

Tekrarlayan Düşükleri Olan Çiftlerde Kromozom Anomalileri‡

Gülsen ÖKTEN*, Sezgin GÜNEŞ**, Nurten KARA**, Şengül TURAL***, Serbülent YİĞİT***, Emre TAŞKIN***

- ✓ Tekrarlayan gebelik kayıpları, çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerin %5'ini etkilemektedir. Çalışmamızda, tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde kromozom anomalileri frekansını belirlemek amacıyla hastaların kromozom yapısı saptandı. Tekrarlayan düşükleri olan 318 çiftin periferik kan kültürü sonuçları değerlendirildi. Tüm olgulara standart periferik kan kültürü ve Giemsa bantlama tekniği (GTG) uygulandı en az 20 metafaz sayılarak yapılan sitogenetik inceleme sonucunda olguların kromozom kuruluşu saptandı. Tekrarlayan düşükleri olan çiftlerde kromozom anomali frekansı %2.2 olarak hesaplandı. Tekrarlayan düşükleri olan çiftlere rutin karyotip analizi yapılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Tekrarlayan düşükler, sitogenetik inceleme, kromozom anomalileri

- ✓ **Chromosomal Abnormalities in Couples with Recurrent Pregnancyloss**
Recurrent miscarriages affect approximately 5% of couples trying to establish a family. In this study we have investigated the chromosomal constitution of couples of with recurrent pregnancy losses in order to determine chromosomal anomaly frequencies. Samples of venous blood were obtained from 318 couples with recurrent miscarriages. Karyotyping was performed on peripheral blood lymphocytes (PBL) according to standard methods and 20 G -banded metaphases were analyzed in each case. We found abnormal chromosomes in 2.2% of patients. We conclude that patients with recurrent miscarriages should be routinely karyotyped.

Key words: Recurrent miscarriage, cytogenetic analysis, chromosomal disorders

GİRİŞ

Habituel abortus, birbirini izleyen en az iki ya da daha fazla gebeliğin 20. gebelik haftasından önce sonlanmasıdır. Konsepsiyonların yaklaşık %30-50'i, klinik olarak tanısı konulmuş gebeliklerin (gestasyonun ≥ 6 . Haftası) ise

yaklaşık %15'i düşük ile sonuçlanmaktadır⁽¹⁻³⁾. Tekrarlayan gebelik kayıpları çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerin %5'ini etkilemektedir⁽⁴⁾. Habituel abortusun etyolojik nedenleri arasında uterus anomalileri, maternal sistem bozuklukları, genetik anomaliler ve otoimmün bo-

‡ Çalışma, VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi'nde (17-20 Mayıs 2006, Kayseri) tebliğ olarak sunulmuştur.

* Prof.Dr., **Yrd.Doç.Dr., ***Araş.Gör., Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

zukluklar yer almaktadır⁽⁵⁻⁷⁾. Tekrarlayan düşük öyküsü olan çiftlerde ise yaklaşık %2.5-8 arasında yapısal genetik faktörler etkilidir^(8,9-11). Klinik tanısı konulmuş gebeliklerin yaklaşık %50'sinin nedeni kromozom anomalileridir⁽³⁾. Kromozom anomalileri fetal veya maternal kaynaklı olabilir. Fetal anomalilerin yaklaşık %56'sı trizomi, %20'si poliploidi, %18'i X kromozomu monozomisi ve %4'ü ise dengesiz translokasyonlardır. Klinik tanısı konulmuş düşüklerde en sık rastlanan trizomiler 16, 22, 15 ve 13 numaralı kromozomların trizomileridir⁽¹²⁾.

Bu çalışmada Orta Karadeniz Bölgesi'nde, habituel abortus tanısıyla laboratuvarımıza başvuran hastalarda kromozom anomalisi frekansının araştırılması planlandı.

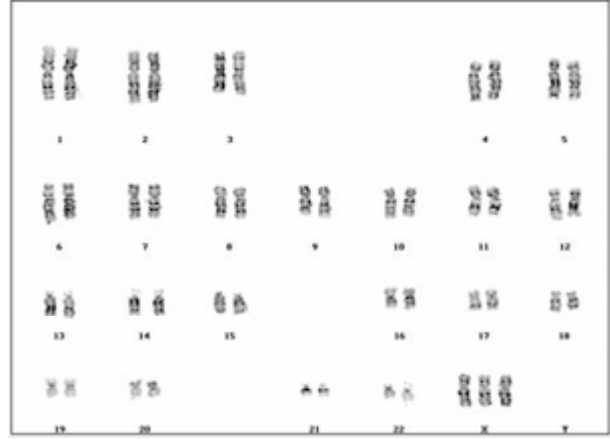
GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada Ocak 2000-Aralık 2005 tarihleri arasında OMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik Laboratuvarı'na habituel abortus tanısı ile başvuran 318 çiftin kayıtları ve sitogenetik analiz sonuçları retrospektif olarak değerlendirildi. Habituel abortus tanısıyla sadece kadın olguların değerlendirildiği 16 olgunun sonuçları değerlendirilmeye alınmadı. Çiftlerin 234'ü (%76) Samsun, 37'si (%12) Ordu, 24'ü (%8) Amasya, 12'si (%4) Sinop'tan sevk edilmişlerdi. Çiftlerden 11'inin sevk edildiği il kayıtlarına ulaşamadı.

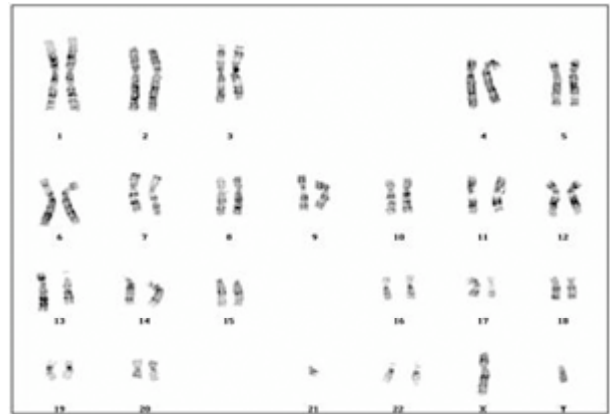
Çalışmaya habituel abortus ön tanısı ile gönderilmeleri nedeniyle intrauterin Eks/ölü doğum öyküsü olan 20 çift ve bir düşüğü olan 30 çiftin demografik verileri değerlendirmeye alındı ancak kromozom anomali sıklığının hesaplanmasında değerlendirmeye dahil edilmedi. Habituel abortus tanısıyla sadece kadın olguların değerlendirildiği 16 olgunun sonuçları değerlendirilmeye alınmadı. Hastaların yaşı, cinsiyeti, önceki gebelik kayıplarının özellikleri, sağlıklı ve anomalili çocuk sayısı değerlendirmeye alındı.

Tüm olgulara standart periferik kan kültürü ve Giemsa bantlama tekniği (GTG) uygulanarak en az 20 metafaz sayıldı ve sitogenetik inceleme yapılarak olguların kromozom kuruluşu saptandı. Mozaizm görülen olgularda en az 100 metafaz sayılarak mozaizm oranı belirlendi. Sitogenetik inceleme 450 bant düzeyinde yapıldı (Şekil 1-3). Kuşkuolu olgularda C-bant veya yüksek çözünürlüklü bantlama yöntemleri uygulandı. Karyotipleme International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) kriterlerine göre yapıldı⁽¹³⁾.

Şekil 1. Mozaik 46,XX/47,XXX hastanın karyotipi.

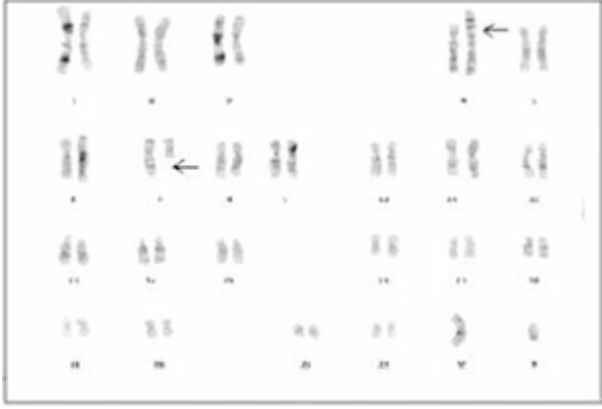


Şekil 1. Mozaik 46,XX/47,XXX hastanın karyotipi.



Şekil 2. 46,XY,t(13;21) dengeli Robertsonian translokasyonlu olgu.

Elde edilen tüm bilgiler kodlanarak bilgisayara girildi. SPSS 12.0 programı kullanılarak istatistiksel değerlendirilme yapıldı. Kromozom anomali sıklığı iki ve daha fazla düşüğü olan çiftlerde hesaplandı.



Şekil 3. 46,XX,t(4;7)(p14;q11) dengeli resiprokal taşıyıcısı olgunun karyotipi.

BULGULAR

01.01.2000 ile 31.12.2005 tarihi arasında çalışma kapsamına dahil edilen 636 olgunun demografik özellikleri Tablo I'de özetlendi.

Tablo I. Olguların Demografik Özellikleri (n=363).

Demografik özellikler		
Ortalama Yaş±SH		30.82±0.27
Yaş Aralığı		17-48
Cinsiyet	Erkek	318
	Kadın	318

Araştırmaya katılan 318 çiftin gebelik kayıpları, sağlıklı ve anomalili çocuk sayısı ve eşler arasında akrabalık ilişkisi Tablo II'de özetlendi.

Üç yüz on sekiz çiftin katıldığı çalışmada, 3 çiftin eşlerinden birinde sayısal kromozom anomalisine, diğer 3 çiftin eşlerinden birinde yapısal kromozom anomalisine, eşlerden 7'sinde 9 numaralı kromozomun parasentrik inversiyonuna rastlandı. Tekrarlayan gebelik kayıpları (iki ve daha fazla düşük) olan hastalarda kromozom anomali sıklığı %2.2 olarak hesaplandı. Habituel abortus tanısıyla gönderilen olguların kromozom analizi sonuçları Tablo III'de özetlendi.

TARTIŞMA

Tekrarlayan düşüklüklerde en sık gözlenen

Tablo II. Gebelik Kayıpları, Sağlıklı ve Anomalili Çocuk Sayısı ve Eşler Arasında Akrabalık İlişkisi Öyküsü.

Ailedeki düşük öyküsü	Sayı	%
Intra uterin Eks/ölü doğum	20	6.3
Bir düşüğü olan çiftler	30	9.4
İki düşüğü olan çiftler	177	55.7
Üç düşüğü olan çiftler	50	15.6
Dört düşüğü olan çiftler	22	6.9
Beş düşüğü olan çiftler	5	1.6
Altı düşüğü olan çiftler	9	2.9
Yedi-on üç düşüğü olan çiftler	5	1.6
Toplam	318	100
Ailedeki sağlıklı çocuk öyküsü		
Ailede sağlıklı çocuğu olmayanlar	273	88.9
Ailede bir sağlıklı çocuğu olanlar	23	7.5
Ailede iki sağlıklı çocuğu olanlar	10	3.3
Ailede üç sağlıklı çocuğu olanlar	1	0.3
Toplam	307	100
Ailedeki ölen çocuk öyküsü		
Ölen çocuğu olmayan çiftler	260	89.3
Bir ölü çocuğu olan çiftler	21	7.2
İki ölü çocuğu olan çiftler	8	2.6
Üç ölü çocuğu olan çiftler	2	0.6
Dört ölü çocuğu olan çiftler	1	0.3
Toplam	292	100

yapısal kromozomal düzensizlikleri daha çok kadında görülen dengeli resiprokal veya Robertsonian translokasyonlardır. Daha az sıklıkla gözlenen parental yapısal kromozomal anomaliler ise inversiyon, insersiyon ve ender olarak ring kromozomudur⁽¹²⁾.

İki veya daha fazla düşük öyküsü olan çiftlerden birinde kromozomal anomali gözlenme olasılığı %2.2 olarak hesaplandı. Boue ve arkadaşları, iki veya daha fazla düşük öyküsü olan çiftlerden birinde dengeli kromozom anomalisi gözlenme olasılığını %7 olarak bildirmiştir⁽¹⁴⁾. Oranlardaki farklılığın nedenleri farklı hasta seçim kriterlerinden kaynaklanabilir.

Yapısal kromozomal yeniden düzenlenmeler kuşaklar boyunca belirti vermeden aktarı-

Tablo III. Habituel Abortus Tanısıyla Gönderilen Olguların Kromozom Analizi Sonuçları.

Karyotip sonuçları	Sayı	%
46,XY	291	45.75
46,XX	312	49.05
46,XX,t(4;7)	1	0.16
46,XY,t(13;21)	1	0.16
46,XY,t(3;6)	1	0.16
45,X/46,XX/47,XXX	1	0.16
46,XX/47,XXX	1	0.16
46,XXY	1	0.16
46,XX,inv9	3	0.47
46,XY,inv9	4	0.63
Varyantlar	20	3.14

labilir. Resiprokal translokasyonların toplumdaki sıklığı 1/600'dir⁽¹⁵⁾. Dengeli resiprokal translokasyonlar, habituel abortuslu çiftlerde en sık gözlenen kromozomal anomalilerdir⁽¹²⁾. Robertsonian ve resiprokal translokasyon taşıyıcıları, fenotipik olarak normal görünmekle birlikte düşükle sonuçlanabilecek dengesiz gamet oluşumuna ve dengesiz kromozom yapısı gösteren çocuk yapma riskine sahiptir. Çalışma grubunda yer alan iki çiftin eşlerinden biri t(4;7) ve diğeri ise t(3;6) dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı idi. Bu çiftlerinin her ikisinin de iki düşüğü bulunup sağlıklı çocuğu yoktu. Dengeli translokasyon taşıyıcılarının gametleri mayoz bölünmede 2:2 segregasyonu sonucu çapraz ayrılma (alternete), bitişik tip I ayrılma (adjacent I segregation) ve bitişik tip II ayrılma (adjacent II segregation) olmak üzere 3 segregasyon ürünü oluşturur. Çapraz ayrılma ürünleri normal ve dengeli translokasyon taşıyıcısı bireylerin oluşmasına yol açarken, bitişik tip I ve II ayrılma dengesiz gamet oluşturma riskini artırır. Dengeli translokasyon taşıyıcılarının gametleri mayoz bölünmede, daha az görülmekle birlikte 3:1 segregasyonu sonucunda da monozomik ve trizomik bireylerin oluşumuna da neden olabilir⁽¹⁵⁾.

Çalışmamızda eşlerden birinin t(13;21) den-

geli Robertsonian translokasyon taşıyıcısı olan çiftin 3 düşüğü bulunmaktaydı. t(13;21) taşıyıcısı bireyler, normal, dengeli t(13;21) translokasyon taşıyıcısı, trizomi 13, monozomi 13, trizomi 21 ve monozomi 21 olmak üzere 6 farklı zigot oluşuma neden olabilir. Altı zigottan 4'ü dengesiz kromozom yapısına sahip olduğu için düşükle sonuçlanabileceği gibi yaşamla bağdaşabilen Robertsonian tipi Down sendromlu bireylerin doğumuyla da sonuçlanabilir⁽¹⁶⁾.

Çalışmamızda, X kromozomu mozaisizmi gösteren hastaların ikisinin de 2 düşüğü ve birinin ayrıca intrauterin ekisi vardı. Kao ve arkadaşları, X kromozom mozaisizmi bulunan kadınların oositlerinin tam gelişiminin sağlanamaması nedeniyle letaliteye neden olabileceğini bildirmiştir⁽¹⁷⁾.

Çalışmamızda, 7 olguda 9 numaralı kromozomun perisentrik inversiyonu belirlenmiştir. Dokuz numaralı kromozomun perisentrik inversiyon sıklığı genel populasyonda yaklaşık %1 olarak bildirilmiştir. Çalışmada belirlenen dokuzuncu kromozomun perisentrik inversiyon sıklığı oranı toplum ortalamasıyla örtüşmektedir. Dokuzuncu kromozomun perisentrik inversiyonlarının genel olarak düşük riski meydana getirmediği belirtilmesine⁽¹⁸⁾ rağmen 2 ve daha fazla düşüğü olan kişilerde 9. kromozom inversiyonlarının arttığını bildiren yayınlar da bulunmaktadır⁽¹⁹⁾. Down sendromlularında da inv 9 prevalansı yüksek bulunmuştur⁽²⁰⁾. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla, perisentrik inversiyon 9'un normal bir varyant mı yoksa anormal bir karyotip mi olduğu henüz açıklık kazanmamıştır⁽²¹⁾.

Ebeveynlerden birinde yapısal yeniden düzenlenme belirlenmesi durumunda aileye genetik danışma verilmelidir. Çünkü sağlıklı çocuğa sahip olma oranı yeniden düzenlenmenin hangi kromozomlarla ilişkili bulunmasına bağlı olarak değişmektedir.

SONUÇ

Habituel abortusta genetik faktörlerin belirlenmesi çiftlere uygun genetik danışmanın verilebilmesi açısından önemlidir.

Teşekkür

Sitogenetik laboratuvarında rutin periferik kan kültürü ve banlama tekniklerini başarıyla uygulayan sağlık teknisyenlerimiz Mustafa DÜZ, Hanife AK, Murat FİDAN ve Burcu ÜRESİN'e teşekkür ederiz.

Geliş Tarihi : 14.06.2007

Yayına kabul tarihi : 18.01.2008

Yazışma adresi :

Yrd.Doç.Dr. Sezgin GÜNEŞ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
55139 Kurupelit / SAMSUN
Tel. : 0362 312 19 19 / 3164
Faks : 0362 457 60 41

KAYNAKLAR

- Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, et al. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* 1982; 38: 447-453.
- Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1988; 319: 189-194.
- Jacobs PA, Hassold T. Chromosome abnormalities: origin and etiology in abortions and livebirths. In: Vogel F, Sperling K, eds. *Human Genetics*. Berlin: Springer-Verlag; 1987; 233-244.
- Roman E. Fetal loss rates and their relation to pregnancy order. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 29-35.
- Hatasaka HH. Recurrent miscarriage: epidemiological factors, definitions, and incidence. *Clin Obstet Gynecol* 1994; 37: 625-634.
- Dewalds GW and Michels WW. Recurrent miscarriages: cytogenetic causes and genetic counseling of affected families. *Clin Obstet Gynecol* 1986; 29: 865-885.
- Byrne J.L.C. and Ward W. Genetic factors in recurrent abortion. *Clin Obstet Gynecol* 1994; 37: 693-704.
- Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril* 1996; 66: 24-29.
- Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T, et al. Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocations. *Fertil Steril* 2004; 81: 367-373.
- Goddijn M, Joosten JH, Knecht AC, et al. Clinical relevance of diagnosing structural chromosome abnormalities in couples with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 2004; 19: 1013-1017.
- Stephenson MD, Sierra S. Reproductive outcomes in recurrent pregnancy loss associated with a parental carrier of a structural chromosome rearrangement. *Hum Reprod* 2006; 21: 1076-1082.
- Stephenson M, and Kutteh W. Evaluation and Management of Recurrent Early Pregnancy Loss. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2007; 50(1): 132-145.
- Mitelman F. *ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Basel: Karger; 1995.
- Boue A, Boue J, Gropp A: Cytogenetics of pregnancy wastage, in Harris H, Hirschhorn K (eds): *Advances in Human Genetics*. New York, Plenum Press 1985; 30-31.
- Nussbaum, McInnes, Willard: *Genetics in Medicine*, 6th (eds). Saunders Press 2004; 148-149.
- Strachan T, Read PA. *Human Molecular Genetics*, 3rd (eds). Garland Science Press 2004; 56-57.
- Kuo PL, Guo HR. Mechanism of recurrent spontaneous abortions in women with mosaicism of X-chromosome aneuploidies. *Fertil Steril* 2004; 82: 1594-601.
- Connor M. and Fergusson-Smith M. *Medical Genetics* fifth edition, 1997.
- Scaricini R, Anichini C, Vivarelli R, et al. Correlation of the clinical phenotype with a pericentric inversion of the chromosome 9. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1992; 68: 175-181.
- Serra A, Brahe C, Millington-Ward A, et al. Pericentric inversion of chromosome 9: prevalence in 300 Down's syndrome families and molecular studies of nondisjunction. *Am J Med Genet* 1990; 7: 162-168.
- Jae-won Kim, Jun-young Lee, Jun-won Hwang, et al. Behavioral and Developmental Characteristics of Children with Inversion of Chromosome 9 in Korea: A Preliminary Study. *Child Psychiatry and Human Development* 2005; 35: 374-358.