonatal (doğumdan sonraki ilk dört hafta) ölümü de içermektedir. Bebeklerimizden bazıları kromozom analizleri sonuçlanmadan eksite olmuştur.

Prematüre bebek seçiminde çok çeşitli değerlendirmeler ve haritalar bulunmaktadır (21, 22, 35, 66, 72). Fakat, çoğunlukla yapılan araştırmalarda önemli sayıdaki bebekte obstetrik değerlendirme ile pediatrik değerlendirme arasında uyum sağlanamamıştır (4). Bazı çalışmalarda da son menstruel periyodu kesin bilinmeyen,

obstetrik yaşı ile pediatrik yaş arasında farklılık olan durumlarda, fiziksel görünüm ve nörolojik kabiliyet doğum yaşı olarak kabul edilmiştir (3, 21, 22). Bizim çalışmalarımızda annenin verdiği bilgiye göre doğum yaşı 38 haftadan küçük olan, düşük doğum kilolu bebeklerin analizleri yapılmıştır.

Bilindiği gibi prematüre doğumun çeşitli sebepleri bulunmaktadır. İntrauterin defektif büyüme ile ilgili durumlar, maternal (anneyle ilgili), plasental ya da föetal orijinli olabilirler. Prematürelilik nedeni föetal orijinli olarak düşünülüyorsa, kromozom analizi yapılması gerekmektedir (4). Nielsen ve arkadaşlarının (48) 1981 yılında, 11.148 canlı doğan bebekte yaptıkları kromozom araştırması sonuçlarına göre bütün kromozom anomalili çocukların doğum ağırlıklarının normal karyotiplilerden daha az olduğunun saptandığı bildirilmiştir.

Canlı doğan bebeklerde kromozom anomalilerinin sıklığını saptamak amacı ile İngiltere, Kanada, U.S.S.R., A.B.D. ve Danimarka'da 1967-1974 yılları arasında pek çok araştırmacı tarafından çalışmalar yapılmıştır. 1974 yılında yayınlanan, Jacobs ve arkadaşları (30) tarafından yapılan çalışmada 11.680 yenidoğan bebeğin kromozom analizleri yapılmıştır. Bulgular, toplamı 43.000 bebeği kapsayan diğer beş araştırma ile karşılaştırılmış ve sonuçların uyumlu olduğu görülmüştür. Arka arkaya doğumlarda % 0,56 sıklığında kromozom düzensizliklerinin band tekniği kullanılmadan saptanabildiği ortaya konmuştur.

Nielsen ve arkadaşları (47) 11.148 bebekte kromozom araştırması yapmışlar ve toplam major kromozom anomalisi sıklığını % 8,34 olarak bulmuşlardır.

Yine 1975 yılında yayınlanan Hamerton ve arkadaşlarının (26) çalışmasında ise 14.069 yenidoğan bebekte kromozom analizi yapılmış, major kromozom anomalisi oranı % 4,6 olarak saptanmıştır. Benzer sonuçlar Shirley ve Ratcliffe (56) tarafından da verilmiştir.

1980-1982 yılları arasında yine Nielsen ve arkadaşları (50) tarafından farklı boyama metodları kullanılarak yapılan diğere bir çalışmada ise major kromozom anomalileri % 20,23 olarak saptanmıştır. Araştırmacılar bu artışın boyama metodlarındaki farklılıktan kaynaklandığını belirtmektedirler.

Çalışmalarımızda normal doğan bir-otuz günlük 20 bebek kontrol grubu olarak seçilmiş, kromozom analizleri yapılmıştır. Sayısal ve yapısal bir düzensizlik saptanamadığından değerlendirmeye tabi tutulmamıştır.

Çeşitli araştırmalar, seçilmiş bebeklerdeki kromozom anomalileri oranının seçilmemiş bebeklerdekine göre daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır. 1976 yılında Anderson (4) tarafından yayınlanan bir araştırmada neonatal bölümüne başvuran 13.034 bebekten 309'zu prematüre kabul edilerek kromozom analizlerinin yapıldığı ve bunlardan 6 tanesinde major anomali bulunduğu belirtilmiştir. Anomali saptanan bebeklerden biri erkek, beşi kız olmak üzere anomali oranı %1,94 tür.

Çalışmamızda prematüre bebek servisine gelen bebeklerden doğum yaşına göre küçük olan 96 prematüre bebeğin kromozom analizleri yapılmıştır. Bir erkek bebekte major anomali saptanmış, anomali oranı %1,04 olarak bulunmuştur. Bu oranla Anderson'ın (4)

bulmuş olduğu oran arasındaki farkın istatistik olarak anlamlı olup olmadıkları, Student's t testi'nin iki örnekten elde edilen oranlar arasındaki farklılığın önem kontrolü yapılarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, iki oran arasında önemli fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).

Çalışma yaptığımız bebeklerin çoğunluğunun erkek oluşu dikkat çekicidir. Hacettepe Üniversitesinde Down sendromlu çocuklarla araştırma yapan Tayşi (68) aynı gözlemde bulunmuş, çalıştığı 170 Down sendromlu hastanın 111'inin erkek oluşunu ülkemize özgü sosyal nedenlere bağlamıştır. Oysa araştırmalar Down sendromunun her iki cinsten de eşit oranda görüldüğünü ortaya koymaktadır (26, -38, 47). Erkek hasta sayısının fazlalık gösterme nedenlerinden birisi, ülkemizde hasta erkek çocukların aileleri tarafından hasta kız çocuklarına oranla daha sık olarak hekime götürülmeleri ile açıklanabilir.

Araştırmalar bazı anomalilerin kız bebeklerde daha fazla görüldüğünü ortaya koymaktadır (4, 38). İntrauterin hayatta da seçici davranan anomalilerin, erkek bebeklerin düşük ya da ölüdoğumuna neden olurken canlı kız bebek doğumundaki sayıyı artırmaktadır.

Leonard ve Reisman'ın (57) açıklamalarına göre, intrauterin büyüme geriliği en fazla Trizomi 18 ve D_1 trizomisi sendromlarında olmakla birlikte, Down ve Turner sendromları dahil olmak üzere diğer birçok anomalide de görülmektedir. Bizim saptadığımız Trizomi 18 sendromunda intrauterin büyüme geriliği görülmüş ve 1650 gr olan bebek bir ay sonra kontrole getirildiği zaman da ağırlığında önemli bir artış kaydedilmemiştir.

Edwards ve arkadaşları (18) bir bebekte Trizomi 18 sendromunu tam olarak tanımlamışlardır. Fakat fazla kromozomun 17 numaralı kromozom olduğunu belirtmişlerdir. Aynı zamanda Patau ve arkadaşları (53) bu sendromu iki bebekte incelemişler, ancak fazlalık kromozomun E grubunun (16, 17, 18) birine ait olabileceğini söylemişlerdir. Diğer yayınlarda Smith ve arkadaşları (61, 62) 4 bebekte bu sendromu tam olarak tanımlamışlar ve fazla kromozomun 18 numaralı kromozom olduğunu belirtmişlerdir. Patau ve arkadaşları (54) 6 hastadaki önemli anomalileri, Edwards ve arkadaşlarının (18) tanımladıkları hastanın bulguları ile karşılaştırmışlar ve hepsinin de aynı sendromu gösterdiklerini, dolayısıyla aynı kromozom trizomisinin bu sendroma sebep olacağı kanısına varmışlardır. Bu trizominin 18 numaralı kromozoma ait olması gerektiğini bildirmişlerdir.

Çalışmalarımızda saptadığımız Trizomi E sendromunda fazla olan kromozom, 17 ve 18 numaralı kromozomların her ikisine de benzemektedir. Önce 17-18 trizomisi olarak adlandırdığımız bu bulgu literatür bilgilerinden sonra karyotipte 18 trizomisi olarak gösterilmiştir (Şekil 7). Kromozom sayısı 47 dir ve 18 numaralı kromozomlara ait bir fazlalık kromozom bulunmaktadır. Karyotipte görüldüğü gibi 18 numaralı kromozomların kısa kollarının tam uyumlu olduğu ve 17 numaralı kromozomlardan daha küçük oldukları dikkati çekmektedir. 18 numaralı kromozomların uzun kollarının da uyumlu olduğu, uzunluklarındaki bazı değişikliklerin, kromatid çaplarındaki karşıt değişikliklerle kompanze edildikleri görülmektedir.

Bütün yayınlarda 18 trizomili bebeklerin ağırlıkları 2500 gr'ın altında verilmektedir. Bizim bulgularımızda da görüldüğü

gibi (Çizelge 2A) bebek ağırlığı oldukça düşük (1650 gr) olarak saptanmıştır.

Patau ve arkadaşları (54) ile Edwards ve arkadaşlarının (18) E 18 vakalarında saptadıkları fizik bulgular (düşük kulaklar, küçük burun kökü, küçük ağız, küçük çene, parmaklar fleksiyon pozisyonunda, tipik dermatoglifik bulgular, erkeklerde testislerin skrotuma inmemesi hali, ses kısıklığı, emme zorluğu) bizim hastamızdaki fizik bulgularla tamamen benzerlik göstermektedir (Şekil-10-14).

E trizomili bebeklerde ortalama ömür kızlarda, erkeklerden daha fazladır. Conen ve arkadaşlarının (14) yaptıkları çalışmada erkekler için ortalama ömür 58,5 gün, kızlar için ise 228 gün olarak saptanmıştır.

Bizim saptadığımız E trizomili bebek 30 günlük iken hastaneye tekrar kontrole getirilmiş, kilosunda önemli bir artış kaydedilmediği gibi emme zorluğunun da devam ettiği görülmüştür.

Trizomi 18 vakalarında insidansın anne yaşının ilerlemesi ile orantılı olarak arttığı belirtilmektedir (67). Anderson'ın prematüre bebeklerle yaptığı çalışmada (4) iki bebekte Trizomi 18 saptamış ve her ikisinde de anne yaşının küçük olduğu belirtilmiştir. Annelerden biri 17, diğeri 23 yaşındadır. Bizim tanımladığımız olguda da anne yaşı 20, baba yaşı 21 olarak saptanmıştır.

Seçilmiş bebeklerden neonatal ölüm grubunda yapılan çalışmalardan Bauld ve arkadaşlarının (8) bulgularına göre % 7,2 oranında kromozom anomalisi bulunmuştur. Bu çalışma sonuçlarına göre perinatal ölüm olgularında kromozom çalışmalarının rutin olarak

yapılması gerektiği vurgulanmaktadır.

Londra'da yapılan çeşitli araştırmalarda (38, 39) 500 perinatal ölüm vakasının 28'inde kromozom anomalisi (% 5,6) bulunmuştur. Doğum öncesi ölenlerin % 9 unda, doğum sırasında ölenlerin % 4 ünde, erken neonatal devrede ölenlerin % 6 sında, hamileliğin erken dönemlerindeki düşüklerin % 35 inde kromozom anomalisi saptanmıştır.

1975 den sonra 1982 yılına kadar büyük sayıda seçilmemiş bebeklerde kromozom çalışmalarına ara verilmiştir. Bunun başlıca nedeni, özellikle seks kromozom anomalilerinde hasta takibinin mental geriliğe sebep olduğunun aileleri tarafından ileri sürülmesi ve karşı çıkılmasıdır. Oysa tam tersine, doğumdan itibaren 10-12 yaşına kadar iki üç yılda bir gerekli genetik bilgiler verilir ve hastalara istedikleri zaman danışma imkânı sağlanırsa ortaya çıkabilecek bazı tür mental geriliklerin önlenebileceği çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir (28, 29, 45, 46, 49, 75, 76).

Kromozom çalışmalarının yaygınlaştırılması için sebepler vardır. Kromozom translokasyonu bulunan aileleri saptamak, segregasyon (ayrışım) hızları hakkında çalışmalar yapmak, yeni nesle geçebilen kromozom hastalıkları bulunan ailelere genetik öğüt vermek ve dengelenmemiş kromozom anomalilerinin geri zekalı veya fizik anomaliler gösteren çocuklara sahip olma riskinin artmış olduğunu anlatmak gerekmektedir.

Trizomiler arasında en sık rastlanan Down sendromu, çalışmamızda saptanamamıştır. Sebebi, bu sendromun bebeklerde prematüre katagorisine katılacak kadar büyüme geriliğine neden olmamasıdır.

Anderson (4) da 309 prematüre bebekte kromozom çalışması yapmış, Down sendromuna rastlamadığını belirtmiştir.

Çalışmamız sırasında saptadığımız sağ el parmakları bulunmayan (adaktili) bebeğin bu özelliği polijenik kalıtımla ortaya çıktığı için, etyolojisi hakkında birşey söylenememektedir (7).

Metafaz plakları incelenirken kromozomların sayısal düzensizlikleri yanında yapısal düzensizliklerine de dikkat edilmiş, kırıklar, gap'ler, asentrik kromozomlar ve satellit asosiasyonu gibi özellikler saptanmıştır.

Nielsen ve arkadaşlarının (50) çalışmalarında çevrede bulunan mutajenik faktörlerin (ilaç, alkol ve sigara tüketimi dahil) yenidoğan bebeklerde kromozom anomalilerine neden olabilecekleri ileri sürülmüştür.

Çizelge 2A,B de görüldüğü gibi hamilelikleri sırasında mutajenik faktörlerle karşılaşan annelerin bebeklerinde kromozom kırıklarına rastlanmıştır (% 10,4).

Prematüre bebeklerle yaptığımız çalışmada, Çizelge 2A,B de görüldüğü gibi ikiz oranı oldukça yüksek bulunmuştur. İkizlerden ikisi monozigotik, ikisi dizigotik, ikisinin de ikiz tekleri eksite olduğundan tespiti yapılamamıştır. Monozigotik ikizlerin görülme sıklığı % 3 civarındadır.ve bu oran, dünyanın her yerinde hemen hemen aynıdır. Dizigotik ikizlerin görülme sıklığı toplumlara göre değişmektedir. Örneğin İspanya'da % 7, Çekoslovakya'da % 10, Türkiye'de % 12,9 olarak belirtilmektedir (69). Dizigotik ikiz olayının ailevi olarak görüldüğü ve anne yaşı ile orantılı olarak arttığı belirtilmiştir.

Bizim alışmamızda saptadığımız % 6 gibi yüksek bir oranın ortaya çıkması, prematüre bebeklerle çalışmış olmamızdandır. Prematüre ikiz bebeklerin doğum ağırlıklarının az olması, intrauterin koşulların paylaşılmasından kaynaklanmaktadır.

Elimizdeki bulgulara göre yurdumuzdaki kan yakını evlilik oranı % 25-40 arasında değişmektedir (7). Araştırma yaptığımız prematüre bebeklerde akrabalık oranı % 38 olarak saptanmıştır. Bu değer oldukça yüksek görünmekle birlikte, yurdumuzdaki kan yakını evlilik oranı sınırları içinde bulunmaktadır.

S O N U Ç

Prematüre bebeklerde kromozom analizleri yaptığımız bu çalışmada:

1. Prematüre bebeklerde saptadığımız kromozom düzensizlikleri yüzdesi, diğer araştırmacıların seçilmemiş bebeklerde saptadıklarından yüksek, ölü doğan ya da perinatal ölümler için bulduklarından düşüktür.

2. Doğumsal anomaliye sahip olmıyan prematüre bebekler neonatal mortalite oranını önemli derecede etkilememiştir.

3. İntrauterin defektif büyüme ile ilgili durumlar maternal, plasental ya da fötal olabilirler. Prematürelilik nedeni fötal orijinli olarak düşünülüyorsa, kromozom analizi yapılması gereklidir.

4. Bu çalışmada Down sendromuna hiç rastlanmamış olması, bu anomalinin önemli ölçüde yetersiz intrauterin büyümesine neden olmayacağını göstermektedir.

5. Anne yaşının ilerlemesi ile trizomi ihtimalinin artmasına, ovumun ihtiyarlaması yanında mutajenik faktörlerin yığılımının da etkili olduğu düşünülebilir.

6. Prematüre bebeklerde, seçilmemiş bebeklerden daha yüksek oranda ikiz olma özelliğine rastlanmıştır. İkiz bebeklerin intrauterin koşulları paylaşmaları sonucu doğum ağırlıklarının düşük kalması, ikizlerdeki prematürelilik oranının artmasına neden olduğu düşünülmektedir.

7. Genelde kız bebekler doğumsal anomali sıklığı yönünden, erkek bebekleri geçmektedir. İntrauterin hayatta seçici davranan

anomaliilerin, erkek bebeklerin düşük ya da ölü doğumuna neden olarak, canlı doğan kız bebek sayısını arttırmaktadır. Çalışmamızda erkek bebek sayısı fazla olmakla beraber kız bebeklerdeki kromozom düzensizlikleri yüzdesi, erkek bebeklerdekinden yüksek bulunmuştur. Bu durum çeşitli araştırmacıların daha önce bildirdiklerini doğrulamaktadır.

8. Daha önce birçok araştırmacının bildirdiği gibi hamilelik sırasında geçirilen hastalıkların, kullanılan antibiyotiklerin, radyolojik tetkiklerin ve kronik alkolizmin çeşitli kromozom düzensizliklerine neden olduğu bu araştırmada da gözlenmiştir.

Ö Z E T

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Eğitim Hastanesi Prematüre Bebek Servisine yatan bebeklerden, ağırlıkları doğum yaşına göre az olan 96 prematüre bebeğin kromozom analizleri yapılmış, sayısal ve yapısal düzensizlikler saptanmıştır. Kromozom hastalıkları hakkında genel bilgiler verildikten sonra, kromozom analizlerinden elde edilen sitogenetik bulguların literatür bulguları ile birlikte tartışmaları yapılmıştır.

1-30 gün arasındaki prematüre bebeklerin topuğundan mikropipetle alınan iki damla kanla yapılan çalışmalar sonucunda, prematüre bebeklerde kromozom düzensizlikleri yüzdesi, seçilmemiş bebeklerdekinden yüksek, ölüdoğum ya da perinatal ölümlerdekinden daha düşük bulunmuştur.

Kromozom hastalıklarının çoğunda intrauterin büyüme geriliği vardır; fakat Trizomi 18 sendromu için birçok doğumsal anomali yanında doğum kilosunun düşük olması belirgin bir özelliktir. Prematüre bebeklerle yaptığımız bu çalışmalarda, seçilmemiş bebeklerde 1/7000 olarak rastlanan Trizomi 18 sendromu, % 1,04 gibi yüksek oranda saptanmıştır. Daha sık rastlanan Down sendromuna hiç rastlamamış olmamız, bu anomalinin önemli ölçüde yetersiz intrauterin büyümesine sebep olmayacağını göstermektedir.

Ayrıca çalışmamızda kromozom düzensizlikleri (kırıklar, gapler, normalden sık satellit asosiasyonları) gösteren bebeklerin annelerinin çoğunluğunun, hamile oldukları süre içinde, mutajenik ajanlarla (ilaçlar, hastalık etkenleri, röntgen ışınları ve kronik alkolizm) temas etmiş oldukları saptanmıştır.

S U M M A R Y

CHROMOSOM ANALYSES IN NEWBORN PREMATURE INFANTS.

In this study, the chromosomal analyses of 96 premature infants, weighing less than the normal ones, which were hospitalized in the premature infant wards, at Dicle University, Medical Faculty, have been made and numerical and structural disorders have been detected. General information about the chromosomal disorders were given. Cytogenetic findings from the chromosomal analyses are discussed on the basis of findings in the literature.

At the end of studies carried out using two drops of blood samples, taken from the ankles of 1-30 day-old premature infants with capillary tubes, it has been determined that the percentage of chromosomal disorders in those infants was higher than unselected ones and lower than those of still birth and perinatal deaths.

In most cases of chromosomal disorders, intrauterin growth retardation is associated, but lower birth weight as well as various congenital anomalies for trizomy 18 syndrome was a marked finding. In this study, on the premature infants, trizomy 18 syndrome which is found 1/7000 in unselected cases is obtained as high as % 1,04. Absence of Down syndrome, which is more common indicates that; this anomaly will not cause intrauterin growth retardation.

In addition, the majority of mothers of these babies having chromosomal disorders (brake, gaps, unusual satellit associations) have been in cotact with mutagenic agents (drugs, causitive agents, X-rays, and chronic alcoholism) during their pregnancy.

K A Y N A K L A R

1. Albertman, E., Polani, P. E., Fraser Roberts, J. A., Spicer, C. C., Elliott, M., Armstrong, E.: Parental exposure to X-irradiation and Down's Syndrome. Ann. Hum. Genet., 36: 195, 1972.
2. Alp, N.: Malignite ile tek gen mutasyonları ve kromozom düzensizliklerinin ilişkisi üzerine araştırmalar(Doktora tezi). D. Ü. Tıp Fak., Diyarbakır, 1983.
3. Amiel Tison, C.: Neurological evaluation of the maturity of newborn infants. Arch. Dis. Child., 43: 89, 1968.
4. Anderson, N. G.: A five year survey of small for dates infants for chromosomal abnormalities. Aust. Paediat. J., 12: 19, 1976.
5. Assemany, S. R., Neu, R. L., Gardner, L. I.: Deformities in a child whose mother took LSD. Lancet, 1: 1291, 1970.
6. Bağcı, H., Bozcuk, N., Şimşek, M.: TÜBİTAK moleküler biyoloji lisans üstü yaz okulu ders notları. 2. kısım. Çankaya-entepe, 1983.
7. Başaran, N.: Tıbbi genetik. Anadolu Üniversitesi ESBAY Yay., No:2, Eskişehir, 1984.
8. Bauld, R., Sutherland, G. R., Bain, A. D.: Chromosome studies in investigation of stillbirths and neonatal deaths. Arch. Dis. Child., 49: 782, 1974.

9. Bender, M. A., Prescott, D. M.: DNA synthesis and mitosis in cultures of human peripheral leukocytes. *Exp. Cell Res.*, 27: 221, 1962.
10. Bilge, E.: Genetik. İ. Ü. Fen Fakültesi Basımevi, 2. baskı, İstanbul, 1977.
11. Bilgehan, H.: Genel mikrobiyoloji ve bağışıklık bilimi. Bilgehan Basımevi, İzmir, 1984.
12. Bydak, T.: Güneydoğu Anadolu Bölgesinde sıklıkla kullanılan insektisidlerden Malathion ve Lindane'nin fare kromozomları üzerine in vivo etkilerinin araştırılması (Doçentlik tezi). D. Ü. Tıp Fak., Diyarbakır, 1981.
13. Cohen, M. M., Hirschhorn, K., Frosch, W. A.: In vivo and in vitro chromosomal damage induced by LSD-25. *New Engl. J. Med.*, 277: 1043, 1967.
14. Conen, P., Erkman, B.: Frequency and occurrence of chromosomal syndromes II. E-Trisomy. *Amer. J. Hum. Genet.*, 18: 387, 1966.
15. Chu, E. H. Y., Giles, N. H.: Human chromosome complements in normal somatic cells in culture. *Amer. J. Hum. Genet.*, 11: 63, 1959.
16. Dareste, M. C.: Recherches sur la production artificielle des monstruosités. *Ann. Oculist.*, 106: 171, 1891 (Kaynak 19 dan alınmıştır).

17. De la Cruz, M. V., Campiolo, S., Munoz, A. S.: Congenital heart defects in chick embryos subjected to temperature variations. *Cir. Culat. Lat. Res.*, 18: 247, 1966.
18. Edwards, J. H., Harnden, D. G., Cameron, A. H., Crosse, V. M., Wolff, D. H.: A new trisomy syndrome. *Lancet.*, 1: 787, 1960.
19. Erçikan, C.: Konjenital göz anomalilerinde sitogenetik araştırmalar. Otag Matbaası, İstanbul, 1977.
20. Evans, H. J.: Population cytogenetics and environmental factors, 191-216. In: Jacobs, P. A., Price, W. H., Law, P.: Human population cytogenetics. Pfizer Medical Monographs 5. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1970.
21. Farr, V., et al.: The value of some external characteristics in the assessment of gestational age at birth. *Devel. Med. Child. Neurol.*, 8: 657, 1966.
22. Finnstrom, O.: Studies on maturity in newborn infants. II External characteristics. *Acta Pediat. Scand.*, 61: 24, 1972.
23. Ford, C. E., Hamerton, J. L.: The chromosomes of man. *Nature*, 178: 1020, 1956.
24. Ford, C. E., Jacobs, P. A., Lajtha, L. G.: Human somatic chromosomes. *Nature*, 181: 1565, 1958.

25. Fraccaro, M., Lindsten, J.: The human chromosome complement determined in somatic cells cultivated in vitro. *Folia Hered. Pathol.*, 9: 185, 1960.
26. Hamerton, J. L., Canning, N., Ray, M., Smith, S.: A cytogenetic survey of 14 069 newborn infants. *Clin. Genet.*, 8: 223, 1975.
27. Hecht, F., et al.: Lysergic acid diethylamide and cannabis as possible teratogens in man. *Lancet*, 2: 1087, 1968.
28. Hook, E. B.: Behavioral implications of the human XYY genotype. *Science*, 179: 139, 1973.
29. Hook, E. B.: Rates of XYY genotype in panel and mental settings. *Lancet*, 1: 98, 1975.
30. Jacobs, P. A., Marville, M., Ratcliffe, S.: A cytogenetic survey of 11 680 newborn infants. *Ann. Hum. Genet.*, 37: 359, 1974.
31. Jensen, M. K.: Chromosome studies in patients treated with azothioprine and amethopterine. *Acta. Med. Scan.*, 182: 445, 1965.
32. Jones, K. I., Smith, D. W., Ulleland, C. N., Streissguth, A. P.: Pattern of malformation in offspring of chronic alcoholic mothers. *Lancet*, 1: 1267, 1973.
33. Jones, K. I., Smith, D. W.: Recognition of fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet*, 2: 999, 1973.

34. Kelle, A.: Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yoğun olarak kullanılan bazı klorlandırılmış hidrokarbon insektisidlerin süt, balık, içyağı ve insan yağ dokusundaki rezidülerinin ince-tabaka kromatografisi yöntemiyle araştırılması (Doçentlik tezi). D. Ü. Tıp Fakültesi, Diyarbakır, 1982.
35. Kitchen, W. H.: Relationship between birth weight and gestational age in an Australian Hospital population. Aust. Ped. J., 4: 29, 1968.
36. Lejeune, J., Levan, A.: Proposed standard system of nomenclature of human mitotik chromosomes. Hereditas, 79: 156, 1975.
37. Levan, A., Hsu, T. C.: The human idiogram. Hereditas, 44: 665, 1959.
38. Machin, G. A.: Chromosome abnormality and perinatal death. Lancet, 1: 549, 1974.
39. Machin, G. A., Crolla, J. A.: Chromosome constitution of 500 infants dying during the perinatal period. Humangenetic, 23: 183, 1974.
40. Mackinney, A. A., Stohlman, F., Brecher, G.: The kinetics of cell proliferation in cultures of human peripheral blood. Blood, 19: 349, 1962.
41. Mc Alister, G. A.: Congenital cataract following german measles in the mother. Trans. Opthal. Sos. Aust., 3: 34, 1941.

42. Mc Laren, D. S.: Malnutrition and eye. Academic Press, New York , London, 1963.
43. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellman, W. J., Battips, D. M., Hungerford, D. A.: Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. Exptl. Cell Res., 20: 613, 1960.
44. Nelson, M. M., Wright, H. V., Asling, C. W., Evans, H. M.: Multiple congenital abnormalities resulting from transitory deficiency of pteroyl-glutamic acid during gestation in the rat. J. Nutr., 56: 349, 1963.
45. Nielsen, J.: Klinefelter's syndrome and the XYY syndrome. A genetical, endocrinological and psychiatric-psychological study of thirty-three severely hypogonadal male patients and two patients with the XYY syndrome. Acta Psychiatr Scand (supply)., 209: 1969 (Kaynak 50 den alınmıştır).
46. Nielsen, J., Christensen, A. L.: Thirty-five males with double Y chromosome. J. Psychol. Med., 4: 28, 1974.
47. Nielsen, J., Sillesen, I.: Incidence of chromosome aberrations among 11 148 newborn children. Human-genetic, 30: 1, 1975.
48. Nielsen, J., Hansen, K. B., Sillesen, I., Videbech, P.: Chromosome abnormalities in newborn children. Physical aspects. Hum. Genet., 59: 194, 1981.

49. Nielsen, J., Sorensen, A. M., Sorensen, K.: Mental development of unselected children with sex chromosome abnormalities. Hum. Genet., 59: 324, 1981.
50. Nielsen, J., et al.: Incidence of chromosome abnormalities in newborn children. Comparison between incidences in 1969-1974 and 1980-1982 in the same area. Hum. Genet., 61: 98, 1982.
51. Orđakaya, C.: Kanamisin'in tavşan (Oryctolagus cuniculus) kromozomları üzerine in vitro etkilerinin araştırılması (Doktora tezi). Diyarbakır, 1982.
52. Patau, K., Smith, D. W., Therman, E., Inhorn, S. L., Wagner, H. P.: Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome. Lancet, 1: 790, 1960.
53. Patau, K.: Chromosome identification and Denver report. Lancet, 1: 933, 1961.
54. Patau, K., et al.: Trisomy for chromosome no.18 in man. Chromosoma, 12: 280, 1961.
55. Polishuk, Z. W.: Organochlorine compounds in mother and fetus during labor. Env. Res., 13: 278, 1977 (- Kaynak 34 den alınmıştır).
56. Ratcliffe, S. G., Keay, A. I.: Chromosome studies on 11 000 newborn infants. Arch. Dis. Child., 48: 407, 1973.
57. Reisman, L. E.: Chromosome abnormalities and intrauterine growth retardation. Pediat. Clin. North Amer., 17: 101, 1970.

58. Sandberg, A. A., Hossfeld, D. K.: Chromosomal abnormalities in human neoplasia. *Ann. Rev. Med.*, 21: 379, 1970.
59. Sandberg, A. A., Sakurai, M.: The missing Y chromosome and human leukemia. *Lancet*, 1: 375, 1973.
60. Saleh, M. A.: Mutagenic and carcinogenic effects of pesticides. *J. Env. Sci. Health*, 15: 907, 1980 (Kaynak 34 den alınmıştır).
61. Smith, D. W., Patau, K., Therman, E., Inhorn, S. L.: A new autosomal trisomy syndrome. *J. Pediat.*, 57: 338, 1960.
62. Smith, D. W., Patau, K., Therman, E., Inhorn, S. L.: The no.18 trisomy syndrome. *J. Pediat.*, 60: 513, 1962.
63. Smithells, R. W.: Drug and human malformations. *Advanc. Teratol.*, 1: 251, 1966.
64. Srivastava, P. K., Lucas, F. V.: Evolution of human cytogenetics. *J. Génét. Humaine*, 24: 235, 1976.
65. Şaylı, B. S.: Medikal genetik: I. Teorik ve klinik sitogenetik. Dördüncü baskı. A. Üniv. Tıp Fak. Yay., sayı 381, Ankara, 1979.
66. Tanner, J. M., Thomson, A. M.: Standards for birthweight as gestation periods from 32 to 42 weeks, allowing for maternal height and weight. *Arch. Dis. Child*, 45: 566, 1970.

67. Taylor, A. I.: Patau's, Edwards' and Cri du Chat Syndromes. A tabulated summary of current findings. *Develop. Med. Child Neurol.*, 9: 78, 1967.
68. Tayşı, K.: Down sendromu (Doğentlik tezi). Hacettepe Üniv. Tıp Fak., 1974.
69. Tayşı, K., Say, B.: Tıbbi genetik. Hacettepe Üniv. Yay., A 12, 1975.
70. Thomson, A. M., Billewicz, W. Z.: The assessment of fetal growth. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.*, 75: 909, 1968.
71. Tjio, J. H., Levan, A.: The chromosome number of man. *Hereditas*, 42: 1, 1956.
72. Tjio, J. H., Puck, T. T.: The somatic chromosomes of men. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 44: 1229, 1958.
73. Warkany, J., Takacs, E.: Lysergic acid diethylamide (LSD): No tetatogenicity in rats. *Science*, 159: 731, 1968 (Kaynak 69 dan alınmıştır).
74. Wilson, J.: Verdict on DDT. *Nature*, 250: 691, 1974 (- Kaynak 34 den alınmıştır).
75. Witkin, H. A., et al.: Criminality in XYY and XXY men. The elevated crime rate of XYY males is not related to aggression. It may be related to low intelligence. *Science*, 193:547, 1976 (Kaynak 50 den alınmıştır).

76. Zeuthen, E., Hansen, M., Christensen, A. L., Nielsen, J.: A psychiatric-psychological study of XYY males found in a general male population. *Acta Psychiatr. Scand.*, 51: 3, 1975.