

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Genetik Bilim Dalı

**TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN VE
SİTOGENETİK OLARAK KARYOTİPLERİ
NORMAL BULUNAN ÇİFTLERDE
KRİPTİK TRANSLOKASYONLARIN
FLORESAN IN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) İLE ARAŞTIRILMASI**

107621

Sezin YAKUT

107621

Yüksek Lisans Tezi

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Antalya, 2000

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Genetik Bilim Dalı

**TEKRARLAYAN DÜŞÜKLERİ OLAN VE
SİTOGENETİK OLARAK KARYOTİPLERİ
NORMAL BULUNAN ÇİFTLERDE
KRİPTİK TRANSLOKASYONLARIN
FLORESAN IN SİTU HİBRİDİZASYON
(FISH) İLE ARAŞTIRILMASI**

Sezin YAKUT

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Sibel BERKER KARAÜZÜM

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
(Proje No: 20. 01. 0122. 02)

“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”
Antalya, 2000

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Temel Genetik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

24 OCAK 2000

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Sibel BERKER KARAÜZÜM

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Üye : Prof.Dr. Güven LÜLEÇİ

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Üye : Prof.Dr. Gülseren BAĞCI

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Üye : Yrd.Doç.Dr.İbrahim KESER

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Üye : Doç.Dr.Gürkan ZORLU

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ramazan DEMİR
Enstitü Müdür

ÖZET

Bu çalışmada konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle karyotipleri normal bulunmuş, beş ve daha fazla spontan düşükleri olan çiftlerde, moleküler sitogenetik bir yöntem olan Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği uygulanmış ve kromozomların telomerik bölgeleri kriptik translokasyonlar açısından araştırılmıştır.

Çalışmaya toplam 5 çift dahil edilmiştir. Olguların tümüne GTG bantlama ile kromozom analizi yapıldıktan sonra normal karyotipe sahip bireyler immünolojik, endokrin ve anatomik faktörler açısından incelenmiştir. Değerlendirilme sonucunda normal bulunan olgulara telomere özgü çoklu prob seti kullanılarak Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği uygulanmıştır.

FISH ile elde edilen sinyallerin floresan mikroskopta incelenmesi sonucunda; bir çiftin eşinde 3 ve 10 nolu kromozomlar arasında kriptik translokasyon saptanmıştır. Başka bir çiftin eşinde ise 20 nolu kromozomun kısa kolundaki sinyal, farklı bir kromozomda bulunmuştur. Ayrıca 3 ailenin bireylerinde polimorfizm olarak değerlendirilen sinyalin fazlalığı veya yokluğu gözlenmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda, karyotipi normal bulunan ve nedeni bilinmeyen tekrarlayan düşükleri olan çiftlerin, telomere özgü çoklu prob seti kullanılarak kriptik translokasyonlar açısından değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır. Ayrıca bu çiftlerin daha sonraki hamileliklerinde prenatal tanı uygulanabileceğinden ailelerin sağlıklı fetusa sahip olmalarına imkan sağlanabilecektir.

Anahtar Kelimeler:Kriptik Translokasyon, FISH, Telomerik Prob, Tekrarlayan Düşükler.

ABSTRACT

In this study, Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) analysis was used to detect cryptic translocations in the chromosomal telomeric regions of five couples who have five and more spontaneous abortions and whose karyotype were normal by using conventional cytogenetic techniques.

Chromosome analysis was performed in five couples and the patients who had normal karyotype were investigated for immunological, endocrinological and anatomical factors. FISH by multiple probe sets specific for telomeres was applied to patients who were evaluated to be clinically normal.

By using the telomere specific probes, we identified the signals using fluorescence microscope. In one couple we determine a cryptic translocation between chromosome 3 and 10. And in another couple the signal in the chromosome 20 was detected in another chromosome which is not identified. Besides, in this couple and the other two couples we observed polymorphism as the presence and absence of signals.

The approach will be helpful for screening cryptic translocations by using telomere specific multiple probe sets in couples who had recurrent miscarriages. As prenatal diagnosis will be available for these couples for future pregnancies, it will be possible to help these families to have healthy fetuses.

Key Words: Cryptic Translocation, FISH, Telomeric Probe, Recurrent Miscarriages.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim sırasında çalışmanın yürütülebilmesi için desteğini, ilgisini ve yardımını esirgemeyen Sayın Prof.Dr.Güven LÜLECI'ye,

Bu bölüme girdiğim andan itibaren her zaman desteğini yanımda hissettiğim, bana çalışma hayatının prensiplerini öğreten ve bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük emeği olan sevgili danışman hocam Yrd.Doç.Dr. Sibel BERKER KARAÜZÜM'e,

Anabilim Dalında gerek deney gerekse yazım sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Dr. Özgül ALPER'e ve Yrd. Doç.Dr. İbrahim KESER'e,

Çalışmamın materyalinin değerlendirilmesinde yardımcı olan Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim görevlisi Dr.Mehmet ŞİMŐEK'e,

Tez çalışmalarında ve eğitimimin her aşamasında göstermiş oldukları destek, anlayış ve sevgi için aileme,

Gösterdikleri anlayış ve yardımlarından dolayı tüm Anabilim Dalı çalışanlarına en içten dileklerimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİL DİZİNİ	xi
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kromozomların Temel Yapısı	3
2.1.1. Sentromer	3
2.1.2. Telomer	4
2.2. Kromozom Aberasyonları	6
2.2.1. Yapısal Abnormaliteler	6
2.2.1.1. Translokasyon	7
2.2.1.2. Delesyon	9
2.2.1.3. Duplikasyon	9
2.2.1.4. İnversiyon	10
2.2.1.5. Halka Kromozom	10
2.2.1.6. İzokromozom	11
2.2.2. Sayısal Abnormaliteler	11
2.2.2.1. Öploidi	12
2.2.2.2. Anöploidi	12
2.3. Kromozomal Aberasyonların Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler	14
2.3.1. Floresan In situ Hibridizasyon (FISH)	14
2.4. Spontan Düşükler	16
2.4.1. Patolojisi ve Patogenezi	17

2.4.2. Etiyoloji	18
2.4.2.1. Fötal Faktörler	18
2.4.2.2. Maternal Faktörler	18
2.4.2.3. Paternal Faktörler	19
2.4.2.4. Genetik Faktörler	19
2.5. Habitüel Düşükler	20
2.5.1. İmmünolojik Problemler	20
2.5.2. Endokrin Faktörler	21
2.5.3. Anatomik Faktörler	22
2.5.4. Çevresel Faktörler	22
2.5.5. Genetik Faktörler	22
MATERYAL VE METOD	24
3.1. Periferel Kan Kültürü	25
3.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması	25
3.1.2. İşlemler	25
3.2. Kromozom Eldesi	26
3.2.1. Kullanılan Solüsyonlar	26
3.2.2. İşlemler	27
3.3. Tripsin ve Giemsa ile G Bantlama (GTG)	28
3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar	28
3.3.2. İşlemler	29
3.4. Mikroskopik Analiz	29
3.5. Floresan In Situ Hibridizasyon	30
3.5.1. Kullanılan Solüsyonlar	30
3.5.2. Kit İçeriğindeki Solüsyonlar	30
3.5.3. FISH Tekniğinin Uygulanması	31
BULGULAR	34
TARTIŞMA	44
KAYNAKLAR	49
ÖZGEÇMİŞ	58

KISALTMALAR DİZİNİ

KCl	Potasyum Klorür
NaCl	Sodyum Klorür
Na ₂ HPO ₄	di-sodyum hidrojen fosfat
KH ₂ PO ₄	Potasyum di-hidrojen fosfat
SSC	Sodyum-Salin-Sitrat
DAPI	4', 6'-diamino-2-fenilindol
ISH	In Situ Hibridizasyon
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon
IgM	İmmünglobulin M
IgG	İmmünglobulin G
Tsp	Telomer Spesifik Prob
SKY	Spektral Karyotipleme

TABLO DİZİNİ

	Sayfa
Tablo I. Çiftlerde Görülebilecek, Tekrarlayan Erken Gebelik Kaybı Riski	17
Tablo II. Olguların Gebeliklerinin Sonlanma Zamanına Bağlı Olarak Gebelik Sayılarının Dağılımı	34
Tablo III. Habitüel Düşükleri Olan Çiftlerde Düşüğe Neden Olabilecek Sebeplerin Araştırılmasında İzlenen Yollar	36
Tablo IV. Olguların Laboratuvar ve Klinik Sonuçları	37
Tablo V. Telomere Özgü Çoklu Prob Seti Kullanılarak Uygulanan FISH Yönteminde Her Kromozoma Ait Sinyallerin Gösterilmesi	38
Tablo VI. G-Bantlama ve FISH Analizleri Sonuçları	40

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
Şekil I. FISH ile Kriptik Translokasyon t(3q;10p) Gözlenen Olgunun GTG ve HRB ile Belirlenmiş Normal ve Kısmi Karyotipi	35
Şekil II. 2. Çifte Gözlenen Kriptik Translokasyon t(3q;10p)'nun Telomer Spesifik Çoklu Prob Kullanılarak FISH ile Gösterilmesi	41
Şekil III. 3.Çifte Gözlenen Kriptik Translokasyon t(20p;?) ve 2q Polimorfizminin Telomer Spesifik Çoklu Prob Kullanılarak FISH ile Gösterilmesi	42
Şekil IV. 5.Çifte Gözlenen 2q Polimorfizmin ve 4.Çifte Gözlenen 15q Polimorfizminin Telomer Spesifik Çoklu Prob Kullanılarak FISH ile Gösterilmesi	43

GİRİŞ VE AMAÇ

Yeni doğan bebeklerin yaklaşık % 3-4'ünde konjenital anomali bulunmaktadır. Konjenital anomali ile doğan bireyde ise 1/250 sıklıkla dengesiz kromozom abnormaliteleri gözlenmektedir. Bunun yanında, bütün gebeliklerin % 15-20'si habitüel düşük ile sonlanmaktadır ve bu düşüklerin %50'si de kromozomal abnormaliteden kaynaklanmaktadır (1-3).

Habitüel düşüklerde en sık gözlenen fetal kromozom abnormalitesi trizomiler olup, 13, 18 ve 21 nolu kromozomların trizomisi % 9 oranında görülmektedir. Diğer en yaygın gözlenen kromozomal aberasyonlar ise monozomi X ve poliploidilerdir (4,5) .

Habitüel düşüğe neden olan yapısal kromozomal abnormalitelerin % 3-8'ni ebeveynlerde bulunan resiprokal translokasyonlar oluşturmaktadır. Genetik materyallerinde herhangi bir kayıp olmayan translokasyon taşıyıcısı ebeveynler, fenotipik olarak sağlıklı bireylerdir. Fakat bu bireyler 2/3 oranında dengesiz gamet taşıyan oğul döller oluşturabileceğinden, bu gameti içeren fetus, yüksek sıklıkta habitüel düşük ile kaybedilir (6-9) .

Habitüel düşüklere neden olan pek çok kromozom abnormaliteleri konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle belirlenebilmektedir. Ancak kromozomların telomerik bölgeleri Giemsa bantlamalarda negatif boyandığından, bu bölgelerde yer alan kriptik translokasyonların belirlenebilmesi için, moleküler sitogenetik bir yöntem olan FISH tekniği kullanılmaktadır. Bu teknikte kullanılan proplar her bir kromozomun telomerik bölgesine özgül

dizilerle hibridize olacağından, bu bölgeleri kapsayan kromozomal yeni düzenlenmeler floresan mikroskop altında gözlenmektedir (4,10).

Bu çalışmada; 5 veya daha fazla düşüğe sahip çiftlerde kromozomların telomerik kısmında görülebilecek kriptik translokasyonu, bütün kromozomların telomerik bölgelerine özgül probolar kullanarak, moleküler sitogenetik bir yöntem olan floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile saptamak ve belirlenen kromozomal abnormaliteler hakkında aileleri bilgilendirerek gelecekte sağlıklı çocuklara sahip olabilmeleri için genetik danışma vermek, amaçlanmıştır.



GENEL BİLGİLER

İnsan genomunun, diploid konumda yaklaşık 6 ile 7 milyar baz çifti içerdiği ve 23 kromozom çiftinde lineer olarak organize olduğu bilinmektedir. Canlılığın sürekliliği için, canlının taşıdığı genomun düzenli ve stabil olarak kuşaktan kuşağa aktarılması zorunludur (10).

2.1. Kromozomların Temel Yapısı

İnsan metafaz kromozomları sentromer pozisyonları ve boylarına göre metasentrik, submetasentrik ve akrosentrik olmak üzere üç farklı şekilde bulunurlar. Bir kromozomda bir sentromer ve iki telomer bölgesi bulunur. Bu iki yapı kromozomların doğru bölünmesi ve devamlılığında son derece önemlidir.

2.1.1. Sentromer

Sentromer bölgeleri, bir kromozomun merkezinde yer alarak, kromozomu uzun ve kısa kol olmak üzere ikiye ayıran ve tekrarlayan diziler içeren konstitüf heterokromatin yapıdan oluşur. Bir kromozom, iki kromatidini bir arada tutan sentromer ile, metafaz evresinde iğ iplikçiklerine tutunmakta ve anafaz evresinde kromatidlerin iki ayrı kutuba hareketinden sorumlu olmaktadır. Bu nedenle, hücre bölünmesi sırasında genetik materyalin yavru hücrelere eşit miktarda dağılımında anahtar rol oynarlar (11-13).

2.1.2. Telomer

Telomerler, ökaryotik organizmalarda lineer kromozomların her iki uç kısmında yer alan özgül, DNA tekrar dizilerinden ve bu tekrarlayan dizilere bağlanan proteinlerden oluşan yapılardır. İnsan telomerik DNA'sı, kromozomun ucuna doğru 5'→3' yönünde yerleşmiş, korunmuş, basit tekrarlı (TTAGGG)_n 2-20 kb'lık dizilerden oluşur (14). Telomerik DNA dizileri ve yapısı, çeşitli ökaryotik türler arasında benzerdir. Örneğin Tetrahymena'da GGGGTT, Euplotes'de GGGGTTTT, Plazmodium'da AGGGTT(C/T), Homo sapiens'de ise TTAGGG olarak bulunmuştur (15).

Telomerler, kromozom replikasyonu, nükleer yıkım, kromozom stabilitesi, gen ekspresyonu, insan tümör formasyonu, hücre bölünmesi ve yaşlanmada görev almaktadırlar (16). Telomerlerin en önemli özelliklerinden birisi de, oldukça farklı ökaryot türleri içinde bile tekrarlayan DNA dizilerinin korunmuş olmasıdır.

Replikasyon sırasında kesikli zincirde küçük DNA fragmentleri eşleşmeden kaldığı zaman telomerik tekrarlar herbir hücre siklusu boyunca kaybedilir (17). Telomerin tüm uzunluğu genetik kontrol altındadır. İmmortal hücrelerde, degradasyon ve tam olmayan replikasyon yüzünden telomerik DNA'nın kaybı, telomerik dizilerin uzamasında rol oynayan telomeraz enzimi ile önlenmektedir (18).

Telomeraz, kısa bir RNA komponenti içeren büyük bir ribonükleoproteindir. Bu enzim, TTTGGG tekrarlarının sentezi için primer olarak Guanin ve Timin bazlarını içeren telomer zincirinin 3'-OH grubunu kullanır. Telomeraz enziminin RNA komponenti, Guanince zengin tekrarlayan dizinin sentezlenmesi için kalıp görevi yapar. Çünkü bu dizinin komplementeri enzimin yapısında bulunur. Enzim, aralıklı olarak ilerler. Kalıp RNA, DNA primeri üzerinde

yerleşir ve birkaç nükleotid primere eklenir ve sonra enzim tekrar bağlanmak için transloke olur. RNA üzerinden sentezlenmiş olan DNA zincirinin komplementeri, DNA polimeraz ile tamamlandıktan sonra DNA ligaz ile fosfodiester bağı kurularak telomerik dizinin sentezi tamamlanır (19).

Telomere bağlı proteinler, telomeraz enzim kompleksinin telomere bağlanmasını dolayısıyla aktivitesini, telomerik tekrar dizilerinin kaybının önlenmesini ve telomer boyunun korunmasını sağlarlar. Ayrıca bu proteinler telomerlerin tek ve çift dal uçlarını şapka gibi sararak ve t-ilmek oluşturarak onları yıkılmaktan korurlar. Bu telomere bağlı proteinlerin bir kısmı telomer tek zincirinin uzamasını sağlarken, bir kısmı da aşırı uzamasını engeller. Örnek olarak, Trf1P ve Trf2P proteinleri verilebilir. Bu iki protein tüm insan kromozomlarının telomer bölgesinde bulunmaktadır. Ancak Trf1P telomer uzamasını baskımlarken, Trf2P kromozomlar arasında füzyon oluşmasını engeller ve böylelikle telomerlerin yapısının korunması sağlanmış olur (20).

Subtelomerik bölgelerin büyüklüğü ve kompleks oluşu, bu bölgelerin moleküler seviyede analiz edilmesini zorlaştırmaktadır. Bir kromozomun subtelomerik dizisi, başka bir kromozom ve kendi homoloğu ile yaklaşık % 95 oranında aynıdır. Örneğin 4p' nin telomer bölgesinde bir zinc finger geni bulunmaktadır. Bu genin 3. ekzonu 13p, 15p, 21p ve 22p'deki telomerik dizilerle homoloji gösterirken, Xq ve Yq subtelomerik bölgesinde yer alan interlökin 9 reseptör geni kısmi olarak 16p, 9p ve 10q telomerleri ile homoloji göstermektedir. Bu yüksek derecedeki dizi benzerliği, telomerik bölgeler arasındaki yerdeğişimini etkilemektedir. Bu olay sonucunda da kromozomal yeni oluşumlar meydana gelebilmektedir (21).

Klinik sitogenetikte, telomerik bölge içerdiği genler nedeniyle önemli bir bölgedir. Çünkü bu bölgedeki çoğu bantlar G-negatiftir ve bu bölgedeki kriptomik translokasyon ve delesyonlar konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle tanımlanamamaktadır (22). Bu nedenle moleküler sitogenetik bir yöntem olan FISH, daha detaylı inceleme gerektiren problemlilerde telomerik bölgelerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (23).

2.2. Kromozom Aberasyonları

Spontan düşüklerin yaklaşık olarak yarısından kromozomal abnormaliteler sorumlu olduğundan, konjenital malformasyonlara sahip fetüsler kaybedilmektedir. Tüm hamileliklerde % 7.5 oranda kromozom aberasyonları gözlenmektedir. Otozomal veya seks kromozom abnormalitelerine sahip fetüslerin ise yaklaşık % 5'i doğmaktadır. Bu nedenle kromozom aberasyonlarının canlı doğumlarda sıklığı % 0.6' dır. Erken spontan düşüklerde % 60, geç spontan düşüklerde % 5 oranında kromozomal abnormalite görülmektedir. Kromozomal abnormaliteler, sayısal ve yapısal olmak üzere iki başlık altında toplanmaktadır (24).

2.2.1. Yapısal Abnormaliteler

Yapısal abnormaliteler kromozom kırıkları sonucu ortaya çıkmaktadır. Bir kromozom kırıldığı zaman iki kararsız yapışkan uç meydana geldiğinden genellikle tamir mekanizması, gecikmeksizin bu iki ucu tamir etmektedir. Bununla beraber, aynı kromozom üzerinde yada farklı kromozomlar üzerinde birden fazla kırık meydana gelirse o zaman tamir mekanizması bir yapışkan ucu diğerinden ayırt edemediğinden uçlarda yanlış eşleşme olasılığı ortaya çıkmakta ve böylece yeni düzenlenmiş kromozomlar oluşmaktadır (25). Yapısal kromozom bozuklukları altı ana başlık altında toplanmaktadır.

- 1- Translokasyon
- 2- Delesyon
- 3- Duplikasyon
- 4- İnverson
- 5- Halka kromozomu
- 6- İzokromozom

2.2.1.1. Translokasyon

Translokasyon, kromozomlar arasında kromozomal materyalin yer değiştirmesidir. Bu değişme genellikle DNA 'da hişbir kayba neden olmaz ve birey klinik olarak normaldir. Bu translokasyona dengeli translokasyon adı verilir. Ancak bu durum gelecek nesil için tıbbi aēıdan 6nemlidir. Çünkü dengeli translokasyon taşıyıcıları kromozomal olarak dengesiz d6ller verme riskini taşırlar (16). Oluş mekanizmasına g6re translokasyonlar 6 ana grupta olup resiprokal, Robertsonian ve insersiyon şeklinde g6r6lmektedir.

Resiprokal Translokasyon

İki non homolog kromozom arasında kromozom materyalinin karşılıklı yer değiştirmesi sonucu oluşmaktadır. Yeni doğanda 1/500 oranında g6zlenmektedir. Ancak translokasyonun gerēekleřtięi kırık noktasında yer alan genlerde bir mutasyon meydana gelirse yada mikroskobik olarak g6zlenemeyen çok k66k bir delesyon olursa veya translokasyon sonucu başka bir kromozomal b6lgeye yerleşen gen yeni pozisyonu nedeni ile inaktif hale gelirse, oğul d6llerde anormal klinik bulgular ortaya çıkabilmektedir.

Aralarında resiprokal translokasyon gerēekleřen kromozomlar I. mayoz b6l6nme sırasında homolog b6lgelerin affinitesinden dolayı

çiftleşme eğilimindedirler. Dolayısıyla I. mayozun pakiten evresinde pakiten konfrigasyonu adı verilen quadrivalent bir yapı oluştururlar. I. mayotik bölünme meydana geldiğinde bu quadrivalent yapı değişik segregasyon modelleri gösterir. Bunun sonucunda 1/6 oranında normal, 1/6 oranında dengeli taşıyıcı, 4/6 oranında ise dengesiz gametler oluşur. Bu gametlerin döllenmesi sonucu oluşan zigot genellikle spontan düşüklere kaybedilir. Dengesiz kromozomal anormallik bulunduran fetüs doğsa bile mental retardasyon ve ağır konjenital malformasyonlar görülür (26,27).

Rutin sitogenetik bantlama yöntemleri ile belirlenen bu translokasyon bölgeleri, kromozomların telomerik bölgelerinde yer aldığı çok ufak bölgeleri kapsadığından ve benzer olduğundan bazen tanımlanamamaktadır. Bu nedenle bu tip translokasyonlar son zamanlardaki yayınlarda kriptik translokasyon olarak isimlendirilmektedir.

Robertsonian translokasyon

İki akrosentrik kromozomun kısa kollarının kaynaşması sonucu meydana gelmektedir. Yeni doğarlarda 1/1000 oranında gözlenmektedir. Bu tip translokasyonun büyük çoğunluğu % 74 oranında 13 ve 14 nolu kromozomlar, % 8 oranında 14 ve 21 nolu kromozomlar, geri kalan % 8'si yaygın olmayan non- homolog akrosentrik kromozomlar arasında görülmektedir.

Robertsonian translokasyon taşıyıcılarında spermatogenezis hatası oluşmaktadır. Genelde fertilitede herhangi bir azalma olmamasına rağmen aynı ailede aynı tip translokasyon taşıyıcısı olup da infertilite gözlenen bireyler bulunabilmektedir (28).

İnsersiyon

Bu translokasyon tipinde bir kromozomda meydana gelen aralıklı iki kırılma, o kromozomdan ara parçanın ayrılmasına neden olur. Ayrılan bu ara segment diğer bir kromozomda tek bir kromozomal kırık tarafından oluşmuş aralığa girer. Ayrılan parça yönünü değiştirmeden yani üzerindeki DNA dizilerinin sırası değişmeden diğer aralığa giriyorsa buna direk insersiyon denir. Eğer ters dönerek diğer aralığa giriyorsa ters insersiyon denir. Ayrıca kromozomdan ayrılan ara segment aynı kromozomda meydana gelen başka bir aralığa da girebilir. Buna intrakromozomal insersiyon denir (16).

2.2.1.2. Delesyon

Delesyon bir kromozomun kısa yada uzun kolunda segment kaybıdır. Bu segmentin büyüklüğüne ve üzerinde taşıdığı işlevsel genlerin sayısına bağlı olarak ortaya çıkan klinik bulgular değişir. Kaybolan segmentin kromozomal lokalizasyonuna göre delesyonlar terminal ve ara delesyon olmak üzere iki şekilde görülür.

Kromozomal delesyon, homolog kromozomlar ve kardeş kromatidler arasında meydana gelen eşit olmayan kros-over sonucu oluşur. Delesyon sonucunda, kromozom kırılmasını takiben asentrik segment kaybolur (29).

2.2.1.3. Duplikasyon

Bir kromozomal segmentin bulunduğu kromozom üzerinde iki kere kendini tekrarlaması ile duplikasyon meydana gelir. Duplike olmuş segmentin pozisyonuna ve yerine göre duplikasyonlar üç grupta toplanmaktadır.

1-Tandem duplikasyon: Duplikasyona uğramış segmentin orijinal kromozom bölgesine aynı şekliyle yerleşmesidir.

2-Ters duplikasyon: Duplikasyona uğramış segmentin ters dönerek orijinal kromozom bölgesine yerleşmesidir.

3-Displaced duplikasyon: Duplike olan segmentin aynı kromozomun farklı bir bölgesine yerleşmesidir.

Duplikasyonların ortaya çıkışında iki mekanizma gözlenebilmektedir. Birincisinde, homolog kromozomlar üst üste gelerek çakışır ve çakışan bölgeden kromozomlar kırılır. Kopan segmentin diğer kromozoma yerleşmesi sonucu duplikasyon ortaya çıkar. İkincisinde ise eşit olmayan kros-over görülür (30).

2.2.1.4. İnverson

Bir kromozomda oluşan iki kırık sonucunda arada kalan segment 180° dönerek aynı yere yeniden yapışır. İki kırık, kollardan sadece birinde olmuşsa genlerin sırası değişir fakat yapısı değişmez (Parasentrik inverson). Sentromeri de içine alacak biçimde kollardan her ikisini kapsayan inverson gerçekleşirse, hem yapı hem de gen sırası değişir (Perisentrik inverson). Perisentrik inversonlar içinde yalnızca 9p11;q13 bölgelerini içeren perisentrik inverson polimorfizm olarak bilinmektedir. Bunun dışında kalan inversonlar dengesiz kromozomal yeni düzenlenmeler bulunduran oğul döller oluşturabilmektedir (31, 32).

2.2.1.5. Halka Kromozom

Halka kromozom 1/25000 sıklıkla görülür. Bunların yarısı akrosentrik kromozomlardan kaynaklanır. En yaygın görülen şekilde, kromozomun her iki ucunda terminal bölgede kırılmalar

meydana gelir. Bu kırılmalar sonucu birleşmeye eğilimli iki yapışkan uç oluşur. Bu uçların birleşmesi sonucu halka kromozom meydana gelir. Bu şekilde oluşan halka kromozom mitoz bölünmede stabil değildir. Ayrıca bazı neoplastik hastalıklarda, örneğin astrocytomada telomer-telomer birleşmesi ile halka kromozom oluşumu gerçekleşmektedir (33).

2.2.1.6. İzokromozom

Kromozomlar mayoz I, mayoz II veya postzigotik mitoz evresinde sentromerlerinden boyuna bölünerek iki ayrı kutba göç ederler. Kromozomlar boyuna değil de enine bölündükleri zaman bir kutba kromozomun kısa, bir kutba ise uzun kolu gider. Sentromer hangi kolda ise o kol replike olur ve böylece aynı kolun tekrarını içeren izokromozom tipi yapısal anomali meydana gelir. Oluşan izokromozom monosentriktir.

Hücre siklusunun S fazında replikasyon sırasında replikasyon çatalının birindeki kardeş zincirlerin yanlış ligasyonu kısa kolun yada uzun kolun ve sentromerin kısmi tekrarına neden olur. Oluşan izokromozom daha çok disentriktir. Bu oluşum mekanizmasına U-tipi değişim yada U-ilmik formasyonu adı verilir. Mayoz ve mitoz esnasında görülmektedir (34).

2.2.2. Sayısal Düzensizlikler

İnsan eşey hücrelerinde 23 adet kromozom bulunur. Haploid sayı insanın somatik hücrelerinde iki katına çıkar, yani diploiddir. Temel kromozom sayısındaki artış yada azalışlar olarak bilinen sayısal düzensizlikler öploidi ve anöploidi şeklinde ikiye ayrılmaktadır.

2.2.2.1. Öploidi

Normal haploid sayının tam katı kadar artması ile ortaya çıkan öploide temel kusur, hücrede çekirdek bölünmesi olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır. Öploidin oluşumuna dair iki mekanizma vardır.

1-Endomitoz: Hücre bölünmesine hazırlık olarak kromozomlar katı kadar çoğalır. Mitoz bölünmenin ilk iki evresi olan profaz ve metafaz gerçekleşir, fakat anafaz ve telofaz oluşmaz. Hücre ve sitoplazma bölünmesi de gerçekleşmediğinden kromozom sayıları her bölünmede katı kadar artmış olur. Bu olay endomitoz olarak adlandırılır.

2-Endoreduplikasyon: Endomitozda olduğu gibi kromozomlar katı kadar artar ya da diğer bir deyişle kromatidler bölünür, fakat hücre bölünmesi gerçekleşmediği için, sentromerlerinden birbirine tutunmuş durumda çok sayıda kromatidden oluşmuş kromozomlar ortaya çıkar. Bu olaya endoreduplikasyon denir. Endoreduplikasyon insanda kanserli dokularda ve spontan düşük materyalinde sıklıkla görülmektedir.

2.2.2.2. Anöploidi

Temel kromozom sayısının katları kadar olmayan $2n+1$ yada $2n-1$ şeklindeki artma ya da eksilmelere anöploidi denir. Anöploidi olguları öploidi olgularından daha sık görülmektedir. Anöploidin ortaya çıkışında iki mekanizma vardır.

1-Kromozomların Anafazda Geri Kalması: Hücre bölünmesi sırasında kromozomlar sentromerleri ile iğ ipliklerine tutunarak

kutuplara çekilirken, anafaz evresinde geri kalması durumudur. Geri kalan bu kromozom homologunun bulunduğu yavru hücreye katılır. Böylece oluşan yavru hücrelerden birisi aynı kromozomdan iki tane bulundururken, diğerinde bu kromozom hiç bulunmayacaktır.

2-Kromozomların ayrılammaması: Bölünmeye hazırlık döneminde kendini iki katına çıkaran kromozomlar, metafaz evresinde ekvatorial düzlemde toplanırlar. Sentromerlerinden uzunlamasına ikiye bölünerek her kromatid ayrı bir kutba gider ve bölünme olayı tamamlanır. Kimi zaman kromozomlar uzunlamasına bölünemez ve bir kutba iki kromatidli kromozom giderken diğer kutba kromozom gitmez. Bu olaya kromozomların ayrılammaması denir. Bu olay hem mitoz hem de mayoz bölünmede görülebilir. Mitoz bölünmede kromozomların ayrılammaması sonucunda, kusurun ortaya çıktığı zamana bağılı olarak, kromozom sayısı hücrelerin bir kısmında fazla, bir kısmında ise normalden az olacaktır. Sonuçta bireyin hücrelerinin bir kısmı monozomik bir kısmı trizomik olacaktır. Kromozom ayrılammamasının bu türüne mitotik kromozomların ayrılammaması denir.

Mayoz bölünme sırasında ortaya çıkan kromozomların ayrılammaması daha önemli olup, daha sık gözlenir. Kromozomun ikiye bölünüp her birinin iki ayrı kutba gidememesi sonucu, hücrelerden birinde söz konusu kromozom hiç bulunmazken diğer hücrede bir yerine iki tane bulunur. İki kromozomlu gamet normal kromozomlu gamet ile birleşecek olursa trizomik zigot oluşacaktır. Buna karşılık, bölünme hatası sonucunda ilgili kromozomu taşıyamayan gamet normal kromozomlu gamet ile birleşecek olursa monozomik zigot oluşacaktır.

Mayoz bölünme sırasında kromozomlarda ayrılammama Mayoz I veya Mayoz II'de gerçekleşebilir. Eğer ayrılmama Mayoz I'de olursa

ekstra kromozom taşıyan gamet maternal ve paternal homolog kromozomların her ikisini de taşıyacaktır. Eğer ayrılmama mayoz II'de olursa, ekstra kromozom ya anneden yada babadan gelecektir (35- 38).

2.3. Kromozomal Aberasyonların Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler

Standart sitogenetik yöntemler ile insan kromozomlarının tümü sahip oldukları özgül bant bölgelerine göre tanımlanmaktadır. Rutin sitogenetik analizlerde kromozom üzerinde 400-500 bant gözlenebilmektedir. Bu yöntemle ancak kromozomal bölgesine bağlı olarak 5-10 Megabazlık DNA içeren yeni oluşumlar belirlenebilir. Oysa ki yüksek rezolüsyon yöntemleri (HRB) ile 850-1000 bant gözlenmektedir. 1990'lı yıllarda 2 Megabazdan daha küçük yeni oluşumları belirlemek için geliştirilen Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemi, günümüzde pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (24, 39).

2.3.1. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

Moleküler biyolojik tekniklerdeki hızlı ilerlemelerle son yıllarda, belirli bir DNA parçası sınırsız sayıda çoğaltılabilmekte, nükleotid dizileri çok kısa süre içerisinde kolaylıkla saptanabilmekte, aynı tekniklerin modifikasyonları ile izole bir gen değiştirilebilmekte ve tekrar kültürdeki hücrelere geri verilebilmektedir. Tüm bu yöntemler in vitro şartlarda uygulanırken, doku, hücre yada kromozomun olduğu yerde incelenmesine olanak sağlayan yegane yöntem In Situ Hibridizasyon (ISH) tekniğidir (40).

İlk başlangıçta radyoaktif madde kullanılarak uygulamaya konulan bu yöntemde radyoaktif maddenin pahalılığı, yarı ömrü,

toksik etkisi ve uzaklaştırılması gibi önemli sorunlar yeni arayışlara neden olmuştur ve 1991 yılından beri floresan ile işaretlenmiş nükleotid analoglarının direk ve indirek ISH yöntemlerinde kullanılmaya başlanmasıyla, FISH bugün en çok tercih edilen yöntem haline gelmiştir. FISH yöntemi anöploidi ve yapısal kromozom abnormalitelerinin belirlenmesinde, gen amplifikasyonu, gen haritalanması, seks tayini, prenatal tanı ve kanser sitogenetiği gibi birçok alanda kullanılmaktadır (41-46).

Bu tekniğin uygulanmasında en önemli aşama prob seçimidir. Kullanılacak probun incelenecek materyale, değerlendirilecek anomali tipine ve bölgesine uygun olması gerekir. FISH tekniğinde başlıca kullanılan proplar şunlardır:

- Tekrarlayan dizi probları (satellit probları)
- Lokusa özgü proplar
- Tüm kromozomu boyayan proplar
- Banda özgü proplar
- Telomer bölgesine özgü proplar (40).

Çoğu kromozomlara spesifik olan sentromerik satellit DNA probları ve tüm kromozom boyama probları (wcp) konvensiyonel metodlarla saptanamayan kromozomal yeni oluşumları belirleyebilmek için kullanılmaktadır. Tüm kromozom boyaması ve ters kromozom boyaması küçük kromozomal bölgeleri içeren yeni oluşumları belirlemede kolaylık sağlasa da telomerik bölgelerdeki değişimler gözden kaçabilmektedir. Bu yüzden, özellikle sebebi bilinmeyen mental retardasyon ve tekrarlayan düşük endikasyonları olan bireylerde telomerik bölgelerdeki kriptik translokasyonların ortaya çıkarılmasında herbir kromozomun telomerik bölgesine özgü

çoklu prob seti kullanılarak FISH yönteminin uygulanması son yıllarda büyük önem kazanmıştır (7,47,48).

2.4. Spontan Düşükler

Hastanın kendisi, hekim veya bir başkası tarafından uygulanmaksızın görülen bütün düşükler, spontan düşük olarak kabul edilmektedir. Popülasyonda klinik olarak saptanabilen spontan düşük oranı % 10-20 olarak belirtilmektedir (49). Ülkemizde yılda yaklaşık 1 milyonun üzerinde spontan düşük olmaktadır. Ancak erken dönemde ortaya çıkan düşüklerin klinik olarak tanımlanması oldukça zor olduğundan düşük oranını tam olarak söyleyebilmek mümkün değildir. Çünkü bunlar kadınlar tarafından adet düzensizliği olarak tanımlanır ve menstural düşükler olarak adlandırılır. Çok erken gebelikleri saptayabilen hassas gebelik testleri kullanıldığında, gebeliklerin yaklaşık % 40-50'sinin düşükle sonuçlandığı ileri sürülmektedir (50, 51).

Tablo 1. Çiftlerde görülebilecek, tekrarlayan erken gebelik kaybı riski Tablo 1'de verilmektedir (50).

	Daha önceki Kayıp Sayısı	Sonraki Gebelikte Kayıp (%)
En az bir canlı doğum yapan kadınlar	0	% 12
	1	% 24
	2	% 26
	3	% 32
	4	% 26
Hiç canlı doğum yapmayan kadınlar	2 veya daha fazla	% 40-45

2.4.1. Patoloji ve patogenezi

Düşüklerin çoğu, embriyo öldükten 1-3 hafta sonra gerçekleşir. Desidua bazalis'de kanama vardır. İmplantasyon yerinde nekroz ve inflamasyon olur. Ovum implantasyon alanından kısmen ya da tamamen ayrılır ve bu durum uterus içinde yabancı cisim olarak algılanıp uterus kramplarına yol açar, serviks açılır, gebelik ürünü dışarıya atılır.

Gebelik ürünü embriyo öldükten sonra uzunca bir süre uterus kavitesi dışına atılmamışsa (missed abortus), ovum etrafındaki kan pıhtıları sağlam, sert bir kapsül oluşturur. Buna korneöz mol veya Breus Molü (kan molü) denir. Tüm düşüklerde plasental villuslarda hidropik dejenerasyon vardır. Bazen amniyon sıvısı absorbe olur, fetus kurur ve basınç altında kalarak parşümene benzer (fetus papiraceus) bir yapı gösterir. Bu duruma daha çok ikiz gebeliklerde fetusun bir tanesi öldüğünde rastlanır (52).

2.4.2. Etiyoloji

Spontan düşüklerde etiyoloji f3tal, maternal ve paternal fakt3rler olarak 3'e ayrılmaktadır.

2.4.2.1. F3tal Fakt3rler

İlk 6-8 haftadaki spontan düşüklerin % 50-80'inde fet3se ait bir genetik bozukluk ya da bir malformasyon saptanmaktadır. 8-12 haftalar arasında bu oran % 25'e d3şer. Ortalama olarak, 12. haftaya kadar olan düşüklerde kromozom anomalisi ve ona bağlı malformasyon oranı % 50'dir. Malformasyonun nedeni kesin olarak bilinmemekle birlikte, trofoblastın implantasyonu sırasında bir bozukluk olduğu d3ş3n3lmektedir. Maternal viral hastalıkların ve sitotoksik ilaçların implantasyonu bozduğu iddia edilir. Ovum ve spermatozoadaki bir genetik bozukluğun malformasyonun nedeni olabileceği ileri s3r3lmektedir (50).

2.4.2.2. Maternal Fakt3rler

Akut enfeksiyonları tanıma kriteri, infeksiif ajana karşı spesifik imm3noglobulin M (IgM)'nin uygun gebelik haftasında kordon kanında y3ksek oranda saptanmasıdır. Bir gebe kadında bir patojen ajana karşı imm3noglobulin G (IgG)'nin saptanması ise sadece o ajanla daha 3nce karşılaşmış olduğunu ve organizmanın bir yanıt oluşturduğunu g3stermektedir. Annenin aktif enfeksiyon geçirdiğinin g3sterilmesi için anne kanında IgM'nin titrasyonunun arttığının g3sterilmesi gerekmektedir. Akut sistemik enfeksiyonların, 3zellikle Listeria, Vibrio, Salmonella ve Vaksinia enfeksiyonlarında d3ş3ęe neden olabileceği 3ne s3r3lmektedir. İlk trimesterde geçirilen

TORCHES (Toksoplazma, Rubella, Sitomegalovirüs, Herpes tip 2, Sifiliz) akut enfeksiyonları abortusa yol açabilmektedir (53).

Maternal faktör olarak toksik etmenlerden anestezi gazları hem abortus oranını ve hem de fetal anomali riskini yaklaşık olarak 2 kat artırmaktadır. Ayrıca kolçisin, antineoplastik ilaçlar, lüteolitik ajanlar (östrojen vb.) gibi kimyasal maddeler ve belirli dozun üzerinde alınan radyasyon düşüğe yol açabilmektedir. Çevresel faktör olarak da alkol ve sigaranın da abortus oranını arttırdığı iddia edilmektedir. (52, 49,54).

2.4.2.3. Paternal Faktörler

Babanın oligospermisinin veya hiperspermisinin, sperm DNA içeriğinin anormal miktarda azalmasına yol açarak düşüğe neden olabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca spermdeki kromozomal abnormaliteler de spontan düşüğe neden olmaktadır (55).

2.4.2.4. Genetik Faktörler

Canlı doğan 100 bebekten beş tanesinde kromozom anomalisi vardır. Zigotlardaki gerçek kromozom anomalisi oranı çok daha fazladır. Ancak, kromozomal bozukluğu olan zigotların % 90'dan daha fazlası düşükle atılmaktadır.

Spontan düşüklere daha çok anöploidi tarzında kromozom anomalisi gözlenmektedir. İlk trimester düşüklere en çok rastlanan kromozom bozukluğu trizomilerdir. Kromozom anomalilerinin yaklaşık % 50'sini otozomal trizomiler oluşturur. En sık 13, 16, 18, 21 ve 22 nolu kromozomların trizomisi gözlenir. Bunu % 20 olguda monozomi X (Turner sendromu), % 15 olguda triploidi ve % 5 olguda tetraploidi izlemektedir. Ayrıca anne ya da babada dengeli

translokasyon taşıyıcılığı var ise oğul döllerde kısmi trizomi ve kısmi delesyon gözlenebilmektedir (56).

2.5. Habitüel Düşük

Arka arkaya üç spontan düşük olduğu zaman kadının tekrarlayan düşük yapma şansı artmaktadır. Bu durum habitüel düşük (tekrarlayan düşük) olarak adlandırılmakta olup klinik olarak tanımlanabilen hamileliklerde % 0.4-0.9 oranında gözlenmektedir (57). Arka arkaya 3 düşük yaptıktan sonra sağlıklı bir gebeliği sürdürebilme şansı % 65-70 iken, 5 ardışık düşüktan sonra doğumla sonlanan gebelik şansı % 40-50'ye inmektedir (58).

Habitüel düşük nedenlerinin arasında immünolojik, endokrin, anatomik, genetik faktörler yer alabilmekle beraber bazen nedeni bilinmemektedir.

2.5.1. İmmünolojik Problemler

Habitüel düşük olgularının büyük bir çoğunluğunda yapılan testler sonucunda bir etiyolojik faktör belirlenememiştir. Bu nedenle bu sorunun altında, immünolojik bir köken olduğu düşünülmektedir. Bu immünolojik nedenler iki grupta toplanabilir.

Otoimmünite (Kendi Antijenleri)

Otoimmün hastalığı olan kadınlarda, düşüklerin normal popülasyona göre daha sık olduğu bilinmektedir. Buradan yola çıkarak yapılan çalışmalarda bazı abortus olgularında serumda otoantikörlerin varlığı bildirilmektedir. Bu grup antikörler antifosfolipit antikörleri olarak adlandırılmaktadır. IgG ve IgM yapısında olabilen bu antikörler, hücre membranlarındaki

fosfolipitlere karşı üretilmişlerdir. Bu antikorlardan en iyi bilineni lupus antikoagülandır.

Alloimmünite (Yalancı Antijenler)

Annede ve fetusda İnsan Lökosit Antijeni (HLA) ve trofoblastlarda bulunan TLX antijen sistemi annenin antijenik yapısıyla uygun olmadığı halde annede çocuğa karşı immün yanıt görülmemektedir. Bunun nedeni, antijenlerin blokan faktörler tarafından baskılanmasıdır. Eğer anne ve baba dolayısıyla da çocuk arasında antijenik benzerlik varsa bu blokan faktörler üretilmez ve bu durumda anne fetüsa karşı antikor üretir. Bu da abortusa neden olur. Dolayısıyla anne ve babanın antijenik yapı benzerliği olduğundan tekrarlayan düşüklere neden olacaktır. Buna karşılık son yıllarda birçok araştırmacının görüşü, anne ve babanın antijen sistemlerinin birbirine benzerliğinin aslında bir habitüel düşük nedeni olmadığıdır. Bu araştırmalar HLA sistemleri birbirine benzeyen insanlarda aynı gen bozukluklarının olabileceği ve resesif gen bozukluklarının bulunduğu bu kişilerin çocuklarında da hastalığın tıpkı akraba evliliklerinde olduğu gibi sık ortaya çıkabileceğini ileri sürmektedir. Bu nedenle bu gruba sokulan hastaların etiyolojilerinin altında gen defektlerinin olduğu düşünülmektedir (59, 60).

2.5.2. Endokrin Faktörler

Hipotiroidizm, hipertiroidizm, hiperprolaktinemi veya diabetes mellitus gibi endokrin sistem hastalıklarının habitüel düşüğe neden olabileceği öne sürülmektedir (50, 61).

2.5.3. Anatomik Nedenler

Habitüel düşüğü olan kadınların yaklaşık % 12-15' inde bir uterus malformasyonu bulunmaktadır. Bu uterus abnormalitelerinin başında servikal yetmezlik gelmektedir. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, hormonal, konjenital veya travmaya bağlı olarak oluşabileceği düşünülmektedirler. Uterus miyomları ve polipleri, lokalizasyonları nedeniyle düşüğe yol açabilmektedir.

Genellikle fazla sayıda yapılan kürtaj, geçirilmiş enfeksiyonlar ve postpartum komplikasyonlar sonrasında gelişen intrauterin adezyonlar (Asherman sendromu) ve Müllerian kanal anormallikleri de habitüel düşüklere neden olmaktadır (62-64).

2.5.4. Çevresel Faktörler

Sigara, alkol ve aşırı kahve tüketimi habitüel düşük riskini artırmaktadır. Riskteki artış içilen sigara sayısı ile orantılıdır. Anestetik gazlar ve tetrakloretilen de düşüğe yol açan etkenler olarak öne sürülmüştür. Isotretionin (Accutane) kullanımının kesin olarak spontan düşük insidansını artırdığı vurgulanmaktadır.

2.5.5. Genetik faktörler

Habitüel abortusların yaklaşık olarak % 50-70'i fetal kromozom anormallikleri ile ilişkilidir. Bu anormallikler, maternal yada paternal gametogenezis sırasındaki yada zigot bölünürken ortaya çıkan hataların sonucu oluşmaktadır. Spontan düşüklere olduğu gibi habitüel düşüklere de en çok görülen fetal kromozom anomalisi 13, 16, 18, 21 ve 22 nolu kromozomların trizomileridir (yaklaşık %50).

Diğer bir sık gözlenen abnormalite ise Turner sendromuna yol açan X kromozom monozomisidir. Geriye kalan anomalilerin çoğunluğu ise poliploidlerdir.

Dengeli translokasyon habitüel düşükleri olan çiftlerde en sık görülen yapısal kromozom abnormalitesidir (% 3-8). Seks kromozom mozaisizmi, halka kromozomları ve inversiyonlar karşılaşılan diğer anormallikler içinde yer almaktadır.

Ebeveynlerde kromozom yapısının belirlenmesi, genetik anormalliklere bağlı olarak kaybedilen gebeliklerin yalnızca bir kısmını ortaya koymaktadır. Ayrıca kromozom anormallikleri olmaksızın oluşabilecek letal gen bozuklukları, açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabilmektedir (50, 65).

Spontan ve habitüel düşüklerde genetik faktörler önemli bir neden olarak gözlendiğinden, ebeveynlerden birinde dengeli translokasyon tipi yapısal kromozom abnormalitesi bulunduğu, annenin spontan yada habitüel düşük yapması doğal bir sonuç olarak beklenilmektedir. Ebeveynlerdeki bu translokasyonlar belirlenirken izlenen yol, rutin konvensiyonel sitogenetik analizler olmaktadır. Son yıllarda ise pekçok laboratuvarında FISH yöntemi, sitogenetik yöntemlerle belirlenemeyen kromozomal yeni düzenlenmeleri ortaya çıkarabilmek için, klinik tanularına göre pekçok hastada rutin uygulanmaktadır.

MATERYAL VE METOD

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına en az beş ve üzeri spontan düşük nedeni ile başvuran 5 çift, çalışmanın materyalini oluşturdu.

Olgular, spontan düşüğe neden olan endokrin faktörler, anatomik faktörler ve immünolojik nedenler açısından incelendikten sonra, Genetik Bilim Dalına kromozom analizi için gönderildi.

Birinci aşamada kromozom analizi için periferal kandan lenfosit kültürü kuruldu, sayısal yada yapısal herhangi bir kromozomal anormallik gözlenmeyen ve karyotipleri 46,XX ve 46,XY olarak belirlenen çiftler daha detaylı araştırma için ayrıldı. İkinci aşamada karyotipleri normal bulunan bu çiftlerde moleküler sitogenetik bir yöntem olan Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği ile kromozomlar yeniden incelendi.

3.1. Periferel Kan Kültürü

3.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması

Mc Coy's 5A Medium (Biological Industries)	100 ml
% 15 Fetal Dana Serumu (Biochrom)	15 ml
% 0.75 Fitohemaglutinin (Biochrom KG)	0. 75 ml
% 0.1 Penisilin-Streptomisin (Irvine Scientific)	1 ml
% 0.1 L-Glutamin (Irvine Scientific)	1ml
RPMI Medium 1640 (Irvine Scientific)	100ml
% 15 Fetal Dana Serumu (Biochrom)	15 ml
% 0.1 Penisilin-Streptomisin (Irvine Scientific)	1 ml
% 0.1 L-Glutamin (Irvine Scientific)	1 ml
% 0.75 Fitohemaglutinin (Biochrom KG)	0. 75 ml

3.1.2. İşlemler

- Beş ve daha fazla düşüğü olan hastalardan, heparinize edilmiş 2cc'lik enjektörler kullanılarak venöz kan alındı.
- Steril kapaklı kültür tüplerden birine RPMI besi ortamı diğereine ise besi ortamlarından kaynaklanabilecek kontaminasyonlardan sakınmak amacı ile farklı bir besi ortamı olan Mc Coy's 5A'dan 5'şer ml kondu. Hazırlanan bu tüplere 5'er damla (yaklaşık 0.5 ml) kan ilave edildi.
- Tüplerin ağızları hava ile teması engellemek amacıyla sıkıca parafilmle sarıldı.
- Daha sonra 37⁰C'lık etüve konularak 72 saat hücrelerin üremesi sağlandı.

3.2. Kromozom Eldesi (66)

3.2.1. Kullanılan Solüsyonlar

Kolçisin Solüsyonu

10 mg/ml Kolçisin (CIBA);

1 Kolçisin tableti 10 ml bidistile suda çözüldü. Hazırlanan bu stok solüsyondan 1 ml alınarak temiz bir tüpe aktarıldı ve bunun üzerine 9 ml bidistile su ilave edildi. Böylece final konstrasyonunun 10 mg/ml olması sağlandı. Bu kullanım solüsyonu +4°C'de buzdolabında saklandı.

Hipotonik Solüsyonu;

0,075 M KCl (Merck);

0.5592 gr KCl tartıldı ve 100 ml bidistile suda çözüldü. Solüsyon 37°C etüvde saklandı.

Fiksatif Solüsyonu;

Absolü Metanol (Merck);

Glasial Asetik Asit (Merck);

Önce 1 kısım glasial asetik asit sonra üzerine 3 kısım absolü metanol konularak 3:1 oranında fiksatif solüsyonu hazırlandı. (Fiksatif solüsyonu kullanımdan önce taze hazırlandı.)

Lamların Temizliği

Lamlar beyaz sabun ile iyice yıkandıktan sonra ilk önce tek tek musluk suyundan geçirildi, daha sonra bol su ile iyice durulama işlemi gerçekleştirildi. En son bidistile su ile birkez daha yıkandıktan sonra bidistile su içerisinde +4°C'de buzdolabında soğumaya bırakıldı. Soğuk ortamı sağlamak için yayma işlemi yapılacağı zaman lamlar buzdolabından çıkarıldı.

3.2.2. İşlemler

- Kültürün 70. saatinde hazırlamış olduğumuz kolisin solüsyonundan her tüpe 0.05 ml kolisin ilave edildi. Tüpler tekrar 37°C'de etüvde 2 saat bekletildi.
- 72. saatte etüvden alınan steril tüpler, pipet aracılığı ile hafifçe pipetaj yapıldıktan sonra konik santrifüj tüplerine aktarıldı.
- 1500 rpm'da 7 dakika santrifüj edildi.
- Dökelti atıldı. Hafifçe pipetaj yapıldı. Çökeltinin homojenize olması sağlandı.
- kelti zerine etüvden yeni çıkartılmış olan hipotonik solüsyonundan 8 ml konarak pipetaj yapıldı.
- 37°C'de etüvde 9 dakika bekletildi.
- Etüvden alınan tüpler 1500 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.
- Dökelti atıldı ve hafifçe pipetaj yapıldı. Hazırlanmış olan fiksatif solüsyonundan yaklaşık 3 ml alınarak çökelti üzerine hızla ilave edilerek pipetaj yapıldı.
- 1500 rpm'de 7 dakika santrifüj edildi.
- Fiksatif ile yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı.
- Son santrifüjden sonra çökeltinin konstrasyonuna göre çok az fiksatif bırakılarak yayma işlemine geçildi.

- Buzdolabından çıkarılan lamalar gazlı bezle kurulandıktan sonra üzerine hohlanarak nemli ortam sağlandı ve çökeltiden bir damla damlatılarak havada kurutuldu. Preparatlar 60°C’de 1 gece bekletilerek yaşlandırıldı. Geriye kalan çökelti üzerine taze fiksatif solüsyonu konularak, FISH yöntemi için –20°C’de saklandı.

3.3. Tripsin ve Giemsa ile G Bantlama (GTG)

3.3.1. Kullanılan Solüsyonlar

Tripsin;

0.1 gr tripsin (Sigma), 0.9 gr NaCl (Merck) tartıldı, bir adet pH: 7 tampon tableti (Russell) ilave edilerek 100 ml bidistile su içerisinde hiç partikül kalmayacak bir biçimde çözüldü ve +4°C’de buzdolabında saklandı.

Sörensan Tamponu;

A solüsyonu: 11.98 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (Merck) 1000 ml bidistile su içerisinde çözüldü.

B solüsyonu: 9.08 gr KH_2PO_4 (Merck) 1000 ml bidistile su içerisinde çözüldü.

A solüsyonundan 57.1 ml, B solüsyonundan 42.9 ml alınarak, 100 ml’lik sörensan kullanım solüsyonu hazırlandı. Solüsyon pH 6.8’e ayarlandı. +4°C’de buzdolabında saklandı.

Giemsa Boya Solüsyonu;

Sörensan solüsyonundan 96 ml alınarak içine 4 ml Giemsa (Merck) boya ilave edildi . İyice karıştırıldı.

Ksilol (Merck);

Entellan (Merck);

3.3.2. İşlemler

- 60°C'de etüvde bir gece yaşlandırılan preparatlar dışarı çıkartıldı.
- Buzdolabında bulunan tripsin dışarı çıkartılarak sıcaklığının 25°C olması sağlandı.
- Giemsa boya solüsyonu taze hazırlandı.
- Işık mikroskobunda diyafram kapalı iken açık veya koyu olmalarına bağlı olarak preparatlar, 50-70 saniye tripsin solüsyonunda tutuldu.
- Tripsin içerisinden çıkarılan preparatlar musluk suyundan geçirildi.
- 3-5 dakika Giemsa boya solüsyonu içerisinde bekletildi.
- Giemsa boyadan çıkarılan preparatlar tekrar musluk suyundan geçirildi.
- Preparatlar kurutma kağıdı (Whatman 40) ile kurutuldu.
- 30 dakika ksilol içerisinde bekletilen preparatlar bir damla entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.4. Mikroskobik Analiz

Her olgudan elde edilen tüm preparatlar ışık mikroskobunda (Nikon) 100X objektifte, en az 20 metafaz incelenerek analiz edildi. Sayısal veya yapısal anormallik gözlenmeyen olguların -20°C'de saklanmış olan materyallerine moleküler sitogenetik bir yöntem olan FISH tekniği uygulandı.

3.5. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi (39)

3.5.1. Kullanılan Solüsyonlar

20xSSC (Saline Sodyum Sitrat Tamponu) Solüsyonu;

175,3 gr. Sodyum klorit (Merck), 88,2 gr. Sodyum sitrat (Merck) tartıldı ve 1000 ml distile suda çözüldü.

2xSSC (Saline Sodyum Sitrat Tamponu) Solüsyonu;

Stok 20XSSC solüsyonundan 10 ml alındı ve 90 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

Dehidratasyon Solüsyonu;

% 70'lik, % 85'lik ve % 100'lük etil alkol serileri hazırlandı.

0,4xSSC Solüsyonu;

Stok 20xSSC solüsyonundan 2 ml alındı, 98 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

2xSSC Tween 20 (%0.05) Solüsyonu;

Stok 20xSSC solüsyonundan 10 ml alındı, 90 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlandı ve üzerine 50µl Tween 20 eklendi.

- **Tüm solüsyonlar pH 7.0'ye ayarlandı.**

3.5.2. Kit İçeriğindeki Hazır Solüsyonlar;

Hibridizasyon Tamponu; (Cytocell)

Formamid, dekstran sülfat ve 1XSSC içermektedir.

DAPI-Antifade solüsyon; (Cytocell)

3.5.3. FISH Tekniğinin Uygulanması

Ön Hazırlık;

- -20°C'de saklanmış olan olguların tüpleri çıkartılarak 1 kez daha 1200 rpm'da 7 dakika santrifüj edildi.

Lam Temizliği ;

- Lamlar % 100'lük metanolde 2 dakika bekletildi.
- Metanolden çıkarılan lamlar yumuşak bir bezle kurutuldu.

İdeal Hücre Yoğunluğunun Belirlenmesi

Lam üzerinde eşit olarak bölünmüş 24 kare bulunmaktadır. Bunlardan 22'si otozomal, 2'si ise seks kromozomlarına aittir. Lam üzerinde bulunan karelerden birincisine 1µl hücre süspansiyonu damlatıldı ve kurutuldu. Faz-kontrast mikroskopta incelendi. 10'luk objektifte eğer her karede en az 5 metafaz, her alanda en az 20 çekirdek var ise ideal hücre yoğunluğu var olarak kabul edildi. Hücre yoğunluğu çok fazla ise, taze fiksatif ile hücre süspansiyonu dilue edildi. Hücre yoğunluğu çok düşük ise, hücre süspansiyonu 10 dakika 1600 rpm'da santrifüj edildi. Dökelti uzaklaştırıldı. Taze hazırlanmış ancak daha küçük hacimde fiksatifle muamele edildi.

Lamın Hazırlanması

- İdeal hücre yoğunluğu sağlandıktan sonra birer kare atlanarak her alana tüpteki karışımdan 1µl damlatıldı. Hepsi kuruduktan sonra arada kalan diğer karelere tekrar tüpteki karışımdan 1µl damlatıldı ve kurutuldu.

- Mikroskop altında hücre süspansiyonunun bütün karelere damlatılıp damlatılmadığı son kez kontrol edildi.

Lam ve multiprob sisteminin hibridizasyon için hazırlanması

- Preparat saklama kutusu 37°C 'lık su banyosuna konuldu ve 37°C'ye gelmesi beklenildi.
- Hibridizasyon tamponundan 30 µl alınarak ependrof tüpüne aktarıldı. Bu ependrof tüpü ve multiprob içeren lam 37°C'lık su banyosuna konuldu.
- Metafaz yayması içeren lam oda sıcaklığında 2xSSC'de 2 dakika bekletildi.
- 2xSSC'den çıkartıldıktan sonra buzlukta % 70'lik, % 85'lik ve % 100'lük alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi.
- Alkol serisinden çıkartıldıktan sonra lam havada kurutuldu, 37°C'lık etüvde yaklaşık 10 dakika bekletildi.
- 37°C'deki multiprob içeren lamın 24 kuyucuğunun herbirine daha önce 37°C'de kalan hibridizasyon probundan 1'er µl damlatıldı.

Lamın Multiprob Lamı Üzerine Yerleştirilmesi

- 37°C'de bulunan lamın 1 nolu kuyucuğu, multiprob lamının sarı işaretli bölgesine gelecek şekilde kapatıldı.
- İyice yerleştiğinden emin olunduktan sonra metafaz yayması içeren lam altta kalacak şekilde ters çevrildi. Böylece multiprob içeren lam üstte kalmış oldu.
- Metafaz yayması içeren lam ve multiprob içeren lam çifti su banyosunda 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.

Denatürasyon

Lam çifti Thermal cyclers'in (Techne) sabit ısı bloğu üzerinde 75°C'de 2 dakika bekletilerek denatürasyon gerçekleştirildi.

Hibridizasyon

Denatüre edilen lam çifti, preparat saklama kutusu içine konuldu. Preparat saklama kutusunun kapağı kapalı, su banyosunun kapağı ise açık bırakılarak 37°C'de su banyosunda 1 gece hibridizasyon için bırakıldı.

Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

- Lam çifti dikkatlice birbirinden ayrıldı ve metafaz yayması içeren lam, 72°C'deki 0,4xSSC'de 2 dakika bekletilerek ilk yıkama işlemi gerçekleştirildi.
- İkinci yıkama işlemi ise oda ısısındaki Tween 20 içeren 2xSSC solüsyonunda 30 saniye tutularak yapıldı.

Sayım ve Görüntüleme

- Solüsyonun partiküllerinden arındırmak için lam, kurutma kağıdına eğik bir biçimde 20 saniye kadar tutuldu. Bu arada iyice kurumamasına dikkat edildi.
- 20µl DAPI-Antifade solüsyonundan 24x60 mm'lik lamelin iki ucuna damlatıldı ve lamın üzerine hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek kapatıldı.
- Filtre kağıdı ile zemin kurutuldu.
- Daha iyi sinyal alınabilmesi için preparat 10 dakika karanlıkta bekletildi
- Preparatlar yeşil spektrum ve kırmızı spektrum kullanılarak floresan mikroskop altında incelendi.
- Kromozomların kısa kolları yeşil sinyal alırken, uzun kolları kırmızı sinyal aldı.

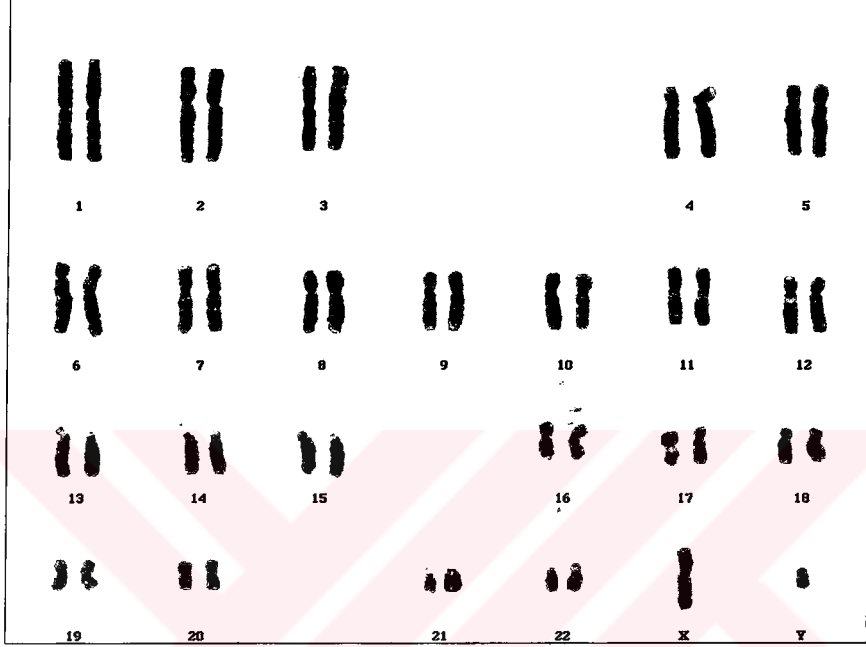
BULGULAR

- Beş ile dokuz arasında değişen habitüel düşüğe sahip 5 çift, çalışmanın materyalini oluşturdu. Bu çiftlerde maternal yaş ortaması 30.4 iken, paternal yaş ortalaması 33 olarak bulundu. 5 çiftin yalnızca bir tanesinin sağlıklı çocuğu vardı. Çiftlerin düşük sayıları ve düşüklere meydana geldiği dönemler Tablo II'de verilmektedir.

Tablo II. Olguların Gebeliklerinin Sonlanma Zamanına Bağlı Olarak Gebelik Sayılarının Dağılımı

	1. çift	2.çift	3.çift	4.çift	5.çift
1.gebelik	1.dönem	1. dönem	3. dönem	2. dönem	1. dönem
2.gebelik	1. dönem	1. dönem	1. dönem	1. dönem	1. dönem
3.gebelik	1. dönem	1. dönem	1.dönem	7 aylık prematüre doğum, neonatal ex	1. dönem
4.gebelik	Sağlıklı çocuk	1. dönem	2. dönem	2. dönem	1. dönem
5.gebelik	1.dönem	1. dönem	2. dönem	2. dönem	1. dönem
6.gebelik	2. dönem	1.dönem	1. dönem	2. dönem	1. dönem
7.gebelik			1. dönem	1. dönem	1. dönem
8.gebelik				2. dönem	1. dönem
9.gebelik				2. dönem	1. dönem
10.gebelik				hamile	

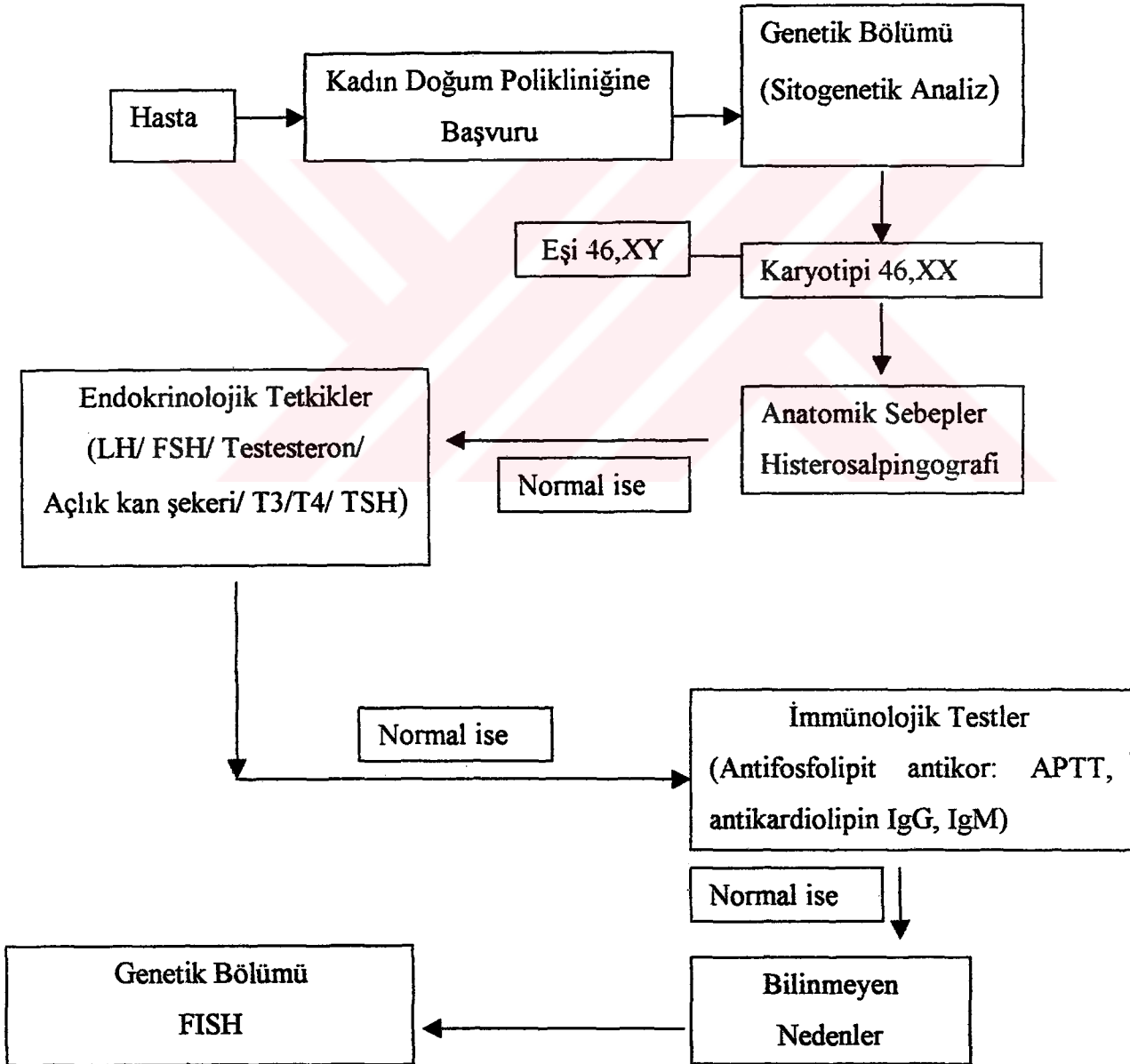
- Çiftlerin sitogenetik çalışmaları, Genetik Bilim Dalı Laboratuvarında yapıldı ve GTG bantlama yöntemi ile yapılan kromozom analizi sonunda bireylerin karyotipleri normal bulundu (Şekil I)



Şekil I. FISH ile kriptomik translokasyon $t(3q;10p)$ gözlenen olgunun GTG ve HRB ile belirlenmiş normal ve kısmi karyotipi

- Sitogenetik olarak normal bulunan bu olgular Kadın Doğum Anabilim Dalında anatomik, endokrinolojik, biyokimyasal ve immünolojik faktörler açısından tekrar ele alındı. Akış şeması tablo III'de, elde edilen sonuçlar ise tablo IV'de verilmektedir.

Tablo III. Habitüel Düşükleri Olan Çiftlerde Düşüğe Neden Olabilecek Sebeplerin Araştırılmasında İzlenen Yollar



Tablo IV. Olguların Laboratuvar ve Klinik Sonuçları

	1 olgu	2 olgu	3 olgu	4 olgu	5 olgu
Karyotip	normal	normal	normal	normal	normal
Anatomik sebebler	normal	normal	normal	normal	normal
Endokrinolojik tetkikler	normal	normal	normal	normal	normal
Biyokimyasal tetkikler	normal	normal	normal	normal	normal
İmmunolojik testler	normal	normal	normal	normal	normal

- Sitogenetik çalışma sonrasında elde edilen hasta çökelti materyali, -20°C'de saklandı ve 5 çift tamamlandıktan sonra telomere spesifik çoklu prob kullanılarak FISH yöntemi uygulandı. 5 çifte ait her kromozoma özgü telomerik sinyallerin varlığı yada yokluğu Tablo V'de, olguların daha önce yapılan GTG yöntemi ve bunu takiben yapılan FISH analiz sonuçları ise Tablo VI'da görülmektedir..

Tablo V. Telomere Özgü Çoklu Prob Seti Kullanılarak Uygulanan FISH Yönteminde Her Kromozoma Ait Sinyallerin Gösterilmesi

	1.Çift		2.Çift		3.Çift		4.Çift		5.Çift	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2q	+	+	+	+	- *	+	+	+	- *	+
3p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3q	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
4p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10p	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
10q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

13p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15q	+	+	+	+	+	+	++ *	+	+	+
16p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20p	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
20q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22p	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22q	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xp	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xq	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yp		+		+		+		+		+
Yq		+		+		+		+		+

A=Dişi

+ =sinyal var

p=kısa kol

++ * = polimorfizm

- * = polimorfizm

B=Erkek

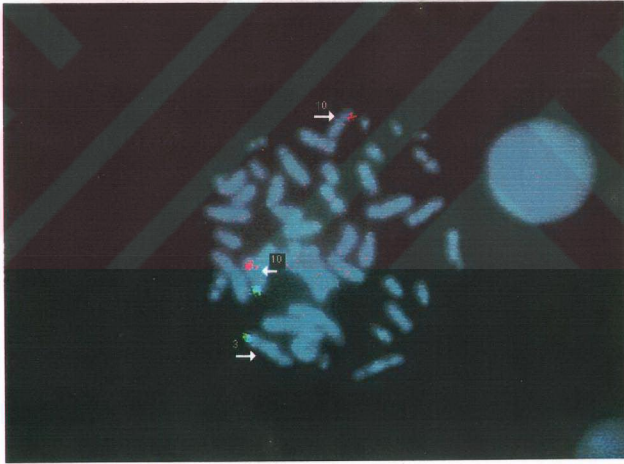
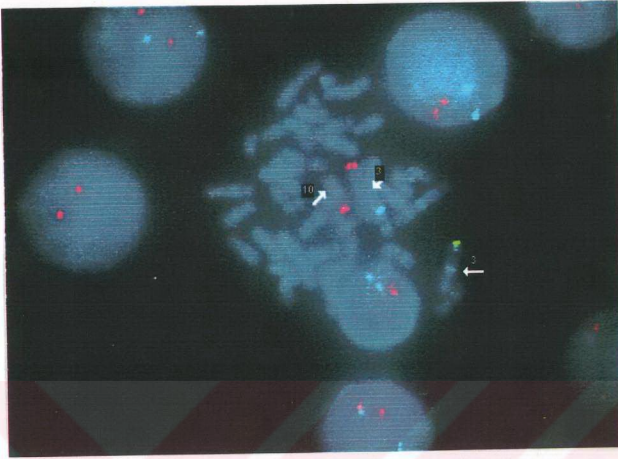
- =sinyal yok

q=uzun kol

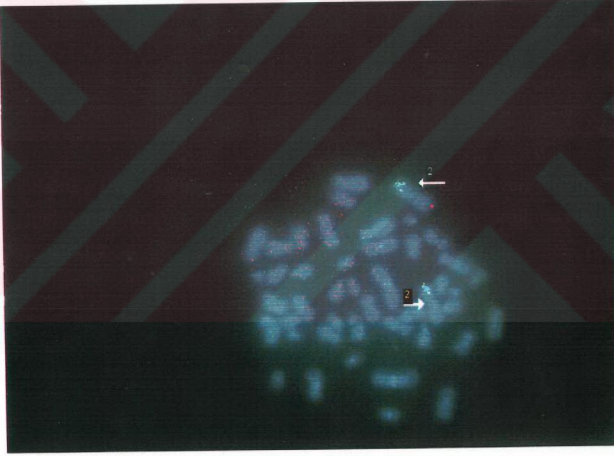
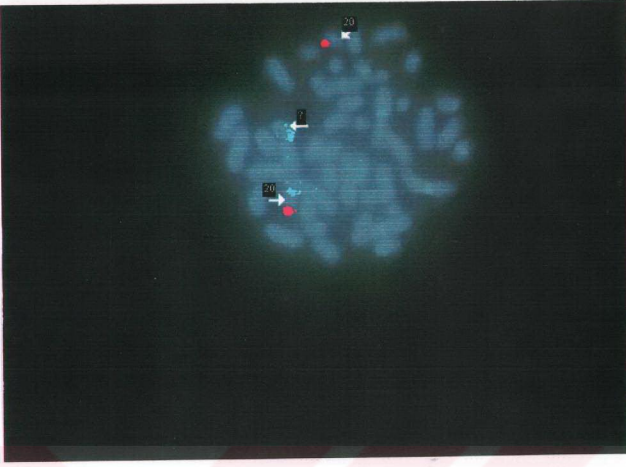
Tablo VI. GTG ve FISH Analiz Sonuçları

Olgu Numarası	GTG	FISH
1A	46,XX	46,XX
1B	46,XY	46,XY
2A	46,XX	46,XX
2B	46,XY	46,XY. ish t(3q;10p) (tsp)
3A	46,XX	46,XX. ish t(20p;?) (tsp)
3B	46,XY	46,XY
4A	46,XX	46,XX
4B	46,XY	46,XY
5A	46,XX	46,XX
5B	46,XY	46,XY

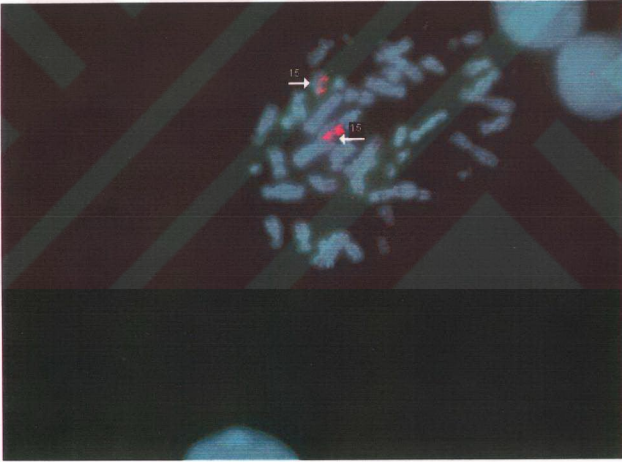
- FISH ile elde edilen sinyallerin floresan mikroskopta incelenmesi sonucunda; 2. çiftin erkek bireyinde, 3 nolu kromozomlarından birinin uzun kolu ile 10 nolu kromozomlarından birinin kısa kolu arasında kriptik translokasyon saptandı (Şekil II). 3. çiftin 2 nolu kromozomlarından birinde uzun kolda sinyal gözlenmezken 20 nolu kromozomlarından birinin kısa koluna ait sinyal farklı bir kromozom üzerinde gözlendi (Şekil III). 4. çiftin dişi bireyinde her iki 15 nolu kromozomun uzun kollarında ikişer çift sinyal gözlenirken, 5. çiftin dişi bireyinde ise 2 nolu kromozomlardan birinin uzun kolunda sinyal gözlenmedi (Şekil IV)



Şekil II. 2.çifte gözlenen kriptik translokasyon t(3q;10p)'nun telomer spesifik çoklu prob kullanılarak FISH ile gösterilmesi



Şekil III. 3.çiftte gözlenen kriptik translokasyon $t(20p;?)$ ve 2q polimorfizminin telomer spesifik çoklu prob kullanılarak FISH ile gösterilmesi



Şekil IV. 5. çiftte gözlenen 2q polimorfizm ve 4. çiftte gözlenen 15q polimorfizminin telomer spesifik çoklu prob kullanılarak FISH ile gösterilmesi

TARTIŞMA

Genetik etioloji başta spontan düşükler olmak üzere, zeka geriliğinde ve primer ve sekonder seks karakterlerindeki gelişme yetersizliğinde rol oynayan ana faktörlerden birisidir. Klinik olarak sebebi belirlenemeyen ve genetik temeli olan bu hastalıkların tanısında kromozomların konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle incelenmesi rutin olarak kullanılmaktadır. Ancak, konvensiyonel yöntemler bazen, marker kromozomların, derivatif kromozomların, kompleks karyotiplerin ve küçük de nova dengesiz yeni düzenlenmelerin belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Özellikle kromozomların uç kısımları GTG bantlamada boyanmadığı için telomerik bölgelerdeki küçük kromozomal değişiklikleri belirlemek oldukça güçtür. Moleküler sitogenetik bir yöntem olan FISH ile bu sorunlar çözümlenebilir duruma gelmiştir. Telomerik bölgelerdeki kriptomik kromozomal aberasyonları belirlemede herbir kromozomun telomerik bölgesine özgü çoklu prob seti kullanılarak yapılan FISH çalışmaları son yıllarda büyük önem kazanmıştır (67). Fakat kullanılan yöntemin bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bu yöntemle D ve G grubu kromozomların sadece uzun kollarında sinyal alındığından satellit DNA'yı içeren kromozomal yeni düzenlenmeler, uniparental isodizomi ve küçük subtelomerik tandem duplikasyonlar gözden kaçabilmektedir (21).

Dezavantajlarına rağmen telomere özgü çoklu prob seti, daha önce konvensiyonel sitogenetik analizlerle belirlenmiş bilinen abnormalitelerin karakterizasyonunda, mental retardasyonda, infertilitede, hematolojik malignansilerde, preimplantasyon genetiğinde, dengeli translokasyon taşıyıcısı bireylerde prenatal

tanıda ve tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde sıklıkla kullanılmaktadır (41).

Bacino ve arkadaşlarının idiopatik mental retardasyonlu hastalarda yaptıkları çalışmada, nedeni bilinmeyen mental retardasyon gözlenen bir olgunun ve ebeveyninin konvensiyonel yöntemlerle incelenen karyotipleri normal bulunmuştur. Bunu takiben telomere özgü prob kullanılarak yapılan FISH ile babada 2 nolu kromozomlardan yalnızca birinde sinyal alınırken, diğer sinyalin E grubu kromozom üzerinde olduğu gözlenmiştir. Sonuçta babanın 2;17 translokasyon taşıyıcısı olduğu belirlenmiştir. Olgunun preparatları incelendiğinde ise 2 nolu kromozomda tıpkı babadaki gibi tek sinyal gözlenmiş, 17 nolu kromozomu bulunduran karede yapılan incelemede ise 17 nolu kromozomun her iki homologunda ve ayrıca 2 nolu kromozom üzerinde de sinyal alınmıştır. Bu durum, babada gözlenen 2;17 translokasyonundan kaynaklanan dengesiz gamet oluşumunu ortaya çıkarmıştır. Sonuçta olgunun 2q terminal bölgesi için kısmi monozomi, 17q telomerik bölgesi için ise kısmi trizomi gösterdiği bulunmuştur (68).

Elke Holinski - Feder ve arkadaşlarının submikroskopik delesyonun yaygın olarak neden olduğu mental retardasyonun nedenini tespit edebilmek için yapmış oldukları bir çalışmada, 5 kuşak içeren 10 olguda GTG, HRB ve M-FISH yöntemi ile herhangi bir kromozomal aberasyon görülmemiştir. 5 kuşak boyunca hem erkek hem de dişi toplam 10 bireyde gözlenen hafiften orta dereceye değişen mental retardasyon ve non-spesifik dismorfik özelliklerin, otozomal dominant kalıtım modeline uygun geçiş gösterdiği düşünülmüş ve buna dayanarak yapılan bağlantı analizlerinde 16p13 bölgesinde fenotiple ilişkili bağlantı bulunmuştur. Bunun üzerine telomer spesifik prob kullanılarak uygulanan FISH, olgularda 16p13'de delesyon ve 3q terminal bölgesinde duplikasyon

gözlemişlerdir. Bu kısmi delesyon ve duplikasyonun dengeli 3;16 translokasyonundan kaynaklandığını FISH aracılığıyla saptamışlardır. Bu sonuç GTG, HRB ve M-FISH ile saptanamayan kriptik translokasyonların ancak telomerik prob kullanılarak uygulanan FISH ile çözümlenebileceğini göstermiştir (69).

Wakui ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada 5 çift ele alınmış, bunlardan 4'ünün ilk çocuklarının konjenital anomalili doğduğu, 1'inin ise tekrarlayan düşükleri olduğu belirlenmiştir. Bu çiftler konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle incelendiğinde her çiftte bir ebeveynin dengeli translokasyon taşıyıcısı olduğu, konjenital anomalili çocuklarında da bu translokasyonlardan kaynaklanan parsiyel trizomi veya parsiyel monozominin varlığı belirlenmiştir. Gözlenen dengeli translokasyonlar t(4;16), t(4;7), t(5;10), t(1;5) ve t(7;13) olup, hepside telomerik bölgeleri içerdiğinden sitogenetik yöntemlerle belirlenmiş bu translokasyonların telomer spesifik prob kullanılarak FISH yöntemi ile de tanımlanıp tanımlanmadığını göstermek için yaptıkları çalışmada, sitogenetik bulguları doğrulayan sonuçlar elde etmişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar, FISH ile doğruluğu ispatlanmış bu kromozomal abnormaliteleri taşıyan ebeveynlerden oluşabilecek dengesiz kromozomal abnormaliteye sahip fetusların prenatal tanı ile kolaylıkla ve kısa sürede saptanabileceğine karar vermişlerdir (47).

Yapılan bu çalışmada ise konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle herhangi yapısal ve sayısal anormallik bulunmayan, sayıları beş ve dokuz arasında değişen habitüel düşükleri olmuş 5 çiftte telomere özgü çoklu prob seti kullanarak FISH tekniği uygulanmıştır. 2.çiftin erkek bireyinde 3 nolu kromozomun uzun kolu ve 10 nolu kromozomun kısa kolu arasında kriptik translokasyon gözlenirken, 3. çiftin dişi bireyinde 20 nolu kromozomlardan biri p kolunda yeşil, q kolunda kırmızı sinyal alırken, diğer homologunun q kolunda kırmızı

sinyal gözlenmiş ancak p kolunda olması gereken yeşil sinyal, başka bir kromozom üzerinde belirlenmiştir. Yeşil sinyal alınan kromozom, boy ve morfoloji açısından D grubuna benzerlik göstermiştir. Teknik olarak da satellit içeren kromozomların kısa kolunda sinyal alınmayıp, yalnızca uzun kolunda sinyal alındığından, bu gözlenen sinyalin D grubunda yer alan kromozomlardan birinin kısa kolu üzerinde olabileceği düşüncesi ortaya çıkmıştır. Bu kromozomun, gerçekten D grubu kromozom olup olmadığını göstermek için, bir diğer FISH tekniği olan Spektral Karyotipleme (SKY) uygulanması gerekmektedir. Bu yöntem henüz Türkiye’de yapılmadığından, yurtdışındaki merkezlerle bağlantı kurularak, bundan sonraki basamak olarak kromozomun orijininin belirlenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca bu ebeveynde ve 5.çiftin ebeveynlerinden birinde 2 nolu kromozomun uzun kolunda sinyal yokluğu saptanmıştır. Sinyalin yokluğunun gerçekten delesyon mu yoksa polimorfizm kökenli mi olduğunun anlaşılabilmesi için, sinyal belirlenemeyen bireyin ebeveynlerinin de çalışılması gerekmektedir. Ancak, bizim olgumuz fenotipik olarak sağlıklı bir birey olduğu için delesyon düşünülmemiş ve aile çalışmasına gerek duyulmamıştır. Bunun yanı sıra, 4.çiftin ebeveynlerinden birinin 15 nolu kromozomunun uzun kolunda sinyal artışı olarak gözlenen kros-hibridizasyon saptanmıştır. Bu olguda kross-hibridizasyon, 15 nolu kromozomun her iki homologunda ve kromozomun kendi içinde gözlenmiştir. Bu durum olguda klinik tablo yaratmadığından, sinyaldeki artış patolojik bir bulgu olarak değerlendirilmemiştir (21).

Günümüze kadar spontan düşüklere önemli bir nedeni olan dengeli kromozomal translokasyonlar, gerek konvensiyonel yöntemlerle, gerekse FISH yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Ancak, konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle herhangi yapısal ve sayısal anormallik bulunamayan beş ve üzeri habitüel düşüğe sahip çiftlerde, telomere özgü çoklu prob seti kullanılarak kriptik

translokasyonun varlığı ilk defa bu çalışmada gösterilmiştir. Bu nedenle literatürde bildirilen başka olgular ve sonuçları ile kıyaslama yapılamamıştır. Sonuç olarak bu çalışma, nedeni bilinmeyen çoklu habitüel düşüklerin bir kısmını aydınlattığı için çok anlamlıdır. Ayrıca, nedeni bilinmeyen habitüel düşüklerin genetik nedenlerle meydana gelen kısmının çözülmesine olanak sağlaması ve ailenin daha sonraki hamileliklerinde hekim ile işbirliği içerisinde sağlıklı bir fetusa sahip olmalarının sağlanması, çalışmanın önemini arttırmaktadır.



KAYNAKLAR

- 1- Levy B, Dunn T.M, Kaffe S, Kardon N, Hirschhorn K.
Clinical applications of comparative genomic hybridization.
Genetics Medicine. 1998 November/December; 1(1):4-12
- 2- Portnoi MF, Joye N, van den Akker J, Morlier G, Taillemite JL.
Karyotypes of 1142 couples with recurrent abortion. Obstet Gynecol.
1988 Jul;72(1):31-4.
- 3- Del Porto G, D'Alessandro E, Grammatico P, Coghi IM, DeSanctis S,
Giambenedetti M, Vaccarella C, Fabi R, Marcaino MF, Nicotra M.
Chromosome heteromorphisms and early recurrent abortions. Hum
Reprod. 1993 May;8(5):755-8.
- 4- Bell KA, Van Deerlin PG, Haddad BR, Feinberg RF. Cytogenetic
diagnosis of "normal 46,XX" karyotypes in spontaneous abortions
frequently may be misleading. Fertil Steril. 1999 Feb;71(2):334-41.
- 5- Eiben B, Borgmann S, Schubbe I, Hansmann I.
A cytogenetic study directly from chorionic villi of 140 spontaneous
abortion. Hum Genet. 1987 Oct;77(2):137-41.
- 6- Hassold TJ, Sherman SL, Pettay D, Page DC, Jacobs PA. XY
chromosome nondisjunction in man is associated with diminished
recombination in the pseudoautosomal region. Am J Hum Genet.
1991 Aug;49(2):253-60.

- 7- Honda H, Miharu N, Ohashi Y, Honda N, Hara T, Ohama K. Analysis of segregation and aneuploidy in two reciprocal translocation carriers, t(3;9)(q26.2;q32) and t(3;9)(p25;q32), by triple-color fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet.* 1999 Nov;105(5):428-36.
- 8- Ryyanen M, Leskinen S, Heinonen S, Kirkinen P. Recurrence risk of a serious, noninherited chromosomal abnormality. *Fertil Steril.* 1997 Sep;68(3):439-42.
- 9- Hassold TJ. A cytogenetic study of repeated spontaneous abortions. *Am J Hum Genet.* 1980 Sep;32(5):723-30.
- 10- Cohen MM, Rosenblum-Vos LS, Prabhakar G. Human cytogenetics. A current overview. *Am J Dis Child.* 1993 Nov;147(11):1159-66.
- 11- Hooser A, Mancini M.A, Allis D.C, Sullivan K.F, Brinkley B.R. The mammalian centromere: structural domains and the attenuation of chromatin modeling. *FASEB J.Suppl.* 1999 13:S216-S220
- 12- Craig J.M, Earnshaw W.C, Vagnarelli P. Mammalian Centromeres: DNA Sequence, Protein Composition and Role in Cell Cycle Progression. *Experimental Cell Research.* 1999 246;249-262
- 13- Vig B.K. Do specific nucleotide bases constitute the centromere? *Mutation Research.* 1994 309;1-10
- 14- Flint J, Craddock CF, Villegas A, Bentley DP, Williams HJ, Galanello R, Cao A, Wood WG, Ayyub H, Higgs DR. Healing of broken human chromosomes by the addition of telomeric repeats. *Am J Hum Genet.* 1994 Sep;55(3):505-12.

15- Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature*. 1991 Apr 18;350(6319):569-73.

16- Strachan T, Read A.P. *Human Molecular Genetics* BIOS Scientific Publishers Limited, 1996

17- Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet*. 1994 Nov;55(5):876-82.

18- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. 1990 May 31;345(6274):458-60.

19- Lewin B. *Genes* V. 1993. 791-4

20- Muniyappa K, Kironmai KM. Telomere structure, replication and length maintenance. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1998;33(4):297-336.

21- Knight SJ, Flint J. Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. *J Med Genet*. 2000 Jun;37(6):401-9.

22- Ning Y, Roschke A, Smith A, Macha M, Precht K, Riethman H, Ledbetter D. A complete set of human telomeric probes and their clinical application. *Nature Genetics*. 1996 Sep;14:86-89

23- Ledbetter DH. Minireview: cryptic translocations and telomere integrity. *Am J Hum Genet*. 1992 Sep;51(3):451-6.

24- Gelehrter D.T, Collins S.F, Ginsburg D. *Medical Genetics*. 1998 Williams and Wilkins

25- Muench K.H. Genetic In Medicine. 1998 Elsevier Science Publishing Co., Inc.

26- Weaver R.F, Hedrick P.W. Basic Genetics. 1995 Wm. C. Brown Communications

27- Scriven PN, Handyside AH, Ogilvie CM. Chromosome translocations: segregation modes and strategies for preimplantation genetic diagnosis. Prenat Diagn. 1998 Dec;18(13):1437-49.

28- Conn CM, Harper JC, Winston RM, Delhanty JD. Infertile couples with Robertsonian translocations: preimplantation genetic analysis of embryos reveals chaotic cleavage divisions. Hum Genet. 1998 Jan;102(1):117-23.

29- Thompson M.W, McInnes R.R, Willard H.F. Genetics In Medicine. 1991 HBJ International edition

30- Gardner R.J.M, Sutherland G.R. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 1996 Oxford University Press

31- Günalp A, Ayter Ş, Lüleci G, Kart A, Sakızlı M. Tıbbi Biyoloji ders Kitabı. 1986. Sf:157-9

32- Brown GM, Leversha M, Hulten M, Ferguson-Smith MA, Affara NA, Furlong RA. Genetic analysis of meiotic recombination in humans by use of sperm typing: reduced recombination within a heterozygous paracentric inversion of chromosome 9q32-q34.3. Am J Hum Genet. 1998 Jun;62(6):1484-92.

33- McGinniss MJ, Kazazian HH Jr, Stetten G, Petersen MB, Boman H, Engel E, Greenberg F, Hertz JM, Johnson A, Laca Z, et al. Mechanisms of ring chromosome formation in 11 cases of human ring chromosome 21. *Am J Hum Genet.* 1992 Jan;50(1):15-28.

34- Gersen S.L, Keagle M.B. *The Principles of Clinical Cytogenetics.* 1999 Humana Press Inc.

35- Başaran N. *Tıbbi Genetik Ders Kitabı.* 1996 Bilim Teknik Yayınevi

36- Engel E. Uniparental disomies in unselected populations. *Am J Hum Genet.* 1998 Oct;63(4):962-6.

37- Angell RR, Xian J, Keith J, Ledger W, Baird DT. First meiotic division abnormalities in human oocytes: mechanism of trisomy formation. *Cytogenet Cell Genet.* 1994;65(3):194-202.

38- Gauden ME. Maternal age effect: the enigma of Down syndrome and other trisomic conditions. *Mutat Res.* 1992 Dec;296(1-2):69-88.

39- Knight SJ, Horsley SW, Regan R, Lawrie NM, Maher EJ, Cardy DL, Flint J, Kearney L. Development and clinical application of an innovative fluorescence in situ hybridization technique which detects submicroscopic rearrangements involving telomeres. *Eur J Hum Genet.* 1997 Jan-Feb;5(1):1-8.

40- Başaran N, Acar H, Artan S, Silahtaroğlu. *Teorik ve Pratik Floresan İn Situ Hibridizasyon.* 1996 ETAM A.Ş

41- Trask BJ. Fluorescence in situ hybridization: applications in cytogenetics and gene mapping. *Trends Genet.* 1991 May;7(5):149-54.

42- Richards WE, Dobin SM, Malone V, Knight AB, Kuehl TJ. Evaluating sex chromosome content of sorted human sperm samples with use of dual-color fluorescence in situ hybridization. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Jun;176(6):1172-8; discussion 1178-80.

43- D'Alton ME, Malone FD, Chelmow D, Ward BE, Bianchi DW. Defining the role of fluorescence in situ hybridization on uncultured amniocytes for prenatal diagnosis of aneuploidies. *Am J Obstet Gynecol.* 1997 Apr;176(4):769-74; discussion 774-6

44- Bischoff FZ, Lewis DE, Nguyen DD, Murrell S, Schober W, Scott J, Simpson JL, Elias S. Prenatal diagnosis with use of fetal cells isolated from maternal blood: five-color fluorescent in situ hybridization analysis on flow-sorted cells for chromosomes X, Y, 13, 18, and 21. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Jul;179(1):203-9.

45- Shi Q, Martin RH. Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of meiotic chromosome segregation in a 47,XYY male and a review of the literature. *Am J Med Genet.* 2000 Jul 3;93(1):40-6.

46- Morrison LE, Legator MS. Two-color ratio-coding of chromosome targets in fluorescence in situ hybridization: quantitative analysis and reproducibility. *Cytometry.* 1997 Apr 1;27(4):314-26

47- Wakui K, Tanemura M, Suzumori K, Hidaka E, Ishikawa M, Kubota T, Fukushima Y. Clinical applications of two-color telomeric fluorescence in situ hybridization for prenatal diagnosis: identification of chromosomal translocation in five families with recurrent miscarriages or a child with multiple congenital anomalies. *J Hum Genet.* 1999;44(2):85-90.

48-Lichter P. Multicolor FISHing: what's the catch? Trends Genet. 1997 Dec;13(12):475-9.

49- Makino T, Hara T, Oka C, Toyoshima K, Sugi T, Iwasaki K, Umeuchi M, Iizuka R. Survey of 1120 Japanese women with a history of recurrent spontaneous abortions. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1992 Apr 21;44(2):123-30.

50- Speroff L, Glass H.R, Kase G.N. Klinik Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite.Çeviri:Erk A. 1996 Nobel Tıp Kitapevi

51- Stirrat GM. Recurrent miscarriage I: Definition and epidemiology. Lancet. 1990 Sep 15;336(8716):673-5.

52- Kişnişci H.A, Gökşin E, Durukan T, Stay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu L.S. Temel Kadın Hastalıkları Ve Doğum Bilgisi.1996 Güneş Kitapevi

53- James D.K, Steer P.J, Weiner C.P, Gonik B. High Risk Pregnancy. 1999 Harcourt Brace and Company

54- Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. Am J Obstet Gynecol. 1984 Jan 15;148(2):140-6.

55- Giorlandino C, Calugi G, Iaconianni L, Santoro ML, Lippa A. Spermatozoa with chromosomal abnormalities may result in a higher rate of recurrent abortion. Fertil Steril. 1998 Sep;70(3):576-7.

56-Jones J.H, Jones S.G. Novak kadın Hastalıkları.1981 Çeviri: Gökso M, Üstün M. Mentesh Kitapevi. 10. baskı.Sf: 881-897

57- Tulppala M, Palosuo T, Ramsay T, Miettinen A, Salonen R, Ylikorkala O. A prospective study of 63 couples with a history of recurrent spontaneous abortion: contributing factors and outcome of subsequent pregnancies. *Hum Reprod.* 1993 May;8(5):764-70.

58- Sangha KK, Stephenson MD, Brown CJ, Robinson WP. Extremely skewed X-chromosome inactivation is increased in women with recurrent spontaneous abortion. *Am J Hum Genet.* 1999 Sep;65(3):913-7.

59-Quilligan Z. *Obstetrik ve Jinekoloji.* 1995. Çeviri: Güner H. Atlas Yayınevi Sf: 367-401

60- Esplin MS, Branch DW, Silver R, Stagnaro-Green A. Thyroid autoantibodies are not associated with recurrent pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Dec;179(6 Pt 1):1583-6.

61- Lee RM, Emlen W, Scott JR, Branch DW, Silver RM. Anti-beta2-glycoprotein I antibodies in women with recurrent spontaneous abortion, unexplained fetal death, and antiphospholipid syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Sep;181(3):642-8.

62-Queenan T.J, Hobbins C.J. Yüksek Riskli Gebeliklerde Tanı ve Tedavi Protokolleri .1998. Atlas Yayınevi sf: 469-77

63- Kajii T, Ferrier A, Niikawa N, Takahara H, Ohama K, Avirachan S. Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet.* 1980;55(1):87-98.

64-Rock A.J, Murphy A.A. Anatomic abnormalities. *Clinical Obstetrics and Gynecology.* 1986;29(4):886-898

65- Stern JJ, Dorfmann AD, Gutierrez-Najar AJ, Cerrillo M, Coulam CB. Frequency of abnormal karyotypes among abortuses from women with and without a history of recurrent spontaneous abortion.

Fertil Steril. 1996 Feb;65(2):250-3

66- Lüleci G, Başaran S, Bağcı G, Keser İ. Sitogenetik Uygulama Yöntemleri.1990 Metaksan A.Ş

67- Knight S.J.L, Lese C.M, Precht K.S, Kuc J, Ning Y, Lucas S, Regan R, Brenan M, Nicod A, Lawrie N.M, Cardy D.L.N, Nguyen H, Hudson T.J, Riethman H.C, Ledbetter D.H, Flint J. An optimized set of human telomere clones for studying telomere integrity and architecture. Am J Hum Genet. 2000 67;320-332

68- Bacino C.A, Kashork C.D, Davino N.A, Shaffer L.G. Detection of a cryptic translocation in a family with mental retardation using FISH and telomere region-specific probes. American Journal of Medical Genetics. 2000 92;250-255

69- Feder E.H, Reyniers E, Uhrig S, Golla A, Wauters J, Kroisel P, Bossuyt, Rost I, Jedele K, Zierler H, Schwab S, Wildenauer D, Speicher M.R, Willems P.J, Meitinger T, Kooy R.F. Familial mental retardation syndrome ATR-16 due to an inherited cryptic subtelomeric translocation, t(3;16)(q29;p13.3). Am J Hum Genet. 2000 66:16-25

ÖZGEÇMİŞ

Sezin YAKUT, 02.05.1975 tarihinde Konya'da doğmuştur. 1986-1993 tarihleri arasında ortaokul ve lise öğrenimini Antalya Kolejinde tamamlamıştır. 1997 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun olmuştur. 1998 yılında Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalına araştırma görevlisi olarak atanmış ve Yüksek Lisans programına başlamıştır. Halen araştırma görevlisi olarak görevini sürdürmektedir.