



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KROMOZOM 22 YAPISAL ANOMALİLERİNİN FLORESAN  
IN SİTU HİBRİDİZASYON (FISH) YÖNTEMİ İLE İLERİ  
ANALİZİ**

Hazırlayan

Mol. Bio. ZELİHA AVNAK (GÜLER)

Tez Danışmanı

PROF. DR. FATMA SILAN

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE-2017

## TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı :Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Tıbbi Genetik

Programın Seviyesi :Yüksek Lisans (X) Doktora ( )

Anabilim Dalı : Tıbbi Genetik ABD

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Zeliha AVNAK

Tez Başlığı :Kromozom 22 Yapısal Anomalilerinin Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi ile İleri Analizi

Sınav Yeri : Tıbbi Genetik ABD

Sınav Tarihi : **16.06.2017**

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Sınav Jürisi

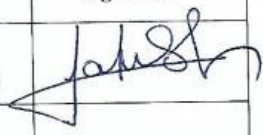
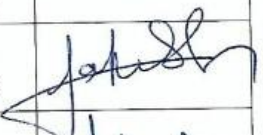
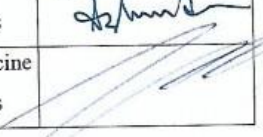
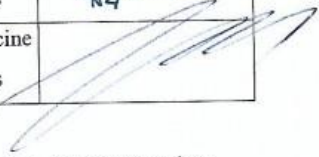
Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Fatma SILAN	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
<b>Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)</b>	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof. Dr. Fatma SILAN	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Doç. Dr. Haluk AKIN	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../.....tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

## THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Canakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences  
Programme Name : Medical Genetics  
Programme Level : Master of Science ( X ) Doctor of Philosophy ( )  
Department : Medical Genetics  
Student Name and Surname: Zeliha AVNAK  
Title of the Thesis : Further Analysis of Structural Abnormalities of Chromosome 22 with Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) Method  
Examination Place : Department of Medical Genetics  
Examination Date : 16.06.2017

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof. Dr. Fatma SILAN	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
<b>Members of Examination Jury (Titles and Names)</b>	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Prof. Dr. Fatma SILAN	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Doç. Dr. Haluk AKIN	Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated ..... and numbered .....

## BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8'de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 16.06.2017

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Zeliha AVNAK

İmza:



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli fikirleriyle bana her konuda yol gösteren, tezimin hazırlanması ve yürütülmesinin her aşamasında büyük emekleri olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Fatma SILAN' a, benimle bilgilerini paylaşan, bilimsel desteğini esirgemeyen ve her konuda bana yardımcı olan hocam Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e,

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Uzman Biyolog Didem UYSAL'a,

Yüksek lisans eğitim sürecinde desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Asistan Dr. Mine URFALI, Asistan Dr. Barış PAKSOY, Asistan Dr. Onur YILDIZ, Asistan Dr. Taner KARAKAYA, Uzman Kimyager Hülya HAS, Laboratuvar Teknikeri Şengül TÜRÜNZ, Uzman Biyolog Gaye ACAR, Uzman Kimyager Duygu KANKAYA, Moleküler Biyolog Banu UZUN, Biyolog Damla KARAAĞAÇLI ve Biyolog Betül IŞIN'a,

Yüksek lisans eğitimimin başlangıcından itibaren her aşamada motive edici, yapıcı eleştirileri ve destekleyici yaklaşımlarından dolayı Enstitü Müdürümüz Prof. Dr. Ahmet ÜNVER'e, Enstitü Müdür Yardımcısı Yrd. Doç. Dr. Ayten DİNÇ'e ve Enstitü Sekreteri Hatice KAMAR'a,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle her zaman yanımda olan ve bugünlere gelmemi sağlayan babam Galip GÜLER'e, annem Nezihe GÜLER'e, kardeşlerim Beyhan ve Özgür GÜLER'e, koşulsuz sevgi ve destekleriyle her zaman yanımda olarak bana güç veren, sevgili eşim Şenol AVNAK'a çok teşekkür ederim.

Saygılarımla,  
Zeliha AVNAK

## ÖZET

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gebelik kaybını (düşük, abortus); 20. gebelik haftasından önce veya fetüsün doğum ağırlığının 500 g'dan az olduğu gebeliklerin sonlanması olarak tanımlamaktadır. Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) birbirini izleyen en az 2 yada daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanmasıdır. İnfertilite ise, bir yıl süreyle çiftlerin, herhangi bir gebelikten korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama durumudur. TGK ve infertilite etiolojisinde genetik faktörler, özellikle kromozom anomalileri önemli yer tutmaktadır. FISH analizi, rutin sitogenetik analizler ile saptanamayan 5 mb' dan küçük kromozom anomalilerinin aydınlatılmasında kullanılan etkin bir yöntemdir. Tez çalışması kapsamında; TGK hikayesi olan 22 kişi ve infertilite hikayesi olan 22 kişi çalışma grubunu oluştururken; hiç düşük yapmamış, sağlıklı en az iki çocuğu olan 22 kişi ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. Tez çalışması sürecinde çalışma grubunu oluşturan TGK ve infertilite olgularına Giemsa Bantlama Tekniği (GTG) ile kromozom analizi yapılmış ve bir sayısal kromozom aberasyonu içermediği gözlenmiştir. GTG bantlama ile yapılan kromozom analizinin ardından tüm olgulara kromozom 22'nin (22q11.2) ve (22q13.3) bölgelerinin her ikisine spesifik problemlerin kullanıldığı FISH yöntemi ile ileri analizler yapılmış, elde edilen sonuçlar sağlıklı kontroller ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve TGK'nı 21 kat, infertiliteyi 17,5 kat arttırdığı görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizler, kromozom 22'nin 22q11.2 ve 22q13.3 bölgelerinde meydana gelebilecek bir yapısal kromozom aberasyonunun hem TGK hem de infertilitede risk oluşturabileceğini ve bunu saptamada FISH'in etkin bir yöntem olduğunu göstermiş; infertilite ve tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde etiolojinin saptanmasında tanısal değeri olabileceği öngörülmüştür.

**Anahtar Kelimeler: FISH, TGK, İnfertilite, Kromozom 22, Kromozom Anomalisi**

## **ABSTRACT**

### **Further Analysis of Structural Abnormalities of Chromosome 22 with Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) Method**

The World Health Organization (WHO) defines pregnancy loss as terminated pregnancies before their 20<sup>th</sup> week or when the weight of fetus at birth is less than 500 grams. Recurrent Pregnancy Loss (RPL) is defined as occurrence of two or more consecutive pregnancy loss before the 20<sup>th</sup> week of pregnancy. Additionally, infertility refers to an inability to conceive after having regular unprotected sex for a year. Genetic factors, especially chromosomal aberrations have a great importance at etiology RPL and infertility. Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) is an effective method which is used for detecting chromosomal aberrations less than 5 mb, which can not be detected by means of routine cytogenetic analysis. Within the scope of the thesis study, 22 people having RPL story and another 22 people having infertility story constitute the working group; whereas, 22 people having at least two healthy children and never had an abortion constitute the control group. During the thesis study, chromosomal analysis with Giemsa Banding Technique (GTG) was carried out targeting the working group constituted by RPL and infertility cases. As a result, any numerical chromosomal aberration was observed. After chromosome analysis performed by GTG banding, considering all cases, both of (22q11.2) and (22q13.3) regions of “Chromosome 22” went under advanced analysis based on FISH and using specific probes. The obtained results were compared to healthy controls and statistically evaluated. It turned out that detected structural chromosome aberrations in (22q11.2) or (22q13.3) region of “Chromosome 22” lead an increase in RPL by 21 times, and in infertility by 17.5 times. In the light of conducted statistical analyses, it was shown that any possible structural aberration in (22q11.2) or (22q13.3) region of “Chromosome 22” can create a risk for RPL and infertility; moreover, FISH is an effective method to detect these aberrations. Eventually, these analysis became the light of hope for couples to have healthy children.

**Keywords: FISH, TGK, Infertility, Chromosome 22, Chromosomal Abnormality**

## İÇİNDEKİLER LİSTESİ

## SAYFA NO

İÇ KAPAK.....	I
TEZ ONAY FORMU.....	II
BEYAN FORMU.....	IV
TEŞEKKÜRLER.....	V
ÖZET.....	VI
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER.....	VIII
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XIII
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1.Abortus Grupları.....	3
2.1.1.Abortuslar Oluş Zamanına Göre Üç Gruba Ayrılır.....	3
2.1.1.1.Belirlenemeyen (Subklinik) Abortuslar.....	3
2.1.1.2.Erken Abortuslar.....	3
2.1.1.3.Geç Abortuslar.....	3
2.1.2.Abortuslar Oluş Şekillerine Göre İki Gruba Ayrılır.....	4
2.1.2.1.Kendiliğinden Abortuslar.....	4
2.1.2.2.Zorlanmış (Provake, Induced ) Abortuslar.....	4
2.1.3.Abortuslar Sonlanma Şekillerine Göre İki Gruba Ayrılır.....	4
2.1.3.1.Tam Abortuslar.....	4
2.1.3.2.Tam Olmayan Aborturlar.....	4
2.1.4.Abortuslar Klinik Şekillerine Göre Beş Gruba Ayrılır.....	4



2.1.4.1.Abortus Tehidi.....	4
2.1.4.2.Kaçınılmaz Abortuslar.....	5
2.1.4.3.Gecikmiş Abortuslar.....	5
2.1.4.4.Septik Abortuslar.....	5
2.1.4.5.Tekrarlayan Gebelik Kayıpları.....	5
2.1.5.Kendiliğinden-Spontan Abortuslarda Etiyoloji.....	6
2.1.5.1.Fetal Faktörler.....	6
2.1.5.2.Maternal Faktörler.....	6
2.1.5.3.Paternal Faktörler.....	7
2.2.TGK'nın Etiyolojik Sebepleri.....	7
2.2.1.Genetik Nedenler.....	7
2.2.1.1.Sayısal Kromozom Anomalileri.....	8
2.2.1.2.Yapısal Kromozom Anomalileri.....	10
2.2.1.3.Mendelyan ve Poligenik Faktörler.....	10
2.2.2.Anatomik Nedenler.....	11
2.2.3.Enfeksiyöz Nedenler.....	12
2.2.4.Çevresel Nedenler.....	13
2.2.5.Trombofilik Nedenler.....	13
2.2.6.İmmünolojik Nedenler.....	14
2.2.7.Endokrinolojik Nedenler.....	15
2.3.Kromozom.....	17
2.3.1.Kromozomlar Sentromer Bölgelerine göre Dört Gruba Ayrılır.....	18
2.3.2.Kromozomlar Büyüklükleri ve Sentromer Konumları Baz Alınarak Yedi Gruba Ayrılır.....	18
2.3.3.Kromozom Anomalileri.....	19

2.3.3.1.Sayısal Anomaliler.....	19
2.3.3.2.Yapısal Anomaliler.....	20
2.3.3.3.Mozaisizm.....	27
2.4.İnfertilite.....	27
2.4.1.Erkek İnfertilitesi.....	28
2.5.Kromozom 22 de Meydana Gelen Kromozomal Aberasyonlar ile İlişkili Hastalıklar.....	30
2.6.Moleküler Sitogenetik Yöntem (FISH).....	33
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1.Hasta Grupları.....	36
3.2.Sitogenetik Analiz.....	36
3.2.1.Periferik Kan Kültürü.....	36
3.2.2.GTG-Giemsa Bantlama Tekniği.....	36
3.2.3.FISH Yöntemi.....	37
3.2.3.1.Kullanılan Solüsyonlar.....	37
3.2.3.2.FISH Yönteminin Uygulanışı.....	38
3.2.3.3.Görüntüleme ve Sayım.....	39
4.BULGULAR.....	40
5.TARTIŞMA.....	59
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	66
7.KAYNAKLAR.....	68
8.ÖZGEÇMİŞ.....	79
9.EKLER.....	81

## KISALTMALAR VE SİMGELER

**APS:** Antifosfolipid Antikor Sendromu

**°C:** Santigrat Derece

**CES:** Cat-eye Sendromu

**CVS:** KoryonikVillus

**DAPI:** 4-6 Diamino-Phenlinodole

**DDT:** Diklorodifeniltrikloroethan

**DGS:** Di George Sendromu

**ES:** Emanuel Sendromu

**FISH:** Flouresan In Situ Hibridizasyon

**GTG:** Giemsa Bantlama Tekniği

**IgM:** Immünoglobulin M

**LCR:** Low Copy Repeat

**LFD:** Luteal Faz Defekti

**ml:** Mililitre

**OD:** Otozomal Dominant

**PAI:** Plazminojen Aktivatör İnhibitörü

**PCOS:** Polikistik Over Sendromu

**PHA:** Fitohemaglutinin

**RNA:** Ribonükleik Asit

**rpm:** Dakika Dönüş Sayısı

**SLE:** Sistemik Lupus Eritematozus

**SSC:** Sodium Salin Citrat

**TGK:** Tekrarlayan Gebelik Kayıbı

**VTE:** Venöz Trombofili

**WHO:** Dünya Sağlık Örgütü

<b>Tablo 1.</b> Çiftlerde Görülebilecek TGK Riski.....	6
<b>Tablo 2.</b> Abortuslarda Sayısal Kromozom Anomalileri.....	9
<b>Tablo 3.</b> Yapılan FISH analizi sonucunda TGK ve İnfertilite Gruplarında Saptanan Yapısal Kromozom Aberasyonlarına ait 22 nolu Kromozomun 22q11.2-q13.3 Bölgelerindeki Sinyal Yoğunluğu Ölçüm Sonuçları.....	41
<b>Tablo 4.</b> TGK Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları.....	42
<b>Tablo 5.</b> İnfertilite Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları.....	43
<b>Tablo 6.</b> Kontrol Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları.....	44
<b>Tablo 7.</b> TGK Grubu ve Kontrol Grubunun 22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı.....	54
<b>Tablo 8.</b> TGK olan Kadın ve Erkek Olguların, Kontrol Gruplarındaki Kadın ve Erkek Olgularla Karşılaştırılması Sonucu ile Elde Edilen İstatistiksel Değerler.....	58
<b>Tablo 9.</b> İnfertilite Grubu ve Kontrol Grubunun 22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı.....	56
<b>Tablo 10.</b> İnfertilite olan Kadın ve Erkek Olguların, Kontrol Gruplarındaki Kadın ve Erkek Olgularla Karşılaştırılması Sonucu ile Elde Edilen İstatistiksel Değerler.....	57
<b>Tablo 11.</b> TGK ve İnfertilite Olgularının Kontrol Grupları ile Karşılaştırılması Sonucu ile Elde Edilen İstatistiksel Değerler.....	58

## ŞEKİLLER LİSTESİ

## SAYFA NO

Şekil 1.22 nolu Kromozom.....	33
Şekil 2.22. Kromozom FISH Sonucu Normal Saptanan Bir Kadın Olgunun Karyotip Görüntüsü.....	45
Şekil 3.22. Kromozom FISH Sonucu inv(22)(q13.3) Saptanan Bir Erkek Olgunun Karyotip Görüntüsü.....	46
Şekil 4.22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q11.2) Saptanan Bir Kadın Olgunun Karyotip Görüntüsü.....	47
Şekil 5.22. Kromozom FISH Sonucu Normal Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	48
Şekil 6.22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	49
Şekil 7.22. Kromozom FISH Sonucu inv(22)(q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	50
Şekil 8.22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q11.2) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	51
Şekil 9.22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q11.2;q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	52
Şekil 10.22. Kromozom FISH Sonucu inv(22)(p11.2;q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.....	53



## 1.GİRİŞ

Tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK), birbirini izleyen en az 2 ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan-kendiliğinden sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kaybı her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen yaygın obstetrik bir problemdir (Eminov 2006). Spontan abortuslarda etiyojisi; fetal, maternal ve paternal kaynaklı olabilir (Yakut 2000). TGK'na neden olabilecek faktörler arasında genetik, anatomik, enfeksiyöz, çevresel, trombofilik, immünolojik ve endokrinolojik faktörler sebep olarak sayılabilir (Yılmaz 2010).

Etiyolojik faktörler arasında, genetik faktörlerin temelini oluşturan kromozomal anomaliler önemli yer tutar. Canlı çocuğu ve başarılı gebeliği olmayan TGK'ı olan kadınlarda primer düşükler; yaşayan bir çocuğunu takiben meydana gelen düşükler ise sekonder düşükler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Tüm gebeliklerin yaklaşık %10-15'i birinci trimesterde sonlanmaktadır. Birinci trimester kayıplarının %60'ı, 2. trimester kayıplarının %10-15'i, 3. trimester trimester kayıplarının ise %5'i genetik anomaliler sonucu meydana gelmektedir (Sierre ve Stephenson, 2006). Kromozomların sayısı ve yapısındaki değişimlere kromozom anomalileri denir (Çetin 2013). Spontan abortusların yaklaşık yarısında kromozomal anomaliler sorumlu olduğundan, konjenital malformasyonlara sahip fetüsler kaybedilmektedir. Tüm hamileliklerde %7,5 oranda kromozom anomalileri görülmektedir. Otozomal veya cinsiyet kromozomları anomalilerine sahip fetüslerin ise yaklaşık %5'i doğmaktadır. Kromozom anomalilerinin canlı doğumlardaki sıklığı %0,6 iken, erken spontan abortuslarda %60, geç spontan abortuslarda %5'dir.

İnfertilite ise, en az bir yıl süreyle çiftlerin, gebelik anlamında herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama durumudur. Ülkemizde 1-1,5 milyon çiftin infertil olduğu bildirilmektedir (Koç ve Özdemir, 2008). Yapılan araştırmalar, dünyada çiftlerin %9'unun infertil olduğu ve bunların da %56'sının tıbbi destek aldığını göstermektedir (Boivin ve ark. 2007). Dünya Sağlık Örgütü'nün, standart tanısal protokoller kullanılarak oluşturduğu verilere göre ise infertil çiftlerin %37'sinde kadın faktörü; %8'inde erkek faktörü, %35'inde hem erkek hem de kadın faktörünün bir arada olduğu bulunmuş, %5'inde de etiyojistik neden tespit edilememiştir. Takip edilen infertil çiftlerin gözlemi yapıldığında %15'nin gebe kaldığı gözlenmiştir (Barbieri 2004).

İnfertil çiftlerin incelenmesiyle çoğunun subfertil olduğu ve birden fazla etiyolojik faktör olduğu tespit edilmiştir. Bundan dolayı çiftin incelenmesi tüm infertilite faktörlerini aydınlatma yönünde olmalıdır (Ozdiler ve Aydos, 2000).

Kromozom anomalilerinin araştırılması için genel olarak kullanılan Giemsa Bantlama Tekniği (GTG), rutin sitogenetik analizlerde sıklıkla kullanılır ve kromozom üzerinde 400-500 bant gözlemlenirken, kromozomal bölgeye bağlı olarak 5-10 megabazlık DNA içeren kromozomal anomalileri tespit edebilmektedir. Sitogenetik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda (marker kromozomların tanımlanması, mikrodelsiyonların görülmesi vb.) daha hassas yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Sitogenetik ve moleküler biyoloji arasında köprü olan FISH tekniği klasik sitogenetiğin önemli bir tamamlayıcısı olmuştur. FISH, rutin sitogenetik analizler ile saptanamayan 5 mb dan küçük kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, duplikasyonlar, ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan ileri bir tekniktir (Aytan 1997, Yakut 2000, Uysal 2014). FISH yönteminin, 24 saatlik bir süre sonunda sonuç vermesi (sonuç verme süresinin kısa olması), daha fazla hücre üzerinde analiz yapabilme olanağı sağlaması (metafaz kromozomları dışında interfaz kromozomlarının da analizine olanak vermesi) ve kültür problemlerinin dışlanması da göz önüne alındığında oldukça etkili olduğu görülmektedir (Sağ ve ark., 2009).

Tez çalışmamızın amacı; klinik olarak TGK ve infertilite tanısı olan olguların etiyolojisinin aydınlatılmasına yönelik olarak seçilmiştir. 22. Kromozomlarında var olan ya da şüphelenilen yapısal aberasyonlarının tespiti için, 22. Kromozomlarının 22q11.2-q13.3 bölgelerinin her ikisine spesifik FISH problrı kullanılarak ileri analizler yapılacak ve elde edilen sonuçlar sağlıklı kontroller ile karşılaştırılarak istatistiksel olarak değerlendirilecektir. Analizlerin sonucunda anlamlı bir sonuç elde edilirse yapılan çalışmanın rutin tanıda yerini alması planlanmaktadır.



## **2.GENEL BİLGİLER**

Gebelik kaybı (abortus), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından 20. gebelik haftasından önce veya fetüsün doğum ağırlığının 500 g'dan az olduğu gebeliklerin sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Klinik tanı konan gebeliklerin %15-25'inde gebelik kaybı yaşanır (Termiş 2016). Gebelik kayıpları; abortus için tıbbi yardım kullanılmadan geliyorsa, kendiliğinden düşükler olarak tanımlanmaktadır. Genetik nedenlerle embriyonun hiç gelişmediği ve gebeliğin çok erken döneminde rastlanan bir kayıptan; embriyonun tamamen normal olduğu ancak servikal yetmezlik nedeniyle daha geç dönemde rastlanan bir kayba kadar patogenezleri bir birlerinden çok farklı ama sonuçları aynı olan durumları anlatmak için de kullanılır. Ektopik ve molar gebelikler yüzünden sonlanan gebeliklerin de bu başlığın dışında tutulması gereklidir (Yılmaz 2010).

### **2.1.Abortus Grupları**

#### **2.1.1.Abortuslar Oluş Zamanına Göre Üçe Ayrılır**

##### **2.1.1.1.Belirlenemeyen (Subklinik) Abortuslar**

Klinik veya görüntüleme olarak tespit edilemeyen, sadece biyokimyasal olarak belirlenen yani gebelik testinin pozitif olduğu olgularda meydana gelen abortuslardır. Buradaki gebelik kayıplarının nedeni çoğunlukla gamet bozukluğuna bağlıdır (Çiçek 2006, Kışnişçi 2014).

##### **2.1.1.2.Erken Abortuslar**

12. gebelik haftasının sonuna kadar gerçekleşen abortuslardır. Düşüklerin %80'inden fazlası 12 hafta içinde gerçekleşir ve bu erken dönem düşüklerinin yaklaşık yarısına yakınına kromozom anomalileri sebep olmaktadır (Cunningham ve ark., 2005).

##### **2.1.1.3.Geç Abortuslar**

12. gebelik haftasından, 20. gebelik haftasının sonuna kadar geçen süre arasında gerçekleşen abortuslardır (Saxena ve Mısro, 2008).

## **2.1.2.Abortuslar Oluş Şekillerine Göre İki Gruba Ayrılır**

### **2.1.2.1.Kendiliğinden Abortuslar**

20. gebelik haftasından önce hiçbir zorlama veya girişim (cerahi ya da medikal) olmaksızın oluşan abortuslardır.

### **2.1.2.2.Zorlanmış (Provake, Induced ) Abortuslar**

Mekanik ya da farmakolojik girişimler sonucu oluşan abortuslardır.

**Terapötik Abortuslar:** Bir gebelik olgusu annenin veya fetüsün sağlığını tehdit ederek veya her ikisine birden olumsuz etkiler yaparak seyir gösterdiği durumlarda, gerçekleştirilen abortuslardır.

**İstemli Abortuslar:** Anne ve bebek açısından hiçbir tıbbi sorun yokken isteğe bağlı olarak bir gebeliğin sonlandırılmasıdır.

## **2.1.3.Abortuslar Sonlanma Şekillerine Göre İki Gruba Ayrılır**

### **2.1.3.1.Tam Abortuslar**

Embriyo veya fetüs ve eklerinin tamamen uteruskavitesi dışına atılmasıdır.

### **2.1.3.2.Tam Olmayan Abortuslar**

Fetüs ve eklerinin tamamının atılmadığı, bir kısmının uterus içinde kaldığı abortuslardır (Cunningham ve ark., 2005).

## **2.1.4.Abortuslar Klinik Şekillerine Göre Beş Gruba Ayrılır**

### **2.1.4.1.Abortus Tehditi**

Gebeliğin 20. haftasından önce vaginal kanama olmasıdır. Tüm gebeliklerin yaklaşık %30-40'ında görülür. Hastaların çoğunda kanama 8-10. Gebelik haftasında olsa da gerçek kayıp sıklıkla 8. gebelik haftasından önce oluşur. Hastaların sadece %3,2'sinde gebelik kaybı 8. haftadan sonra oluşur (Berekve Novak, 2004).

#### **2.1.4.2.Kaçınılmaz Abortuslar**

Düşük tehditi olan gebede serviksin iç kısmının açılarak, kanamanın fazla olduğu durumdur. Amniyon zarı yırtılmıştır ve pelvik bölgede ağrı vardır (Miller ve ark., 1980).

#### **2.1.4.3.Gecikmiş Abortuslar**

Intrauterin fetal canlılık kaybının olduğu ancak diğer abortus tiplerinde görülen kanama, servikal açılma gibi bulguların olmadığı durumdur. Ultrasonografide fetal canlılık saptanmaz ve takiplerde kanda beta HCG seviyesi artış göstermez (Boue ve ark., 1995).

#### **2.1.4.4.Septik Abortuslar**

Genellikle kontamine yabancı cisimlerde düşük yaptırma girişimini takiben ortaya çıkar. Septik abortuslar sonrası gerçekleştirilen kan kültürlerinde 1/4 oranında pozitiflik saptanır ve bunların 2/3'ünü anaerobik bakteriler oluşturur. Uterus kavitesinin antibiyoterapiyi takiben mümkün olan en kısa süre içerisinde tedavi edilmesidir (Cunningham ve ark., 2005).

#### **2.1.4.5.Tekrarlayan Gebelik Kayıpları (TGK)**

Tekrarlayan gebelik kayıpları, birbirini izleyen en az 2 yada daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kaybı her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen yaygın obstetrik bir problemdir (Eminov 2006). Canlı çocuğu ve başarılı gebeliği olmayan TGK'ı olan kadınlarda primer düşüklerden; yaşayan bir çocuğunu takiben meydana gelen düşüklerde ise sekonder düşüklerden söz edilmektedir. Tüm gebeliklerin yaklaşık %10-15'i birinci trimesterde sonlanmaktadır. Düşükler anneye bağlı olabileceği gibi materno-fetal uyumsuzluk ve fetüsün kendisine bağlı nedenlerden de kaynaklanabilir (Öztaş 2000).

**Tablo 1.**Çiftlerde Görülebilecek TKG Riski (Speroff ve ark., 1996)

	Daha önceki gebelik kaybı 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

### **2.1.5.Spontan Abortuslarda Etiyoloji**

Spontan abortuslarda etiyoloji; fetal, maternal ve paternal kaynaklı olmak üzere üçe ayrılır (Yakut 2000).

#### **2.1.5.1.Fetal Faktörler**

İlk 6-8 haftadaki spontan düşüklerin %50-80’inde fetüse ait bir genetik bozukluk yada malformasyon saptanmaktadır. 8-12 haftalar arasında bu oran %25’e kadar düşer. Malformasyonların nedeni net olarak bilinmese de trofoblastik tabakanın implantasyonu sırasında bir bozukluk olduğu düşünülmektedir. Maternal viral hastalıkların ve sitotoksik ilaçların implantasyonu bozduğu iddia edilir. Ovum ve spermatozoadaki bir genetik bozukluğun malformasyonun nedeni olduğu ileri sürülmektedir (Speroff ve ark., 1996).

#### **2.1.5.2.Maternal Faktörler**

Akut enfeksiyonları tanıma kriteri, infeksiif ajana karşı spesifik Immünoglobulin M (IgM)’nin uygun gebelik haftasında kordon kanında yüksek oranda saptanmasıdır. Bir gebe kadında bir patojen ajana karşı IgM’nin saptanması ise sadece o ajanla daha önce karşılaşmış olduğunu ve organizmanın bir yanıt oluşturduğunu gösterir. Akut sistemik enfeksiyonlardan bazılarının abortusa neden olabileceği öne sürülmektedir (James ve ark., 1999). Maternal faktör olarak toksik etmenlerden anestezi gazları

hem abortus oranını ve hem de fetal anomali riskini yaklaşık 2 kat arttırmaktadır. Ayrıca kolşisin, antineoplastik ilaçlar ve belirli dozun üzerindeki radyasyon abortusa neden olabilmektedir. Çevresel faktörlerden sigara alkol kullanımının da abortusu arttırdığı iddia edilmektedir (Stray-Pedersen ve Stray-Pedersen 1984, Makino ve ark., 1992, Kişnişçi ve ark., 1996).

### **2.1.5.3.Paternal Faktörler**

Babanın oligospermisinin veya hiperspermisinin, sperm DNA içeriğinin anormal miktarda azalmasına yol açarak abortusa neden olabileceği ileri sürülmektedir. Spermdeki kromozomal abnormalitelerde spontan düşüğe neden olmaktadır (Giorlandino ve ark., 1998).

## **2.2.TGK'nın Etiyolojik Sebepleri (Yılmaz 2010)**

- 1) Genetik Nedenler
- 2) Anatomik Nedenler
- 3) Enfeksiyöz Nedenler
- 4) Çevresel Nedenler
- 5) Trombofilik Nedenler
- 6) İmmünolojik Nedenler
- 7) Endokrinolojik Nedenler

### **2.2.1.Genetik Nedenler**

TGK'nın etiyojisinde ebeveynlerdeki genetik nedenlerin %5 oranında etkili olduğu görülür. Fetal, maternal, paternal kaynaklı genetik anomaliler olabilmektedir. Abortus ne kadar erken dönemde olursa kromozomal kaynaklı olma olasılığı o kadar fazladır. Birinci trimester kayıplarının %60'ı, 2. trimester kayıplarının %10-15'i, 3. trimester kayıplarının ise %5'i genetik anomaliler sonucu meydana gelmektedir (Sierre ve Stephenson, 2006). Mendelyan bozukluklar, poligenik yada multifaktöryel bozukluklar karyotip analizi ile tanılarının mümkün olmaması

nedeniyle bu oranı kapsamamaktadır (Warburton ve Fraser, 1964). Genetik anomalileri, yapısal ve sayısal olarak sınıflamak mümkündür. Gametogenezdeki kromozomal hatalar sayısal veya yapısal anomalilere sebep olabilmektedir. Sayısal kromozomal anomaliler; haploid setin tam katları şeklinde artışı: poliploidi (triploidi, tetraploidi) veya tam kat şeklinde olmayan artış veya azalış: anöploidi (trizomi, monozomi) olarak tanımlanmaktadır. Yapısal anomaliler ise translokasyon, delesyon, inversiyon veya ring gibi kromozomun kendisinde gerçekleşen morfolojik değişimlerdir. Yapısal kromozom anomalileri içerisinde en sık translokasyonlar; translokasyonlar içerisinde ise resiprokal veya robertsonian tipi translokasyonlar görülmektedir (Monfort ve ark. 2006, Zarina ve ark. 2006).

### **2.2.1.1.Sayısal Kromozom Anomalileri**

Sitogenetik açıdan anomalisi olan embriyolar, genellikle mayotik eşleşme hatasına bağlı anöploid ya da döllenme anomalisine bağlı poliploidiye sahiptir. Düşüklerde daha çok anöploidi tarzında kromozom anomalisi gözlenmektedir. Tek spontan düşüklerdeki fetal kromozomal anomaliler tekrarlayan düşüklerden farklıdır. Ayrılmama (nondisjunction) veya translokasyona bağlı otozomal trizomi en sık rastlanan anomalidir (erken gebelik kayıplarının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır.) İlk trimester düşüklerde en çok rastlanan kromozom bozukluğu trizomilerdir. En sık 13, 16, 18, 21 ve 22 nolu kromozomların trizomisi gözlenir. Bunu %20 olguda monozomi X, %15 olguda triploidi ve %5 olguda tetraploidi izlemektedir (Jones ve Jones, 1981).

**Tablo 2.**Abortuslarda Sayısal Kromozom Anomalileri (Yılmaz 2010)

<b>Trizomiler (%50):</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Trizomi 16, tüm trizomilerin üçte birini oluşturmaktadır ve hepsi ölümcüldür.</li><li>• Trizomi 21, sıklıkla mayotik ayrılmama nedeniyle meydana gelir; translokasyona bağlı olguların %80'inde ekstra kromozom anneden, %20'sinde ise babadan gelir.</li><li>• Trizomiler genelde mayotik eşleşme hatalarına bağlı olarak normal karyotipli ebeveynlerin çocuklarında ve rastlantısal olarak gerçekleşir.</li></ul>
<b>Monozomi X (%20)</b>	Turner Sendromu (45,X) tek başına rastlanan en sık karyotiptir. Monozomi X, spontan abortuslarda en sık görülen kromozomal anomalilerden birisidir. Turner sendromu sitogenetik olarak anormal olan abortusların %20 ile 25'ini oluşturur.
<b>Triploidi (%15) (3n=69)</b>	Fazla haploid kromozom setinin %80'i babadan, %20 ise anneden gelir. Normal haploid bir ovumun iki sperm tarafından fertilize olmasıdır (dispermi) ve yaşamla bağdaşmaz.

<b>Tetraploidi (%5) (4n=92)</b>	Tetraploidi kromozom anomlisi bulunan abortusların yaklaşık %8'inde görülür. Başka bir bozukluğu bulunan diploid zigotla çok erken dönemde bölünme hatasına bağlıdır ve yaşamla bağdaşmaz.
---------------------------------	--

### 2.2.1.2.Yapısal Kromozom Anomalileri

Yapısal değişimler sitogenetik anomali bulunan abortusların, yaklaşık %3'ünde görülür (De Braekeleer ve Dao, 1990). Dengeli translokasyon, TKG'ı olan çiftlerde en sık görülen yapısal kromozom abnormalitesidir (%3-8). Seks kromozom mozaizmi, halka kromozomları ve inversiyonlar karşılaşılan diğer anormallikler içinde yer almaktadır. Kadınlarda translokasyon taşıyıcılığı erkeklere göre daha sık görülmektedir. Ailesel translokasyonların ise yaklaşık 1/3'ü baba kökenliken, 2/3'ü anne kökenlidir. TKG'ı olan çiftlerin % 2-3'ünde eşlerden birinde dengeli translokasyon saptanabilir (Simpson ve ark., 1989). Anne yada babanın dengeli translokasyon taşıyıcılığı var ise oğul döllerde kısmi trizomi ve kısmi delesyon görülebilir (Jones ve Jones, 1981). Bu oran kendiliğinden düşük, ek olarak ölü doğum ya da anomalili bebek öyküsü olan çiftlerde %1,7-4,6 gibi yüksek oranlardır. İversiyonlarda ya da dairesel kromozomlar gibi diğer yapısal bozukluklar da çok daha nadirdir (Byrne ve Ward, 1994). Ebeveynlerde kromozom yapısının belirlenmesi, genetik anormalliklere bağlı olarak kaybedilen gebeliklerin yalnızca bir kısmını ortaya koymaktadır. Ama kromozom anomalileri olmaksızın oluşabilecek letal gen bozuklukları, açıklanamayan TKG'na neden olabilmektedir (Speroff ve ark. 1996, Stern ve ark. 1996). Spontan ve tekrarlayan düşüklerde genetik faktörler önemli bir neden olarak gözlendiğinden, ebeveynlerden birinde dengeli translokasyon tipi yapısal kromozom abnormalitesi bulunduğu anda, annenin spontan yada habituel düşük yapması doğal bir sonuç olarak beklenilmektedir (Yakut 2000).

### 2.2.1.3.Mendelyan ve Poligenik Faktörler

Tek gen veya poligenik faktörler üreme sürecinde nadiren tespit edilirler. Ancak,



tekrarlayan öplooid kayıplara neden olabilirler. Skewed X inaktivasyonu özgün parental bir allelede %90 inaktivasyon olarak tanımlanır. TGK'ı ilişkisi kanıtlanan tek gen bozukluklarının en iyi örneği yüksek geçişli otozomal dominant (OD) bir hastalık olan myotonik distrofi'dir. Fetüsü etkileyen ve abortusa yol açan diğer OD bozukluklar tanotoforik displazi ve tip 2 osteogenezis imperfekta gibi ölümcül iskelet displazileridir. Bu hastalarda anne-baba fenotipik olarak normaldir çünkü fetüsteki bozukluk çok büyük olasılıkla gametogenesisiz sırasındaki mutasyonlardan kaynaklanır. Bu ailelerdeki nadiren görülen tekrarların ebeveynlerin over ya da testislerindeki gonadal mozaizme bağlı olduğu düşünülmektedir. X'e bağlı hastalıklar dişi embriyolarda abortusa yol açmazken erkek embriyolarda ise nadiren tekrarlayan düşük ile sonuçlanabilir (Lanasa ve Hogge, 2000).

Tekrarlayan abortus iki farklı kromozomal anomaliden kaynaklanabilir;

1. Anne yada babadan kaynaklanan bir anomali,
2. Genellikle genetik geçişli olmayan sayısal bir anomalinin tekrarlamaı.

TGK sonrasında genetik danışma; Warburton ve arkadaşlarının çalışmasında bir düşük sonrasında karyotip analizine yönelmenin maliyet-etkin olmadığı ortaya konmuştur. Ancak Drugan ve arkadaşları, 2 abortus sonrasında materyallerin incelenmesinin daha uygun olduğunu ileri sürmektedir (Drugan ve ark., 1990).

### **2.2.2. Anatomik Nedenler**

TGK'nın %10-15'ini konjenital uterin anomalileri oluşturmaktadır (Acien ve ark., 2004). Endometriyumun vaskülarizasyonunda meydana gelen defekt, anormal ve yetersiz plasantasyon sonucunda gebelik kayıplarına neden olur (Ford ve Schust, 2009). Bikornuat, unikornuat, didelfis ve septatuterus olarak, konjenital uterin anomaliler sayılabilir. Bu anomalilerin normalde görülme sıklığı %2 iken, bu oran TGK'da yaklaşık 3 katına kadar çıkabilmektedir (Leible ve ark., 1998). Bikornuat uterus; birleşik alt segmenti olan iki ayrı uterin kavite ve tek serviks vardır ve bu anomalide erken gebelik kayıp oranı %30, tüm gebeliklerde fetal kayıp oranı %40 olduğu bulunmuştur. Unikornuat uterus; müller kanallarından birinin yetersiz gelişiminden dolayı, oluşan gebeliklerin yarısında abortus meydana gelmektedir.

Didelfis uterus; müller kanallarının tam olarak birleşmemesiyle iki serviks ve iki uterus bulunur. Bu uterusu sahip kadınların yaklaşık %40'ında gebelik spontan abortus ile sonuçlanmaktadır. Septatuterus; iki uterusu ayıran orta hat septumun yetersiz rezolüsyonu sonucu oluşmaktadır ve genel popülasyonda tüm majör uterus anomalilerinin %80-90'ını oluşturmaktadır (Propst ve Hill, 2000). Bir derlemede, konjenital uterin anomalilerinin fertil kadınların %4,3'ünde, TGK'ı olan kadınların ise %12,6'sında bulunduğu belirtilmektedir (Grimbizis ve ark., 2001). Uterusun diğer anatomik bozuklukları arasında sayılan myomlar, myometriyumdan kaynaklanan iyi huylu tümörlerdir. Myomlar uterus kavitesini daraltarak erken doğum ve ikinci trimester kayıplarına neden olabilir ve üzerine vaskülarizasyon bozukluğu nedeniyle abortus gelişebilir. 5 cm'den büyük intramural fibroidler ve herhangi bir boyuttaki submukozal fibroidlerin TGK'na neden olabileceği belirtilmektedir (Bajekal ve Li, 2000). Endometrial polipler; endometriyumdan köken alan benign mukozal oluşumlardır. Endometrium içinde yabancı cisim reaksiyonuna ve inflamasyona neden olarak implantasyonu engelleyebilirler. Uterin kavite içerisinde yapışıklığa neden olarak kavite yapısını bozan intrauterin adhezyonlar ise; TGK'nın %5'inde rastlanmaktadır (Perez ve ark., 2005).

### **2.2.3.Enfeksiyöz Nedenler**

1917 yılından bu yana enfeksiyöz ajanların abortus etiolojisinde etkili olabileceği bildirilse de bu konuda yapılan çalışma sayısı yeterli değildir. Spontan abortustan sorumlu tutulan mikroorganizmalar; bakteriler, virüsler, parazitler, spiroketler olarak sıralanabilir (Yılmaz 2010). Abortusa sebep olan çoğu enfeksiyon sistemik tutulum yapar ve kan yoluyla bulaşan organizmalar tarafından fetoplasental ünitenin etkilenmesi sonucu olmaktadır (Ermiş 2016). Bazı enfeksiyöz ajanlara sporadik abortus yapan kadınların vaginal ve servikal kültürlerinde daha sıklıkla saptanmakla birlikte, TGK etiolojisindeki bu etkenlerin ilişkisi kanıtlanmamıştır (Ermiş 2016). Özellikle bakteriyel vaginosis; geç gebelik kaybı, preterm eylem ve erken membran rüptürü ile ilişkilendirilmiştir (Hay ve ark., 1994). Ama TGK'daki rolü net bilinmemektedir. Randomize kontrollü bir çalışma bakteriyel vaginosis için oral klindamisin kullanımının ikinci trimester düşüklerini ve preterm eylem insidansını azalttığını belirtmektedir (Ugwumadu ve ark., 2003). Enfeksiyonların çoğunun sporadik olması ve koruyucu maternal antikoru uyarması nedeniyle

TGK'na sebep olma olasılığı düşük oranlıdır. Rutin klamidya, mikoplazma kültürü, vajinal bakteriyel vajinoz kültürü, toksoplazma ve diğer viral infeksiyon serolojisi a semptomatik TGK olguları için önerilmemektedir (Summers 1994, American College of Obstetricians ve Gynecologists 2002).

#### **2.2.4.Çevresel Nedenler**

Arsenik, benzen, formaldehit, etilen, kurşuna maruz kalmanın gebelik kaybı riskini arttırdığı belirtilmekte ve DDT'nin (diklorodifeniltrikloroethan) gebelik kaybına neden olduğuna dair destekleyici kanıtlar bulunmaktadır (Barlow ve Sullivan 1982, Eskenazi ve ark. 2009). Nitrozoksite uzun süre maruz kalmanın sağlık çalışanlarında artmış gebelik kaybı riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Rowland ve ark. 1996, Boivin 1997). Bazı çalışmalarda ilaçlar, radyasyon, organik çözücüler, bisfenol-A ve ağır metaller gibi çevresel toksinlerin gebelik kayıplarıyla ilişkili bulunduğu belirtilmiş ve hatta bazıları sporadik ve TGK ile ilişkilendirilmektedir (Polifka ve Friedmann 1991, Sharara ve ark. 1998, Xu ve ark. 1998, Valanis ve ark. 1999). Verici terminalleri, mikrodalga fırınlar, yüksek gerilim hatları ve yeryüzünün yüksek bölgelerinde yaşama ile spontan gebelik kayıpları arasındaki ilişki ise kanıtlanmamıştır (Ermiş 2016). Sigara, alkol ve kahve tüketimi spontan gebelik kayıpları ile olduğu kadar TGK ile de ilişkili olabileceği konusunda çok sayıda çalışma yapılmıştır. Sigara kullanımının plasantasyonu bozarak gebelik kayıplarına neden olabileceği gibi nikotinin uterin ve plasental kan akımını azaltarak abortus riskini arttırdığı çalışmalarda belirtilmiştir. Bunun yanında sigara ve gebelik kaybı ilişkisini desteklemeyen çalışmalar da mevcuttur (Kline ve ark. 1995, Ness ve ark. 1999, Rasch 2003, Catoy ve ark. 2008). Alkolün doza bağımlı yan etkileri olduğu ve ilk trimesterde 3 kadeh/hafta kadar az bir alkol düzeyinin bile spontan gebelik kaybı insidansında artışa neden olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Parazzini ve ark. 1994, Abel 1997, Windham ve ark. 1997). Obezite, stres de spontan gebelik kayıpları ile ilişkili bulunduğu belirtilmiştir (Brandt ve Nielsen 1992, Nielsen ve ark. 2001, Bellver ve ark. 2003, Li ve ark. 2003).

#### **2.2.5.Trombofilik Nedenler**

Gebelikte edinsel ve kalıtsal trombofililer nedeniyle venöz trombofili (VTE)

riski yüksek ve bu risk ortalama 100.000 doğumda 200 olarak verilmektedir (Heit ve ark. 2005). Tromboz riskini en çok arttıran edinsel trombofili antifosfolipid antikor sendromudur (APS), ve tromboz riskini 15 kat arttırdığı belirtilmektedir (James ve ark. 2006). Antifosfolipid antikorların koagülasyona eğilimi artarak TGK'na neden olabileceği kabul edilmektedir (Yılmaz 2010, Obut ve ark. 2013). Gebelik ile ilişkili VTE'lerin %50'sinde kalıtsal trombofililer saptanmaktadır. Kalıtılan trombofililer Faktör V Leiden, protrombin gen mutasyonu, hiperhomosisteinemi, protein C, S ve antitrombin III eksikliğinden oluşmaktadır. Faktör VII, VIII, X ve fibrinojenin düzeyleri gebelik boyunca, 12. haftadan başlayarak artar. Protein S düzeyleri %40-50 oranında düşerken antitrombin III ve protein C düzeyleri sabit kalır. PAI konsantrasyonunun arttığı ve trombosit agregasyonuna eğilimi artar. Birçok genetik mutasyon kalıtsal olarak tromboza eğilimi arttırmaktadır. Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A mutasyonları, kalıtsal trombofililerden en sık görülenleridir. Diğer bir mutasyon ise MTHFR enzimini kodlayan geni etkilemektedir. Kalıtılan trombofililerin en sık 2. nedenini protrombin gen mutasyonu oluşturmaktadır (Friedline ve ark., 2001). Birtakım meta-analizler protrombin 20210G>A heterozigot mutasyonunun erken ve geç dönem gebelik kaybı riskini arttırdığını belirtmektedir (Rey ve ark. 2003, Kovalevsky ve ark. 2004, Robertson ve ark. 2006). MTHFR geni polimorfizmleri ve TGK arasındaki ilişki çok sayıda çalışmada araştırılmış ancak net bir ilişki kurulamamıştır (Kim ve ark. 2006, Biswas ve ark. 2008, Hotoleanu ve Chouky 2012, Nadir ve ark. 2007, Foka ve ark. 2000). Yapılan geniş kapsamlı 2 meta-analizde ise Faktör V Leiden ve Protrombin G20210A gen mutasyonlarında gebelik kaybı riskinin arttığı ancak diğer trombofililerin etkisinin net olmadığı belirtilmektedir. Protein C ve antitrombin 3 eksikliğinin ise fetal kayıpla ilişkili olmadığı ancak protein S eksikliğinin geç dönem gebelik kaybı ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Rey ve ark. 2003, Robertson ve ark. 2006). Bazı araştırmalarda kalıtsal trombofililerin 2. ve 3. Trimesterde fetal kayıplar için risk oluşturduğu düşünülmektedir. Geniş kapsamlı bir vaka-kontrol çalışması, Faktör V Leiden gen üzerindeki 11 mutasyonunu, 10 haftadan sonraki gebelik kayıpları için risk faktörü olarak tanımlamaktadır (Lissalde-Lavigne ve ark., 2005).

### **2.2.6. İmmünolojik Nedenler**

Vücudun savunma mekanizması olan immün sistem; dışarıdan gelen ya da

vücutun kendi içinde yer alan hastalık etkenlerine karşı koruma sağlamaktadır (Laird ve ark., 2003). İmmün sistemin TGK' na etkisi alloimmün ve otoimmün faktörlerle açıklanmaktadır. Bir çalışmada TGK olan olguların %15'inde tanımlanmış otoimmün faktörlerin olduğu saptanmıştır (Yetman ve Kutteh, 1996).

### **Otoimmün Nedenler**

Antifosfolipid antikorları, bazı klinik bulgularla birlikte saptanırsa antifosfolipid antikor sendromu (APS) olarak tanımlanır. TGK sahip olgularda antifosfolipid antikorların daha sık bulunduğuna sahip çalışmalar mevcuttur (Ermiş 2016). TGK sahip çiftlerde, APS insidansı %3-5 arasında bildirilmiştir (Rai ve ark., 1995), kötü obstetrik öyküsü olmayan kadınlarda prevalans %2'nin altındadır (Lockwood ve ark. 1989, Pattison ve ark. 1993). Sistemik lupuseritematozus (SLE) da gebelik kayıplarıyla ilişkili otoimmün bir hastalıktır. Lupuslu birçok kadında antifosfolipid antikorların bulunduğu saptanmıştır (Erkan ve ark., 2011). SLE olgularında 2. ve 3. trimesterdeki gebelik kayıpları genellikle antifosfolipid antikorlarla ilişkilidir.

### **Alloimmün Nedenler**

Gebelikte, embriyonik dokulardaki paternal antijenlere karşı maternal immünolojik cevabın gelişmesi gerektiği düşünülmektedir. Gebelik ürününün semiallojenik graft olarak maternal immün sistem tarafından reddedilmesinin TGK'nasebep olabileceği ileri sürülmektedir (Ermiş 2016).

### **2.2.7.Endokrinolojik Nedenler**

TGK' nın %8-12'sini endokrinolojik faktörler oluşturur (Arredondo ve Noble, 2006). Luteal faz defekti, diabetes mellitus, LH hipersekresyonu, tiroid hastalıkları, insülin rezistansı, polikistikover sendromu (PCOS) ve hiperprolaktinemiler TGK ile ilişkili endokrinolojik faktörlerdir (Ermiş 2016).

### **Luteal Faz Defekti (LFD)**

Luteal faz yetmezliği ve luteal faz defektleri belli başlı luteal fonksiyonların

uygunsuzluğu ile özellikle potansiyel implantasyon bölgelerdeki endometriyum gelişiminin yetersiz olması; korpusluteumdan yetersiz progesteron sekresyonuna, obstetrik sonuçlara yol açmaktadır (Uysal 2014, Ermiş 2016).

### **Polikistik Over Sendromu(PCOS)**

Bu sendromda artmış serum LH, androjenler veya insulin seviyelerinin over fonksiyonları üzerine olan etkisinin abortus etiyojisi ile ilişkili çok sayıda mekanizma öne sürülmüştür (Ermiş 2016). TGK na sahip olgularda PCOS prevalansı daha yüksek saptanmıştır (Rai ve ark., 2000). PCOS'lu kadınlarda hiperinsülinemi ve artmış PAI aktivite düzeylerinin, artmış gebelik kayıp sıklığına (%30–50) neden olduğu belirtilmiştir (Okan ve ark., 1998).

### **Diabetes Mellitus**

Tip 1 diabetes mellituslu kadınlarda spontan abortus %10-30 aralığında belirtilmektedir (Todorova ve ark., 2006). İlk trimesterde yüksek kan glukozu ve glikolize hemoglobine sahip diyabetik kadınlarda ise spontan abortus görülme oranının belirgin olarak arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (Mills ve ark. 1988, Rosenn ve ark. 1994, Todorova ve ark. 2004).

### **Hipotiroidizm**

Bir çalışmada abortus öyküsü olan kadınlarda tiroidoto antikorları belirgin olarak yüksek bulunmuştur (Prummel ve Wiersinga, 2004) ancak TGK ile ilişkisi ortaya konmamıştır (Rushworth ve ark. 2000, Prummel ve Wiersinga 2004).

### **Hiperprolaktinemi**

Korpusluteum fonksiyonunu bozduğu ve gebelik kaybı ile sonuçlanan olgularda prolaktin düzeyinde yükseklik saptandığı belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda bromokriptin tedavisi sonrası TGK'ların da azalma olduğu bildirilmiştir (Hirahara ve ark., 1998).

### 2.3.Kromozom

İnsan genomu, diploid konumda yaklaşık 6 ile 7 milyar baz ve 23 kromozom çifti içerir. Canlı genomunun düzenli ve stabil olarak kuşaktan kuşağa aktarımından sorumludur (Cohen ve ark., 1993). Kromatin organizasyonunda ilk aşama nükleozom oluşumudur. Nükleozom ikişer adet H2A, H2B, H3 ve H4 histon ve bir adet H1 histon proteininden oluşan DNA'nın paketlenildiği bir yapıdır. DNA'nın 145 baz çiftlik kısmı sekiz proteinden oluşan iç bölge etrafında 1,75 bir dönüş yapar. Kromatin iplikler histon olmayan proteinlerin ve RNA moleküllerinin yardımıyla ilmekler yaparak bir protein iskelete tutunarak yoğunlaşmaya devam eder. DNA molekülleri, hem interfaz hem de S evrelerinde çok büyük boyutlar nedeni ile mutasyonlara neden olan fiziksel ve kimyasal ajanlar açık hedefleridir. Oluşacak DNA hasar sonucunda mikroskopta görülebilen yapısal kromozom aberasyonları oluşur (Hornykiewicz ve Andkish 1987, Mouradian 2002). Bir kromozomda bir sentromer ve iki telomer bölgesi bulunur. İnsan metafaz kromozomları sentromer pozisyonları ve boylarına göre metasentrik, submetasentrik, akrosentrik olmak üzere üç farklı şekilde bulunurlar. Sentromer bölgeleri; kromozomu uzun ve kısa kol olmak üzere ikiye ayıran, kromozomun merkezinde bulunan, tekrarlayan diziler içeren ve hücre bölünmesinde genetik materyalin yavru hücrelere eşit miktarda dağılmasından sorumlu heterokromatin yapıdan oluşur (Vig 1994, Craig ve ark. 1999, Hooser ve ark. 1999). Telomerler; ökaryotik hücrelerde kromozomun her iki ucunda bulunan özgül, DNA tekrar dizileri ve bu dizilere bağlanan proteinlerden oluşan yapılardır (Yakut 2000). Telomerler; kromozom replikasyonu, nükleer yıkım, gen ekspresyonu, hücre bölünmesi ve yaşlanmada görev almaktadır (Strachan ve Read, 1996). Replikasyon sırasında kesikli DNA fragmentleri eşleşmeden kaldığı zaman telomerik tekrarlar her bir hücre döngüsü boyunca kaybedilir (Slagboom ve ark., 1994). Telomerin tüm uzunluğu genetik kontrol altındadır. Degredasyon ve tam olmayan replikasyon yüzünden telomerik DNA'nın kaybı telomerik dizilerin uzamasında rol oynayan telomeraz enzimi ile önlenmektedir (Harley ve ark., 1990). Subtelomerik bölgelerin büyüklüğü ve kompleks oluşu, bu bölgelerin moleküler seviyede analiz edilmesini zorlaştırmaktadır. Bir kromozom subtelomerik dizisi, başka bir kromozom ve kendi homoloğu ile yaklaşık %95 oranında aynıdır (Yakut 2000). İnterfaz evresinde çözülmeden kalan, koyu boyanan bölgelere heterokromatin bölge denir ve Adenin ve Timin bazları bakımından zengin inaktif gen bölgeleri içerir. Guanin ve

sitozince zengin, aktif gen bölgelerini içeren ökromatin bölgeler normal ve uniform olarak boyanan ipliksi kısımlardır. Kromozomları eşit ya da eşit olmayan iki kola ayran kısım sentromerdir. Eşit olmayan kollardan kısa olan (p), uzun olan kol ise (q) koludur. Sentromerler heterokromatin yapıda özel DNA dizisi taşıyan bölgelerdir (Uysal 2014).

### **2.3.1.Kromozomlar Sentromer Bölgelerine Göre Dörde Ayrılır (Öztaş 2000)**

- 1. Metasentrik Kromozomlar:** Sentromeri ortada olup, iki kolu birbirine eşit olan kromozomlardır. Örneğin; 1, 3, 19, 20 nolu kromozomlardır.
- 2. Submetasentrik Kromozomlar:** Sentromeri merkezden uzakta olup, iki kolu birbirine eşit olmayan kromozomlardır. Örneğin; 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 16, 17, 18, X nolu kromozomlardır.
- 3. Akrosentrik Kromozom:** Sentromer kromozomun uç kısmına çok yakın lokalize olmuştur, p kolu tamamen kısalmış ve satellit şeklindedir. Örneğin; 13, 14, 15, 21, 22, Y nolu kromozomlardır.
- 4. Telosentrik Kromozom:** Sentromeri en uçta bulunan kromozomdur ve sağlıklı bir insanda bulunmaz.

### **2.3.2.Kromozomlar Büyüklükleri ve Sentromer Konumları Baz Alınarak Yedi Gruba Ayrılır (Uysal 2014)**

**A Grubu:** 1, 2, 3 nolu kromozomlardır. Metasentriklerdir.

**B Grubu:** 4 ve 5 nolu kromozomlardır. Büyük submetasentriklerdir.

**C Grubu:** 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 nolu kromozomlardır. Bu grup kromozomlar submetasentriktir.

**D Grubu:** 13, 14 ve 15 nolu kromozomlardır. Büyük akrosentriklerdir.

**E Grubu:** 16, 17, 18 nolu kromozomlardır. Küçük submetasentriklerdir.

**F Grubu:** 19 ve 20 numaralı küçük metasentrik kromozomlardır.

**G Grubu:** 21, 22 nolu kromozomlardır ve küçük akrosentriklerdir.

Cinsiyet kromozomları olan X ve Y'den; X; C grubundadır ve submetasentrik bir kromozomdur. Y ise G grubundadır ve akrosentrik bir kromozomdur.



### 2.3.3.Kromozom Anomalileri

Kromozomların sayısı ve yapısındaki değişimlere kromozom anomalileri denir (Çetin 2013). Spontan abortusların yaklaşık yarısında kromozomal anomalilerin sorumlu olduğundan, konjenital malformasyonlara sahip fetüsler kaybedilmektedir. Tüm hamileliklerde %7,5 oranda kromozom anomalileri görülmektedir. Otozomal veya cinsiyet kromozomları anomalilerine sahip fetüslerin ise yaklaşık %5'i doğmaktadır. Kromozom anomalilerinin canlı doğumlardaki sıklığı %0,6 iken, erken spontan abortuslarda %60, geç spontan abortuslarda %5'dir. Genetik bilgiyi değiştirmeyen anomaliler klinik bulguya yol açmaz ve "dengeli kromozom anomalisi" olarak; genetik bilgiyi değiştiren ve klinik bulgulara yol açanlar ise "dengesiz kromozom anomalisi" olarak adlandırılır. Kromozomal anomaliler sayısal ve yapısal olarak 2 başlık altında toplanır (Gelehrter ve ark., 1998).

#### 2.3.3.1.Sayısal Anomaliler

Temel kromozom sayısındaki artış ya da azalışlar olarak bilinen sayısal düzensizlikler öploidi ve anöploidi şeklinde ikiye ayrılır (Yakut 2000). Çoğunlukla eşey hücrelerinde I. ya da II. mayoz bölünme sırasında, nadir olarak postzigotik mitotik bölünme sırasındaki hatalar sonucunda, kromozom sayısında artış veya azalma ile sayısal kromozom anomalileri tanımlanır (Gersen ve Keagle, 2005).

##### 2.3.3.1.1.Anöploidi

Temel kromozom sayısının tam katları olmayan  $2n+1$  yada  $2n-1$  şeklindeki kromozom sayısındaki artma veya azalmalara denir. Ortaya çıkmasında iki mekanizma sorumludur.

**1-Kromozomların Anafazda Geri Kalması:** Hücre bölünmesi sırasında, kromozomların anafazda kutuplara göçü sırasında oluşan bir hata sonucu oluşur. Geri kalan bu kromozom homologunun bulunduğu yavru hücreye katılır. Anafaz gecikmesi sonucunda oluşan hücreler için 2 ayrı olasılık söz konusudur (Yakut 2000, Ermiş 2016).

- 1-Yarısı normal, diğer yarısı monozomik,
- 2-Yarısı trizomik, diğer yarısı monozomik.

**2-Kromozomların Ayrılmaması:** Bölünmeye hazırlanan hücrede, metafaz evresinde kromozomlar ekvatorial düzlemde dizilirler. Sentrozomların uzunlamasına bölünmesiyle, her bir kromatid ayrı bir kutuba gider ve bölünme tamamlanır. Bazen kromozom uzunlamasına bölünemez ve bir kutuba iki kromatidli kromozom giderken diğer kutba kromozom gitmez. Bu olay kromozomların ayrılmaması denir. Bireylerin bir kısmı monozomik bir kısmı trizomik olacaktır. I. veya II. Mayoz bölünme sırasında kromozom veya kromatidlerin sentromerlerinden ayrılarak birer kutba gitmesi gerekirken, kromozomlar sentromerlerinden ayrılmayarak sadece bir kutba giderler. Bu kromozom ayrılmaması sonucunda oluşan hücreden birinde aynı kromozomdan iki tane bulunurken, diğer hücrede o kromozomdan bulunmaz. Aynı kromozomdan iki tane bulunan gamet hücresi normal kromozom kuruluşuna sahip bir gamet ile birleşecek olursa, oluşacak olan yeni gamet hücresi kromozomdan iki yerine üç adet bulunduracağından trizomik olacaktır. Kromozomu hiç taşımayan gamet, normal kromozomlu gametle birleşecek olursa, oluşacak olan gamette bir adet eksik kromozom olacağından monozomik olacaktır. Ayrıca; ayrılmama mayoz 1 de olursa fazladan kromozom taşıyan gamet maternal ve paternal homolog kromozomların her ikisini de taşıyacaktı. Mayoz 2 de ayrılmama olursa, fazladan kromozom ya anneden ya da babadan gelecektir (Gaulden 1992, Angell ve ark. 1994, Başaran 1996, Engel 1998, Ermiş 2016).

### **2.3.3.1.2.Poliploidi**

Normal kromozom sayısının tam katı kadar artması ile ortaya çıkan sayısal kromozom anomalilerdir (triploidi, tetraploidi). Poliploidiler, daha çok spontan abortus materyallerinde rastlanılmaktadır (Gersen ve Keagle 2005). Triploidiler nadiren de olsa canlı doğabilmekte ve kısa sürede eks olmaktadır. Ovumun 2 ayrı sperm tarafından döllenmesi, ovumun diploid kromozom taşıyan sperm tarafından döllenmesi, polar cisimciğin atılmaması triploidi oluşumundan sorumlu üç mekanizmadır (Gardner ve ark., 2011).

### **2.3.3.2.Yapısal Anomaliler**

Yapısal kromozom anomalileri; kromozomlarda oluşan kırılmalar sonucunda kaybolma, artma veya yeniden düzenlenmelerle ortaya çıkmaktadır. Bu değişimler tek bir kromozom veya karşılıklı iki kromozom arasında meydana gelen değişimlerdir. Yapısal kromozom anomalilerinin yeni doğandaki sıklığı yaklaşık

1/450'dir (Vaz ve Shyama, 2005). Yapısal kromozom anomalileri; "de novo" ve "ailesele" olmak üzere 2'ye ayrılır. Materyal kaybı olup olmamasına göre " dengeli" veya "dengesiz" olarak sınıflandırılmaktadır (Ermış 2016).

### **2.3.3.2.1.Dengeli Yapısal Kromozom Anomalileri (Uysal 2014, Ermış 2016)**

Kromozomdaki genetik bilgide herhangi bir artış veya azalış gerçekleşmediği için dengeli kromozomal değişimlerde fenotipin etkilenmesi beklenmemektedir. Ancak, de novo oluşan kromozom anomalileri, sitogenetik olarak dengeli olarak görüldüğü halde submikroskopik düzeyde kayıp içermeleri durumunda klinik bulgulara yol açabilmektedir (prenatal tanıda saptanan de novo translokasyonların %5' i). Dengeli yapısal kromozom anomalilerinin tekrarlayan fetal kayıp ve konjenital anomalili doğum öyküsü olan çiftlerde saptanma insidansı artmıştır. Dengeli yapısal kromozom anomalilerine bakıldığında sırasıyla;

#### **Translokasyonlar**

Kromozomlar arasında kromozomal materyalin yer değiştirmesidir. Bu durumda DNA'da hiçbir kayba neden olmaz ve birey klinik olarak normaldir. Bu translokasyona dengeli translokasyon adı verilir. Ancak gelecek nesil için dengesiz döller verme riskini taşırlar (Vaz ve Shyama, 2005).

#### **I. Resiprokal Translokasyonlar**

Homolog olmayan kromozomlar arasında meydana gelen parça değişimleridir. Parça değişimi karşılıklı ise resiprokal translokasyon denir. Translokasyonlarda parça değişimi olurken eğer materyal kaybı yoksa bu duruma dengeli translokasyon denir (Ermış 2016). Resiprokal translokasyonlar de novo veya familyal olarak gelişebilir. Hemen hemen bütün dengeli resiprokal translokasyonlar nonmozaiktir. Nadiren postzigotik gelişebilirler ve mozaizm görülebilir. Resiprokal translokasyon taşıyıcılarında fenotipi etkilenmiş çocuk doğurma riskinin ortalama %5-10 olduğu belirtilmektedir (Gardner ve ark., 2011). Yeni doğanda 1/500 oranında gözlenir. Translokasyonun gerçekleştiği kırık noktada yer alan genlerde bir mutasyon meydana gelirse ya da mikroskopik olarak gözlenemeyen çok küçük bir delesyon

olursa veya translokasyon sonucu başka bir kromozomal bölgeye yerleşen gen yeni pozisyonu nedeni ile inaktif hale gelirse, oğul döllerde anormal klinik bulgular ortaya çıkarabilmektedir (Yakut 2000). Resiprokal translokasyonlarda dengesiz gamet oluşturma riski %85 gibi yüksek bir oran olduğundan TGK ve mental retardasyon öyküsü gözlenir (Gardner RJM ve Sutherland, 2004). Resiprokal translokasyon gerçekleşen kromozomlar mayoz 1 de homolog bölgelerin afinitesinden dolayı çiftleşme eğilimindedir. Mayoz bölünme sırasında oluşan quadrivalent yapı segregasyon modelleri gösterir. Bunun sonucunda 1/6 oranında normal, 1/6 oranında dengeli taşıyıcı, 4/6 oranında dengesiz gametler oluşur. Bu gametlerin döllenmesi sonucu oluşan zigot genellikle spontan düşükle sonuçlanır. Dengesiz kromozomal anormallik bulunduran fetüs doğsa bile mental retardasyon ve ağır konjenital malformasyonlar görülür (Scriven ve ark., 1998).

## II. Robertsonian Translokasyonlar

İki akrosentrik kromozomun kısa kollarını kaybederek sentromer veya sentromere yakın bölgelerden birleşmesiyle oluşur. Robertsonian translokasyon taşıyıcılarında total kromozom sayısı 45'e inmektedir. Robertsonian translokasyonlarının genel populasyonda görülme sıklığı 1/1000'dir. Akrosentrik kromozomların kısa kolları çok miktarda satellit DNA tipleri ve ribozomal RNA genleri içermektedir. Bu nedenle kısa kolların kaybı fenotipi etkilememektedir. Non-homolog tip translokasyonlar robertsonian translokasyonların %95'ten fazlasını oluşturmaktadır. Bu grupta (13;14) ve (14;21) translokasyonları %75 ve %10 sıklıkla en sık görülenlerdir (Gardner ve Sutherland, 2012). Non-homolog tip robertsonian translokasyonların çoğu kalıtlıdır. Küçük bir kısmı ise de novo olarak oogenezin mayoz 1 safhasında gelişmektedir. Homolog tip robertsonian translokasyonların çoğu ise de novo gelişmiştir (Gersen ve Keagle, 2005). Dengeli robertsonian tipi translokasyon taşıyıcıları dengesiz gamet verme olasılıkları yüksektir; trizomik ve monozomik zigotlar ortaya çıkar (Shaffer ve Lupski, 2000). Robertsonian translokasyon taşıyıcılarının monozomik konseptuslarının hepsi ve trizomik konseptusların çoğu ilk trimesterde abortusla sonuçlanır. Robertsonian translokasyon taşıyıcılarında spermatogenezis hatası oluşmaktadır. Aynı ailede aynı tip translokasyon taşıyıcısı olup da infertilite gözlenen bireyler bulunabilmektedir (Conn ve ark., 1998).

## İnversiyonlar

İnversiyon, kromozomlardan birinde iki kırık sonucunda serbest kalan bir parçanın diğer kromozomun ara bölgesine eklenmesidir. Ayrılan parça yönünü değiştirmeden diğer aralığa giriyorsa buna direk inversiyon denir. Eğer ters dönerek diğer aralığa giriyorsa ters inversiyon denir (Strachan ve ark., 1996). Bu ters dönen parça sentromer içeriyorsa “perisentrik inversiyon”, sentromer içermiyorsa “parasentrik inversiyon” olarak adlandırılır (Ermiş 2016). TKG olan çiftlerde %0,19 oranında inversiyonlara rastlanmıştır. Parasentrik veya perisentrik inversiyonlu heterozigot bireyler genelde fenotipik olarak normaldir. Fakat mayoz sırasında özellikle ters dönmüş segment büyük ise anomalili parça homolog parçalarla birleşebilir. Mayoz sırasında ters dönmüş segment karşılığı olan homolog parçasıyla eş olabilmek için ilmiş şeklini alır. Birinci anafaza geldiğinde inversiyondan ötürü yavru hücreler arasında inversiyon köprüsü kurulur ve minik bir kromozom ortaya çıkar. Kromatid köprüsü sonra ya kopar bir hücreye katılır veya ortada kalarak yok olur. Bölünme bittiğinde 4 çeşit gamet oluşur (Normal kromatid, iki sentromeli fakat hem eksik hem de parçaları içeren kromatid, eksik asentrik parça, inversiyon kromatidi). Perisentrik inversiyonlarda kromozomun p/q kol oranında değişim olduğundan sitogenetik analizde saptamak daha kolaydır. Kırık noktaları perisentromerik alanlardaki heterokromatin bölgeleri içeren perisentrik inversiyonlar fenotipi etkilemezler ve polimorfik olarak tanımlanırlar. Perisentrik inversiyon taşıyıcılarının dengesiz rekombinasyon ürünleri parsiyel monozomiler ve trizomilerdir (Ermiş 2016). Parasentrik inversiyonlar ise p/q kol oranında değişim olmadığından ancak bant yapısındaki değişim ile tanınabilirler. Parasentrik inversiyonların insidansı 0,09-0,49/1000 olarak belirtilmektedir (Pettenati ve ark., 1995). Parasentrik inversiyonların dengesiz rekombinasyon ürünleri asentrik ya da disentrik kromozomlardır ve canlı doğma şansları bazı istisnalar dışında bulunmamaktadır. Fertilizasyonda yer alan bu tür gametlerin dengesiz zigotlar oluşturduğu bunun sonucu olarak da, dengesiz zigotlarla meydana gelen gebeliklerin spontan abortus veya malformasyonlu canlı doğumlarla sonlanabildiği ileri sürülmektedir. TKG olan çiftlerde birkaç perisentrik inversiyon (21 vaka) bildirilmiştir. Parasentrik inversiyonların 1p, 3q, 5q, 7p, 7q, 11q, 13q ve 14q kromozom kollarını kapsadığı yayınlanmıştır (Gerçel ve ark., 1999).

### **2.3.3.2. Dengesiz Yapısal Kromozom Anomalileri**

Genetik materyalde kayıp ya da kazanç sonucunda genomda dengesizlikle sonuçlanan kromozom anomalileri dengesiz kromozom anomalileri olarak adlandırılır. Kromozomun kısmi duplikasyonu parsiyel trizomi veya kısmi delesyonu ise parsiyel monozomiye neden olmaktadır. Dengesiz yapısal kromozom anomalileri ortalama 1600 canlı doğumda bir görülmektedir (Ermiş 2016).

#### **Duplikasyonlar**

Homolog kromozomlardan birinde iki kırık, diğerinde tek kırık oluşur. İki kırık arasında kalan parça, homolog kromozomdaki tek kırıklı bölge arasındaki kalan kısma yerleşir. Daha çok mayoz bölünme sırasında görülür, bir kromozom parçasının iki kopya halinde bulunmasına yol açar. Somatik hücrelerde her kromozomdan iki adet bulunması kendiliğinden olan bir duplikasyondur (Uysal 2014). Duplikasyon iki mekanizma sonucunda ortaya çıkabilir. İlk mekanizma, homolog kromozomlar üst üste gelerek çakışır ve çakışan bölgeden kromozomlar kırılır. Kopan segmentin diğer kromozoma yerleşmesi sonucu duplikasyon ortaya çıkar. İkincisi ise eşit olmayan Krosing Over'dır (Gardner RJM ve Sutherland, 1996). Dengeli translokasyon/inversiyon taşıyıcılarının verdiği dengesiz gametler sonucu oluşabilir. Bazı durumlarda bir gamette duplikasyon olması parsiyel trizomi ile sonuçlanabilir (Uysal 2014).

Duplike olmuş segmentin pozisyonuna ve yerine göre duplikasyonlar 3'e ayrılır.

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.

#### **Delesyonlar**

Bir kromozomun kısa yada uzun kolunda parça kaybıdır. Delesyon, bir kromozom parçasının kaybı ile kısmi monozomi oluşması olarak da tanımlanabilir.

Delesyona uğrayan segmentin büyüklüğü, o bölgede yer alan genler ve fonksiyonlarına bağlı olarak farklı klinik bulgular gözlenebilir. Kaybolan parçanın kromozomal lokalizasyonuna göre delesyonlar terminal ve intersiyel delesyon olarak ikiye ayrılır. Kromozomların terminal bölgelerini içeren delesyonlara terminal delesyonlar, iki kırık sonucunda ara bölgede oluşan delesyona intersiyel delesyon denir (Yakut 2000). Kromozomal delesyon, homolog kromozomlar ve kardeş kromatidler arasında meydana gelen eşit olmayan krosing over sonucu veya kromozom kırılması, asentrik kısmın kaybolması ile de oluşabilir (Thompson ve ark., 1991). Çok büyük delesyonlar, özellikle total genomun %2'sinden fazlasının kayba uğradığı kromozom anomalileri genellikle yaşamla bağdaşmaz ve düşük ile sonlanırlar. Otozomal delesyonların yeni doğandaki sıklığı yaklaşık olarak 1/7000'dir (Mueller ve Young 1995, Thompson ve ark. 2001).

### **İzokromozomlar**

Kromozomlar mayoz I, mayoz II veya postzigotik mitoz evresinde sentromerlerinden boyuna bölünerek iki ayrı kutba geç 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 döngüsünün S evresinde replikasyonda, 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 görülür. Kromozom kollarından birindeki genetik materyal için tek kopya (parsiyel monozomi), diğer koldaki genetik materyal için üç kopya (parsiyel trizomi) mevcuttur. En sık görülen izokromozom, X kromozomunun uzun koluna ait olan i(Xq)'dur. Turner sendromuna neden olmaktadır. Bunun dışında 5p, 8p, 9p, 12p, 18p, 18q sıklıkla saptanan izokromozomlardır (Gersen ve Keagle, 2005).

### **Ring Kromozom**

Bir kromozomun iki kolunun terminal kısmında oluşan iki kırık noktasının

birleşmesiyle oluşan halka şeklinde kromozomlardır. Sonuç olarak her iki kolunda terminal uçlarının delesyonu söz konusudur ve delesyona uğrayan bu uç kısımlar kaybolur (Gersen ve Keagle, 2005). Kromozomun p ve q kolunda kaybolan segmentin parsiyel monozomisi ile sonuçlanır. Ring kromozomlar normal kromozom setine ilave olarak saptandığında ise parsiyel trizomiye yol açar. Ring kromozom 1/25000 sıklıkla görülür. Bunların yarısı akrosentrik kromozomlardan kaynaklanır. Ring kromozomlar nadiren görülmektedir ve çoğu de novo oluşmaktadır. Yapılan bir çalışmada ring kromozomlarının ortalama %1'inin kalıtıldığı ve bunların %90'ının maternal kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Gardner RJM ve Sutherland, 1996). Ring kromozom bir otozomal kromozomda oluşursa klinik tablo ağır, fakat cinsiyet kromozomları ile ilgili ise daha hafif bulgular gözlenir. Ring (halka) kromozom en sık X kromozomunda görülmektedir. İnsandaki her kromozomun ring kromozomu bildirilmiştir. Ring kromozom en sık X kromozomunda görülür, otozomal kromozomlardan ise en sık 13 ve 18. kromozomlarla ilişkilidir (Wyandt 1988).

### **Disentrik Kromozom**

Sentromer içeren iki kromozom parçasının (farklı kromozomlardan veya bir kromozomun iki kromatidinden) sentromeri bulunmayan parçalarını kaybederek uç uca eklenmesiyle oluşur. Parasentrik inversiyonların ürünü olarak yada homolog kromozomlarda hatalı krossing-overe bağlı olarak oluşmaktadır (Ermiş 2016). Disentrik kromozomlar taşıdıkları çift sentromerlerden birinin inaktif olması durumunda stabil olurlar ve psödodisentrik olarak tanımlanırlar. Disentrik kromozomların çoğu robertsonian translokasyonlarla ilişkili bulunmuştur. En fazla cinsiyet kromozomları ve akrosentrik kromozomlarda görülür (Gersen ve Keagle, 2005).

### **Marker Kromozom**

Marker kromozomlar, normal kromozom çiftine ek ve çoğunlukla mozaik olarak bulunan, klasik sitogenetik yöntemlerle tanınmayan kromozomlardır. Genel populasyonda görülme sıklıkları yaklaşık olarak 2000 kişide 1'dir (Starke ve ark., 2003). sSMC'ler 3 farklı şekilde oluşmaktadır; inverted duplikasyon sonucu oluşan sSMC'ler, ring kromozom oluşumuyla ortaya çıkan sSMC'ler, ufak sentrik yapıda



sSMC'ler. Bu oluşumlardan inverted duplikasyon izlenen sSMC'ler %63, ufak sentrik yapıda olanlar %26, ring kromozom yapısında olanlar %11 sıklıkta görülmektedir (Liehr 2012). sSMC'lerin büyük bir kısmı (%70) de novo olarak oluşmakla birlikte %30'u ailesel kalıtım gösterirler. Marker kromozomların ağırlıklı olarak (2/1 oranında) maternal kaynaklı olduğu gösterilmiştir (Liehr ve Weise, 2007). Yapılan çalışmalar marker kromozomların en sık olarak 15. kromozom ve 22. kromozomdan köken aldığını göstermektedir. Genel olarak marker kromozomlar en sıklıkla akrosentrik kromozomlardan köken almaktadır (%60). Non-akrosentrik kromozomlar içerisinde ise 12. kromozom ve 18. kromozom ilk sıralarda yer alırlar (Gersen ve Keagle, 2005). Ailesel sSMC'ler genellikle fenotipe etki etmezler. Fakat nadir de olsa belirli mekanizmalar ve değişiklikler sonucunda bir sonraki kuşağı etkileme ihtimalleri vardır (Ins ve ark. 1987, Mears ve ark. 1995, Anderlind ve ark. 2001, Baldwin ve ark. 2008). Marker kromozomların boyutu, ökromatin materyal içeriği, mozaik formda olması farklı fenotipik etki göstermelerine neden olabilir. Marker kromozomların klasik sitogenetik yöntemlerle kökenlerinin belirlenmesi oldukça zor olduğundan FISH tekniği ile özgün DNA problemleri kullanarak kökenleri saptanmaktadır (Ermiş 2016).

### **2.3.3.3.Mozaisizm**

Aynı zigottan köken alan iki ya da daha fazla farklı kromozom yapısı gösteren hücre dizilerinin bulunması mozaisizm olarak tanımlanır. Mozaisizmin en sık nedeni zigot oluştuktan sonra erken mitotik bölünmeler sırasında non-disjunction gelişmesidir. Non-disjunctionun zigotun ilk bölünmeleri sırasında olması generalizepaterndemozaisizme neden olurken, daha geç dönemdeki bölünmeler fetus ya da plasentaya sınırlı mozaisizme neden olabilir. Mozaisizm prenatal tanıda saptandığında gelişebilecek fenotipik etkileri değerlendirmek sıkıntılı bir süreç oluşturmaktadır. Non-disjunctionun ortaya çıkış zamanı, kromozom anomalisinin türü, mozaisizm içeren dokuların tipi ve kromozom anomali oranı mozaisizmin fenotipik etkilerini değerlendirirken önemli unsurlardır (Nussbaum ve ark., 2015).

### **2.4.İnfertilite**

En az bir yıl süreyle çiftlerin, bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli

cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama durumudur. İnfertilite, üretken çağıdaki çiftlerin %10-15'inde görülen major bir sağlık problemidir (Tuarnaye 2002, Mittal ve ark. 2004). Daha önce hiç gebelik oluşmamışsa, primer infertilite, canlı doğumla sonuçlansın yada sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa, sekonder infertilite denir (Barbieri 2004). İnfertilite yalnızca fizyolojik bir sorun olmayıp psikolojik, ailesel ve sosyal sorunların yaşandığı, aynı zamanda kültürel yönleri de olan bir yaşam krizidir (Devine 2003). İnfertilitenin sıklığı bölgeden bölgeye ve ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, obstetrik bakım arayan çiftlerin yaklaşık %20'sinin infertil olduğu bilinmektedir (Olshansky ve Garner, 2008). İnfertilite olgularının yaklaşık üçte biri erkek, üçte biri kadın ve üçte biri de her ikisindeki patolojilerden kaynaklanır. Bu nedenle erkek faktörü infertil çiftlerin en azından %50'sinden sorumludur. Değerlendirme ve tedavide çifti bir birim olarak kabul etmek ve önemli bir sorun ortaya çıkana kadar paralel araştırmalar yürütmek infertilite değerlendirmesinde çok önemlidir (O'Connell ve ark, 2002). Ülkemizde 1–1,5 milyon çiftin infertil olduğu belirtilmektedir (Koç ve Özdemir, 2008). Ayrıca ülkemizde 15–49 yaş arası kadınların %17'sinin sekonder infertil olduğu tahmin edilmektedir (Rutstein ve Shah, 2008). Yapılan araştırmalar, dünyada çiftlerin %9'unun infertil olduğu ve bunların da %56'sının medikal destek aldığını açıklamaktadır (Boivin ve ark. 2007). Dünya Sağlık Örgütü'nün, standart tanısal protokolleri kullanarak oluşturduğu verilere göre ise infertil çiftlerin %37'sinde kadın faktörü; %8'inde erkek faktörü, %35'inde her iki faktör birden bulunmuş, %5'inde de nedeni belirlenememiştir. %15'i gözlem sırasında gebe kalmıştır (Barbieri 2004). İnfertil çiftlerin incelenmesiyle çoğu subfertildir ve bu çiftlerin çoğunda da birden fazla infertilite faktörü vardır. Bundan dolayı çiftin incelemesi tüm infertilite faktörlerini aydınlatma yönünde olmalıdır (Ozdiler ve Aydos, 2000).

#### **2.4.1. Erkek İnfertilitesi;**

Yapısal kromozom anomalileri daha sık olarak anneden bebeğe geçer ve erkeklerdeki yapısal kromozom anomalilerinin daha düşük sperm sayı ve kalitesine neden olduğuna, bunun da erkek infertilitesine yol açarak daha düşük gebe bırakma ve düşüğe neden olma oranlarını arttırdığı görülmektedir. Fertil durum erkek ve kadın üreme sistemlerinin anatomik ve fonksiyonel açıdan normal çalışmalarına

bağlıdır. İnfertil olguların %30-40'ında kadın, %20'sinde erkek tek başına sorumlu olduğu görülmektedir (Kadioğlu ve ark., 2004). Sperm parametrelerinde bozulma erkeğe ait problemlerin temelini oluşturur. Sperm sayısının mililitrede 20 milyondan fazla olması fertil bir erkekte beklenen bir durumdur. Oligospermi; sperm yoğunluğunun 20 milyon/ml'den az olması şiddetli oligospermi ise 5 milyon/ml'den az olması durumudur. Genetik bozukluklardan dolayı, sperm yapısının bozulması veya spermin taşınmasını engellenmesi erkekte infertiliteye neden olmaktadır.

Erkek infertilitesi ile ilgili dört genetik faktör:

1-Spermatogenez defekti yapabilen Y-kromozom mikrolelesyonları

2-Konjenital vaz deferensagenezi (yokluğu) olan kistik fibrozis gen mutasyonları

3-Testis fonksiyonlarını bozan kromozom anomalileri

4 Sperm fonksiyonlarını direkt olarak etkileyen genetik sendromlar(Koşar 2008).

**Testis Fonksiyonlarını Bozan Kromozom Anomalileri;** Erkek infertilitesinde cinsiyet kromozom anomalileri otozomal kromozom anomalilerinden daha sık görülmektedir (%4,2 vs %1,5) (Johnson 1998). Kromozomal anomaliler ve bazı yapısal defektler; sitogenetik analizi kullanılarak belirlenebilir. İnfertil erkeklerin %7-13'ü anormal bir karyotipe sahiptir. 5 milyondan daha az sperm yoğunluğu olan erkeklere de sitogenetik analiz önerilmelidir. Normal karyotipe sahip bir infertil erkek, germ hücrelerinde kromozomal anöploidi de bir artışa sahip olabilir (Düzcan ve ark., 2003). Azospermik hastaların testis biyopsilerinde yapılan FISH çalışmaları, hastaların germ hücrelerindeki seks kromozom anöploidilerinin insidansında artış olduğunu göstermiştir (Van ve ark., 1996).

**Kromozom Yapı Bozuklukları;** Azospermi ve ciddi oligospermi görülen erkeklere, otozomal ve seks kromozomlarında bir veya her ikisinde kromozomal anomaliler görülmektedir. Robertsonian ve resiprokal translokasyonlar rastgele seçilmiş erkek yenidoğanlara göre infertil erkeklerde 8,5 kat daha fazladır (Van ve ark., 1996). Otozomal inversiyonlar da infertil erkeklerde genel popülasyona göre 8

kat daha fazladır. Ayrıca karyotipi 46,XX olan bir erkekte infertildir. 20.000 canlı doğumda bir görülen bu durumun nedeni ise Y kromozomun uzun kolunda bulunan SRY'nin X kromozomuna translokasyonudur. Bu durumda erkek hastalarında testis biyopsilerinde Sertolicell-only patolojisiyle birlikte azospermiktir. XX erkeklerin yaklaşık %10'unda (SRY-negatif) ambigius genitalia veya hipospadias bulunmaktadır (Antonelli ve ark., 2000).

**Kromozom Sayı Bozuklukları;** Otozomal sayısal bozukluğa sahip erkeklerde genellikle ciddi oligospermi veya azospermi vardır (Speed 1989). Klinefelter sendromu, mikstgonadaldisgenesis ve XYY erkekleri bu grupta sayabiliriz. Klinefelter sendromu (XXY), infertil erkeklerde genel popülasyona göre 30 kat daha siktir. Klinefelter sendromu; fazladan bir X kromozomunun bulunduğu durumdur ve yeni doğan her 600 erkekten birinde görülmektedir. Klinefelter sendromlu hastalar azospermik veya ciddi oligospermiktir ve azospermi vakalarının yaklaşık %14'ünü oluşturur (Rives ve ark., 2000). Mikstgonadaldisgenetik hastalar fenotipik olarak erkek, kadın ya da ambigusgenitaleli olabilir. Bu hastalar sıklıkla 45X/46XY mozaik karyotipine sahiptir; yaklaşık olarak 1/3'ü normal karyotipe sahiptir. Pek çok hasta bir testise ve streakgonada sahiptir. Testis skrotumda lokalize ise normal leydig hücreleri ve sertoli hücre popülasyonları genellikle vardır. Buna rağmen, seminifer tübüllerde germ hücresi yoktur. Bu hastaların streakgonadları gonadoblastoma için malign dejenerasyon riski taşırlar. Spermatogenezis yetmezliğe sahiptir ve testis biyopsisinde matürasyonarrestisi ya da sertoli-celonly sendromu gösterirler (Attanasio ve ark., 1982).

## **2.5.Kromozom 22' de Meydana Gelen Kromozomal Aberasyonlar ile İlişkili Hastalıklar (Genetics Home Reference 2016)**

### **22q11.2 Delesyon Sendromu**

Bu bireylerin yaklaşık %90'ı 22. Kromozom üzerinde yaklaşık 3 mb uzunluğunda bir delesyon içerir (q11.2 lokasyon bölgesinde meydana gelir). Bu bölge 30 ila 40 gen içermektedir. Hastaların %7-8'inde ise distal kırılma bölgesi sabit olmak üzere, 25 kadar geni içeren 1,5 mb büyüklüğünde daha küçük

mikrodelesyonlarda görülebilir. 22q11.2 delesyon sendromunda delesyona uğrayan genlerden biri olan TBX1 gen ekspresyonunun azalması, kalp defektleri, yarık damak, ayırcı yüz özellikleri ve düşük kalsiyum düzeyleri ile bu sendromun karakteristik özelliklerini oluşturmaktadır. 22. kromozomun aynı bölgesinde yer alan diğer bir gen delesyonu ise COMT gen delesyonudur, genin yetersiz ekspresyonu davranışsal, psikiyatrik sorunlara ve maligniteye artmış yatkınlık ile ilişkilidir.

### **Di George Sendromu (DGS)**

22q11.2 kromozom bölgesinde 1,5 den 3 mb a kadar değişen büyüklükte delesyonlar oluşabilmektedir. TBX1 geninin yetersizliği fiziksel malformasyonlarının çoğunun sorumlusudur. Klinik bulguları arasında mikrognati, kıvrımlı retinal damar sistemi, hipertelorizm, kütleşmiş burun, hafif ve orta şiddette öğrenme güçlüğü, gecikmiş psikomotor gelişim, kardiyovasküler malformasyonlar ve ventriküler septaldefekt sayılabilir. Di George sendromu, en sık görülen mikrodelesyon sendromu olup yeni doğanda 1:4000 görülme sıklığına sahiptir. DGS li bireylerin %85-90 nında LCR22A-D' ı gen bölgelerini kapsayan 3 mb'lık delesyonlar görülür.

### **22q11.2 Duplikasyonu Sendromu**

22. kromozom üzerinde q11.2 lokasyon bölgesinde genetik materyalin fazladan bir kopyasından kaynaklanmaktadır. Bu ekstragenetik materyal, yaklaşık olarak 3 milyon baz çiftlik (3 mb) diziden oluşmaktadır. Bireylerin küçük bir yüzdesi aynı bölgede daha kısa duplikasyonlara sahiptir. Bu duplikasyonlu bireylerde gelişim geriliğine neden olan genler üzerine araştırmalar sürmektedir.

### **22q13.3 Delesyon Sendromu**

Bu sendrom; Phelan-McDermid sendromu olarak da bilinmektedir. 22. kromozomun uzun (q) kolunun telomerine yakın bölgesindeki delesyondan kaynaklanmaktadır. Bir ring 22 kromozomu, 22q13.3 delesyon sendromuna neden olabilir. Ring (halkasal) yapıdaki bir kromozom, kromozomun iki yerinde kırık olduğunda meydana gelebilir, kromozomun uçları kaybolur ve kırık uçlar birbiriyle kaynaşır. 22q13.3 delesyon sendromunun semptomları ve belirtileri, muhtemel olarak

22. kromozomun uç bölgelerinde birden fazla genin kaybı ile ilişkilidir. Delesyonun boyu etkilenen bireyler arasında değişir. SHANK3 gen delesyonunun 22q13.3 delesyon sendromunun karakteristik özelliklerinin çoğundan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Klinik bulgular arasında; gelişimsel gecikme, yenidoğan hipotoni, zihinsel engellilik, otistik davranış ve minör dismorfik özellikler ve ciddi konuşma gecikmeleri yer almaktadır.

### **Emanuel Sendromu (ES)**

ES'li insanlar, 22 nolu kromozoma eklenen 11 nolu kromozomun bir parçasından oluşan fazladan bir kromozom içerirler. Fazladan kromozom derivate 22 veya der(22) olarak bilinir, der(22) kromozomu ES'li insanlara genellikle etkilenmemiş bir ebeveynlerinden kalıtılır. Ebeveynler 11. ve 22. kromozomları arasında dengeli translokasyon taşıyıcısıdır. Bu translokasyonlar gelecek kuşaklara geçirildiğinde dengesiz olabilir. Bu durum Emanuel sendromlu bireylerde, 11. ve 22. kromozomlar arasında dengesiz translokasyonun görülmesini açıklamaktadır. Bu translokasyon insanlardaki en sık görülen resiprokal translokasyondur. Bu bireyler ikişer kopya normal 11. ve 22. kromozoma sahipken birde fazladan der(22) kromozoma sahiptirler. Bu bireylerde 12 mb'lık (11q23→11qter), 22. kromozomdan da yaklaşık 20 mb'lık (22q11.2→22qter) bir bölgenin parsiyel trizomisi bulunmaktadır. Bu durum gelişimin normal seyrini bozarak zihinsel engelle ve doğum defektlerine yol açar.

### **Opitz G/BBB Sendromu**

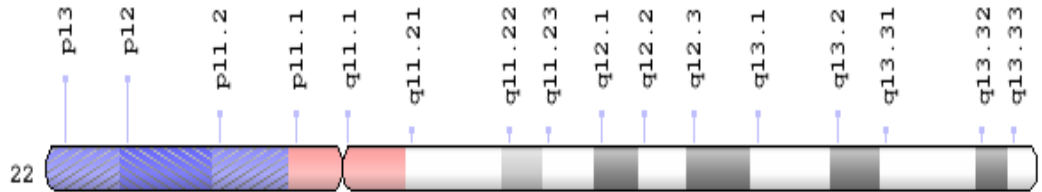
22q11.2 kromozom bölgesi üzerindeki SPECC1L geninde oluşan heterozigot mutasyon nedeni ile oluşmaktadır. Opitz G/BBB sendromu 22q11.2 delesyon sendromu ile aynı kromozom bölgesinde görülür bu yüzden sıklıkla 22q11.2 delesyon sendromunun bir parçası olarak kabul edilmektedir. Semptom ve belirtilerine neden olan gen delesyonları hala bilinmemektedir. Klinik bulguları arasında, oküler hipertelorizm, nefes almakta veya yutkunmada zorlanma, beyin malformasyonları, ayırıcı yüz özellikleri ve erkeklerde genital anormallikleri içeren vücutta ciddi anormalliklere sebep olur.

## Cat-eye Sendromu (CES)

Nadir görülen bir sendromdur ve en sık sebebi inversiyon duplikasyon 22 olarak invdup (22)(q11) olarak bilinmektedir. Bu durumda her hücre duplike 22 den oluşan en az küçük bir fazladan kromozoma sahiptir. Fazladan genetik materyal; iris kolobomu olarak adlandırılan anormal bir göz bulgusuna sebep olur, alışılmadık formda (dismorfik) kulaklara, kalp defektlerine, böbrek problemlerine, anüs malformasyonlarına ve bazı durumlarda gelişme geriliğine neden olur. CES kritik bölgesi Di George sendromu kritik bölgesinin proksimalinde yer almaktadır. Bu bölgeler 22. kromozom üzerindeki Low Copy Repeat (LCR) bölgeleridir ve kromozomal değişikliklere yol açabilecek dört farklı crossing-over bölgesi saptanmıştır.

### Diğer anomaliler arasında;

22. kromozomun diğer sayısal ve yapısal anomalilerinin ortak klinik bulguları arasında; mental retardasyon, gelişme geriliği, gecikmiş veya eksik konuşma, dismorfik yüz özellikleri ve davranışsal problemler sayılabilir.



Şekil 1.22 nolu Kromozom

## 2.6.Moleküler Sitogenetik Yöntemler (Floresan In Situ Hibridizasyon Tekniği / FISH)

Rutin sitogenetik analizlerde kromozom üzerinde 400-500 bant gözlelenebilmekte ve bu teknik kromozomal bölgeye bağlı olarak 5-10 megabazlık

DNA içeren kromozomal anomalileri tespit edebilmektedir. Kromozom anomalilerinin araştırılması için genel olarak Giemsa Bantlama Tekniği (GTG) bant düzeyinde inceleme yapılmakta ve sitogenetik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda (marker kromozomların tanımlanması, mikrolelesyonların görülmesi vb.) daha hassas yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Sitogenetik ve moleküler biyoloji arasında köprü olan FISH tekniği klasik sitogenetiğin önemli bir tamamlayıcısı olmuştur. FISH, rutin sitogenetik analizler ile saptanamayan 5 mb'dan küçük kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, duplikasyonlar, ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan ileri bir tekniktir (Aytan 1997, Yakut 2000, Uysal 2014). 1980'li yılların sonlarında, problemlerin işaretlenmesi ile moleküler sitogenetik bir teknik olan FISH geliştirilmiş ve sitogenetik tanıda önemli olduğu gibi yaygınca da kullanılmaya başlanmıştır (Piper ve ark. 1995, Gottfredson 1999, Bruno ve ark. 2006). FISH tekniği; görüntülenmesi hedeflenen DNA bölgesine komplementer florokromlarla işaretlenmiş prob (tek iplikçiklitimidin içeren oligonükleotid adını alan DNA dizileri) kullanılır. Floresan işaretli prob hibridize olduğu zaman kromozomlar floresan boyadan yayılan ışığın belirli dalga boyunda absorblanması ile görünür hale gelir. Tek iplikli nükleik asit moleküllerinin tamamlayıcı diziler ile uygun koşullarda eşleştirilerek çift iplikli hale getirilmesi için gerçekleştirilen reaksiyon hibridizasyondur. Hibridizasyon, sinyalin ve prob ile hibridize olan DNA segmentinin lokalizasyonu mikroskop altında belirgin hale getirir.

FISH tekniğinde izlenen basamaklar;

- Proben işaretlenmesi,
- Hibridize edilecek materyalin fiske edildikten sonra lamlara yayılması,
- Hedef DNA'nın denatürasyonu,
- Denatürasyondan sonra hedef DNA ve probun hibridizasyonu,
- Hibridizasyon sonrası yıkanması, immünokimyasal ve mikroskop ile görüntülenmesi (Aytan 1997).



Periferik ve fetal kan hücreleri, doku ve cilt biyopsisi, amniyon sıvısı, koryonik villus (CVS), tahliye materyali, sperm ve embriyo hücresine FISH çalışması yapılabilir. FISH tekniğinde en önemli aşama prob seçimidir. Prob; analizi yapılacak materyale, anomali tipine ve bölgesine uygun olarak seçilir. FISH tekniğinde kullanılan problemler:

1. Tekrarlayan dizi problemleri (satellit problemleri)
2. Lokusa özgü problemler
3. Tüm kromozomu boyayan problemler
4. Banda özgü problemler
5. Telomer bölgesine özgü problemler

Sentromerik satellit DNA problemleri ve tüm kromozom boyama konvensiyonel metodlarla saptanamayan kromozomal yeni oluşumları belirleyebilmek için kullanılmaktadır. Tüm kromozom boyaması ve ters kromozom boyaması küçük kromozomal bölgeleri içeren yeni oluşumları belirleme de kolaylık sağlasa da telomerik bölgelerdeki değişimler gözden kaçabilmektedir. Tekrarlayan düşük vakalarında telomerik bölgelerdeki translokasyonların tespitinde her bir kromozomun telomerik bölgesine özgü çoklu prob seti kullanılarak uyguladığı FISH yöntemi ile son zamanlarda sıkça kullanılmaktadır. FISH analizi; gen haritalaması, onkogen, tümör supresör gen analizi, mikrobiyoloji / viroloji, gen ekspresyon analizi, somatik hücre hibrit analizi, mayoz /mitoz analizi ve hücre tanımlamasında kullanılmaktadır (Lichter 1997, Honda ve ark. 1999, Wakui ve ark. 1999). FISH yöntemi, 24 saatlik bir süre sonunda sonuç vermesi (sonuç verme süresinin kısa olması), daha fazla hücre üzerinde analiz yapabilme olanağı sağlaması (metafaz kromozomları dışında interfaz kromozomlarının da analizine olanak vermesi) ve kültür problemlerinin dışlanması da göz önüne alındığında oldukça etkili olduğu görülmektedir (Sağ ve ark., 2009).

### **3.GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **Hasta Grupları**

Tez çalışmam; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 13/07/2016 tarihinde alınan 13-05 nolu kararı ile başlatılmıştır. Hasta grubumuz için; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıbbi Genetik polikliniğine tekrarlayan gebelik kaybı endikasyonu ile gelen (en az iki tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan) 22 birey, infertilite endikasyonu ile gelen (en az bir yıl süreyle çiftlerin, herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama öyküsü olan) 22 birey dahil edilmiştir. Kontrol grubumuza; sağlıklı en az iki çocuk sahibi olan, hiç düşük öyküsü bulunmayan 22 birey seçilmiştir. Çalışmaya dahil edilen toplamda 66 olgunun; pedigrileri çizilmiş ve hasta bilgi formları doldurularak onamları alınmıştır. Çalışma grubu bireyelerine öncelikle Giemsa Bantlama Tekniği (GTG) ile kromozom analizi yapılmış, ardından tüm bireylere Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH) analizi uygulanmıştır.

#### **3.2.Sitogenetik Analiz**

##### **3.2.1.Periferik Kan Kültürü**

100 ml RPMI 1640 medyum içine; 20 ml Fetal Bowin Serum (hücre çoğalması için), 2 ml L-Glutamin (besiyerini desteklemek için), 1ml Penisilin/Streptomisin (kontaminasyonu engellemek için), 3 ml Fitohemaglutinin (lenfosit hücrelerini mitozu yönlendirmek için) konularak hazırlanan periferik kan kültüründen steril koşullarda 5 ml steril falkon tüplerine kondu. Üzerine 8 damla hastanın periferik kanından damlatılarak ekimleri yapıldı ve hafif karıştırıldıktan sonra eğik bir şekilde 72 saat boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı.

##### **3.2.2.GTG- Giemsa Bantlama Tekniği**

- 1- 72. saatin sonunda, kültür tüpüne 100 µl kolsemid (hücre bölünmesini metafaz evresinde durdurmak için) eklendi ve hafifçe karıştırıldıktan sonra tekrar 37 °C'de etüve kondu.

- 2- 1,5 saat sonra kültür tüpü 1200 rpm'de 8 dakika santrifüj edilip, süpernatant bir pastör pipeti yardımı ile atıldı. Dipte kalan pellet ve üzerindeki 1 ml'lik sıvı vorteksenerek üzerine toplam hacim 11 ml olacak şekilde daha önceden hazırlanmış olduğumuz hipotonik solüsyonu (kromozomların şişerek birbirinden ayrılması için) eklendi.
- 3- Tüpler 60 dakika arası 37°C'de etüvde bekletildikten sonra tüpler 1200 rpm'de 8 dakika santrifüj edilip, süpernatant bir pastör pipeti yardımı ile atıldı. Dipte kalan pellet ve üzerindeki 1 ml'lik sıvı vorteksenerek üzerine toplam hacim 11 ml olacak şekilde daha önceden hazırlanmış olduğumuz fiksatif solüsyonu (hücreyi sabitlemek için) ilave edildi. Fiksatif işlemi pellet berraklaşmıncaya kadar tekrarlandı. Son santrifüj işleminden sonra tüplerde yaklaşık 2 ml süpernatant bırakıldı.
- 4- Dip materyal pipetle iyice karıştırılarak lamalar üzerine cam pastör pipeti ile yayıldı ve lamalar 1 gece oda sıcaklığında bekletildi. Ardından 7 dakika 85°C hotplate üzerinde yaşlandırıldı.
- 5- GTG-Giemsa Bantlama yöntemi ile bantlandı.
- 6- Kuruyan lamaların, ışık mikroskopunda analizleri yapıldı. Bunun için, en az 20 metafaz tarandı ve ardından görüntüleme sistemlerinde her bir hastanın karyotipleri yapıldı.

Ardından olguların şüpheli edilen 22. Kromozomlarına özel Di George probu ile FISH analizi uygulandı.

### **3.2.3.FISH Yöntemi**

#### **3.2.3.1.Kullanılan Solüsyonlar(Knight ve ark., 1997)**

##### **20xSSC (SodiumSalinCitrat) Stok Solüsyonu**

175,3 gram sodyum klorid (Merck) ve 88.2 gram tri-sodyum sitrat (Merck) tartılarak, 1000 ml distile suda çözüldü ve solüsyonunun pH'sı; 7.0'ye ayarlanarak +4 °C'de saklandı.

### **2xSSC Solüsyonu;**

Stok 20xSSC solüsyonundan 10 ml alındı, 90 ml distile su ile 100'e tamamlanarak hazırlandı.

### **0,4xSSC Solüsyonu;**

Stok 20xSSC solüsyonundan 2 ml alındı, 98 ml distile su ile 100 'e tamamlanarak hazırlandı.

### **2xSSC, Tween 20 (%0,5) Solüsyonu**

Stok 20xSSC solüsyonundan 10 ml alınıp, 90 ml distile su ilave edilerek, hacim 100 ml'ye tamamlandı. Bu solüsyona, pastör pipet ile 1 damla Tween-20 (Sigma) ilave edildi.

### **Dehidrasyon Solüsyonları**

Preparatı dehidrate etmek amacı ile; %70, %85 ve %100'lük etanol çözeltileri hazırlandı ve -20 °C'de saklandı.

### **Di George FISH Probu**

Olguların 22. kromozomlarında var olan ya da şüphelenilen kromozomal aberasyonların tespiti için kullanılan, 22. kromozomun telomere yakın (22q13.3) ve Di George (22q11.2) bölgelerinin her ikisine spesifik bir probdur.

### **3.2.3.2.FISH Yönteminin Uygulanışı**

1. Rutin kromozom eldesi için son aşamadaki fiksatiften geçirilerek temizlenen hücre pelletleri 1200 rpm' de 8 dakika santrifüj edildi.
2. Süpernatantı atıldıktan sonra kalan yaklaşık 2 ml kadar pellet vortekslendi. Üzerinde hasta adı ile kodların yazılı olduğu lamlar üzerine otomatik mikropipet yardımı ile 3 µl kadar pelletten alınarak yayma yapıldı.
3. Lamlar oda sıcaklığında kuruduktan sonra hücreleri lam üzerine sabitlemek için 2 dakika 2xSSC solüsyonunda bekletildi.
4. Lam üzerindeki artefaktları yok etmek için; %70, %85 ve %100'lük alkol serilerinin her birinde, sırası ile 2'şer dakika bekletilerek dehidrate edildi ve

lamlar oda sıcaklığında kurutuldu. Lam üzerinde yaymanın yapıldığı alan asetate kalem ile (lamin alt yüzeyinden) yuvarlak içine alınarak işaretlendi ve preparatlar hazırlanmış oldu.

5. İşaretli alan üzerine otomatik mikropipet yardımı ile 3 µl prob eklendi ve lamel ile kapatıldı.
6. Dışarıdan hava almaması için, lamelin etrafı rubber cement yapıştırıcı ile yapıştırıldı ve hazırlanan lamlar denatürasyon amacıyla ısıtıcı üzerinde 74 °C'de 2 dakika bekletildi.
7. Hibridizasyon için nemli bir gazlı bez bulunan kutuya preparatlar yerleştirildi. Kutunun kapağı kapatılarak 37°C' de over-night etüvde inkübasyona bırakıldı.
8. Hibridizasyon sonrası lamel etrafındaki rubbercement alındı ve lamel kaldırıldı.
9. Lamlar, 72°C su banyosundaki şalede bulunan 0,04xSSC solüsyonu içerisinde 2 dakika bekletildi.
10. Ardından lamlar 2xSSC/%0,05 Tween-20 solüsyonu (oda sıcaklığında) içerisinde 30 saniye karıştırıldı.
11. Lamlar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, üzerine 3 µl 4-6 diamino-2-phenylinodole (DAPI) solüsyonu damlatıldı. Lam, lamel ile hava kabarcığı kalmayacak şekilde kapatıldı ve kuru bir gazlı bez bulunan hibridizasyon kutusuna yerleştirilerek +4°C'de 10 dakika kadar bekletildi.

### **3.2.3.3.Görüntüleme ve Sayım**

+4 °C'de bekletilen lamlar floresan mikroskopunda uygun filtreler ile tarandı. Bunun için öncelikle; floresan mikroskop 10X büyütme objektife getirilerek, yayma yapılan alan bulundu. (Çalışma sırasında asetate kalem ile yapılan işaretlemeden faydalanıldı.) Mikroskopun makro ayar düğmesi ile gözetleme pozisyonuna getirilen alan, mikro ayar düğmesi ile netleştirildi. Ardından lamel üzerine bir damla immersiyon yağı damlatılarak, 100X büyütme objektif ile daha net görüntü alındı. Cytovision kromozom analiz sistemi kullanılarak metafaz ve interfaz hücre görüntüleri bilgisayar ortamına aktarılarak analizleri yapıldı. FISH çalışmasında, 22. Kromozomun 22q11.2 bölgesi için spektrum kırmızı, 22q13.3 bölgesi için ise spektrum yeşil uyumlu filtreler kullanılarak sinyaller değerlendirildi.

#### **4.BULGULAR**

Tez çalışmamıza TGK endikasyonu olan (kendisi veya eşinde en az iki tekrarlayan gebelik kaybına sahip) 22 birey (11 kadın, 11 erkek), infertilite endikasyonu olan (en az bir yıl süreyle çiftlerin, herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamayan) 22 birey (11 kadın, 11 erkek) dahil edildi. Kontrol grubu kapsamında çalışmaya dahil edilen 22 birey (11 kadın, 11 erkek) ise herhangi bir düşük öyküsüne sahip olmadığı gibi, en az iki sağlıklı çocuğa sahipti. Çalışma grubu (TGK ve infertilite) 44 olguya öncelikle, 72 saatlik Fitohemaglütinin (PHA) uyarılmış lenfosit hücre kültürü yapılarak, ardından GTG bantlama uygulandı ve sitogenetik analizleri yapıldı. Ardından tüm olgulara kromozom 22'nin '22q11.2' ve '22q13.3' bölgeleri için spesifik prob kullanılarak FISH analizi uygulandı.

FISH analizinin ardından sinyal yoğunluk ölçümleri hesaplandı (22q11.2 bölgesi için kırmızı; 22q13.3 bölgesi için yeşil sinyal kullanıldı). Tablo 3'de detaylı olarak gösterilen sinyal yoğunluk ölçümleri; 22 nolu Kromozom çiftinin her iki kromozomundaki kırmızı sinyallerin kendi içinde, yeşil sinyallerin kendi içinde oranlanmasıyla yapılmıştır. Oran sonucunun 2 kat ve üzerindeki değerler bir anomali açısından anlamlı kabul edilmiştir.

**Tablo 3.**Yapılan FISH analizi sonucunda TGK ve İnfertilite Gruplarında Saptanan Yapısal Kromozom Aberasyonlarına ait 22 nolu Kromozomun 22q11.2-q13.3 Bölgelerindeki Sinyal Yoğunluğu Ölçüm Sonuçları

22.Kromozom FISH Sonucu	Kırmızı Sinyal Yoğunluğu Ölçüm Sonucu	Yeşil Sinyal Yoğunluğu Ölçüm Sonucu
Normal	1:1(9,246/10,055)	1:1(15,816/16,620)
dup22q11.2	<b>1:3(9,062/27,682)</b>	1:1,25(12,000/15,000)
dup22q13.3	1:1(9,123/9,243)	<b>1:2,1(10,434/21,799)</b>
dup(22)(q11.2;q13.3)	<b>1:2(15,422/30,988)</b>	<b>1:2,1(14,000/29,460)</b>
inv(22)(q11.2;q13.3)	1:1,4(15,422/22,095)	1:1,4(22,095/30,732)
	Kromozom 22 çiftinin kırmızı ve yeşil sinyaller arası uzaklığın oranları <b>1:2(16,899/33,785)</b>	
inv22q13.3	1:1,4(14,020/20,050)	1:1,2(10,899/13,282)
	Kromozom 22 çiftinin kırmızı ve yeşil sinyaller arası uzaklığın oranları <b>1:2,3(15,036/34,734)</b>	

22 nolu kromozoma uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesi kırmızı sinyal, q kolunun 13.3 bölgesi ise yeşil sinyal vermektedir. Tablo 3’de gösterilen sinyal yoğunluğu ölçümleri için; öncelikle FISH analizi sonrası saptanan kırmızı ve yeşil sinyallerin sinyal yoğunlukları ölçülmüştür. Daha sonra bir anomali açısından kırmızı sinyaller kendi içinde, yeşil sinyaller kendi içinde oranlanmış ve oran sonucunun 2 kat ve üzeri değerleri için duplikasyon yorumu yapılmıştır. 22 nolu kromozom çiftinden her birinin kırmızı ve yeşil sinyal arası mesafeleri oranlanmış, 2 kat ve üzeri değerler için inversiyon yorumu yapılmıştır.

TGK grubu olgularının 22. Kromozomlarının q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine uygulanan FISH analizi sonucunda, 22 hastanın 11'inde anomali tespit edilmiştir. Tablo 4'te saptanan anomaliler detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

**Tablo 4.**TGK Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları

TGK Grubu	22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları
1. Olgu	46,XX, dup 22q11.2
2. Olgu	46,XY
3. Olgu	46,XX, dup22q13.3
4. Olgu	46,XX, dup.22q11.2
5. Olgu	46,XX
6. Olgu	46,XX
7. Olgu	46,XY, dup22q13.3
8. Olgu	46,XY,dup22q11.2, 22q13.3
9. Olgu	46, XY, inv(22)(p11.2;q13.3)
10. Olgu	46, XX
11. Olgu	46, XY
12. Olgu	46, XY,dup22q13.3
13. Olgu	46,XX
14. Olgu	46, XY
15. Olgu	46,XX, dup 22q13.3
16. Olgu	46, XX
17. Olgu	46, XY
18. Olgu	46, XX, dup22q13.3
19. Olgu	46, XY
20. Olgu	46, XX, dup 22q13.3
21. Olgu	46, XY
22. Olgu	46, XY, dup22q11.2



İnfertilite grubu olgularının 22. Kromozomlarının q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine uygulanan FISH analizi sonucunda, 22 hastanın 10'unda anomali tespit edilmiştir. Tablo 5'te saptanan anomaliler detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

**Tablo 5.**İnfertilite Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları

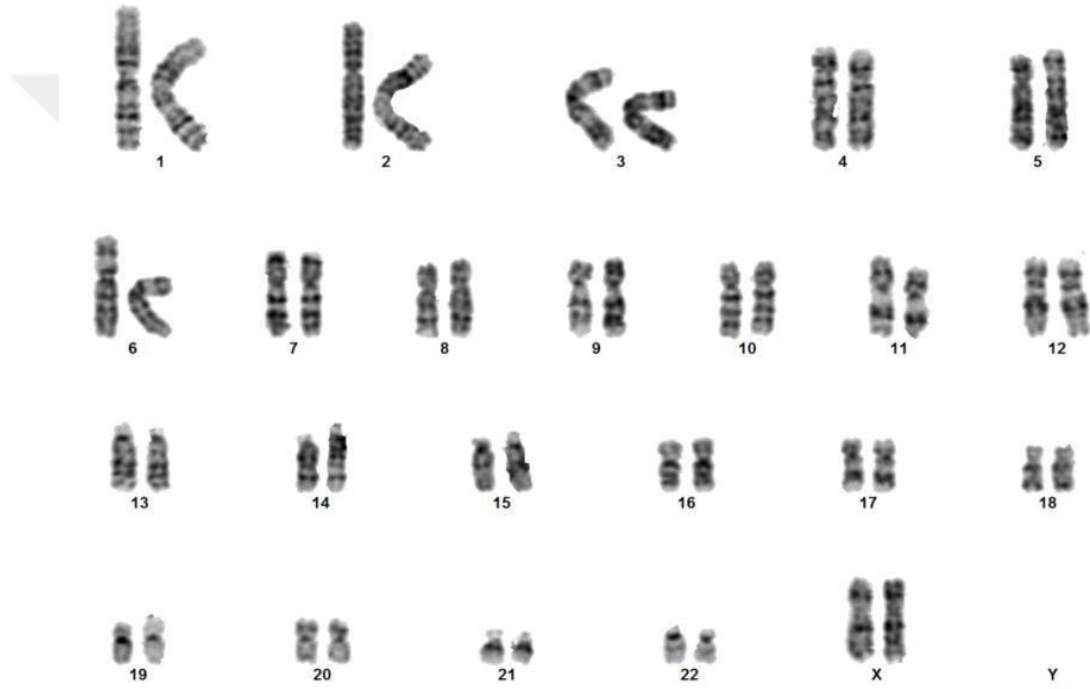
İnfertilite Grubu	22.Kromozom FISH Analiz Sonuçları
1. Olgu	46,XY
2. Olgu	46,XX
3. Olgu	46,XX
4. Olgu	46,XX
5. Olgu	46,XX
6. Olgu	46,XY,dup22q13.3
7. Olgu	46,XY, inv(22)(q13.3)
8. Olgu	46,XY,dup22q11.2
9. Olgu	46, XX
10. Olgu	46, XX, dup22q13.3
11. Olgu	46, XX, dup.22q13.3
12. Olgu	46, XY
13. Olgu	46,XY, dup 22q11.2
14. Olgu	46, XY, dup 22q11.2
15. Olgu	46,XY, dup 22q13.3
16. Olgu	46, XY
17. Olgu	46, XX
18. Olgu	46, XX, dup22q13.3
19. Olgu	46, XX
20. Olgu	46, XY, dup 22q13.3
21. Olgu	46, XY
22. Olgu	46, XX

Kontrol grubu olgularının 22. Kromozomlarının q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine uygulanan FISH analizi sonucunda, 22 hastanın 1'inde anomali tespit edilmiştir. Tablo 6'te saptanan anomali detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

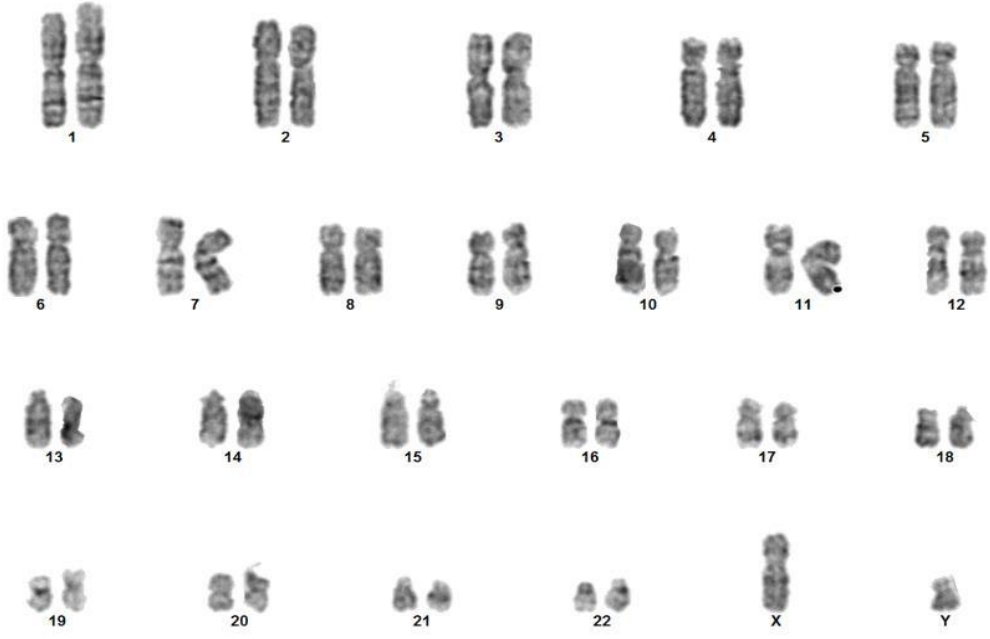
**Tablo 6.**Kontrol Grubu Olgularının 22. Kromozom FISH Analiz Sonuçları

Kontrol Grubu	22.Kromozom FISH Analiz Sonuçları
1. Olgu	<b>46,XX</b>
2. Olgu	<b>46,XX</b>
3. Olgu	<b>46,XY</b>
4. Olgu	<b>46,XY</b>
5. Olgu	<b>46,XX, invdup(22)(q13.3)</b>
6. Olgu	<b>46,XY</b>
7. Olgu	<b>46,XY</b>
8. Olgu	<b>46,XY</b>
9. Olgu	<b>46, XY</b>
10. Olgu	<b>46, XX</b>
11. Olgu	<b>46, XY</b>
12. Olgu	<b>46, XX</b>
13. Olgu	<b>46,XY</b>
14. Olgu	<b>46, XX</b>
15. Olgu	<b>46,XX</b>
16. Olgu	<b>46, XY</b>
17. Olgu	<b>46, XX</b>
18. Olgu	<b>46, XX</b>
19. Olgu	<b>46, XX</b>
20. Olgu	<b>46, XY</b>
21. Olgu	<b>46, XX</b>
22. Olgu	<b>46, XY</b>

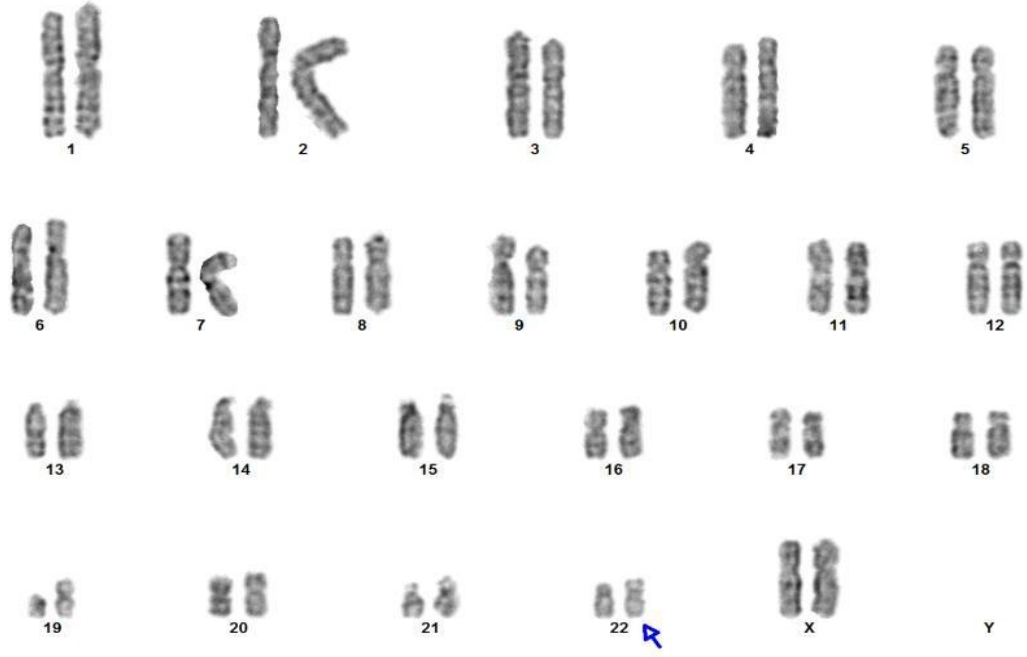
Sitogenetik analizleri değerlendirilen; İnfertilite, TGK ve kontrol grubu olgularının (33 kadın, 33 erkek toplam 66) 22 nolu kromozomlarına FISH analizi uygulanmıştır. Çalışma grubu hastalarının (TGK ve İnfertilite) 22 nolu kromozomlarında saptanan normal ve yapısal kromozom aberasyon çeşitleri için karyotip ve 22.kromozom FISH analizi görüntüleri Şekil 2-10'da, bu aberasyonların FISH sinyal yoğunluk ölçüm sonuçları Tablo 3' de yer almaktadır.



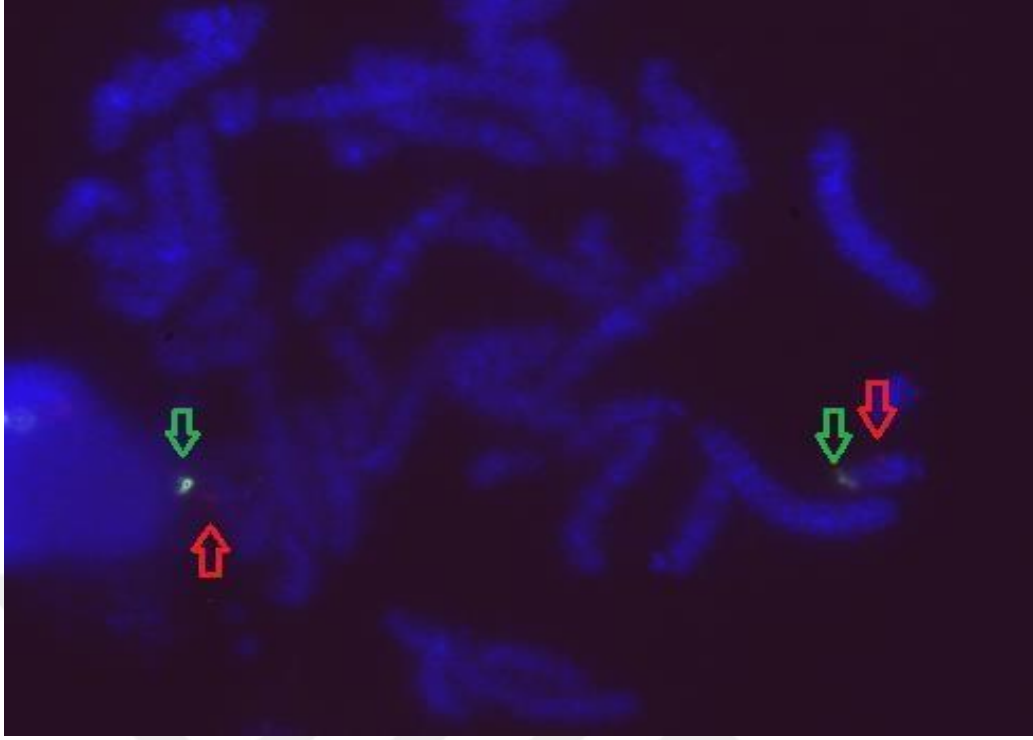
**Şekil 2.** 22. Kromozom FISH Sonucu Normal Saptanan Bir Kadın Olgunun Karyotip Görüntüsü. Hastaya ait metafaz görüntüsü incelenmiş ve karyotip analiz sonucu 46,XX normal olarak değerlendirilmiştir.



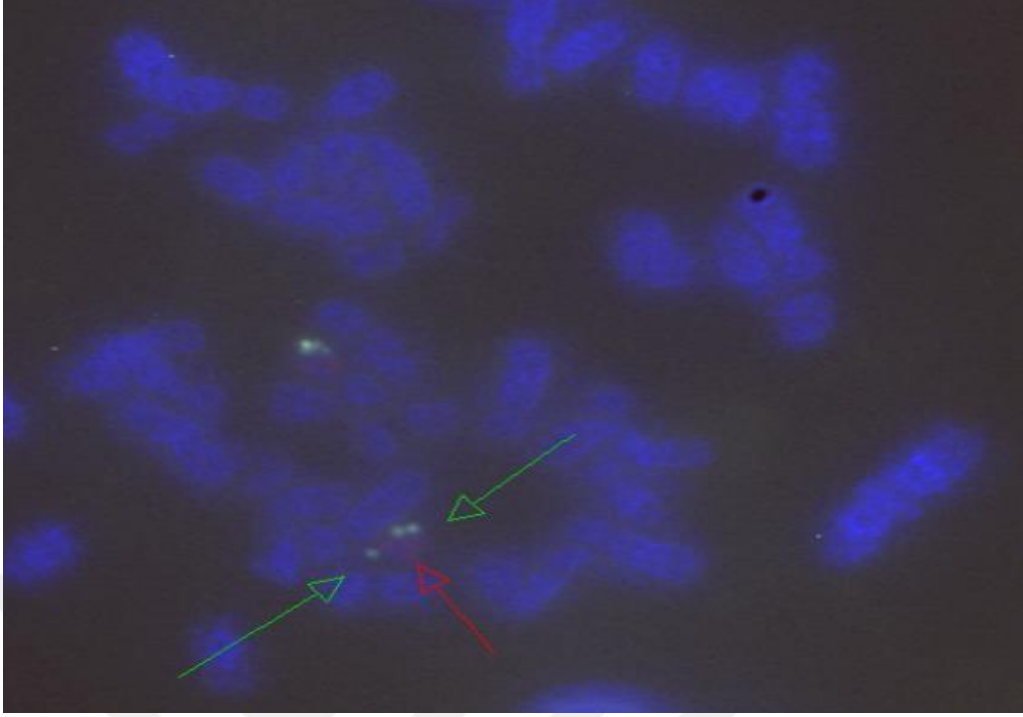
**Şekil 3. 22.** Kromozom FISH Sonucu  $inv(22)(q13.3)$  Saptanan Bir Erkek Olgunun Karyotip Görüntüsü. Hastanın 22 nolu kromozomun q kolunun 13.3 bölgesinde tespit edilen inversiyonun karyotip görüntüsü Şekil 3’de gösterilmiştir.



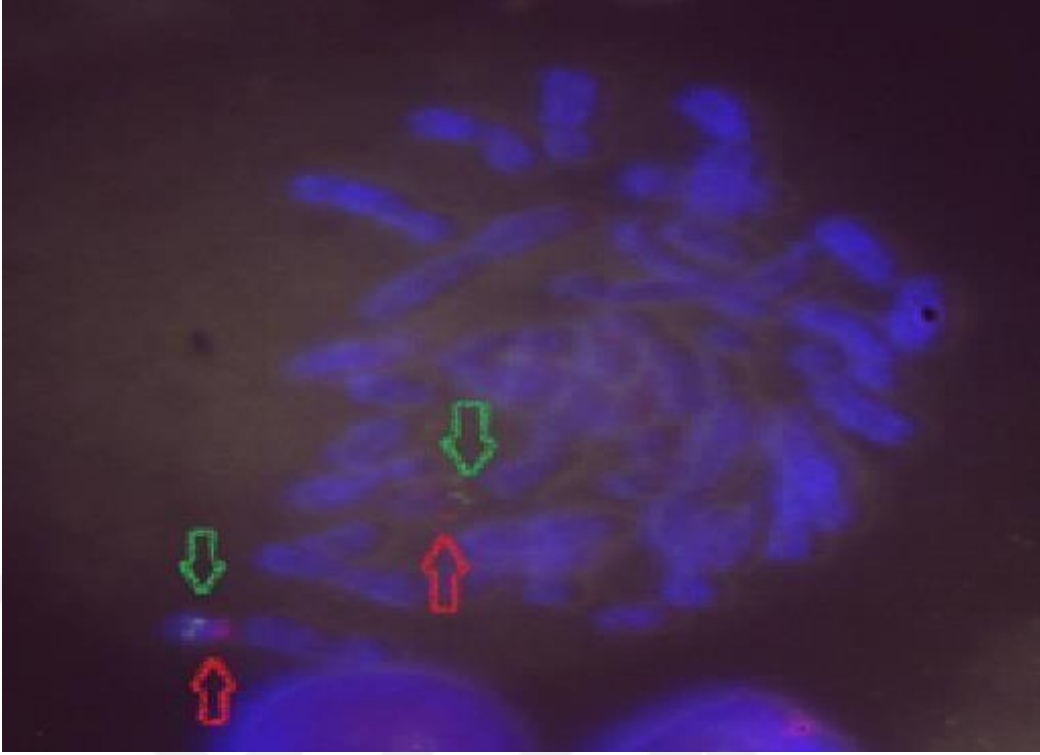
**Şekil 4. 22.** Kromozom FISH Sonucu dup22q11.2 Saptanan Bir Kadın Olgunun Karyotip Görüntüsü. Hastanın 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesinde tespit edilen duplikasyonun karyotip görüntüsü Şekil 4’de mavi ok ile gösterilmiştir.



**Şekil 5. 22. Kromozom FISH Sonucu Normal Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.** Hastaya yapılan FISH analizi 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine özgü prob kullanılarak yapılmıştır. Di George FISH analizi olarak adlandırılan bu yöntemde kırmızı oklar 22 nolu kromozomun q11.2 bölgesindeki kırmızı sinyali, yeşil oklar ise 22 nolu kromozomun q13.3 bölgesine özel yeşil sinyali göstermektedir. Uygulanan FISH analizi sonucunda saptanan yeşil ve kırmızı sinyaller sinyal yoğunluğu ölçüm sonucuna göre değerlendirildiğinde hastanın 22 nolu kromozomunun q11.2 ve q13.3 lokasyon bölgeleri açısından normal bir karyotipe sahip olduğu görülmüştür.

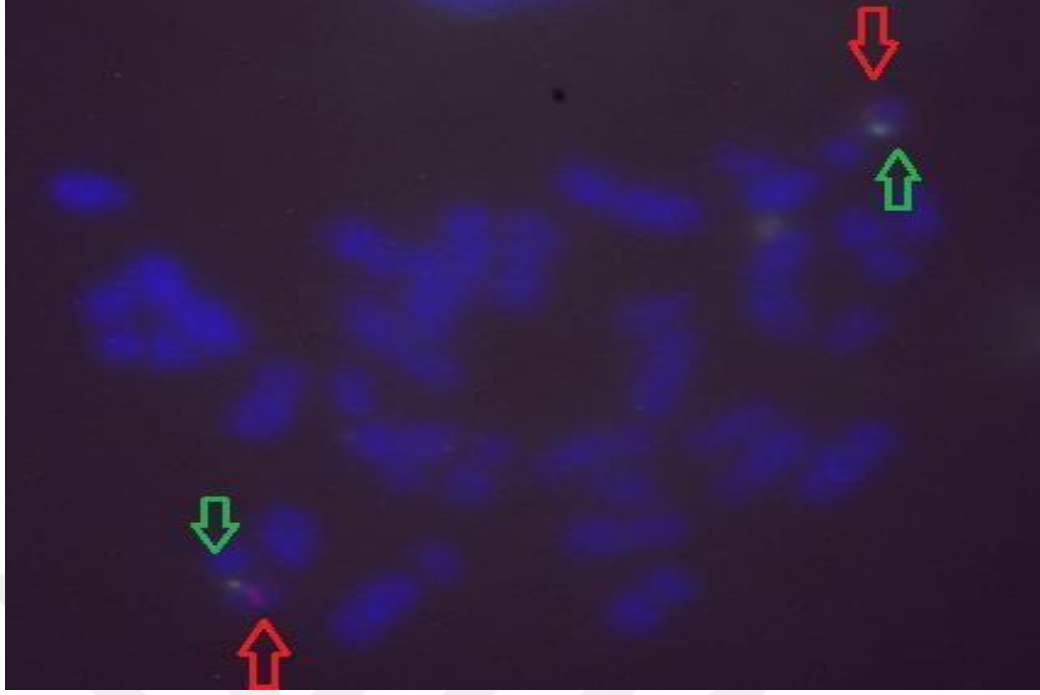


**Şekil 6.** 22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü. Hastaya uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 ve 11.2 numaralı bölgelerine özgü problar kullanılmıştır. Uygulanan analiz sonucunda 22 nolu kromozomun q kolunun 13.3 bölgesinde duplikasyon görülmüştür. Bu bölge yeşil renk veren sinyal ile kendini göstermektedir. Şekil 6’da bu bölgeye özgü yeşil sinyaller yeşil ok ile gösterilmiştir ve duplikasyon varlığı saptanmıştır. Kırmızı sinyal ise 22 nolu kromozomunun q kolunun 11.2 bölgesine özgüdür ve şekilde kırmızı ok ile gösterilmiştir.

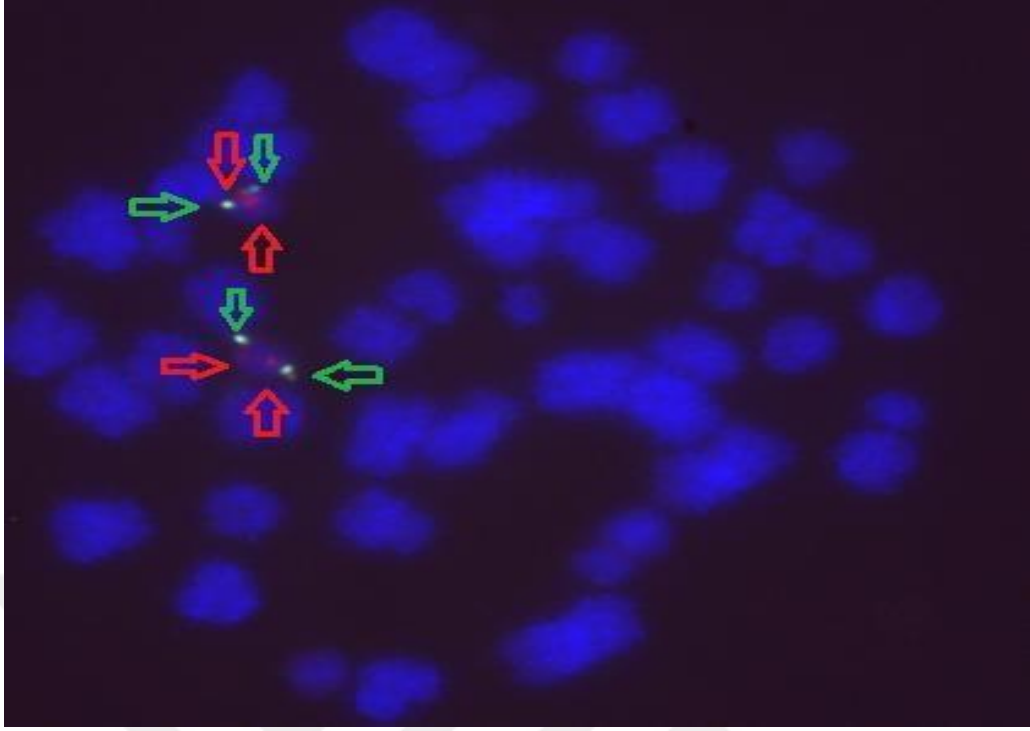


**Şekil 7. 22. Kromozom FISH Sonucu  $inv(22)(q13.3)$  Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.** Hastaya uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 ve 11.2 numaralı bölgelerine özgü proplar kullanılmıştır. Uygulanan FISH analizi sonucunda 22 nolu kromozomun q kolunun 13.3 bölgesinde inversiyon görülmüştür. Bu bölge yeşil renk veren sinyal ile kendini göstermektedir. Şekil 7’de bu bölgeye özgü yeşil sinyaller yeşil ok ile gösterilmiştir, sinyal ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde q kolunun 13.3 bölgesinde inversiyon varlığı saptanmıştır. Kırmızı sinyal ise 22 nolu kromozomunun q kolunun 11.2 bölgesine özgüdür ve şekilde kırmızı ok ile gösterilmiştir.

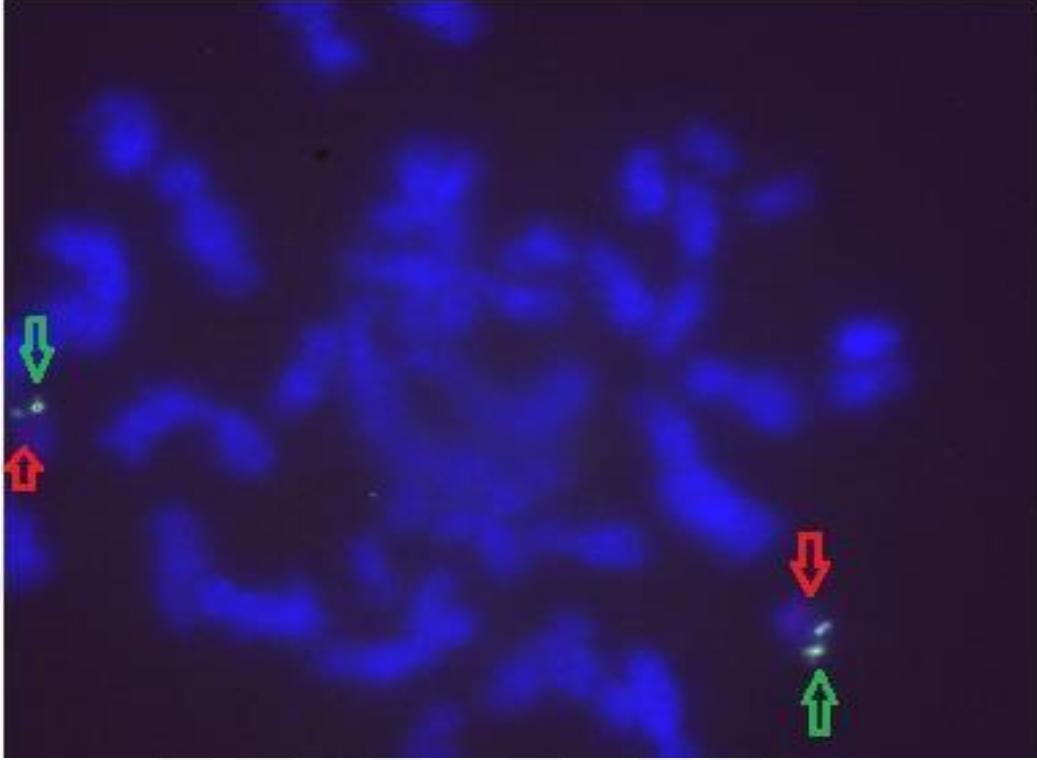




**Şekil 8. 22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q11.2) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.** Hastaya uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 ve 11.2 numaralı bölgelerine özgü probler kullanılmıştır. Uygulanan analiz sonucunda 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesinde duplikasyon görülmüştür. Bu bölge kırmızı renk veren sinyal ile kendini göstermektedir. Şekil 8’de bu bölgeye özgü kırmızı sinyaller kırmızı ok ile gösterilmiştir, sinyal ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde q kolunun 11.2 bölgesinde duplikasyon saptanmıştır. Yeşil sinyal ise 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 bölgesine özgüdür ve şekilde yeşil ok ile gösterilmiştir.



**Şekil 9. 22. Kromozom FISH Sonucu dup(22)(q11.2;q13.3) Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.** Hastaya uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 ve 11.2 numaralı bölgelerine özgü probler kullanılmıştır. Uygulanan analiz sonucu, 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesinde ve q kolunun 13.3 bölgesinde duplikasyon olduğunu göstermiştir. Şekil 9’da 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesine özgü kırmızı sinyaller kırmızı ok ile, q kolunun 13.3 bölgesine özgü yeşil sinyaller yeşil ok ile gösterilmiştir. Sinyal ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde 22 nolu kromozomunun hem q kolunun 13.3, hem de 11.2 bölgelerinde duplikasyon olduğu görülmüştür.



**Şekil 10. 22. Kromozom FISH Sonucu  $inv(22)(p11.2;q13.3)$  Saptanan Bir Olgunun 22.Kromozom FISH Görüntüsü.** Hastaya uygulanan FISH analizinde 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 ve 11.2 numaralı bölgelerine özgü probler kullanılmıştır. Uygulanan analiz sonucu, 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesi ve q kolunun 13.3 bölgesi arasında inversiyon olduğu görülmüştür. Şekil 10'da 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesine özgü kırmızı sinyaller kırmızı ok ile, q kolunun 13.3 bölgesine özgü yeşil sinyaller yeşil ok ile gösterilmiştir. Sinyal ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde 22 nolu kromozom çiftinden herbirinin kırmızı ve yeşil sinyaller arası mesafeler oranlanarak yapılan sinyal ölçüm sonucuna göre 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 bölgesi ve q kolunun 13.3 bölgesi arasında inversiyon olduğu saptanmıştır.

**Tablo 7.**TGK Grubu ve Kontrol Grubunun 22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı

Gruplar		22. Kromozomlarında Anomali Saptanmayan Birey Sayısı		22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı	
TGK Grubu (n=22)		11		11	
TGK Kadın (n=11)	TGK Erkek (n=11)	5	6	6	5
Kontrol Grubu (n=22)		21		1	
Kontrol Kadın (n=11)	Kontrol Erkek (n=11)	10	11	1	-

Tez çalışmasında; TGK olgularından 22 bireyin (11 kadın, 11 erkek) ve kontrol grubu olgularından 22 bireyin (11 kadın, 11 erkek) 22 nolu kromozomlarına uygulanan FISH analizi sonuçları Tablo 7’ de yer almaktadır. Tablo 7’deki verilere göre TGK grubu 22 olgunun, 22 nolu kromozomlarının q11.2 ve q13.3 bölgelerine uygulanan FISH analiz sonucuna göre, 11 olgunun 22. Kromozomlarında Anomali Saptanmazken, 11 olgunun (6 kadın, 5 erkek) 22 nolu kromozomlarında anomali saptanmıştır. Kontrol grubu olgularında ise 22 olgudan sadece 1’inin 22 nolu kromozomomda anomaliye sahip olduğu görülmüştür.

**Tablo 8.**TGK olan Kadın ve Erkek Olguların, Kontrol Gruplarındaki Kadın ve Erkek Olgularla Karşılaştırılması Sonucu ile Elde Edilen İstatistiksel Değerler

TGK Grubu Kadın Olgular		TGK Grubu Erkek Olgular	
<b>Odds ratio</b>	<b>12,00</b>	<b>Odds ratio</b>	<b>19,46</b>
<b>%95 CI</b>	<b>1,117- 128,84</b>	<b>%95 CI</b>	<b>0,92-11,22</b>
<b>P</b>	<b>0,0402</b>	<b>P</b>	<b>0,0565</b>

Tez çalışması kapsamında; TGK olan (kendisinde veya eşinde en az iki tekrarlayan düşük öyküsüne sahip) 22 kişi (11 kadın, 11 erkek) çalışma grubunu, herhangi bir düşük öyküsüne sahip olmadığı gibi, en az iki sağlıklı çocuğu olan 22 kişi (11 kadın, 11 erkek) ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. Toplamda 44 kişinin 22 nolu kromozomlarının q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine özel proplar kullanılarak FISH analizi gerçekleştirilmiş; q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine özel kırmızı ve yeşil sinyallerin ölçümleri yapılarak 22 nolu kromozomlarında sahip oldukları anomaliler saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; tekrarlayan gebelik kaybı olan kadın ve erkek olgular, kontrol grubunda bulunan kadın ve erkek olgular ile 22 nolu kromozomlarında sahip oldukları anomaliler açısından karşılaştırılmıştır.

Kadınlarda  $p=0,0402$  hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. 22. Kromozom anomalilerinin (sıklıkla duplikasyonların) kadınlarda abortus riskini 12 kat arttırdığı bulunmuştur.

Erkek olgularda ise  $p=0,0565$  olarak hesaplanmış ve sınırda bir anlamlılık söz konusudur. 22. Kromozom anomalilerinin abortus riskini erkeklerde 19,46 kat arttırdığı bulunmuştur.

**Tablo 9.**İnfertilite Çalışma Grubu ve Kontrol Grubunun 22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı

Gruplar		22. Kromozomlarında Anomali Saptanmayan Birey Sayısı		22. Kromozomlarında Anomali Saptanan Birey Sayısı	
İnfertilite Grubu (n=22)		12		10	
İnfertilite Kadın (n=11)	İnfertilite Erkek (n=11)	8	4	3	7
Kontrol Grubu (n=22)		21		1	
Kontrol Kadın (n=11)	Kontrol Erkek (n=11)	10	11	1	-

Tez çalışmasında; İnfertilite olgularından 22 bireyin (11 kadın, 11 erkek) ve kontrol grubu olgularından 22 bireyin (11 kadın, 11 erkek) 22 nolu kromozomlarına uygulanan FISH analizi sonuçları Tablo 9’ da yer almaktadır. Tablo 9’daki verilere göre infertilite grubu 22 olgunun 22 nolu kromozomlarının q11.2 ve q13.3 bölgelerine uygulanan FISH analiz sonucuna göre, 12 olgu normal karyotipe sahipken, 10 olguda (3 kadın, 7 erkek) anomali saptanmıştır. Kontrol grubu olgularında ise 22 olgudan sadece 1’inin 22 nolu kromozomunda anomaliye sahip olduğu görülmüştür.

**Tablo 10.**İnfertilite olan Kadın ve Erkek Olguların, Kontrol Gruplarındaki Kadın ve erkek Olgularla Karşılaştırılması Sonucu ile Elde Edilen İstatistiksel Değerler

İnfertilite Grubu Kadın Olgular		İnfertilite Grubu Erkek Olgular	
<b>Oddsratio</b>	<b>3,75</b>	<b>Oddsratio</b>	<b>38,33</b>
<b>%95 CI</b>	<b>0,32-43,31</b>	<b>%95 CI</b>	<b>1,79-820,17</b>
<b>P</b>	<b>0,2897</b>	<b>P</b>	<b>0,0196</b>

Tez çalışması kapsamında inferlitesini olan (en az bir yıl süreyle çiftlerin, gebelik anlamında herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamayan) 22 kişi (11 kadın, 11 erkek) çalışma grubunu, herhangi bir düşük öyküsüne sahip olmadığı gibi, en az iki sağlıklı çocuğu olan 22 kişi (11 kadın,11 erkek) ise kontrol grubunu oluşturmaktadır. Toplamda 44 kişinin 22 nolu kromozomlarının q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine özel FISH analizi uygulanmış, q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 bölgelerine özel kırmızı ve yeşil sinyallerin ölçümleri yapılarak 22 nolu kromozomlarında sahip oldukları anomaliler saptanmıştır. Bu sonuçlara göre; infertilitesi olan kadın ve erkek olgular, kontrol grubunda bulunan kadın ve erkek olgular ile 22 nolu kromozomlarında sahip oldukları anomaliler açısından karşılaştırılmıştır.

Kadınlarda  $p=0,2897$  hesaplanmış ve sınırda bir anlamlılık söz konusudur. 22. kromozom anomalilerinin kadınlarda infertilite riskini 3,75 kat arttırdığı bulunmuştur.

Erkek olgularda ise  $p=0,0196$  olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. 22. Kromozom anomalilerinin erkeklerde infertilite riskini 38,33 kat arttırdığı bulunmuştur.

**Tablo 11.**TGK ve İnfertilite Olgularının Kontrol Grupları ile Karşılaştırılması  
Sonucu Elde Edilen İstatistiksel Değerler

TGK Grup Olguları		İnfertilite Grup Olguları	
Oddsratio	21,00	Oddsratio	17,50
%95 CI	2,39-184,52	%95 CI	1,99-53,97
P	0,0060	P	0,0099

Tez çalışması kapsamında TGK ve infertilite olgularının kadın veya erkek olduğuna bakılmaksızın yapılan istatistiksel değerlendirme sonuçları karşımıza Tablo 11'i çıkarmaktadır. Elde edilen istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde; 22 nolu kromozomun q kolunun 11.2 ve q kolunun 13.3 kromozomal bölgelerinde meydana gelebilecek yapısal bir anomali için; TGK olgularında  $p=0,006$  hesaplanmış ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bir fark olduğu ve abortus riskini 21 kat arttırdığı görülmüştür. İnfertilite olgularında ise  $p=0,0099$  hesaplanmış ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bir fark olduğu ve infertilite riskini 17,5 kat arttırdığı görülmüştür.



## 5.TARTIŞMA

Tekrarlayan gebelik kayıpları, birbirini izleyen en az 2 ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanması olarak tanımlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kaybı her yıl 500.000'den fazla kadını etkileyen önemli bir sağlık problemidir (Eminov 2006). Otozomal veya cinsiyet kromozomları anomalilerine sahip fetüslerin ise yaklaşık %5'i doğmaktadır. Kromozom anomalilerinin canlı doğumlardaki sıklığı %0,6 iken, erken spontan abortuslarda %60, geç spontan abortuslarda %5'dir. Gebelik kayıplarının %1-3'ünde tekrarlayan gebelik kaybı görülmektedir. TGK'na neden olabilecek faktörler arasında genetik, anatomik, enfeksiyöz, çevresel, trombofilik, immünolojik ve endokrinolojik nedenler sayılabilir (Yılmaz 2010). Bu nedenler arasında, genetik faktörlerin temelini oluşturan kromozomal anomalileri önemli yer tutar. Kromozomal anomalileri sayısal veya yapısal olarak farklı şekillerde meydana gelmektedir. Geniş seri çalışmalarında TGK çiftlerinde kromozom anomali insidansının ortalama %3-6 arasında değiştiği bildirilmektedir (Tharapel ve ark. 1985, Braekeleer ve Dao 1990, Clifford ve Rai 1994, Franssen ve ark. 2005). Sitogenetik açıdan anomalisi olan embriyolar, genellikle mayotik eşleşme hatasına bağlı anöploid yada döllenme anomalisine bağlı poliploididir. Düşüklerde daha çok anöploidi tarzında sayısal kromozom anomalileri gözlenmektedir. Tek spontan düşüklerdeki fetal kromozomal anomaliler tekrarlayan düşüklerden farklıdır. Ayrılmama (non disjunction) veya translokasyona bağlı otozomal trizomi en sık rastlanan anomalidir (erken gebelik kayıplarının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır). İlk trimester düşüklerde en çok rastlanan kromozom bozukluğu trizomilerdir. En sık 13, 16, 18, 21 ve 22 nolu kromozomların trizomisi gözlenir. Bunu %20 olguda monozomi X, %15 olguda triploidi ve %5 olguda tetraploidi izlemektedir (Jones ve Jones, 1981). Yapısal değişimler sitogenetik anomalisi bulunan abortusların, yaklaşık %3'ünde görülür (De Braekeleer ve Dao, 1990). Dengeli translokasyonlar, TGK'ı olan çiftlerde en sık görülen yapısal kromozom anomalilerindendir (%3-8). Kadınların translokasyon taşıyıcılığı erkeklere göre daha sıktır. Ailesel translokasyonların ise yaklaşık 1/3'ü baba kökenliken, 2/3'ü anne kökenlidir. TGK'ı olan çiftlerin %2-3'ünde eşlerden birinde dengeli translokasyon saptanabilir (Simpson ve ark., 1989). Anne ya da babanın dengeli translokasyon taşıyıcılığı var ise oğul döllerde kısmi trizomi ve kısmi

delesyon görülebilir (Jones ve Jones, 1981). Bu oran kendiliğinden düşük, ek olarak ölü doğum ya da anomali bebek öyküsü olan çiftlerde %1,7-4,6 gibi yüksek oranlardadır. İnversiyonlar yada ring kromozomlar gibi diğer yapısal bozukluklar daha nadirdir (Byrne ve Ward, 1994).

İnfertilite ise, bir yıl süreyle çiftlerin, herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama durumudur. Ülkemizde 1–1,5 milyon çiftin infertil olduğu belirtilmektedir (Koç ve Özdemir, 2008). Yapılan araştırmalar, dünyada çiftlerin %9'unun infertil olduğu ve bunların da %56'sının medikal destek aldığını açıklamaktadır (Boivin ve ark. 2007).

Klinik olarak nedeni saptanamayan ve kromozomal temeli de olan bu hastalıkların tanısında kromozomların konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle incelenmesi önemlidir. Giemsa Bantlama Tekniği (GTG), rutin sitogenetik analizlerde sıklıkla kullanılır ve kromozom üzerinde 400-500 bant gözlemlenirken, kromozomal bölgeye bağlı olarak 5-10 megabazlık DNA içeren kromozomal anomalilerini tespit edebilmektedir. Konvensiyonel yöntemler bazen, marker kromozomların, derivatif kromozomların, kompleks karyotiplerin ve küçük de nova dengesiz yeni düzenlenmelerin belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Sitogenetik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda daha hassas yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Sitogenetik ve moleküler biyoloji arasında köprü olan FISH tekniği klasik sitogenetiğin önemli bir tamamlayıcısı olmuştur. FISH, rutin sitogenetik analizler ile saptanamayan 5 mb dan küçük kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, duplikasyonlar, ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan ileri bir tekniktir. Kromozomların uç kısımları GTG bantlamada boyanmadığı için telomerik bölgelerdeki küçük kromozomal değişiklikleri belirlemek güçtür. FISH ile bu sorunlar çözümlenebilir hale gelmiştir. Hatta kromozomların telomerik kısımlarına özgü çoklu prob seti kullanılarak yapılan FISH çalışmaları son yıllarda büyük önem kazanmıştır (Aytan 1997, Giorlandino 1998, Yakut 2000, Uysal 2014). FISH yönteminin, 24 saatlik bir süre sonunda sonuç vermesi (sonuç verme süresinin kısa olması), daha fazla hücre üzerinde analiz yapabilme olanağı sağlaması (metafaz

kromozomları dışında interfaz kromozomlarının da analizine olanak vermesi) ve kültür problemlerinin dışlanması da avantajları arasındadır (Sağ ve ark., 2009).

22 numaralı kromozomda, 22q11.2 delesyonu en sık görülen mikrodelesyon sendromudur. Zeka geriliği, dismorfik yüz görünümü, konoturunkal kalp anomalileri, timus ve paratiroid gelişim bozukluklarına bağlı klinik bulgular nedeniyle sıklıkla Tıbbi genetik laboratuvarlarına refere edilir ve canlı doğan bebeklerde 1:3000 sıklıkla saptanmaktadır. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle saptanamayacak kadar küçük olması nedeniyle abortus materyalinden yapılan kromozom analizlerinde saptanamaması nedeniyle bu mikrodelesyonun düşüklerdeki rolü ancak array CGH yöntemiyle aydınlatılabilmektedir. Maisenbacher ve arkadaşlarının (2017) çalışmasında 22q11.2 delesyonlarının düşük materyallerinde saptanma sıklığı 1:1497, konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle normal kromozomlu olarak bildirilen vakalarda ise 1:783 sıklıkta olarak bildirilmiştir. Bu da canlı doğanlardaki sıklıktan iki-beş kat kadar daha fazladır. Bu durum 22q11.2 delesyonu taşıyan embriyoların abortusla sonuçlanma olasılığının yüksek olduğunu göstermektedir.

Literatür çalışmalarında kromozom 22 ile ilgili tekrarlayan gebelik kayıpları olan vakalara bakıldığında; 1994’ de Albert ve ark. tarafından 6 ve 14 haftalık iki gebelik kaybı olan annenin t(22q;22q) robertsonian dengeli translokasyonu olduğu bildirilmiştir. 1980’de Kirkels ve ark. TGK olan bir annenin ve fenotipik olarak sağlıklı olan kızının her ikisinde de t(22;22)(p13;q11) robertsonian translokasyonu saptanmıştır. 1980’de Palmer ve ark. TGK olan annenin hücrelerinde dengeli t(22q;22q) ve t(22p;22p) Robertsonian translokasyonlarının her ikisini de taşıyan normal fenotipli ve TGK olan kızında t(22q;22q) Robertsonian translokasyonu geçirmiş olduğu bildirmişlerdir. 2005 de Lewis ve Ridler, TGK’ı olan bir kadında 45,XX,t(22;22)(p11;q11) ve 45,XX,i(22q) Robertsonian kromozomal yeniden düzenlemeleri olduğunu bulmuştur.

Literatür çalışmalarında kromozom 22 ile ilgili infertilite vakalarına bakıldığında; otozomal aberasyonlar ile testiküler disgenezi veya spermatogenezin ilişkili olduğu düşünülerek Çin’de yapılan bir çalışmada kromozom aberasyonlarının frekansları diğerlerine oranla 9p11 ve 22q kromozom bölgelerinde daha yüksek olarak bildirilmiştir (Guo ve ark.,2002). Azospermi görülen birkaç infertil erkekte, 22.

kromozomun başarısız eşleşmesi (crossing over) olduğu saptanmıştır (Daniela ve ark. 2010). Srebniak ve ark. 2005’de subfertil bir çiftin karyotipini değerlendirdiklerinde, kadında 46,XX,t(4;22)(q23;q11.2) bulunurken, erkeğin karyotipi normal bulunmuştur. Sha ve ark. 2012’de Azospermik 29 yaşında bir erkeğin karyotipini incelerken karyotipini; 46, XY, r (22) (p11, q25) olarak bulunmuştur.

Literatürdeki bu bulgular; TGK ve infertilite etiyolojisinde, hastaların 22. kromozomlarında meydana gelebilecek yapısal aberasyonların yer alabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan tez çalışmamızın amacı; klinik olarak TGK ve infertilite endikasyonunun hastaların 22. kromozomlarındaki yapısal aberasyonlar ile ilgisinin olup olmadığını araştırmak ve 22. kromozomlarında var olan yada şüphelenilen yapısal aberasyonların tespiti için, 22. Kromozomunun (22q11.2) ve (22q13.3) bölgelerine spesifik problemlerin kullanıldığı FISH yöntemi ile ileri analizler yapmaktır. Bu amaçla infertilite, tekrarlayan gebelik kaybı ve sağlıklı kontrol gurupları analiz edilmiştir.

TGK endikasyonu olan (en az iki tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan) 22 olgu, infertilite endikasyonu olan (en az bir yıl süreyle çiftlerin, herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına ve düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına rağmen çocuk sahibi olamama öyküsü olan) 22 olgu ve kontrol grubunu oluşturan (sağlıklı en az iki çocuk sahibi olan ve hiç düşük öyküsü bulunmayan) 22 olgu yani toplamda 66 olgu tez çalışmasına dahil edilmiştir. Tez çalışması sürecinde çalışma grubunu oluşturan TGK ve infertilite olgularına Giemsa Bantlama Tekniği (GTG) ile kromozom analizi yapılmış ve bir sayısal kromozom aberasyonu içermediği gözlenmiştir. Tez çalışması sonucunda, çalışma grubu hastalarının 22. Kromozomlarının 22q11.2-q13.3 bölgelerine özel 5 farklı tipte toplam 21 yapısal kromozom aberasyonu tespit edilmiş, sinyal yoğunluk ölçümleri hesaplanmış ve 22. kromozomun q11.2-q13.3 bölgelerine spesifik problemlerin kullanılarak yapıldığı FISH analizi ile elde edilen bulgular istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda delesyon ve duplikasyonlar hem sinyaller görülerek hem de sinyal yoğunlukları Cytovision bilgisayar program (software) kullanılarak analiz edilmiş ve doğrulanmıştır.

Abortus endikasyonu ile analiz edilen olgulardan 10 unda duplikasyon, birinde ise inversiyon; infertilite endikasyonu ile analiz edilen olgulardan üçünde 22q11,2

altısında 22q13,3 lokusunda olmak üzere dokuzunda duplikasyon saptanmıştır. Sağlıklı ve fertilité sorunu olmayan kontrol gurubunda ise sadece 1 olguda inversiyon saptanmıştır. Abortus ve infertilite guruplarındaki olguların hepsi tekrarlayan gebelik kayıpları dışında fenotipik olarak normal sağlıklı bireylerdir. Bu durum duplikasyonların fenotipi anlamlı olarak etkilemediği yaklaşımı ile uyumludur. 22q11.2 delesyonlarında Di George Sendromu, 22q13.3 delesyonunda ise Phelan Mc dermid Sendromları görölmektedir ki her ikisinde de bu bölgelerdeki genlerin "Loss of Function" tipi mutasyonları ve fonksiyon kaybına bağlı zeka geriliği ve morbidite ve mortaliteyi arttıran önemli fenotipler ortaya çıkmaktadır. Oysa duplikasyonlarda kırık bölgesi genin içine denk gelmediği, veya gen ile promoter bölgesinin, yada enhancer/silencer bölgelerinin birbirinden ayrı düşmesine sebep olmadığı sürece fenotip oluşmamaktadır. Bazı gen bölgelerinin duplikasyonları gen dozajından bağımsız olarak fenotipe yol açabilir ancak çalışma guruplarımızda yüksek oranda saptadığımız duplikasyonların fertilité sorunları dışında anlamlı bir fenotipe yol açmamaları kırık bölgelerinin gen dışı tekrarlayan dizilere denk geldiği görüsümüzü desteklemektedir.

TGK endikasyonu olan kadın ve erkek olgular, kontrol grubunda bulunan kadın ve erkek olgular ile karşılaştırıldığında; 22. Kromozom anomalilerinin (sıklıkla duplikasyonların) abortus riskini 12 kat arttırdığı ( $p=0,0402$ ) bulunmuştur. Analiz erkek olgularla sınırlandırıldığında 22. Kromozom anomalilerinin erkek olgularda abortus riskini 19,46 kat arttırdığı ( $p=0,0565$ ) saptanmıştır. P değerinin sınırda olması vaka sayımızın düşük olmasından kaynaklanmaktadır.

İnfertilite endikasyonu olan kadın ve erkek olgular, kontrol grubu kadın ve erkek olgular ile karşılaştırıldığında; kadınlarda infertilite riskini 3,75 kat ( $p=0,2897$ ); erkek olgularda ise infertilite riskini 38,33 kat arttırdığı ( $p=0,0196$ ) hesaplanmış ve fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Sonuç olarak; cinsiyet farkı gözetilmeden TGK ve infertilite endikasyonu olan olgular, kontrol grubu ile karşılaştırılarak yapılan istatistiksel analizlere bakıldığında; TGK olgularında  $p=0,006$  hesaplanmış ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bir fark olduğu ve abortus riskini 21 kat arttırdığı gözlenmiştir. İnfertilite olgularında  $p=0,0099$  hesaplanmış ve istatistiksel olarak yüksek düzeyde anlamlı bir fark olduğu ve infertilite riskini 17,5 kat arttırdığı görölmüştür.

İnversiyonlar dengeli kromozomal anomalileridir ve gametogenez sırasında inversiyon loop' u oluşarak crossing over sonucu inversiyon bölgesinin terminal uçlarının delesyon ve duplikasyonlarına sebep olur. Bu durum dengesiz kromozom anomalili embriyo oluşumuna, bu embriyoların hayatla bağdaşmaması nedeniyle de abortus ve infertilite olasılığının artmasına sebep olacaktır.

Abortus ve infertilite gruplarımızda çok sık görülen duplikasyonlar ise mayoz bölünme sırasında sinaps ve crossing over oluşumunu bozacak, eşit olmayan crossing over nedeniyle ilgili lokusun delesyon veya triplikasyonuna sebep olacaktır ki delesyonların morbidite ve mortalitesi yüksek olduğundan bu gebeliklerin erken dönemde sonlanması tekrarlayan düşüklere sebep olabilir. Ayrıca, homolog kromozomlardan birinin normalden daha uzun olması yine sinaps ve crossing over mekanizmalarını bozacak, mayoz bölünme dinamiklerinin bozulması inter kromozomal effect üzerinden diğer kromozomların anöploidileri için de riski arttıracaktır ki bu durum da infertilite ve abortuslarda önemli bir etiyolojik faktördür. 22. kromozomda yapısal anomali saptanan abortus-infertilite hastalarından yapılacak ileri analizler bu mekanizmaları aydınlatmada faydalı olacaktır. Duplikasyon ve/veya inversiyon taşıyan erkeklerde spermlerin Fluoresan in situ hibridizasyon yöntemiyle incelenmesi gerek bu lokusların delesif veya triplike olup olmadığını, ayrıca diğer kromozomlar için anöploidilerin artıp artmadığını gösterecektir. Ayrıca duplikasyon ve/veya inversiyon saptanan kişilerin in vitro fertilizasyon amacıyla elde edilen embriyolarından yapılacak Preimplantasyon genetik tanı analizleri ilgili lokusun delesyon ve triplikasyonlarını; preimplantasyon genetik tarama analizleri de diğer kromozomların öploid veya anöploid sayısal anomalilerini gösterecektir. Bu kişilerin spontan gebeliklerinde fetal materyalin FISH ve/veya array CGH yöntemleri ile analizi de ebeveyndeki duplikasyon ve inversiyonların gametogenezi ne şekilde bozduğuna ve ne tip dengesiz kromozom anomalilerine neden olduğuna ışık tutacaktır.

Literatürde abortus-infertilite çiftlerinde 22. Kromozomun özellikle dengeli translokasyonlarına dair genellikle olgu sunumu şeklinde yayınlar olmakla birlikte çalışmamız duplikasyon ve inversiyon tipi kromozom anomalilerin vaka-kontrol serileri şeklinde araştırıldığı ve sonuçların istatistiksel olarak analiz edildiği ilk

çalışmadır. Elde edilen istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunması, 22q11.2 ve 22q13.3 kromozomal bölgelerinde meydana gelen yapısal kromozom aberasyonlarının hem tekrarlayan düşük hem de infertilitede önemli bir etiyolojik faktör olabileceğini aynı zamanda bunun teşhisinde FISH'in pratik, hızlı bir analiz yöntemi olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda hasta gruplarında 19 olguda duplikasyon, kontrol grubunda ise 1 olguda inverted duplikasyon saptanmıştır. Bu olguların hiçbirinde major konjenital anomali ve zeka geriliği saptanmamış olması da literatüre önemli bir katkıda bulunmakta ve özellikle prenatal dönemde saptanabilecek 22q11.2 ve 22q13.3 duplikasyonlarında doğru genetik danışma verilebilmesi için değerli bir bilgi sağlamaktadır. Major konjenital anomalilere ve zeka geriliğine sebep olmadığı için bu duplikasyon ve inversiyonlar tıpkı dengeli translokasyonlar gibi kuşaklar boyunca aktarılabirler, ayrıca 22q11.2 ve 22q13.3 lokuslarının hemen distal ve proksimalinde yer alan tekrarlayan diziler nedeniyle eşit olmayan crossing over bu kromozomda daha sık görülebilir ve de novo kromozom anomalileri de sıklıkla oluşabilir, kalıtılmış ya da de novo ayrımının yapılabilmesi ancak duplikasyon ve/veya inversiyon taşıyıcısı bireylerin ebeveynlerinin analizi ile mümkün olacaktır. Bu çalışmaya dahil olmayan prematür menapoza bağlı sekonder infertilite tanılı bir olgumuzda saptadığımız duplikasyonun, ebeveyninde ve sağlıklı çocuğunda da saptanmış olması duplikasyonların benign olarak kuşaklar boyunca aktarılabileceği görüşünü desteklemektedir ancak ne kadarının kalıtılmış ne kadarının de novo olduğunun belirlenebilmesi ancak aile çalışmaları ile mümkün olacaktır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Abortus endikasyonu ile analiz edilen olgulardan 10 unda duplikasyon, birinde ise inversiyon; infertilite endikasyonu ile analiz edilen olgulardan üçünde 22q11, altısında 22q13,3 lokusunda olmak üzere dokuzunda duplikasyon saptanmıştır. Sağlıklı ve fertilitate sorunu olmayan kontrol grubunda ise sadece 1 olguda inversiyon saptanmıştır. Abortus ve infertilite gruplarındaki olguların hepsi tekrarlayan gebelik kayıpları dışında fenotipik olarak normal sağlıklı bireylerdir. Bu durum duplikasyonların fenotipi anlamlı olarak etkilemediği yaklaşımı ile uyumludur. Bazı gen bölgelerinin duplikasyonları gen dozajından bağımsız olarak fenotipe yol açabilir ancak çalışma gruplarımızda yüksek oranda saptadığımız duplikasyonların fertilitate sorunları dışında anlamlı bir fenotipe yol açmaması kırık bölgelerinin gen dışı tekrarlayan dizilere denk geldiği görüşümüzü desteklemektedir.

İnversiyonlar dengeli kromozomal anomalileridir ve gametogenez sırasında inversiyon loop' u oluşarak crossing over sonucu inversiyon bölgesinin terminal uçlarının delesyon ve duplikasyonlarına sebep olur. Bu durum dengesiz kromozom anomalili embriyo oluşumuna, bu embriyoların hayatla bağdaşmaması nedeniyle de abortus ve infertilite olasılığının artmasına sebep olacaktır. Bu olguların hiçbirinde major konjenital anomali ve zeka geriliği saptanmamış olması da literatüre önemli bir katkıda bulunmakta ve özellikle prenatal dönemde saptanabilecek 22q11.2 ve 22q13.3 duplikasyonlarında doğru genetik danışma verilebilmesi için değerli bir bilgi sağlamaktadır. Ayrıca major konjenital anomalilere ve zeka geriliğine sebep olmadığı için bu duplikasyon ve inversiyonlar tıpkı dengeli translokasyonlar gibi kuşaklar boyunca aktarılabilirler, ayrıca 22q11.2 ve 22q13.3 lokuslarının hemen distal ve proksimalinde yer alan tekrarlayan diziler nedeniyle eşit olmayan crossing over bu kromozomda daha sık görülebilir ve de novo kromozom anomalileri de sıklıkla oluşabilir, kalıtılmış ya da de novo ayrımının yapılabilmesi ancak duplikasyon ve/veya inversiyon taşıyıcısı bireylerin ebeveynlerinin analizi ile mümkün olacaktır.

Duplikasyon ve/veya inversiyon taşıyan erkeklerde spermlerin Floresan in situ hibridizasyon yöntemiyle incelenmesi gerek bu lokusların delesif veya triplike olup olmadığını, ayrıca diğer kromozomlar için anöploidilerin artıp artmadığını



gösterecektir. Ayrıca duplikasyon ve/veya inversiyon saptanan kişilerin in vitro fertilizasyon amacıyla elde edilen embriyolarından yapılacak Preimplantasyon genetik tanı analizleri ilgili lokusun delesyon ve triplikasyonlarını; preimplantasyon genetik tarama analizleri de diğer kromozomların öploid veya anöploid sayısal anomalilerini gösterecektir. Bu kişilerin spontan gebeliklerinde fetal materyalin FISH ve/veya array CGH yöntemleri ile analizi de ebeveyndeki duplikasyon ve inversiyonların gametogenezi ne şekilde bozduğuna ve ne tip dengesiz kromozom anomalilerine neden olduğuna ışık tutacaktır.

Literatürde abortus-infertilite çiftlerinde 22. Kromozomun özellikle dengeli translokasyonlarına dair genellikle olgu sunumu şeklinde yayınlar olmakla birlikte çalışmamız duplikasyon ve inversiyon tipi kromozom anomalilerin vaka-kontrol serileri şeklinde araştırıldığı ve sonuçların istatistiksel olarak analiz edildiği ilk çalışmadır. Elde edilen istatistiksel sonuçlar değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunması, 22q11.2 ve 22q13.3 kromozomal bölgelerinde meydana gelen yapısal kromozom aberasyonlarının hem tekrarlayan düşük hem de infertilitede önemli bir etiyolojik faktör olabileceğini aynı zamanda bunun teşhisinde FISH'in pratik, hızlı bir analiz yöntemi olduğunu göstermektedir.

## 7.KAYNAKLAR

- Abel EL. Maternal alcohol consumption and spontaneous abortion. *Alcohol*. 1997; 32:211-219.
- Acien P, Acien M, Sanchez-Ferrer M. Complex malformations of the female genital tract. New types and revision of classification. *Hum Reprod*. 2004; 19:2377-84.
- Albert A. Schinzel, Seher Basarant, Fabiana Bernasconi, Birsen Karamant Albert A. Schinzel Seher Basarant Fabiana Bernasconi. Maternal Uniparental Disomy 22 Has No Impact on the Phenotype. *Am. J. Hum. Genet*. 1994; 54:21-24.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practicebulletin. Management of recurrent pregnancy loss. Number 24, February 2001. (Replaces technical bulle tinnumber 212, September 1995). *Int J Gynaecol Obstet*. 2002; 78:179-90.
- Anderlid BM, Sahlen S, Schoumans J, Holmberg E, Ahsgren I, Mortier G. Detailed Characterization of 12 super numerary ring chromosomes using micro-FISH and search for uniparental disomy. *Am J MedGenet*. 2001; 99(3):223-233.
- Angell RR, Xian J, Keith J, Ledger W, Baird DT. First meiotic division abnormalities in humanocytes: mechanism of trisomy formation. *Cytogenet Cell Genet*. 1994; 65(3):194-202.
- Antonelli A, Gandini L, Petrinelli P. Chromosomal alterations and male infertility. *J Endocrinol Invest* 2000; 23:677-83.
- Arredondo F, Noble LS. Endocrinology of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. 2006; 1:33-200.
- Attanasio A, Blank B, Rager K, Gubta D. Effect of human chorionic gonado tropin on the plasma levels of testesterone, estradiol sex hormon binding globuline and free testesterone in klinefelter syndrome. *Endokrinologie*. 1982; 80:129-134.
- Aytan M. Digeorge Sendromu ve Konotrunkal Kalp Anomalili Olgularda 22q11.2 Bandındaki Mikrodelesyonların Fluoresan In Situ Hibridizasyon Tekniği İle Araştırılması. 1997, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 97 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Seher Başaran).
- Bajekal N, Li TC. Fibroids, infertility and pregnancy wast age. *Hum Reprod Update*. 2000; 6:614-620.
- Baldwin EL, May LF, Justice AN, Martin CL, Ledbetter D.H. Mechanisms and consequences of small super numerary marker chromosomes: from Barbara Mc Clintockto modern genetic-counseling issues. *Am J Hum Genet*. 2008; 82(2):398-410.
- Barbieri RL. Female infertility. In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive endocrinology*. Pennsylvania: ElsevierInc. 2004; 5:633-668.
- Barlow SM, Sullivan FM. *Reproductive Hazards of Industrial Chemicals; An evaluation of animal and human data*. Academic Press, Newyork. DOI: 10.1002/food.19840280615, 1982.
- Başaran N. *Tıbbi Genetik Ders Kitabı*. 1. baskı, Bilim Teknik Yayınevi, 1996.

- Bellver J, Rossal LP, Bosch E, Zuniga A, Corona JT, Melendez F, Gomez E, Simon C, Remohi J, Pellicer A. Obesity and risk of spontaneous abortion after oocyte donation. *Fertil Steril*. 2003; 79(5):1136-1140.
- Berek SJ, Novak B. *Novak Jinekoloji*. Nobel Tıp Kitap evi, İstanbul, 2004; 13:1067-1094/ 507-509.
- Biswas A, Choudhry P, Mittal A, Meena A, Ranjan R, Choudhry VP, Saxena R. Recurrent abortions in Asian Indians: no role of factor V Leiden Hong Kong/Cambridge mutation and MTHFR polymorphism. *Clin Appl Thromb Hemost Off J Int A cad* 2008; 14(1):102-104.
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence treatment-seeking: potential need and demand infertility medical care. *Hum Reprod*. 2007; 2: 1-7.
- Boivin JF. Risk of spontaneous abortion in women occupationally exposed to anaesthetic gases: a meta-analysis. *Occup Environ Med*. 1997; 54:541.
- Boue J, Boue A, Lazar P. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions. *Teratology*, 1995; 12:11-16.
- Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couple sex experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod*. 1990; 5:518-28.
- Brandt LP, Nielsen CV. Job Stress and Adverse Outcome of Pregnancy: A Causal Link or Recall Bias. *Am J Epidemiol*. 1992; 135:302-311.
- Bruno DL, Burgess T, Ren H, Nouri S, Pertile MD, Francis DI, Norris F, Kenney BK, Schouten J, Choo KHA and Slater HR. High-throughput analysis of chromosome abnormality in spontaneous miscarriage using an MLPA subtelomere assay with an ancillary FISH test for polyploidy. *The American Journal of Medical Genetics*. 2006; 140:2786-2793
- Bryne JLB and Ward K. Genetic factors in recurrent abortion. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1994; 37:693-704.
- Catov JM, Nohr EA, Olsen J, Ness RB. Chronic hypertension related to risk for preterm and term small for gestational age births. *Obstet Gynecol*. 2008; 112:290-6.
- Clifford K, Rai R, Regan L. An informative protocol for the investigation of recurrent miscarriage: preliminary experience of 500 consecutive cases. *Hum Reprod*. 1994; 9:1328-32.
- Cohen MM, Rosenblum-Vos LS, Prabhakar G. Human cytogenetics. A current overview. *Am J Dis Child*. 1993 Nov; 147(11):1159-66.
- 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.
- Craig JM, Earnshaw WC, Vagnarelli P. Mammalian Centromeres: DNA Sequence, Protein Composition and Role in Cell Cycle Progression. *Experimental Cell Research*. 1999; 246:249-262.
- Cunningham F, Norman FG, Kenneth JL, Larry CG, John CH, Katharine DW. *Williams Doğum Bilgisi*. 2005; 21:855-877.

- Çetin İ. Parkinson hastalığı ve insan periferik kan lenfositlerindeki kromozom hasarları arasındaki ilişkinin araştırılması. 2013, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans tezi, 42 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Tuncay Orta).
- Çiçek M, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2006; 2:1593-1610.
- Daniela Zuccarello A, Bruno Dallapiccola B, Antonio Novelli C, Carlo Foresta. Azospermia in a man with a constitutional ring 22 chromosome. *European Journal of Medical Genetics*. 2010; 389-391.
- De Braekeleer M, and Dao TN. Cytogenetic studies in couple sex perienicing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod*. 1990; 5(5):519-528.
- Devine KS. CaringforİnfertileWomen. *MCN*. 2003; 28(2):100–105.
- Drugan A, Greb A, Johnson MP. Determinants of parental decisions to abort for chromosome abnormalites. *Prenat Diagn*. 1990; 10(8):483-90.
- Düzcan F, Atmaca M, Ozan Çetin G, Bağcı H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Act a Obstet Gynecol Scand*. 2003; 82:53- 56.
- Eminov E. Habituel abortuslu hastalarda trombofilinin araştırılması. 2006, Çukurova Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, 64 sayfa, Adana, (Prof. Dr. İsmail Cüneyt Evrûke).
- Engel E. Uniparental disomies in unselected populations. *Am J Hum Genet*. 1998 Oct; 63(4):962-6.
- Erkan D, Kozora E, Lockshin MD. Cognitived function and white matter abnormalities in antiphospholipid syndrome. *Pathophysiology*. 2011; 18(1):93.
- Eskenazi B, Chevrier J, Rosas LG, Anderson HA. The Pine River statement: human health consequences of DDT use. *Environ Health Perspect*. 2009; 117(9):1359.
- Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, Karas GB, Karavida A, Agorastos T, Zournatzi V, Makris PE, Bontis J, Kotsis A. Factor V leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylene tetra hydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Human Reprod (Oxford, England)*. 2000; 15(2):458–462.
- Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Obstet gynecol*. 2009; 2:839–76.
- Franssen MT, Korevaar JC, Leschot NJ, Bossuyt PM, Knegt AC, Gerssen-Schoorl KB. Selective chromosome analysis in couples with two or more miscarriages. *BMJ* 2005; 331:137–41.
- Friedline JA, Ahmad E, Garcia D, Blue D, Ceniza N, Mattson JC, Crisan D. Combinedfactor V Leiden and prothrombin genotyping in patients presenting with thromboembolic episodes. *Arch Pat hol LabMed*. 2001; 125(1):105-11.
- Gardner RJM, Sutherland GR. Chorosome Abnormalities and Genetic Cunseling. Oxford University Press, 1996.
- Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling, Oxford University Press, New York, 4. Baskı, 2012.
- Gardner RJM, Sutherland GR. Reproductive failure. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling*. 3 ed. New York: Oxford University Press. 2004; 339-349.

- Gardner RJM, Sutherland GR, Shaffer LG. Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. Oxford University Press. UK.2011; 4:648.
- Gaulden ME. Maternal age effect: the enigma of Down syndrome and other trisomic conditions. *Mutat Res.* 1992 Dec; 296(1-2):69-88.
- Gelehrter DT, Collins SF, Ginsburg D. *Medical Genetics*. Williams and Wilkins, 1998.
- Genetics Home Reference, chromosome 22: <https://ghr.nlm.nih.gov/chromosome/22.pdf> Reviewed: September 2016 Published.
- Gerçel G, İmir G, Ünal O, Ceyhan N, Pekin S. Tekrarlayıcı gebelik kayıplarında immünolojik faktörlerin önemi. *T Klin J GynecolObstet.* 1999; 9:75-77.
- Gersen SL, Keagle MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics*. Totowa, NJ. 2, New Jersey. Human a Press, Inc. 2005; 2:82-84.
- 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.
- Gottfredson LS. The general intelligence factor. In: *The Brain*. The Scientific American Book, The Lyons Press. 1999; 145.
- Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(2):161-74.
- Guo JH1, Zhu PY, Huang YF, Yu L. Autosomal aberrations associated with testicular dysgenesis or spermatogenic arrest in Chinese patients. *Asian J Androl.* 2002; 4(1):3-7.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres short enduring ageing of human fibroblasts. *Nature.* 1990; 345(6274):458-60.
- Hay PE, Lamont RF, Taylor-Robinson D, Morgan DJ, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ.* 1994; 308:295-298.
- Heit JA, Kobbervig CE, James AH, Petterson TM, Bailey KR, Melton LJ. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or post partum: a 30-year population-based study. *Ann Intern Med.* 2005; 143(10):697-706.
- Hill JA. Sporadic and recurrent spontaneous abortion. *Curr Probl. Obstet Gynecol Fertil.* 1994; 17:114-162.
- Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril.* 1998; 70:246-52.
- 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)(q25;q32), by triplecolor fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet.* 1999; 105(5):428-36.
- Hooser A, Mancini MA, Allis DC, Sullivan KF, Brinkley BR. The mammalian centromere: structural domains and the attenuation of chromatin modeling. *FASEB J. Suppl.* 1999; 13:S216-S220.
- Hornykiewicz O, And kish SJ. Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. In Yahr M, Bergmann KJ (editors). 1987; 45:19-34.

- Hotoleanu C, Chouky E. Hyperhomocysteinemia and methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism in a patient with coronary artery disease and repetitive miscarriages. *Roman J Intern Med Revue Roumaine de medecine interne*. 2012; 50(4):313–316
- Ing PS, Lubinsky MS, Smith SD, Golden E, Sanger WG, Duncan AM. Cat-eye syndrome with different marker chromosomes in a mother and daughter. *Am J Med Genet*. 1987; 26(3): 621-628.
- James AH, Jamison MG, Brancazio LR, Myers ER. Venous thromboembolism during pregnancy and the postpartum period: incidence, risk factors, and mortality. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2006; 194(5):1311–1315.
- James DK, Steer PJ, Weiner CP, Gonik B. *High Risk Pregnancy*. Harcourt Brace and Company. 2nd Edition, Bailliere Tindall, 1999, 1133-1134.
- Johnson MD. Genetic risks of intra cytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: Recommendations for genetic counseling and screening. *Fertil Steril*. 1998; 70: 397-411.
- Jones JH, Jones SG, Novak kadın hastalıkları, Göksu M, Üstün M (Çeviri), 10. Baskı, Menteş Kitapevi, 1981, p. 881-897.
- Kadioğlu A, Aydos K, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman MÖ, Usta MF, Kendirci M (edt). İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul: Subfertil erkeğin değerlendirilmesi, İn: Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi. 2004; 161-174.
- Kim NK, Choi YK, Kang MS, Choi DH, Cha SH, An MO, Lee S, Jeung M, Ko JJ, Oh D. Influence of combined methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) and thymidylate synthase enhancer region (TSER) polymorphism on plasma homocysteine levels in Korean patients with recurrent spontaneous abortion. *Thromb Res*. 2006; 117(6):653–658.
- Kirkels VG, Hustinx TW, Scheres JM. Habitual abortion and translocation (22q;22q): unexpected transmission from a mother to her phenotypically normal daughter. *Clin Genet*. 1980; 18(6):456-61.
- Kişinçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Önderoğlu LS (Editörler). *Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. Güneş Tıp Kitapevi, 2014.
- Kline J, Levin B, Kinney A, Warburton D. Cigarette smoking and spontaneous abortion of known karyotype: precise data but uncertain inferences. *Am J Epidemiol*. 1995; 141:417-427.
- 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; 5(1):1-8.
- Koç İ, Özdemir E. Doğurganlık. *TNSA* 2003: 54. Erişim tarihi: 10.12.2008, <http://www.hips.hacettepe.edu.tr/tnsa2003/data/turkce/bolum4.pdf>.
- Koşar P. Isparta ve yöresindeki infertil erkek vakalarda kromozom anomalilerinin sitogenetik yöntemlerle belirlenmesi ve bulguların FISH tekniği ile doğrulanması. 2008, Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 82 sayfa, Isparta, (Prof. Dr. Nurten Özçelik).

- Kovalevsky G, Gracia CR, Berlin JA, Sammel MD, Barnhart KT. Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2004; 164:558–63.
- Laird SM, Tükerman EM, Cork BA, Linjawi S and Blakemore AL. Immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Human Reproductive Update.* 2003; 9:163-174.
- Lanasa MC, Hogge WA. X chromosome defect as an etiology of recurrent spontaneous abortion. *Semin Reprod Med.* 2000; 18:97-103.
- Leible S, Munoz H, Walton R, Sabaj V, Cumsille F and Sepulveda W. Uterine arterial blood flow velocity wave forms in pregnant women with müllerian duct anomaly. A biologic model for uteroplacental insufficiency. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 1998; 1048-1053.
- Lewis BV, Ridler CL. 2005 Aug; 68(2):146-51. Recurrent abortion associated with a balanced 22;22 translocation, or chromosome 22q in a monozygous twin. *Eur J Med Genet.* 2010; 53(6):389-91.
- Li DK, Liu L, Odouli R. Exposure to non-steroid anti-inflammatory drugs during pregnancy and risk of miscarriage: population based cohort study. *BMJ.* 2003; 327:368.
- Lichter P. Multicolour FISH: what's the catch? *Trends Genet.* 1997 Dec; 13(12):475-9.
- Liehr T. Small Supernumerary Marker Chromosomes (sSMC). A Guide for Human Geneticists and Clinicians. <http://ssmc-tl.com/sSMC.html>, 2012.
- Liehr T, Weise A. Frequency of small supernumerary marker chromosomes in prenatal, newborn, developmentally retarded and infertility diagnostics. *Int J Mol Med.* 2007; 19(5): 719-731.
- Lissalde-Lavigne G, Fabbro-Peray P, Cochery-Nouvellon E, Mercier E, Ripart-Neveu S, Balducchi JP, Daures JP, Perneger T, Quere I, Dauzat M, Mares P, Gris JC. Factor V Leiden and prothrombin G20210A polymorphisms as risk factors for miscarriage during a first intended pregnancy: the matched case-control 'NOHA first' study. *J Thromb Haemost.* 2005; 3:2178–84.
- Lockwood CJ, Romero R, Feinberg RF, Clyne LP, Coster B, Hobbins JC. The prevalence and biologic significance of lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in a general obstetric population. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161:369–73.
- Maisenbacher MK, Merrion K, Pettersen B, Young M, Paik K, Lyengar S, Kareht S, Sigurjonsson S, Demko ZP, Martin KA. Incidence of the 22q11.2 deletion in a large cohort of miscarriage samples. *Mol Cytogenet.* 2017. DOI 10.1186/s13039-017-0308-6.
- Makino T, Hara T, Oka C, Toyoshima K, Sugi T, Iwasaki K, Umeuchi M, Lizuka R. Survey of 1120 Japanese women with a history of recurrent spontaneous abortions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1992; 44(2):123-30.
- Mears AJ, el-Shanti H, Murray JC, McDermid HE, Patil SR. Minute supernumerary ring chromosome 22 associated with cat eyes syndrome: further delineation of the critical region. *Am J Hum Genet.* 1995; 57(3):667-673.

- Mills J, Simpson JL, Driscoll SG, Jovanovic-Peterson L, Van Allen M, Aarons JH, Metzger B, Bieber FR, Knopp RH, Holmes LB. Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women who pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med.* 1988; 319:1617–23.
- Miller J, Williamson E, Glue J, Gordon YB, Grudzinskas JG, Sykes A. Fetal loss after implantation: A prospective study. *Lancet.* 1980;2:554–559.
- Mittal RD, Singh G, Srivastava A, Pradhan M, Kesari A, Makker A, Mittal B. Y chromosome micro-deletions in idiopathic infertility from Northern India. *Ann Genet.* 2004; 47:331-7.
- Monfort S, Martinez F, Rosello M, Badia L, Prieto F and Orellana C. A subtelomeric translocation apparently implied in multiple abortions. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2006; 23: 97-101.
- Mouradian MM. Recent advances in the genetics and pathogenesis of Parkinson's disease, *Neurology.* 2002; 58:179-185.
- Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics. Churchill Livingstone. 1995; 8-14.
- Nadir Y, Hoffman R, Brenner B. Association of homocysteine, vitamin B12, folic acid, and MTHFR C677T in patients with a thrombotic event or recurrent fetal loss. *Ann Hematol.* 2007; 86(1):35–40.
- Ness RB, Grisso JA, Hirschinger N. Cocaine and tobacco use and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med.* 1999; 340:333-339.
- Nielsen GL, Sorensen HT, Larsen H, Pedersen L. Risk of adverse birth outcome and miscarriage in pregnant users of non-steroid anti-inflammatory drugs; population based observational study and case control study. *BMJ.* 2001; 322(7281):266-270.
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Principles of Clinical Cytogenetics and Genome Analysis. Thompson & Thompson genetics in medicine. Elsevier Health Sciences, 8th ed. 2015.
- Obut M, Evsen MS, Soyduñ HE, Sak ME, Özler A, Fidanboy M, Balkan M, Türkyılmaz A ve Gül T. Tekrarlayan gebelik kayıplarında etiyolojik nedenlerin değerlendirilmesi. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi.* 2013; 10:67-71.
- O'Connell M, McClure N, Lewis SE. Mitochondrial DNA deletions and nuclear DNA fragmentation in testicular and epididymal human sperm. *Hum Reprod.* 2002; 17:1565-70.
- Okon M, Laird S, Tuckerman E, Li T. Serum androgen levels in women who have recurrent miscarriages and their correlation with markers of endometrial function. *Fertility and Sterility.* 1998; 69:682-690
- Olshansky E, Garner C. Infertility. In: Fogel CI, Woods NF, editors. Women's health care in advanced practice nursing. New York: Springer Publishing Company, LLC; 2008. p.371-384.
- Ozdiler E, Aydos K. Klinik Androloji. Ankara. Ankara Üniversitesi Basımevi. 2000.
- Öztaş S, Tekrarlayan düşükleri ve/veya ölü doğumları olan ailelerde genetik çalışmalar. 2000, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 76 sayfa, Erzurum, (Prof. Dr. İrfan Batat).
- Palmer CG, Schwartz S, Hodes ME. Transmission of a balanced homologous t(22q;22q) translocation from mother to normal daughter. *Clin Genet.* 1980; 17(6):418-22.



- Parazzini F, Tozzi L, Chatenoud L, Restelli S, Luchini L, La Vecchia C. Alcohol and risk of spontaneous abortion. *Hum Reprod.* 1994; 9(10):1950-1953.
- Pattison NS, Chamley LW, McKay EJ, Liggins GC, Butler WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical association. *Br J Obstet Gynaecol.* 1993; 100:909-13.
- Perez-Medina T, Bajo-Arenas J, Salazar F, Redondo T, Sanfrutos L, Alvarez P, Engels V. Endometrial polyps and their implication in the pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination: a prospective, randomized study. *Hum Reprod.* 2005; 20:1632-5.
- Pettenati MJ, Rao PN, Phelan MC, Grass F, Rao KW, Cospers P, Carroll AJ, Elder F, Smith JL, Higgins MD. Paracentric inversions in humans: a review of 446 paracentric inversions with presentation of 120 new cases. *Am J Med Genet.* 1995; 55(2):171-187.
- Piper J, Rutovitz D, Sudar D, Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Waldman FM, Gray JW and Pinkel D. Computer image analysis of comparative genomic hybridization. *Cytometry.* 1995; 19:10-26.
- Polifka JE, Friedmann JM. Environmental toxins and recurrent pregnancy loss. *Infert Reprod Med Clin North Am.* 1991; 2:195-213.
- Propst A, Hill J. Anatomic factors associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reproductive Medicine.* 2000; 18:341-344.
- Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid autoimmunity and miscarriage. *Eur J Endocrinol.* 2004; 150:751-5.
- Rai RS, Backos M, Rushworth F, Regan L. Polycystic ovaries and recurrent miscarriage—a reappraisal. *Hum Reprod.* 2000; 15:612-615.
- Rai RS, Regan L, Clifford K, Pickering W, Dave M, Mackie I, McNally T, Cohen H. Antiphospholipid antibodies and beta-2-glycoprotein-I in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach. *Hum Reprod.* 1995; 10(8):2001-5.
- Rasch V. Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003; 82:182-188.
- Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet.* 2003; 361:901-8.
- Rives N, Joly G, Machy A, Simeon N, Leclers P, Mace M. Assessment of sex chromosome aneuploidy in sperm nuclei from 47,XXY and 46,XY/47,XXY males: comparison with fertile and infertile males with normal karyotype. *Molecular Human Reproduction.* 2000; 6:107-112.
- Robertson L, Wu O, Langhorne P, Twaddle S, Clark P, Lowe GD, Walker ID, Greaves M, Brenkel I, Regan L, Greer IA. Thrombophilia in pregnancy: a systematic review. *Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study.* *Br J Haematol.* 2006; 132(1):71-96.
- Rosenn B, Miodovnik M, Combs CA, Khoury J, Siddiqi TA. Glycemic thresholds for spontaneous abortion and congenital malformations in insulin-dependent diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 1994; 84:515-20.

- Rushworth FH, Backos M, Rai R, Chilcott IT, Baxter N, Regan L. Prospective pregnancy outcome in untreated recurrent miscarriers with thyroid auto antibodies. *Hum Reprod.* 2000; 15:1637.
- Rutstein SO, Shah IH. Infecundity, Infertility, and Childlessness in Developing Countries, DHS Comparative Reports 2004. 10. [www.measuredhs.com/pubs/pdf/CR9/CR9.pdf](http://www.measuredhs.com/pubs/pdf/CR9/CR9.pdf). Erişim tarihi: 14.12.2008.
- Rowland AS, Baird DD, Shore DL, Weinberg CR, Savitz DA, Wilcox AJ. Nitrous oxide and spontaneous abortion in female dental assistants. *Am J Epidemiol.* 1996; 141:531-8.
- Sağ Ş, Gülten T, Karkucak M, Yakut T, Kimya Y, Evke E, Yiğit B, Cengiz C. Prenatal Tanıda Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Analiz Sonuçlarının Sayısal Kromozomal Anomaliler ve Endikasyonlar Açısından Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi.* 2009; 35(2):83-87.
- Saxena P, Misro M.M. Possible role of malefactor in recurrent pregnancy loss. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008; 52(3):274-282.
- Scriven PN, Handyside AH, Ogilvie CM. Chromosome translocations: segregation modes and strategies for preimplantation genetic diagnosis. *Prenat Diagn.* 1998 Dec; 18(13):1437-49.
- Sha YW, Ding L, Song YQ, Ge YS, Zeng H, Li P. Ring 22 chromosome syndrome induced azoospermia: a case report and literature review. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2012;18(12):1111-4.
- Shaffer LG, Lupski JR. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annual Review of Genetics.* 2000; 34:297-329.
- Sharara FI, Seifer DB, Flaws JA. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil Steril.* 1998; 70:613-622.
- Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reproductive Medicine.* 2006; 24:17-24.
- Simpson JL, Meyers CM, Martin AO. Translocations are frequent among couples having repeated spontaneous abortions but no other abnormal pregnancies. *Fertil Steril.* 1989; 51(5):811-4.
- 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; (5):876-82.
- Speed EM. Heterologous pairing and fertility in humans. In: Gillies CB, editor. *Fertility and chromosome pairing: recent studies in plants and animals.* Boca Raton (FL): CRC Pres. 1989; 1-36.
- Speroff L, Glass HR, Kase GN. *Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite.* Ahmet Erk (Çeviri), Nobel Tıp Kitapevi, 1996.
- Srebniak M, Popowska L, Wawrzkiwicz-Witkowska A, Tomaszewska A, Kazmierczak W. Subfertile couple with t(4;22)(q23;q11.2). *J Appl Genet.* 2005; 46(3):333-6
- Starke H, Nietzel A, Weise A, Heller A, Mrasek K, Belitz B, Kelbova C, Volleth M, Albrecht B, Mitulla B, Trappe R, Bartels I, Adolph S, Dufke A, Singer S, Stumm M, Wegner RD, Seidel J, Schmidt A, Kuechler A, Schreyer I, Claussen U, Eggeling F and Liehr T. Small supernumerary marker chromosomes: genotype phenotype correlation and classification. *Human Genetics.* 2003; 114:51-67.

- 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; 65(2):250-3.
- Strachan T, Read AP. *Human Molecular Genetics* BIOS Scientific Publishers Limited, 1996.
- 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.
- Summers PR. Microbiology relevant to recurrent miscarriage. *Clin Obstet Gynecol*. 1994; 37: 722-9.
- Tharapel AT, Tharapel SA, Bannerman RM. Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *Br J Obstet Gynaecol*. 1985; 92:899-914.
- Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. *Genetics In Medicine*. HBJ International edition, 1991.
- Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. *Genetics In Medicine*. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company. 2001; (6):1447-1449.
- Termiş K. Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde sitogenetik değerlendirme. 2016, İstanbul Üniversitesi, Uzmanlık tezi, 122 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Şükrü Palanduz).
- Todorova K, Ivanov S, Genova M. Selenium and glutathione peroxidase enzyme levels in diabetic patients with early spontaneous abortions. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2006; 45:3-9.
- Todorova K, Mazneikova V, Ivanov S, Genova M. Role of glycemic control and incidence of spontaneous abortions pregnant in women with type 1 diabetes mellitus. *Akush Ginekol (Sofia)*. 2004; 43:16-23.
- Tuarnaye H. Gamete source and manipulation. In Vayana E, Rowe PS, Griffin PD. *Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting*. Geneva: WHO. 2002; 83-101.
- Ugwumadu A, Manyonda I, Reid F, Hay P. Effect of early oral clindamycin on late miscarriage and preterm delivery in asymptomatic women with abnormal vaginal flora and bacterial vaginosis: A randomised controlled trial. *Lancet*. 2003; 361:983-8.
- Uysal D. Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde sayısal ve yapısal kromozom aberasyonlarının FISH yöntemi ile ileri düzeyde araştırılması. 2014, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, 84 sayfa, Çanakkale, (Prof. Dr. Öztürk Özdemir).
- Valanis B, Vollmer WM, Steele P. Occupational exposure to antineoplastic agents: self-reported miscarriages and still births among nurses and pharmacists. *J Occup Environ Med*. 1999; 41:632-638.
- Van Asche E, Boundella M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 1996; 11 (4):1-24.
- Vaz N, Shyama SK. Numerical chromosomal abnormalities in the malformed newborns. *International Journal of Human Genetics*. 2005; 5: 237-240.

- Vig BK. Do specific nucleotide bases constitute the centromere? *Mutation Research*. 1994; 309:1-10.
- 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.
- Warburton D, Fraser FS. Spontaneous abortion risks in man: data from reproductive histories collected in a medical genetic unit. *Am J Hum Genet*. 1964; 16:p.1.
- Windham GC, Von Behren J, Fenster L, Schaefer C, Swan SH. Moderate maternal alcohol consumption and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology*. 1997; 8(5):509-514.
- Wyandt HE. Ring autosomes: identification, familial transmission, causes of phenotypic effects and in vitro mosaicism. In *The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*. New York, 1988; 667-696.
- Xu X, Cho SI, Sammel M, You L, Cui S, Huang Y, Ma G, Padungtod C, Pothier L, Niu T, Christiani D, Smith T, Ryan L, Wang L. Association of petrochemical exposure with spontaneous abortion. *Occup Environ Med*. 1998; 55(1):31-6.
- Yakut S. Tekrarlayan düşükleri olan ve sitogenetik olarak karyotipleri normal bulunan çiftlerde kriptik translokasyonların Floresan InSituHibridizasyon (FISH) ile araştırılması. 2000, Akdeniz Üniversitesi, Sağlık bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, 58 sayfa, Antalya, (Yrd. Doç. Dr. Sibel Berker Karüzüm).
- Yetman DL, Kutteh WH. Antiphospholipid antibody panels and recurrent pregnancy loss: prevalence of anticardiolipin antibodies compared with other antiphospholipid antibodies. *Fertil Steril*. 1996; 66:540.
- Yılmaz N. Habituel abortuslu hastalarda endometriyum lenfosit topluluklarının etkisi. 2010, Kocaeli Üniversitesi, Uzmanlık tezi, 105 sayfa, Kocaeli, (Prof.Dr. Aydın Çorakçı).
- Zarina AL, Jamil MA, Ng SP, Rohanna J, Yong SC, Salwati S and Boo NY. Unbalanced chromosomal translocation: A cause of recurrent spontaneous abortion. *The Medical Journal of Malaysia*. 2006; 61:260-262.

## 8.ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Zeliha	<b>Soyadı</b>	AVNAK
<b>Doğum Yeri</b>	İstanbul/Eminönü	<b>Doğum Tarihi</b>	21.04.1991
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kimlik No</b>	23593556266
<b>E-mail</b>	zeliha_._guler@hotmail.com	<b>Tel</b>	+90 543 3813344

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	Tıbbi Genetik	2017
<b>Lisans</b>	Moleküler Biyoloji ve Genetik	2014

### A-Laboratuvar Deneyimi

Periferik kan-EDTA, amniyon sıvısından ve solid dokudan DNA izolasyonu, RNA izolasyonu, PCR uygulamaları (Multiplex PCR, Tandem PCR, Real Time PCR), Sanger Sekanslama, Jel elektroforezi, Nanodrop ile DNA-nükleik asit ve proteinlerin miktar ve kalite ölçümü, Karyotip analizi, GTG bantlama, NOR bantlama, Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) analizi.

### B-Makaleler (Uluslararası)

**B1**-Sılan F, Yıldız O, Urfalı M, **Guler Z**, Ozdemir O. A mental and motor retarded dysmorphic case with heterozygous 1p36 deletion: Comparable results from cytogenetic, MicroArray-CGH, FISH and MLPA techniques. Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences (ISSN: 2354-323X) Vol. 4(12) pp. 490-494, December, 2016.

### C-Bildiriler (Uluslararası)

**C1-Urfalı M, Sılan F, Tan YZ, Çeliker F, Güler Z, Ozdemir O, Alterations In The Telomere Length Distribution of Cell-free DNA In Human Cancer. European Biotechnology Congress 2016, Riga/LATVIA.**

#### **D-Bildiriler (Ulusal)**

**D1-Urfalı M, Sılan F, Özdemir Ö, Yıldız O, Güler Z.** Periferik dolaşımda serbest fragmente DNA eldesi ve klinik tanıda yeri ve önemi. 1. Trakya Üniversiteler Birliği Yüksek Lisans Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2016, Çanakkale Sözlü Sunum-Özet Metin.

**D2-Güler Z, Sılan F, Yıldız O, Uludağ A, Özdemir Ö.** Tekrarlayan Düşüğü olan Kadınlarda Trombofilik Gen Mutasyon Profilleri. 1. Trakya Üniversiteler Birliği Yüksek Lisans Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2016, Çanakkale Sözlü Sunum-Özet Metin.

**D3-Sılan F, Yıldız O, Güler Z, Kurtulan H, Özdemir Ö.** The combined mutation effect of Protrombin G20210A and ACE I/D genes in essential hypertension. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 11-13 Şubat 2016 Kayseri Sözlü Sunum Özet Metin.

**D4- Kankaya D, Sılan F, Yıldız O, Urfalı M, Güler Z, Özdemir Ö.** İşitme Engelli Olgularda Moleküler Etiyolojik Sebeplerin Araştırılması. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 11-13 Şubat 2016 Kayseri Sözlü Sunum Özet Metin.

**D5- Sılan F, Özdemir Ö, Yıldız O, Güler Z.** Micrognathia facial dysmorphism, aortic valve pathology, low weight, chest deformities and mental retardation: A case with Williams Syndrome. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 11-13 Şubat 2016 Kayseri Sözlü Sunum Özet Metin.

#### **E-Katıldığı Ulusal Kongreler**



**E1-Kayseri Gevher Nesibe Tıp Günleri 216, 11-13 Şubat**

**E2-Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016, 29-30 Nisan**

## 9.EKLER

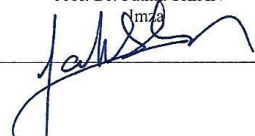
### SPİRALLİ TEZ KONTROL FORMU

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	✓	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	✓	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	✓	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	✓	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	✓	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	✓	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	✓	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	✓	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	✓	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	✓	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	✓	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	✓	

Tarih:16/06/2017 Öğrenci Zeliha AVNAK İmza 	Tarih:16/06/2017 Danışman Prof. Dr. Fatma ŞEHAN İmza 
--	--

EK.2.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLİ/CİLTİ TEZ YAZIM KONTROL**  
**LİSTESİ**

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	✓UYGUN	✓UYGUN
Kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Onay sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	✓UYGUN	✓UYGUN
Teşekkür sayfası	✓UYGUN	✓UYGUN
Türkçe özet	✓UYGUN	✓UYGUN
İngilizce özet	✓UYGUN	✓UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekiller dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tablolar dizini	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	✓UYGUN	✓UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	✓UYGUN	✓UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	✓UYGUN	✓UYGUN
Yöntem ve Gereç	✓UYGUN	✓UYGUN
Bulgular	✓UYGUN	✓UYGUN
Tartışma	✓UYGUN	✓UYGUN
Sonuç ve Öneriler	✓UYGUN	✓UYGUN
Kaynaklar	✓UYGUN	✓UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	✓UYGUN	✓UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	✓UYGUN	✓UYGUN
Tez planı	✓UYGUN	✓UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	✓UYGUN	✓UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	✓UYGUN	✓UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	✓UYGUN	✓UYGUN
Tarih:16/06/2017 Öğrenci Zeliha AVNAK İmza 	Tarih:16/06/2017 Danışman Prof. Dr. Fatma SILAN İmza 	



### EK.3.ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı :18920478-050.01.04-E.82363  
Konu :Başvuru İncelemesi

21.07.2016

Sayın Prof. Dr. Fatma SILAN

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Kromozom 22 Yapısal Anomalilerinin Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Yöntemi İle İleri Analizi" başlıklı 2011-KAEK-27/2016-E.66912 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 13/07/2016 tarih ve 13-05 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

**Karar Tarihi** :13.07.2016 14:00

**Karar No** :2016-13

**Karar-05)**2011-KAEK-27/2016-E.66912 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje araştırmacılarından Mol. Bio. Zeliha GÜLER'in sunumunun dinlenmesinin ve raportörün hazırladığı değerlendirilmenin okunması sonrasında yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR.**" kararı verilmiştir.(Doç. Dr. Coşkun SILAN projede yer alan Prof. Dr. Fatma SILAN'ın eşi olduğundan dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)

 e-imzalıdır

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR  
Başkan