



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**1999-2019 YILLARI ARASINDA BAŞARISIZ IVF ÖN TANISIYLA
BAŞVURAN HASTALARIN SONUÇLARININ GENETİK
AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sevcan İZGİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Selahaddin TEKEŞ

DİYARBAKIR- 2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**1999-2019 YILLARI ARASINDA BAŞARISIZ IVF ÖN
TANISIYLA BAŞVURAN HASTALARIN SONUÇLARININ
GENETİK AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Sevcan İZGİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Selahaddin TEKEŞ

DİYARBAKIR- 2021

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

25/05/2021

Sevcan İZGİ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince gerek etik gerekse mesleki tecrübelerini örnek aldığım, hayata bakış açılarıyla bizlere yön veren başta bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Mahmut BALKAN olmak üzere değerli hocalarım Öğr. Üyesi Dr. Diclehan ORAL'a, Doç. Dr. Sevgi İrtegün KANDEMİR'e, her daim her sorumuza bıkmadan sabırla cevap veren Dr. Mahir BİNİCİ'ye ve Dr. İlyas Yücel'e sonsuz teşekkür ederim.

Çalışmam süresince tez danışmanlığımı üstlenerek bana yol gösteren, engin tecrübeleriyle destek olan, çalışmalarına olanak sağlayan, kıymetli hocam Doç. Dr. Selahattin TEKEŞ'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tanıdığım günden beri kendisinin akademik tecrübelerinden ve mütevazı hayatından çok şey öğrendiğim saygıdeğer hocam Prof.Dr.Beran YOKUŞ'a, Bilgisini, tecrübelerini ve tavsiyelerini her daim örnek aldığım kıymetli hocam Dr.Selim KARAHAN'a, Yardımsever ve alçak gönüllülüğüyle bilimsel tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam Doç.Dr.Mehmet BOĞA'ya, tezimin Biyoistatistik analiz çalışmalarında yardımlarıyla tezime katkı sunan Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Üyesi Prof.Dr.Ömer SATICI ve Dr.İsmail SAYMAZ'a, Çalışmalarında her türlü katkıyı esirgemeyen kendisinden sitogenetik laboratuvarı uygulamalarında çok şey öğrendiğim ve üzerimde emeği olan çok değerli anabilim dalı çalışanımız Fatma AYATA'ya, Manevi ablam Emel ESEN'e, Asiye BAYRAK'a, Ferda TEKİN'e, Gül KILIÇ'a, Berivan ATEŞ'e, Serap BİNİCİ'ye, Hasan GOYA'ya, Muhammed AKDEMİR'e ve Hakan KAPLAN'a; Tüm hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen kıymetli ailem; annem Şükran GÜZELOCAK ve kıymetli babam rahmetli Bedri GÜZELOCAK'a sonsuz saygı ve sevgilerimle teşekkürlerimi bir borç bilirim. Değerli Eşim Zafer İZGİ'ye çocuklarım; Esmâ, Emir ve Taha'ya her daim yanımda olup bana sevgi ve muhabbetle destek oldukları için sonsuz teşekkür ederim.

Sevcan İZGİ

İÇİNDEKİLER

ONAY	I
BEYAN.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLOLAR LİSTESİ.....	VII
1.1. TÜRKÇE ÖZET	1
1.2. ABSTRACT	3
2. GİRİŞ ve AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER	7
3.1. Kromozom Anomalileri	7
3.1.1. Kromozom sayısındaki anomaliler	7
3.1.2. Anöploidi	7
3.1.3. Kromozom yapısındaki anomaliler	8
3.1.4. Dengesiz yeniden düzenlenimler	9
3.1.5. Delesyonlar	9
3.1.6. Duplikasyonlar	9
3.1.7. Marker ve halka kromozomlar	10
3.1.8. İzokromozomlar	10
3.1.9. Disentrik kromozomlar	10
3.2. Dengeli Yeniden Düzenlenimler.....	10
3.2.1. İnversiyonlar	11
3.2.2. Translokasyonlar	11
3.2.3. Resiprokal translokasyonlar	11
3.2.4. Robertsonian translokasyonlar	11
3.2.5. İnsersiyonlar.....	12
3.2.6. Mozaisizm	12
3.3. Fertilite	13
3.3.1. İnfertilite.....	14

3.3.2. Açıklanamayan infertilite.....	15
3.3.3. İn vitro fertilizasyon (IVF).....	16
3.3.4. Başarısız IVF.....	16
4. GEREÇ VE YÖNTEM	18
4.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer.....	18
4.2. Materyaller	18
4.3. Kimyasal Maddeler ve Solusyonlar	18
4.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler.....	19
4.5. Kültür Ortamı	20
4.6. Kromozom Elde Etme Yöntemi.....	20
4.7. Preparatların Boyanması	21
4.8. Preparatların Değerlendirilmesi	21
5. BULGULAR	23
6. TARTIŞMA	35
7. SONUÇ	38
8. KAYNAKLAR.....	39
9. ÖZGEÇMİŞ	46
10. ETİK KURUL ONAYI.....	47
11. ORJİNALLİK RAPORU.....	48

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
ICSI	: Mikroenjeksiyon uygulaması (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection)
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
LH	: Lüteinizan Hormon
AZF	: Azoospermia Faktör bölgesi (Y kromozomu üzerinde)
ÜYT	: Üremeye Yardımcı Teknikler
GnRH	: Gonadotropin salgılayan hormon
PHA	: Phytohemagglutinin
FISH	: Fluorescent In Situ Hybridization
PGT	: Preimplantasyon Genetik Tanı
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
ART	: Asiste Reprodüktif Teknolojiler
RIF	: Tekrarlayan IVF Başarısızlığı
TGK	: Tekrarlayan Gebelik Kaybı
ICE	: İnterkromozomal etki

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kromozom yapısal değışiklikleri (30)	13
Şekil 2. Kromozom elde etme (43)	22
Şekil 3. Kromozomlarda qh+, pss/ps+, inv, pstk aberasyonları	28
Şekil 4: 46, XX, 9qh+ sonuca sahip hastanın karyotipi	29
Şekil 5: 46, XY, 9qh+ sonuca sahip hastanın karyotipi	29
Şekil 6: Hastaların genetik analiz sonucu grafiğı	30
Şekil 7: Sigara içme durumuna göre ilaç kullanımı	31
Şekil 8: Sigara içmenin genetik analiz sonucuna etkisi	33
Şekil 9: Yaş durumuna göre genetik analiz sonucu	34

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. Başarısız IVF ön tanısıyla gelen hastaların yıllara göre dağılımı	24
Tablo 2. Hastaların sigara kullanım durumu.....	24
Tablo 3. Hastaların ilaç kullanım durumu	25
Tablo 4. Hastaların akrabalık durumu.....	26
Tablo 5. Hastaların başarısız IVF deneme sayısı	26
Tablo 6. Başarısız IVF ön tanısıyla gelen hastaların genetik analiz sonuçları.....	27
Tablo 7. Hastaların yaş durumu	30
Tablo 8. Hastaların sigara içme durumuna göre ilaç kullanımı	31
Tablo 9. İlaç kullanımının genetik analiz sonucuna etkisi	31
Tablo 10. Sigara kullanımının genetik analiz sonucuna etkisi.....	32
Tablo 11. Yaş durumunun genetik analiz sonucuna etkisi.....	33

1999-2019 Yılları arasında başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastaların sonuçlarının genetik açıdan değerlendirilmesi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Sevcan İZGİ

Danışmanı: Doç. Dr. Selahaddin TEKEŞ

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

1.1. ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı, başarısız IVF ön tanısıyla başvurmuş hastaların hem kromozom anomalilerinin hem de başarısız IVF'e neden olan diğer genetik unsurların sıklığını ve tiplerini belirlemek, saptanan genetik anomaliler ile başarısız IVF hastalarının klinik verileri arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Gereç ve Yöntem: 1999-2019 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik anabilim dalına Başarısız IVF ön tanısı ile gelen çiftlerin retrospektif olarak sitogenetik analizleri çalışmaya dahil edilecektir. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik bölümü, Genetik Tanı laboratuvarında, çalışma kapsamındaki her olgunun aile bilgilerini içeren pedigriler oluşturulmuştur. Pedigri analizinde bireylerin yaş, cinsiyet, akraba evliliği, sigara ve ilaç kullanımı gibi kriterler ele alınmıştır.

Bulgular: Bu çalışmada 850 olgudan 645 olgunun (%76) normal karyotipe (46,XX, 46,XY) 205 olgunun (%24) anomalili karyotipe sahip olduğu görülmüştür. 425 çiftin en az 1 en çok 6 başarısız IVF denemesi olduğu görülmekle beraber bu durumu etkileyen faktörler göz önüne alındığında; sigara içenler, ilaç kullananlar, akrabalık ilişkisi olanlar, 35 yaş üstü olanlar şeklinde kategorilerde incelemek bir takım ilişkilerin varlığını ortaya koyabileceği düşünülmüştür. 850 olgudan 317 olgunun (%37) sigara içtiği, 533 olgunun (%63) sigara içmediği görülmüştür. Yine 425 çiftten 119 çiftin (%28) akraba olduğu, 306 çiftin (%72) akrabalık ilişkisinin olmadığı görülmüştür. 850 olgudan 63 olgunun (%7) düzenli ilaç kullandığı, 787 olgunun (%93) ilaç kullanmadığı görülmüştür. 850 olgudan 261 olgunun (%30) 35 yaş üstü olduğu, 589 olgunun (%70) 35 yaş altı olduğu görülmüştür.

Sonuç: Sonuç olarak, başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastalardan oluşmuş çalışmamızda, sitogenetik açıdan yaptığımız analizler dahilinde kromozom anomalilerine sahip hasta sayısının literatürle uyumlu olduğunu, heterokromatin varyantları insidansının infertilite ile olan ilişkisinin dikkate alınması gerektiğini bu sebeple heterokromatin alanların, genlerle ilgili etkilerinin detaylı bir şekilde araştırılması ve infertiliteye yönelik yaklaşımların moleküler olarak incelenmesinin, daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile gerçekleştirilecek yeni çalışmalarla bu durumun açıklığa kavuşacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Başarısız IVF, Kromozomal anomaliler, Genetik anomaliler, Retrospektif Genetik analizler

Genetic evaluation of patients results admitted with an unsuccessful IVF prediagnosed between 1999-2019

Student's Surname and Name: İZGİ Sevcan

Adviser of Thesis: Assoc.Prof. Dr. Selahaddin TEKEŞ

Department: Medical Biology

1.2. ABSTRACT

Aim: It was aimed to determine the frequency and types of both chromosomal anomalies and other genetic elements that cause unsuccessful IVF in patients admitted with a prediagnosis of unsuccessful IVF to examine the relationship between the detected genetic anomalies and the clinical data of unsuccessful IVF patients.

Material and Method: Retrospective cytogenetic analyzes of couples who came to Dicle University Medical Biology and Genetics department between 1999-2019 with a pre-diagnosis of failed IVF will be included in the study. In the pedigree analysis, criteria such as age, gender, consanguineous marriage, smoking and drug use of individuals were considered.

Results: In this study, it was observed that 645 cases (76%) out of 850 cases had normal karyotype (46,XX, 46,XY) and 205 cases (24%) had karyotype with anomaly. Although it has been seen that 425 couples had at least 1 and at most 6 unsuccessful IVF attempts, considering the factors affecting this situation; Examining the categories such as smokers, drug users, relatives, and those over the age of 35 revealed the existence of some relationships. 317 cases (37%) out of 850 cases smoked, 533 cases (63%) did not smoke. (28%), 306 couples (72%) were found to be relatives. It was observed that 63 cases (7%) of 850 cases used regular medication, 787 cases (93%) did not use drugs, it was observed that 261 cases (30%) of 850 cases were above the age of 35, and 589 cases (70%) were under the age of 35.

Conclusion: In conclusion, in our study consisting of patients presenting with unsuccessful IVF prediagnosis, the number of patients with chromosomal anomalies with in the cytogenetic analyzes we made was consistent with the literature, the relationship between the incidence of heterochromatin variants and infertility should be taken into account; therefore, the effects of heterochromatin domains on genes should be investigated in detail and infertility. We think that molecular examination of the approaches directed to this situation will clarify this situation with new studies to be carried out with more patient populations.

Keywords: Unsuccessful IVF, Chromosomal anomalies, Genetic anomalies, Retrospective cytogenetic analyzes

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Aile toplumun beklentilerine uygun bireyler yetiştirilmesinde ve insan neslinin devamının sağlanmasında büyük önem taşıyan bir kurumdur. Doğurganlık ve üreme aileye ve bireye özgü evrensel işlevler olarak görülmekte ve çocuk sahibi olma evlilik kurumunun beklenen sonucu olarak karşımıza çıkmaktadır (1).

Ülkemizde çiftlerin yaklaşık olarak %25'inde bir yıl içerisinde gebelik oluşmamaktadır, %15'i infertilite tedavisi aramakta olup, %5 i çocuk sahibi olmak istemelerine rağmen olamamaktadırlar (2). İnfertilite ile ilgili birçok etmen çalışmalarda araştırılmıştır. Bu etmenler; doğurganlık yaşı, sigara, alkol, ilaç kullanımı, biyolojik etmenler, fiziksel faktörler, sosyolojik faktörler, psikolojik faktörler, genetik bozukluklar olarak sayılabilmektedir (3). İnfertilite (18-45 yaş) üreme yaşı grubundaki çiftlerin %10-15'lik kısmını etkilemektedir (4). Sağlıklı olan çiftlerin bir ay içinde gebe kalma ihtimali %20-25, altı ay içinde %75, bir yıl içinde ise %90 oranında olacağı tespit edilmiştir (5).

İnfertilite kadını ve erkeği aynı ölçüde etkileyen bir durumdur. Çocuk sahibi olmak isteyen fakat infertilite kaynaklı buna malik olamayan çiftlerin %50'sinde erkek bireyden kaynaklı sebepler oluşmaktadır (6). Yapılan tetkiklerde kromozomal anomalilerin yüksek sıklığı subfertil bireylerde sitogenetik incelemenin önemini vurgulamaktadır. İn Vitro Fertilizasyon, sayısız insanın aile kurmasına yardımcı olmuş harika bir teknolojidir. IVF 'nin süresi ve başarısının son beş yılda önemli ölçüde geliştiği görülmüştür. İnsanlar genellikle, doğurganlık tedavisi aradıklarında doğal olarak hamile kalmanın artık bir seçenek olmadığını düşünürler. Ancak yapılan en son araştırmalara göre durum bu değildir. Her beş kadından biri başarısız bir IVF döngüsünü izleyen 5 yıl içinde kendilerini doğal olarak hamile kalmış bulabilmektedirler (7). Başarısız gerçekleşen tedaviler çiftlere duygusal ve finansal bir yük getirmektedir. İnfertilite çoğu çift için kayıp anlamına gelir; üreme kapasitesinin kaybı, bir çocuğun kaybı, genetik devamlılığın kaybı, bir gebelik deneyiminin kaybı, biyolojik üreme potansiyelinin kaybı...Aynı zamanda başarısız olan her IVF döngüsünde çiftler aile olmaya olan inançlarını dahi kaybedecek kadar umutsuz bir psikolojik duygu durumuna girebilmektedirler. İnfertil kadınların, kalp

hastalığı ve kanserli kadınlara benzer şekilde yüksek anksiyete ve depresyon düzeylerine sahip oldukları bulunmuştur (8).

Başarısız bir doğurganlık tedavisi döngüsünden sonra birkaç seçeneğinizin var olduğu söylenebilir. Aynı tedaviyi tekrar denemek, farklı bir tedavi ile yeniden denemeye devam etmek isteyebilir ya da çiftler artık daha fazla tedavi görmemeye karar verebilmektedirler (9).

Bu çalışmanın amacı, başarısız IVF ön tanısıyla başvurmuş hastaların hem kromozom anomalilerinin hem de başarısız IVF'e neden olan diğer genetik unsurların sıklığını ve tiplerini belirlemek, saptanan genetik anomaliler ile başarısız IVF hastalarının klinik verileri arasındaki ilişkiyi incelemektir.



3. GENEL BİLGİLER

3.1. Kromozom Anomalileri

Kromozom anomalileri sayısal veya yapısal olabilmekte ve bir ya da daha fazla otozom veya cinsiyet kromozomunu ya da aynı anda ikisini birden ilgilendirebilmektedir. Klinik olarak anlamlı kromozom bozukluklarının şimdiye kadar en sık görülen tipi anöploididir. Hemen her zaman fiziksel gelişim geriliğine veya mental retardasyona ya da her ikisine de yol açan ve fazla veya eksik kromozomdan kaynaklanan anormal kromozom sayısıdır (10).

3.1.1. Kromozom sayısındaki anomaliler

Normal bir bireyin sahip olduğu 46 dışındaki herhangi bir kromozomal değer literatürde heteroploid olarak adlandırılmaktadır. Haploid kromozom sayısının (n) tam katlarına euploid diğer kromozom sayılarına anöploid adı verilmektedir.

3.1.2. Anöploidi

İnsanda görülen kromozom anomalilerine baktığımızda sıkça karşılaşılan ve teşhis edilen hamileliklerin oransal olarak %3-4'ünde anomaliler bulunur. Anöploid hastalarında **Trizomi** ya da nadir olarak **Monozomi** vardır. Her ikisi de ağır fenotipik sonuçlara sebep olmaktadır (11).

Doğumu gerçekleşmiş bebeklerde rastlanılan trizomi türü Down sendromlu olarak nitelendirilen hastalarda %95'lik insidansa sahip kromozom yapısı trizomi 21 şeklindedir (12). Kromozomun tamamının monozomisi her daim ölümcüldür; bu durumda Turner sendromunu hariç tutmak gerekir ki bu sendrom X kromozomunun monozomisidir. Anöploidi nedenleri çok iyi anlaşılmış olmasada, en sık görülen kromozom mekanizmasının mayotik nondisjunction (ayrılama) dır. Bu durum iki mayoz bölünmeden biri sırasında, genellikle 1.mayoz bölünmede ve bir çift kromozomun birbirinden düzgün ayrılmalarındaki hatadan kaynaklanmaktadır (13).

Nondisjunctionın 1. ve 2. mayoz bölünme sırasındaki sonuçları birbirinden farklıdır. Hata 1.mayoz bölünme esnasında gerçekleşirse, 24 kromozomlu gamet hem paternal, hem maternal üyelere sahiptir. Hata 2. mayoz bölünme sırasında olursa, ekstra kromozomlu gamet paternal veya maternal kromozomlardan birinin her iki

kopyasını da taşır (14). Homolog kromozomlar arasındaki rekombinasyon genellikle bir önceki basamak olan 1.mayozda gerçekleşir, kromatidler ve dolayısıyla ortaya çıkan kromozomlarda bazı genetik farklılıklara sebep olmaktadır (15).

Bir kromozom çiftinin ayrılamama eğilimi 2. mayoz bölünmedeki rekombinasyon olaylarının sıklığında ve yerleşiminde veya her ikisinde aberasyonlarla kuvvetle ilişkili bulunmaktadır. Çok az sayıda rekombinasyonu olan veya sentromer ya da telomere çok yakın rekombinasyonları olan bir kromozom çifti, rekombinasyon olaylarının daha tipik bir rakamda ve dağılımda bulunduğu bir kromozom çiftine göre ayrılamamaya daha duyarlı olabilir (16).

Kromozomların eşleşmesinde, rekombinasyonunda veya her ikisinde hatanın sonucu olarak düzgün olmayan kromozom segregasyonunun görüldüğü klasik ayrılamamaya ek olarak, bir diğer mekanizma kardeş kromatidlerin 2.mayoz yerine 1.mayozda prematür ayrılmasıyla ilgilidir. Eğer bu gerçekleşirse, ayrılmış kromatidler şans eseri olarak oosite veya polar cisimciğe dağılarak dengesiz bir gamet oluşumuyla sonuçlanmaktadır (17). Bir gamette bazen birden fazla sayıda kromozomun ekstra temsilcileri bulunabilmektedir. Ayrılamama birbirini izleyen iki mayoz bölünmede oluşabilir veya şans eseri aynı anda hem erkek hem de dişi gametinde oluşabilmektedir. Bu durum cinsiyet kromozomları dışında çok nadir görülen, alışılmadık kromozom sayıları olan zigotlarla sonuçlanmaktadır (18).

3.1.3.Kromozom yapısındaki anomaliler

Kromozomlarda görülen kırıklar yapısal yeniden düzenlenimlere ve normal dışı birleştirmelere böylelikle farklı dönüşümlere sebep olabilmektedir. Yeniden düzenlenimler anöploididen daha nadir karşılaşılan farklı yollarla da oluşabilmektedir. Sonuç olarak, 375 yenidoğandan birinde yapısal anomaliler bulunmaktadır (19). Kromozom değişimi düşük bir sıklıkta kendiliğinden oluşabilmekte ve bir takım viral rahatsızlıklar, radyasyon maruziyeti, kimyasal madde maruziyeti kırık oluşumunu hızlandırmaktadırlar. Yapısal yeniden düzenlenimler, bir kromozom seti normal sayıda kromozomdan oluşuyorsa **dengeli**, fazla ya da eksik bulunuyorsa **dengesiz** şeklinde tanımlanmaktadır.

3.1.4.Dengesiz yeniden düzenlenimler

Bu düzenlenimlerde duplikasyon, delesyon ya da (bazen) ikisininde bulunması nedeniyle anormal bir fenotip ile karşılaşılması beklenmektedir. Kromozomun bir parçasının duplike olması parsiyel trizomi ile kıyaslanabilir; delesyon olması durumu ise parsiyel monozomi sebebi olabilmektedir. Fonksiyonel genlerin homeostazını değiştiren herhangi bir farklılık normal dışı bir tekamülle sonuçlanabilmektedir.

3.1.5. Delesyonlar

Delesyonlarda bir kromozom kısmının kaybı sebebiyle kromozom dengesizliği görülmektedir. Klinik sonuçlar genellikle genetik materyalin tek bir kopyasının, normalde iki kopya tarafından gerçekleştirilen fonksiyonları gerçekleştirememesi sebebiyledir ve silinen bölgenin büyüklüğüne ve kapsadığı genlerin fonksiyonlarına bağlı olabilmektedir. Sitogenetik olarak görülebilen otozomal delesyonlar yaklaşık 7000 canlı doğumda bir görülür (20).

Bir delesyon terminal veya interstisyel olabilmektedir. Delesyonlar kromozomun kırılmasından ve asentrik kısmın kaybolmasından dolayı oluşabilmektedirler. Bunun yanı sıra bazı olgularda yanlış yerleşmiş homolog kromozomlar veya kardeş kromatidler arasında eşit olmayan crossing-over delesyonlara neden olabilmektedir. Yine dengeli bir translokasyon veya inversiyondan anormal segregasyonla da oluşabilmektedirler (21).

Hem yüksek çözünürlüklü bantlama teknikleri hem de FISH sıradan metafaz yaymalarında görülebilmek için çok küçük olan delesyonları gösterebilmektedirler. Bir delesyonun yüksek çözünürlüklü bantlama ile görülebilmesi için en az 2000-3000 kb uzunluğunda olması gerekir fakat fenotipik sonuçları olan ve karyotipik olarak tespit edilemeyen delesyonlar, ilgili bölgeye has probler kullanılarak FISH ile tespit edilebilmektedir (22).

3.1.6. Duplikasyonlar

Eşit olmayan Crossing-over ya da bir translokasyon, inversiyon taşıyıcısında mayoz bölünme esnasında anormal segregasyon ile oluşmaktadır. Duplikasyonların delesyonlara nazaran daha az zararlı olduğu söylenebilir. Buna rağmen bir gamette duplikasyon olması kromozomal dengesizlikle (parsiyel trizomi) sonuçlanması

sebebiyle, buna neden olan kromozom kırıkları genleri bozabildiği için duplikasyon genellikle fenotipte bir miktar anormalliğe sebep olabilir (23).

3.1.7. Marker ve halka kromozomlar

Kromozom preparatlarında, sıklıkla mozaik şekilde, ‘marker’ diye adlandırılan küçük, belirlenmemiş kromozomlar görülebilmektedir. Genellikle normal kromozom setine ilave olarak bulunmaktadır (24). Çoğu marker kromozomun belirlenebilen telomerik dizileri yoktur ve bu sebeple küçük halkalar şeklindedirler. Bir kromozomda iki kırık olursa ve iki kırık uç bir halka yapısı oluşturacak biçimde birleşirse halka (ring) kromozomlar oluşmaktadır.

3.1.8. İzokromozomlar

Kromozom kollarından birinin kaybolduğu ve diğerinin bir ayna hayali şeklinde duplike olduğu kromozomlara ‘izokromozom’ denilmektedir. İzokromozom oluşumundaki etken kesin olarak bilinmemekle beraber, en az iki mekanizma ortaya koyulmuştur. Bunlardan ilki 2.mayoz bölünmede sentromerden bölünememe ayrıca daha sıklıkla bir kromozomun bir kolunu, kolun proksimal kısmında sentromere komşu olan bölgede homologunu ilgilendiren bir değişim olarak gözlenmektedir. Solid tümörlerin ve hematolojik malign hastalıkların karyotiplerinde çoğunlukla izokromozomlar bulunmaktadır (25).

3.1.9. Disentrik kromozomlar

Sentromeri bulunan kromozomun, sentromeri olmayan modüllerini yitirerek peş peşe eklenmeleriyle meydana gelen normal dışı bir kromozom tipidir.

3.2. Dengeli Yeniden Düzenlenimler

Kromozomal yeniden düzenlenimler eğer dengeliyseler, fenotipik etkileri yoktur; farklı paketlenmiş olsa da tüm kromozomal materyal mevcuttur. Burada gerçekten dengeli olan düzenlenimlerle, sitogenetik olarak dengeli görüldüğü halde moleküler düzeyde dengeli olmayanları ayırt etmek gerekir.

3.2.1.İnversiyonlar

Bir kromozomda iki kırık olduğunda ve kırıkların ortasında kalan kısım ters dönerek tekrar birleştiğinde inversiyon oluşmaktadır. İnversiyonları, aynı kolda iki kırığın da yer aldığı (sentromeri içermeyen) **parasentrik** inversiyonlar ve her kolda bir kırığa sahip (sentromeri de içeren) **perisentrik** inversiyonlar olarak sınıflandırılmaktadır. Parasentrik inversiyonlar kromozomun kol oranını değiştirmedikleri için, lokusa ve bantlama tipine has problemler kullanılarak gerçekleştirilen FISH yöntemiyle belirlenebilirler. Perisentrik inversiyonların sitogenetik olarak belirlenmeleri daha kolaydır, bantlama paternini olduğu kadar kromozom kollarının oranını da değiştirebilirler (26).

İnsan kromozomlarında en sık görülen inversiyon, 9. kromozomda küçük bir perisentrik inversiyondur. Sitogenetik laboratuvarlarında tetkik edilen tüm bireylerin yaklaşık %1 'inde bulunmaktadır. Taşıyıcılarda inv(9) (p11q12)'nin bilinen zararlı bir etkisi yoktur. Düşük ya da dengesiz kromozom yapılı çocuk için önemli bir risk teşkil etmez, bu sebeple genellikle normal bir varyant olarak kabul edilmektedir (27).

3.2.2. Translokasyonlar

Homolog olmayan iki kromozom arasında kromozom parçalarının değişimi durumudur.

3.2.3. Resiprokal translokasyonlar

Yeniden düzenlenimlerin çeşitlerinden biri olan eş olmayan kromozomlardaki kırılma ve kırılan kısımların resiprokal dönüşümüyle oluşmaktadır.

3.2.4. Robertsonian translokasyonlar

Kromozomun kısa kollarının kaybıyla sentromer bölgesinin yakınında birleşen iki akrosentrik kromozomu ilgilendirir. Oluşan dengeli karyotipte sadece 45 kromozom bulunur, translokasyon kromozomu iki kromozomun uzun kollarından oluşmaktadır. Akrosentrik kromozomların tüm kombinasyonlarını ilgilendiren Robertsonian translokasyonlar gösterilmişse de, iki tanesi (13q14q ve 14q21q) nispeten daha siktir. 13q ve 14q içeren translokasyon 1300 kişide bir görülür

dolayısıyla şimdiye kadar türümüzde en sık görülen tek kromozomal yeniden düzenlenimdir.

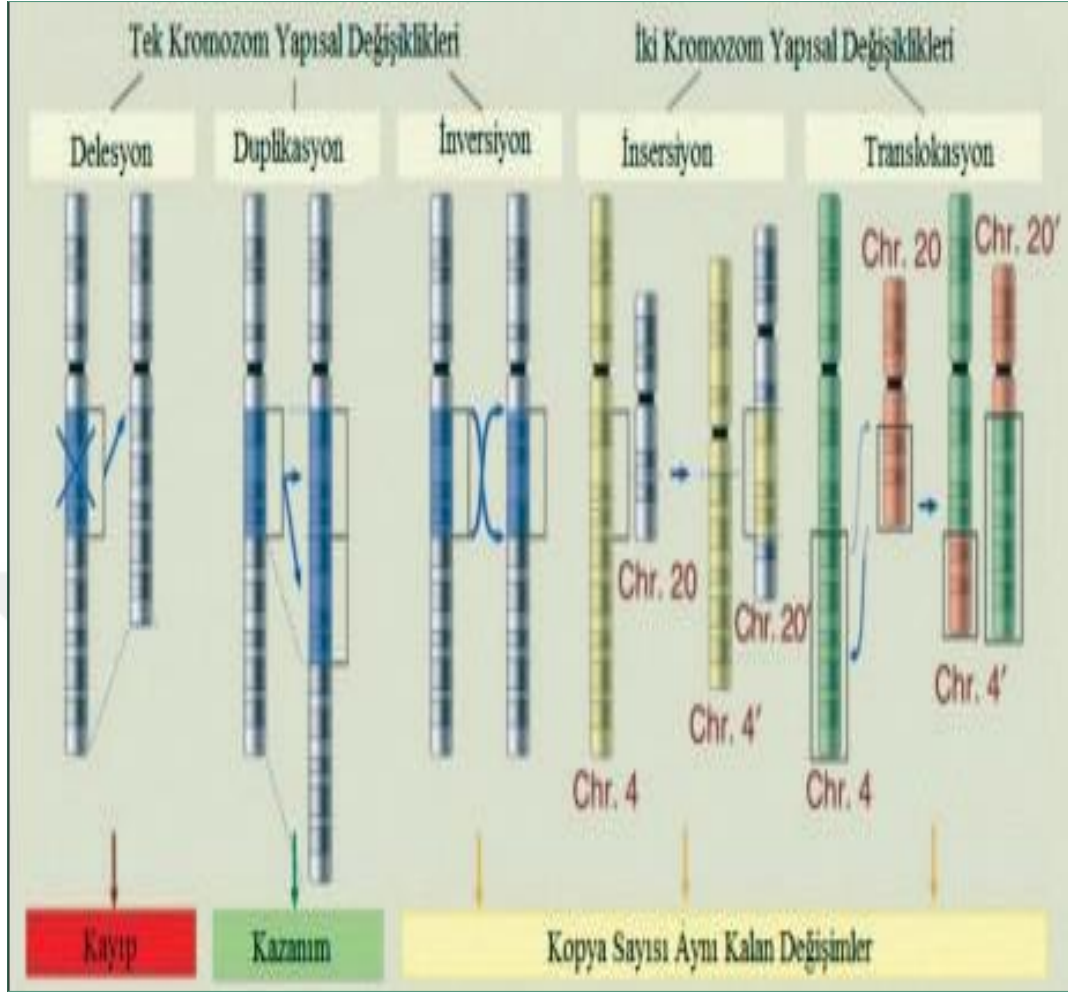
Bu tip translokasyonun asıl klinik önemi, 21. kromozomu ilgilendiren Robertsonian translokasyonu taşıyıcılarının Down sendromlu çocuk sahibi olma riskidir (28).

3.2.5. İnsersiyonlar

Kromozomun bir bölümünün yerinden koparak farklı bir kromozomun, normal oryantasyonunda ya da zıt yönde dönerek eklenmesiyle oluşan resiprokal tipte olmayan translokasyona **insersiyon** denir. Üç kromozom kırığı gerektirdiği için insersiyonlar nispeten nadirdir.

3.2.6. Mozaisizm

Bir kişinin bir kromozom anomalisi bulunduğu, bu anomali o kişinin her hücresinde bulunmaktadır. Fakat bazen bir bireyde iki veya daha fazla farklı kromozom seti bulunabilmektedir. Bu duruma **mozaisizm** adı verilmektedir. Mozaisizm sayısal veya yapısal olabilmektedir. Mozaisizmin gelişim üzerindeki etkileri, ayrılamama olayının zamanlamasına, kromozom bozukluğunun doğasına, var olan farklı kromozom setlerinin oranlarına ve etkilenmiş dokulara göre değişmektedir (29).



Şekil 1. Kromozom yapısal değişiklikleri (30)

3.3. Fertilite

Bir embriyonun birincil çekirdeğini oluşturmak için anne kökenli bir yumurta çekirdeği ile baba kökenli bir sperm çekirdeğinin birleşmesidir. Tüm organizmalarda döllenmenin özü, aslında, her biri türe özgü kromozom sayısının yarısını taşıyan iki farklı cinsiyet hücresinin veya gametin kalıtsal materyalinin kaynaşmasıdır. Döllenmede ilk önemli olay, iki gametin zarlarının kaynaşmasıdır, bu da materyalin bir hücreden diğerine geçişine izin veren bir kanalın oluşumuyla sonuçlanır (31).

Memeli fertilizasyonu, dişi üreme sistemi yoluyla sperm göçünü, spermden biyokimyasal ve morfolojik değişiklikleri ve yumurta kanalındaki sperm-yumurta etkileşimini içerir. Farelerdeki son gen nakavt yaklaşımları, daha önce döllenme için önemli olduğu düşünülen birçok faktörün büyük ölçüde ortadan kaldırılabilirliğini veya gerekliyse beklenmedik bir işleve sahip olduklarını ortaya koymuştur. Bu

sonuçlar, in vitro fertilizasyonda (IVF) gözlemlenenlerin “fizyolojik” fertilizasyon sırasında meydana gelenlerden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermektedir. Döllenmenin önünde fiziksel ve işlevsel engeller mevcuttur ve seçim mekanizmaları bu duruma hizmet edebilir. Kapasitasyondan önce sperm, döllenme bölgesine hareket etmek için yeterli hareketliliğe sahip olmalıdır. Yalnızca boşaltılan spermilerin küçük bir kısmı kapasitasyona maruz kalır. İnsanda kümülüs, hem morfolojik olarak normal hem de kapasiteye sahip spermin seçimini kolaylaştırır. Yalnızca kapasiteye sahip sperm, zona bağlanmasına ve akrozom reaksiyonuna maruz kalabilir, ancak erken bir akrozom reaksiyonu, zona bağlanmasını engeller. Çalışmalar, ciddi derecede infertil hastaların yetersiz kapasitasyon yeteneğine sahip olabileceğini ve kromozom anöploidilerinin artmış insidansına sahip olabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, uygun kapasitasyon, fertilizasyonun temel seçim süreçlerinden biri gibi görünmektedir. Seçim sürecinin önemi tam olarak anlaşılmamıştır ve yardımcı üreme teknolojilerinin önemli sonuçları vardır (32).

3.3.1.İnfertilite

İnfertilite, korunmayan, düzenli koitusu bulunan çiftlerde bir yıldan sonra fertilizasyon oluşmaması olarak tanımlanabilmektedir. Çiftlerin %90’ı bu bir yıllık süre içerisinde fertilizasyonu sağlayabilmektedir. Yaş fertilitede önemli bir faktördür. Menopozun hemen öncesi yaşlardaki kadının fertil olma olasılığı düşüktür. Erkeklerde yaştan fertiliteye olan etkisi tartışmalıdır. İnfertilitede erkek kaynaklı nedenler %25-40, kadın kaynaklı nedenler %40-55, iki durumdan kaynaklı nedenler %10-15, açıklanamayan nedenlerse %10-15 oranındadır (33). Başka bir ifadeyle infertilitede eşlerin ikisi de eşit oranda sorumludurlar. Kadın ve erkeklerde infertiliteye yol açan farklı sebepler söz konusudur. Bunların içinde endokrin kökenli nedenler önemli bir yer teşkil etmektedir.

Doğurganlık sadece bir “kadın sorunu” ya da yaşla ilgili bir sorun değildir. Pek çok şey infertiliteye yol açabilir ve her cinsiyetten ve yaştan insanı etkileyebilir. Bir çift çocuk sahibi olmakta zorlanıyorsa, nedenlerden biri (veya her ikisi de) eşit derecede muhtemeldir. İnfertilitenin birçok olası nedeni vardır. Bazende infertilitenin bilinen bir nedeni yoktur buna ‘a açıklanamayan infertilite’ denir. Açıklanamayan

infertilite çiftleri psikolojik olarak fazlasıyla etkileyen bir süreç olabilir, ancak yine de çiftlerin deneyebileceği tedavi seçenekleri her koşulda mevcuttur (34).

Çiftlerin fertilite sorunları yaşamasına sebep olabilecek belirli sağlık ve yaşam tarzı faktörleri vardır. 35 yaşından büyük olmak (kadınlar için), çok kilolu veya zayıf olmak, kemoterapi veya radyasyona maruz kalmak, kurşun veya böcek ilacı gibi çevresel toksinlere çok fazla maruz kalmak, aşırı ilaç veya alkol kullanımı, sigara içmek bunlardan bazılarıdır. Yine biyolojik etmenler, fiziksel, sosyolojik ve genetik faktörleri de göz ardı etmemek gerekir. Çiftlerde yumurtlama sorunları, endometriozis, kötü yumurta kalitesi, polikistik over sendromu (PCOS), fallop tüpü sorunları, açıklanamayan infertilite, kötü sperm kalitesi, yaş, prematüre yumurtalık yetmezliği gibi etmenler fertiliteyi olumsuz etkileyen önemli fizyolojik faktörlerdir (35). Çiftlerin psikolojik yaklaşımları da hormonal yapılarını etkileyebileceği için hem depresyon hem de çok fazla stres, üreme döngüsünü düzenleyen hormonların işleyişini etkileyebilir. Bu sorunlarla uğraşan kadınlar normal yumurtlamayabilir ve erkeklerin sperm sayısı daha düşük olabilir.

3.3.2. Açıklanamayan infertilite

Açıklanamayan İnfertilite, tüm infertilite nedenlerinin yaklaşık %15'ini oluşturmaktadır. İnsidans %0'dan %37'e kadar değişkenlik göstermektedir. Bu değişiklik, çalışma popülasyonlarındaki değişiklik kadar, referans merkezlerinde infertilite uygulamalarındaki seçim kriterlerine göre de değişmektedir. İnsidans infertilite süresine göre de değişiklik gösterebilmektedir. En az iki yıl bebek için gösterilen çabalara rağmen hala gebelik açısından başarılı olunamadığında, yapılan semen analizi, ovulasyon ve tubal açıklığı değerlendiren standart testlerde herhangi bir bozukluk saptanmadığı durumlarda, tanı olarak açıklanamayan infertilite düşünülmektedir. Açıklanamayan infertilitenin etiyolojisinde net bir durum gösterilememekte, endokrinolojik, immünolojik, genetik ve üreme fizyolojisiyle ilgili olası birden fazla nedenlerin yer aldığı heterojen bir kavram akla gelmektedir (36).

3.3.3.İn vitro fertilizasyon (IVF)

İn vitro fertilizasyon (IVF) overdeki foliküllerden birinin veya birden fazla oositin aspire edilip, in vitro ortamda fertilize edilmesi ve embryo veya embryoların uterin kaviteye transfer edilmesi işlemlerinin tamamı IVF döngüsünü meydana getirmektedir (37).

İlerlemiş koşullara sahip ülkelerde eşlerin %15'inde infertilite bulunduğu tahmin edilmektedir. Prevalansta belirgin bir değişiklik olmamasına rağmen, tedavi için talep zamanla artmıştır (38). IVF ile gerçekleşmiş ilk doğum 1978 Haziran ayı içerisinde meydana gelmiştir. Daha sonra dünya genelinde binleri bulan gebelikler IVF ve modifikasyonları olan yöntemlerle oluşmuştur. Bütün tekniklere genel olarak 'yardımcı üreme teknikleri'(YÜT) denilmektedir. Bu alandaki tecrübe arttıkça, başarı oranları artmış, endikasyonlar genişlemiş, birçok konvansiyonel infertilite tedavisi ikinci sıraya gerilerken, IVF birinci seçenek olarak yerini alabilmiştir. Örneğin ciddi tubal faktörde tuboplasti ile elde edilen gebelik oranlarının IVF ile elde edilenden daha az olmasıdır. Kadınların daha erken yaşlarda çalışmaya başlaması ve eskiye nazaran daha geç yaşlarda gebelik planlaması da YÜT'lerine olan talebin artmasını sağlamıştır (39).

Son 20 yılda embryo araştırılmasında kullanılan metodlar dramatik olarak değişmiştir. Rutin embryo değerlendirme yöntemleri belirli bir embryonun gelişme potansiyelinin dolayısıyla infertil bir çiftin gebelik şansının belirlenmesinde birçok morfolojik belirti ile desteklenmiştir. Günümüzde IVF ya da intrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonrasında 3. günde embryo transferinin %10-30, 5.gün blastokist transferinin %40-60 implantasyon oranları bulunmaktadır. Bu iyileşme açıkça sadece embryo seçimindeki iyileşmeden değil aynı zamanda overyan uyarılmanın iyileşmesinden, oosit inseminasyonu tekniklerinin gelişmesinden, mikromanipulasyonlar ve embryo transfer tekniklerinden, implantasyon öncesi genetik tanıdan ve son olarak kültür mediasının içeriğinden de etkilenmiştir (40).

3.3.4.Başarısız IVF

İnsanın eşeysel yönelim durumu kendi doğasında olan izafi bir süreçtir ve fertiliteye dair araştırılan normal çiftlerde bile bir aylık gebe kalma oranları %20-25'i geçmemektedir. Asiste reproduktif teknolojiler (ART), son zamanlarda infertiliteye

yönelik tedavide başarı ile gerçekleştirilen terapi seçeneklerindendir. Asiste reprodüktif teknikler de doğal olarak gebe kalma oranlarından belirgin yüksek başarı sağlayamadıkları görülmektedir. Bir embryo transferinin kanuni zorunluluk olduğu ülkemizde ortalama canlı doğum oranları %20-30 civarındadır. Ortalama üç IVF denemesinde %40-55 arasında bir başarı gerçekleşirken altı ardışık IVF denemesinde bu oran % 50-75'e yükselmektedir. Bu şekilde tekrarla yapılan IVF denemeleri, hamilelik oranlarını %100 gerçekleştirememektedir ve oldukça fazla sayıda çift tekrarlayan IVF denemelerine rağmen çocuk sahibi olamamaktadırlar. Bununla birlikte IVF tedavisinde gebelik oranı üçüncü başarısız döngüden itibaren azalmaktadır. Birçok kez gerçekleştirilen IVF tedavileriyle gebeliği elde edemeyen çiftlerde tekrarlayan IVF başarısızlığı söz konusu olmaktadır (41).

Tekrarlayan IVF başarısızlığı (RIF) olan durumlarda ailesel kromozom bozuklukları da RIF nedeni olmaktadır. Dengeli translokasyonların bu durum için önemli olduklarını söyleyebiliriz. RIF yaşamış çiftlerde kromozom anomalilerinin arttığını ve bu çiftlerin yönlendirilmesinde karyotip analizinin yapılması gerekliliğini gösteren çalışmaların sayıca arttığını görmekteyiz. Bilhassa translokasyon taşıyıcıları için Pre-implantasyon Genetik Tanı (PGD) alternatif bir tedavi seçeneği olarak karşımıza çıkmaktadır. Erkek infertilitesi söz konusu olduğunda erkeğin karyotip analizi IVF süreci öncesinde sıklıkla önerilmektedir. RIF yaşamış çiftlerde genetik anomaliler %2,5 ya da daha fazla olabilmekte toplum geneline kıyasla yüksek oranda görüldüğü için bu çiftleri yönlendirirken sitogenetik analiz önerilmektedir (42).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Çalışmanın Yapıldığı Yer

1999-2019 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik anabilim dalına Başarısız IVF ön tanısı ile gelen çiftlerin **retrospektif** olarak sitogenetik analizleri çalışmaya dahil edilecektir.

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik bölümü, Genetik Tanı laboratuvarında, çalışma kapsamındaki her olgunun aile bilgilerini içeren pedigriler oluşturulmuştur. Pedigri analizinde bireylerin yaş, cinsiyet, meslek, akraba evliliği, sigara ve ilaç kullanımı gibi kriterler ele alınmıştır.

4.2. Materyaller

Bu çalışmada Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilimdalı Sitogenetik Laboratuvarına başvuran başarısız IVF ön tanılı hastaların periferik kanı kullanılarak karyotip analizi yapılmıştır.

4.3. Kimyasal Maddeler ve Solusyonlar

A-F10 (HAM) Nutrient Mixture (Biological Industries 752348) (With L-Glutamine)

B-Fetal Bovine Serum (Gibco 41G957P)

C-PHA-M Pytohemagglutinin M

D-Colcemide Solution (Biological Industries 816646)

E-Acetic Acid (Glacial) (Riedel-de Haen)

F-Methanol (Riedel-de Haen)

H-Xylol (Merck)

İ-Giemsa Stain (Sigma)

J-Heparin (Mustafa Nevzat)

K-Etil Alkol

L-Penicilllin-Streptomycine Solution (Biological Industries 722867)

M-Ethanol Absolut (Riedel-de Haen)

N-İzotonik (Eczacıbaşı)

O-Trypsin-EDTA Solution C (Biological Industries 814619)

P-Sodium Phosphate diabolic anyhyrous ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)

Q-Potassium Phospate monobasic (KH_2PO_4)

R-L-Glutamin Solution (Biological Industries 746245)

S-KCI

T-Distile Su

A-Kolşisin (colchicine) Solüsyonu :40 mg colchicine+100 ml triple distile su

B-Hipotonik Solüyonu:0,075 M KCL (1000 ml Distile Su+5.6 gr KCI)

C-Tespit Solüsyonu (Fiksatif):3 kısım methanol+1 kısım acetic acid glacial

D-Penicilline Solüsyonu:1.000.000 U Penicilline-G Potassium+10 ml steril distile su

E-Streptomycine Solüsyonu:1 gr streptomycine sülfate+10 ml sterl triple distile su

F-Fitohemaglutinine Solüsyonu:5mg Pytohemagglutinine M.Bacto (Difco)+5ml steril distile su

G-Serum Solüsyonu: TC.Fetal Calf Serum dessicated +30 ml sterile distile su

H-Söransan Tamponu:

a-11.88 g Na_2HPO_4 +1000ml distile su

b-9.08 g KH_2PO_4 +1000 ml distile su

a ve b solüsyonları karıştırılarak pH=6.8 'e ayarlanır.

I-Giemsa Boya Tamponu

5ml Giemsa Stain Stock Solution+95 ml Distile Su

4.4. Cihazlar ve Diğer Gereçler

1. Zaman ayarlı santrifüj
2. Etüv
3. Kuru Hava Sterilizasyonu
4. Distile Su Cihazı
5. Mikrofotografi Aygıtı
6. Elektronik duyarlı terazi
7. Mikroskop
8. Değişik çaptaki enjektörler ve pipetler
9. Değişik Ebatlarda Steril Plastik Santrifüj Tüpleri

10. Dikey Şaleler
11. Mezürler
12. Lam ve Lameller
13. pH Metre
14. Vortex
15. Mikropipetler
16. Plastik Eldiven
17. Laboratuvar saati
18. Buzdolabı

Bunların dışında laboratuvar ortamında mevcut olan değişik malzeme ve gereçlerden yararlanılacak ve gerekli ortam koşulları sağlanacaktır.

4.5. Kültür Ortamı

Periferik kan kültürü için uygun solüsyonlar miktarları ile aşağıdaki gibidir.

- 1.Besi Ortamı (F10 (HAM)Nutrient Mixture
- 2.Fetal calf serum
- 3.PHA (phytohemagglutinin)
- 4.Penicillin solüsyonu
- 5.Streptomisine solüsyonu

4.6. Kromozom Elde Etme Yöntemi

Bu çalışmada kromozomların elde edilmesi için makrokültür tekniğinin modifiye edilmiş şekli olan ve mikrokültür ya da tüm kan tekniği olarak bilinen lenfosit doku kültürü yöntemi uygulanmıştır. Çalışmanın uygulama aşamaları sırasıyla aşağıdaki gibidir.

1. Steril koşullarda hazırlanmış ve buzdolabında muhafaza edilmiş olan stok kültür solüsyonu kullanılacağı zaman buzdolabından çıkarılacak ve her bir kültür tüpüne steril ortamda 5ml aktarılacaktır.
2. Heparinlenmiş, steril enjektör ile hastadan alınan venöz kandan kültür tüplerine 5 damla kan eklenecektir.
3. 2 damla fitohemagglutinin eklendikten sonra tüpün ağzı alevden geçirilerek kapatılacak ve 72 saatlik inkübasyon için etüve bırakılacaktır.

4. İnkübasyonun 70.45 saatinde kültüre 2 damla (0,1 ml) colcemid eklerek etüve bırakılacaktır.

5. 72.saatte etüvden çıkarılan kültür vortekslendikten sonra 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilecektir.

6. Supernatant atıldıktan sonra pelet, vorteksle karıştırılarak üzerine 10 ml hipotonik solusyon eklenecek ve 10 dakika etüvde bekletilecektir.

7. Tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra pelet vorteks yardımıyla karıştırılarak üzerine pastör pipetiyle 10 ml fiksatif eklenecektir.

8. Fiksatif ile yıkama işlemi 3 defa tekrarlanacaktır.

9. Son santrifüj işleminden sonra tüplerde yaklaşık 0.5 cc pelet bırakılacaktır.

10. Dip materyal pipetle iyice karıştırılacaktır. Alkolde bekletilip temizlenmiş lamlara 45 derecelik açıyla yaklaşık 30 cm yükseklikten 2-3 damla damlatılarak yayılacaktır.

11. Kurumaya bırakılan preparatlar 3 gün etüvde 37°C'de bekletilerek yaşlandırılacaktır.

4.7. Preparatların Boyanması

Yaşlanan preparatlar tripsin çözeltisinde 15-30 saniye arasında tutulacaktır.

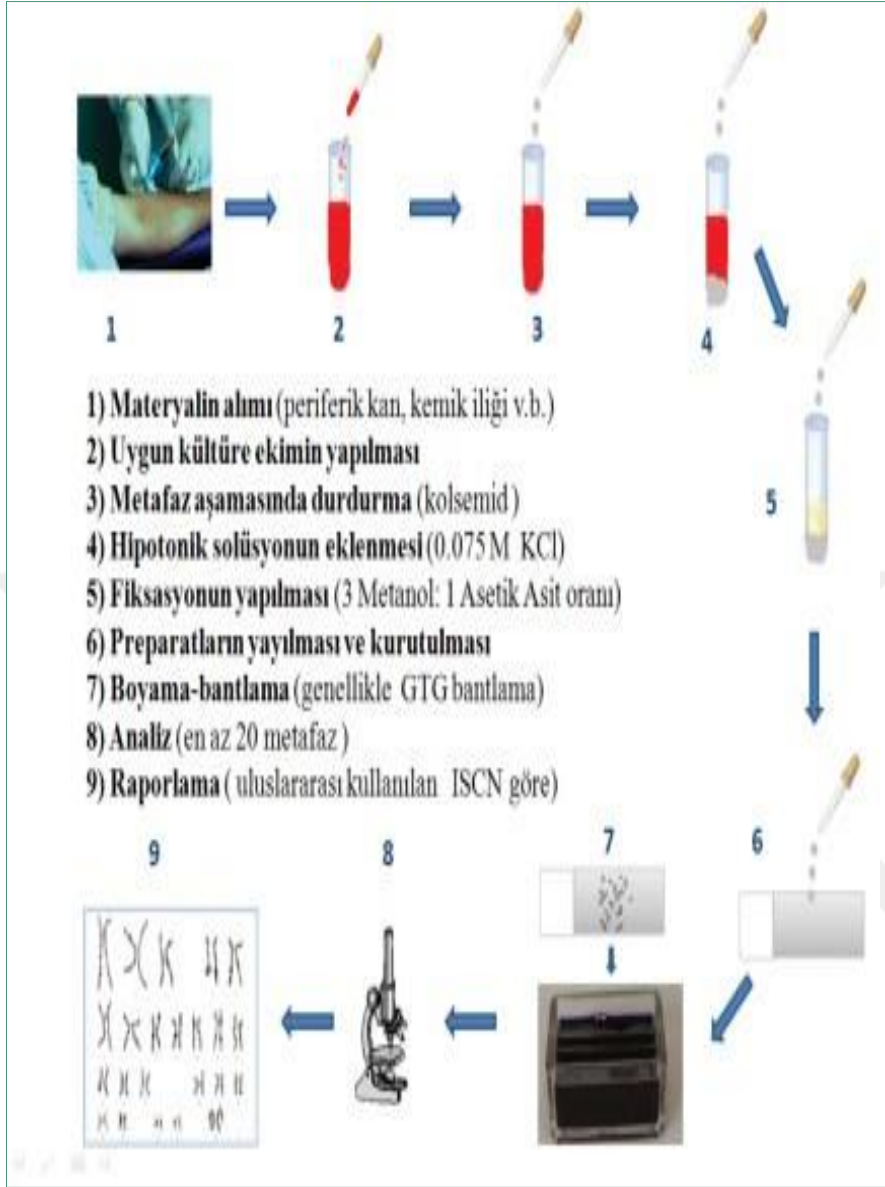
Preparat distile su ile 2 defa yıkanıp %5'lik giemsa çözeltisinde 5 dakika boyanacaktır.

İki defa distile suda çalkalanıp kurutulacaktır.

4.8. Preparatların Değerlendirilmesi

Değerlendirme işlemi önceden hazırlanan değerlendirme formuna gerekli bilgiler kaydedildikten sonra mikroskop altında incelenerek yapılacaktır. İlk olarak (10X) büyütmeli objektif ile başlanarak olumlu metefazlar tespit edilecektir. Daha sonra immersiyon objektifi (100X) ile inceleme yapılacak ve metefazlar hazır durumdaki forma işlenecektir.

Analiz sonuçları International System For Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) 1999 -2019'a göre rapor edilmiştir. Her örnek için kromozom analizinde 20 metafaz plağı incelenmiştir.



Şekil 2. Kromozom elde etme (43)

5. BULGULAR

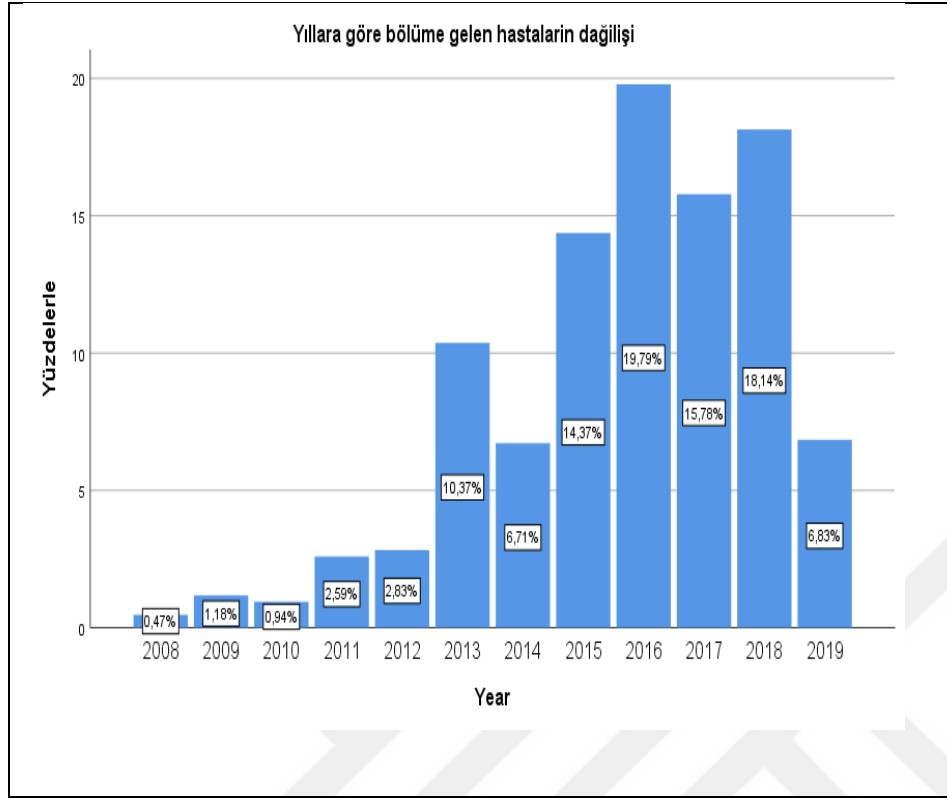
1999-2019 yılları arasında Dicle Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik anabilim dalına Başarısız IVF ön tanısı ile gelen çiftlerin retrospektif olarak sitogenetik analizleri çalışmaya dahil edilmiştir. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik bölümü, Genetik Tanı laboratuvarında, çalışma kapsamındaki her olgunun aile bilgilerini içeren pedigriler oluşturulmuştur. Pedigri analizinde bireylerin yaş, cinsiyet, akraba evliliği, sigara ve ilaç kullanımı gibi kriterler ele alınmıştır.

Bu çalışmada 850 olgudan 645 olgunun (%76) normal karyotipe (46,XX, 46,XY) 205 olgunun (%24) anomalili karyotipe sahip olduğu görülmüştür.

425 çiftin en az 1 en çok 6 başarısız IVF denemesi olduğu görülmekle beraber bu durumu etkileyen faktörler göz önüne alındığında; sigara içenler, ilaç kullananlar, akrabalık ilişkisi olanlar, 35 yaş üstü olanlar şeklinde kategorilerde incelemek birtakım ilişkilerin varlığını ortaya koyabileceği düşünülmüştür. 850 olgudan 317 olgunun (%37) sigara içtiği, 533 olgunun (%63) sigara içmediği görülmüştür. Yine 425 çiftten 119 çiftin (%28) akraba olduğu, 306 çiftin (%72) akrabalık ilişkisinin olmadığı görülmüştür. 850 olgudan 63 olgunun (%7) düzenli ilaç kullandığı, 787 olgunun (%93) ilaç kullanmadığı görülmüştür. 850 olgudan 261 olgunun (%30) 35yaş üstü olduğu, 589 olgunun (%70) 35 yaş altı olduğu görülmüştür.

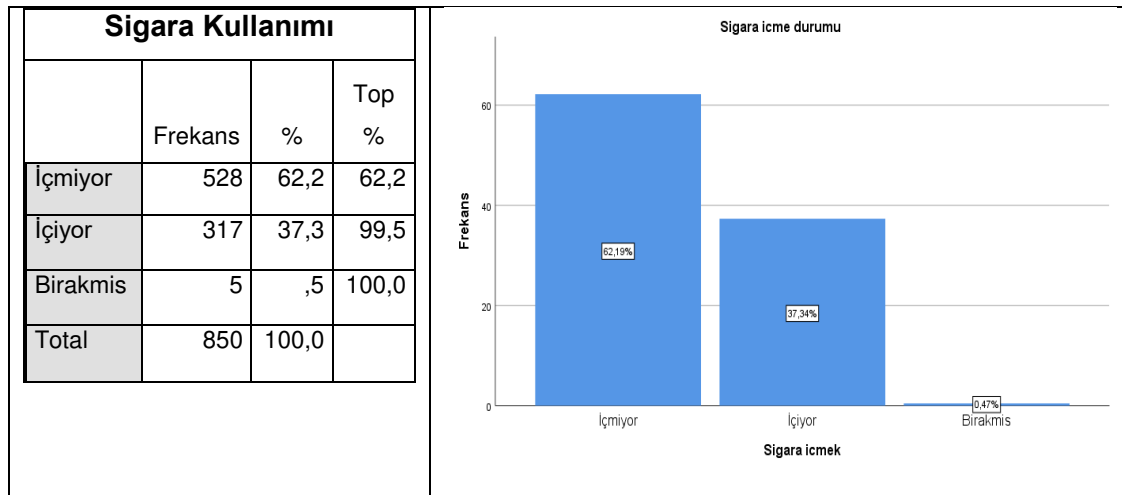
İstatistik analizlerin uygulanması için SPSS yazılımı (Windows için SPSS 21.0) programı kullanılmıştır. Araştırma verileri ölçümlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerle birlikte nicel verilerin kıyaslanmasında normal dağılım göstermeyen üç ve üzeri grupların kıyaslanmasında Kruskal Wallis test ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Nitel verilerin kıyaslanmasında Pearson ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Başarısız IVF ön tanısıyla gelen hastaların yıllara göre dağılımı



Tablodan da anlaşılacağı üzere 2008 ve öncesi yıllarda başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hasta sayısı yok denecek kadar az sayıdadır. 2008 ve sonrasında başarısız IVF ön tanısıyla gelen hasta sayısında artış görülmektedir.

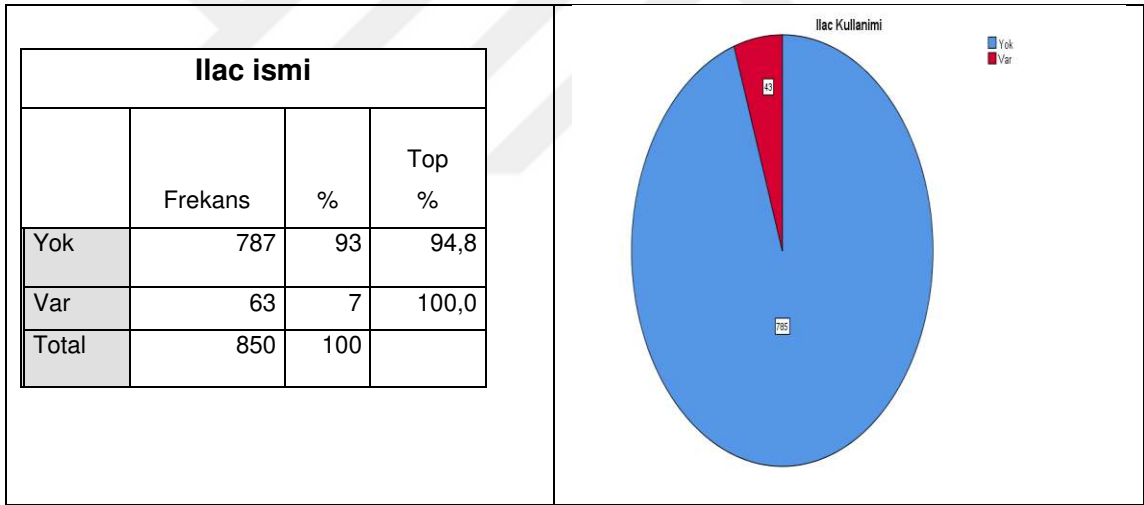
Tablo 2. Hastaların sigara kullanım durumu



Sigara kullanımının yapılan çalışmalarda infertiliteye etkisi saptanmış önemli bir durumdur. Literatürde üreme dönemindeki kadınların sigara kullanımının ve kullanım süresinin doğurganlığı ve fekundabiliteyi olumsuz etkileyebileceği söylenmektedir. Sigara kullanan bireylerde infertilite oranı, kullanmayanlara nispeten 10 kat yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte sigara kullanımı infertilite tedavisi görenlerde başarı sağlama ihtimalini de düşürebilmektedir. Yapılan çalışmalara göre sigara kullanan kadınlarda yardımcı üreme tekniğiyle gebe kalamama riski, sigara kullanmayanlara göre 2 kat daha yüksek bulunmuştur (44).

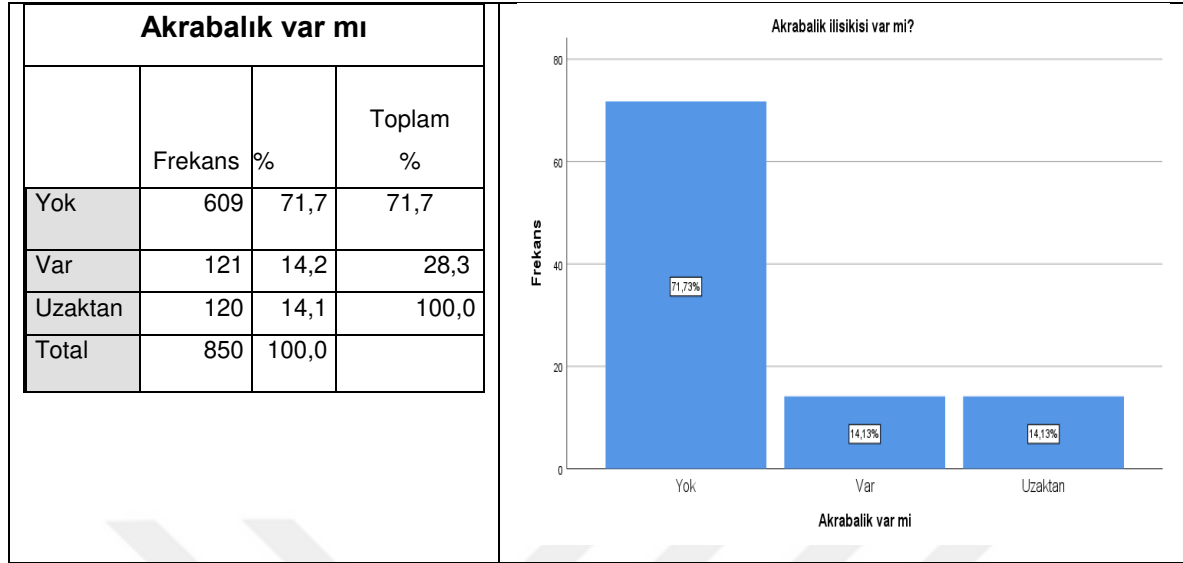
Tablo 2’de bizim çalışmamızda hastaların sigara kullanım durumu gösterilmiştir. 850 hastadan 528(%62,2) hastanın sigarayı hiç kullanmamış olduğu, 317 (%37,3) hastanın aktif sigara kullanıcısı olduğu, 5 hastanın da kullanıp bırakmış olduğu görülmüştür.

Tablo 3. Hastaların ilaç kullanım durumu



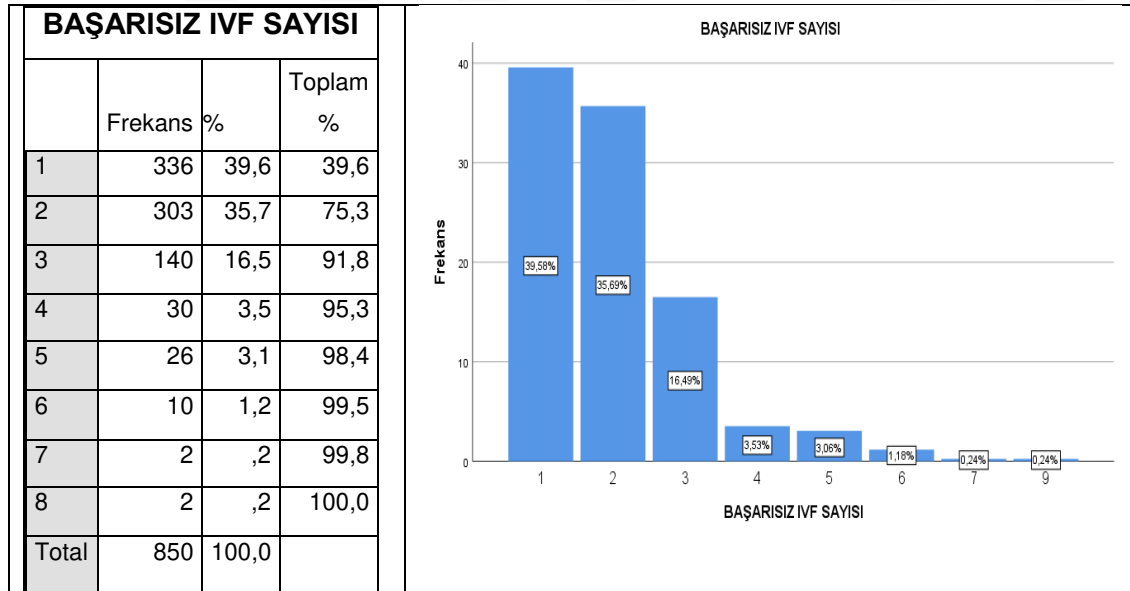
Tablo 3’te hastaların ilaç kullanım durumu gösterilmiştir. 850 hastadan 63(%7) hastanın düzenli ilaç kullandığı, 787 hastanın ilaç kullanmadığı görülmüştür. Hastaların sıklıkla kullandığı ilaçların Troid, Diyabet, Tansiyon, Antidepresan ilaçlardan oluştuğu tespit edilmiştir.

Tablo 4. Hastaların akrabalık durumu



Tablo 4’te hastaların akrabalık durumu gösterilmiştir. Başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastalardan 425 çiftten 121 çiftin (%14,2) yakın akraba, 120 çiftin (%14,1) uzaktan akrabalık ilişkisinin olduğu görülmüştür.

Tablo 5.Hastaların başarısız IVF deneme sayısı



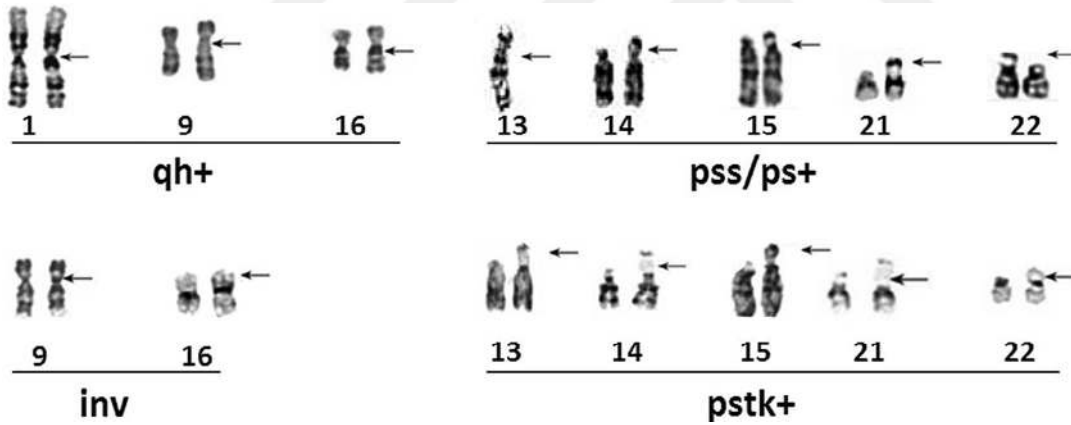
Tablo 5’te Hastaların başarısız IVF deneme sayıları gösterilmiştir.425 çiftin en az 1 en çok 8 IVF denemesi olduğu görülmüştür.

Tablo 6. Başarısız IVF ön tanısıyla gelen hastaların genetik analiz sonuçları

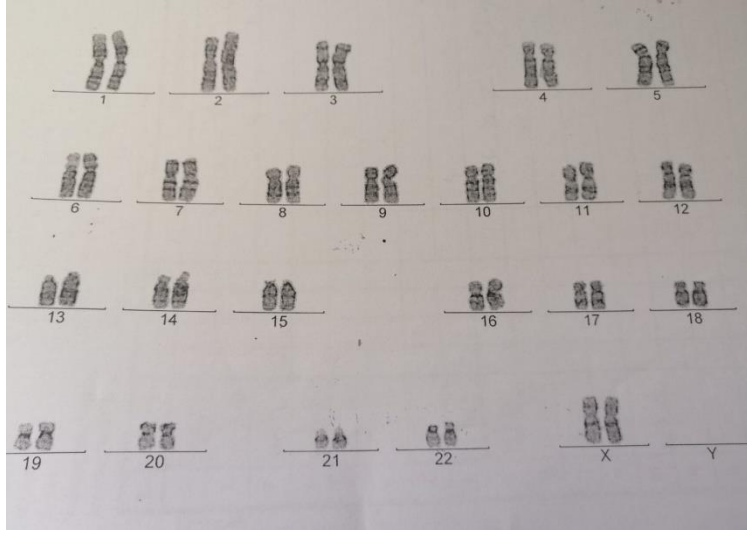
GENETİK ANALİZ SONUCU				
		Frekans	%	Toplam %
	45, XX, t(14;15)	1	,1	,1
	45, XY, der(14;21)(q10q10)	1	,1	,2
	46, XX	324	38,2	38,4
	46, XX (Dengeli Translokasyon Taşıyıcısı)	1	,1	38,5
	46, XX, 15ps+	4	,5	39,0
	46, XX, 16qh+	2	,2	39,2
	46, XX, 1qh-	1	,1	39,3
	46, XX, 1qh+	15	1,8	41,1
	46, XX, 1qh+, 9qh	1	,1	41,2
	46, XX, 1qh+, 9qh+	5	,6	41,8
	46, XX, 1qh+, inv9(p13q13)	1	,1	41,9
	46, XX, 1qh+, inv9(p13q13)	1	,1	42,0
	46, XX, 21ps+	6	,7	42,8
	46, XX, 22ps+	4	,5	43,2
	46, XX, 9qh+	41	4,8	48,1
	46, XX, 9qh+, 14ps+, 21ps+	1	,1	48,2
	46, XX, 9qh+, 15ps+	1	,1	48,3
	46, XX, 9qh+, 22ps+	2	,2	48,5
	46, XX, 9qh+, 13ps+, 15ps+	1	,1	48,6
	46, XX, inv1(p13q12)	1	,1	48,8
	46, XX, inv9(p11q13)	1	,1	48,9
	46, XX, inv9(p12q12)	2	,2	49,1
	46, XX, inv9(p13q12)	1	,1	49,2
	46, XX, inv9(p13q13)	6	,7	49,9
	46, XX, inv9(p21q21)	1	,1	50,1
	46, XY	319	37,6	87,6
	46, XY, (Mikro Y)	1	,1	87,8
	46, XY, 14ps+	1	,1	87,9
	46, XY, 15ps+	2	,2	88,1
	46, XY, 16qh+	3	,4	88,5
	46, XY, 1qh+	14	1,6	90,1
	46, XY, 1qh+, 15ps+	2	,2	90,3
	46, XY, 1qh+, 9qh+	2	,2	90,6
	46, XY, 1qh+, 9qh+, 16qh+	1	,1	90,7
	46, XY, 1qh+, inv9(p12q13)	1	,1	90,8
	46, XY, 1qh+, inv9(p13q13)	1	,1	90,9
	46, XY, 1qh+, Yqh+	1	,1	91,0
	46, XY, 1qh+, 9qh+	1	,1	91,2
	46, XY, 1qh+(x2)	1	,1	91,3
	46, XY, 21ps+	4	,5	91,8
	46, XY, 22ps+	4	,5	92,2
	46, XY, 9qh+	53	6,0	98,2
	46, XY, 9qh+, 14ps+	1	,1	98,4
	46, XY, 9qh+, 15ps+	1	,1	98,5
	46, XY, 9qh+, 22ps+	1	,1	98,6
	46, XY, inv9(p12q12)	1	,1	98,7
	46, XY, inv9(p12q12) 22ps+	1	,1	98,8
	46, XY, inv9(p12q13)	1	,1	98,9
	46, XY, inv9(p13q13)	6	,7	99,6
	46, XY, inv9(p13q21)	1	,1	99,8
	Total	850	100,0	

Tablo 6’da Başarısız IVF ön tanısıyla başvurmuş hastaların genetik analiz sonuçları detaylı olarak gösterilmiştir.

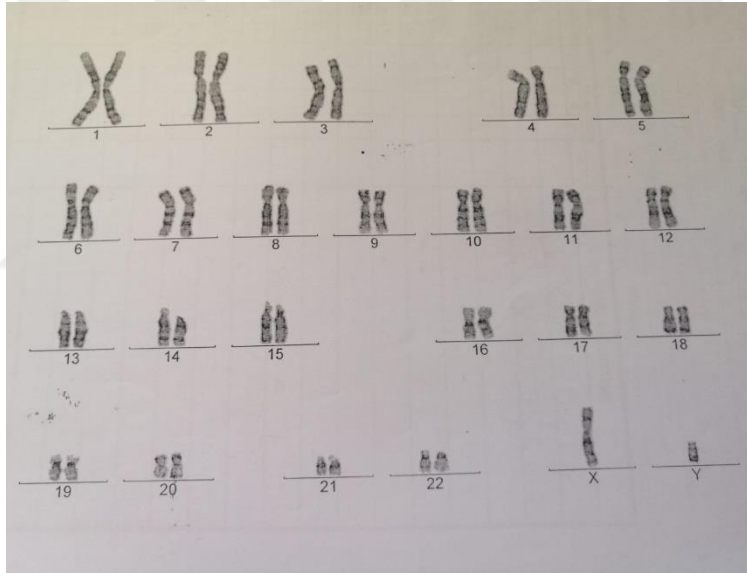
Başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastaların sitogenetik analizi yapılan 850 hastadan 645’inin (%76) normal kromozom kuruluşuna sahip olduğu, 205 hastanın (%24) anomalili karyotipe sahip olduğu görülmüştür. 51 Erkek hastada (46, XY,9qh+), 41 Kadın hastada (46,XX,9qh+) 9. kromozomda qh+ (sentromer bölgesinde heterokromazi) polimorfizmi olduğu belirlenmiştir. Yine 14 Erkek hastada (46,XY,1qh+), 15 Kadın hastada (46,XX,1qh+) 1.kromozomda qh+ polimorfizmi olduğu belirlenmiştir. 6 Kadın hastada (46,XX,21ps+) 21. kromozomunda satellit polimorfizmleri (pstk+) tespit edilmiştir. 6 Erkek hastada (46, XY,inv9(p13q13), 6 Kadın hastada (46,XX,inv9(p13q13) 9 no.lu kromozomun heterokromatin bölgesinin inversiyonu tespit edilmiştir. 5 Kadın hastada (46,XX, 1qh+, 9qh+) 1 no.lu ve 9 no.lu kromozomda qh+ olduğu belirlenmiştir. 63 Hastada da 15/21/22pstk+ olduğu tespit edilmiştir.



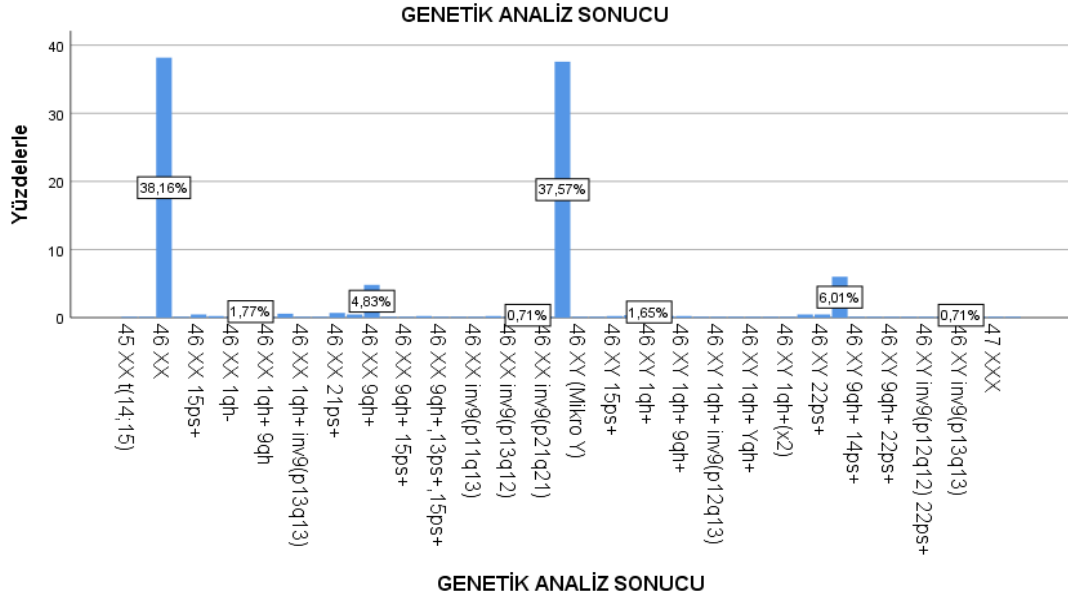
Şekil 3. Kromozomlarda qh+, pss/ps+, inv, pstk aberasyonları



Şekil 4: 46, XX, 9qh+ sonuca sahip hastanın karyotipi

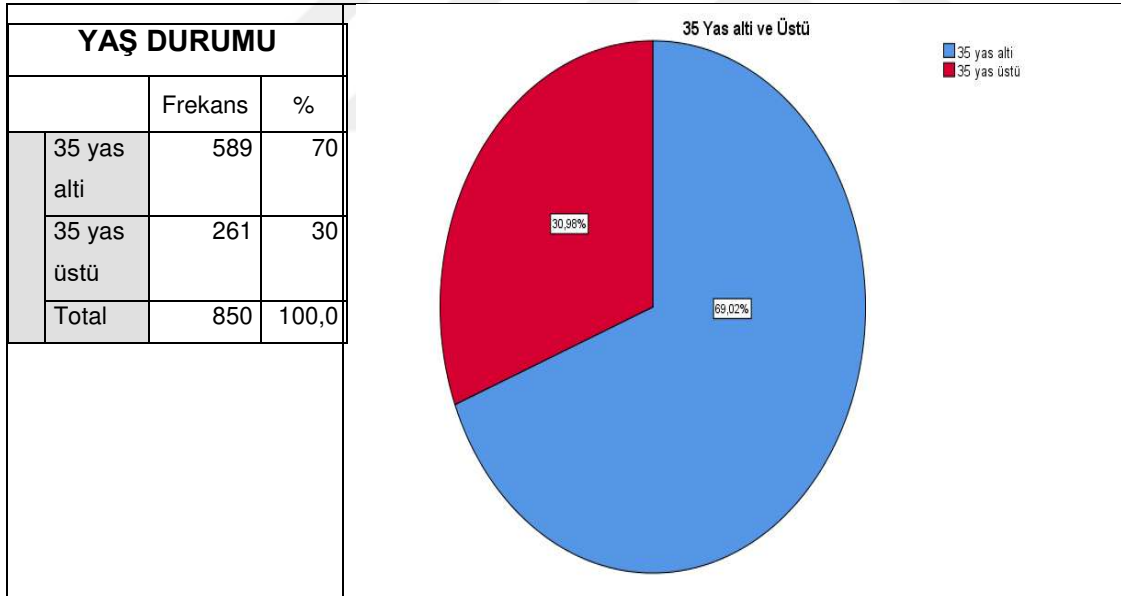


Şekil 5: 46, XY, 9qh+ sonuca sahip hastanın karyotipi



Şekil 6: Hastaların genetik analiz sonucu grafiği

Tablo 7. Hastaların yaş durumu



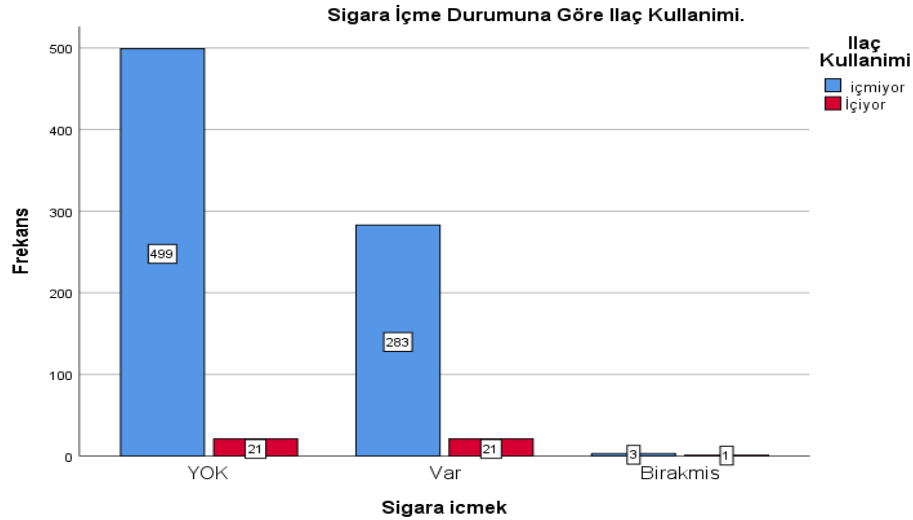
Tablo 7’de hastaların yaş durumu gösterilmiştir. Türkiye İstatistik Kurumunun elde ettiği verilere istinaden; ülkemizde doğurganlık hızının azalmakta olduğu buna karşılık doğurganlık yaşının artmakta olduğu görülmektedir. Doğurganlık hızı coğrafi bölgelere göre önemli farklılıklar göstermektedir. Bu anlamda Güneydoğu Anadolu Bölgesinin doğurganlık hızının oldukça yüksek olduğunu, Batı Bölgesinin doğurganlık hızının ise oldukça düşük olduğunu görmekteyiz (45). Çalışmamızda

hastalarımızı 35 altı ve 35 üstü olmak üzere 2 grupta inceledik. 850 hastanın 589'u (%70) 35 yaş altı hastalar olduğu, 261 hastanın (%30) 35 yaş üstü hastalar olduğu görülmüştür.

Tablo 8.Hastaların sigara içme durumuna göre ilaç kullanımı

			İlaç Kullanımı		Total
			Yok	Var	
Sigara	İçmiyor	N (sayı)	499	21	520
		% (yüzde)	96,0	4,0	100,0
	İçiyor	N (sayı)	283	21	304
		% (yüzde)	93,1	6,9	100,0
	Bırakmış	N (sayı)	3	1	4
		% (yüzde)	75,0	25,0	100,0
Total		N(sayı)	785	43	828
		% (yüzde)	94,8	5,2	100,0

Ki-Kare=6,41 P=0,04 anlamlı fark vardır.



Şekil 7: Sigara içme durumuna göre ilaç kullanımı

Tablo 9. İlaç kullanımının genetik analiz sonucuna etkisi

			İlaç Kullanımı		Total
			Yok	Var	
Genetik Analiz Sonucu	Kadin Normal	N(sayı)	302	15	317
		% (yüzde) Genetik Analiz	95,3	4,7	100,0
	Erkek Normal	N(sayı)	294	15	309
		% (yüzde) Genetik Analiz	95,1	4,9	100,0
	Kromozom anomalili	N(sayı)	189	13	202
		% (yüzde) Genetik Analiz	93,6	6,4	100,0
Total		N(sayı)	785	43	828
		% (yüzde) Genetik Analiz	94,8	5,2	100,0

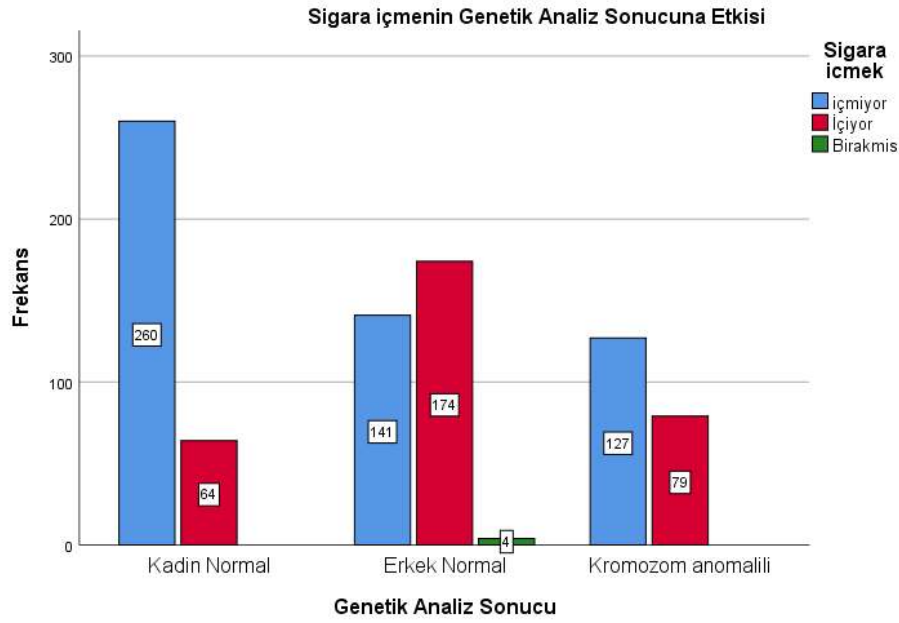
Ki-Kare=0,84 p: 0,65 anlamlı bir fark yoktur.

Hastalarda ilaç kullanımının genetik analiz sonucuna etkisinin olmadığı p=0,65 olarak bulunmasıyla anlamlı bir fark olmadığı istatistiksel olarak ortaya konulmuştur.

Tablo 10. Sigara kullanımının genetik analiz sonucuna etkisi

			Sigara içmek			Total
			YOK	Var	Birakmis	
Genetik Analiz Sonucu	Kadin Normal	N(sayı)	260	64	0	324
		% (yüzde) Genetik Analiz	80,2	19,8	0,0	100,0
	Erkek Normal	N(sayı)	141	174	4	319
		% (yüzde) Genetik Analiz	44,2	54,5	1,3	100,0
	Kromozom anomalili	N(sayı)	127	79	0	206
		% (yüzde) Genetik Analiz	61,7	38,3	0,0	100,0
Total		N(sayı)	528	317	4	849
		% (yüzde) Genetik Analiz	62,2	37,3	0,5	100,0

Ki-Kare=92,42 p:0,000 anlamlı bir fark vardır.



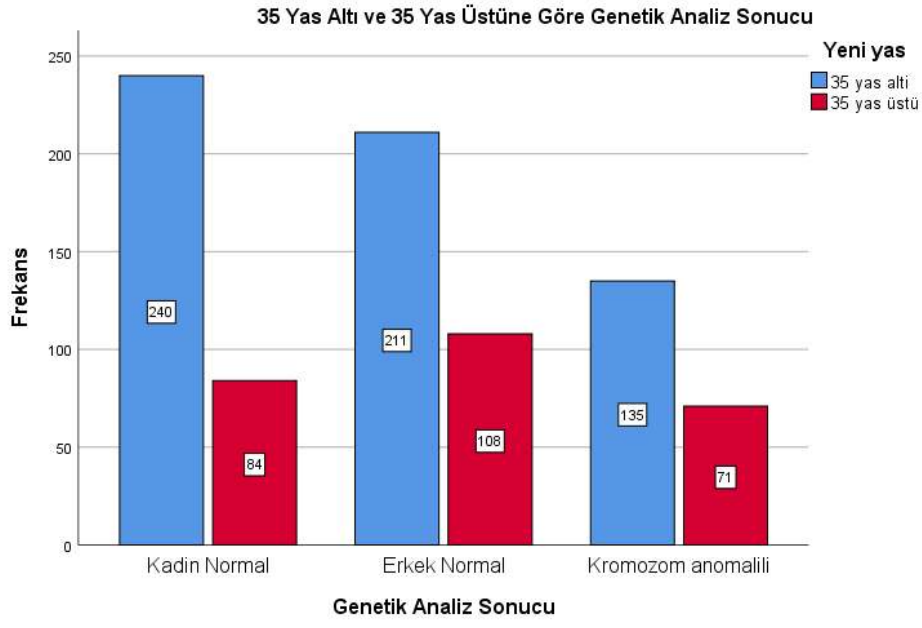
Şekil 8: Sigara içmenin genetik analiz sonucuna etkisi

Çalışmamızda sigaranın genetik analiz sonucuna etkisinin $p=0,000$ olarak bulunmasıyla istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüştür.

Tablo 11. Yaş durumunun genetik analiz sonucuna etkisi

			Yaş		Total
			35 yas altı	35 yas üstü	
Genetik Analiz Sonucu	Kadin Normal	N(sayı)	240	84	324
		% (yüzde) Genetik Analiz	74,1	25,9	100,0
	Erkek Normal	N(sayı)	212	108	320
		% (yüzde) Genetik Analiz	66,1	33,9	100,0
	Kromozom anomalili	N(sayı)	135	71	206
		% (yüzde) Genetik Analiz	65,5	34,5	100,0
Total		N(sayı)	587	263	850
		% (yüzde) Genetik Analiz	69,0	31,0	100,0

Ki-Kare=6,275p:0,04 anlamlı fark vardır.



Şekil 9: Yaş durumuna göre genetik analiz sonucu

6.TARTIŞMA

Yıllar boyu herhangi bir klinik bulguyla bağının olmadığı düşünölen kromozom varyasyonlarının, infertiliteye sahip çiftlerde görölme sıklığı günümüzde bu konuda araştırma yapanların ilgi odağı olmuştur. Genellikle kromozomun dengeli şekilde yeniden düzenlenmesi olarak kategorize edilen kromozomal polimorfizmin, çoğu infertil hastalarda polimorfik varyasyonların artan sıklığını ortaya koyan birçok çalışmada klinik olarak ilgili olduğu gösterilmiştir. Kromozomal polimorfizm ile üreme kapasitesi arasındaki potansiyel ilişkiyi görmezden gelmek giderek zorlaşmaktadır (46).

Heterokromatin bölgelerin yakınındaki genlerin düzenleyici etkiye sahip olma ihtimali, heterokromatin alanlardaki genleri çevre baskısına cevaben ifadelerinin düzeylerinde değışiklik olabileceğı bilinmektedir (47). Vaka-kontrol çalışmaları bu şüpheleri destekleyici niteliktedirler. Akbaş ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada toplam 245 hastanın kromozomal anomali oranı %6,53 olarak bulunmuştur. Çiftlerden oluşan 1.grupta %2,19, kadınlardan oluşan 2.grupta %23 ve erkeklerden oluşan 3.grupta %17,64 oranında kromozomal anomali saptanmıştır (64). Wang ve ark. Çin’de gerçekleştirilen bir çalışmada, TGK yaşayan eşleri olan erkeklerde Y qh+ insidansı %12,0’ ken kontrol grubundaki insidans %2,2 olarak görölmüştür (48). Xiao ve ark. Y qh+- taşıyıcılığı mevcut bireylerin IVF tedavisi esnasında, fertilizasyon, implantasyon, verimli embriyo ve başarılı gebelik oranlarının kontrol grubu bireyelerine nazaran oldukça düşük olduğundan bahsetmişlerdir (49). Heterokromatin alanlardaki yapısal polimorfizmlerinin, epigenetiksel düzenekleri uyarıp infertilite ile bağlantılı genleri hazırlayabileceğı bildirilmiştir (50).

Heterokromatin varyetelerinin infertilite ile olan ilişkisinin araştırma konusu olduğu başka bir çalışmada, infertilite tanısı konulmuş 1790 hastada görölen kromozom varyantlarının yoğunluğunun ve kayda değeri olduğunun bilgisi verilmiştir (51). Yine başka bir çalışmada Liang ve ark. (2014) sadece erkek kromozomal polimorfizmlerinin IVF sikluslarının fertilizasyon oranlarını olumsuz etkilediğı sonucuna varmışlardır (52).

760 infertilitesi olan erkek ve 555 fertilite sahibierkeğin sitogenetik verilerinin kıyaslandığı vaka-kontrol araştırmasında total kromozom varyasyonlarının insidansı infertilite sahibi kadın ve erkek bireylerde fertilite sahibi olanlara kıyasla oldukça yüksek oranda görüldüğü bildirilmiştir (53).

Bizim çalışmamızda 850 hasta içerisinde 51 erkek hastada (46,XY,9qh+), 41 kadın hastada (46,XX,9qh+) 9. Kromozomda qh+ (sentromer bölgesinde heterokromazi) polimorfizmi olduğu belirlenmiştir. Yine 14 erkek hastada (46,XY,1qh+), 15 kadın hastada (46,XX,1qh+) 1.kromozomda qh+ polimorfizmi olduğu görülmüştür. 9qh+ insidansının primer infertilite tanısı almış kadın hastalarda ve infertilite tanısı almış erkek hastalarda oldukça yüksek oranda görüldüğü, Yqh+ insidansının eşlerinde kötü doğum öyküsü olan erkeklerin, olmayanlara göre oldukça yüksek oranda olduğu literatürde belirlenmiştir (54). Bizim çalışmamızda 9qh+ olan hasta sayısı toplamda 92 hasta olup %10,82' lik bir orana sahip olduğu görülmüştür. Yine 1qh+ olan hasta sayısı toplamda 29 hasta olup %3,41'lik bir orana sahip olduğu görülmüştür.

Vaka-kontrol çalışmalarından biri olan Dana ve ark., nın yaptığı çalışmada 9. kromozomun inversiyonunun infertil bireylerle fertil bireylerde eşit oranda rastlanıldığını, bu sebeple infertilite ile bağdaştırılamayacağını savunurken (55); Şipek ve ark. nın 26.597 kişi ile yaptıkları araştırmada kriptojenik üreme başarısızlığı olan inversiyon (9) taşıyıcısı kadın ve erkeklerde insidansın %37,1 oranında görüldüğünü bulmuşlardır (56).

Şipek ve ark.nın bu durumun yüksek oranda olduğunu kabul ettikleri, fakat istatistiki açıdan anlam ifade etmediğini belirtirken; 9.kromozomda perisentrik inversiyonun farklı varyasyonlarının kriptojenik infertiliteye sebep olabileceğini, bulunan oranın dikkate değer olduğunu ifade etmişlerdir. Heteromorfizmlerin sıklıkla 1 nolu, 9 nolu ve 16 nolu kromozomların q kolunda sentromere yakın heterokromatin alanlarının ve Y kromozomunun q kolundaki heterokromatin alanlarının artması ya da azalması bu alanların inversiyonu ve akrosentrik kromozomların kısa kollarındaki satellit olarak adlandırılan kromatin artışları (ps+) ya da heterokromatin alanlardaki artışları (psk+) olarak gösterilmektedir (57). Heteromorfizmler içerisinde en sık olarak karşılaşılan 9 nolu kromozomun p11q12 bölgesindeki kırık oluşumları sonucu oluşan inversiyon 9'dur. 9. kromozomun

heterokromatin bölgesinin içinde yer aldığı perisentrik inversiyonu, bütün inversiyonlar içerisinde yaygın olarak görülen inversiyon türüdür ve sitogenetik laboratuvar çalışmalarında yoğun bir şekilde karşılaşılmaktadır (58).

Bizim çalışmamızda 6 Erkek hastada (46,XY,inv9(p13q13), 6 Kadın hastada (46,XX,inv9(p13q13) 9. kromozomun heterokromatin alanınınında inversiyon görülmüştür. Toplamda İnv9 olan hasta sayısı 12 olup %1,41'lik bir orana sahip olduğu görülmüştür.

Balasar ve Acar, inversiyon (9) taşıyıcısı erkeklerin sperm numuneleri ile yaptıkları çalışmada, akrosentrik kromozomlardaki dizomi insidansının arttığını belirtmişlerdir (59). Heterokromatin alanın 9p12 ve 9q13-21.1 bantları ile akrosentrik kromozomların kısa kollarında nükleotid dizilimleri benzerlik gösterdiği bilinmektedir (60). Mayoz süresince, 9.kromozomun akrosentrik kromozomlarla eş alanlarda irtibat hâlinde olduğu ve bunun perisentrik inversiyon (9) taşıyıcılarının eşey hücrelerinde akrosentrik kromozomların dizomisine sebep olabileceği bildirilmiştir (61). 9. kromozomun perisentrik inversiyonu, sıklıkla anormal fenotip görünümüne sebep olmaz; fakat gametogenez esnasında interkromozomal etki (ICE)'ye sebep olup, mayoz bölünmenin pakiten safhasında kromozomun bağlantı yerlerinde bağlanma problemlerine, bu sebeple dengesiz gamet meydana gelmesinden sorumlu olabilmektedir (62). İnv9'un, doğumsal anomaliler, infertilite, TKG, başarısız in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu [intracytoplasmic sperminjection (ICSI)] ile bağlantılı olabileceğini açıklayan araştırmaların her geçen gün arttığını belirtmektedirler (63).

Çalışmamızda 63 Hastada da 15/21/22. Kromozomlarda pstk+ olduğu tespit edilmiştir. Toplamda pstk+ olan hasta sayısı 63 olup %7,41'lik bir orana sahip olduğu görülmüştür.

7. SONUÇ

Sonuç olarak, başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastalardan oluşan çalışmamızda, sitogenetik açıdan yaptığımız analizler dahilinde kromozom anomalilerine sahip hasta sayısının literatürle uyumlu olduğunu, heterokromatin varyantları insidansının infertilite ile olan ilişkisinin dikkate alınması gerektiğini bu sebeple heterokromatin alanların, genlerle ilgili etkilerinin detaylı bir şekilde araştırılması ve infertiliteye yönelik yaklaşımların moleküler olarak incelenmesinin, daha fazla sayıda hasta popülasyonu ile gerçekleştirilecek yeni çalışmalarla bu durumun açıklığa kavuşacağını düşünmekteyiz.

Başarısız IVF hastalarına gerekli durumlarda genetik danışmanlık verilmesinin, klinikler arası işbirliği ile tedavi ekibi ve hastalar için harcanan zamanın verimli kullanılmasını sağlayacağı için hastaları psikolojik açıdan da destekleyeceğini söyleyebiliriz. Son olarak infertilite tedavilerinde sitogenetik incelemenin önemini bir kez daha vurgulamak isteriz.

8. KAYNAKLAR

1. Alba Cascales, Belen Lledó, Jose A. Ortiz, Ruth Morales, Jorge Ten, Joaquin Llacer & Rafael Bernabeu (2021) Effect of ovarian stimulation on embryo aneuploidy and mosaicism rate, *Systems Biology in Reproductive Medicine*
2. Thompson&thompson genetics
3. Sezgin, H., & Hocaoglu, Ç. (2014). Infertilitenin Psikiyatrik Yönü/Psychiatric Aspects of Infertility. *Psikiyatri Guncel Yaklasimlar*, 6(2), 165.
4. Koloğlu endokrinoloji temel ve klinik, ikinci baskı, MN Medikal&Nobel 2005
5. Crosignani PC, Collins J, Cooke ID, Diczfalussy E, Rubin B. Unexplained infertility (recommendations of ESHRE workshop). *Hum Reprod* 1993; 8: 977-980
6. Paulson R. In vitro fertilization. UpToDate 2007
7. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med* 1999; 340(23): 1796-1799
8. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. *J. Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177
9. Van Royen E Mangelschots K De Neubourg D Valkenburg M Van De Meerssche M Ryckaert G Eestermans W Gerris J Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Human Reproduction* 1999; 14: 2345-2349
10. Dongetal.,2013;Madonetal.,2005;MierlaandStoian,2012a;Sahinetal.,2008
11. Kowalczyk M, Srebniak M, Tomaszewska A.Chromosome abnormalities without phenotypicconsequences. *J AppGenet*2007;48:157-166.
12. Endow SA, Glover DM. Dynamics of Cell Division. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2002. pp 203-235.
13. Nielsen J, Wohlert M. Chromosome abnormalities found among 34910 newborn children: results from 13-years incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet* 1995;87:81-83.

14. Fryns J, Kleczkowska A, Londers L, van den Berqhe H. Unusual chromosome 9 polymorphism and reproductive failure. *Ann Genet* 1985;28:49- 51.
15. Di Gennaro G, Mascia A, Grammaldo L. Focal cortical dysplasia and pericentric inversion of chromosome 9; a case report. *Journal of Neurological Sciences* 2004;21:143-146.
16. Madon PF, Athalye AS, Parikh FR. Polymorphic variants on chromosomes probably play a significant role in infertility. *Reprod Biomed Online* 2005;11:726-732.
17. Lejeune J. Autosomal disorders. *Pediatrics* 1963;32:326-337.
18. Douet-Guilbert N, Bris MJ, Amice V, Marchetti C, Delobel B, Amice J, et al. Interchromosomal effect in sperm of males with translocations: report of 6 cases and review of the literature. *Int J Androl* 2005;28:372–379.
19. Machev N, Gosset P, Warter S, Treger M, Schillinger M, Viville S. Fluorescence in situ hybridization sperm analysis of six translocation carriers provides evidence of an interchromosomal effect. *Fertil Steril* 2005;84:365-373.
20. Blanco J, Egozcue J, Vidal F. Interchromosomal effects for chromosome 21 in carriers of structural chromosome reorganizations determined by fluorescence in situ hybridization on sperm nuclei. *Hum Genet* 2000;106:500-505.
21. Vegetti W, Van Assche E, Frias A, Verheyen G, Bianchi MM, Bonduelle M, et al. Correlation between semen parameters and sperm aneuploidy rates investigated by fluorescence in situ hybridization in infertile men. *Hum Reprod* 2000;15:351-365.
22. Anton E, Blanco J, Egozcue J, Vidal F. Sperm FISH studies in seven male carriers of Robertsonian translocation t(13;14)(q10;q10). *Hum Reprod* 2004;19:1345-351.
23. Vozdova M, Oracova E, Horinova V, Rubes J. Sperm fluorescence in situ hybridization study of meiotic segregation and an interchromosomal effect in carriers of t(11;18). *Hum Reprod* 2008;23:581-588.

24. Kekesi A, Erdei E, Török M, Dravucz S, Toth A. Segregation of chromosomes in spermatozoa of four Hungarian translocation carriers. *Fertil Steril* 2007;88:5-11.
25. Estop AM, Ciepły KM, Munne S, Surti U, Wakim A, Feingold E. Is there an interchromosomal effect in reciprocal translocation carriers? Sperm FISH studies. *Hum Genet* 2000;106:517-524.
26. Pellestor F, Imbert I, Andreo B, Lefort G. Study of the occurrence of interchromosomal effect in spermatozoa of chromosomal rearrangement carriers by fluorescence in-situ hybridization and primed in-situ labelling techniques. *Hum Reprod* 2001;16:1155-1164.
27. Rives N, Saint Clair A, Mazurier S, Sibert L, Simeon N, Joly G, et al. Relationship between clinical phenotype, semen parameters and aneuploidy frequency in sperm nuclei of 50 infertile males. *Hum Genet* 1999;105:266-272.
28. Colls P, Blanco J, Martinez-Pasarell O, Vidal F, Egozcue J, Marquez C, et al. Chromosome segregation in a man heterozygous for a pericentric inversion, inv(9)(p11q13) analyzed by using sperm karyotyping and two-color fluorescence in situ hybridization on sperm nuclei. *Hum Genet* 1997;99:761-765.
29. Claussen U, Michel S, Mühlig P, Westermann M, Grummt UW, Kromeyer-Hauschild K, et al. Demystifying chromosome preparation and the implications for the concept of chromosome condensation during mitosis. *Cytogenet Genome Res* 2002;98:136-146.
30. Shaffer LG, McGovan-Jordan J, Schmid M(eds). *ISCN (2013): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*. Basel: Karger; 2013.
31. Amiel A, Sardos-Albertini F, Fejgin MD, Sharony R, Diukman R, Bartoov B. Interchromosomal effect leading to an increase in aneuploidy in sperm nuclei in a man heterozygous for pericentric inversion (inv9) and C-heterochromatin. *J Hum Genet* 2001;46:245–250.
32. Grell RF. Distributive pairing in man? *Ann Genet* 1971;14:165-171.

33. Ford CE, Evans EP. Robertsonian translocation in mice: segregational irregularities in male heterozygotes and zygotic imbalance. *Chrom Today* 1973;4:387-397.
34. Göndör A, Ohlsson R. Chromosome crosstalk in three dimensions. *Nature* 2009;10:212-217.
35. Lee JT, Jaenisch R. Long-range cis effects of ectopic X-inactivation centres on a mouse autosome. *Nature* 1997;20:275-279.
36. McKee BD. Homologous pairing and chromosome dynamics in meiosis and mitosis. *Biochim Biophys Acta* 2004;15:165-180.
37. Codina-Pascual M, Navarro J, Oliver-Bonet M, Kraus J, Speicher MR, Arango O, et al. Behaviour of human heterochromatic regions during the MED GENET 2015; 1 (1)
38. www.ankaratupbebek724.com
39. www.izmiregitim.gov.tr
40. readgur.com.tr
41. Shivani B. Nazareth, Gabriel A. Lazarin and James D. Goldberg. Changing trend in carrier screening for genetic disease in the United States, *Prenatal Diagnosis* (2015) 35, 931–935
42. Mohammad Azimi, Kyle Schmaus, Valerie Greger, Dana Neitzel, Robert Rochelle, Tuan Dinh. Carrier screening by next-generation sequencing: health benefits and cost effectiveness. *Molecular Genetics & Genomic Medicine* (2016), 4(3):292–302
43. Sophie Nambot, Julien Thevenon, Paul Kuentz, Yannis Duffourd, et al. Clinical whole-exome sequencing for the diagnosis of rare disorders with congenital anomalies and/or intellectual disability: substantial interest of prospective annual reanalysis. *Genetics in Medicine* (2017), 20(6), 1-10.
44. I.A.P. Derks-Smeets, J.J.G. Gietel-Habets, A. Tibben, V.C.G. Tjan-Heijnen, M. Meijer-Hoogeveen, J.P.M. Geraedts, R. van Golde, E. Gomez-Garcia, E. vanden Bogaart, M. van Hooijdonk, C.E.M. de Die-Smulders, and L.A.D.M. van Osch. Decision-making on preimplantation genetic diagnosis and prenatal diagnosis: a challenge for couples with hereditary breast and ovarian cancer. *Human Reproduction*, 2014

45. Stephanie Allen. Guidelines ratified by the UK Clinical Molecular Genetics Society; 16th April, 2008.
46. Smitha Mathews, K. Lakshmi Rao, K. Suma Prasad, M. K. Kanakavalli, A Govardhana Reddy, T. Avinash Raj, Kumarasamy Thangaraj & Gopal Pande. "Propagation of pure fetal and maternal mesenchymal stromal cells from terminal chorionic villi of human term placenta". 2015, Scientific reports
47. Liang, J., Zhang, Y., Yu, Y., Sun, W., Jing, J., & Liu, R. (2014). Effect of chromosomal polymorphisms of different genders on fertilization rate of fresh IVF–ICSI embryo transfer cycles. *Reproductive biomedicine online*, 29(4), 436–444.
48. Wang Y, Li G, Zuo MZ, Fang JH, Li HR, Quan DD, et al. [Y chromosome polymorphisms may contribute to an increased risk of male-induced unexplained recurrent miscarriage]. *Biosci Rep*. 2017;37(2):BSR20160528. [Crossref] [PubMed] [PMC]
49. Y. Hong, Y.-W. Zhou, J. Tao, S.-X. Wang, X.-M. Zhao, Do polymorphic variants of chromosomes affect the outcome of *in vitro* fertilization and embryo transfer treatment?, *Human Reproduction*, Volume 26, Issue 4, April 2011, Pages 933–940
50. Mierla, D., & Stoian, V. (2012). Chromosomal polymorphisms involved in reproductive failure in the Romanian population. *Balkan journal of medical genetics: BJMG*, 15(2), 23.
51. Liang, J., Zhang, Y., Yu, Y., Sun, W., Jing, J., Liu, R., 2014. Effect of chromosomal polymorphisms of different genders on fertilization rate of fresh IVF–ICSI embryo transfer cycles. *Reprod. Biomed. Online* 29, 436–444.
52. Liang, J., Zhang, Y., Yu, Y., Sun, W., Jing, J., & Liu, R. (2014). Effect of chromosomal polymorphisms of different genders on fertilization rate of fresh IVF–ICSI embryo transfer cycles. *Reproductive biomedicine online*, 29(4), 436–444.
53. Minocherhomji S, Athalye AS, Madon PF, Kulkarni D, Uttamchandani SA, Parikh FR. A case-control study identifying chromosomal polymorphic variations as forms of epigenetic alterations associated with the infertility phenotype. *Fertil Steril*. 2009;92(1):88–95. [Crossref] [PubMed]

54. Wang Y, Li G, Zuo MZ, Fang JH, Li HR, Quan DD, et al. [Y chromosome polymorphisms may contribute to an increased risk of male-induced unexplained recurrent miscarriage]. *Biosci Rep.* 2017;37(2):BSR20160528. [Crossref] [PubMed] [PMC]
55. Dana M, Stoian V. Association of pericentric inversion of chromosome 9 and infertility in romanian population. *Maedica (Buchar).* 2012;7(1):25-9. 1
56. Šípek A, Panczak A, Mihalová R, Hřčková L, Suttrová E, Sobotka V, et al. Pericentric inversion of human chromosome 9 epidemiology study in czech males and females. *Folia Biol (Praha).* 2015;61(4):140-6.
57. Christofolini DM, Mafra AF, Neto RP, Barros RASA, dos Santos AA, Peluso C, et al. Correlation between chromosomal variants and male infertility in a population of Brazilian infertile men. *Reproductive Sys Sexual Disord.* 2012;1(1):2-6. [Crossref]
58. Balasar, Ö. (2009). Yapısal kromozomal düzensizliği olan erkek bireylerin sperm nükleuslarında interkromozomal etkinin fish yöntemiyle araştırılması.
59. Arslan, B., Yılmaz, İ. B., Ertural, D. Y., Aras, N., & Akbaş, E. (2020). Erkeklerde Üreme Basarisizligi ile Sonuçlanan Kromozomal Varyasyonlar: Retrospektif Çalışma. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 40(3), 326-333.
60. Arslan, B., Yılmaz, İ. B., Ertural, D. Y., Aras, N., & Akbaş, E. (2020). Erkeklerde Üreme Basarisizligi ile Sonuçlanan Kromozomal Varyasyonlar: Retrospektif Çalışma. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 40(3), 326-333.
61. Arslan, B., Yılmaz, İ. B., Ertural, D. Y., Aras, N., & Akbaş, E. (2020). Erkeklerde Üreme Basarisizligi ile Sonuçlanan Kromozomal Varyasyonlar: Retrospektif Çalışma. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 40(3), 326-333.
62. Merrio K, Maisenbacher M. Pericentric inversion (inv) 9 variant-reproductive risk factor or benign finding? *J Assist Reprod Genet.* 2019 Dec; 36(12):2557-61. [Crossref] [PubMed] [PMC]
63. Arslan, B., Yılmaz, İ. B., Ertural, D. Y., Aras, N., & Akbaş, E. (2020). Erkeklerde Üreme Basarisizligi ile Sonuçlanan Kromozomal Varyasyonlar:

Retrospektif Çalışma. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 40(3), 326-333.

64. Akbaş, H., Alp, M. N., Kalkanlı, S., & Budak, T. (2004). Üreme problemi olan hastalarda Sitogenetik araştırmalar. *Dicle Tıp Dergisi*, 31(4), 24-28.





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	SEVCAN	Soyadı	İZGİ
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C	Tel	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri	2021
Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2018
Lisans	Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2004
Lise	Elazığ Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi	2000

Yayınlar

Matriks Metalloproteinaz (Mmp) Enzimlerinin Kanserdeki Rolü. M Tuneğ, S İzgi, G Tuneğ, M Boğa, S Akocak. Sağlık Bilimlerinde Multidisipliner araştırmalar 22, 21-40

10. ETİK KURUL ONAYI

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
26					
KARAR					
Doç. Dr. Selahaddin TEKEŞ, Sevcin İZGİ isimli araştırmacılar tarafından planlanan "1999-2019 yılları arasında başarısız IVF ön tanısıyla başvuran hastaların sonuçlarının genetik açıdan değerlendirilmesi" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.					
Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Genetic evaluation of patients results admitted with an unsuccessful IVF prediagnosed between 1999-2019" planned by Selahaddin TEKEŞ, Sevcin İZGİ has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number):		Tarih (Date): 26.11.2020		Saat (Hour): 14:00-15:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. Meral ERDİNÇ			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	Meral ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
2	Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
3	Prof. Dr.	Zeynep BAYSAL YILDIRIM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
4	Prof. Dr.	Zülfükar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
5	Doç. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
6	Doç. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
7	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
8	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	
9	Dr. Öğretim Üyesi	Gülşay AYDOĞDU	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	
10	Dr. Öğretim Üyesi	Muhammed Akif DENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
11	Avukat	Ronay TEKALP	Dicle Üniversitesi Hastaneleri	Hukuk İşleri Birimi	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DIYARBAKIR
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

11. ORJİNALLİK RAPORU

Başarısız IVF Ön Tanısıyla Gelen Hastaların Genetik Açıdan Değerlendirilmesi 2

ORJİNALLİK RAPORU

% 7	% 5	% 3	% 0
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.dicle.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 2
2	Badel ARSLAN, İrem BEKALP YILMAZ, Duygu YOLAL ERTURAL, Nurcan ARAS, Etem AKBAŞ. "Choromosomal Variations Resulting with Reproductive Failure in Men: Retrospective Study", Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 2020 Yayın	% 1
3	readgur.com İnternet Kaynağı	% 1
4	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	openaccess.maltepe.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	AKBAŞ, Halit, ALP, M. Nail, KALKANLI, Sevgi and BUDAK, Turgay. "Üreme problemi olan hastalarda sitogenetik araştırmalar", TÜBİTAK, 2004. Yayın	<% 1