

Üreme Problemi Olan Hastalarda Sitogenetik Araştırmalar

Halit Akbaş*, M. Nail Alp*, Sevgi Kalkanlı*, Turgay Budak*

ÖZET

Bu çalışmada, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Tanı Laboratuvarına, üreme problemlerinin değişik klinik ön tanıları ile başvurmuş olan erkek ve kadınların, major kromozomal anomaliler yönünden araştırılması amaçlandı. Bu amaçla, 245 bireyin kromozom analizleri yapıldı. Kromozomlar periferal lenfosit doku kültürü tekniği ile elde edilip, giemsa bantlama yöntemi ile bantlandı. Hazırlanan metafaz plakları, otomatik görüntü analiz sistemi ile karyotiplenip değerlendirildi.

Toplam 245 bireyden oluşan çalışma serisinde, major düzeydeki kromozomal anomali oranı %6.53 olarak tespit edildi. Çiftlerden oluşan birinci grupta %2.19, kadınlardan oluşan ikinci grupta %23, ve erkeklerden oluşan üçüncü grupta ise %17.64 oranında major kromozomal anomali saptandı.

Araştırma sonunda elde edilen bulgular, üreme problemlerine neden olan etyolojik faktörler içinde, kromozomal anomalilerin önemli rol oynayabileceğini ve bölgemizde üreme problemi olan bireylerde, özellikle kadınlarda, sitogenetik araştırmanın yapılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Üreme Problemleri, Fetal Kayıp, Abortus, Major Kromozomal Anomaliler

Cytogenetic Studies in Patient with Reproductive Problems

SUMMARY

In this study, in terms of major chromosomal aberrations, we aimed to investigate males and females admitted to Genetic Diagnostic Laboratory of Medical Faculty, Dicle University, with varied clinical prediagnoses of reproductive problems. To that end, chromosomal analyses of 245 prediagnosed individuals were performed. The chromosome were obtained by peripheral lymphocyte tissue culture technique and stained by giemsa staining method. The metaphase plates were karyotyped and assessed by automatic imaging analysis system.

In the study series consisting of totally 245 individuals, the major chromosomal abnormality rate was found as 6.53% , which was determined to be 2.19% in the first group consisting of couples, 23% in the second group consisting of females and 17.64% in the third group consisting of males.

The findings obtained as a results of the study have indicated that, among etiologic factors leading to reproductive problems, chromosomal abnormalities play a significant role, and that cytogenetic investigations should be carried out in those with reproductive problems, particularly in females, in our region.

Key Words: Major Chromosomal Aberrations, Reproductive Problems, Fetal Wastage, Abortion.

* Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D.



GİRİŞ

İnsanlardaki vücut hücrelerinde, normalde 23 çift olan kromozomlar, çeşitli nedenlere bağlı olarak sayı, şekil ve yapı bakımından değişiklik gösterebilirler. Bu durum kromozomal hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Toplumdaki her 200 kişiden birinde kendini gösterebilen kromozomal anomaliler, kullanılan yeni tekniklerle (bantlama, fluoresans, otoradyografi, rekombinant DNA ve FISH gibi) bugün kolaylıkla saptanabilmektedir (1). Genel populasyonda bildirilen kromozom anomalilerinin frekansı % 1'den düşük iken, üreme problemlerine sahip hasta gruplarında, bu oran her zaman yüksek saptanmıştır (1,2).

Tekrarlayan spontan abortusun, çocuk sahibi olmak isteyen her yüz çiftin birini etkilediği ve geniş bir bölümün orijininin genetik olduğu varsayılmaktadır (3,4). Kromozomal anomaliler, erkekler arasında daha yaygın görülmelerine rağmen, erkek ve kadınlarda infertiliteye neden olabilirler (5). Sex kromozom anomalileri, insan kromozom anomalileri içinde en yaygın görülenlerdir. Bu anomaliler üremeyi rahatsız eder. Otozomal kromozomlardaki değişiklikler, özellikle Robertson tipi translokasyonlar gibi akrosentrikleri içeren resiprokal translokasyonlar, spermatogenez sırasındaki bazı merkezi etkilerle sperm yoğunluğunu bozabilirler. Keza, karyotipteki küçük bir ekstra marker kromozomun varlığı, insan spermatogenez dizisinin bozulmasıyla ilişkilendirilen bir durumdur. Bu anormal kromozomal durumların tümünde erkek taşıyıcıların sterilitesinin, spermatozoa üretiminin olmamasına veya az olmasına yol açan, spermatogenezdeki bir defekttan kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer anomalileri olan kadın taşıyıcılarda ise gametogenez görülmekte, ancak etkilenmemektedir. Bu nedenle kadın taşıyıcılarda, spontan abortus veya malforme çocuk sahibi olma riski mevcuttur. Oysa erkek taşıyıcılarda, kromozomal anomalilerin sterilite veya subfertiliteye yol açmakta olduğu belirtilmektedir (6).

Bu çalışmada; Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Tanı Laboratuvarına, en az bir yıl evli olmalarına rağmen herhangi bir

nedenle (fetal kayıp, anomalili doğum öyküsü ve infertilite) çocuk sahibi olamamış çiftler, veya fertilite problemlerinin değişik klinik ön tanıları ile (klinefelter sendromu, turner sendromu, testiküler feminizasyon sendromu, primer amenore, gonadal disgenesis ve hipogonadizm) başvurmuş olan erkek ve kadınların, major kromozomal anomaliler yönünden araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Üreme problemi olan 245 bireyden oluşan çalışma serisinde olgular 3 grupta değerlendirildi.

Grup 1: En az bir yıl evli olmalarına rağmen, herhangi bir nedenle (fetal kayıp, anomalili doğum öyküsü ve infertilite) çocuk sahibi olamamış çiftler (n = 91 çift =182 birey).

Grup 2: Fertilite problemlerinin değişik klinik ön tanıları konmuş olan (turner sendromu, testiküler feminizasyon sendromu, primer amenore, gonadal disgenesis ve hipogonadizm) kadınlar(n=46).

Grup 3: Fertilite problemlerinin değişik klinik ön tanıları konmuş olan (klinefelter sendromu, azoospermi, oligospermi, hipogonadizm v.s.) erkekler (n=17).

Kromozomların elde edilmesi için, makrokültür tekniğinin modifiye edilmiş şekli olan ve "mikrokültür" ya da "tüm kan tekniği" olarak bilinen periferik lenfosit doku kültürü yöntemi uygulanmıştır (1,7,8). Yaşlandırılmış preparatlar giemsa bantlama tekniği ile boyanarak incelemeye alınmıştır.

Her olgu için en az 25 hücreye ait metafaz, immersiyon objektifi ile (100X) analiz edilip değerlendirme formuna kaydedilmiştir. En az 10 metafaz, otomatik görüntü analiz sistemine alınıp karyotiplenerek, ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir. Anomali veya mozaizm şüphesinde, analiz edilen metafaz sayısı artırılmıştır. Patolojik etkisinin olup olmadığı kesinlik kazanmamış olan 1, 9, 16 ve 19 numaralı kromozomlardaki perisentrik inversiyonlar ile heterokromatin bölge artışları ve akrosentrik kromozomların satellit assosiasyonları değerlendirme dışı bırakılmıştır.

İstatistiksel değerlendirmede, tüm serideki ve gruplardaki kromozomal düzensizlikler literatür bilgisi ışığında yüzde oranları hesaplanarak değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Çalışma serisindeki 245 bireyin oluşturduğu veriler üç grupta incelendi. Evli çiftlerden oluşan birinci grupta 91 çift (182 birey), evli olmayan kadınlardan oluşan ikinci grupta 46 birey ve evli olmayan erkeklerden oluşan üçüncü grupta ise 17 birey vardı. Sitogenetik olarak incelenen 245 bireyin gruplara göre dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Sitogenetik Olarak İncelenen 245 Bireyin Gruplara Göre Dağılımı

Gruplar	Olgu sayısı	%
G1 (çiftler)	182 birey (91 çift)	74.28
G2 (kadınlar)	46	18.77
G3 (erkekler)	17	6.93
Toplam	245	100

Genel serideki 245 bireyin, 16'sında major kromozomal anomali tespit edilmiş olup (%6.53), bunlardan 2'si çiftlerden oluşan 1. grup (%2.19), 11'i kadınlardan oluşan 2. grup (%23.91) ve 3'ü de erkeklerden oluşan 3. gruba dahildi (%17,64). Genel seride saptanan major kromozomal anomalilerin gruplara göre dağılımı ve oranları Tablo 2'de, saptanan major kromozomal anomali tipleri ve gruplardaki dağılımı Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 2. Genel Seride Saptanan Major Kromozomal Anomalilerin Gruplara Göre Dağılımı

Gruplar	Olgu sayısı (n)	Kromozom anomalisi (n)	%
G1 (çiftler)	182 birey (91 çift)	2	2.19
G2 (kadınlar)	46	11	23.91
G3 (erkekler)	17	3	17.64
toplam	245	16	6.53

Tablo 3. Üreme Problemi Olan 245 Bireydeki Major Kromozomal Anomali Tiperi ve Gruplardaki Dağılımları

Gruplar	Olgu sayısı	Major Kromozomal Anomali	Anomali sayısı
Grup 1 (çiftler)	182 birey (91 çift)	47,XXY 46,XY,t(3;6)	1 1
Grup2 (kadınlar)	46	46,XX,der(9)t(8;9)(q22;p24) mos45,X/46,X,i(Xq) 46,X,i(Xq) 45,X 46,XY *	1 2 1 2 5
Grup3 (erkekler)	17	47,XXY	3
Toplam	245		16

(*) Kromozomal cinsiyetten farklı fenotip

TARTIŞMA

Üç gruptan oluşan çalışma serimizde, en büyük grubu %74.28'lik oranla birinci gruptaki fetal kayıplara sahip olan çiftler oluşturdu. Evli olmayan kadınlardan oluşan ikinci grup, çalışma serisinin %18.77'sini, evli olmayan erkeklerden oluşan üçüncü grup ise %6.93'ünü oluşturdu. Evli çiftlerden oluşan grubun, diğer iki gruptan daha büyük olması, bireylerin evlilik öncesinde fertilité problemlerinin farkına varmalarını ve dolayısıyla kromozom analizleri için genetik merkezlerine yönlendirilmemeleri olabilir. Bu bireyler evlendikten sonra çocuk sahibi olamadıklarından, bu problemlerini araştırmaya başlamakta ve kromozom analizleri için genetik merkezlerine başvurumaktadırlar.

Nielsen ve Wohlert 34910 yenidoğan birey üzerinde yaptıkları çalışmada, genel popülasyondaki kromozomal anomali sıklığını %0.845 olarak tespit etmişlerdir (2). Badowinac ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada üreme problemleri olan 782 bireyde, kromozomal anomali sıklığını % 13.1 olarak saptamışlardır (6). Toplam 245 bireyden oluşan çalışma serimizde biz, major düzeydeki kromozomal anomali oranını %6.53 (16/245) olarak tespit ettik. Bu oran; Nielsen ve Wohlert'in verdikleri genel popülasyondaki sıklıktan beklendiği gibi yüksektir. Ancak Badowinac ve arkadaşlarının verilerinden düşüktür. Bunun en önemli nedeni patolojik olarak anlamlı bulmadığımız minör polimorfik kromozomal varyantları bu oran içinde göstermeyişimiz olabilir.



Çalışma serimizin birinci grubunda yer alan, tekrarlayan fetal kayıpları olan çiftlerde, en iyi bilinen etyolojik faktörlerden biri parental kromozom anomalileridir. Bu konuda yapılmış değişik çalışma serilerinde, normal toplum popülasyonuna göre yüksek oranda kromozomal anomali saptanmıştır. Bu oranlar olgu grubunun büyüklüğüne, olguların seçilme kriterlerine, sitogenetik analizlerde kullanılan tekniklere (bantlama teknikleri ve bant düzeyi), ve minör polimorfik kromozomal varyantlarla birlikte değerlendirilmesine bağlı olarak %0-50 arasında değişmektedir (7). Bu konuda Atak %8.3 (9), Sachs ve arkadaşları %10 (10), Badovinac ve arkadaşları %18 (6) gibi yüksek oranlarda kromozomal anomali bildirirken, Mary ve Stefenson %3.5 (11), Castle ve Bernstein %2.33 (12) gibi düşük oranlarda kromozomal anomali bildirmişlerdir. Bu grupta biz ise %2.19 oranında major kromozomal anomali tespit ettik. İki bireyde görülen major anomalilerin her ikisi de erkeklerde görülmüş olup, biri klinefelter sendromu (47,XXY), diğeri ise 46,XY,t(3;6) olarak tespit ettiğimiz dengeli bir resiprokal translokasyon taşıyıcılığıdır.

Nielsen ve Wohlert, toplumdaki kadınlarda görülen kromozomal anomali sıklığını %0.4 olarak bildirmişlerdir (2). Badovinac ve arkadaşları, üreme problemi olan kadınlarda %26.4 oranında kromozomal anomali tespit etmişlerdir (6). Çalışmamızın ikinci grubundaki evli olmayan kadınlarda %23,91 (11/46) gibi yüksek oranda major kromozomal anomali tespit ettik. Bu oran, toplum genelindeki kadınların kontrol frekansı olan %0.4'ten önemli derecede yüksektir (2). Çalışmamızda tespit ettiğimiz bu oran Badovinac ve arkadaşlarının, benzer grup üzerinde yaptıkları çalışmadaki %26.4'lük oranla da uyusmaktadır.

İkinci grupta tespit ettiğimiz bu anomalilerin büyük çoğunluğu, X kromozomundaki sayısal ve yapısal düzensizliklerle ilgili bulunmuştur. Kadınların 11'inde tespit edilen major kromozomal anomalilerin beşi, primer amenore veya testiküler feminizasyon klinik ön tanısıyla bölümümüze başvurmuş olan, 46,XY karyotipine sahip testiküler feminizasyon sendromu olan bireylerdi. Bu

hastalık, X kromozomal resesif kalıtım gösterir. Testesteron ve dihidrotestesteronun, hücre bağlama yeteneğini ortadan kaldırır. İlgili gen, Xq13'te haritalanmış olan androjen reseptör genidir (1). Yeni doğan erkek çocuklar arasındaki sıklığı 1/62400'dür. Bu hastalığın, evli olmayan kadınlardan oluşan çalışma grubumuzda %10.86 gibi yüksek oranda görülmesi, bölgemizde yüksek sıklıkta bulunabileceğini düşündürmektedir.

İkinci grupta saptanan 11 kromozomal anomaliden 5'i, turner sendromunun değişik varyasyonlarını gösterirken; bunların 2'si klasik 45,X turner sendromu, 2'si mozaik yapıdaki 45,X/46,X,i(Xq) ve biride 46,X,i(Xq) olarak tespit edildi. Primer amenore ön tanısı ile başvurmuş olan bir olgumuzda ise ilginç olarak, dengeli resiprokal translokasyon [46,XX,der(9)t(8q22;9p34)] tespit ettik.

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda, infertil erkeklerde görülen kromozomal anomali sıklığı %15.7 (13) ile %26 (14) arasında değişen oranlarda tespit edilmiştir. Badovinac ve arkadaşlarının, kusurlu üreme uygunluğu olan 158 erkek üzerinde yaptıkları çalışmada ise, kromozomal anomali oranı %17 olarak saptanmıştır (6). Çalışmamızın üçüncü grubunu oluşturan, evli olmayan 17 erkek bireyin üçünde (%17.64) major düzeyde kromozomal anomali tespit ettik. Sonuçlarımız, bu gruptaki olgu sayısının az olmasına rağmen, literatür bilgileri ile uyumlu görülmektedir. Elde ettiğimiz anomalilerin üçü de klinefelter sendromuna yol açan 47,XXY karyotipine sahip seks kromozom anomalileridir.

Bu araştırma, üreme problemlerine neden olan etyolojik faktörler içinde, kromozomal anomalilerin önemli rol oynayabileceğini ve bölgemizde üreme problemi olan bireylerde, özellikle kadınlarda, sitogenetik araştırmanın yapılmasının gerekliliğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Başaran N, Tıbbi Genetik (Ders kitabı).7.Baskı, Bursa: Güneş&Nobel Tıp Kitabevi, 1999: 161.
2. Nielsen J, Wohlert M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence

study in arhus. Hum Genet, 1991; 87(1):81-83.

3. Lanasa MC, Hogge WA, Hoffman EP. Sex chromosome genetics '99. The X chromosome and recurrent spontaneous abortion: The significance of transmanifesting carriers. Am J Hum Genet, 1999; 64:934-938.

4. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. Fertil Steril, 1996;66:24-29.

5. Healy DL. Female infertility: Causes and treatment. The Lancet, 1994; 18;343(8912):1539-1544.

6. Badovinac AR, Tomljanovic AB, Stracevic N, at all. Chromosome studies in patiens with defective reproductive success, AJRI,2000;44:279-283.

7. Karakaya Ö. Tekrarlayan fetal kayıplı çiftlerde sitogenetik değerlendirme, (doktora tezi), İstanbul, 1998.

8. Lüleci G, Başaran S. Sitogenetik uygulama yöntemleri. Meteksan, Ankara, 1990.

9. Atak Z. Habituel abortuslu çiftlerde sitogenetik incelemenin yeri. (Uzmanlık Tezi) Sivas, 1988.

10. Sachs ES, Jahoda MG, van Hemel JO, at all. Chromosome studies of 500 couples with two or more abortions. Obstet Gynecol, 1985; 65:375-378.

11. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. Fertil Steril, 1996; 66:24-29.

12. Castle D, Bernstein R. Cytogenetic analysis of 688 couples experiencing multiple spontaneous abortions. Am J Med Genet, 1988;29:549-556.

13. Gündüz G, Lüleci G, Baykara M. Cytogenetic study in 102 infertile men. Urol Int, 1998;61:32-34.

14. Penna VS, Araujo H, Balleca JL, at all. Chromosomal abnormalities and polymorphisms in infertile men. Arch Androl, 2001;46:205-210.

