



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇOMÜ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ GENETİK TANI
MERKEZİ'NDE DEĞERLENDİRİLEN TEKRARLAYAN
DÜŞÜĞÜ OLAN OLGULARA AİT SİTOGENETİK
SONUÇLARININ RETROSPEKTİF OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hazırlayan

Mol. Bio. BANU UZUN

Tez Danışmanı

PROF. DR. ÖZTÜRK ÖZDEMİR

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI




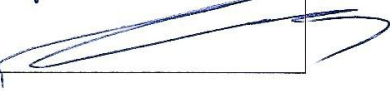
ÇANAKKALE-2017

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı :Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Tıbbi Genetik ABD
Programın Seviyesi :Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Tıbbi Genetik ABD
Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Banu UZUN
Tez Başlığı :ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Tanı Merkezin’de Değerlendirilen Tekrarlayan Düşüğü Olan Olgulara Ait Sitogenetik Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi
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

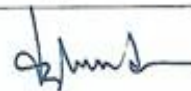

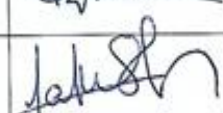

Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof. Dr. Fatma SILAN	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Doç. 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 Department
Student Name and Surname: Banu UZUN
Title of the Thesis : The Retrospectively Evolution Of Cytogenetic Findings in RPL
Patients from Medical Genetic Diagnosis Center Of Faculty Of Medicine in Canakkale Onsekiz
Mart University
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. Öztürk ÖZDEMİR	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Members of Examination Jury (Titles and Names)	COMU Faculty of Medicine	
Prof.Dr. Öztürk ÖZDEMİR	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Prof.Dr. Fatma SILAN	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Doç.Dr. Haluk AKIN	Ege University Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	

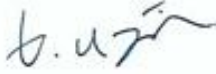
The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health
Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated
and numbered

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: Banu UZUN

İmza: 

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde her konuda yardımcı olan, gerek verdiği derslerle gerekse fikirleri ile eğitim hayatıma yön veren, bilgi ve tecrübesini hiçbir zaman esirgemeyen, tezimin hazırlanması dahil tüm aşamalarında büyük katkısı olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e, Laboratuvar ortamında çalışmamı sağlayan, bana tecrübe kazandıran, bilimsel her konuda bilgisini ve desteğini her zaman gösteren ve bana yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a,

Yüksek lisans eğitimimde ve tez sürecinde yardım ve destekleri olan Asistan Dr. Mine URFALI'ya, Asistan Dr. Onur YILDIZ'a, Asistan Dr. Barış PAKSOY'a ve Asistan Dr. Taner KARAKAYA'ya, yüksek lisans tezimde hasta seçiminde ve görüntülerin elde edilmesinde yardımcı olan değerli arkadaşım Moleküler Biyolog Zeliha AVNAK'a, desteklerini esirgemeyen ve yanımda olduklarını hissettiren değerli arkadaşlarım Biyolog Damla KARAAĞAÇLI ve Biyolog Betül IŞIN'a, laboratuvar ortamında çalışmamda yardımcı olan Uzman Biyolog Didem UYSAL'a, Uzman Kimyager Hülya HAS'a, Uzman Biyolog Gaye ACAR'a, Laboratuvar Teknikeri Şengül TÜRÜNZ'e ve Uzman Kimyager Duygu KANKAYA'ya

Bütün eğitim ve öğretim hayatımda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, bana her daim güvenen, güç veren, sevgisini hissettiren ve bugünlere gelmemi sağlayan sevgili babam Nejat KURU'ya, sevgili annem Fikriye KURU'ya ve sevgili ablam Buket ARSLAN'a, beni her daim koşulsuz seven ve destekleyen, her zaman sevgisini hissettirip yanımda olan ve hayatıma güç veren biricik eşim Kıvanç UZUN'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Saygılarımla,
Banu UZUN

ÖZET

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) doğum ağırlığı 500 g'dan az ve 20. gebelik haftasından önce meydana gelen 2'den fazla gebelik kayıplarını “tekrarlayan gebelik kaybı” (TGK/RPL) olarak tanımlamaktadır. Araştırmamızda, ÇOMÜ Tıbbi Genetik Laboratuvarına başvuran iki veya daha fazla tekrarlayan düşük öyküsü olan çiftlerdeki sitogenetik sonuçlarının retrospektif olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında 2014-2016 yılları arasında iki veya daha fazla tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü sebebiyle tanı amaçlı başvuran, bilgilendirilmiş onamları bulunan toplam 241 çiftte ait arşiv dosya ve raporları değerlendirilmiştir. Değerlendirilen bütün hastalarda kromozom analizlerinin, rutin olarak periferik kan lenfosit kültürleri ile elde edilen metafazların geleneksel tripsin-GTG bantlama tekniği ile yapıldığı değerlendirilmiştir. İleri ve spesifik kromozom analizleri için bazı hastalarda sonuçlar FISH, QF-PCR ve MikroArray-CGH teknikleri ile korele edildiği rapor edilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda, 2014-2016 yılları arasında TGK sebebiyle başvuran iki olguda sayısal kromozom anomalisi saptanırken, toplam 142 olgunun (%29,4) yapısal kromozom anomalisine sahip oldukları anlaşılmıştır. Saptanan kromozom anomalilerinin yıllara göre dağılımlarının; 2014 yılı için değerlendirilen toplam 150 olgunun 33'ünde (%22), 2015 yılında değerlendirilen toplam 168 olgunun 38'inde (%22,6) ve 2016 yılında değerlendirilen toplam 165 TD olgusunun 73'ünde (%44,2) çeşitli yapısal kromozom anomalisinin olduğu saptanmıştır. En yüksek oranda saptanan kromozom anomalisinin kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olduğu anlaşılmıştır (%20,3). Sonuç olarak, mevcut araştırma projemiz kapsamında yapılan değerlendirme sonucunda tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde sayısal kromozom anomalisinin az olduğu fakat önemli oranda yapısal kromozom anomalilerine sahip oldukları ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar 3 farklı yıl açısından (2014-2016) karşılaştırıldığında yaklaşık aynı sayıda hasta değerlendirildiği halde özellikle 2016 yılında olguların daha fazla oranda (%44,2) kromozom anomalisine sahip oldukları rapor edilmiştir. Araştırma sonuçları, TGK olgularının karyotip analizlerinde birbirini destekleyen birden fazla tekniğin birlikte kullanımının etkin ve doğru tanı için önemli olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Tekrarlayan Düşükler, Sitogenetik, Kromozom Anomalileri

ABSTRACT

The Retrospectively Evolution Of Cytogenetic Findings in RPL Patients from Medical Genetic Diagnosis Center Of Faculty Of Medicine in Canakkale Onsekiz Mart University

The World Health Organization (WHO) defines a 2-fold excess pregnancy loss as "recurrent low" (TGK/RPL) with birth weight less than 500 g and occurring before the 20th gestational week. In our study, it was aimed to retrospectively evaluate the cytogenetic results in couples with two or more recurrent losses in RPL patients who applied to the COMU Medical Genetics Laboratory in the current project. Within the scope of the current project, archive files and reports of 241 couples with informed consent for diagnostic purposes due to 2 or more repetitive low stories between 2014 and 2016 years were evaluated. In all evaluated patients, chromosome analysis was routinely performed using conventional trypsin-GTG banding techniques for metaphases obtained by peripheral blood lymphocyte cultures. Results in some patients have been reported to be correlated with FISH, QF-PCR and MicroArray-CGH techniques for the advanced and specific chromosomal analysis in the current reported RPL couples. It was understood that a total of 142 cases (29.4%) had structural chromosomal anomalies while two numerical chromosomal anomalies were detected during the period between 2014 and 2016 years evaluation. It has been determined that there are various structural chromosomal anomalies in 33 (22%) of 150 cases that evaluated for 2014, 38 (22.6%) of 168 cases that evaluated in 2015 and 73 (44.2%) of 165 cases that evaluated in 2016 in the presented project. The 9qh+ status was detected in 98 cases (20.3%) of 483 cases that were evaluated. The investigated RPL couples have two numerical but have significant structural chromosomal anomalies in the current project. The results obtained are reported to have increased chromosome anomalies in especially in year 2016, (44.2% cases), when compared to the approximately the same number of patients that evaluated for 3 different years (2014-2016). In conclusion, current results also showed that the use of comparable techniques have a crucial roles in effective and accurate karyotype and chromosomal analysis in RPL diagnosis.

Key Words: Recurrent Abortions, Cytogenetics, Chromosomal Anomalies

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.....	XII
TABLolar LİSTESİ.....	XIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Abortus.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.2. Spontan Abortus.....	3
2.3. Habitüel Abortus.....	3
2.3.1. Habitüel Abortusun Nedenleri.....	3
2.3.1.2. Genetik Nedenler.....	3
2.3.1.3. Endokrin Faktörler.....	4
2.3.1.4. Anatomik Nedenler.....	4
2.3.1.5. Enfeksiyöz Faktörler.....	5
2.3.1.6. Çevresel Nedenler.....	5
2.3.1.7. Kalıtılan Trombofililer.....	6
2.3.1.8. İmmünolojik Nedenler.....	7
2.3.1.9. Erkek Faktörü.....	7
2.3.1.10. Maternal Yaş.....	7
2.4. Kromozomların Morfolojik Yapısı.....	8

2.4.1. Sentromer.....	8
2.4.2. Telomer.....	8
2.5. Kromozomların Moleküler Yapısı.....	9
2.5.1. Ökromatin ve Heterokromatin Bölgeler.....	9
2.6. Kromozom Anomalileri.....	10
2.7. Kromozomal Polimorfizmler.....	10
2.8. Kromozomların Sınıflandırılması.....	11
2.8.1. Sentromer Yerlerine Göre.....	11
2.8.2. Büyüklük ve Sentromer Konumlarına Göre.....	11
2.9. Kromozom Anomalilerinin Sınıflandırılması.....	12
2.9.1. Dengeli Kromozom Anomalileri.....	12
2.9.2. Dengesiz Kromozom Anomalileri.....	12
2.9.3. Yapısal Kromozom Anomalileri.....	13
2.9.3.1. Translokasyon.....	13
2.9.3.2. İnversiyon.....	14
2.9.3.3. Delesyon.....	15
2.9.3.4. Duplikasyon.....	16
2.9.3.5. İzokromozom.....	16
2.9.3.6. Ring Kromozom.....	16
2.9.3.7. Disentrik Kromozom.....	17
2.9.3.8. Marker Kromozom.....	17
2.9.4. Sayısal Kromozom Anomalileri.....	18
2.9.4.1. Anöplöidi.....	18
2.9.4.2. Poliploidi.....	19
2.10. Kompleks Kromozom Anomalileri.....	19
2.11. Mozaisizm.....	19

2.12. Kromozom Analiz Yöntemleri.....	20
2.12.1. Sitogenetik Yöntemler.....	20
2.12.1.2. Metafaz Eldesi-Kısa Süreli Hücre Kültürleri.....	20
2.12.1.3. Kromozom Bantlama Teknikleri.....	21
2.12.1.4. G bantlama.....	21
2.12.1.5. Karyotip Analizi ve Standartları.....	22
2.12.2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler.....	22
2.12.2.1. Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH).....	22
2.12.2.2. Prob Çeşitleri.....	24
2.12.2.3. Tüm Kromozom Boyama Problemleri.....	24
2.12.2.4. Tekrarlayan Dizi (satellit) Problemleri.....	24
2.12.2.5. Lokus Spesifik Prob.....	25
2.12.3. Mikroarray.....	25
2.12.3.1. Array-CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu).....	25
2.12.3.2. Array CGH Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları.....	27
2.12.3.3. CGH Array ve CGH+SNP Array.....	27
2.13. Kromozom Anomali Sıklıkları.....	28
2.14. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Görülen Çiftler.....	28
3. GEREÇ YÖNTEM.....	29
3.1. Olgu Seçimi.....	29
3.2. Sitogenetik Analiz.....	29
3.2.1. Kısa Süreli Hücre Kültürü.....	29
3.2.1.1. Besiyerinin Hazırlanması.....	30
3.2.1.2. Harvest İşlemi.....	30
3.2.1.3. GTG-Giemsa Bantlama.....	31
3.2.2. Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Analizi.....	31

3.2.2.1. FISH Yöntemi Basamakları.....	32
3.2.2.2. FISH Analizinin Görüntülenmesi ve Sayımı.....	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA.....	59
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	65
7. KAYNAKLAR.....	66
8. ÖZGEÇMİŞ.....	75
9. EKLER.....	77



KISALTMALAR ve SİMGELER

GTG: Giemsa Tripsin Giemsa

TGK/RPL: Tekrarlayan Gebelik Kaybı

FISH: Floresan In Situ Hibridizasyonu

MLPA: Çoklu Ligasyonla Prob Amplifikasyonu

MTHFR: Metilen Tetrahidrafolat Redüktaz

DNA: Deoksiribonükleik Asit

RNA: Ribonükleik Asit

aCGH (Array CGH): Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu Mikroarray Tipi
(Comperative Genom Hybridization)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

HbA1C: Hemoglobin A1C

CCR: Kompleks Kromozom Anomalileri (Complex Chromosomal Rearrangements)

HRB: Yüksek Çözünürlükte Bantlama (High Resolution Banding)

KCL: Potasyum Klorür

PBS: Fosfat Buffer Salin

DAPI: 4-6 Diamino-2-Phenylindole

PCOS: Polikistik Over Sendromu

SSC: Sodyum Salin Sitrat

SNP: Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)

CNV (KSV): Kopya Sayı Varyantları (Copy Number Variation)

del: Delesyon

dup: Duplikasyon

trans: Translokasyon

µl: Mikrolitre

bp: base pair

Kb: Kilobaz

Mb: Megabaz

Tablo 1. Araştırma kapsamında sitogenetik tanı alan olguların yıllara göre kromozom anomalisi oranları.....	34
Tablo 2. Çalışma kapsamında kromozom anomalisi bulunan tekrarlayan düşük hastalarına ait düşük sayısı ve oranları.....	36
Tablo 3. 2014 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları.....	36
Tablo 4. 2015 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları.....	38
Tablo 5. 2016 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları.....	39
Tablo 6. Çalışma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının kromozom anomalisi sonuçlarının sayısal değerleri ve tür dağılımı.....	43
Tablo 7. Araştırmaya dahil edilen tekrarlayan düşük hastalarına ait (kadın-erkek) kromozom anomalisi sayılarının yıllara göre dağılımları.....	46

Şekil 1. Araştırma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının yıllara göre dağılımlarının grafiği.....	35
Şekil 2. Çalışma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının kromozom anomalisi türlerini gösteren grafik.....	43
Şekil 3. XX bir olguya ait karyotip görüntüsü.....	47
Şekil 4. XY bir olguya ait karyotip görüntüsü.....	47
Şekil 5a. 9q12 bölgesinde artış olan bir olguya ait karyotip görüntüsü (46,XX,9qh+)	
5b. 9 nolu kromozomun q kolunun 12 numaralı bölgesini gösteren ideogram.....	48
Şekil 6a. Metafaz görüntüsündeki 9q12 bölgesine ait FISH sinyali 6b. Şekil 6a'daki metafaz görüntüsüne ait 1:2 oranında sinyal ölçüm grafiği.....	49
Şekil 7. 46,XX,t(4;11)(pter;pter) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü.....	49
Şekil 8. 46,XY,t(3;4)(qter;q22.2) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü.....	50
Şekil 9. 46,XX,t(13;9)(q33;q34.2) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü.....	51
Şekil 10. 46,XX,t(13;9)(q33;q34.2) kromozom anomalisine sahip olgunun FISH görüntüsü.....	51
Şekil 11a. 46,XY,inv(9)(p11;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun 9 nolu kromozom görüntüsü 11b. 9 nolu kromozomun p11 ve q13 bölgelerini gösteren ideogram görüntüsü.....	52
Şekil 12. 46,XX,inv(15)(p12;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü.....	53
Şekil 13. 46,XX,inv(15)(p12;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun FISH görüntüsü.....	53
Şekil 14. 46,XY,Yqh+ kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü...54	
Şekil 15. 46,XY,del(Y)(q12) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü.....	55
Şekil 16. Y kromozomunun ideogram görüntüsü.....	55

Şekil 17. 46,XX,t(5;14)(p13;p13) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü.....	56
Şekil 18a. Hastanın 5 nolu kromozom ve MicroArray-CGH görüntüsü 18b. Hastanın 14 nolu kromozom ve MicroArray-CGH görüntüsü.....	57
Şekil 19. 46,XX,dup(22)(q13.3) kromozom anomalisine sahip olgunun FISH görüntüsü.....	58



1. GİRİŞ

Tekrarlayan gebelik kayıplarının en önemli etiyolojik nedeni gamet oluşumu sırasında meydana gelen kromozomal aberasyonlardır (Ford ve Schust, 2009). Tekrarlayan düşüklerin etiyolojisi; fetal, maternal ve paternal kaynaklı olabilir (Yakut 2000). TGK'larına neden olabilecek faktörler arasında genetik, anatomik, enfeksiyöz, çevresel, trombofilik, immünolojik ve endokrinolojik nedenler sayılabilir. Bu nedenler arasında, genetik faktörlerin temelini oluşturan kromozomal anomaliler önemli yer tutar. TGK'ları bütün intrauterin gebelik kayıplarının %1-3'ü oluşturmaktadırlar.

Kromozom anomalilerinin araştırılması için genel olarak kullanılan tripsin-GTG bantlama rutin sitogenetik analizlerde sıklıkla kullanılır. Klasik sitogenetiğin yetersiz kaldığı durumlarda diğer yöntemlerden biri olan FISH tekniği uygulanmaktadır. FISH tekniği, klasik bantlama ile saptanamayan 5 mb'dan küçük kromozom anomalilerinin saptanmasında kullanılan bir tekniktir (Levsky ve Singer, 2003). İleri ve spesifik kromozom analizleri için FISH, QF-PCR, ve MikroArray-CGH teknikleri de kullanılmaktadır. Bu çalışmada 2014-2016 yılları arasında tanı amaçlı ÇOMÜ Tıbbi Genetik birimine başvuran tekrarlayan düşüğü olan çiftlere ait sitogenetik sonuçlar retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Her hastanın, rutin olarak periferik kan lenfosit kültürleri ile elde edilen metafazlarına geleneksel tripsin-GTG bantlama yöntemi uygulanmıştır. İleri ve spesifik kromozom analizleri için bazı hastalarda sonuçlar FISH, QF-PCR ve MikroArray-CGH teknikleri ile korele edilip rapor edilmiştir. Sıklıkla kullanılan FISH yöntemi kromozomların bazı bölgelerinde meydana gelen artış ya da azalışları ya da telomerik bölgedeki kararlılığı tespit edebilmek için kullanılan bir yöntemdir. Herhangi bir delesyon ya da duplikasyon varlığını tespit etmemiz açısından kolaylık sağlamaktadır.

Çalışmamızda tekrarlayan düşük çiftlerinde en yüksek oranda saptanan kromozom anomalisinin kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olduğu anlaşılmıştır. Bu durumun değerlendirilen toplam 483 olgunun 98'inde (%20,3) olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca 2016 yılında kromozom 22'de görülen yapısal kromozom anomalilerindeki artış dikkate çarpmaktadır. Araştırmamız 2014-2016 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMÜ) Araştırma Hastanesine başvuran 241 tekrarlayan düşük çiftinin sitogenetik sonuçlarının

retrospektif olarak değerlendirilmesini kapsamaktadır. Kromozom analizi sonuçları normal bulunan ve analizinde kromozom anomalisi tespit edilen hasta sayıları tespit edilmiştir. ıkan sonuçlar doğrultusunda istatistiksel bir değerlendirme yapılmıştır. Kromozom anomalisi tespit edilen hastaların eğer varsa diğer sitogenetik analiz sonuçlarına da bakılmıştır.

Çalışmada yapılan değerlendirme sonuçlarına göre 2014 yılında 150 hastanın 33'ünde, 2015 yılında 168 hastanın 38'inde ve 2016 yılında 165 hastanın 73'ünde kromozom anomalisi tespit edilmiştir. Saptanan kromozom anomali tiplerinin yıllara göre dağılımları ise; 2014 yılında 18 hastada 9qh+, 2 hastada inversiyon ve 1 hastada translokasyon iken 2015 yılında 26 hastada 9qh+, 1 hastada inversiyon, 2 hastada translokasyon, 4 hastada Yqh+, 1 hastada delYq ve 1 hastada duplikasyon ve 2016 yılında ise 54 hastada 9qh+, 8 hastada inversiyon, 1 hastada translokasyon, 4 hastada Yqh+ ve 4 hastada ise kromozomal duplikasyon saptandığı tespit edilmiştir.

Bu sonuçlara göre 2014 yılından itibaren kromozom anomalisi tespit edilen hasta sayısı artış göstermiştir ve oranlar sırası ile %22 - %22,6 - %44,2 şeklinde sıralanmıştır. Bu artışın, laboratuvar alt yapı ve tanı olanaklarının gelişmesi, tanıda birden fazla tekniğin birlikte kullanılması ve korelasyonlarının yapılması ile açıklamak mümkündür.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Abortus

2.1.1.Tanım

Abortusun Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1977 yılında yapılan tanımına göre 20.gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha az olan embriyonun, tamamının ya da bir kısmının uterus dışına atılmasıdır (Cunningham ve ark., 2010).

2.2. Spontan Abortus

Hastanın kendisinin veya bir hekimin müdahalesi olmadan kendiliğinden olan düşüklere spontan abortus adı verilir.12.gebelik haftasına kadar olan abortuslar erken abortus, 12-20. gebelik haftaları arasında olan abortuslar ise geç abortus olarak adlandırılmaktadır (Cunningham ve ark., 2010).

2.3. Habitüel Abortus

Birbirini takip eden en az iki veya daha fazla gebeliğin 20.gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanması şeklinde ifade edilir. Gebelik kayıplarının %1-3'ünde tekrarlayan gebelik kaybı görülür. Spontan gebelik kayıplarının %80'den fazlası gebeliğin ilk 12 haftası boyunca olmaktadır.

2.3.1. Habitüel Abortusun Nedenleri

2.3.1.2. Genetik Nedenler

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiolojisinde %5 sıklıkta ebeveynlerdeki genetik nedenler sorumlu tutulmaktadır. Genetik anomaliler fetal veya maternal/paternal kaynaklı olabilmektedir. Düşük ne kadar erken oluşursa kromozomal kaynaklı olma olasılığı o kadar fazladır. 1. trimester kayıplarının %60'ı, 2. trimester kayıplarının %10-15'i, 3. trimester ölü doğumlarının ise %5'i genetik anomaliler sonucu meydana gelmektedir (Sierre ve Stephenson, 2006).

Yapısal kromozom anomalileri içerisinde en sık translokasyonlar, translokasyonlar içerisinde ise resiprokal ve robertsonian tipleri görülmektedir. Yapılan çalışmalarda erken gebelik kayıplarının büyük oranda sitogenetik anomalilerle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Blumberg ve ark., 1982). Tekrarlayan gebelik kayıplarının sitogenetik incelemesinde en sık sayısal anomaliye

rastlanılmaktadır. Sayısal kromozom anomalileri içerisinde ise trizomiler en sık gözlenen anomalilerdir.

Kromozom anomalisi saptanan spontan abortusların en büyük grubunu (%53) otozomal trizomiler oluşturmaktadır (Porter ve Scott, 2005). Spontan abortuslarda tek başına en sık görülen kromozom anomalisi olan monozomi X sitogenetik bozukluk saptanan fetüslerin %20-25'ini oluşturur (Blumberg ve ark., 1982).

Gebelikteki gestasyonel haftaya göre trizomilerin görülme sıklığı değişmektedir. En sık görülen trizomi Down Sendromudur ve 700 canlı doğumda bir görülmektedir. Trizomi 18 ortalama 1/6000-8000, trizomi 13 ise 1/12000 canlı doğumda bir görülmektedir. Trizomi 8 daha az sıklıkla görülmektedir ve çoğu olgu mozaiktir (Bryne ve Ward, 1994).

Otozomal trizomilerin çoğunluğu maternal kökenlidir. Mayoz 1 hataları, mayoz 2 hatalarına göre çok daha sık gözlenmektedir (Hassold ve ark., 1993).

Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerin %2-5'inde ebeveynlerden birinde yapısal dengeli kromozom anomalisi saptanır. Ebeveynlerde saptanan kromozom anomalileri çoğunlukla translokasyon ve inversiyondur ve daha yüksek oranda maternal kaynaklıdır (Kirkels ve ark., 1980, Niroumanesh ve ark., 2011).

2.3.1.3. Endokrin Faktörler

Gebelik kaybı riskini artıran endokrinolojik nedenler; tiroid hastalıkları, diabet, polikistik over sendromu (PCOS) ve luteal faz defektleridir (Coulam ve Stern, 1994).

Polikistik over sendromu tekrarlayan gebelik kaybı olgularında genel popülasyona oranla daha yüksek oranda saptanmıştır. Tedavi edilmemiş gizli veya subklinik hipotiroidizmde gebelik kaybı riski artmaktadır. Metabolik kontrolü iyi olan diabetik kadınlardaki gebelik kayıp riski diabetik olmayan kadınlardan farklı değildir; fakat ilk trimesterde yüksek kan glikoz ve hemoglobin A1C (HbA1C) düzeyleri abortus riskini arttırmaktadır (Mills ve ark., 1988).

2.3.1.4. Anatomik Nedenler

Tekrarlayan gebelik kayıplarının etiolojisinde yaklaşık %12-15 oranında anatomik nedenler sorumludur. Gebelik kaybı riskini artıran anatomik nedenler;

konjenital uterin malformasyonlar, uterin miyomlar ve intrauterin adezyonlardır. Konjenital uterin malformasyonların çeşitleri ise; unikornat, bikornat, didelfis ve septat uterus olarak sıralanmaktadır. Bu malformasyonların normalde görülme sıklığı %2 iken bu oran TGK'larında yaklaşık 3 katına çıkabilmektedir (Propst ve Hill, 2000).

Uterin septum, TGK ile en çok ilişkilendirilen konjenital uterin anomalidir. Uterus septus, normalde birleşmesi gereken 2 uterusu ayıran orta hat septumun yetersiz rezorbsiyonu sonucu oluşur. Embriyo septumun üzerine implante olduğunda, septumun vaskülarizasyonu embriyonun gelişimi için yetersiz olacağından ikinci trimester kayıplarına neden olabilir. Etkilenmiş olan hastalarda tekrarlayan gebelik kaybı riski %76' ya kadar ulaşabilir. Diğer anomalilerden unikornuat, didelfis ve bikornuate uterus TGK için küçük risk artışı taşımaktadır (Lin 2004).

2.3.1.5. Enfeksiyöz Faktörler

Birçok maternal enfeksiyon (viral, bakteriyel, zoonotik ve fungal) teorik olarak gebelik kaybına neden olabilir. Gebelik kaybına neden olan çoğu enfeksiyon sistemiktir ve kan yoluyla bulaşan organizmalar tarafından fetoplasental ünitenin etkilenmesi sonucu olmaktadır (Gardella ve Hill, 2000). Enfeksiyöz ajanların TGK etiolojisindeki rolü tam belirli değildir. Ancak bazı patojenler sporadik abortus yapan kadınların vaginal ve servikal kültürlerinde daha sıklıkla saptanmaktadır. Bunlar mycoplasma hominis, chlamydia, listeria monocytogenes, ureaplasma urealyticum, toxoplasma gondii, rubella, cytomegalovirus, herpes virustur (Penta ve ark., 2003). TGK etiolojisinde bu etkenlerin ilişkisi daha net olarak kanıtlanmamıştır.

2.3.1.6. Çevresel Nedenler

Bazı çevresel faktörler sporadik ve tekrarlayan erken gebelik kayıplarıyla ilişkilendirilmektedir. Bazı çalışmalarda ilaçlar (antiprogestanlar, antineoplastik ajanlar ve inhalan anestezikler), radyasyon, organik çözücüler, bisfenol-A ve ağır metaller gibi çevresel toksinlerin gebelik kayıplarıyla ilişkili bulunduğu belirtilmiştir (Obut ve ark., 2013). Sigara, alkol ve aşırı kahve tüketimi, gebelik kaybına hazırlayıcı çevresel faktörler olarak bilinmektedir (Parazzini ve ark., 1994). İlk

trimesterde günde 10 adetten fazla sigara içenlerde abortus riskinin 1 ila 4 kat arttığı gösterilmiştir. Anestetik gazlar, perklor etilen (kuru temizleme solventi) ve diğer organik çözücüler ile ağır metallere (civa, kurşun) maruz kalmak tekrarlayan gebelik kaybı nedenleri olarak bildirilmiştir.

2.3.1.7. Kalıtılan Trombofililer

Kan pıhtılaşma sisteminin düzenli çalışması sağlıklı bir gebelik için temel bir unsurdur. Hemostaz ve vaskularizasyon dağılımındaki anormallikler gebeliğin devamlılığında önemli rol oynayan fetoplasental dolaşımı etkilemektedir (Jauniaux ve Burton, 2005).

Kalıtısal trombofililer; pıhtılaşma faktörleri, antikoagülan proteinler (protein C, protein S, antitrombin III) ve fibrinolitik mekanizmalar arasındaki dengesizliği gösteren, pıhtı ve pıhtının ortadan kalkması arasındaki uyumsuzluk sonucu oluşmaktadır. Normal gebelik durumunda; faktör V, VII, VIII, X ve fibrinojen düzeylerinin arttığı, protein S seviyesinin azaldığı, aktif protein C'ye karşı direncin arttığı ve trombositlerin toplanmasının eğiliminin arttığı bir durumdur. Birçok genetik mutasyon kalıtsal olarak tromboza eğilimi arttırmaktadır. Bunların nedenleri arasında protein C eksikliği, protein S eksikliği, antitrombin III eksikliği, aktif protein C rezistansı, Protrombin G20210A mutasyonu, Metilen TetraHidrofolat Redüktaz (MTHFR) enziminin C667T ve A1298G mutasyonu durumlarının görülmesidir (Dere ve ark., 1998).

Kalıtısal trombofililerden en sık görüleni Faktör V Leiden mutasyonudur. İkinci sıklıkta görülen mutasyon Protrombin G20210A mutasyonudur. Mutasyonlar homozigot ya da heterozigot olabilir. Üçüncü sıklıkta görülen diğer mutasyon MTHFR enzimini kodlayan geni etkilemektedir (Foka ve ark., 2000). Protrombin mutasyonu ile ilişkili trombofil, otozomal dominant kalıtılmaktadır. Protrombin geni 11p11.2 lokusunda yer alır. Genin 3'-UTR bölgesinde bulunan 20210. nükleotidde guanin yerine adenin geçmesiyle oluşan G20210A mutasyonunun plazma protrombin miktarının artmasına neden olduğu bilinmektedir (Eminov 2006). Birtakım meta-analizler protrombin 20210G>A heterozigot mutasyonunun erken ve geç dönem gebelik kaybı riskini arttırdığını belirtmektedir. Kalıtılan trombofililer ile ilgili çalışmaların tekrarlayan gebelik kayıplarının nedenini açıklamada yetersiz kaldığı

belirlenmektedir ve bu çalışmaların artması gerektiği düşünülmektedir. Tekrarlayan gebelik kayıplarının bir kısmının trombofilisi ile ilişkili genlere ait mutasyonların kombine birikimine bağlı olabileceği de düşünülmektedir.

TGK araştırmasında kalıtsal trombofililerin rutin taraması günümüzde önerilmemektedir. Fakat kişisel öyküsünde venöz trombofilisi, 1 derece akrabalarında bilinen yüksek riskli trombofilisi varlığı ve 2. trimesterde fetal kayıp varsa kalıtsal trombofililerin araştırılması önerilebilir (Rey ve ark., 2003).

2.3.1.8. İmmünolojik Nedenler

Vücudun savunma mekanizması olan bu sistem; gerek dışarıdan gelen gerekse vücudun kendi içinde yer alan hastalık etkenlerine karşı koruma sağlamaktadır (Laird ve ark., 2003). İmmün sistem yabancı antijenlere karşı tepki yaratır, bazen hatalı olarak kendine ait antijenleride yabancı olarak algılar (otoimmün antijen). Anne kendinde normalde bulunan antijene karşı antikor oluşturmaktadır. Bağışıklık sisteminin ürettiği bu antikorlar ömür boyu vücutta kalır. Bu durum bazen tekrarlayan gebelik kaybına sebep olabilir (Gerçel ve ark., 1999).

2.3.1.9. Erkek Faktörü

Son zamanlarda tekrarlayan gebelik kaybı etiolojileri arasında erkek faktörü de önem kazanmaktadır. Bazı çalışmalar tekrarlayan düşüklerin anormal sperm morfolojisi ile ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Saxena ve Mırsro, 2008). Bunun yanında sperm parametreleri ile TGK ilişkisini desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır. DNA fragmantasyonu anomalilerinin ileri baba yaşı, toksik madde maruziyeti ve varikosel ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

2.3.1.10. Maternal Yaş

İleri anne yaşı habitüel abortusun önemli nedenlerinden birisidir. Yaşa bağlı olarak oosit sayısında azalma ve kalitesinin düşmesi gebelik kayıplarına neden olabilmektedir. 12-19 yaş arası annede bu oran %13 iken 40-44 yaş arasına gelindiğinde bu oran % 51'lere kadar yükselmektedir. İleri baba yaşıda tekrarlayan düşükler için bir faktör olabileceği belirtilmiştir.

İleri anne yaşı oosit sayısının azalması ve kalitesinde düşmeyle ilişkilidir. Yaşla ilişkili düşük riski geniş bir prospektif çalışmada şu şekilde tanımlanmıştır; 12–19 yaş %13, 20–24 yaş %11, 25–29 yaş %12; 30–34 yaş %15, 35–39 yaş %25, 40–44 yaş %51 ve 45 yaş üstü %93 (Marquard ve ark., 2010). Düşük riski çiftlerde kadınlarda 35 yaşın, erkeklerde 40 yaşın üzerinde en yüksek olarak saptanmıştır.

2.4. Kromozomların Morfolojik Yapısı

İnsan kromozomları linear yapıdadır. Kromozomlar, DNA molekülünün replikasyonu sonrasında birbirinin aynı genetik yapıda kardeş kromatidler olarak tanımlanan iki kromatidden oluşur. α -satellit DNA dizileri içeren bir sentromer ile birbirine tutunan bu iki yapıya kromozom adı verilir. Her kromatidi oluşturan çift zincirli DNA molekülünün uç bölgeleri ise telomer olarak adlandırılan tekrarlayan DNA dizileri ile birleşmiştir (Dündar, 2016).

2.4.1. Sentromer

Sentromer, kromozomların temel yapılarından birisidir. Genetik materyalin yavru hücrelere eşit dağılmasını sağlar. Kromozomlar mitotik iğ iplikçiklerine sentromerin kinetokor bölgesi ile tutunur. İnsan kromozomlarının sentromeri, α -satellit DNA olarak tanımlanan AT'ce zengin tekrar dizilerinden oluşur. Normal insan kromozomları tek sentromer içerir; fakat yeniden düzenlenmeler, translokasyonlar, parental inversiyonlar nedeniyle çift sentromerli kromozomlar oluşabilir (Başaran, 1996).

2.4.2. Telomer

Kromozomların bir diğer temel yapısı DNA molekülünün uçlarında bulunan telomerlerdir. Kromozom uçlarının sabit bir yapıda olması telomerler sayesinde gerçekleşir. Kırılan kromozom uçları başka kromozomlar ile birleşme özelliğinin oluşmasına neden olur. Bu nedenle kromozom stabilitesini sağlama da telomerin görevi oldukça büyüktür. Linear yapıdaki normal memeli kromozomları ard arda tekrarlayan heksamer dizisi (TTAGGG)_n ile sonlanır ve bu yapı telomer olarak adlandırılır (Dündar, 2016).

İnsanda tekrarlayan telomer uzunlukları farklılık gösterir. Genellikle bu uzunluk 10-15 kb arasında değişir. Telomerlerin kromozom açısından temel olarak önemli uç görevi vardır. DNA uçlarını bozulmalardan korumak, kromozom uçlarının tam olarak replike olmasını kolaylaştırmak, kromozomların çekirdek zarına tutunmasını sağlamaktır. DNA replikasyon mekanizmasına bağlı olarak DNA polimeraz enzimleri uç replikasyon problemi ile karşı karşıya kalır. Uç replikasyon problemi her bir hücre bölünmesinde telomerik tekrarların giderek kaybolmasına ve kırılmasına yol açar. Bu sorun telomeraz enzimi sayesinde düzeltilir. Telomeraz aktivitesinin hücre kültürlerinde ve normal somatik dokularda mevcut olması telomer kaybının yaşam boyu sürdüğünü göstermektedir. Telomerler kromozomların matrikse tutunmalarını sağlarlar. Tutunma için özgül telomer proteinleri gereklidir (Thompson, 2001).

2.5. Kromozomların Moleküler Yapısı

Genomik DNA türe özgü kromozom sayısına bölünmüş durumdadır. Kromozomlar son derece organize bir yapılanma içerisindedirler. Kromatin, DNA organizasyonunun temel yapı taşı olarak görülmektedir. Ökaryotik hücrelerde kromatin, genomik DNA'nın proteinlerle birliktelik oluşturması ile şekillenmiş kompleks bir yapıdadır. DNA paketlenmesinde önemli bir göreve sahiptir. Kromatin proteinlerinin büyük bir bölümünü H2A,H2B,H3 ve H4 olarak tanımlanan kor histonları oluşturur. Kor histonları küçük ve son derece korunmuş proteinlerdir. Bu dört histonun her birinden ikişer kopya bir araya gelerek kromatinin temel organizasyon ünitesini oluşturur (Dündar, 2016).

2.5.1. Ökromatin ve Heterokromatin Bölgeler

Hücre çekirdeğindeki kromatin, yapısal ve fonksiyonel olarak iki farklı durumda bulunur. Ökromatin bölgeler yapısal genlerin büyük çoğunluğunu içerirler ve tek kopya DNA'lardan oluşur. Metafaz evresinde yoğunlaşmış halde kendini gösterir. Ökromatin bölge transkripsiyonel olarak aktif olan bölümdür.

Heterokromatin bölgede ise gen yoğunluğu düşüktür ve transkripsiyonel olarak sessiz kalır. Heterokromatin bölgeler çoğunlukla tekrarlayan DNA dizilerini içerirler. Heterokromatide gözlenen yoğunlaşma kromatin fibrilinin daha sıkı paketlenmesi

sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu yoğun paketlenme RNA polimeraz'ın girişini engelleyerek transkripsiyonu baskıladığı düşünülmektedir. İnterfaz evresinde çözülmeden kalan ve bu sebeple koyu boyanan bölgelere, heterokromatin bölge adı verilir. Bu bölgeler inaktif gen bölgelerini içerir. Heterokromatin bölge Adenin ve Timin bazları bakımından zengindir. Nükleik asitçe daha zengin olan ve normal olarak boyanan iplikli kısımlar ise ökromatin bölgelerdir, bu bölgeler aktif gen içerirler ve ayrıca Guanin ve Sitozin bazları bakımından zengindir.

2.6. Kromozom Anomalileri

Sitogenetik analizlerin ilk yıllarında kromozomlar, Giemsa ya da benzeri boylarla homojen olarak tek renk boyanıyordu. Kromozomların kısa kolu “petite” kelimesinden yola çıkarak “p”, uzun kolu ise “q” simgesi ile ifade edildi. Otozomal kromozomlar 1 den 22'ye kadar numaralandırıldı, cinsiyet kromozomları ise X-Y olarak adlandırıldı.

Genetik bilginin taşındığı kromozomlar, gamet hücreleri hariç 46 adettir. 46 kromozomun 22 çiftini otozomal kromozomlar, bir çiftini ise kadınlarda XX, erkeklerde XY olmak üzere cinsiyet kromozomları oluşturur. Somatik hücrelerdeki 46 kromozom “diploid” yapıdadır ve $2n$ olarak simgelenir. Gamet hücreleri ise “haploid” sayıda (n) yani 23 kromozom içermektedir. Kromozomların gerek sayısında gerekse yapısında oluşan değişiklikler “kromozom aberasyonu” olarak isimlendirilir. 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 (Thompson, 2001).

2.7. Kromozomal Polimorfizmler

Kromozomlar morfolojilerine göre homologları ile karşılaştırıldığı zaman belli bölgelerin oldukça değişken olduğu görülmektedir. Bu bölgeler, kromozomal varyasyonların büyük bir kısmını oluşturmaktadır. Türler içinde, aynı türün bireyleri arasındaki genetik varyasyonlar polimorfizm olarak adlandırılır.

Bu polimorfizmler üç grupta incelenir. İlk grupta Y kromozomu uzun kol varyasyonu görülür ve en sık rastlanan polimorfizmdir. Y'nin uzun kolu transkribe olmayan tekrarlı bölgelerden oluşur. Erkeklerin yaklaşık %10'unda normalden kısa

veya uzun bir q kolu bulunur. Bu polimorfik bölgeler özel floresan boyalarla tespit edilebilir. İkinci grup olarak sentromerik polimorfik bölgeler görülür. Bunlar 1, 9 ve 16. kromozomların sentromerlerine yakın sekonder bir bölge (qh) içerirler. Bu qh bölgeleri kromozom 9 için 9q12 ve kromozom 16 için 16p11.1-q11.1'dir. Bu bölge heterokromatin bölgedir ve heterokromatin miktarı değişken olduğundan qh bölgesi de değişkenlik gösterebilir. Bu bölge aktif genler içermez ve bu bölgedeki farklılıklar polimorfizm olarak kabul edilir. Üçüncü grup ise satellit polimorfizmidir. Akrosentrik kromozomlardaki satellit büyüklükleri farklı olabilir (Sierra ve Stephenson, 2006).

Polimorfik bölgelerdeki artışın mayoz sırasında, sinaps aşamasında yanlış eşleşmelere ve eşit olmayan crossing-over'a sebep olabileceği düşünülmektedir (Gelehrter, 1998). Bunların dışında frajil bölgeler olarak adlandırılan, kromozomlar üzerinde bulunan kırılmaya yatkın bölgelerdeki değişiklikler de polimorfizmdir. Populasyonun yaklaşık %30'unda mevcuttur. Sadece X kromozomunun q27 bölgesindeki frajil bölge klinik olarak önemli kabul edilir.

2.8. Kromozomların Sınıflandırılması

2.8.1. Sentromer Yerlerine Göre

a) Metasentrik Kromozomlar: Sentromer, kromozomun p ve q kollarını iki eşit parçaya bölecek şekilde tam ortada konumlanmış ise metasentrik kromozom adını alır.

b) Submetasentrik Kromozomlar: Sentromer, merkezde değildir ve p kolu q koluna oranla daha kısa olan kromozom şeklidir.

c) Akrosentrik Kromozom: Sentromer, kromozomun uç kısmına çok yakın konumlanmıştır. p kolu tamamen kısalmış, satellit şeklindedir.

d) Telosentrik Kromozom: Sentromer kromozomun en uç noktasında bulunur. İnsanda telosentrik kromozom bulunmaz.

Bölünme sırasında kromozomların sentromer bölgeleri iğ ipliklerine tutunarak kutuplara doğru çekilirler. Herhangi bir sebepten dolayı sentromeri olmayan ya da bozulan kromozomlar kutuplara çekilemezler ve parçalanırlar.

2.8.2. Büyüklük ve Sentromer Konumlarına Göre

A Grubu: 1, 2, 3 numaralı kromozomlardır. Metasentriklerdir.

B Grubu: 4 ve 5 numaralı kromozomlardır. Büyük submetasentriklerdir.

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

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

E Grubu: 16, 17, 18 nolu kromozomlardır. Küçük submetasentrik grubundadır.

F Grubu: 19 ve 20 numaralı küçük metasentrik kromozomlardır.

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

Cinsiyet kromozomlarından X; C grubundadır ve submetasentrik bir kromozomdur. Y kromozomu ise G grubundadır ve akrosentrik bir kromozomdur.

2.9. Kromozom Anomalilerinin Sınıflandırılması

Kromozom anomalileri; sayısal veya yapısal olabilir, tek ya da çok sayıda kromozomu, yalnızca otozom veya cinsiyet kromozomunu ya da hepsini birden içeriyor olabilir ve farklı sıklıklarla gözlenir. Kromozom anomalileri sitogenetik sınıflandırmada yapısal anomaliler ve sayısal anomaliler olmak üzere iki grupta sınıflandırılır. Klinik etkiye göre sınıflandırma da ise dengeli kromozom anomalileri ve dengesiz kromozom anomalileri olarak adlandırılır (Dündar, 2016).

2.9.1. Dengeli Kromozom Anomalileri

Dengeli kromozom anomalilerinin yenidoğan sıklığı yaklaşık 1/500'dir. Dengeli kromozom anomalileri genetik materyalde artma veya azalmaya yol açmadığından genellikle fenotipik etki göstermezler. Dengeli yapısal yeniden düzenlenmeler, taşıyıcılarda fenotipik etki göstermese bile sonraki nesilde yüksek orandaki dengesiz gamet olasılığı nedeniyle etkilenmiş gebelik ürünü riskini artırır. Dengeli yeniden düzenlenmeler oluşurken kromozom kırıkları, aktif bir genin yapısını/fonksiyonunu bozabilir ve fenotipik bulguya yol açabilir (Gersen ve Keagle, 2005)

2.9.2. Dengesiz Kromozom Anomalileri

Dengesiz kromozom anomalileri genel anlamda genomda gen dozajını bozar ve herhangi bir değişim, fenotipin etkilenmesine yol açar. Bunun sonucunda ortaya çıkan bulgular etkilenen genlere bağlı olarak farklılıklar gösterir.

2.9.3. Yapısal Kromozom Anomalileri

Kromozomlardaki yapısal düzensizliklerin esası kromozomlarda oluşan kırılmalar ve yeniden düzenlenmelerdir. İn vitro çalışmalarda iyonize radyasyonun, viral enfeksiyonların, mutajenik kimyasal ajanların kromozom kırıklarına yol açtıkları gösterilmiştir. Kırıklar çok nadir kendiliğinden meydana gelebilir. Kırık sonucu oluşmuş yeni düzenlenmelerde genomun içeriği korunmuş ise dengeli yapısal anomali, genomun içeriğinde artma veya azalma olmuş ise dengesiz yapısal anomali olarak adlandırılır.

Yapısal kromozom anomalileri bir veya daha fazla sayıdaki kromozomda meydana gelen kırılmalar sonucunda oluşmaktadır ve ortalama 375 canlı doğumda bir görülmektedir (Gardner ve Sutherland, 2004). Kırık noktaları kırığa eğilimli “hotspot“ bölgelerde daha sık görülmektedir. Yapısal kromozom anomalilerinin nedeni, “de novo” ve “ailesel” olmak üzere 2 gruba ayrılır.

Kromozom anomalileri materyal kaybı olup olmasına göre “dengeli” veya “dengesiz” olarak sınıflandırılmaktadır. Dengeli kromozom anomalilerinde fenotipin etkilenmesi beklenmemektedir. Mikroskopik olarak dengeli görünen de novo yapısal kromozom anomalilerinde, kırık noktasının aktif bir genin yapısını bozması olasılığında ise fenotip etkilenebilir. Etkilenme riski kırık sayısı arttıkça artmaktadır (Gersen ve Keagle, 2005).Yapısal kromozom anomali türleri sekiz başlık altında açıklanmıştır.

2.9.3.1. Translokasyon

Translokasyon kromozomlar arasında kromozom segmentlerinin değişimidir. Bir kromozomun veya kromozom segmentinin başka bir kromozom üzerine yerleşmesi translokasyon olarak tanımlanır. Resiprokal, Robertsonian ve İnsersiyonel translokasyon olmak üzere temel üç tip translokasyon vardır.

2.9.3.1.1. Resiprokal Translokasyon

Homolog olmayan iki kromozom arasında karşılıklı parça değişimi “resiprokal translokasyon” olarak tanımlanır. Kromozomlardaki kırılmalar sonucu kopan parçaların karşılıklı yer değiştirmesinden meydana gelir. Genellikle en az iki kromozom arasında, iki kırık oluşumu ile meydana gelir ve toplam kromozom sayısı değişmez. Resiprokal translokasyonlarda dengesiz gamet oluşturma riski %85 gibi yüksek bir oran olduğundan TGK ve mental retardasyon öyküsü gözlenir (Gardner ve Sutherland, 2004).

2.9.3.1.2. Robertsonian Translokasyon

İki akrosentrik kromozomun kısa kollarını kaybederek sentromer veya sentromere yakın bölgelerden birleşmesiyle oluşur. Robertsonian translokasyon taşıyıcılarında toplam kromozom sayısı 45'e inmektedir. Robertsonian translokasyonlarının genel popülasyonda görülme sıklığı 1/1000'dir. Akrosentrik kromozomların kısa kolları çok miktarda satellit DNA tipleri ve ribozomal RNA genleri içermektedir (Başaran, 1996). Bu nedenle kısa kolların kaybı fenotipi etkilememektedir.

Dengeli robertsonian tipi translokasyon taşıyıcılarının dengesiz gamet verme olasılıkları yüksektir. Bu nedenle trizomik ve monozomik zigotlar ortaya çıkabilir (Simpson ve ark., 1992). 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, 2004).

2.9.3.1.3. İnsersiyonel Translokasyon

Homolog olmayan iki kromozomdan birinde iki noktadan, diğerinde bir noktadan kırılma gerçekleşir. İki kırık arasında kalan parça homolog olmayan diğer kırık kromozoma giderek eklenir. Bu tip resiprokal (karşılıklı) olmayan translokasyona insersiyonel tip translokasyon denir. Bu tip mutasyonlar 3 kırık gerektirdiği için nadir görülür (Dündar, 2016).

2.9.3.2. İnverson

İnverson bir kromozomda iki kırık oluşması ve kırıklar arasındaki segmentin 180 derece dönerek, kırık noktalarıyla yeniden birleşmesi sonucu oluşur. İnversona uğrayan segment sentromer içermiyorsa “parasentrik”, sentromer içeriyorsa “perisentrik” inverson olarak adlandırılır. Bant yapıları kadar kromozom kollarının oranı da değiştiğinden perisentrik inversonlar sitogenetik olarak daha kolay tanınırlar (Pettenati ve ark., 1995)

İnversonlar dengeli yeniden düzenlenmeler oldukları için genellikle taşıyıcılarda fenotipik bulguya yol açmazlar ancak gelecek kuşaklara aktarımda genetik dengesizliğe yol açabilirler. Mayoz I’de normal kromozom ile ters dönmüş kromozom segmenti arasında homolog kromozom eşleşmesi olabilmesi için bir ilmek oluşumuna ihtiyaç vardır. Bu ilmek içinde rekombinasyon olduğu zaman, rekombinasyon olayının gerçekleştiği bölgeye bağlı olarak dengeli kromozom kuruluşuna sahip gametler ile dengesiz gametler oluşur.

Perisentrik inverson taşıyıcılarının dengesiz karyotipli çocuk sahibi olma riski %5-10 civarındadır. Perisentrik inversonlarda kromozomun p/q kol oranında değişim olduğundan sitogenetik analizde saptamak daha kolaydır. Kırık noktaları perisentromerik alanlardaki heterokromatin bölgeleri içeren inversonlar fenotipi etkilemezler ve polimorfik olarak tanımlanırlar. En sık görülen perisentrik inverson, 9 numaralı kromozomun p11-q12 heterokromatin bölgesini içeren inversondur. Perisentrik inversonların polimorfik olarak tanımlananlar haricinde toplumda görülme insidansı %0,12-0,7 olarak belirtilmektedir (Nussbaum ve McInnes, 2015)

2.9.3.3. Delesyon

Delesyon bir kromozom segmentinin kaybolmasıdır ve birey normal homologdaki segmentte taşınan genetik bilgi açısından monozomiktir. Delesyonun klinik etkisi, delesyona uğrayan segmentin büyüklüğü, bu bölgedeki genlerin sayısı ve fonksiyonu ile ilişkilidir.

Sitogenetik olarak gözlenebilir otozomal delesyonların insidansı 1/7000 canlı doğumda birdir (Mueller ve Young, 1995). Ancak moleküler sitogenetik tekniklerle tanımlanabilen submikroskopik delesyonlarla oran artmaktadır. Delesyonlar

kromozomun uç bölgesinde gerçekleşirse terminal, kromozom kolunda gerçekleşirse ara delesyon olarak adlandırılır.

Delesyonlar kromozomun kırılması ve asentrik segmentin kaybı ile oluşabildiği gibi, homolog kromozomlar veya kardeş kromatidler arasındaki eşit olmayan crossing-over sonucunda ya da dengeli translokasyon/inversiyon taşıyıcılarının verdiği dengesiz gametler sonucu da oluşabilir. Çok büyük delesyonlar, özellikle toplam genomun %2'sinden fazlasının kayba uğradığı kromozom anomalileri şeklinde görülen delesyonlar genellikle yaşarla bağdaşmaz ve düşük ile sonlanırlar (Thompson ve ark., 1991).

2.9.3.4. Duplikasyon

Duplikasyon, bir kromozom segmentinin, kendisinin trizomisine yol açacak şekilde artmasıdır. Duplikasyonların klinik etkisi delesyonlara oranla daha azdır. 5 mb'dan daha büyük delesyon ve duplikasyonlar klasik kromozom analizlerinde tanınabilir ancak submikroskopik delesyon ve duplikasyonlar moleküler sitogenetik teknikler yardımıyla gösterilebilir. Duplikasyonların klinik bulguları delesyonlara göre daha hafif olduğundan daha az görülmektedirler. Bazı durumlarda bir gamette duplikasyon olması kromozomal dengesizlik (parsiyel trizomi) ile sonuçlanabilir (Gardner ve Sutherland, 1996).

2.9.3.5. İzokromozom

İzokromozom, kromozomun bir kolunun kaybolması ve diğer kolunun duplike olmasıyla ortaya çıkan, ayna simetrisi gösteren kromozomlardır. Başka bir deyişle bir kromozom kolunun ters duplikasyonu ile oluşmaktadır. Kromozomun mayoz II de sentromerden transvers bölünmesi ile ya da sentromere bitişik bölgede kardeş kromatidler arasında translokasyon oluşması sonucu ortaya çıkar.

İzokromozomun 46.kromozom olarak bulunduğu durumlarda, bir koldaki genetik materyalden tek bir kopya (parsiyel monozomi), diğer koldaki genetik materyalden 3 kopya (parsiyel trizomi) bulunur. X kromozomunun uzun kolunun izokromozomu en sıklıkla görülür. Bunun dışında 5p,8p,9p,12p,18p ve 18q sıklıkla saptanan izokromozomlardır (Gersen ve Keagle, 2005).

2.9.3.6. Ring Kromozom

Bir kromozomun p ve q kollarında oluşan kırık noktalarının birleşmesi sonucu kromozom halka şeklini alır ve ring (halka) kromozomu olarak adlandırılır. Ring kromozom en çok X kromozomunda görülür ve farklı büyüklükte olabilir. Ring kromozomlar 46. kromozom olarak görülebildiği gibi 47. kromozom olarak da bulunabilir. 46. kromozom olarak bulunduğu durumlar delesyonlara, 47. Kromozom olarak bulunduğu durumlar ise trizomilere yol açar.

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 ve Sutherland, 1996). Ring kromozomda delesyon segmentinin büyüklüğü, mozaisizm, kırık noktaları klinik fenotipi etkileyen unsurlardandır (Uysal, 2014). Eğer ring kromozom bir otozomal kromozomda oluşursa klinik tablo ağır, fakat cinsiyet kromozomları ile ilgili ise daha hafif bulgular gözlenir.

2.9.3.7. Disentrik Kromozom

Disentrik kromozom, nadir görülen bir kromozom anomalisidir. Her biri bir sentromere sahip iki kromozom kolunun birleşmesiyle oluşur. Disentrik kromozomlar iki sentromeri olmasına rağmen, bir sentromerin inaktif olması veya kromozomların kutuplara çekilmesi sırasında birbiri ile uyumlu bir şekilde kutuplara gitmesi durumları oluşursa bu kromozomlara psödodisentrik kromozomlar denir (Gersen ve Keagle, 2005). En fazla cinsiyet kromozomları ve akrosentrik kromozomlarda görülür. Disentrik kromozomların çoğu robertsonian translokasyonlarla ilişkili bulunmuştur.

2.9.3.8. Marker Kromozom

Marker kromozomlar, klasik bantlama yöntemleri ile tanımlanamayan, genellikle küçük kromozomlardır. Sıklıkla mozaik formda bulunurlar. Bu kromozomlar genellikle normal kromozom kuruluşuna ilave olarak bulduklarından ekstra yapısal anormal kromozomlar olarak da tanımlanırlar. De nova prenatal sıklığı yaklaşık olarak 1/2500 olarak verilmektedir. Küçük ve belirgin olmayan yapıları nedeniyle kökenlerinin belirlenmesi için genellikle FISH ve MikroArray-CGH

analizlerine ihtiyaç duyulur. Marker kromozomlar bireylerde fenotipik bulguya neden olabileceği gibi normal fenotipli bireylerde de görülmektedir. Otozomal kökenli markerlar içinde en sıklıkla (~ %40) görülen, 15. kromozom kökenli olan disentrik kromozomlardır (Tekkuş, 2016).

2.9.4. Sayısal Kromozom Anomalileri

Normal diploid kromozom sayısındaki ($2n:46$) artış veya azalmalar sayısal kromozom anomalisi olarak değerlendirilir. Sayısal kromozom anomalileri haploid kromozom takımının katları şeklindeki artışlarla ya da diploid kromozom sayısından bir veya birkaç kromozom eksik ya da fazla olmasıyla ortaya çıkar. Genellikle gamet hücrelerinde oogenez veya spermatogenezde I. ya da II. Mayoz bölünme sırasında, nadir olarak görülen postzigotik mitotik bölünme sırasında oluşan hatalar (nondisjunction veya anafaz gecikmesi) neticesinde, kromozom sayısında artış ya da azalma ile kendini gösteren anomalilerdir. Buna bağlı olarak sayısal kromozom anomalileri poliploidi ve anöplodi olmak üzere 2 gruba ayrılır (Dündar, 2016).

2.9.4.1. Anöplodi

Kromozom anomalilerinin en büyük grubunu oluşturan anöplodiler, klinik olarak tanımlanmış gebeliklerin en az %5'inde görülür. Anöplodi, diploid yapıdan bir veya birkaç kromozomun fazlalığı ya da eksikliğidir. Bir kromozomun fazlalığı trizomi, kaybı ise monozomi olarak tanımlanır. Otozomal veya cinsiyet kromozomlarının trizomileri görülebilir ancak otozomal trizomiler trizomi 21 hariç yaşamla bağdaşmazlar. Bu nedenle de en çok spontan abortus materyallerinde görülür. Tüm otozomal monozomiler letaldir hatta spontan abortus materyallerinde dahi görülmezler. Turner sendromunda görülen X kromozomunun monozomisi yaşamla bağdaşan tek örnektir.

Anöplodiden iki farklı mekanizma sorumlu tutulmaktadır.

Non-disjunction (Kromozomların Ayrılmaması): I. veya II. mayoz bölünme sırasında kromozom veya kromatidlerin sentromerlerinden ayrılarak birer kutba gitmesi gerekirken, kromozomlar sentromerlerinden ayrılmayarak sadece bir kutba giderler. Bu olaya kromozom ayrılmaması denir (Başaran 1996, Yakut 2000). Sonuçta oluşan hücreden birinde aynı kromozomdan iki tane bulunurken, diğer

hücrede o kromozomdan bulunmaz. Aynı kromozomdan iki tane bulunan gamet hücresi normal kromozom kurulumuna sahip bir gamet ile birleşecek olursa, oluşacak olan yeni gamet hücresi kromozomdan iki yerine üç adet bulunduracağından trizomik (örn; Down sendromu-46,XX/XY+21, Klinifelter sendromu-46XXY) olacaktır. Kromozomu hiç taşımayan gamet, normal kromozomlu gametle birleşecek olursa, oluşacak olan gamette bir adet eksik kromozom olacağından monozomik (örn: Turner sendromu- 45,X) olacaktır.

Anafaz Gecikmesi: Kromozomların anafazda kutuplara göçü sırasında oluşan bir hata sonucu kromozomlardan bir tanesi yeni meydana gelen yavru hücrelerin dışında kalmakta veya diğer grup kromozomlar ile beraber diğer hücrelere gitmektedir. Non-disjunktion sonucunda oluşan hücrelerin yarısı mutlak suretle monozomik, diğer yarısı da trizomik olmaktadır. Ancak anafaz gecikmesi sonucunda oluşan hücreler için 2 ayrı olasılık söz konusudur. 1-Yarısı normal, diğer yarısı monozomik, 2-Yarısı trizomik, diğer yarısı monozomik.

2.9.4.2. Poliploidi

Poliploidi, haploid kromozom takımının (n:23) fazladan bulunması durumudur. Triploidi, 69 kromozom ile 3 haploid kromozom takımının bulunması, tetraploidi ise 92 kromozom ile 4 haploid takımının bulunması durumudur. Triploidi, tanımlanmış gebeliklerin %1-3'ünde, 1.trimester spontan abortusların %20'sinde görülür. Ovumun 2 ayrı sperm tarafından döllenesi, ovumun diploid kromozom taşıyan sperm tarafından döllenesi, polar cisimciğin atılamaması triploidi oluşumundan sorumlu üç mekanizmadır (Gardner ve ark., 2011).

2.10. Kompleks Kromozom Anomalileri

2 veya daha fazla kromozom anomalisini ve en az 3 kırık noktasını içeren kromozom anomalileri kompleks kromozom anomalileri (CCR: complex chromosomal rearrangements) olarak tanımlanmaktadır (Pai ve ark., 1980). Literatürde saptanan CCR'ların çoğu de novo gelişmekte ve spermatogenez sırasında oluşmaktadır. Nadiren görülen ailesel olgularda ise sıklıkla maternal kalıtım saptanmaktadır (Gardner ve Sutherland, 2004). Resiprokal translokasyonlar gibi

distal segmentleri veya insersiyonlarda olduğu gibi intersisyel segmentleri içerebilir. Bir inversiyon veya translokasyon aynı kromozomda yer alabilir.

2.11. Mozaisizm

Aynı bir zigottan gelişen ve bir organizmayı oluşturan hücrelerin aynı genomu taşıması beklenir. Ancak bazen bir organizmada iki veya daha fazla farklı kromozom yapısına sahip hücreler birlikte bulunabilir. Bu durum, aynı zigottan köken alan hücrelerde postzigotik bölünmeler sırasında ortaya çıkan mutasyonlarla oluşmuşsa “mozaisizm”, farklı zigot kaynaklı ise “kimerizm” olarak adlandırılır.

Mozaisizmin en önemli nedeni, başta ayrılamama olmak üzere postzigotik mitotik hatalardır. Örneğin trizomi 21’li bir zigot, mitoz bölünmeler esnasında fazla kromozomunu kaybederek 46/47,+21 mozaiyi olarak gelişimine devam edebilir. Mozaisizmin klinik etkileri mozaisizmin ortaya çıkış zamanı, farklı genetik yapıya sahip hücrelerin oranı, dokulara dağılımına göre değişim gösterir.

Mozaisizm prenatal tanıda saptandığında, gelişebilecek fenotipik etkileri değerlendirmek sıkıntılı bir süreç oluşturmaktadır. Kültür edilmiş amniyositler ve lenfositlerdeki kromozom anomalisi oranları, embriyodaki diğer dokulardaki oranlardan farklılık gösterebilir. Kromozom ayrılmama olayının ortaya çıkış zamanı, kromozom anomalisinin türü, mozaisizm içeren dokuların tipi ve kromozom anomalisi oranı mozaisizmin fenotipik etkilerini değerlendirirken önemli unsurlardır (Nussbaum ve ark., 2015).

2.12. Kromozom Analiz Yöntemleri

2.12.1. Sitogenetik Yöntemler

2.12.1.2. Metafaz Eldesi – Kısa Süreli Hücre Kültürleri

Kromozomlar olgun eritrositler hariç tüm hücrelerin nukleusunda bulunmasına rağmen, hücre döngüsünün mitoz aşamasında paketlenerek kısaltıldıkları için mikroskopla değerlendirilebilir hale gelir. Kısa süreli periferik kan lenfosit kültürleri kaliteli ve yeterli sayıda metafaz elde edilmesine olanak sağlayan postnatal kromozom analizlerinde güvenilir bir yoldur. Kısa süreli lenfosit kültürü fetal kord kanı örneklerinde de uygulanır.

Kısa süreli hücre kültürü, 1-2 ml heparenize steril periferik kan örneğindeki T lenfositlerinin fitohemaglutinin gibi bir mitojen ile uyarılması ve bu hücrelerin, tüm kimyasal gereksinimlerini karşılayan 3-5 ml besi yerinde 37° C’de inkübe edilmesi sürecidir. Uyarılan lenfositlerle 72 saatte maksimum hücre sayısına ulaşılır, bundan sonra hücre ölümleri başlayacağından kültür süresi sınırlıdır. Bu kültürlerle 70-71. saatte kolşisin gibi mitotik ağın oluşumunu bozan bir ajan ilave edilerek hücre bölünmesi metafaz aşamasında durdurulur ve metafazdaki hücre sayısı artar. Kültür süresinin sonunda süspansiyon santrifüj edilir ve süpernatant atıldıktan sonra çökelen hücrelerin üzerine hipotonik bir çözelti eklenerek hücrelerin osmotik olarak şişmesi ve nükleus içindeki kromozomların arasına sıvı girerek ayrışması sağlanır. Ortam koşullarına bağlı olarak değişen kontrollü bir süre sonunda hipotonik çözelti uzaklaştırılır ve hücreler Carnoy fiksatif adı verilen 3 metanol: 1 asetik asit solüsyonu ile fikse edilir. Böylece preparatlar hazır hale getirilir. Preparatlar kurutulularak kromozom/metafazlar boyama ve bantlama veya moleküler sitogenetik tekniklerin uygulanması için hazır hale gelir (Tekkuş 2016, Uysal 2014).

2.12.1.3. Kromozom Bantlama Teknikleri

Kromozomların mikroskop ile görüntülenebilmesi için boyanması gerekmektedir. İlk olarak kromozomlar Giemsa, Leishman veya Orsein ile boyandı, ancak 70’lerin ilk yıllarında uygulanan bu tekniklerle kromozomlar düz boyanmaktaydı ve değerlendirmeler büyüklük ve sentromer pozisyonuna göre yapılabilmekteydi. İnsan sitogenetiğindeki en önemli aşamalardan biri hipotonik çözeltinin kullanılması, bir diğeri ise bantlama tekniklerinin geliştirilmesidir. Giemsa (G) bantlama, reverse (R) bantlama teknikleri her bir insan kromozomunun bütünüyle tanımlanmasına imkan verirken; C-boyama, NOR-boyama gibi diğer bantlama yöntemleri kromozomların belirli bölgelerinin daha iyi tanımlanmasına imkan sağlar (Dündar, 2016).

2.12.1.4. G bantlama

G bantlama bugün dünyada klinik sitogenetik laboratuvarlarında en yaygın kullanılan bantlama tekniğidir. Bu bantlamada kromozomlara önce denatüre edici bir ajan veya bir proteolitik enzim (trypsin, pankreatin) ile muamele edilir ve DNA’nın

histon/nonhiston kılıfı uzaklaştırılır, sonra Giemsa boya ile boyanır. Giemsa, çift zincirli DNA'nın boşluklarına girer ve takip eden yıkamalarla DNA'nın yoğun sarmalları içindeki Giemsa partikülleri kalırken gevşek sarmal bölgelerindeki partiküller uzaklaştırılarak G bantları ortaya çıkarılır. G pozitif bölgelerin özellikle daha az aktif gen içerdiği, G negatif bölgelerin ise daha fazla klinik önem taşıdığı bilinmektedir.

2.12.1.5. Karyotip Analizi ve Standartları

Her kromozomun bant kalıbı özgündür ve homolog kromozom çiftleri aynı bant kalıbını gösterir. Kromozom ve karyotip analizi bu bant kalıbının homologlar arasında ve normal kalıp ile karşılaştırılması ile yapılır. Bantlanmış kromozomların standardize edildiği haritalar "idiyogram" olarak adlandırılır. Bantlamalarla insan kromozomlarının tanımlanması "International Standing Comitte on Human Cytogenetic Nomenclature, ISCN" sistemi uyarınca yapılır. Bu sisteme göre kromozomların p ve q kollarında bantlama teknikleri ile oluşturulan bantlar, büyüklüklerine göre sentromerden telomere doğru numaralandırılır. Kromozom boyu uzadıkça kısa kromozomda tek bir bant olarak algılanan bölgelerdeki ara bantlar görünür hale gelir ve bunlar ikinci basamak olarak numaralanır. Bu standardizasyon sistemi kromozomların ve kromozom anomalilerinin tam ve doğru olarak tanımlanmasını mümkün kılar ve düzenli aralıklarla yenilenir.

2.12.2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler

Klasik sitogenetik yöntemlerde HRB (High Resolution Banding – Yüksek Çözünürlükte Bantlama) tekniği kullanılsa bile 8-10 Mb büyüklüğündeki anomalilerin tanısına imkan sağlamaktadır. Moleküler biyoloji ve genetik alanındaki gelişmeler prob adı verilen tek zincirli DNA moleküllerinin (<3 Mb) eldesine ve klasik tekniklerle görülemeyecek kadar küçük anomalilerin tüm genomda araştırılmasına olanak sağladı.

2.12.2.1. Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH) tekniği, floresansla işaretlenmiş tek zincirli DNA problemleri ile denatüre edilmiş kromozomal DNA'nın hibridizasyonu

esasına dayanır ve hibridizasyon işlemi metafaz kromozomlarında olabileceği gibi interfaz nükleuslarındaki DNA üzerinde de uygulanabilir. Özgün bir DNA bölgesi bilinen bir floresanslı boya ile işaretlenerek, hedef DNA/kromozomlar ile hibridizasyona sokulur daha sonra nükleik asit boyaları (örneğin DAPI) ile boyanır ve hibridizasyonun gerçekleştiği bölgeler floresans mikroskopla incelenir. Son 20 yıl içinde FISH uygulamaları pre ve postnatal klinik tanıda çok geniş kullanım alanı bulmuştur. Sitogenetik ile moleküler genetik arasında bir köprü görevi yapan FISH tekniği sitogenetik tanıda önemli bir yerdedir (Akın ve Yüce, 2004). FISH, standart bantlama teknikleri ile tanımlanamayan 5mb dan küçük kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyonlar, duplikasyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Genomda istenilen hedef DNA bölgesinin floresan veren DNA veya RNA probları ile boyanarak “in situ” olarak gözlenmesine imkan sağlamaktadır. Florokrom ile işaretlenmiş DNA dizilerine prob adı verilir. Kullanılan bu oligonükleotid proplar sayesinde submikroskopik anomalilerinin varlığı tespit edilebilmektedir.

Basit olarak FISH çalışma basamakları şu şekildedir; (Uysal, 2014)

- Hedef DNA (metafaz kromozomu ya da interfaz nükleusu) ve prob hazırlanır.
- Hedef DNA ve prob yüksek ısıda denatüre edilir. Böylece DNA'nın çift zincirli yapısı açılarak tek zincirli konuma gelir.
- Hedef DNA ve prob 37°C'de hibridize olur. Bu aşamada proplar hedef kromozom üzerindeki komplementeri oldukları bölgeye ya da bölgelere bağlanır.
- Hibridizasyon süresi bitiminde non-spesifik bağlanmalardan ve artefaktlardan kurtulmak için çeşitli sıcaklık ve yoğunluklardaki tuz veya deterjan türevi maddelerle yıkama işlemi gerçekleştirilir. (Post- hibridizasyon)
- Kromozomlar zıtlık oluşturan renklerle (DAPI- 4-6diamino-2-phenylidole/ Antifade) boyanarak görünür hale getirilir.
- Floresans mikroskop yardımı ile incelenir.

Sitogenetikte kullanılan FISH tekniğinin bazı avantaj ve dezavantajları vardır (Yakut ve ark., 2002). Avantajları;

- İyi kalitede, hızlı ve güvenilir sonuç elde edilebilir.
- DNA veya RNA'nın yapısının bozulmadan incelenmesine olanak sağlar.
- Mozaisizm tanısının konmasında etkili bir yöntemdir.
- Bölünmeye hazırlık evresinde (interfaz) olan bir hücreden sonuç elde edebilme kolaylığı sağlamaktadır.

Dezavantajları ise;

- Tespit edilen anomaliler seçilen prob ile sınırlıdır.
- Birden fazla anomaliyi aynı anda tespit etme olanağı sağlamaz.
- Parafin kesitler ya da solid dokularda daha zor sonuç elde edilebilir.
- Denatürasyon aşamasında uygun sıcaklık kullanılmadığı takdirde parçalı sinyal elde olasılığı vardır. Bu durum doğru bir analiz yapmayı zorlaştırabilir.
- D ve G grubu kromozomlarda satellit DNA olduğundan kısa kollarında her zaman net sinyaller alınmayabilir.
- Analiz için karanlık ortam ve floresans ışıklı mikroskop olması gereklidir.

2.12.2.2. Prob Çeşitleri

Hedef kromozom ya da kromozom bölgesine ve kullanım amacına bağlı olarak farklı prob çeşitleri vardır. Bunlar;

2.12.2.3. Tüm Kromozom Boyama Problemleri

Bir kromozomun tümünü kapsayacak şekilde farklı bölgelerine özgün DNA dizilerinden oluşturulan prob karışımı ile kromozomun p terminalinden q terminaline kadar olan bölgenin boyanması sağlanır. Her kromozom kolunu ayrı renkte boyayabilen kromozomun koluna özgü problemler ya da kromozomların belli bantlarını veya tüm bantlarını ayrı renkte boyayabilen bant spesifik problemler bulunmaktadır. Kromozom ya da kromozom kollarının rahatlıkla tanımlanmasını sağlayan problemlerdir (Uysal, 2014).

2.12.2.4. Tekrarlayan Dizi Problemleri

İnsan DNA'sı büyük ölçüde tekrarlayan diziler içermektedir. Bu tekrar dizileri ve satellit bölgeleri toplam genomun %10-20'sini oluşturmaktadır. Kromozomların

sentromerik ya da perisentromerik bölgelerinde 105–106 baz çifti uzunluğunda tekrar dizileri vardır. Bunlar alfa-satellit, beta-satellit ya da diğer satellit DNA dizilerinden oluşur ve her kromozom için spesifiktir (Manuelidis, 1981). Tekrarlı dizilere özgün problemler; “sentromerik”, “beta satellit”, “klasik satellit” ve “telomerik” problemler olarak gruplandırılır. Sentromere yakın bulunan alfa-satellit problemleri genellikle güçlü sinyaller verirler. Çünkü kromozomun sentromer bölgesinde çok yoğun tekrarlayıcı DNA dizileri vardır. Kromozomların numaralandırılması, monozomiler, trizomiler, cinsiyet kromozomları ve fetal anöploidilerin hızlı tanısı için kullanılır. Beta satellit problemler, perisentrik heterokromatin bölgelere, akrosentrik kromozomlara ve 9. kromozoma lokalizedir. Klasik satellit problemleri, AATGG tekrar dizileri ile bağlantılı olarak 1, 9 ve 16. kromozomların perisentrik heterokromatin bölgelerine ve Y kromozomunun uzun koluna özgü DNA dizilerinden oluşur (Willard, 1990). Telomerik problemler ise kromozomların terminal bölgelerinin tanımlanmasını sağlayan problemlerdir. Telomer bölgeleri, GTG bantlama ile açık renk boyanan uç bölgelerdir ve bu nedenle olası bir parça değişiminin tanınması oldukça zordur. Hücre yaşlanması, kromozomal yeniden düzenlemeler ve delesyonlar için bu problemler kullanılır. Her kromozoma özgü telomerik prob bulunmaktadır.

2.12.2.5. Lokus Spesifik Prob

Mikrodelesyon ya da duplikasyonları (DiGeorge Sendromu, Miller-Dieker Sendromu, Prader Willi/Angelman Sendromu vb.) tespit etmek ve gen lokalizasyonunu belirlemek için kullanılan bir gen/lokus bölgesi problemleridir. Tümör genetiğinde de sıklıkla kullanılan prob çeşididir.

2.12.3. Mikroarray

2.12.3.1. Array-CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu)

Genom boyu dengesiz kromozom anomalilerinin araştırılmasında kullanılan bir diğer yöntem de normal ve anomalili genomun hibridizasyonu esasına dayanan “karşılaştırmalı genomik hibridizasyon” (Comparative Genomic Hybridization, CGH) yöntemidir. CGH tekniğinde hastadan ve normal kontrolden elde edilen DNA örnekleri farklı floresans boyalarla işaretlenir ve normal metafaz kromozomları üzerinde hibridize edilir. Kromozomlar üzerindeki iki boyanın floresans yoğunlukları

arasındaki farklılıklar, genomik segmentlerin kazanç ve kayıplarını gösterir. CGH yaklaşımı, insan genomunun belirli segmentlerinden oluşan DNA problemlerinin cam lam üzerine sabitlenmesi, incelenecek DNA ve kontrol örneklerinin farklı işaretlenerek eş zamanlı slayt halinde, sabitlenmiş oligo problemler üzerinde hibridize edilmesi esasına dayanan bir yöntemdir. Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu, kopya sayı varyantlarının tespiti ile bunun boyutlarını ve kayıp-artış bölgelerindeki hastalıkla ilişkili olabilecek genleri saptamaya yönelik ileri analiz yöntemidir (Redon ve ark., 2006). Referans DNA ile hasta DNA'sı arasındaki yüzlerce nükleotit farklılıkları saptayan, varsa mikrodelsiyon ve duplikasyonları ortaya çıkaran bir tekniktir.

Geleneksel sitogenetik ile gözlemlenemeyen submikroskopik aberasyonları tespit etme açısından yüksek rezolüsyon sağlayan bir tekniktir. FISH problemleri bölge spesifik oldukları için tüm kromozomlardaki aberasyonların incelenmesi açısından uygun bir teknik değildir. MLPA yöntemi de bölge spesifik bir tekniktir ve her kromozomun incelenmesine olanak sağlamadığı için bu aşamada uygun değildir. Array CGH, FISH ve MLPA yöntemlerine göre daha pahalı bir yöntem olmasına karşın bireylerdeki mikrodelsiyon, duplikasyon gibi anomalileri göstererek ve bu anomalileri yüksek bir çözünürlükte saptayabildiği için diğer yöntemlere göre tanı şansı çok daha yüksektir. Bununla birlikte dengeli kromozomal anomaliler içerisindeki inversiyonları, poliploidi, düşük seviye mozaizmlerini ve resiprokal translokasyonları tespit edememektedir.

Kromozomlarda meydana gelen delesiyon, duplikasyon, insersiyon ve translokasyonlar birçok anomaliye sebep olmaktadır. Bu anomalilerin teşhisi için birçok yöntem geliştirilmiştir.

Araştırmacılar, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon prensibini mikroarraylerin kullanımı ile birleştirmişlerdir (Schen et al., 1995). Kromozomal aberasyonların her bir kromozomda, ayrı ayrı incelenebilmesini sağlayan array CGH yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem ile moleküler boyutta karyotipleme yapılabilmektedir. Konvensiyonel sitogenetik ve moleküler analizlerle tespiti mümkün olmayan kopya sayı varyantlarını, hastalığa neden olan spesifik genlerin belirlenmesini ve kromozomal anomalinin boyutunu teşhis etmektedir. Klasik sitogenetikteki saptanan aberasyonların iki katı kadar daha fazla anomali teşhis edilmektedir (Bejjani ve

Shaffer, 2006). Mikroarray teknolojisi, Southern Blot tekniğinden temel alınmıştır. Bu yeni teknikte membran yerine camın kullanılması, radyoaktivitenin yerini fluoressan işaretlerin alması ve bağlanmayı sağlayacak yöntemlerin daha hassas hale gelmesi çalışmaların verimi ve elde edilen bilgilerin miktarını arttırmıştır.

2.12.3.2. Array CGH Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları

Array CGH yöntemi dengesiz kromozomal anomalilerini tespit etmede oldukça etkilidir. Pratik olarak a-CGH sıklıkla normal olarak rapor edilen karyotip analizlerindeki gözlemlenemeyen anomalileri ortaya çıkarmaktadır. Tipik olarak FISH ve MLPA yöntemlerinde bölgeye özgü için çoklu problemler kullanılır. Bu nedenle genom boyu anomalileri analiz edebilme güçleri yoktur. FISH analizlerinin tanı vermesi yüksek olmasına rağmen dezavantajları da vardır.

Array CGH'in en temel avantajı yüzlerce FISH ya da MLPA testinin vereceği bilgiyi tek bir array CGH analizinin vermesidir. Karyotip analizinin aksine a-CGH bölünmüş hücrelere ihtiyaç duymaz (Schen et al., 1995).

Array CGH'in dezavantajları ise temelde dengeli inversiyon ve translokasyonları, özellikle resiprokal translokasyonları ve ring kromozomlarını yakalayamamasıdır. Dengeli translokasyonlar ise her 250-500 bireyde bir görülmektedir. Bununla birlikte G bantlamaya göre çok daha pahalı, emek ve tecrübe gerektiren bir yöntemdir.

Genetik bozukluklar sadece kromozomal dengesizliklerle değil, DNA'daki nokta mutasyonları olan tek bir baz çifti değişikliği ile de meydana gelebilir. Array CGH bu kadar küçük değişiklikleri tespit edememektedir. Bunlara ek olarak array CGH ile ortaya çıkan kopya sayı değişiklikleri fenotipik olarak normal bireylerde de saptanmaktadır. İki normal insandaki kopya sayı değişikliklerine bakıldığında 50 ile 100 Mb'a kadar farklılık gösterebilmektedir.

2.12.3.3. CHG Array ve CGH+SNP Array

Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu arrayleri (CHG); kopya sayı değişikliklerini ve nötral aberasyonların genomdaki farklılıklarını saptar. Delesyon ve duplikasyonları belirleyerek, o bölgedeki gen kayıpları ya da artışlarının hangi anomalilere sebep olacağını belirlemek açısından kullanılır. Diğer bir deyişle

etiyojisi bilinen ya da bilinmeyen durumları saptamak için ve ayrıntılı kopya sayı varyantlarını elde etmek adına tasarlanan mikroarray tipidir.

SNP (tek nükleotit polimorfizmi) arrayleri özellikle popülasyonda genetik varyasyonları belirlemek açısından özelleştirilmiş genotip araştırma yöntemleridir. Genellikle adli tıp alanında, hastalıklara genetik yatkınlığın bulunmasında ya da DNA temelli ilaç çalışmalarında kullanılırlar (Pinkel ve Albertson, 2005).

2.13. Kromozom Anomali Sıklıkları

Kromozom anomalilerinin klinik bulguları, normal fenotipten çok ağır klinik etkilere ve hatta letaliteye kadar uzayan geniş bir dağılım gösterir. Örneğin spontan abortus materyali çalışmalarında ağır trizomiler, triploidi gibi anomaliler sıklıkla saptanırken, tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü nedeniyle incelenen normal fenotipli bireylerde dengeli kromozom anomalileri görülür. Zigot aşamasından başlayarak anomali oranları ilerleyen zamanla azalmaktadır. Kromozom anomalilerin tanısında kullanılan tekniklerin hassasiyetlerinin artması ile de saptanan anomali oranlarında artış gözlenmektedir (Dündar, 2016).

2.14. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Görülen Çiftler

Dengeli yapısal kromozom anomalisi taşıyıcıları fenotipik olarak normal olduklarından, ancak tekrarlayan gebelik kaybı gibi endikasyonla saptanabilir. Bireylerin taşıyıcı olup olmadığının belirlenmesi fetal kaybın etiyojisinin açıkladığı gibi oluşacak gebeliklerde tıbbi seçenekler konusunda ailenin bilgilendirilmesine, ailedeki diğer taşıyıcıların belirlenerek genetik danışma almalarına olanak sağlar. İki veya daha fazla gebelik kaybı bulunan çiftlerde yapılmış pek çok sitogenetik çalışma vardır (Dündar, 2016).

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Olgu Seçimi

Çalışmamıza 2014-2016 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMÜ) Araştırma Hastanesine 2 veya daha fazla tekrarlayan düşük öyküsü nedeniyle başvuran 241 çift olmak üzere 482 ve ekstradan 1 bayan hasta dahil edildiği için toplam 483 olgu dahil edildi. (241 kadın, 241 erkek ve 1 kadın hasta olmak üzere toplam 483 kişi). Değerlendirilen bütün hastaların kromozom analizleri, rutin olarak periferik kan lenfosit kültürleri ile elde edilen metafazların geleneksel tripsin-GTG bantlama tekniği ile yapıldı ve sonuçlar kaydedildi. Bu tez kapsamında, hastalara yapılan sitogenetik analiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar retrospektif olarak değerlendirildi.

Bu hastalarımızın poliklinik doktorumuz tarafından bilgileri alınmış, pedigrileri çizilmiş ve hasta bilgi formları doldurulmuştur. Hastaların yaşı, gebelik sayısı ve bu gebeliklerinden kaçının düşük ile sonlandığı ve eşler arasında akraba evliliği olup olmadığı bilgi formlarına eklenmiştir. Tüm hastalara öncelikle kromozom analizi yapılmış, ileri ve spesifik kromozom analizleri için bazı hastalarda sonuçlar FISH, QF-PCR ve MikroArray-CGH teknikleri ile korele edilmiştir.

Ayrıca çalışmamız Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 28.12.2016 tarihinde alınan 2016-E.144316 nolu izin ile başlatılmıştır.

3.2. Sitogenetik Analiz

Tekrarlayan düşük çiftlerine daha önceden yapılan kromozom analizi geleneksel tripsin-GTG bantlama ile yapıldı. Periferik kan örnekleri 5 ml heparinize enjektörle alınarak 10 ml'lik falkon tüplerde kültüre edildi. İleri ve spesifik kromozom analizleri için bazı hastalarımıza FISH veya MikroArray-CGH analizleri de uygulandı.

3.2.1. Kısa Süreli Hücre Kültürü

Sitogenetikte kromozom analizi için en sık kullanılan yöntem kısa süreli lenfosit hücre kültürü yöntemidir. Periferik kan hücreleri çoğaltılmak üzere kültür ortamına alındıktan sonra 72 saatlik süre sonunda harvest işlemine alınır. Daha sonra elde

edilen hücreler preparat haline getirilir ve tripsin-GTG bantlama işlemi gerçekleştirilir. Bu işlemler sonucunda hasta değerlendirmeye hazır hale gelir.

3.2.1.1.Besiyerinin Hazırlanması

100 ml RPMI 1640 (Wisent Inc.) içerisine, kültür ortamını zenginleştirmek ve hücrelerin daha hızlı çoğalmasını sağlamak amacıyla 20 ml fetal bowin serum (Biological Industries), ardından besiyerini desteklemek amacıyla 2 ml L-Glutamine, hücreleri mitozaya yönlendirmek için 1 ml fitohemaglütinin ve hücrelerin maruz kalabileceği kontaminasyonu ortadan kaldırmak için 2 ml penisilin-streptomisin eklenerek hazırlandı. Besiyeri hazırlandıktan sonra steril kapaklı falkon tüplerine boşaltıldı ve ekim yapıldıktan sonra hafif şekilde karıştırılıp 72 saat boyunca 37° C’de inkübasyona bırakıldı.

3.2.1.2. Harvest İşlemi

Üremeleri için inkübasyona bırakılan kültür tüplerine harvestten 1,5 saat önce 100 µg/ml kolsemid eklendi ve hafifçe tekrar karıştırılarak etüve yerleştirildi. 72 saatlik süre sonunda kültür tüpü 1200 devirde 8 dakika santrifüje edildi. Ardından supernatant kısmı bir pastör pipeti yardımıyla atıldı. Kalan pellet ve üzerinde 1 ml’lik sıvı iyice vortekslendi. Üzerine toplam hacim 10 ml olacak şekilde hipotonik (0,075 M KCL) solüsyonu eklendi. Tüpler 50-60 dakika arası 37° C’de etüvde bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra tüpler 1200 devirde 8 dakika santrifüj edildi ve supernatant kısmı atıldı. Sonraki işlem fiksatif uygulamasıdır. Tüpün içerisine fiksatif damlatılarak vortekslendi. Bu işlem pellet berraklaşınca kadar devam edildi. Fiksatif solüsyonu 1/3 oranında asetik asit (%100) ve methanolden (%100) oluşmaktadır. Fiksatif işlemi bittikten sonra lam üzerine yayma işlemi gerçekleştirildi. Hasta adının ve kodunun yazılı olduğu lam üzerine pellet pipet yardımıyla eğik bir açı ile damlatılarak yayma işlemi gerçekleştirildi. Lamlar 1 gece oda sıcaklığında, ertesi gün 15 dakika 65° C hotplate üzerinde yaşlandırılmak üzere bekletildi ve boyama işlemine hazır hale getirildi.

3.2.1.3. GTG- Giemsa Bantlama

Her kromozomun kendine özgü heterokromatin bölge yoğunluğuna göre değişen açık ve koyu bant bölgeleri vardır. Giemsa bantlama yönteminde 10x'lik PBS (Phosphate Buffer Saline) solüsyonu 100 ml 1x olacak şekilde her bantlama işlemi öncesinde hazırlandı. 100 ml PBS solüsyonundan 20 ml döküldükten sonra üzerine 0,15 gr toz tripsin eklenip çalkalanarak iyice karışması sağlandı. Gurr Buffer solüsyonu, 1 litre distile suya 1 adet buffer tablet ilave edilerek hazırlandı ve 4 ml Giemsa boya, Gurr Buffer solüsyonundan eklenerek 100 ml'ye tamamlandı. Preparatların yaşlandırma işlemi ardından tripsin içerisine konuldu ve 15-30 saniye arası bekletilip distile su ile yıkandı. Hazırlanan %4'lük Giemsa solüsyonu içerisinde 1 dakika bekletildi ve distile sudan geçirilerek lamalar kurumaya bırakıldı.

Hazırlanan preparatlar, 100x objektifle immersiyon yağı damlatılarak mikroskop ile 20 metafaz plağı olacak şekilde incelendi. Ardından görüntüleri Cytovision programı kullanılarak bilgisayar ortamına kaydedildi. Kromozom sonuçlarında anomali çıkan bazı hastalarımıza ileri ve spesifik kromozom analizleri için FISH veya MikroArray-CGH analizleri uygulanarak sonuçlar net bir şekilde elde edildi.

3.2.2. Flouresan In Situ Hibridizasyon (FISH) Analizi

Flouresan In Situ Hibridizasyon yöntemini uygulayabilmek için gerekli olan bazı solüsyonlar vardır. Bu yöntem için kullanılan solüsyonlar; 20xSSC buffer (Sodium Salina Citrat), 2xSSC buffer, %70-%85-%100 etanol serileri, 0,4xSSC buffer, 2xSSC- %0,05 Tween 20 karışımıdır.

20xSSC buffer 1 litrelik ambalajda hazır halde gelmiştir. 2xSSC hazırlamak için stok solüsyondan 10 ml alınıp üzerine 90 ml distile su ilave edilerek 100 ml'ye tamamlandı. Solüsyonların pH ölçümüne dikkat edildi. Solüsyonların optimum şartlarda çalışması için pH değeri 7 olmalıdır. Kullanılan solüsyonlar normalde +4° C'de saklanmaktadır. Kullanım sırasında oda sıcaklığında olmasına dikkat edildi. 0,4xSSC hazırlamak için stok solüsyondan 2 ml alınıp, üzerine 98 ml distile su ilave edilerek toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı. 2xSSC – Tween 20 hazırlamak için stok solüsyondan 10 ml alınıp, üzerine 90 ml distile su ilave edilerek hacim 100 ml'ye tamamlandı. Hazırlanan bu solüsyona, 50 µl Tween-20 (Sigma) ilave edilerek hazırlandı.

3.2.2.1. FISH Yöntemi Basamakları

Kromozom eldesi için son aşama olan fiksatif işleminden sonra periferik kan kültürleri bir kez daha 1200 devirde 5 dk santrifüj edildi. Supernatant atılarak kalan yaklaşık 1 ml pellet iyice vortekslendi. Ardından hastanın adının ve kodunun yazılı olduğu temiz lamlar üzerine mikropipet yardımıyla yayma işlemi yapıldı. Lamlar oda sıcaklığında kuruduktan sonra 2 dakika 2xSSC solüsyonunda bekletildi. Böylece hücre kaybı en aza indirilmiş oldu. Daha sonra dehidratasyonu sağlamak adına %70, %85 ve %100'lük alkol serilerinde sırasıyla 2'şer dakika bekletildi. Alkol basamakları lam üzerindeki kirlilikleri yok etmek ve hücrenin suyunu alarak FISH probunun daha iyi etki etmesini sağlamak için uygulandı. Bu işlem sonrasında lamlar oda sıcaklığında iyice kurutuldu.

Bir sonraki basamağın adı pre denatürasyon aşamasıdır. Hazır karışım halinde gelen prob içerisinde 10 µl alınarak lamın üzerine damlatıldı ve üzeri 24x24 lamel ile kapatıldı. Lamelin etrafı hava alımını engellemek adına rubber cement yapıştırıcı ile kapatıldı. Bazı problemler içerisinde hibridizasyon solüsyonu içerir. Böyle tip FISH problemlerinde 3 µl prob ile 7 µl hibridizasyon solüsyonu karıştırıldı ve lam üzerine damlatıldı.

Denatürasyon dediğimiz aşamada hazırlanan preparatlar 75°C'de hotplate üzerinde 2 dakika bekletildi.

Denatürasyon işlemi tamamlandıktan sonra bir kutu içerisine nemli bir gazlı bez konuldu ve içerisine preparatlar yerleştirildi. Kutunun kapağı kapatılarak etrafı hava alımını engellemek adına parafilm ile sarıldı. Hibridizasyon aşaması için kutu overnight 37° C etüv içerisinde inkübasyona bırakıldı.

Hibridizasyon işlemi sonrası lamel etrafındaki yapıştırıcı dikkatli bir şekilde alındı ve lamın üzerinden lamel dikkatli bir şekilde kaldırıldı. 72°C'ye hazırlanan su banyosunun içerisine şale yerleştirildi ve ardından şale içine 0,4xSSC solüsyonu konuldu. Solüsyon sıcaklığının 72°C'ye gelmesi beklendi. Daha sonrasında lam bu solüsyonun içerisine yerleştirdi ve 2 dakika bekletildi. Süre tamamlandıktan sonra lam tam kuruma sağlanmadan üzerine 10 µl 4-6 diamino-2-phenylindole (DAPI-Antifade) solüsyonu damlatıldı. Lam, 24x24 mm boyutundaki lamel ile kapatıldı. Lamel kapatılırken hava kabarcığı kalmamasına özen gösterildi. Sinyallerin daha iyi

alınabilmesi adına lam, floresan mikroskopunda inceleme yapmadan önce kutuya tekrar konularak +4°C’de 10-15 dakika bekletildi.

3.2.2.2. FISH Analizinin Görüntülenmesi ve Sayımı

Sinyal niteliğini arttırmak için +4°C’de bekletilen lam üzerine immersion yağı damlatıldı ve Leica marka floresans mikroskopunda uygun filtreler kullanılarak taraması yapıldı. Cytovision sistemi kullanılarak belirli sayılarda metafaz ve interfaz hücre görüntüleri bilgisayara kaydedildi. Kaydedilen görüntülerden bilgisayar ortamında analiz işlemi gerçekleştirildi. Problemlere özgü spektrum green ve spektrum red filtreleri kullanılarak kromozomun belirli bölgesine özgü sinyaller değerlendirildi.

4. BULGULAR

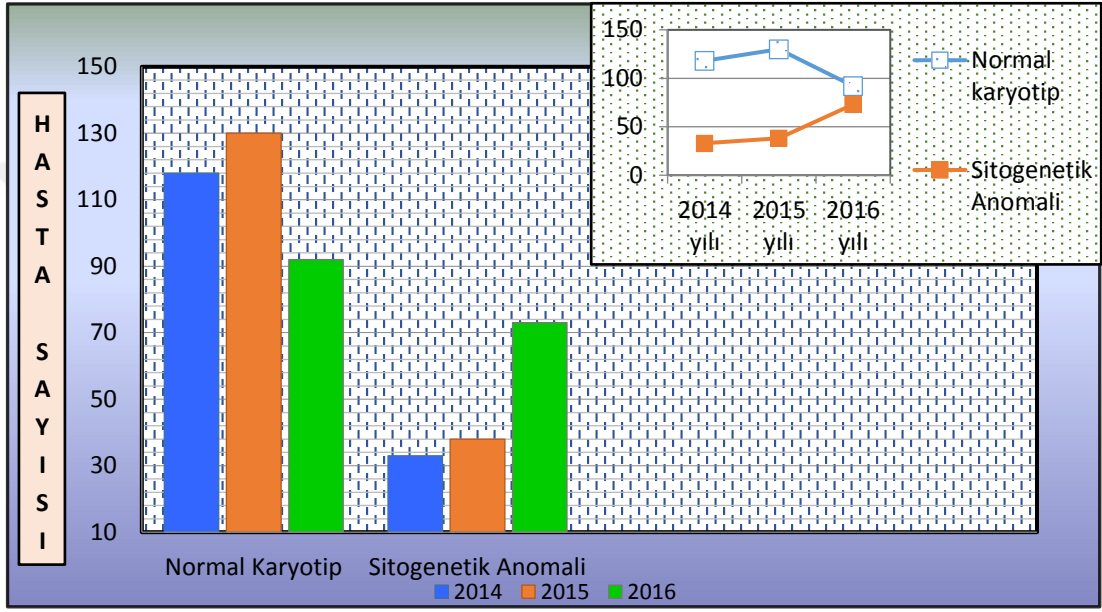
Tez çalışması kapsamında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarına 2014-2016 yılları arasında 2 veya daha fazla tekrarlayan düşük öyküsü nedeniyle başvuran 241 çift (241 erkek, 241 kadın, ekstradan 1 bayan hasta) olmak üzere toplam 483 olgu dahil edilmiştir. Bir tane bayan hastanın eşi başvurmadığından dolayı toplam sayı 483 olarak belirlenmiştir. 2014-2016 yılları arasında kromozom anomalisi tespit edilen toplam 144 hastadan, bayanların yaş ortalaması 30,75 (23-45) erkeklerin yaş ortalaması ise 42,16 (28-45) olarak tespit edilmiştir. Başvuran hastaların düşük sayısı ortalaması 2,7 (2-4) olarak belirlenmiştir. 72 saatlik lenfosit hücre kültürü işlemi ardından geleneksel tripsin-GTG bantlama ile hastaların kromozom analizleri yapılmıştır. Kromozom analizinde anomali görülen veya şüphelenilen bazı hastalarımıza ileri ve spesifik kromozom analizleri için FISH ve MikroArray-CGH yöntemleride uygulanmıştır. 2016 yılında MikroArray-CGH tekniğinin laboratuvarımızda uygulanmaya başlaması ile bazı hastalarımızda bu yöntem ileri analiz için kolaylık sağlamıştır.

ÇOMÜ Tıbbi Genetik laboratuvarına başvuran, tekrarlayan düşüğü olan çiftlerde yapılan sitogenetik analizlerinin sonuçları doğrultusunda bulunan sayısal değerler Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Araştırma kapsamında sitogenetik tanı alan olguların yıllara göre kromozom anomalisi oranları

KARYOTİP	2014 (n:150)	2015 (n:168)	2016 (n:165)
Normal (n/%)	117/78	130/77,4	92/55,8
Kromozom anomalisi saptanan (n/%)	33/22	38/22,6	73/44,2

Tablo 1’deki verilere göre 2014 yılında 117 hastada, 2015 yılında 130 hastada ve 2016 yılında 92 hastada normal karyotip tespit edilmiştir. Aynı şekilde 2014 yılında 33 hastada, 2015 yılında 38 hastada ve 2016 yılında 73 hastada kromozomal anomali görülmüştür. Kromozom anomalisi saptanan hastalar 2014 yılında %22 iken 2015 yılında %22,6’ya yükselmiştir. 2016 yılı ise %44,2 oranla en yüksek kromozom anomalisi tespit edilen yıl olmuştur. Hastaların sitogenetik analiz sonuçlarını içeren sayısal veriler grafik olarak da Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Araştırma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının yıllara göre kromozom anomali dağılımlarının grafiği

Hastaların sitogenetik analiz sonuçlarının sayısal değerleri grafikte belirtilmiştir. Kromozom anomalinin yıllara göre artış gösterdiği görsel olarak net bir şekilde görülmüştür.

Sitogenetik analiz sonucunda anomali saptanan çiftlerde tekrarlayan düşük sayıları değişiklik göstermektedir. Tablo 2’de elde edilen verilere göre hastaların abortus sayısı ve yüzdeleri gösterilmiştir. Tablo incelendiğinde 2 düşük yapan hasta sayısının 55, 3 düşük yapan hasta sayısının 73 ve 4 düşük yapan hasta sayısının ise 16 olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 2. Çalışma kapsamında kromozom anomalisi bulunan tekrarlayan düşük hastalarına ait düşük sayısı ve oranları

Spontan düşük durumu	Abortus sayısı (n / %)
2 abortus öyküsü	55 / 38,2
3 abortus öyküsü	73 / 50,7
4 abortus öyküsü	16 / 11,1

2014 yılında başvuran çiftlerde yapılan sitogenetik analiz sonucunda 150 hastanın 33'ünde kromozomal anomali tespit edilmiştir. Tablo 3'te saptanan anomaliler ve uygulanan sitogenetik analizler detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Tablo 3. 2014 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları

Olgu No / Yıl		2014 / (n:150)		
Normal n / %		117 / 78		
Kromozom anomalisi saptanan n / %		33 / 22		
		SİTOGENETİK TEST		
No	Olgular	Karyotip Analizi	FISH	MikroArray
1	F.A.	46,XX,9qh+	-	-
2	M.O.	46,XY,21 ps+	-	-
3	G. B.	46,XY,9qh+	-	-
4	H. B.	46,XX,9qh+	-	-
5	E. Ç.	46,XX,21ps+		
6	S. Y.	46,XY,9qh+	-	-
7	Ş. C.	46,XY,(16)(p13.1)+	-	-
8	H. Ş.	46,XY, t(3;4)(qter;q22.2)	-	-
9	F. H.	46,XX, 9qh+	-	-
10	G. A.	46,XY, inv(14)(p11,2;q11.2)	-	-
11	Ö. Ö.	46,XX,14ps+	-	-
12	S. S.	46, XX,9qh+	-	-
13	Ö. S.	46,XY,9qh+	-	-
14	M. K.	46,XY,9qh+	-	-
15	K. K.	46,XY,(2q11,21)+	-	-
16	N. B.	46,XY,13ps+	-	-
17	N. Ö.	46,XX,9qh+	-	-
18	M. A.	46,XY,9qh+++	-	-

19	A. U.	46,XX,9qh+	-	-
20	C. T.	46,XY,Yq+	-	-
21	M. Ç.	46,XY,Yq+	-	-
22	B. E.	46,XY,Yq+	-	-
23	T. A.	46,XY,Yq+	-	-
24	A. S.	46,XY,22p+	-	-
25	F. C.	46,XY,9qh+	-	-
26	E. Ü.	46,XX,9qh+	-	-
27	K. Y.	46,XY,9qh+	-	-
28	D. U.	46,XX, inv(19)(p11;q11)	-	-
29	G. E.	46,XX,9qh+	-	-
30	N. E.	46,XY,9qh+	-	-
31	M. E.	46,XY,9qh+	-	-
32	G. Ö.	46,XX,9qh+	-	-
33	M. Ş.	47,XYY	-	-

2014 yılında hastanemize 75 çift olmak üzere toplamda 150 hasta başvurmuştur. 150 hastanın 117'sinde 46,XX veya 46,XY şeklinde normal karyotip kurulumu görülmüştür. Geriye kalan 33 hastada çeşitli kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. 2014 yılında hastalarımıza sadece karyotip analizi yapılmıştır, FISH veya MikroArray-CGH yöntemleri uygulanmamıştır. Saptanan anomaliler incelendiği zaman en çok bulunan kromozomal anomali kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olmuştur. Translokasyon, inversiyon, bazı kromozomların p veya q kolunda artış, Y kromozomunun q kolunda artış, gözlenen diğer kromozomal anomalilerdir. Ayrıca 2014 yılında 1 hastamızda 47,XYY şeklinde sayısal kromozom anomalisi de tespit edilmiştir.

2015 yılında başvuran çiftlerde yapılan sitogenetik analiz sonucunda 168 hastanın 38'inde sitogenetik anomali tespit edilmiştir. Tablo 4'te saptanan anomaliler ve uygulanan sitogenetik analizler detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Tablo 4. 2015 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları

Olgu No / Yıl		2015 / (n:168)		
Normal n / %		130 / 77,4		
Kromozom anomalisi saptanan n / %		38 / 22,6		
		SİTOGENETİK TEST		
No	Olgular	Karyotip Analizi	FISH	MikroArray
1	F.Ş.	46,XX,t(4,11)(pter;pter)	-	-
2	E. Ö.	46,XX,dup(22)(q13.3)	-	-
3	S. Y.	46,XX,9qh+	-	-
4	G. A.	46,XY,9qh+	-	-
5	A. Ş.	46,XY,9qh+		
6	S. Ö.	46,XX,9qh+	-	-
7	B. Ö.	46,XY,9qh+	-	-
8	A. Y.	46,XY,Yqh+	-	-
9	A. Ö.	46,XY,16qh+	-	-
10	F. D.	46,XX,9qh+	-	-
11	E. D.	46,XY,9qh+	-	-
12	E. I.	46,XY,9qh+	-	-
13	Ü. E.	46,XX,9qh+	-	-
14	Ş. E.	46,XY,9qh+	-	-
15	Z. A.	46,XX,9qh+	-	-
16	F. D.	46,XY,21ps+	-	-
17	Ö. D.	46,XX,9qh+	-	-
18	Ş. G.	46,XY,del Yq	-	-
19	Ş. E.	46,XX,9qh+	-	-
20	N. T.	46,XY,1qh+	-	-
21	R. A.	46,XY,Yqh+	-	-
22	T. A.	46,XX,9qh+	-	-
23	N. K.	46,XY,9qh+	-	-
24	H. A.	46,XY,Yqh+	-	-
25	M. A.	46,XX,t(13;9)(q33;q34.2)	Subtelomerik FISH	-
26	M. İ.	46,XY,9qh+	-	-
27	A. E.	46,XX,9qh+	-	-
28	S. E.	46,XY,9qh+	-	-
29	H. Y.	46,XX,inv(9)(p11;q13)	-	-
30	A. A.	46,XX,9qh+	-	-
31	F. Ö.	46,XX,9qh+	-	-

32	S. A.	46,XX,9qh+	-	-
33	Z. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
34	A. K.	46,XY,9qh+	-	-
35	N. D.	46,XY,Yqh+	-	-
36	A. A.	46,XX,9qh+	-	-
37	N. G.	46,XX,9qh+	-	-
38	A. A.	46,XY,9qh+	-	-

2015 yılında hastanemize 84 çift olmak üzere toplam 168 hasta başvurmuştur. 168 hastanın 130'unda 46,XX veya 46,XY şeklinde normal karyotip kurulumu görülmüştür. Geriye kalan 38 hastada çeşitli kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. 2015 yılında hastalarımıza geleneksel tpsin-GTG bantlama ile karyotip analizi yapılmıştır. Diğer sitogenetik yöntemlerinden biri olan FISH analizi 1 hastamıza uygulanırken, MikroArray-CGH yöntemi uygulanmamıştır. Saptanan anomaliler incelendiği zaman en çok bulunan kromozomal anomali kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olmuştur. 38 sitogenetik anomali saptanan hastanın 27'sinde bu anomali tespit edilmiştir. İnversiyon, translokasyon, duplikasyon, kromozomun p veya q kolu bölgelerinde artış, Y kromozomunun q kolunda artış ve delesyon gözlenen diğer kromozomal anomalilerdir.

2016 yılında başvuran çiftlerde yapılan sitogenetik analiz sonucunda 165 hastanın 73'ünde kromozomal anomali tespit edilmiştir. Tablo 5'te saptanan anomaliler ve uygulanan sitogenetik analizler detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Tablo 5. 2016 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları

Olgu No / Yıl		2016 / (n:165)		
Normal n / %		92 / 55,8		
Kromozom anomalisi saptanan n / %		73 / 44,2		
		SİTOGENETİK TEST		
No	Olgular	Karyotip Analizi	FISH	MikroArray
1	K. A.	46,XX,inv(15)(p11.2; q11.1)	-	-
2	R. K.	46,XY, 9qh+	-	-
3	L. K.	46,XY,9qh+	-	-
4	F. A.	46,XX,9qh+	-	-

5	S. Ç.	46,XX,9qh+		
6	O. B.	46,XY,Yqh+	-	-
7	D. A.	46,XY,Yqh+	-	-
8	S. Ç.	46,XX,9qh+	-	-
9	İ. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
10	R. H.	46,XY,9qh+	-	-
11	E. E.	46,XY,inv(15)(p11.2; q11.1)	-	-
12	S. S.	46,XX,9qh+	-	-
13	S. S.	46,XY,9qh+	-	-
14	A. Ö.	46,XX,9qh+	-	-
15	U. K.	46,XY,9qh+	-	-
16	F. A.	46,XX,9qh+	-	-
17	A. A.	46,XX,9qh+	-	-
18	N. S.	46,XY,9qh+	-	-
19	F. S.	46,XX,9qh+	-	-
20	M. T.	46,XX,9qh+	-	-
21	B. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
22	H. Ç.	46,XX,9qh+	-	-
23	C. K.	46,XX,9qh+	-	-
24	F. D.	46,XX,9qh+	-	-
25	F. D.	46,XY,9qh+	-	-
26	R. Ö.	46,XY,Yqh+,9qh+	-	-
27	G. T.	46,XY,inv(15)(p11.2; q11.1)	-	-
28	A. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
29	E. E.	46,XX,9qh+	-	-
30	H. G.	46,XX,9qh+	-	-
31	A. E.	46,XY,dup(22)(q13.3)	22 FISH	-
32	E. E.	46,XX,9qh+	-	-
33	C. G.	46,XX,9qh+	-	-
34	C. C.	46,XY,9qh+	-	-
35	H. D.	46,XY,9qh+	-	-
36	N. D.	46,XX,9qh+	-	-
37	G. B.	46,XX,9qh+	-	-
38	S. B.	46,XX,9qh+	-	-
39	A. B.	46,XY,9qh+	-	-

Tablo 5. 2016 yılında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük olgularında uygulanan tanı yöntemleri ve karyotip sonuçları

No	Olgular	Karyotip Analizi	FISH	MikroArray
40	D. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
41	Ö. Ç.	46,XX,9qh+	-	-
42	S. Y.	46,XX,9qh+	-	-
43	Ö. Y.	46,XY,9qh+	-	-
44	L. S.	46,XX,9qh+		
45	Y. S.	46,XY,9qh+	-	-
46	M. İ.	46,XY,9qh+		-
47	B. İ.	46,XX,9qh+,inv(15)(p12;q13)		-
48	I. D.	46,XX,9qh+	-	-
49	E. E.	46,XY,dup(22)(q13,33)	22 FISH	-
50	H. G.	46,XX,9qh+	-	-
51	A. S.	46,XY,Yqh+	-	-
52	F. K.	46,XX,inv(15)(p12;q13)		-
53	Ç. U.	46,XY,9qh+	-	-
54	B. Y.	46,XX,9qh+	-	-
55	S. T.	46,XY,9qh+	-	-
56	G. T.	46,XX,9qh+	-	-
57	Ü. Ö.	46,XX,9qh+	-	-
58	Ö. B.	46,XX,t(5;14)(p13;p13)	-	+
59	A. Y.	46,XY,inv(22)(p11.2;q13.3)	22 FISH	-
60	K. G.	46,XY,22ps+	-	-
61	M. K.	46,XY,dup(22)(q13.3)	22 FISH	-
62	A. K.	46,XX,9qh+	-	-
63	B. K.	46,XY,inv/dup(22)(q11.21;q13.33)	22 FISH	-
64	A. K.	46,XX,15ps+	-	-
65	M. Ç.	46,XY,9qh+	-	-
66	M. Ç.	45,X0 (%4 mozaik Turner)	XY FISH	-
67	İ. I.	46,XY,21ps+		-
68	S. I.	46,XX,inv(15)(p12;q13)		-
69	H. E.	46,XY,inv(9)(p11;q13)	-	-
70	N. E.	46,XX,9qh+	-	-
71	G. G.	46,XX,9qh+	-	-
72	İ. Y.	46,XY,9qh+		-
73	F. S.	46,XX,9qh+	-	-

2016 yılında hastanemize 82 çift ve 1 bayan olmak üzere toplam 165 hasta başvurmuştur. 165 hastanın 92'sinde 46,XX veya 46,XY şeklinde normal karyotip kurulumu görülmüştür. Geriye kalan 73 hastada ise çeşitli kromozomal anomaliler tespit edilmiştir. 2016 yılında hastalarımızın hepsine karyotip analizi uygulanmıştır. Kromozom anomalisi tespit ettiğimiz bazı hastalarımıza ise karyotip analizinin yanı sıra FISH analizi de uygulanmıştır. FISH analizinde kromozom 22'ye özgü olan problemler kullanılarak, kromozom 22 üzerindeki anomaliler ve XY FISH ile cinsiyet kromozomları üzerindeki anomaliler gösterilmiştir. XY FISH yöntemiyle mozaik Turner Sendromu olan bir hasta tespit edilebilmiştir. 2016 yılında hastanemizde MikroArray-CGH yönteminin uygulanmaya başlaması ile bir hastamıza MikroArray-CGH yöntemi uygulanmış ve sonuç elde edilmiştir. Hastamızın karyotip analizinde translokasyon tespit edilmiş ve ardından MikroArray-CGH yöntemide uygulanmıştır.

2016 yılında saptanan anomaliler incelendiği zaman en çok tespit edilen kromozomal anomali diğer iki yılda da olduğu gibi kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olmuştur. 73 kromozomal anomali saptanan hastanın 54'ünde 9qh+'lığı tespit edilmiştir. İnversiyon, translokasyon, kromozomun p veya q kolunda artış, duplikasyon ve Y kromozomunun q kolunda artış tespit edilen diğer kromozomal anomalilerdir.

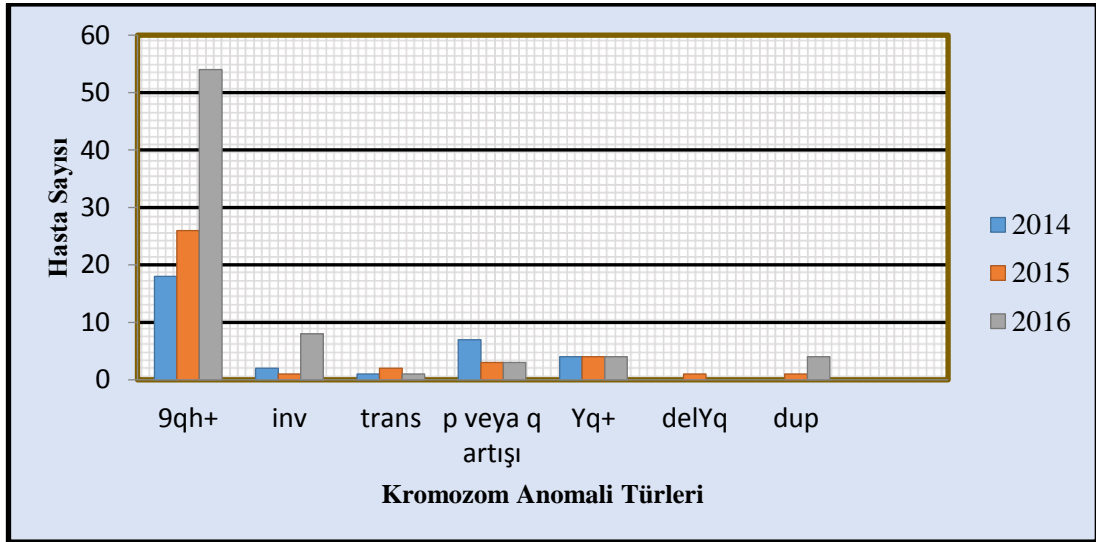
2014-2016 yılları arasında başvuran hastalarda saptanan kromozomal anomalilerinin sayısını ve hangi kromozomlarda ne türde bir anomali görüldüğünü gösteren detaylı bilgi Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. Çalışma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının kromozom anomalisi sonuçlarının sayısal değerleri ve tür dağılımı

SAPTANAN KROMOZOM ANOMALİSİ	2014 (n/%)	2015 (n/%)	2016 (n/%)
9qh+	18 / 56,25	26 / 68,42	54 / 72,97
inv 14	1 / 3,12		
inv 15			6 / 8,10
inv 19	1 / 3,12		
inv 9		1 / 2,63	1 / 1,35
inv 22			1 / 1,35
trans	1 / 3,12	2 / 5,26	1 / 1,35
kromozom p veya q kolu /satellit artışı	7 / 21,88	3 / 7,89	3 / 4,05
Yq+	4 / 12,5	4 / 10,52	4 / 5,40
delYq		1 / 2,63	
dup 22		1 / 2,63	4 / 5,40

inv: inversiyon, *trans:* translokasyon, *dup:* duplikasyon

Tablo 6'nın sayısal verilerini yıllara göre karşılaştırmalı olarak gösteren ve kromozom anomalisi türlerinin sayısal değerlerini içeren grafik Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Çalışma kapsamında sitogenetik tanı alan tekrarlayan düşük hastalarının kromozom anomalisi türlerini gösteren grafik

2014 yılındaki kromozom anomalilerine Tablo 6 ve Şekil 2 incelenip bakıldığı zaman 9 nolu kromozomun q kolunun heterokromatin bölgesinde artış tekrarlayan düşüğü olan çiftlerde en fazla gözlenen kromozom anomalisidir. 33 tane saptanan kromozom anomalisinin 18 tanesini 9 nolu kromozomun heterokromatin bölge polimorfizmi (%56,25) oluşturmaktadır. Diğer anomalilere baktığımız zaman 14 nolu kromozomun p kolunun 11.2 numaralı bölgesi ile q kolunun 11.2 numaralı bölgesi arasında inversiyon, 19 nolu kromozomun p kolunun 11 numaralı bölgesi ile q kolunun 11 numaralı bölgesi arasında inversiyon, Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde artış, 3 nolu kromozomun q kolunun terminal bölgesi ile 4 nolu kromozomun q kolunun 22.2 bölgesi arasında resiprokal translokasyon, 21 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış, 16 nolu kromozomun p kolunun 13.1 bölgesinde artış, 14 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış, 2 nolu kromozomun q kolunun 11.21 bölgesinde artış, 13 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış ve 22 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış tespit edilen diğer kromozom anomalileridir. Kromozomların p veya q kollarının bölgelerindeki artış %21,8 ile ikinci sırada en çok gözlenen kromozomal anomali olmuştur. 2014 yılında bir erkek hastamızda da 47,XYY şeklinde sayısal kromozom anomalisi tespit edilmiştir.

2015 yılında başvuran tekrarlayan düşüğü olan çiftlerde kromozom anomalileri incelendiği zaman %68,42 ile 9 nolu kromozomun q kolunun 12 numaralı bölgesinde (α -satellit) artış en fazla görülen kromozom anomalisidir. Diğer kromozom anomalilerine baktığımız zaman Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde artış, 16 nolu kromozomun q kolunun heterokromatin bölgesinde artış, 21 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış, 1 nolu kromozomun q kolunun heterokromatin bölgesinde artış, 4 nolu kromozomun p kolunun terminal bölgesi ile 11 nolu kromozomun p kolunun terminal bölgesi arasında resiprokal translokasyon, 13 nolu kromozomun q kolunun 33 numaralı bölgesi ile 9 nolu kromozomun q kolunun 34.2 bölgesi arasında resiprokal translokasyon, Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde delesyon, 9 nolu kromozomun p kolunun 11 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında inversiyon ve 22 nolu kromozomun q kolunun 13.3 bölgesinde duplikasyon tespit edilen diğer kromozom

anomalileridir. 2015 yılında tekrarlayan düşük çiftlerinde kromozomların p veya q kolu bölgelerinde artış %7,89 oranında, translokasyon ise %5,26 oranında görülmüştür.

2016 yılında başvuran tekrarlayan düşüğü olan çiftlerde kromozom anomalileri incelendiği zaman %72,97 ile en çok gözlenen anomali kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olmuştur. Diğer kromozom anomalilerine baktığımız zaman 15 nolu kromozomun p kolunun 11.2 bölgesi ile q kolunun 11.1 bölgesi arasında inversiyon, 15 nolu kromozomun p kolunun 12 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında inversiyon, 22 nolu kromozomun p kolunun 11.2 bölgesi ile q kolunun 13.3 bölgesi arasında inversiyon, 9 nolu kromozomun p kolunun 11 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında inversiyon, 22 nolu kromozomun q kolunun 13.3 bölgesinde duplikasyon, Y kromozomunun q kolunda artış, 5 nolu kromozomun p kolunun 13 numaralı bölgesi ile 14 nolu kromozomun q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında resiprokal translokasyon, 21 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış, 15 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış, 22 nolu kromozomun p kolunun satellit bölgesinde artış tespit edilmiştir. 2016 yılında 22 nolu kromozomun q kolunun 11.21 numaralı bölgesi ile q kolunun 13.33 bölgesi arası inversiyon ve ayrıca q kolunun 13.33 numaralı bölgesinde duplikasyon tespit edilmiştir. Ayrıca bir hastamızda % 4 oranlı mozaik Turner Sendromu da tespit edilmiştir. Hastamızın Turner Sendromu oranı bakıldığı zaman oldukça düşüktür fakat hastamızın fenotipik bulguları tipik Turner Sendromun fenotipik bulgularına çok uygundur. Hastamızda kısa boy ve atnalı böbreği şeklinde bulgular mevcuttur. Diğer yıllara oranla 2016 yılında tekrarlayan düşük çiftlerimizde 22 nolu kromozomda gözlenen duplikasyonların artışı dikkate çarpmaktadır. Bu yılda %5,40 oranında 22 nolu kromozoma ait duplikasyon tespit edilmiştir. 2014-2016 yılları arasında yapılan incelemeler sonucunda Y kromozomu hariç diğer kromozomlarda tespit edilen herhangi bir delesyon olmamıştır.

2014-2016 yılları arasında tespit edilen kromozom anomalilerinin cinsiyet üzerindeki dağılımlarının nasıl olduğu Tablo 7'de detaylı bir şekilde gösterilmiştir.

Tablo 7. Araştırmaya dahil edilen tekrarlayan düşük hastalarına ait (kadın-erkek) kromozom anomali sayılarının yıllara göre dağılımları

SAPTANAN KROMOZOM ANOMALİSİ	2014		2015		2016	
	erkek	kadın	erkek	kadın	erkek	kadın
9qh+	9 erkek	9 kadın	13 erkek	13 kadın	26 erkek	28 kadın
inv 14	1 erkek					
inv 15					3 kadın	3 erkek
inv 19		1 kadın				
inv 9				1 kadın	1 erkek	
inv 22					1 erkek	
trans	1 erkek			2 kadın		1 kadın
kromozom pveya q kolu artışı	5 erkek	2 kadın	3 erkek		2 erkek	1 kadın
Yq+	4 erkek		4 erkek		4 erkek	
delYq			1 erkek			
dup				1 kadın	3 erkek	1 kadın

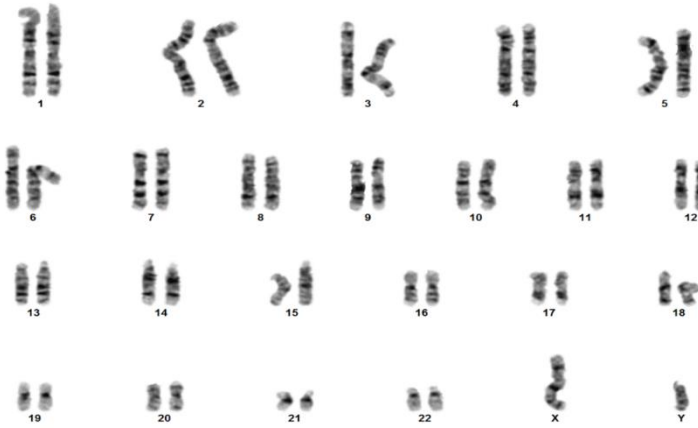
inv: inversiyon, trans: translokasyon, dup: duplikasyon

Tekrarlayan düşüğü olan hastaların yıllara göre kromozom anomalilerinin kadın erkek hasta dağılımına baktığımız zaman 2014 ve 2015 yıllarında 9qh+'liği anomalisinde kadın-erkek hasta sayısının eşit olduğu, 2016 yılında ise kadın sayısının daha fazla olduğu görülmektedir. Translokasyon anomalilerinin kadın hastalarda daha çok tespit edildiği, kromozomun p veya q kolunun artışının ise erkek hastalarda daha fazla tespit edildiği göze çarpmaktadır. Yapısal kromozom anomalisinden duplikasyonun 2015 yılında kadın hastada tespit edilmesinin ardından 2016 yılında erkek hasta sayısında artış görülmüştür.

2014-2016 yılları arasında tekrarlayan düşük hastalarında sitogenetik analiz sonucunda normal karyotipte bulunan hasta sayısı sırasıyla 117, 130 ve 92'dir. Hastaların karyotip analizi sonuçları 46,XX veya 46,XY'dir. Şekil 3'te 46,XX kurulumuna sahip bir olgunun, Şekil 4'te ise 46,XY kurulumuna sahip bir olgunun karyotip görüntüleri gösterilmiştir.

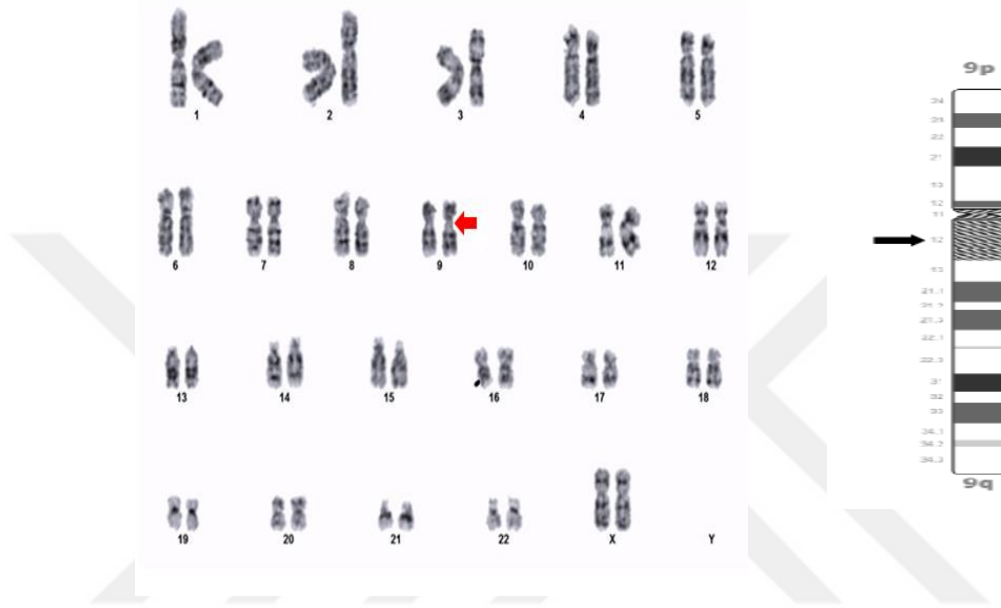


Şekil 3. XX bir olguya ait karyotip görüntüsü



Şekil 4. XY bir olguya ait karyotip görüntüsü

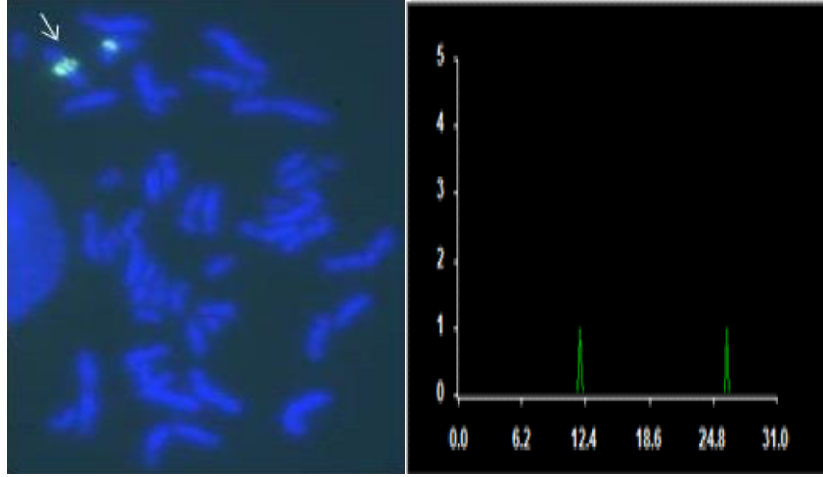
2014,2015 ve 2016 yıllarında tekrarlayan düşük çiftlerinde en çok tespit edilen kromozom anomalisi kromozom 9 uzun kol polimorfizmi (9qh+) olmuştur. Şekil 5a'da 9qh+'liğine sahip bir olgunun karyotip görüntüsü ve Şekil 5b'de 9 nolu kromozomun ideogramı gösterilmiştir. Şekil 6a'da aynı anomalinin metafaz FISH görüntüsü ve Şekil 6b'de sinyal yoğunluğu ölçümü gösterilmiştir.



Şekil 5a. 9q12 bölgesinde artış olan bir olguya ait karyotip görüntüsü (46,XX,9qh+)

5b. 9 nolu kromozomun q kolunun 12 numaralı bölgesini gösteren ideogram

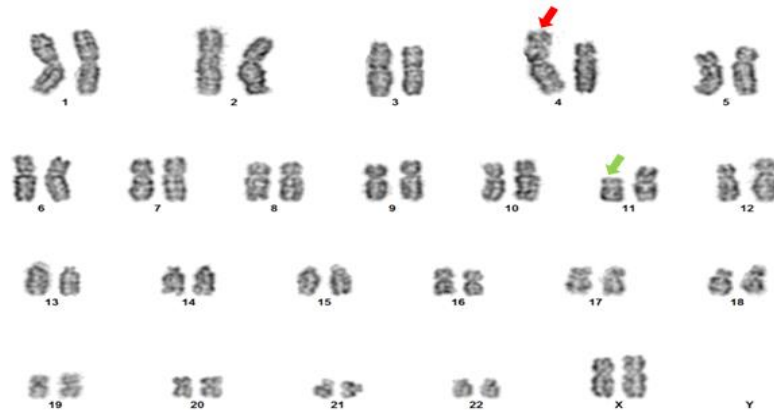
Karyotip görüntüsünde kırmızı ok 9 nolu kromozomun q kolunun 12 numaralı bölgesindeki artışı göstermektedir. Diğer 9 nolu kromozoma oranla heterokromatin bölgede artış kendini göstermektedir.



Şekil 6a. Metafaz görüntüsündeki 9q12 bölgesine ait FISH sinyali **6b.** Şekil 6a'daki metafaz görüntüsüne ait 1:2 oranında sinyal ölçüm grafiği

9 nolu kromozomun q kolunun 12 numaralı bölgesinde artmış olan sinyal beyaz ok ile gösterilmiştir. İki kromozom arasındaki sinyal yoğunluğu ölçümünde 9 nolu kromozomun birinde 12,4 (12,000) oranında sinyal yoğunluğu görülürken diğer kromozomda bu oran 24,8'e (25,000) çıkmıştır.

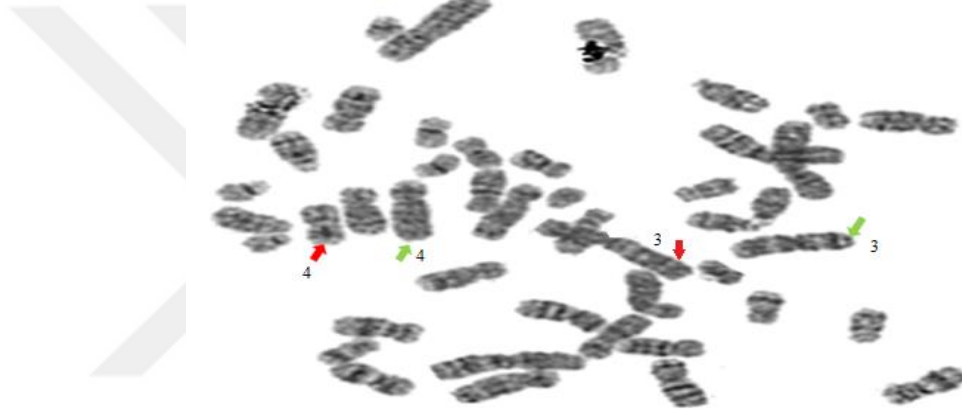
2015 yılında tekrarlayan düşüğü olan bayan hastada tespit edilen 4 ve 11 nolu kromozomlar arasındaki resiprokal translokasyonun karyotip görüntüsü Şekil 7'de gösterilmiştir. Hastanın 25 yaşında, 2 kez 5 haftalık abortusa sahip ve yaşayan canlı çocuğu olmayan bir olgu olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 7. 46,XX,t(4;11)(pter;pter) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü

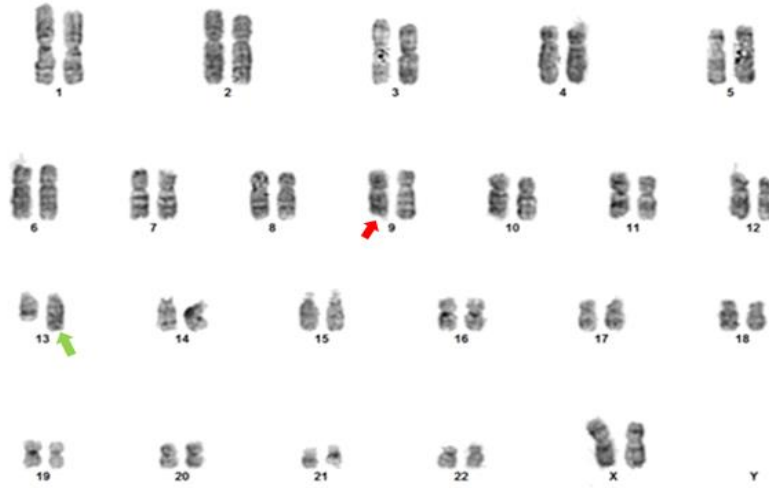
11 nolu kromozomun p kolunun terminal bölgesinden 4 nolu kromozomun p kolunun terminal bölgesine resiprokal translokasyon gerçekleşmiştir. Kırmızı ok 4 nolu kromoza gelen parçayı yeşil ok ise 11 nolu kromozomdan kopan parçayı göstermektedir.

2014 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran bir erkek olguda 3 nolu kromozom ile 4 nolu kromozom arasında resiprokal translokasyon tespit edilmiştir. Hastanın metafaz görüntüsü Şekil 8’de gösterilmiştir. Hasta 33 yaşında olup eşinde 2 kez 7 haftalık abortusu olduğu kaydedilmiştir.

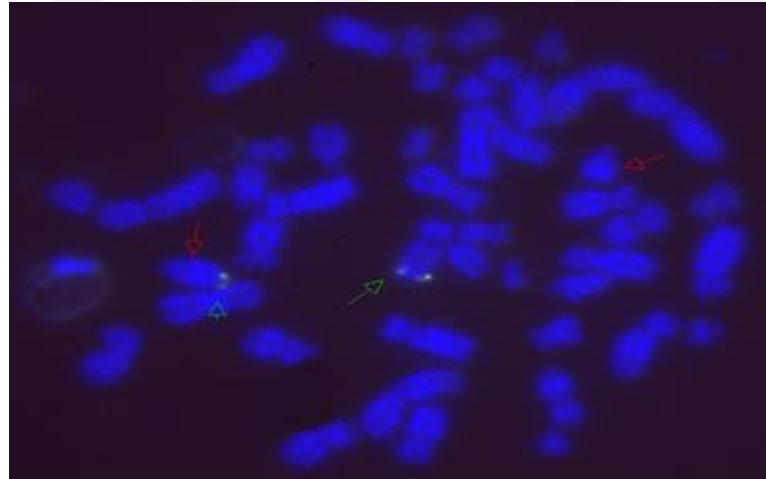


Şekil 8. 46,XY,t(3;4)(qter;q22.2) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü
Metafaz görüntüsünde yeşil oklar ile gösterilen 3 ve 4 nolu kromozomlar normal olan kromozomları temsil etmektedir. Kırmızı okle gösterilen 4 nolu kromozomun q kolunun 22.2 bölgesinden kopan parça yine kırmızı ok ile gösterilen 3 nolu kromozomun q kolunun terminal bölgesine yerleşmiştir.

2015 yılında tekrarlayan düşüğü olan bayan hastada tespit edilen 9 ve 13 nolu kromozomlar arasındaki resiprokal translokasyonun karyotip görüntüsü Şekil 9’da gösterilmiştir. Hastaya bu translokasyonu göstermek adına subtelomerik FISH analizi de yapılmıştır. Şekil 10’da hastanın 9 nolu kromozomun q kolunun 34.2 numaralı bölgesine özgü prob kullanılarak yapılan FISH görüntüsü gösterilmiştir. Hastanın 36 yaşında, 2 kez 5 ve 6 haftalık abortusa sahip olduğu kaydedilmiştir.



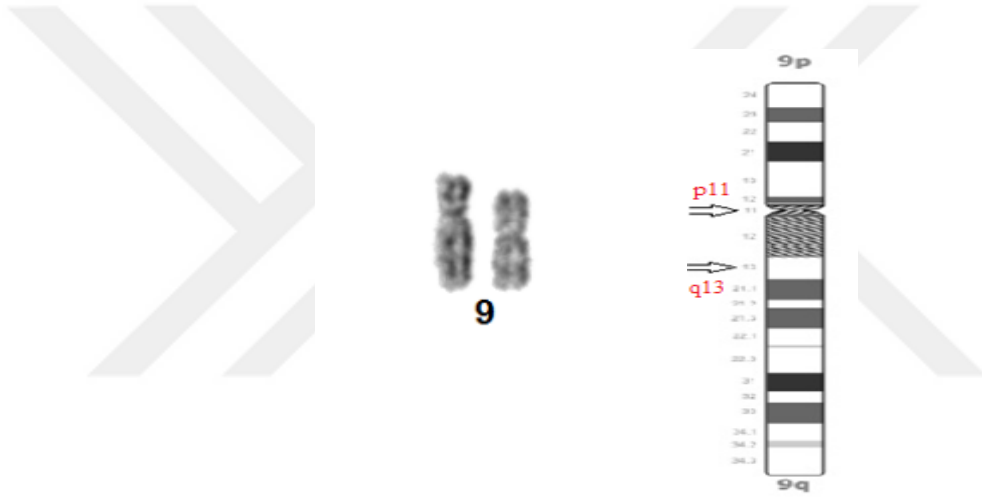
Şekil 9. 46,XX,t(13;9)(q33;q34.2) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü
Karyotip analizinde kırmızı ok ile gösterilen 9 nolu kromozomun q kolunun 34.2 numaralı bölgesinden kopan parça yeşil ok ile gösterilen 13 nolu kromozomun q kolunun 33 numaralı terminal bölgesine yerleşmiştir. Normal olmayan 9 nolu kromozom kırmızı okla, 13 nolu kromozom da yeşil okla gösterilmiştir.



Şekil 10. 46,XX,t(13;9)(q33;q34.2) kromozom anomalisine sahip olgunun FISH görüntüsü
Yapılan FISH analizi 9 nolu kromozomun q kolunun 34.2 numaralı terminal bölgesine özgü prob kullanılarak yapılmıştır. Subtelomerik FISH analizi olarak adlandırılan bu yöntemde kırmızı oklar 13 nolu kromozomu göstermektedir. Yeşil oklar ise kullanılan probun sinyalini göstermektedir. Normal olan 13 nolu kromozomda bu sinyal kendini göstermezken kromozom anomali olan diğer 13

nolu kromozomda bu sinyal kendini göstermiştir. Yine aynı şekilde normal olan 9 nolu kromozomda bu sinyal görülürken diğer 9 nolu kromozomdan bu parça kopup 13 nolu kromozoma transloke olduğu için 13 nolu kromozomda kendini göstermiştir.

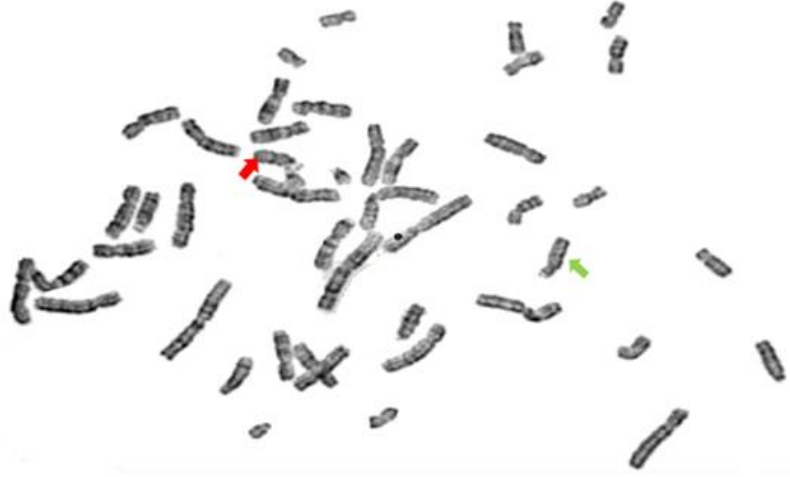
2016 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran bir erkek olguda 9 nolu kromozomun p kolunun 11 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında perisentrik inversiyon tespit edilmiştir. Hastanın 9 nolu kromozomu Şekil 11a'da ve inversiyon bölgelerini gösteren kromozom ideogramı Şekil 11b'de gösterilmiştir. Hasta 45 yaşında olup eşinde 2 defa 6 ve 16 haftalık abortusu olduğu kaydedilmiştir.



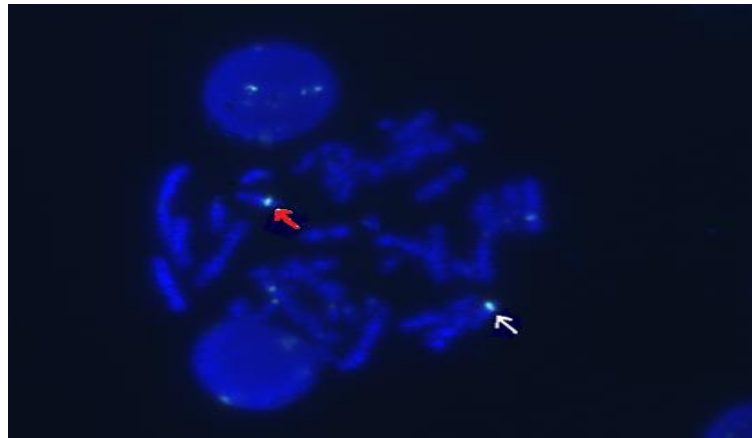
Şekil 11a. 46,XY,inv(9)(p11;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun 9 nolu kromozom görüntüsü **11b.** 9 nolu kromozomun p11 ve q13 bölgelerini gösteren ideogram görüntüsü 9 nolu kromozomdaki perisentrik inversiyon p ve q kolları arasında gerçekleştiği için sentromeri içermektedir. Bu nedenle kromozomda inversiyon sonrasında küçülme meydana gelmiştir. 9p11 bölgesinin 9q13 bölgesi ile ters dönerek tekrar birleşmesi ile kromozomda inversiyon meydana gelmiştir. İnvrsiyon gerçekleşen bölgeler ideogramda ok ile gösterilerek üzerine yazılmıştır ve Şekil 11b'de gösterilmiştir.

2016 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran bir bayan olguda 15 nolu kromozomun p kolunun 12 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi arasında perisentrik inversiyon tespit edilmiştir. Hastanın 15 nolu kromozomunu gösteren metafaz görüntüsü Şekil 12'de gösterilmiştir. Hastaya 15 FISH analizi de

yapılmıştır. Hastanın inversiyon 15 FISH görüntüsü Şekil 13’de gösterilmiştir. Hastanın 31 yaşında, 3 defa 5,7 ve 8 haftalık abortusu olduğu kaydedilmiştir.



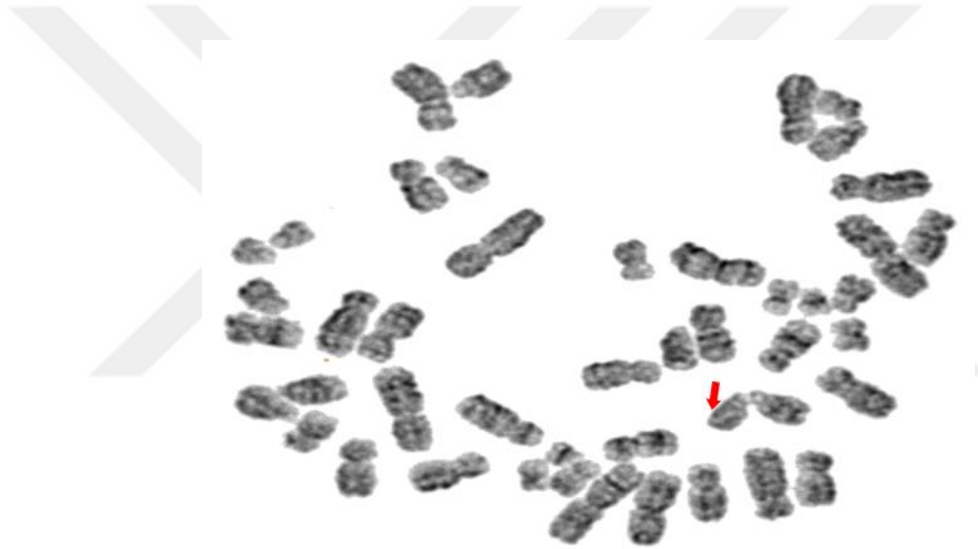
Şekil 12. 46,XX,inv(15)(p12;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü. Yeşil ok ile gösterilmiş olan 15 nolu kromozom normal olan kromozomdur. Kromozomun p kolunun 12 numaralı bölgesi olması gerektiği yerededir. Kırmızı ok ile gösterilen 15 nolu kromozomda ise inversiyon mevcuttur. Kromozomun p kolunun 12 numaralı bölgesi ile q kolunun 13 numaralı bölgesi inversiyona uğramıştır.



Şekil 13. 46,XX,inv(15)(p12;q13) kromozom anomalisine sahip olgunun FISH görüntüsü. Hastanın FISH analizinde 15 nolu kromozomun p kolunun 12 numaralı bölgesine özgü prob kullanılmıştır. Beyaz ok ile normal olan 15 nolu kromozom gösterilmiştir.

Normal olan kromozomda bu sinyal p kolunun 12 numaralı bölgesinde gözlenirken inversiyon tespit edilen kromozomda sinyal q kolunun 13 numaralı bölgesinde kendini göstermiştir. Kırmızı ok ile gösterilen 15 nolu kromozom inversiyon tespit edilen kromozomdur. FISH analizi ile de inversiyon anomalisi tespit edilmiştir.

2014,2015 ve 2016 yıllarında 4'er adet hastada Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde artış tespit edilmiştir. Yqh+ şeklinde ifade edilen olgularda q kolunun heterozigot bölgesinde artış kendini göstermektedir. Şekil 14'te Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde artış gözlenen bir olgunun metafaz görüntüsü gösterilmiştir.



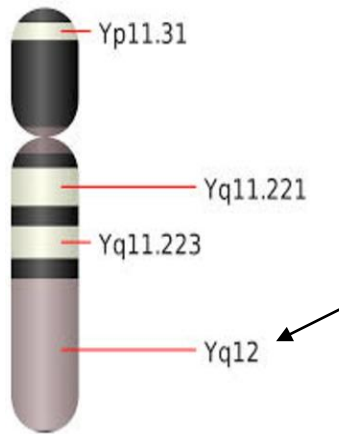
Şekil 14. 46,XY,Yqh+ kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü

Kırmızı okla gösterilen Y kromozomunda normalde olması gerekenden daha uzun bir q kolu olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı heterokromatin bölgesinde artış kendini göstermektedir.

2015 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran erkek hastada Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde delesyon tespit edilmiştir. Şekil 15'te hastanın Y kromozomundaki delesyonun metafaz görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 15. 46,XY,del(Y)(q12) kromozom anomalisine sahip olgunun metafaz görüntüsü Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesinde ki delesyon kırmızı ok ile gösterilmiştir. Şekil 16'da Y kromozomunun q kolunun 12 numaralı bölgesini okla belirten ideogram gösterilmiştir.



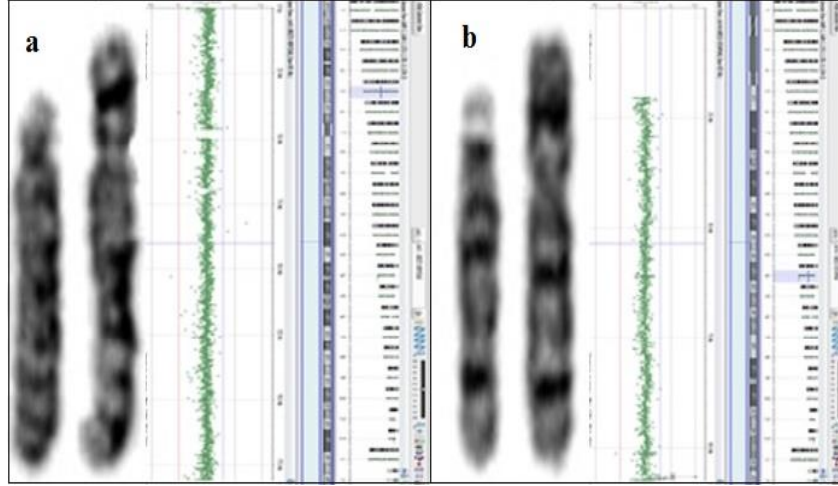
Şekil 16. Y kromozomunun ideogram görüntüsü

2016 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran bir bayan olguda 5 nolu kromozom ile 14 nolu kromozom arasında resiprokal translokasyon tespit edilmiştir. Hastanın karyotip görüntüsü Şekil 17’de gösterilmiştir. Hastaya aynı zamanda MikroArray-CGH analizi de yapılmıştır. Hastanın MikroArray-CGH görüntüsü Şekil 18’de gösterilmiştir. Hastanın 33 yaşında, 4 defa 6, 6, 8 ve 8 haftalık abortusu olduğu ve bir canlı çocuğu olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 17. 46,XX,t(5;14)(p13;p13) kromozom anomalisine sahip olgunun karyotip görüntüsü
Hastada 5 nolu kromozomun p kolunun 13 numaralı bölgesi ile 14 nolu kromozomun p kolunun 13 numaralı bölgesi arasında bir translokasyon gerçekleşmiştir. 14 nolu kromozomdan kopan parça, kırmızı ok ile gösterilen 5 nolu kromozoma transloke olmuştur. Aynı şekilde 5 nolu kromozomdan kopan parça da, yeşil ok ile gösterilen 14 nolu kromozoma yerleşmiştir.

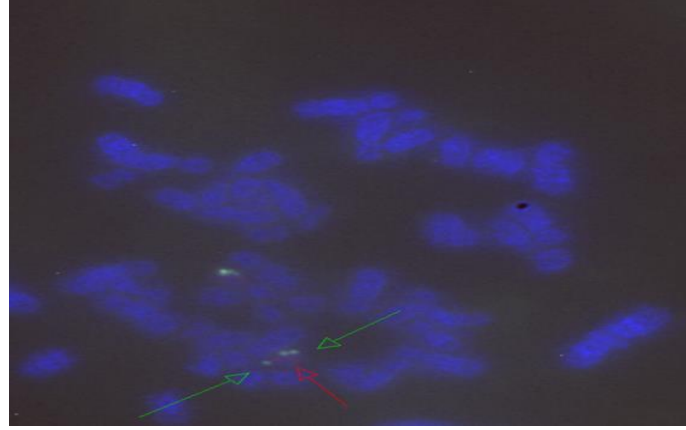
Hastaya ileri analiz için MikroArray-CGH yöntemi uygulanmıştır. Şekil 18’de hastanın MikroArray-CGH görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 18a. Hastanın 5 nolu kromozom ve MikroArray-CGH görüntüsü **18b.** Hastanın 14 nolu kromozom ve MikroArray-CGH görüntüsü

Hastanın 5 nolu kromozomuna ait MikroArray-CGH görüntüsü ile normal ve anomali gözlenen 5 nolu kromozom görüntüsü Şekil 18a'da gösterilmiştir. 5 nolu kromozomunun kopan parçası transloke olduğu halde MikroArray-CGH görüntüsünde o bölgeye ait genler gözlenmiştir. Yine aynı şekilde 14 numaralı kromozomda transloke olan parça olduğu halde, MikroArray-CGH görüntüsünde normal 14 nolu kromozom elde edilmiştir. Dengeli translokasyon anomalileri MikroArray-CGH yöntemi ile tespit edilememektedir. MikroArray-CGH yöntemi sonucunda herhangi bir prob delesyonu veya duplikasyonu izlenmemektedir yani sonuç normal olarak görülmüştür. Sitogenetik analiz bu gibi durumlarda daha önem kazanmaktadır. Translokasyon, geleneksel tripsin-GTG bantlam ile tespit edilirken dengeli translokasyon taşıyıcıları MikroArray-CGH yöntemi ile tespit edilememiştir.

2016 yılında tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran bir erkek olguda 22 nolu kromozomunun q kolunun 13.3 numaralı bölgesinde duplikasyon tespit edilmiştir. Hastaya geleneksel tripsin-GTG bantlama sonrası FISH analizi yapılarak duplikasyon tespit edilmiştir. Şekil 19'da hastaya ait FISH görüntüsü gösterilmiştir.



Şekil 19. 46,XY,dup(22)(q13.3) kromozom anomalisine sahip olgunun 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 13.3 bölgesinde duplikasyon görülmüştür. Bu bölge yeşil renk veren sinyal ile kendini göstermektedir ve uygulanan FISH analizinde kontrol olarak kullanılır. Şekilde bu bölgeye özgü yeşil sinyaller yeşil ok ile gösterilmiştir ve duplikasyon varlığı görülmektedir. Kırmızı sinyal ise 22 nolu kromozomunun q kolunun 11.2 bölgesine özgüdür ve şekilde kırmızı ok ile gösterilmiştir.

5. TARTIŞMA

Birbirini takip eden en az iki veya daha fazla gebeliğin 20.gebelik haftasından önce spontan olarak sonlanması tekrarlayan gebelik kaybı olarak adlandırılır. Bu kayıplar genellikle gebeliğin 20. haftasından önce meydana gelen ve çocuk sahibi olmak isteyen çiftleri her açıdan olumsuz etkileyen bir olaydır. Tekrarlayan düşüklerin nedenlerinin önemli kısmını kromozomal anomaliler oluşturmaktadır. Kromozomal değişimler sayısal veya yapısal olarak farklı şekillerde meydana gelmektedir. Gamet oluşumu sırasında gerçekleşen anomaliler eğer fenotipe yansıyor ise gebelik düşük ile sonlanabilir. Gebelik kayıplarının %1-3'ünde tekrarlayan gebelik kaybı görülmektedir. Kromozomlarda heterokromatin bölge olarak adlandırılan bölgelerde de bazı artış veya azalışlar görülebilir. Bu bölgede genellikle tekrarlı DNA dizileri olduğundan meydana gelen değişiklikler polimorfizm olarak nitelendirilir ve fenotipe yansımaz. Tekrarlayan gebelik kayıpları olan çiftlerde %3-5 oranında yapısal kromozom anomalisi görülmektedir ve en sık rastlanan anomali şekli resiprokal translokasyondur. Bu tür anomaliye sahip gebelikler %61-72 oranında düşükle sonuçlanır. Kadınların translokasyon taşıyıcılığı erkeklere göre daha sıktır. TGK olan çiftlerin %2-3'ünde eşlerden birinde dengeli translokasyon saptanabilir (Stephenson ve Sierre, 2006). TGK'larına neden olabilecek faktörler arasında genetik, anatomik, enfeksiyöz, çevresel, trombofilik, immünolojik ve endokrinolojik nedenler sayılabilir.

Klinik olarak nedeni saptanamayan ve genetik temeli olan hastalıkların tanısında kromozomların geleneksel sitogenetik yöntemlerle incelenmesi önemlidir. Giemsa Bantlama Tekniği (GTG), rutin sitogenetik analizlerde sıklıkla kullanılır ve kromozom üzerinde 400-500 bant düzeyinde gözleme izin verirken, kromozomal bölgeye bağlı olarak 5-10 megabazlık DNA içeren kromozomal anomalileri tespit edebilmektedir. Geleneksel yöntemler bazen; marker kromozomların, derivatif kromozomların, kompleks kromozom anomalilerini belirlemede yetersiz kalmaktadır. Sitogenetik yöntemlerin yetersiz kaldığı durumlarda daha hassas yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle FISH tekniği klasik sitogenetiğin önemli bir tamamlayıcısı olmuştur. FISH, rutin sitogenetik analizler ile saptanamayan daha küçük kromozom anomalilerinin (submikroskobik delesyonlar,

translokasyonlar, inversiyonlar, duplikasyonlar ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında sıklıkla kullanılan ileri bir tekniktir.

Genom boyu dengesiz kromozom anomalilerinin araştırılmasında kullanılan bir diğer yöntem de normal ve anomalili genomun hibridizasyonu esasına dayanan “karşılaştırmalı genomik hibridizasyon” (Comperative Genomic Hybridization, CGH) tekniğidir. Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu, kopya sayı varyantlarının tespiti ile bunun boyutlarını ve kayıp-artış bölgelerindeki hastalıkla ilişkili olabilecek genleri saptamaya yönelik ileri analiz yöntemidir. Geleneksel sitogenetik ile tespit edilemeyecek submikroskopik aberasyonları tespit etme açısından yüksek çözünürlük sağlayan bir tekniktir. Bununla birlikte dengeli kromozomal anomaliler içerisindeki inversiyonları, poliploidi, düşük seviye mozaizmlerini ve resiprokal translokasyonları tespit edememektedir.

Çalışmamıza 2014-2016 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi (ÇOMÜ) Araştırma Hastanesine 2 veya daha fazla tekrarlayan düşük öyküsü nedeniyle başvuran 241 çift olmak üzere toplam 483 olgu dahil edildi. Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerin tümüne kromozom analizleri, rutin olarak periferik kan lenfosit kültürleri ile elde edilen metafazların geleneksel tripsin-GTG bantlama tekniği ile elde edildi. Bu tez kapsamında yapılan sitogenetik analiz çalışmalarından elde edilen sonuçlar retrospektif olarak değerlendirildi.

Kromozom anomalisi tespit edilen 144 hastadan bayanların yaş ortalaması 30,75 (23-45) erkeklerin yaş ortalaması ise 42,16 (28-45) olarak tespit edilmiştir. 2014 yılında 33 hastada, 2015 yılında 38 hastada, 2016 yılında ise 73 hastada kromozomal anomali tespit edilmiştir. 2014 yılında %22, 2015 yılında %22,6, 2016 yılında ise %44,2 oranlarında kromozomal anomali görülmüştür. Elde edilen sonuçlar 3 farklı yıl açısından (2014-2016) karşılaştırıldığında yaklaşık aynı sayıda hasta değerlendirildiği halde özellikle 2016 yılında olguların daha fazla oranda (%44,2) kromozom anomalisine sahip oldukları rapor edilmiştir. Bunun, laboratuvar alt yapı ve tanı olanaklarının gelişmesi, tanıdan birden fazla tekniğin birlikte kullanılması ve korelasyonlarının yapılması ile açıklamak mümkündür. Tablo 1’de yıllara göre görülen anomali sayıları gösterilmiştir ve Şekil 1’de grafik şeklinde açıkça ortaya konulmuştur. Tespit edilen kromozom anomalileri arasında en çok, kromozom 9 uzun kol polimorfizmindeki artış dikkate çarpmaktadır. Bizim çalışmamızda da bu

sayı her geçen yıl artmıştır. 2014 yılında 18 hastada, 2015 yılında 26 hastada ve 2016 yılında 54 hastada 9qh+'lığı görülmüştür. Bu sonuç oransal olarak değerlendirildiğinde göz ardı edilmemesi gereken bir yüzde olduğu düşünülmektedir. Metafaz kromozomları ve interfaz hücrelerinde 9q12 bölgesi homoloğu ile karşılaştırıldığında alınan yoğun sinyal tekrarlayan düşüklere sebep olabilecek bir kromozomal değişim olarak değerlendirilebilir. Tekrarlayan düşük hastalarına bakıldığı zaman her yıl çeşitli kromozom anomalileri tespit edilmiştir. Translokasyon, inversiyon, kromozomun p veya q kolunun bazı bölgelerinde artış, Y kromozomun q kolunda artış, duplikasyon, delesyon görülen yapısal kromozom anomalilerdendir. Aynı zamanda 47,XYY ve mozaik Turner şeklinde sayısal anomaliler de tespit edilmiştir. Düşük oranlı bir mozaisizm olarak Turner Sendromunun görülmesi hastada tekrarlayan gebelik kaybı etkeni olabileceğini düşündürmektedir. Bu çiftlerin preimplantasyon genetik tanı ile embriyo seçimi yapılarak sağlıklı embriyolar ile bir gebelik süreci geçirmeleri önerilir. Tablo 6'da tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran hastalarda, yıllara göre görülen kromozom anomali türleri gösterilmiştir. Bakıldığı zaman translokasyonların kadın hastalarda daha fazla tespit edildiği görülmüştür. Tablo 7'de kromozom anomalilerinin kadın-erkek hasta sayısı dağılımları da gösterilmiştir. Hastalara klasik tripsin-GTG bantlama yöntemi ile karyotip analizi yapılmıştır. İleri ve spesifik kromozom analizleri için bazı hastalara FISH, QF-PCR ve MikroArray-CGH yöntemleride uygulanmıştır. FISH analizi ile daha küçük boyutlu kromozom aberasyonları ve MikroArray-CGH yöntemi ile gen bazında değişiklikleri tespiti kolaylaşmıştır. Tekrarlayan düşük hastalarında 2016 yılına gelindiğinde 22 nolu kromozomdaki duplikasyon artışı göze çarpmaktadır ve aynı şekilde 15 nolu kromozom üzerindeki inversiyon sayısında artış kendini göstermiştir. Genel olarak yıllara bakıldığında her yıl bir kromozomun p veya q kolunun bazı bölgelerinde genelde satellit veya heterokromatin bölge artışları kendini göstermiştir. 2016 yılına gelindiğinde ileri bir analiz yöntemi olan MikroArray-CGH yöntemi hastanemizde uygulanmaya başlanmıştır ve 2016 yılında translokasyon tespit edilen bir hastamıza bu yöntem uygulanmıştır. Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu, kopya sayı varyantlarının tespiti ile bunun boyutlarını ve kayıp-artış bölgelerindeki hastalıkla ilişkili olabilecek genleri saptamaya yönelik ileri analiz yöntemidir. Bu yöntem ile hastalık hakkında

gen boyutunda bilgi edinme imkanı sağlanmıştır. Fakat bu yöntemin dezavantajlarından biriside dengeli translokasyonları tespit edememesidir. Bizim çalışmamızda dengeli translokasyon görülen bir olgumuza uyguladığımız MikroArray-CGH analizi sonucunda translokasyon görülmemiştir. Hastaya ait karyotip görüntüsü Şekil 17’de ve MikroArray-CGH görüntüsü de Şekil 18’de gösterilmiştir. Bu durum MikroArray-CGH yöntemine göre daha ucuz bir yöntem olan klasik sitogenetiğin bazı durumlarda üstünlüğünü göstermektedir. Bu gibi durumlarda klasik bantlama yöntemi önem taşımaktadır. İleri tanı durumlarında anne ve babaya genetik danışma verilirken dikkat edilmesi gereken bir durum olarak göze çarpmaktadır.

Yapılan tez çalışmamızın amacı; klinik olarak ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik laboratuvarına tekrarlayan düşük nedeniyle başvuran hastaların yıllara göre görülen kromozom anomali sayı ve türlerini retrospektif olarak tespit etmektir. Böylece tekrarlayan düşük hastalarında hangi kromozom anolisinin daha fazla görüldüğünü ve Çanakkale ilindeki bu hasta popülasyonunda gözlenen anomali türlerini ve her geçen yıl sayıca ne kadar arttığını tespit etmeyi amaçladık. Tekrarlayan gebelik kaybı birçok nedeni olan bir durumdur ve hastaları üzen bir süreç olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle bu çalışma ile olası ileri çalışmaların desteklenmesi amaçlanmıştır.

Subtelomerik translokasyonların tekrarlayan gebelik kayıplarında etkileri üzerine yapılan bir çalışmada, subtelomerik translokasyonların tekrarlayan gebelik kaybından ziyade daha çok mental retardasyon ve konjenital anomalilere neden olduğu bu hasta gruplarında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Monfort ve ark., 2006). İnfertilite ve tekrarlayan düşük çiftlerine (842 çift) heterokromatin polimorfik varyant oranlarının tespiti için yapılan çalışmada erkeklerde %28,82 ve kadınlarda %17,19 oranlarında heterokromatin polimorfizm tespit edilmiştir (Madon ve ark., 2005). Toplam 434 çiftin dahil edildiği bir başka araştırmada sitogenetik analizleri yapılmış, sayısal ve yapısal kromozom anomaliler incelenmiş ve %23,7 kadın olguda, %17,5 erkek olguda 9. kromozomun heterokromatin bölgelerinde qh pozitifliği saptamışlardır. Bu tür varyasyonların tekrarlayan düşük çiftleri ve infertilite çiftlerinde sık rastlanabilecek bir polimorfizm olabileceği öne sürülmüştür (Alp ve Oral, 2006). 114 tekrarlı düşük öyküsü olan çiftle yapılan bir çalışmada

klasik bantlama yapılarak analiz yapılmıştır. Analiz sonrasında %34,2 oranında 9qh heterokromatin polimorfik artış saptanmıştır. Bu artışın polimorfik mi ya da tekrarlayan gebelik kaybı ile mi ilişkili olduğunu anlamak için ileri tetkik önerilmiştir (Obut ve ark., 2013). ÇOMÜ Tıbbi Genetik Anabilim dalında yapılan bir tez çalışmasında (Uysal,2014) 9qh+'lığının tekrarlayan gebelik kaybı açısından bir risk oluşturduğunu sağlıklı kontrol ve tekrarlayan gebelik kaybı hastalarında yapılan çalışma ile ortaya konmuştur. Analiz sonuçlarında; 9. kromozom için hasta grubunda %33, kontrol grubunda %0 oranında heterokromatin artışı olduğu gözlenmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonrasında 9q12 bölgesindeki artışın tekrarlayan gebelik kayıplarını 20,75 kat arttırdığı sonucu elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar 9qh polimorfizminin tekrarlayan gebelik kaybı için önemli bir risk faktörünü oluşturduğunu göstermiştir. Bizim çalışmamızda da elde edilen %20,3'lük 9qh+'lığı oranı göz ardı edilmemesi gereken bir yüzdendir. ÇOMÜ Tıbbi Genetik Tanı Merkezin'de hazırlanan uluslararası alanda sunulan bir poster çalışmasında (uluslararası bildiriler C1) tekrarlayan gebelik kaybı görülen çiftlerin, düşük materyallerinde kromozom anomalisi tespit edilmiş olanlarına baktığımız zaman eşlerin en az birinde ya da ikisinde 9qh+'lığı tespit edilmiştir. Bu gibi yapılan çalışmalar ışığında tekrarlayan gebelik kayıplarında 9qh+'lığının ihmal edilmemesi gereken ve daha birçok çalışma ile ortaya konması gereken bir durum olduğu karşımıza çıkmaktadır. Sağlıklı kontrol ile hasta gruplarının karşılaştırıldığı tarzda çalışmaların yapılması bu konudaki soru işaretlerinin kaldırılması açısından önem teşkil edecektir. Literatürde yer alan 1994'de Albert ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada iki gebelik kaybı olan annenin t(22q;22q) dengeli robertsonian translokasyonu olduğu görülmüştür. 2015'de Ghazaey ve arkadaşlarının İran'da 728 tekrarlayan düşük çifti ile yaptıkları çalışmada %11,7 oranında kromozomal anomali tespit edilmiştir. Bu çalışmada dengeli resiprokal translokasyonlar, inversiyonlar ve seks kromozom anöplidilerinin diğer kromozom anomalilerine göre daha fazla olduğu görülmüştür ve en çok tespit edilen kromozomal anomalinin ise dengeli resiprokal translokasyon olduğu tespit edilmiştir. 2004'de Akbaş ve arkadaşlarının yaptığı 245 bireyden oluşan çalışmada major düzeydeki kromozom anomalilerinin oranının %6,53 olduğu tespit edilmiştir ve aynı şekilde 2006'da Alp ve arkadaşlarının 434 tekrarlayan düşük çifti ile yaptıkları çalışmada %6,91 oranında kromozom anomalisi

tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda inversiyon tespit edilen 6 erkek olguda %2,5'lik oran görülürken (6/241), 5 kadın olguda %2,1'lik oran görülmüştür (5/242). Translokasyon tespit edilen 3 kadın olguda %1,24'lük oran gözlenirken (3/242), 1 erkek olguda %0,41'lik oran tespit edilmiştir (1/241). Duplikasyon tespit edilen 3 erkek olguda %1,24'lük oran görülürken (3/241), 2 kadın olguda %0,83'lük oran (2/242) tespit edilmiştir. En yüksek sayıda tespit ettiğimiz yapısal anomali inversiyondur ve 11 hastamızda görülmüştür, daha sonra 5 hastamızda duplikasyon ve 4 hastamızda translokasyon tespit edilmiştir ve bu sayılar görülen major kromozom anomalileri olarak karşımıza çıkmaktadır. Literatür verileri ile karşılaştırdığımız zaman 241 çift ile yaptığımız çalışmada büyük bir oranda %20,3 (98/483) 9qh+, %5,17 (25/483) diğer polimorfizmler (Yqh+,1qh+,16qh+ ve satellit artışları) ve %3,93 major kromozomal anomalileri (delesyon, duplikasyon, translokasyon ve inversiyon) görülmüştür.

Bizim çalışmamızda 2014-2016 yılları arasında ÇOMÜ Tıbbi Genetik laboratuvarına başvuran 241 tekrarlayan düşük çiftinde %29,8 gibi yüksek bir oranda kromozomal anomali tespit edilmiştir. Bu araştırma sayesinde tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabilecek durumlar arasında kromozomal anomalilerinin önemli bir yer tuttuğu görülmüştür. Bu sebeple ilimizde tekrarlayan düşük hastalarının karyotip analizi yaptırmaları gerektiği durumu ortaya konulmuştur. Sonuç olarak bu çalışmadan elde ettiğimiz veriler ışığında ilimizde bulunan tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabilecek genetik faktörlerin rolü konusunda bir ön fikrimiz oluşmuştur. Bu tip durumları olan ailelere verilecek genetik danışmanlık hizmetinde ilimize özgü bu sonuçların dikkate alınmasının yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda saptanan veriler ve literatür araştırmalarının değerlendirilmesi sonucunda tekrarlayan gebelik kaybı görülen çiftlerde yapısal kromozom anomalilerinin önemli bir yer tuttuğu görülmektedir. Literatür verileri ile karşılaştırdığımız zaman 241 çift ile yaptığımız çalışmada göz ardı edilemeyecek kadar büyük bir oranda (%29,8) kromozomal anomali görülmüştür. Araştırma sonunda elde edilen bulgular, tekrarlayan gebelik kaybına neden olan etiyolojik faktörler içinde, kromozomal anomalilerin önemli rol oynayabileceğini ve ilimizde tekrarlayan düşüğü olan bireylerde, sitogenetik araştırmanın yapılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Genel popülasyonda görülen kromozomal anomalilerden, tekrarlayan gebelik kaybı görülen hastalarda daha büyük oranda görülmesi, bu kromozomal düzensizliklerin gebelik kayıplarına neden olmada önemli bir katkıya sahip olabileceklerini düşündürmektedir. Araştırma sonuçları, tekrarlayan gebelik kaybı görülen olguların karyotip ve kromozom analizlerinde birbirini destekleyen birden fazla tekniğin birlikte kullanımının etkin ve doğru tanı için önemli olduğunu ortaya koymuştur.

7. KAYNAKLAR

- Akbaş H, Alp N, Kalkanlı S ve Budak T. Üreme problemi olan hastalarda Sitogenetik araştırmalar. Dicle Tıp Dergisi. 2004; 31: 24-28.
- Angell RR, Xian J, Keith J, Ledger W, Baird DT. First meiotic division abnormalities in human oocytes: mechanism of trisomy formation. Cytogenet Cell Genet. 1994; 65(3):194-202.
- Antonelli A, Gandini L, Petrinelli P. Chromosomal alterations and male infertility. J Endocrinol Invest 2000; 23: 677-83.
- Akın H ve Yüce H. Cytogenetic and FISH analyses of the abortus materials: A useful Approach Towards Genetic Counseling for the Couples with Recurrent Spontaneous Abortions. Fırat Tıp Dergisi. 2004; 9: 72-74.
- Alp M.N. ve Oral D. Tekrarlayan spontan abortusları olan çiftlerde genetik araştırmalar. Dicle Tıp Dergisi. 2006; 33: 71- 80.
- Baek KH, Lee EJ and Kim YS. Recurrent pregnancy loss: the key potential mechanisms. Trends in Moleculer Medicine. 2007; 13: 310-317.
- Bejjani BA, Shaffer LG. Application of Array-Based Comparative Genomic Hybridization to Clinical Diagnostics. J Mol Diagn. 2006 Nov; 8(5): 528–533
- 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.
- 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.
- Berek SJ, Novak B. Novak Jinekoloji. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2004; 13: 1067-1094/ 507-509.
- Başaran N. Tıbbi Genetik Ders Kitabı. 1. baskı, Bilim Teknik Yayınevi, 1996.
- Beatriz E De la Fuente-Cortes, Ricardo M Cerda-Flores, Martha I Davila-Rodriguez, Catalina Garcia-Vielma, Rosa M De la Rosa Alvarado and Elva I Cortes-Gutierrez. Chromosomal abnormalities and polymorphic variants in couples with repeated miscarriage in Mexico. Reproductive BioMedicine. 2009; 18: 543-544.
- Berend S.A., Horwitz J., McCaskill C., Shaffer L.G. Identification of uniparental disomy following prenatal detection of Robertsonian translocations and isochromosomes 2000; 66(6): 1787-1793
- 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 couples experiencing repeated pregnancy losses. Hum Reprod. 1990; 5: 518–28.

- 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 Acad Clin Appl Thromb Hemost*. 2008; 14(1):102–104.
- Brandt LP, Nielsen CV. Job Stress and Adverse Outcome of Pregnancy: A Causal Link or Recall Bias. *Am J Epidemiol*. 1992; 135:302-311.
- Bernardi LA, Plunkett BA and Stephenson MD. Is chromosome testing of the second miscarriage cost saving? A decision analysis of selective versus universal recurrent pregnancy loss evaluation. *Fertility and Sterility*. 2012; 98: 156-161.
- Blumberg BD, Shulkin JD, Rotter JI, Mohandas T and Kaback MM. Minor chromosomal variants and major chromosomal anomalies in couples with recurrent abortion. *The American Journal of Human Genetics*. 1982; 34: 948- 960.
- Brahem S, Mehdi M, Landolsi H, Mougou S, Elghezal H and Saad A. Semen parameters and sperm DNA fragmentation as causes of recurrent pregnancy loss. *Urology*. 2011; 78: 792-796.
- Brocklehurst P, Hannah M and McDonald H. Interventions for treating bacterial vaginosis in pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2000; 262-264.
- Bryne JLB and Ward K. Genetic factors in recurrent abortion. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1994; 37: 693-704.
- Baptista J, Mercer C, Prigmore E, Gribble SM, Carter NP, Maloney V, Thomas NS, Jacobs PA, Crolla JA. Breakpoint Mapping and Array CGH in Translocations: Comparison of a Phenotypically Normal and an Abnormal Cohort. *Am J Hum Genet*. 2008. 11;82(4): 927-936
- Ceylan GG, Özbey Ü, Yüce H ve Elyas H. 47,XYY Sendromlu bir olgu. *Firat Tıp Dergisi*. 2007; 12: 239-242.
- Coulam C and Stern J. Endocrine factors associated with recurrent spontaneous abortion. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1994; 37: 730-744.
- Cunningham F. G, Leveno K. L., Bloom S. L., Hauth J. C., Rouse D., Spong C. Y. *Williams Obstetrics*. NY: McGraw-Hill. 2010; Chapter 9.
- 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
- Dawood F, Farquharson R and Quenby S. Recurrent miscarriage. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2004; 14: 247-253.
- Dereix L, Philippeau F, Nighoghossian N, Trouillas P, Berruyer M. Postpartum cerebral venous thrombosis, congenital protein C deficiency, and activated protein C resistance due to heterozygous factor V Leiden mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1998;65(5): 801-2.

- Dejmek J, Vojtassak J and Moalova J. Cytogenetic analysis of 1508 spontaneous abortions originating from South Slovakia. *European Journal of Obstetrics*. 1992; 46: 129–136.
- Del Porto G, D'Alessandro E, Grommatico P, Coghi IM, DeSanctis S and Giambenedetti M. Chromosome heteromorphisms and early recurrent abortions. *Human Reproductive*. 1993; 8: 755–758.
- De Braekeleer M, and Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod*. 1990; 5(5):519-528.
- Dirse V, Sliuzas V, Ciuladaite Z, Aleksioniene B and Kucinskas V. Subtelomeric fluorescence in situ hybridization in clinical cytogenetics: results of analysis of Lithuanian patients. *Biologija*. 2011; 14: 57-59.
- De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, et al. Cryptic deletions are a common finding in “balanced” reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet* 2007;44: 750–62.
- Durak B, Yeşil M, Özdemir M, Çilingir O, Şener T, Bademci G, Müslümanoğlu MH ve Artan S. Is recurrent abortion an indication for subtelomeric region analysis? *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2010; 30: 1465-1468.
- De La Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod* 2002;17(6):1649-56.
- Dündar M, Çağlayan AO, Saatçi C, Batukan C, Başbuğ M and Özkül Y. Can the classical euchromatic variants of 9q12/qh+ cause recurrent abortions? *Genetic Counseling*. 2008; 19: 281-286.
- Düzcan F, Atmaca M, Ozan Çetin G, Bağcı H. Cytogenetic studies in patients with reproductive failure. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003; 82: 53- 56.
- Elshafaay AE, Mostafa FM, Al-Awadi SA, Akbar LB, Abel Wahab MM, Abd El-Aziz HM and Naguib KK. Cytogenetic Abnormalities and Hereditary Thrombophilias among the Abortus: *Journal Egypt Public Health Association*. 2008; 83: 389-402.
- Eminov E. Habituel abortuslu hastalarda trombofilinin araştırılması. 2006, Çukurova Üniversitesi, Uzmanlık Tezi, 64 sayfa, Adana, (Prof. Dr. İsmail Cüneyt Evrücke).
- Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, et al. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 1982;38: 447–53.
- Fan YS. and Zhang Y. Subtelomeric translocations are not a frequent cause of recurrent miscarriages. *American Journal of Medicine Genetics*. 2002; 109: 154-155.
- Foyouzi N, Cedars MI and Huddleston HG. Cost-effectiveness of cytogenetic evaluation of products of conception in the patient with a second pregnancy loss. *Fertility and Sterility*. 2012; 98: 151-155.
- 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 methylenetetrahydrofolate 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.
- Friedline JA, Ahmad E, Garcia D, Blue D, Ceniza N, Mattson JC, et al. Combined factor V Leiden and prothrombin genotyping in patients presenting with thrombo embolic episodes. *Arch Pat hol Lab Med* 2001;125(1): 105-11.
- Gabriela M, Baerlocher, Mak J, Tien T and Lansdorp PM. Telomere length measurement by fluorescence in situ hybridization and flow cytometry: Tips and pitfalls. *Cytometry.* 2002; 89–99.
- Gardella J and Hill J. Environmental toxins associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reproductive Medicine.* 2000; 18: 407-409.
- Gardner RJM and Sutherland GR. Reproductive failure. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counselling.* 3 ed. New York: Oxford University Press. 2004; 339-349.
- Gersen S and Keagle MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics.* Totowa, New Jersey: Human a Press Inc. 2005; 82-84.
- Gelehrter DT, Collins SF, Ginsburg D. *Medical Genetics.* Williams and Wilkins, 1998.
- Ghazaey S, Keify F, Mirzaei F, Maleki M, Tootian S, Ahadian M, Abbaszadegan MR. Chromosomal analysis of couples with repeated spontaneous abortions in northeastern Iran. *Int J Fertil Steril* 2015; 9(1): 47-54.
- Gerçel G, İmir G, Ünal O, Ceyhan N, Pekin S. Tekrarlayıcı gebelik kayıplarında immünolojik faktörlerin önemi. *T Klin J Gynecol Obstet.* 1999; 9: 75-77.
- Gracia CR, Sammel MD, Chittams J, et al. Risk factors for spontaneous abortion in early symptomatic first-trimester pregnancies. *Obstet Gynecol* 2005; 106:993.
- Heit JA, Kobbervig CE, James AH, Petterson TM, Bailey KR, Melton LJ. Trends in the incidence of venous thromboembolism during pregnancy or postpartum: 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.
- 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.
- Hassold T, Hunt P.A, Sherman S. Trisomy in humans: incidence, origin and etiology. *Curr Opin Genet Dev* 1993; 3: 398–403.
- Jauniaux E and Burton G. Pathophysiology of Histological Changes in Early Pregnancy Loss. *Placenta.* 2005; 26: 114-123.
- 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.
- Karaman A ve Uluğ P. Cytogenetic Analysis of Couples with Recurrent Miscarriages: A series of 316 cases. *The New Journal of Medicine.* 2013; 30: 30-32.

- Karaoğuz MY, Nas T, Konaç E, İnce D, Pala E ve Menevse S. Is cytogenetic diagnosis of 46,XX karyotype spontaneous abortion specimens erroneous? Fluorescence in situ hybridization as a confirmatory technique. *The Journal Obstetrics and Gynaecol Research*. 2005; 31: 508-513.
- Kochhar PK and Ghosh P. Reproductive outcome of couples with recurrent miscarriage and balanced chromosomal abnormalities. *The Journal Obstetrics and Gynaecol Research*. 2013; 39: 113-120.
- Kupfer minc MJ, Eldor A, Steinman N, Many A, Bar-Am A, Jaffa A, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complications of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340(1): 9-13.
- 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.
- Kosyakova N, Grigorian A, Liehr T, Manvelyan M, Simonyan I, Mkrtychyan H, Aroutiounian R, Polityko AD, Iulpanovich A, Egorova T, Jaroshevich E, Frolova A, Shorokh N, Naumchik IV, Volleth M, Schreyer I, Nelle H, Stumm M, Wegner RD, Reising-Ackermann G, Merkas M, Brecevic L, Martin T, Rodríguez L, Bhatt S, Ziegler M, Kreskowski K, Weise A, Sazcı A, Vorsanova S, Cioffi MB and Ergül E. Heteromorphic variants of chromosome 9. *Molecular Cytogenetics*. 2013; 6:14.
- 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).
- Keify F, Zhiyan N, Mirzaei F, Tootian S, et al. Two novel familial balanced translocations t (8; 11) (p23; q21) and t (6; 16) (q26; p12) implicated in recurrent spontaneous abortion. *Arch Iran Med* 2012;15: 249-252.
- Laird SM, Tükerman EM, Cork BA, Linjawi S and Blakemore AL. İmmune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Human Reproductive Update*. 2003; 9: 163-174.
- Lewis BV, Ridler Ma CLİN. 2005 Aug;68(2):146-51. Recurrent abortion associated with a balanced 22;22 translocation, or isochromosome 22q in a monozygous twin. *Eur J Med Genet*. 2010; 53(6):389-91.
- Leible S, Munoz H, Walton R, Sabaj V, Cumsille F and Sepulveda W. Uterin arter blood flow velocity wave forms in pregnant women with mullerian duct anomaly. A biologic model for uteroplacental insufficiency. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1998; 1048-1053.
- Levsky JM and Singer RH. Fluorescence in situ hybridization: Past, present and future. *Journal of Cell Science*. 2003; 116: 2833-2838.
- Lin PC. Reproductive outcomes in women with uterine anomalies. *J Womens Health* 2004; 13: 33-39.
- 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.
- Dündar M, *Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları*, 2016; 1: 113-138

- Madon PF, Athalye AS and Parikh FR. Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reproductive BioMedicine Online*, 2005;11: 726-732.
- Marquard K, Westphal LM, Milki AA and Lathi RB. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertility and Sterility*. 2010; 94: 1473-1477.
- Mueller RF and Young ID. *Emery's Elements of Medical Genetics*. Churchill Livingstone. 1995; 8-14.
- 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.
- 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.
- 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 whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med*. 1988; 319:1617-23.
- Manuelidis L. Chromosomal localization of single copy gene by in situ hybridization human beta-globin genes on the short arm of chromosome 11. *Annals of Human Genetics*. 1981; 45: 135-141.
- Neas KR, Smith JM, Chia N, Suna H, Heaps LS, Peters G, Sholler G, Tzioumi D, Sillence DO and Mowat D. Three patients with terminal deletions within the subtelomeric region of chromosome 9q. *American Journal of Medical Genetics*. 2005; 132: 425-430.
- Niroumanesh S, Mehdipour P, Farajpour A and Darvish S. A cytogenetic study of couples with repeated spontaneous abortions. *Annals Saudi Medicine*. 2011; 31: 77-78.
- 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.
- Nussbaum R.L, McInnes R.R, Willard H.F. *Principles of Clinical Cytogenetics and Genome Analysis*. Thompson & Thompson genetics in medicine. Elsevier Health Sciences, 8 th 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.
- 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).
- Patton P and Novy M. J. Reproductive potential of the anomalous uterus. *Semin Reproduction Endocrinology*. 1988; 6: 217-218.
- Penta M, Lukic A, Conte MP, et al. Infectious agents in tissues from spontaneous abortions in the first trimester of pregnancy. *New Microbiol* 2003;26: 329-37.

- Pinkel D, Albertson DG, 2005. Comparative Genomic Hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6: 331-354
- Propst A and Hill J. Anatomic factors associated with recurrent pregnancy loss. *Semin Reproductive Medicine*. 2000; 18: 341-344.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008;89(6):1603.
- Polifka JE, Friedmann JM. Environmental toxins and recurrent pregnancy loss. *Infert Reprod Med Clin North Am*. 1991; 2: 195-213.
- Pai G.S, Thomas G.H, Mahoney W, Migeon B.R. Complex chromosome rearrangements; report of a new case and literature review. *Clin Genet* 1980; 18: 436-444.
- Pinkel D, Albertson DG, 2005. Comparative Genomic Hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6: 331-354.
- Porter T, Scott J. Evidence-based care of recurrent miscarriage. *Best Prac Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005 19: 85-101
- 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.
- 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.
- Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta analysis. *Lancet*. 2003; 361:901-8.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Kyung Cho E, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006 444(7118):444-454
- 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.
- Sağ Ş, Gülten T, Karkucak M, Yakut T, Kimya Y, Evre E, Yiğit B ve Cengiz C. Prenatal Tanıda Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Analiz Sonuçlarının Sayısal Kromozomal Anomaliler ve Endikasyonlar Açısından Değerlendirilmesi, *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2009; 35: 83-87.
- Shaffer LG and Lupski JR. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annual Review of Genetics*. 2000; 34: 297-329.
- Sierra S and Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reproductive Medicine*. 2006; 24: 17-24.

- Stephenson MD and Sierre S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Human Reproduction*. 2006; 21: 1076-1082.
- Simpson J. L., Golbus M. S., *Genetics of Pregnancy Losses*. Genetics in Obstetrics & Gynecology. 1992. 2nd Philadelphia: W.B. Saunders Company. S: 181-200
- Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril* 1996; 66: 24-9.
- Saxena P, Misro M.M. Possible role of male factor in recurrent pregnancy loss. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008; 52(3):274-282.
- 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.
- Summers PR. Microbiology relevant to recurrent miscarriage. *Clin Obstet Gynecol*. 1994; 37: 722-9.
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995. 270 (5235): 467-470.
- Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 2005. 6: 782 -792.
- Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Hoffman BL, Bradshaw KD, Cunningham FG. *Williams Gynecology*. McGraw Hill, New York, 1 st ed. 2008.
- Tharapel AT, Tharapel SA and Bannerman RM. Recurrent pregnancy losses and parental chromosome abnormalities: a review. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1985; 92: 899-914.
- Tekkuş E. K. *Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Sitogenetik Değerlendirme 2016 İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi 122 sayfa, İstanbul (Prof. Dr. Şükrü Palanduz)*
- Tekcan A, Elbistan M, Kara N ve Koçak İ. Dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı bir olgu ve habitüel düşük. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2012; 29: 312-314.
- Thompson MW, McInnes RR and Willard HF. *Thompson & Thompson: Genetics in Medicine*. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company. 2001; 1447 1449.
- Termiş K. *Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde sitogenetik değerlendirme. 2016, İstanbul Üniversitesi, Uzmanlık tezi, 122 sayfa, İstanbul, (Prof. Dr. Şükrü Palanduz)*.
- Tormene D, Simioni P, Prandoni P, Luni S, Innella B, Sabbion P, Girolami A. The risk of fetal loss in family members of probands with factor V Leiden mutation. *Thromb Haemost* 1999;82: 1237-9.
- Usha R, Dutta P, Rajitha V, Kumar P and Ashwin BD. Cytogenetic abnormalities in 1162 couples with recurrent miscarriages in Southern region of India: report and review. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2011; 28: 145-149.
- 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)*.

- Wallerstein R, Gibas L, Anderson CE, Jackson L. Diagnosis of a complex chromosomal rearrangement using fluorescen in situ hybridisation. *Journal of Medical Genetics*. 1996; 33: 793-794.
- Werner M, Reh A, Grifo J, Perle MA. Characteristics of chromosomal abnormalities diagnosed after spontaneous abortions in an infertile population. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2012; 29: 817-820.
- Willard HF. Centromeres of mammalian chromosomes. *Trends in Genetics*. 1990; 6: 410-416.
- Warburton D, Fraser FS. Spontaneous abortion risks in man: data from reproductive histories collected in a medical genetics unit. *Am J Hum Genet*. 1964; 16:p.1.
- Yakut S. Tekrarlayan Düşükleri Olan ve Sitogenetik Olarak Karyotipleri Normal Bulunan Çiftlerde Kriptik Translokasyonların Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) ile Araştırılması 2000 Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 58 sayfa, Antalya (Yrd. Doç.Dr. Sibel Berker Karüzüm)
- Yakut S, Berker-Karüzüm S, Şimşek M, Zorlu G, Trak B ve Lüleci G. Telomere-specific fluorescence in situ hybridization analysis of couples with five or more recurrent miscarriages. *Clinical Genetics*. 2002; 61: 26–31.
- Zarina AL, Jamil MA, Ng SP, Rohanna J, Yong SC, Salwati S and Boo NY. Unbalanced chromosomal translocation: A cause of recurrent spontaneus abortion. *The Medical Journal of Malaysia*. 2006; 61: 260-262.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Banu	Soyadı	UZUN
Doğum Yeri	İstanbul/Kadıköy	Doğum Tarihi	15.07.1992
Uyruğu	T.C	TC Kimlik No	12661915562
E-mail	banukuru92@gmail.com	Tel	+90 543 510 5476

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2017
Lisans	Gebze Teknik Üniversitesi	2015

A-Laboratuvar Deneyimi

Periferik kan-EDTA, amniyon sıvısından ve solid dokudan (tahliye materyali) DNA izolasyonu, RNA izolasyonu, PCR uygulamaları, Multiplex PCR, Sanger Sekanslama, Tandem PCR, Real Time PCR, Jel elektroforezi, Nanodrop ile DNA-nükleik asit ve proteinlerin miktar ve kalite ölçümü, GTG bantlama, NOR bantlama Floresan Insitu Hibridizasyon (FISH) analizi, Hücre kültürü (lenfosit), karyotip-kromozom analizi, Harvest

B- Makaleler (Uluslararası)

B1- Silan F, Mosse I, Gonchar A, Sedlyar N, Kılchevsky V. A, **Kuru B**, Ozdemir O Comparison of the thrombophilic gene polymorphisms and Recurrent Pregnancy Loss: Results on combined gene effect of FVLeiden, FR2, FXIII, MTHFR(A1298C and C677T), PAI-1 4G/5G and ACE I/D genes in RPL Women from Misk/Belarus and Canakkale - Sivas/Turkey Biomed Genet Genomics,2016; 1(4): 87-93

C- Bildiriler (Uluslararası)

C1- Ozdemir O, Yıldız O, **Kuru B**, , Paksoy B, Uysal D, Silan F, The possible role of chromosome 9q11.1-1.2 duplication resulting with infertility and recurrent pregnancy loss. European Human Genetics Conference 2016, E-P01.38 May 21-24 2016, Barcelona/SPAIN

D- Bildiriler (Ulusal)

D1- Kuru B, Silan F, Uludağ A, Urfalı M, Yıldız O, Özdemir Ö. Mental Retardasyon, Kısa Boy ve Dismorfik Yüz Bulguları ile Karakterize DiGeorge Sendromlu Olgu FISH Yöntemi ile Doğru Tanı: Çanakkale Deneyimi. 1. Trakya Üniversiteler Birliği Yüksek Lisans Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2016, Çanakkale Sözlü Sunum-Özet Metin.

D2- Silan F, Karaağaçlı D, **Kuru B**, Uludağ A, Paksoy B, Urfalı M, Özdemir Ö. The 22q11.21 Duplication In A Normal Intelligence Case With Premature Ovarian Failure And High Myopia Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016-KAYSERİ Sözlü Sunum-Özet Metin.

D3- Kuru B, Silan F, Uludağ A, Urfalı M, Yıldız O, Özdemir Ö. “Fished” Out The Correct Diagnosis: A Case Of DiGeorge Syndrome With Mental Retardation, Short Stature And Dysmorphic Facial Findings Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016-KAYSERİ Sözlü Sunum-Özet Metin.

D4- Urfalı M, Silan F, **Kuru B**, Özdemir Ö. Genetic Screening For Cftr And Azf Region Of Y Chromosome Microdeletions In Idiopathic Cases Of Azoospermia And Oligozoospermia: A Molecular And Cytogenetic Approache Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016-KAYSERİ Sözlü Sunum-Özet Metin.

D5- Özdemir Ö, **Kuru B**, Paksoy B, Silan F. Kanser Etyolojisinde Tetikleyici Moleküler Mekanizmalar Türkiye Klinikleri Dergisi (yayımlanmak üzere kabul edilmiştir)

E-Katıldığı Ulusal Kongreler

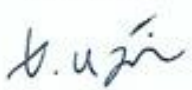
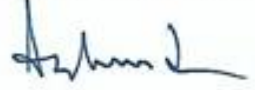
E1- Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016, 29-30 Nisan

9. EKLER

EK 1

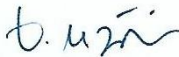

SPİRALLİ TEZ KONTROL FORMU

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

Tarih: 16 /06 / 2017 Öğrenci Banu UZUN 	Tarih: 16 /06 / 2017 Danışman Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR 
---	--

EK2

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİTLİ 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 Banu UZUN 	Tarih: 16/06/2017 Danışmanın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR 	

EK 3

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 18920478-050.01.04-E.148665
Konu : Başvuru İncelemesi

30.12.2016

Sayın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Çomü Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Tanı Merkezinde Değerlendirilen Tekrarlayan Düşüğü Olan Olgulara Ait Sitogenetik Sonuçlarının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi" başlıklı 2011-KAEK-27/2016-E.144316 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 28.12.2016 tarih ve 23-14 nolu kararı aşağıdadır.
Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi :28.12.2016 14:00
Karar No :2016-23

Karar-14)2011-KAEK-27/2016-E.144316 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'in sunumunun dinlenmesinin ve raportörün hazırladığı değerlendirilmenin okunması sonrasında yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR.**" kararı verilmiştir. (Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR projede yer aldığından dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)

 e-imzalıdır

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR
Başkan

Not: 5070 sayılı elektronik imza kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Bilgi için: Faize OTURAN
Sekreter