

X KROMOZOM ANÖPLOİDİLİ HABİTUEL ABORTUS VE İNFERTİLİTE OLGULARI

Şengül TURAL¹, Nurten KARA¹, Sezgin GÜNEŞ¹, Ferda Alpaslan PINARLI¹, İdris KOÇAK², Gülsen ÖKTEN¹

¹ Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Samsun

² Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Samsun

ÖZET

Amaç: X kromozomu mozaizminin kadınlarda üreme performansına etkisi incelenmiştir.

Gereç ve yöntem: Standart periferik kan kültürü yöntemi ve tripsin giemsa bantlama (GTG) metodu uygulanmış ve X-kromatine bakılmıştır.

Bulgular: Olgu 1; In Vitro Fertilizasyon (IVF) denemesinin başarısız olması nedeni ile laboratuvarımıza refere edilen hastanın karyotipi 46,XX[97]/47,XXX[2]/ 49,XXXXX [1],

Olgu 2; IVF denemesinin başarısız olması nedeni ile laboratuvarımıza refere edilen hastanın karyotipi 46,XX[95]/47,XXX[5],

Olgu 3; Habituel abortus nedeni ile laboratuvarımıza refere edilen hastanın karyotipi 46,XX[85]/ 47,XXX[15],

Olgu 4; Habituel abortus nedeni ile laboratuvarımıza refere edilen hastanın karyotipi 46,XX[96]/47,XXX[4],

Olgu 5; Habituel abortus nedeni ile laboratuvarımıza refere edilen hastanın karyotipi 46,XX[85]/47,XXX[15] olarak saptandı.

Sonuç: İncelediğimiz beş olgudaki benzer sitogenetik sonuçlar ile, X kromozomu mozaizminin kadınlarda üreme performansına etkisi vurgulanmaktadır.

Anahtar kelimeler: infertilite, habituel Abortus, x kromozomu mozaizmi

Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (TJOD Derg), 2008; Cilt: 5 (Özel Sayı): Sayfa: 22- 5

SUMMARY

HABITUAL ABORTION AND INFERTILITY CASES WITH X CHROMOSOME ANEUPLOIDY

Objective: We investigated the effect of X chromosome mosaicism to reproductive performance of women.

Material and method: It was studied by standart peripheral blood culture and trypsin-giemsa banding (GTG) method. Also buccal smear examination was done for X chromatin presence.

Case 1; A case with IVF failure who referred to our laboratuaries for chromosome analysis, was found 46,XX[97]/47,XXX[2]/ 49,XXXXX [1].

Case 2; A case with IVF failure who referred to our laboratuaries for chromosome analysis, was found 46,XX[95]/47,XXX[5].

Case 3; A case with habitual abortion referred to our laboratuaries for chromosome analysis, was found 46,XX[85]/ 47,XXX[15].

Case 4; A case with habitual abortion referred to our laboratuaries for chromosome analysis, was found 46,XX[96]/47,XXX[4].

Case 5; A case with habitual abortion referred to our laboratuaries for chromosome analysis, was found 46,XX[85]/47,XXX[15].

Conclusion: The effect of sex chromosome mosaicism to reproductive performance of women is emphasized with the similar results of five cases we investigated.

Key words: habitual abortion, infertility, x chromosome mosaicism

Journal of Turkish Obstetric and Gynecology Society, (J Turk Obstet Gynecol Soc), 2008; Vol: 5 (Special Issue): Pages: 22- 5

Yazışma adresi: Asistan Şengül Tural, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Kurupelit, 55139 Samsun

Tel.: (0362) 312 19 19 - 22 77

e-posta: stural@omu.edu.tr

Alındığı tarih: 24.03.2008, revizyon sonrası alınma: 03.07.2008, kabul tarihi: 28.07.2008

GİRİŞ

Tekrarlayan düşükler çiftlerde %0.5-1 oranında görülmektedir⁽¹⁾. Kadınlarda tekrarlayan düşük ve infertilite nedenleri uterus anomalileri, maternal sistemik düzensizlikler, endokrin düzensizlikler, dengeli yapısal kromozom anomalileri ve otoimmün düzensizlikler gibi heterojen bir durum göstermektedir^(1,3). Ayrıca maternal enfeksiyon ve lüteal faz defektleri de düşüklerin nedenlerindedir. Kadınlarda infertilite ve düşüklere neden olan etkenler arasında X kromozomu mozaizmi de yer almaktadır. Fakat bu mekanizma tam olarak net açıklanamamıştır⁽⁴⁾. Düşük oranlı mozaizmin kültürel artefakt olabileceği ihtimali düşünülerek bunun ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Ayrıca rutin sitogenetik analizlerle düşük oranlı mozaizmin gözden kaçmaması için mikroskopik ve sayısal inceleme artırılmalıdır⁽⁴⁾.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hastaların ayrıntılı bilgi formu doldurularak bilgilendirilmiş onamları alındı. Karyotip analizi için standart periferik kan kültürü ve GTG metodu uygulandı^(1,5). Fitohemaglutin ile indüklenmiş periferik kan lenfositleri kullanılarak 72 saatlik kültür yapıldı⁽¹⁷⁾. Kültür sonrası elde edilen metafaz preparatları GTG metodu ile boyandı. Karyotip analizi International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 2005'e göre rapor edildi⁽²⁷⁾.

Mozaisizm oranının saptanması amacıyla her hastadan 100 metafaz mikroskopik sayım yapıldı. Yöntem ile ilgili bir kültürel artefakt olma ihtimalinin ayırıcı tanısı amacıyla olgulardan ikinci kez kan alınarak kültür tekrarlandı. Ayrıca yanak mukozası epitelinden alınan örneklerde Shift boyama yöntemi ile X kromatin sayıldı⁽⁶⁾.

OLGULAR

Olgu 1; İnfertilite nedeni ile IVF tedavisi gören 25 yaşında kadın olgu, IVF denemesinin başarısız olması nedeniyle genetik analiz için laboratuvarımıza gönderildi. İncelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın karyotipi mos 46,XX[97]/47,XXX[2]/49,XXXXX[1] olarak saptandı. X-kromatin değeri % 20 bulundu.

Kromatin sayımında % 1 çift kromatin gözlemlendi
Olgu 2; İnfertilite nedeni ile IVF uygulanan 30 yaşında kadın olgu, IVF denemesinin başarısız olması nedeniyle genetik analiz için laboratuvarımıza gönderildi. İncelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın karyotipi mos 46,XX[95]/47,XXX[5] olarak saptandı. X kromatin değeri % 25 bulundu. Kromatin sayımında % 1 çift kromatin gözlemlendi

Olgu 3; 29 yaşında kadın olgu, dört haftalık iki spontan abortusu sebebiyle laboratuvarımıza gönderildi. İncelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın karyotipi mos 46,XX[85]/47,XXX[15] olarak saptandı. X kromatin %19 bulundu. Kromatin sayımında % 3 çift kromatin gözlemlendi

Olgu 4; 44 yaşında kadın olgu, sağlıklı bir kız çocuğundan sonra tekrarlayan yaklaşık 8 haftalık üç spontan abortusu sebebiyle genetik analiz için laboratuvarımıza gönderildi. İncelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın karyotipi mos 46,XX[96]/47,XXX[4] olarak saptandı. X kromatin değeri %18 bulundu. Kromatin sayımında % 1 çift kromatin gözlemlendi

Olgu 5; 32 yaşında kadın hasta, iki sağlıklı kızından sonra tekrarlayan 9 ve 10'ar haftalık üç spontan abortusu sebebiyle genetik analiz için laboratuvarımıza gönderildi. İncelenen 100 metafaz plağı sonucunda hastanın karyotipi mos 46,XX[85]/47,XXX[15] olarak saptandı. X kromatin değeri %20 bulundu. Kromatin sayımında % 2 çift kromatin gözlemlendi

TARTIŞMA

İleri anne yaşı ve kromozom ayrılabilmesi birlikteliği birçok çalışmada saptanmıştır⁽⁵⁾. Cinsiyet kromozomlarının kaybı ve artışında da anne yaşının etkisinin olduğu görülmüştür^(7,8). Genel olarak 55 yaşın üzerindeki kadınlarda monozomi X hücrelerin sıklığı %5 iken, 51-91 yaşları arasındaki kadınlarda oranının %3.2 ile %5.1 arasında değiştiği gözlemlenmiştir⁽⁸⁾. Döllenmeden sonraki segmentasyon bölünmelerinde kromozom ayrılabilmesinden dolayı bu kusurların embriyolojik dönemde ortaya çıkış zamanına bağlı olarak söz konusu bireyin bazı hücrelerinde kromozom sayısı normalden fazla ve bazı hücrelerinde ise normalden az olacağından bu bireylerde mozaizim görülecektir.

Embriyonik gelişimin görüldüğü evre ile mozaikliğin derecesi doğrusal orantılıdır^(18,19,21).

Mozaik Turner Sendromlu olgularda spontan düşük oranı %25-30 ve ölü doğum oranı %6-8'dir. Bu olgularda, yenidoğum ölümleri ve konjenital anomaliler daha fazla görülmüştür⁽⁹⁾. 45,X hücre hattı, Turner sendromlu olgularda gebeliğin üçüncü ayından sonra gonadal gelişimde folikuler atreziye sebep olmaktadır⁽⁹⁾. 47,XXX hücre hattının germ hücrelerinin gelişimine etkisi net bilinmemekte ve 47,XXX karyotipli kadınların çoğunun üreme performansının başarılı olduğu fakat nöromotor, öğrenme ve fizyolojik adaptasyon yeteneğinde gerilik görülmüştür^(10,13,19,20). Mozaik olgularda 47,XXX hücrelerinin oosit kalitesini olumlu yönde etkilediği, 45,X hücre hattının varlığının da gonadal gelişimi olumsuz etkilediği bilinmektedir⁽⁴⁾. Kaneko ve ark.⁽⁹⁾ mos 45,X/46,XX/47,XXX mozaik kadınların üremedeki olumsuz risklerinin yüksek olduğunu gözlemlemişler, 45,X ve 47,XXX hücrelerin, oosit kalitesine ve gebeliğin sonlanmasına etkileri olabileceğini göstermişlerdir.

Son dönemlerde kadınlarda X inaktivasyonundan sapma ve erkeklerde Y mikrodelsiyonları gebelik kayıplarında iki yeni genetik yaklaşım olarak öne sürülmektedir^(22,24).

Dozaj kompanzasyonu nedeniyle kadınlarda X kromozomlarından bir tanesi rastgele olarak inaktive olur. X kromozom sayısı arttıkça, fazla X kromozomlarının inaktivasyonuna rağmen fenotipik anomalilerin arttığı bildirilmiştir. Bu durum X anöploidili olgularda inaktivasyondan kaçan genlerin doz etkisi hipoteziyle açıklanmaktadır⁽²⁵⁾. Rastgele olmayan X inaktivasyon, tekrarlayan düşüklerin yanısıra X'e bağlı hastalıklar, neoplastik hastalıklar ve trizomi riski ile ilişkili bulunmuştur⁽²⁵⁾.

Singh ve arkadaşları, 31 mozaik X kromozomlu kadının 97 gebeliğini incelemişler ve fetusların %75'inin anomalili, %50'sinin düşükle sonlandığı ve %25'inin genetik ve konjenital anomalili olduğunu gözlemlemişlerdir⁽¹³⁾. Kuo ve ark.⁽⁴⁾ 18 mozaik X kromozomlu olguya yaptıkları çalışmada tekrarlayan düşük oranını %61 olarak bulmuştur.

X kromozom anöploidilerinin gonadal hasar ile ilişkisi için farklı hipotezler öne sürülmektedir⁽⁴⁾. Bu hipotezlerden ilki; 45,X ve 47,XXX kromozomlu hücrelerde, mayoz sırasında düzensiz kromozom çiftlerinin oluşmasının premature germ hücresi ölümüne sebep olabileceğidir⁽¹¹⁾. İkinci olarak; oosit kalitesi, X kromozomu üzerindeki spesifik gen ürünlerinin ekspresyonunun artması veya azalması ile etkilenmektedir. Bir diğer hipotez ise; X

kromozom mozaizminin, kromozom ayrılmasının genetik kontrolünün kaybına yol açtığı varsayımdır. Ayrıca mayoz-mitoz sürecindeki bu defektler gonadal hasara ve oosit atrezisine neden olabilmekte, X-kromozom mozaizmi ve anöploidili kadınlarda erken menopoza görülmektedir⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Teşekkür: Sitogenetik laboratuvarımızda çalışan sağlık teknisyenleri, Mustafa Düz, Murat Fidan, Onur Ukray ve Tuğba Bülbül'e katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

SONUÇLAR

Mozaizizm bir bireyde ya da dokuda genetik olarak farklı ancak tek bir zigottan gelen en az iki ayrı hücre dizisinin varolmasıdır. Mozaizmin en sık nedeni erken postzigotik mitotik bölünmede ayrılamamadır⁽²⁶⁾. Düşük oranlı mozaizizm gösteren olguların gözden kaçmaması için ileri tekniklerden interfaz fluoressan in situ hibridizasyon ve array comparative genomic hybridization yöntemlerinin uygulanması önerilmektedir⁽¹⁷⁾. Biz laboratuvarımızda GTG bantlama tekniğini uygulayabildiğimiz için ancak vakalardan iki kez kan örneği alıp kültüre ederek hata kontrolü yapabildik. Bu çalışmada incelediğimiz beş olgudaki benzer sitogenetik sonuçlar ile, X kromozomu mozaizminin kadınlarda üreme performansına etkisi vurgulanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Tien J C, Tan T Y T. Non-surgical interventions for threatened and recurrent miscarriages. Singapore Med J 2007; 48(12): 1074.
2. Dewalds GW, Michels WW. Recurrent miscarriages: cytogenetic causes and genetic counseling of affected families. Clin Obstet Gynecol 1986; 29: 865- 85.
3. Byrne JLC, Ward W. Genetic factors in recurrent abortion. Clin Obstet Gynecol 1994; 37: 693- 704.
4. Kuo PL, Guo HR. Mechanism of recurrent spontaneous abortions in women with mosaicism of X-chromosome aneuploidies. Fertil and Steril 2004; 6: 1594- 1601.
5. Aydos, S.E, Tükün A. İleri anne yaşı ve kromozomal ayrılamama. Türk Fertil. Der. 2004; 12: 329- 38.
6. Guard HR. Sex-chromatin staining techniques. Am J Clin Pathol 1959; 32: 145.
7. Nowiski GP, Van Dyke DL, Tilley BC, Jacobsen G, et al. The

- frequency of aneuploidy in cultured lymphocytes is correlated with age and gender but not with reproductive history. *Am j Hum Genet* 1990; 46: 1101- 11.
8. Jacob PA, Brunton M, Court-Brown WM. Changes of human chromosome count distribution with age: evidence for a sex difference. *Nature* 1963; 197: 1080- 1.
 9. Kaneko N, Kawagoe S, Horoi M. Turner's syndrome-review of the literature with reference to a successful pregnancy outcome. *Gynecol Obstet Invest* 1990; 29: 81- 7.
 10. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Chromosomal variations in mammalian neuronal cells: known facts and attractive hypotheses. *Int Rev Cytol* 2006; 249: 143- 91.
 11. Burgoyne PS, Baker TG. Meiotic pairing and gametogenic failure. *Symp Soc Exp Biol* 1984; 38: 349- 62.
 12. Singh RB, Carr DH. The anatomy and histology of XO human embryos and fetuses. *Anat Rec* 1966; 155: 369- 83.
 13. Singh DN, Hara S, Foster HW, Grimes EK. Reproductive performance in women with sex chromosome mosaicism. *Obstet Gynecol* 1980; 55: 608- 11.
 14. Wu RC, Kuo PL, lin SJ, et al. X chromosome mosaicism in patients with recurrent abortion or premature ovarian failure. *J Formos Med Assoc* 1993; 92: 953- 6.
 15. Lippe B. Turner syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 121- 52.
 16. Saenger P. The current status of diagnosis and therapeutic intervention in Turner's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 297- 301.
 17. Seabright M. A Rapidbanding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971; 2: 971- 2.
 18. Yurov Y.B, Vorsanova S.G, Iourov I.Y, Demidova I.A, et.al. Unexplained autism is frequently associated with low-level mosaic aneuploidy. *J Med Genet* 2007;44:521- 5.
 19. Iourov IY, Vorsanova SG, Yurov YB. Intercellular genomic (chromosomal) variations resulting in somatic mosaicism: mechanisms and consequences. *Curr Genomics* 2006; 7: 435- 46.
 20. Mary G. Linden, Bruce Bender, et al. 47,XXX. What is the Prognosis?. *Pediatrics* 1988; 82(4).
 21. Rodriguez Criado G, Galan Gomez E, Tizzano EF, et al. First report of a patient with a mixoploidy 47,XXX/94,XXXXXX. *Genet Couns* 2007;18(1):99-104.
 22. C. Lanasa, W.A. Hogge, C. Kubik, J. Blancato and E.P. Hoffman. Highly skewed X-chromosome inactivation is associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 252- 4.
 23. Bagislar, I. Ustuner, B. Cengiz, F. Soylemez, C.B. Akyerli and S. Ceylaner et al. Extremely skewed X-chromosome inactivation patterns in women with recurrent spontaneous abortion. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006; 46: 384- 7.
 24. S. Dewan, E.E. Puscheck, C.B. Coulam, A.J. Wilcox and R.S. Jeyendran, Y-chromosome microdeletions and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2006; 86: 441- 5.
 25. Milja Kaare, Jodie N., Veli-Matti Ulander Risto Kaaja ,Ph.D and Kristiina Aittomäki. Sex chromosome characteristics and recurrent miscarriage. *Clin Genet.* 2004; 66: 327- 32.
 26. Nussbaum R. McInnes R. Willard H. Thompson & Thompson *Tıbbi Genetik.* 6. Baskı. İstanbul Güneş Kitabevi 2005; 75, 149.
 27. Shaffer L.G., Tommerup N. eds. An international system for human cytogenetic nomenclature. S.Karger, Basel 2005.