

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Akdeniz Üniversitesi  
Rektörlük Kütüphanesi  
Demirbaş No. 4945

X  
YENİ DOĞANLARDA SEKS KROMATİN TAYİNİ METODUYLA X'E BAĞLI  
KROMOZOM ANOMALİLERİ SIKLIĞININ SAPTANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T294/1-1

SİBEL BERKER-KARAZÜM

ANTALYA - 1990

(294)

88.02.0122.01 nolu bu araştırma AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
ARAŞTIRMA FONU tarafından desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Giriş .....	1
Genel Bilgiler .....	4
Materyal ve Metod .....	24
Bulgular .....	32
Tartışma .....	46
Özet .....	57
Kaynaklar .....	58

## T E Ő E K K Ü R

Bu çalışmada tez konusunu vererek çalışma süresince her çeşit yardımı, uyarı ve yapıcı eleştirileri ile araştırmalarımın olumlu yönde gelişme ve sonuçlanmasında büyük emeği geçen yöneticim Prof.Dr.Güven LLECI'ye, değerli öneri ve katkılarından yararlandığım Yrd.Doç.Dr.Gülseren BAĞCI ve Yrd.Doç.Dr.Hüseyin BAĞCI'ya ve çalışma arkadaşım Arş.Gör.Biyolog İbrahim KESER'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca İstatistiksel değerlendirmelerde büyük yardımları dokunan Doç.Dr.Osman SAKA'ya, Yrd.Doç.Dr.Mehmet YARDIMSEVER'e, tezimin daktilo edilmesinde büyük fedakarlık gösteren Anabilim Dalımız sekreteri Neriman AKSARAY'a araştırma boyunca maddi ve manevi her türlü desteğini daima hissettiren değerli aileme ve eşim Dr.Cengiz KARAÜZÜM'e teşekkür ederim.

## G İ R İ Ő

Seksüel gelişme anomalilerinin teşhisinde en önemli faktörlerden biri bireyin genetik olarak cinsiyetini belirlemektir. Cinsiyeti saptamak için kullanılan en kolay ve ucuz yöntem seks kromatin (veya cinsiyet kromatini) tayin metodudur. 1949 yılında Moore ve Barr isimli araştırmacılar ilk defa sadece dişilerin hücrelerinde bulunan bu özel kromatini bulmuşlar ve seksüel dimorfizm olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapısı DNA olan seks kromatin, sağlıklı bir dişide iki X kromozomundan birinin erken embriyonik dönemde inaktivasyonu sonucu olduğundan hücrede X kromozom sayısına bağlı olarak bulunmaktadır. Dişide X kromozom sayısı 2'den fazla olduğu takdirde seks kromatin sayısı da aynı oranda artmaktadır. Sağlıklı bir erkekte bulunan bir X kromozomu fonksiyonel olarak aktif olduğundan seks kromatin oluşturmamaktadır. Seks kromatininin dişide bulunmaması yada normalde bir tane bulunurken birden fazla sayıda bulunması, morfolojik olarak normalden büyük yada

küçük olması ve erkek bireylerde seks kromatinin varlığı, X'e bağlı sayısal ve yapısal kromozomal anomalilerinin saptanmasında en kolay yöntem olmaktadır. Bu yöntem, kolaylığı, ucuz oluşu ve fazla zaman almaması nedeni ile rutin sitogenetik laboratuvarlarında, acil teşhis istenen durumlarda ve populasyon taramalarında tercih edilmektedir.

Diğer taraftan X'e bağlı kromozomal anomalilerin tesbitinde kesin güvenirliliği olan ve seks kromatinden daha az bir geçmişi olan yöntem, kromozom analizidir. Genellikle kromozom analizi, pahalı ve uzun süren bir çalışma gerektirdiğinden populasyon çalışmaları sonucu seks kromatinle gözlenen anormal durumlarda veya şüphelenilmiş olguların kontrolünde uygulanmaktadır.

Seks kromatin metodu, bugüne kadar dünyanın birçok ülkesinde adli tıpta, sporcuların cinsiyetini belirlemede, epidemiyolojik çalışmalarda ve kromozom anomalilerinin tesbitinde kullanılmaktadır. X'e bağlı kromozomal düzensizliklerin sıklığını saptamada en uygun çalışma grubunu ise yeni doğanlar oluşturmaktadır. X'e bağlı kromozomal bir anomali otozomal kromozom sendromlarında olduğu gibi belirgin fenotipik özellikler göstermediğinden, kromozomal düzensizlik gösteren bireylerin ayrıntılı klinik incelemeleri yapılmadığı takdirde sağlıklı bireylerden ayırteilmeleri son derece güç olabilmektedir.

Çalışmamızda, araştırmadan araştırmaya değişen X'e bağlı kromozom anomalisi sıklığını incelemek, genellikle erken çocukluk döneminde klinik belirti göstermeyen bu düzensizlikleri saptamak, kromozomal anomali gösteren olguların ailesine fizyolojik ve psikolojik gelişimi ile ilgili danışma vermek ve buluş çağı dönemindeki sorunların klinisyen tarafından çözülmesine yardımcı olmak amaçlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

Uzun yıllar insanda total kromozom sayısı tam olarak bilinmese de, 1917 yılında Wieman, ilk kez X ve Y kromozomlarını tanımlayarak seksüel dimorfizmde kromozomal farklılığın önemini ortaya çıkarmıştır. Disi bireyde morfolojik olarak büyük kromozomlar arasına giren X kromozomundan 2 adet bulunurken aynı X kromozomundan erkekte bir tane ve birde küçük Y kromozomu vardır. Bu durumda X kromozomu üzerinde bulunan genlerin ürünleri bakımından iki cins arasında fark olması beklenirken, X kromozomu üzerindeki genler tarafından kontrol edilen proteinler kadın ve erkekte eşit miktarda bulunmaktadır. İşte kadınlarda iki tane X kromozomu bulunurken, erkekte yalnız bir tane bulunması genetik çalışmaların bu yönde ağırlık kazanmasına neden olmaktadır.

Müller 1932 yılında, *Drosophila* ile yaptığı çalışmalarla "gen dozaj kompanzasyonu"nu ileri sürmüştür. Gen dozaj kompanzasyonunun mekanizmasını, ya erkekte bulunan



bir X kromozomunun iki katı fazla çalışması, yada dışideki iki X kromozomlarının yarısının çalışması şeklinde açıklanmıştır<sup>1</sup>. 1937 yılında Geitler, böcekler üzerinde yaptığı çalışmalarda interfaz çekirdeğinde ilk kez ayrı kondanse olmuş bir kromatin yapı göstermiştir. 1949 yılında BARR ve BERTRAM isimli araştırmacılar dişi kedilerin sinir hücrelerinde erkek kedilerde bulunmayan bir kromatin yapı gözleyerek Barr cisimciği olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra ise Barr cisimciğini dişi kedilerin diğer somatik hücrelerinde de saptamışlar ve yapısının DNA olduğunu ortaya koymuşlardır<sup>2</sup>.

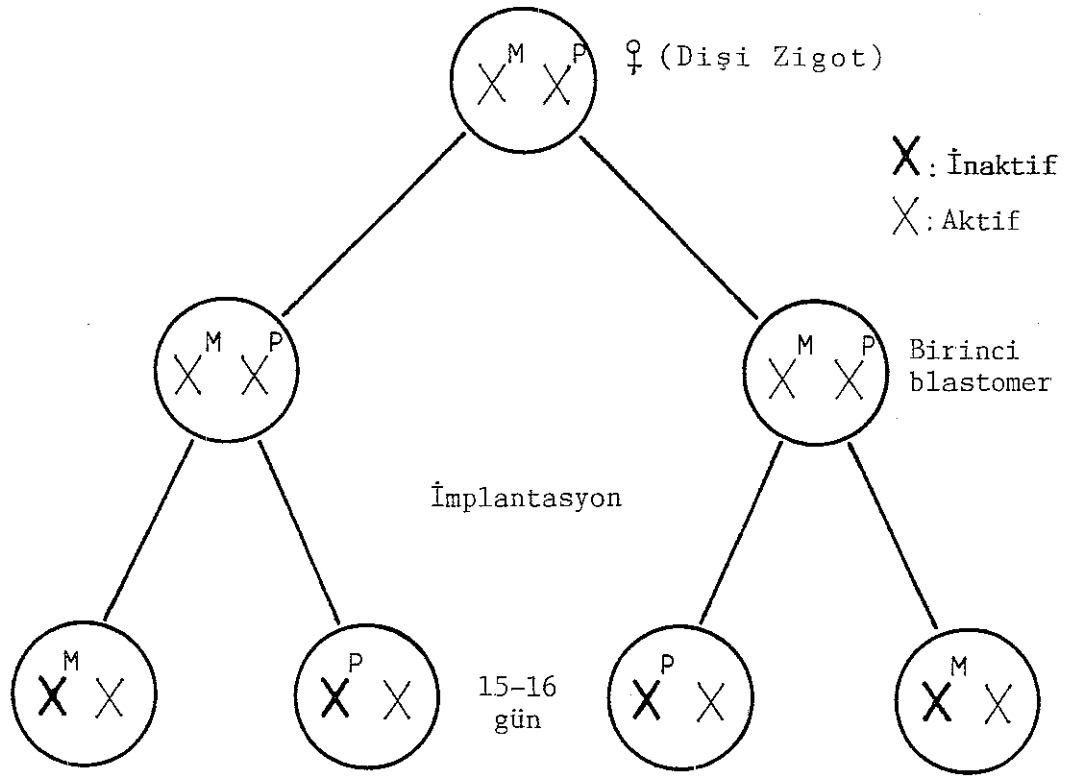
Sex kromatininin bulunması ile iki X kromozomu arasındaki farklılık ortaya çıkmış ve 1957'de Taylor, H<sup>3</sup> Timidin işaretini kullanarak X kromozomları arasındaki farkı göstermeye çalışmıştır. Chinese hamster hücrelerini işaretli ortamda üretilen kromozomlarını incelediğinde X kromozomundan birinin tüm otozomal kromozomlarla birlikte işaretlendiğini diğerinin ise daha geç işaretlendiğini gözlemiştir<sup>3</sup>. Böylece X kromozomlarından birinin DNA sentezine geç başladığı ortaya çıkmıştır. Ohno isimli araştırmacı geç replike olan X kromozomunun kondanse bir yapıda olduğunu ve genetik olarak inaktif olduğunu yaptığı deneysel çalışmalarla göstermiştir<sup>4</sup>. Daha sonra konu ile ilgili olarak Mary Lyon kendi adıyla anılan Lyon Hipotezini ileri sürmüştür<sup>5</sup>.

Lyon Hipotezine göre,

- Dişide bulunan iki X kromozomundan birisi aktif diğeri inaktiftir. İnaktif X kromozomu sex kromatinini oluşturur.

- X kromozomlarından birinin inaktivasyonu, embriyonel hayatın 15-16. günlerinde tamamlanır.

- İnaktif X kromozomunun hücrelere dağılışı gelişigüzelidir. Yani aynı canlıda bir hücrede anneden gelen X ( $X_m$ ), diğer hücrede ise babadan gelen X ( $X_p$ ) inaktif konumda olabilir.



Şekil 1: Lyon Hipotezi Şeması.

Bu hipotezden sonra sitogenetik ve genetik çalışmalarla Lyon Hipotezi ispat edilmeye çalışılmıştır. At ve eşeğin

çiftleşmesi sonucu oluşan katırda, otoradyografik çalışmalarla bu olay gösterilmiştir. At ve eşeğin X kromozomu morfolojik olarak birbirinden farklı olduğundan katırda birbirinden farklı iki X kromozomu bulunmuştur. Kromozomlar  $H^3$  timidin ile işaretlendiğinde hücrelerin bir kısmında maternal orijinli X, diğer bir kısmında ise paternal orijinli X kromozomları işaret almıştır<sup>6</sup>.

Beutler'in Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi için heterozigot kadınlarla yaptığı biyokimyasal çalışmalarla Lyon Hipotezi desteklenmiştir. Heterozigot bir kadının eritrositleri histokimyasal metodlarla boyandığında, G-6-P pozitif ve G-6-P negatif olmak üzere iki tip hücre popülasyonu elde edilmiştir. Hücrelerden bazılarında mutant geni taşıyan X kromozomu inaktif olduğundan ve bu hücreler enzim eksikliği göstermediğinden boyanmış, oysa diğer bir grup hücrede normal geni taşıyan X kromozomu inaktif olduğundan ve enzim eksikliği gösterdiğinden boyanmamıştır<sup>6</sup>.

Beutler'in G6PD enzimi ile yaptığı çalışmalarını takiben doku kültürlerinde fibroblast klonlarından yararlanılarak bir araştırma yapılmıştır. Zenci popülasyonunda polimorfik olan G6PD geninin GdA ve GdB şeklinde iki tip alleli bulunmaktadır. Normal bireylerde her iki varyantta bulunurken heterozigot dişilerin fibroblast kültürlerinden klonlanmış hücrelerde ya GdA yada GdB varyantı gözlenmiştir. Yapılan

incelemeler sonucunda bazı hücre klonları normal aktivite gösterirken diğerleri daha az aktivite göstermiştir<sup>7</sup>. Yine GdA ve GdB varyantları için heterozigot bir dişide uterusu leiomyomatada yapılan diğer bir çalışmada normal uterus dokusu her iki tipide gösterirken tümör dokusu iki mutant tipten yalnızca birini göstermektedir. Araştırmacılar bu bulguları üç koşulun birlikte bulunması ile açıklamışlardır. 1) Yalnızca bir allel aktiftir. 2) Tümör tek bir hücre ile başlatılır ve buda tek bir hücre klonunu gösterir. 3) Tümör gelişimi süresince tek bir X kromozomu ya aktif yada inaktif kalır. Böylece bu deney yalnızca Lyon hipotezini desteklemekle kalmamış aynı zamanda tek bir hücreden tümör oluşumunu saptamak için yardımcı olmuştur<sup>7</sup>.

Daha sonra X kromozomu üzerinde yer alan mutant veya farklı tip formları taşıyan bireylerde X inaktivasyonu ile ilgili birçok araştırma yapılmış ve Lyon hipotezini destekleyen bulgular yayınlanmıştır<sup>8-10</sup>.

Zigot oluştuktan sonra blastosit evresinde 16.günde seks kromatin belirgin hale gelmektedir.Buda X inaktivasyonunun 16.günde başladığını göstermektedir. Zaten fonksiyonel inaktivasyonun başlangıçta olması olası değildir. Eğer bir X,zigot oluştuğunda en başta inaktif olsaydı normal bir erkek ile Klinefelter'li erkeğin fenotipi ve normal bir dişi ile Turner sendromlu bir dişinin fenotipi

arasındaki farklılık, inaktivasyonun dışında açıklamaları gerektirirdi. Halbuki erkek germ hücrelerindeki gibi dişide oositte inaktivasyonun olmayışı fenotipik farklılığın izahı için yeterli olmaktadır<sup>7,11</sup>.

X kromozomunun inaktivasyonunda, önce seks kromatininin oluştuğu, daha sonra X kromozomunun kondanse olarak inaktif forma geçtiği düşünülmekteydi. Ancak son yapılan çalışmalarla, önce inaktivasyonun oluştuğu, bunu takiben seks kromatininin meydana geldiği gösterilmiştir<sup>7</sup>.

Cattanach 1975 yılında farelerle yaptığı bir çalışmada, X kromozomunun üzerinde lokalize olmuş bir genin X inaktivasyonunu kontrol ettiğini ileri sürmüştür. Xce adını verdiği bu genin mutantının (Ohv) yerleştiği X kromozomunun ise inaktif olmadığını göstermiştir<sup>12</sup>.

X kromozomunun inaktivasyonun gelişigüzel olduğu kabul edilmektedir. Ancak X'e bağlı resesif hastalıklarda, örneğin Duchenne Muscular Distrofi'de, heterozigot dişi bireylerde normal alleli taşıyan X kromozomunun inaktivasyonda tercih edildiği ileri sürülmektedir<sup>13</sup>. Aynı şekilde X'in uzun kolu izokromozomu, ring kromozom, uzun kolda delesyon, p ve q kollarının tekrarı ile oluşan disentrik kromozom gibi normal olmayan yapıları içeren X kromozomunun genellikle inaktif olduğu gösterilmiştir<sup>14-16</sup>. Daha sonra bu özgül inaktivasyonu açıklamak üzere seçi-

lim ve kalıtsallığı ileri süren iki hipotezin, X kromozomuna ilişkin translokasyonlarda doğru olmadığı bildirilmiştir. X'in bir otozomal kromozomla dengeli resiprokal translokasyonunda çoğunlukla transloke olmayan normal X kromozomu inaktif olmaktadır<sup>17</sup>. Örneğin dengeli X/21 translokasyonuna sahip bir kadında, geç replike olduğu saptanan normal X kromozomu, kızında ise (iki normal X'in dışında büyük bir transloke olmuş kromozom bulunur) translokasyon kromozomu ve normal X kromozomlarından biri inaktif bulunmuştur. X kromozomunun inaktivasyona uğramasının nedeni şöyle açıklanmaktadır. X kromozomunun uzun kolunun proksimalinde inaktivasyon merkezi bulunmaktadır. Eğer bu merkez anormal X kromozomunda bulunursa, bu kromozom inaktif olmaktadır<sup>18,19</sup>.

#### Inaktivasyon için moleküler modeller

Inaktivasyonun, yani farklılaşmanın nasıl meydana geldiğini açıklamak üzere moleküler modeller ileri sürülmüştür. 1963 yılında Grumbach ve arkadaşları zigotta her iki X'inde inaktif olduğunu embriyonik gelişme sırasında X'lerden birinin aktive olduğunu diğerinin ise inaktif formda kaldığını ileri sürmüşlerdir. Aktivasyonun nasıl oluştuğunu açıklamak üzere geliştirdikleri model, epizomal faktör modelidir. Epizomal faktör, X kromozomu üzerinde özgül bir lokusa bağlanmakta, böylece her iki X'de aktivasyon meydana gelmektedir. Bir sonraki jenerasyonda inakti-

vasyonun meydana gelmesi için oogenez yada spermatogenez sırasında aktif X'den epizomun ayrıldığı kabul edilmektedir<sup>12</sup>.

1969 yılında Ohno inaktivasyon için DNA ya bağlı özgül proteinler modelini ileri sürmüştür. Zigotta inaktif olan X kromozomlarından birisinin inaktivasyon merkezine non-histon proteinler bağlanarak, onu aktif hale getirmektedir<sup>20</sup>.

Bir başka modelde ise X kromozomunun inaktivasyon merkezinde metilasyon olduktan sonra, X kromozomunun aktif hale geçtiği kabul edilmektedir. Bu aktivasyonda 2 protein sentezlenir. 1.proteinin görevi metile olmamış inaktivasyon merkezinin metilasyonunu uygun hale getirmektedir. Bunun başlangıcı çok yavaştır. 2.proteinin görevi ise X kromozomunda herhangi bir noktada metile olmamış inaktivasyon merkezini inaktive ve kondanse etmektir<sup>21</sup>. Bugün bu modeller zigotta her iki X'inde inaktif olduğunu ileri sürdükleri için Lyon hipotezine ters düşmekte ve X kromozomuna bağlanan herhangi bir yapının aktivasyona yol açtığını savunduklarından geçerliliğini yitirmektedir.

X inaktivasyonunun moleküler yapısı ile ilgili olarak başka bir çalışmada Cook isimli araştırmacı, genin farklılaşmasında bir differansiyatörün (farklılaştırıcı) rol oynadığını ileri sürmüştür. Differansiyatör bir protein olup

hedef gen üzerinde etkili olabilmekte ve bu genin replikasyonu sırasında yeterli miktarda ise farklılaşmaya neden olmaktadır. Bu protein iki X kromozomundan herhangi birindeki bütün genler için belirli bir seviyede olduğu zaman, ya aktivatör rolü oynayarak operatörle birleşip aktivasyona neden olmakta yada repressör olarak operatörle birleşip inaktivasyonu gerçekleştirmektedir<sup>22</sup>.

1983 yılında Riggs ve Gartler'in geliştirdikleri teoriye göre, zigotta hem maternal, hem paternal yani her iki X kromozomunda aktiftir. Embriyonik dönemin erken blastosit evresinde trofoektoderimde ve blastosit evresinin ortalarına doğru primitif endoderimde non-random olarak paternal X kromozomu inaktif hale gelmektedir. Blastosit evresinin sonuna doğru iç hücre kütesinde hem paternal hem maternal X kromozomlarında random inaktivasyon oluşmaktadır. Böylece somatik hücrelerde ya paternal yada maternal X kromozomu inaktif konumdadır. Oogonium'da ise random inaktive X kromozomu mayoz sırasında reaktive olmakta ve oositlerde her iki X kromozomunda aktif hale gelmektedir. Böylece mayoz bölünme tamamlandıktan sonra oluşan oosit II'de bulunan tek X kromozomu daima aktif olmaktadır. Riggs ve Gartler, bu teorilerinin ışığı altında X inaktivasyonunun moleküler izahını ise şöyle yapmaktadır: Erken embriyonik dönemde X kromozomu-

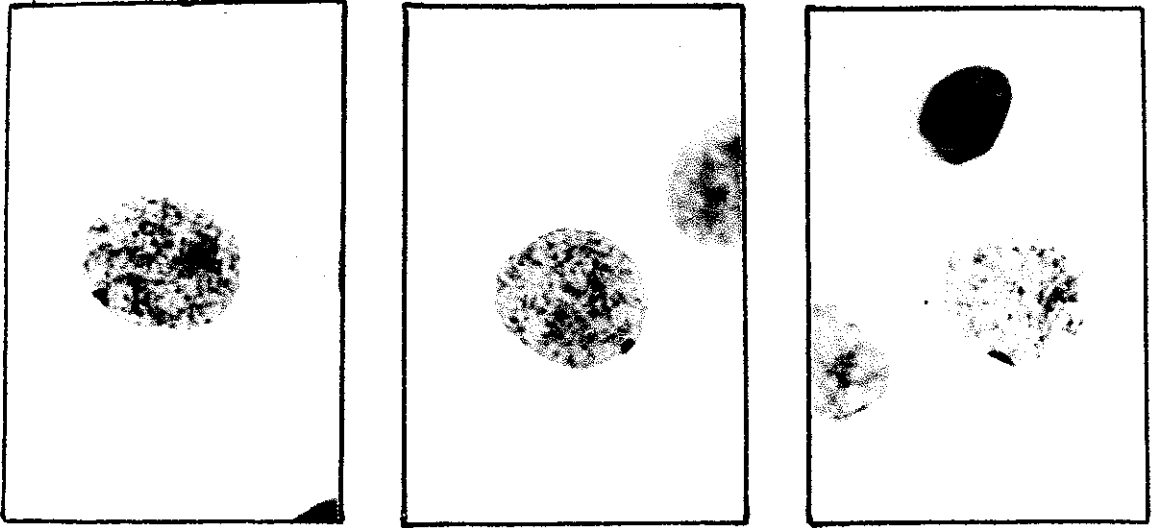


na entegre olan bir epizom veya bir non-histon protein, veya metilasyon olayı bulunduğu X kromozomunu inaktif hale getirmektedir. Bu model, bugün X inaktivasyonunda geçerli model olarak kabul edilmektedir<sup>23</sup>.

#### Seks Kromatininin Yapısı:

Embriyonel hayatın 16.gününde trofoblast hücrelerinde iki X kromozomundan birinin inaktivasyonu ile oluşan seks kromatin, insanda en kolay ve basit olarak yanak mukozasındaki epitel hücrelerinde görülür. İnaktif X kromozomunun kondansasyonu sonucu oluşan seks kromatininin özellikleri şöyle özetlenmektedir:

- 0.7-1.4 $\mu$  büyüklükte,
  - Genellikle çekirdek zarının iç yüzüne yapışık,
  - Bir yüzü düz, çekirdek içine bakan yüzü ise dış bükey, yarım küre veya üçgen biçiminde sivri (Şekil 2),
  - Genetik olarak inaktif,
  - DNA yapısında ve DNA boyları ile boyanmaktadır.
- Dişi bireylerde, seks kromatin sayısı = X kromozom sayısı-1 şeklinde formüle edilmektedir<sup>24</sup>.



Şekil 2: Sağlıklı Dişi Bebeklerin İnterfaz Çekirdeğinde Rastlanılan Seks Kromatin Tipleri.

Seks Kromatininin Oranı:

Normal kadınların yanak mukozasından elde edilen preparatlarda hücrelerin % 20-40 ında seks kromatin elde edilirken normal erkekte bu değer % 0 dır. Ancak % 0 oranından sapmalar bildirilmişse de bu sex kromatin pozitif bir bulgu değil, boya artıklarının seks kromatin gibi değerlendirilmesi sonucu olabilir. Seks kromatin, primer oosit yani mayoz bölünmesini tamamlamamış hücreler hariç

her dişi hücrelerinde görülürse de, değişik doku hücrelerinde de değişik oranda bulunur. Yanak mukozasında % 20-40 arasında bulunurken, sinir hücrelerinde bu oran % 95'e ulaşır<sup>6,7,25</sup>. Vagina epitel hücrelerinde bu oran % 23.9 olup 1 haftalık periyotta oranda % 1-3 sapmalar olabilir<sup>26</sup>. Dişide seks kromatin sıklığının % 100 olmayışının nedeni hücrenin hayat siklusu ile ilişkili olmasındandır<sup>7</sup>.

Normal dişide insidansın normal değerlerden sapması yani yanak mukozası örneğinde seks kromatin oranının % 10'un altına inmesi yada % 40'ın üstüne çıkması sayısal kromozom düzensizlikleri ile ilgili olabilmektedir<sup>25</sup>. Normal sınırların değişmesinde ilk akla gelen seks kromozom anomalisi tipi mozaisizmdir.(Örnek 1; 46,XX/45,XO. Seks kromatin yüzdesi normal sınırların altında, örnek 2, 46,XX/47,XXX. Seks kromatin yüzdesi normal sınırların üzerinde).

Seks kromatin insidansının yaş ile de büyük ilgisi olduğu saptanmıştır. Yeni doğanlarda ilk 24 saatte % 4'e kadar düşmekte, ilk 10 saatte hiç görülmeyebilmekte, yaşlı kadınlarda da normal sınırların altına düşmektedir. Ayrıca normal kadınlarda seks kromatin insidansında sapmalar hamilelikte, doğum sonrasında ve menstural döngüyü takiben görülmektedir<sup>26-31</sup>.

#### Seks Kromatininin Büyüklüğü:

Seks kromatininin büyüklüğü inaktif X kromozomunun yapısal düzensizliğine bağlı olarak değişkenlik göstermekte-

dir. X kromozomunun kısa veya uzun kolunda bir delesyon ring kromozom yada kısa kolda izokromozom söz konusu ise seks kromatininin yapısı normalden küçük, X kromozomunun uzun kolunda bir izokromozom veya disentrik X kromozomu düzenlenmelerinde seks kromatin normalden büyük olmaktadır<sup>25</sup>.

Seks Kromatin ve X Kromozomunun Sayısına Bağlı  
Düzensizlikler:

X'e bağlı sayısal seks kromozom düzensizlikleri bir veya birden çok kromozomun artması veya azalması şeklinde olan aneuploidik özellik taşımaktadır. Bu aneuploidinin nedeni, mayoz hücre bölünmesinin 1.veya 2. evresinde kromozomların ayrılabilmesi (non-disjunction) ve anafazda gecikme (anafaz lag) sonucu oluşan seks hücrelerinin birleşmesi ve zigotta sayısal kromozom düzensizliklerinin ortaya çıkmasıdır. Non-disjunction olayı 1916 da Drosophila üzerinde yaptığı çalışmalarla Bridges tarafından ileri sürüldü. Tam nedeni bilinmeyen non-disjunction olayı, hücre bölünmesi sırasında kromozomların ayrılmasındaki hata sonucu oluşmaktadır. Non-disjunction mitoz bölünmede de görülmekte fakat en sık mayotik bölünme sırasında ortaya çıkmaktadır. Mayotik bölünme sırasında iki ayrı hücreye gitmesi gereken bir kromozom çiftinin her iki üyesi birbirinden ayrılmadan bir hücreye gitmektedir. Sonuçta gametlerden birinde adı geçen kromozomdan normalde bir tane olması gerekirken iki tane diğerinde ise hiç bulunmamaktadır. Aynı kromozomdan iki

adet içeren gamet, karşı cinsten normal bir gametle birleşince meydana gelen zigotta aynı kromozomdan üç tane bulunan "trizomik hücreler" oluşmaktadır. Diğer tarafta bu kromozomu hiç taşımayan gamet, normal gametle birleşince zigotta iki yerine bir tane kromozom bulunan "monozomik hücreler" meydana gelmektedir. Yine tetrazomik ve pentazomik hücrelerde aynı mekanizma ile oluşmaktadır. Turner (XO) sendromu, Klinefelter sendromu (XXY), Triple X sendromu ve Polizomi X sendromları belirli sıklıkta gözlenen ve non-disjunction mekanizması ile oluşan X'e bağlı seks kromozom bozukluklarını oluşturmaktadır<sup>6,7</sup>.

Normal dişi bir bireyde hiç seks kromatin görülemediği (seks kromatin - ) Turner sendromunun göstergesidir. 1938 yılında klinik olarak Turner tarafından tanımlanmış daha sonra dişi bireyin karyotipinin 45,XO olduğu saptanmıştır<sup>6,7</sup>. Karyotipte gözlenen X kromozomu aktif X kromozomu olduğundan ve seks kromatinini oluşturan X kromozomu bulunmadığından seks kromatin negatiftir<sup>21</sup>. Turner sendromunun klinik bulguları boy kısalığı, fibröz band şeklinde gonadlar, boyunda yelelenme, seksüel gelişme geriliği, meme uçları arasında geniş mesafe, göğüs kafesinde yassı konum, EEG'de değişiklikler ve primer amenore olarak belirtilmektedir. Ayrıca 45,XO karyotipli bir dişide troidizm, hipertansiyon, ve diabetes mellitus gibi hastalıklarla yakın ilişki mevcuttur<sup>32-34</sup>. Genellikle zeka seviyesi nor-

malin altında olan agresif davranışlı bireylerde 45,XO karyotiplere rastlama olasılığı normal bireylere oranla daha yüksektir. Turner sendromu için ortalama görülme sıklığı 1/5000 dir<sup>7,35</sup>.

Bir dişi bireyin yanak epitel hücrelerinde iki seks kromatin yapı gözleendiğinde bu dişide normalde 2 tane olması beklenen X kromozomundan 3 tane olduğu belirlenir. Triple X sendromu olarak adlandırılan bu seks kromozom anomalisinde karyotip 47,XXX olmaktadır. Triple X sendromunun genel popülasyonda ortalama görülme sıklığı 1/1000 dir<sup>35-37</sup>. Triple X sendromunun klinik bulguları non-spesifiktir. Çoğu Triple X sendromlu kadınların gelişimi normal olup, çocuk sahibi olabilirler. Bunun yanında menstural düzensizlik ve infertilitenin saptandığı Triple X sendromlu dişi bireyler de gözlenmektedir. Ancak genel popülasyonla karşılaştırıldığında zeka geriliği, epilepsisi veya agresif davranışları olan dişi bireylerde bu sendromun görülme sıklığı daha yüksektir<sup>38,39</sup>. EEG'de düzensizlikler XXX sendromunda sıklıkla tarif edilmektedir<sup>7</sup>.

Bazı dişi bireylerde aynı epitel hücrelerinde 3 tane seks kromatini bulunmaktadır. Bu bireylerin karyotipi 48,XXXX şeklindedir. XXXX sendromunun klinik bulguları, orta yüz hattında gelişme geriliği, zeka geriliği, hafif seyreden hipertelorizm, küçük çene, seyrek olarak 5.parmakta klinodaktili, radio-ulnar sinostosis, dar omuz ke-

meri, amenore'nin çeşitli tipleri, adet düzensizliği, konuşma ve davranış bozukluklarıdır<sup>40-42</sup>.

Normalde erkekte seks kromatininin negatif olması beklenirken ilk kez 1942 yılında Klinefelter ve arkadaşları tarafından klinik olarak tarif edilen Klinefelter sendromunda bir seks kromatin bulunmuştur. Klinefelter sendromlu erkek bireyin karyotipi 47,XXY şeklindedir<sup>43</sup>. Klinefelter sendromunun klinik tablosunda, fazla X kromozomu ile ilişkili olarak IQ değerlerinde azalma gözlenebilir. Bu sendrom için tipik bulgular, uzun boy, çocukluk çağında gelişme geriliği, pubertede sekonder seks karakterlerinin gelişmemesi, küçük testis, jinekomasti, spermatogenezis ve infertilite'dir. EEG değişiklikleri olan, zeka seviyesi normalin altında, agresif davranışlı bireyler arasında 47,XXY karyotipli bireylerin görülme sıklığının yüksek olduğuna ilişkin yayınlar mevcuttur<sup>44,45</sup>. Genel popülasyonda görülme sıklığı 1/500 dir<sup>35</sup>. Ayrıca yapılan etiyolojik bir çalışmada paternal yaşın Klinefelter sendromu için risk taşıdığı vurgulanmaktadır<sup>46</sup>.

Bir erkeğin yanak epitel hücrelerinde iki tane seks kromatini gözlenirse bu bireyde 2 tane fazla X kromozomu bulunmaktadır ve karyotipi 48,XXXY dir. XXXY sendromunun klinik bulguları, Ductus arteriosus, taurodontizm, dişlerin mine tabakasında kalınlaşma, hipertelorizm, ensede düşük saç çizgisi, büyük veya iki parçalı küçük dil,

elde düz simian çizgisi, kas ve eklemlerde gevşeklik, zeka geriliği, sclerotik süturlarda kaynaşma bozukluğu, kısa burun, düşük burun köprüsü, sivri ve uzun alt çene, dış kulakta anomali, kalın sternum, dirsek hareketlerinde kısıtlanma, radioulnar sinostosis, epifizel displazi, küçük penis ve küçük testis, kriptorşidizm ve hipoplastik scrotum'dur<sup>40,47,48</sup>. Nadir görülen bir sendrom ise tetra X-Y sendromudur. Karyotip ise 49,XXXXY şeklinde görülmektedir. XXXXY sendromunda klinik bulgular multiple deformite, gelişme ve zeka geriliği, kemik deformitesi ile ilişkili dismorfik özellikler, küçük penis ve inmemiş testis, dış genital organlarda gelişme geriliği, dental ve oral defektler, iki parçalı dil, dişlerin mine tabakasında kalınlaşma, antimongoloid palpebral slant ve kafa anomalileridir<sup>40,49</sup>.

X kromozomundaki sayısal artışların klinik bulgular ve zeka geriliği ile ilişkisi dikkate alındığında seks kromatine dayalı taramaların ön tanıda büyük yararları olmaktadır. Genel popülasyonda yeni doğan seks kromatin çalışmaları 1957'li yıllarda başlamıştır. Moore 3715 yenidoğan bireyde seks kromatin metoduyla yaptığı çalışmada 1911 erkek bebeğin 5'inde seks kromatin pozitif hücreler gözlemiş (% 0.26), 1804 dişi bebeğin hepsinde her hücrede bir tane seks kromatini saptamıştır<sup>50</sup>.

Yenidoğan bebeklerde sitogenetik analizle destek-



li seks kromatin çalışmaları ilk kez 1961 yılında Maclean ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. 6000 yenidoğan bebeği içeren bu çalışmada 3000 erkek bebekten 9'u seks kromatin +, 3000 dişi bebekten 4'ünde aynı çekirdekte iki tane seks kromatini bulunmuş, 1 dişide ise hiç seks kromatin gözlenmemiştir. 9 erkekten ikisinde kan kültürü, 5'inde deri kültürü yapılmış ve sonuçta 3 erkek bebekte XXY, 4'ünde XY/XXY mozaizizm saptanmıştır. Dişi bebeklerden 1'inde kan kültürü, 3'ünde deri kültürü yapılmış sonuçta birinde XO diğer üçünde XXX karyotipi elde edilmiştir<sup>51</sup>.

Yine 3367 yenidoğanla yapılan başka bir çalışmada seks kromatin + iki erkek birey, seks kromatin - bir dişi birey ve aynı çekirdekte iki tane seks kromatin olan iki dişi birey gözlenmiştir. Bu bireylerden kromozom analizi yapıldığında seks kromatini 2 tane olan dişilerden birinin mozaik olduğu saptanmıştır<sup>52</sup>.

Populasyon çalışmalarında örnek sayısı artırıldıkça insidansın arttığı gözlenmiştir. Maclean ve arkadaşları 10.725 erkek ve 10.000 dişi yenidoğanda yaptıkları çalışmalarda seks kromatin pozitif erkek bebek oranını % 0.19, seks kromatin negatif dişi bebek oranını % 0.04 ve iki seks kromatini taşıyan dişi bebek oranını da % 0.12 olarak bulmuşlardır<sup>53</sup>.

1967 yılında Londra'da yenidoğanlarda yapılan seks kromatin taraması sonucunda toplam 9688 bebekten 4754'ü kız bebek olup 2 kız bebekte aynı hücre çekirdeğinde 2 adet seks kromatini bulunmuş, 5 kız bebekte hiç seks kromatin gözlenmemiştir. Seks kromatin - olan kız bebeklerden birinde testiküler feminizasyon, bir diğerinde de lipoid adrenal hiperdisplazi klinik bulguları nedeniyle bu iki dişide 46,XY karyotipi düşünülmüştür. 4934 erkek bebeğin 1 tanesinde aynı hücre çekirdeğinde iki adet seks kromatini saptanmış, 11 erkek bebekte ise birer seks kromatini bulunmuştur<sup>54</sup>.

Meksika'da yapılan bir diğer çalışmada ise 3000 yenidoğanda seks kromatin taraması yapılmış, 1484 erkek bebeğin 4'ü (% 0.26) seks kromatin + , 1516 dişi bebeğin 3'ü (% 0.19) ise seks kromatin - bulunmuştur<sup>55</sup>.

1973 yılında Dougherty ve arkadaşları, 8575 yenidoğanda yaptıkları çalışmada 4 XXY, 1 XY/XXY, 3 XXX, 1 XO/XY, 1 XX/XY karyotipleri ile bunlara uygun seks kromatin bulgularını ayrıca aynı çalışmada 1 pseudohermafroditizm ve 1 gerçek hermafroditizmi bildirmişlerdir<sup>56</sup>.

1974 yılında Jacobs ve arkadaşları 11.680 yenidoğan bebeği içeren çalışmalarında her bebekte seks kromatin tayinini ve kromozom analizini kontrollu bir şekilde yapmışlardır. 7849 erkek bebekte seks kromozom anomalisini % 0.30 oranında, 3831 dişi bebekte seks kromozom anoma-

lisini ise % 0.18 oranında saptamışlardır<sup>57</sup>.

Petersen ve arkadaşları 1000 yenidoğanla yaptıkları çalışmada hiçbir düzensizlik gözlememişler ve seks kromatini normal dişiler için + normal erkekler için - bulmuşlardır<sup>58</sup>.

Birey sayısı yönünden oldukça geniş bir dağılım gösteren değişik ülkelerdeki seks kromatin çalışmaları ülkemizde Saklaullah tarafından 1969 yılında başlatılmıştır. Saklaullah yenidoğanlarda günlere bağımlı olarak seks kromatin sıklığını saptamak amacıyla yaptığı bu çalışmada 81 yenidoğan ve kontrol grubu olarak 41 erişkin dişi bireyi ele almış ve yenidoğanda ilk üç gün için seks kromatin yüzdesini % 16.8 olarak bulmuştur<sup>59</sup>.

Yenidoğanlarla ilgili seks kromatin çalışmasının ikincisi 1976 yılında yapılmıştır. 250 bebeğin seks kromatin preparatları incelenmiş ve bir bebekte aynı yanak epitel hücrelerinde 2 tane seks kromatin gözlenmiştir<sup>60</sup>.

## M A T E R Y A L V E M E T O D

Ocak 1989 - Ocak 1990 tarihleri arasında Antalya Devlet Hastanesi, Antalya Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi ve Antalya Tıp Fakültesi Hastanesi doğum servislerinde, yeni doğan 3090 bebeğin yanak mukozasındaki epitel hücrelerden yayma yapıldı. Örneklerin alımında bebeklerin doğum şekli dikkate alınmaksızın bebek yaşınının 10-48 saatlik olmasına özen gösterildi.

Araştırmada her bebek için bir form düzenlenerek kullanıldı. İstatistiksel sonuçlara yönelik hazırlanan anket formu bebeğin 1. derece yakını ile doğum yapan anne ve bebeğe ait dosyadan alınan bilgilerle dolduruldu.

Bebeğin her iki yanağından ayrı ayrı tahta spatülle iç yüzünün hafif kazınması ile alınan örnekler, hemen lam üzerine yayılarak boyama işlemine tabi tutuldu. Örneklerin alımından önce bebeğin beslenmemiş olmasına ve özellikle ağzınının temizliğine dikkat edildi.

A) SEKS KROMATIN BOYAMA YÖNTEMİ:

Bu araştırmada Guard ve Fuelgen metodları modifiye edilerek uygulandı <sup>61,62</sup>. Boyama tekniğini uygulamak için Schiff, Asit Sülfat ve Fast Green solusyonları önceden hazırlandı. Bu solusyonlar özellikle Schiff pembe rengini yitirdiğinde (yaklaşık 30 günde bir) yenilendi.

1- SCHIFF solüsyonu:

Bazik fuksin .....1 gr (Merck)  
Aktif kömür .....1 gr (Merck)  
Potasyum hidrosülfat.....2 gr (Merck)  
2N HCL.....5 ml (Merck)  
Bidistile su.....200 ml

Hazırlanışı:

200 ml bidistile su kaynatıldı. Kabarcıkların durulması beklendi. 1 gr bazik fuksin ilave edilerek cam bagetle karıştırıldı. Solüsyonun sıcaklığı 50°C ye geldiğinde "40 Whatman" süzgeç kağıdından geçirildi. 2 gr potasyum hidrosülfat ve 2N HCL ilave edildikten sonra en az 8 saat buzdolabında bekletildi. 1 gr aktif kömür ilave edilip çalkalandı. Berraklık elde edilene kadar filtre kağıdından süzüldü.

2- ASİT SÜLFAT solüsyonu:

1N HCL.....12 ml (Merck)  
% 10 Potasyum hidrosülfat.....12 ml (Merck)  
Bidistile su.....240 ml

Hazırlanışı

10 gr potasyum hidrosülfat ( $KH_2SO_4$ ) 100 cc bidistile suda çözüldü. Bu stok solüsyondan 12 cc alınıp 240 ml bidistile suya ilave edildi. Üzerine 12 ml 1N HCL eklenerek karıştırıldı.

3- FAST GREEN solüsyonu:

Fast Green .....10 mg (Sigma)  
Etil Alkol .....100 ml (Tekel)

Hazırlanışı:

10 mg tartılan fast green % 95 lik etil alkol'de çözüldü ve cam bağıtle karıştırıldı.

Boyama Tekniğinin Uygulanması:

- Preparatlar su banyosunda 57-60°C de 1N HCL içerisinde 10 dakika bekletildi.
- Çıkarılan preparatlar musluk suyunda çalkalandı.
- Schiff boyasında 30 dakika tutuldu.
- Asit sülfat solüsyonunda 5 dakika bekletildi.
- Musluk suyunda 5 dakika bekletildi.

- Fast green solüsyonunda 30 saniye çalkalandı.
- Saklamak amacıyla preparatlar 10 dakika Xylol'de tutularak Kanada balsamı (Entellan, Merck) ile kapatıldı.

Önce 30 normal dişi bireyde, seks kromatin ortalamasını bulmak için her birinden yukardaki işlemler uygulanıp 100 hücre sayılarak laboratuvar ortalaması saptandı. Hergün kurumlardan toplanan preparatlar boyandıktan sonra ışık mikroskopunda (Nikon) 100 X immersion yağı altında incelendi. Kullanılan boya yöntemine göre sitoplazma yeşil, çekirdek mor renkte boyandığından, inceleme esnasında iyi kontrast görünüm elde edildi. Her preparattan dinlenme evresinde 100 hücre sayıldı.

Laboratuvar ortalamamızın normal sınırları dışında kalan şüpheli veya preparatları kötü olup tanıda zorluk çekilen 20 bireyde kromozom analizi, Moorhead ve arkadaşlarının periferik kan kültürü yöntemiyle yapıldı <sup>63</sup>. Aynı zamanda saptanan seks kromatin oranlarına kontrol etmek amacıyla ikinci kez yanak epitel hücrelerinden örnekler alındı.

B) PERİFERAL KAN KÜLTÜR YÖNTEMİ

1- KÜLTÜR ortamı:

(Ham) F10 (Hepes tamponlu ve L glutaminli)...	50 ml	(Gibco)
% 25 Fetal Calf Serum.....	12.5 ml	(Gibco)
% 3.4 Phytohemagglutinin.....	1.7 ml	(Gibco)
% 0.1 Penicillin.....	0.05 ml	(Sigma)
% 0.1 Streptomisin.....	0.05 ml	(Sigma)

2- KOLÇİSİN solüsyonu:

Bir kolçisin (colcemide CIBA) tableti, 10 ml bidistile suda çözüldü. Elde edilen bu stoktan 1 ml alınıp 9 ml bidistile su ile tamamlandı.

3- HİPOTONİK solüsyonu:

0.075 M KCL (Merck) 0.5592 gr tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü.

4- FİKSATİF solüsyonu:

3 kısım methanol (Merck) : 1 kısım glasial asetik asit(Merck) kullanmadan hemen önce taze hazırlandı.

5- TRİPSİN solüsyonu:

0.1 gr Tripsin (Difco) tartılıp 100 ml tripsin tamponunda çözüldü.

Tripsin tamponu: 4,5 gr NaCl (Merck) ve 6 tablet pH 7 fosfat tamponu tableti (Russell) 500 cc bidistile su için-



de çözüldü.

6- GİEMSA BOYA solüsyonu:

4 ml Giemsa (Merck)

96 ml Söransan tamponu (pH 6.8)

Söransan tamponu:

A- 9.08 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck) 1 lt bidistile su

B-11.88 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck) 1 lt bidistile su

Büyük bir behere önce B solüsyonundan bir miktar konuldu. Sonra pH 6.8'e gelene kadar damla damla A solüsyonundan ilave edilerek stok hazırlandı.

7- Lam temizliği:

Lamlar işlemden en az bir gün önce yıkandı. Önce tek tek sabunla yıkanan lamlar, musluk suyunda iyice çalkalandıktan sonra 30-60 dk. metanol (Delta)'de bekletildi. Metanolde bekleyen lamlar bidistile sudan geçirilerek, bidistile su olan beher içinde buzdolabında saklandı.

Kromozom eldesi yönteminin uygulanması:

5 ml kültür ortamı içeren steril kapaklı (Falcon 15xl) deney tüplerine heparin (Liquemine, Roche) çekilmiş enjektörle bebekten alınan kandan 0.3 ml (6 damla) konularak ekim yapıldı. Tüpler 72 saat  $37^\circ\text{C}$  etüvde (Dedeoğlu) üremeye bırakılırken tüplerin ağzı parafilm ile sarılarak hava ile teması önlendi. 70 saat sonra her tüpe final konsantrasyonu 0.1  $\mu\text{gr/ml}$  olacak şekilde 0.05 ml

kolçisin ilave edildi. 2 saat sonra 37°C etüvde bekletilen ağzı steril kapaklı deney tüplerindeki kan örnekleri dip kısmı konik dereceli santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpler dengelendikten sonra 7 dakika 1000 rpm'de santrifüj (Hettich) edildi.

- Supernatan atıldı. Çökelti pastör pipeti ile karıştırıldı. Tüplere 7 şer ml hipotonik solüsyonu ilave edildi.

- 7 dak.etüvde bekletildi,7 dak.santrifüj edildi.

- Supernatan atıldı. Çökelti pastör pipeti ile karıştırıldı. Pipet hipotonikte yıkandıktan sonra 1.5 ml fiksatif çökelti üzerine birden ilave edildi. İyice pipetaj yapıldı ve üzerine 3 ml fiksatif daha ilave edildi.

- 1000 rpm'de 5-7 dakika santrifüj edildi.

- Fiksatif ile yıkama işlemi 3 kez tekrarlandıktan sonra çökeltinin miktarına göre çok az fiksatif bırakılarak pipetaj yapıldı.

- Buzdolabından çıkarılarak gazlı bez ile kurulananan temiz lam üzerine nemlendirildikten sonra (hohlama metodu) 45°C lik eğimle bir damla damlatılarak yayıldı. Yayılan preparatlar 37°C lik etüve konarak 3 gün bekletildi.

Bantlama yönteminin uygulanması:

Bantlama için Seabright'in modifiye edilen GTG bantlama tekniği kullanıldı<sup>64</sup>. Preparatlar mikroskop altında metafazın kalitesine göre sıralandıktan sonra 4.preparat 5 saniye tripsinde hafifçe çalkalandı. Akan musluk

suyundan geçirildikten sonra 5-6 dakika giemsa boyası ile boyandı. Tekrar musluk suyundan geçirilerek kurutma kağıdı (Whatman) ile kurutuldu. Preparat mikroskop altında incelenerek tripsin süresinin uygun olup olmadığı kontrol edildi. Tripsin süresi uygun ve bantlar iyi ise, sıra ile 3,2,1 nolu preparatlarla aynı işlem tekrarlandı. Uygun değilse 5 ve 6 nolu preparatlarla ayarlanıp, diğerlerine ondan sonra rutin uygulandı.

#### C) FOTOĞRAFİK İŞLEMLER

Normal ve mozaik triple X sendromu gözlenen olguların seks kromatinleri ve yine mozaik triple X sendromlu olgunun kromozom preparatları incelendi. İyi olan sahaların 100 X objektif ile immersiyon yağı altında, Nikon FX-35 fotoğraf makinesi ile 50 asalık Ilford pan F Fotoğrafları çekildi ve basım işlemleri için Ilford Ilfobrom 3.1P veya 4.1P kontrast kağıt kullanıldı.

#### D) İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Akdeniz Üniversitesi Bilgi İşlem Merkezinde varyans analizi ile F testi (2'den fazla grup olduğu için) yapılarak toplam 3090 olgumuza ait tüm veriler değerlendirilerek, istatistikî karşılaştırmalar yapıldı.

## B U L G U L A R

Ocak 1989 - Ocak 1990 tarihleri arasında, Antalya Devlet Hastanesi, Sosyal Sigortalar Kurumu Hastanesi ve Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde, yenidoğan 3090 bebeğin herbirinden 2 preparat halinde yanak epitel hücrelerinden örnekler alındı. Daha önce laboratuvarımızda rutin olarak uygulanan bu teknik için ortalama değer bilinmesine rağmen yine 30 dışı ortalama değer % 18 olarak saptandı. Her bebeğin herbir preparatından 100'er hücre sayılarak değerler kaydedildi. Şüpheli preparatlarda ise her preparatta en az 200 hücre sayıldı. Sayım yapılırken, aynı gün alınan dişi bir bebek, diğer bebekler için kontrol olarak değerlendirildi. Kalitesiz olan 32 bebeğin preparatlarında inceleme yapılmadı.

3090 bebeğin seks kromatin yüzdelerine göre dağılımı incelendiğinde 1550 bebeğin seks kromatini % 0, 1540 bebeğin ise seks kromatin değerleri % 1-40 arasında saptandı (Tablo 1).

SEKS KROMATIN %	BEBEK SAYISI	
	Sayı	%
0	1550	50.16
1-5	8	0.26
6-10	214	6.93
11-15	502	16.25
16-20	472	15.27
21-25	225	7.28
26-30	87	2.81
31-35	20	0.65
36-40	12	0.39
TOPLAM	3090	100.00

Tablo 1: Ocak 1989 - Ocak 1990 tarihleri arasında doğan 3090 bebeğin seks kromatin yüzdelerine göre dağılımı

Bu bebeklerin fenotipik olarak 1527'sinin cinsiyetinin (% 49.42) dişi ve 1563'ünün (% 50.58) ise erkek olduğu gözlemlendi (Tablo 2).

CİNSİYET	BEBEK SAYISI	
	Sayı	%
KIZ	1527	49.42
ERKEK	1563	50.58
TOPLAM	3090	100.00

Tablo 2: Cinsiyete göre bebek sayısı ve yüzdeleri.

3090 bebeğin seks kromatin bulguları yönünden genel bir değerlendirilmesi yapıldığında, 1527 dişi bebeğin 3'ünde (% 0.19) aynı çekirdekte iki seks kromatin gözlenirken 2'sinde (% 0.13) seks kromatin bulunmadı. 1563 erkek bebeğin 15'inde (% 0.96) yanak epitel hücresi çekirdeğinde seks kromatin saptandı (Tablo 3). Bu sapma gösteren 20 bebek şüpheliler grubunu oluşturdu.

BİR ÇEKİRDEKTEKİ SEKS KROMATİN SAYISI	C İ N S İ Y E T					
	♀		♂		TOPLAM	
	SAYI	%	SAYI	%	SAYI	%
2	3	0.19	-	00.00	3	0.10
1	1522	99.68	15	0.96	1537	49.74
0	2	0.13	1548	99.04	1550	50.16
TOPLAM	1527	100.00	1563	100.00	3090	100.00

Tablo 3: Normal ve şüpheli bebeklerin yanak epitel hücresi çekirdeğindeki seks kromatininin varlığına göre dağılımı.

Mikroskopik inceleme sonucunda seks kromatin olarak normal sekse göre sapma gösteren ve seks kromozom anomalisi düşünülen şüpheli 20 bebeğe ait bulgular tablo 4'de verilmektedir. Buna göre olgu 632 ve 1458 de fenotipik olarak dişi olmalarına rağmen seks kromatin oranı % 0, 1305, 1564 ve 2252 nolu olgularda bazı hücrelerde 2 tane seks kromatin gözlenmiştir. Geriye kalan 15 olguda ise fenotipik görünüşleri erkek olmalarına rağmen düşük oranlarda seks kro-

matin bulunmuştur (Tablo 4).

ŞÜPHELİ OLGU NO	CİNSİYETİ	ÖRN. ALIM. SAATİ	SEKS KROMATİN		SEKS KROMATİN %	ANNE YAŞI	BABA YAŞI
			(+)	(-)			
81	♂	33	(+)		8	20	24
151	♂	13	(+)		4	22	27
363	♂	11	(+)		5	24	24
399	♂	18	(+)		4	38	46
632	♀	19	(-)		0	26	24
810	♂	45	(+)		5	20	23
816	♂	59	(+)		4	24	28
919	♂	32	(+)		8	22	27
1089	♂	33	(+)		4	19	24
1228	♂	36	(+)		7	22	25
1305	♀	19	* (+ +)		* 30-8	18	23
1458	♀	26	(-)		0	31	29
1515	♂	15	(+)		5	25	38
1564	♀	42	* (+ +)		* 22-6	27	25
1711	♂	11	(+)		4	26	29
1759	♂	25	(+)		7	21	27
1771	♂	24	(+)		6	29	35
1827	♂	23	(+)		8	20	33
2182	♂	22	(+)		6	22	23
2252	♀	32	* (+ +)		* 25-2	23	27

Tablo 4: Seks Kromozom Anomalisi Şüphesi İle İncelenen 20 Bebeğe Ait Bulgular.

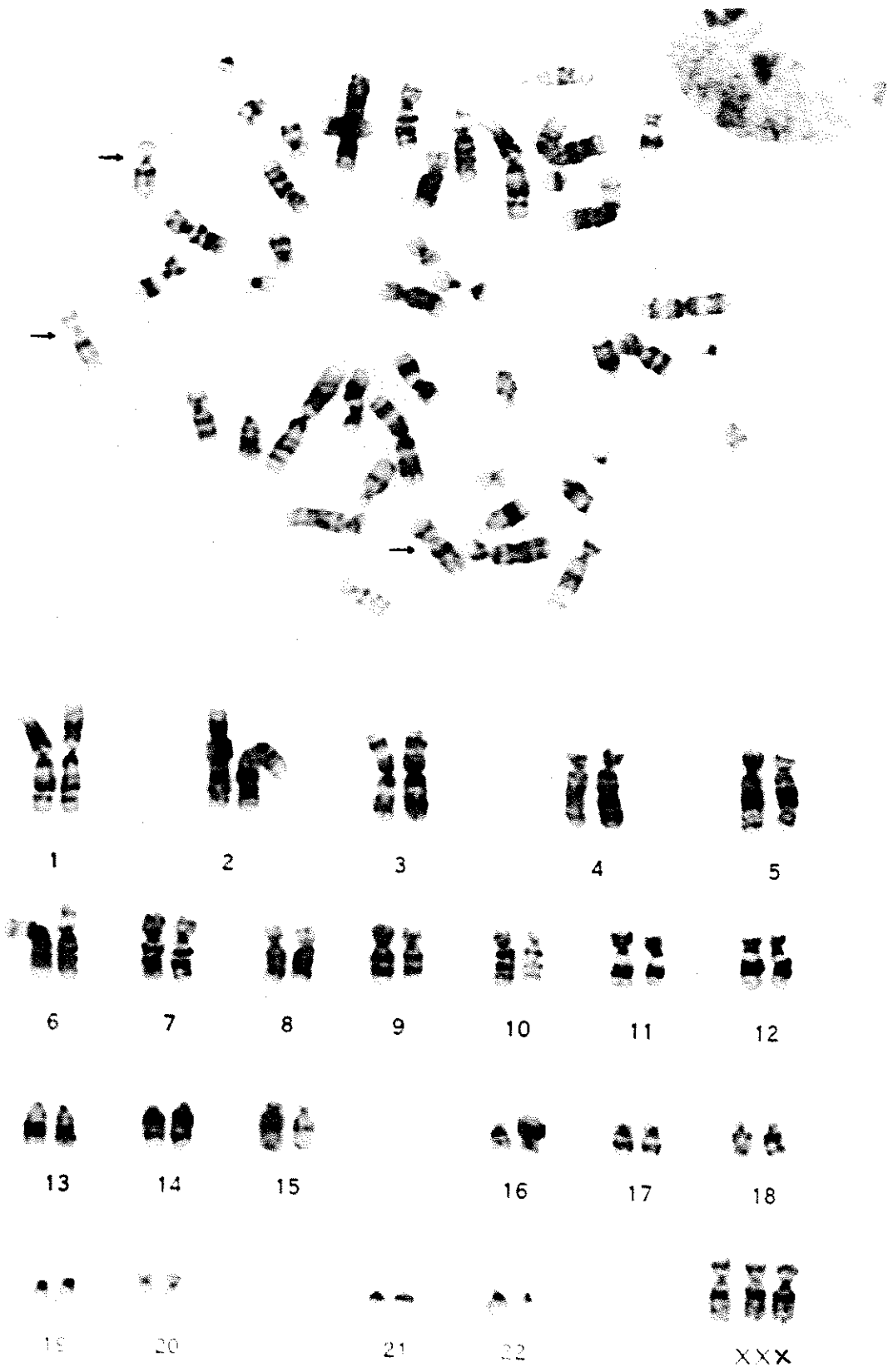
\* (+ +) Çift seks kromatin ve hücrelerde bulunan ayrı ayrı yüzdeleri.

Sayısal seks kromozom düzensizliği düşünölen bu 20 bebekte periferel lenfosit költür metodu ile kromozom analizi yapıldı. Ayrıca şüpheli preparatların gerek preparat alınımı, gerekse boyanması sırasında meydana gelen bir aksaklık sonucunda oluşabileceği göz önünde tutularak seks kromatin metodu da takrarlandı.

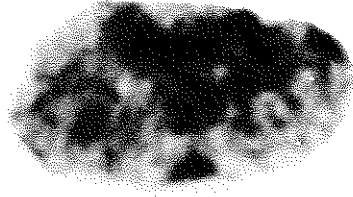
Sonuçta 20 şüpheli bebekten bir tek kız bebekte mozaik triple X karyotipi saptandı. Kromozom analizi sonucu elde edilen 100 metafaz incelendiğinde 76 hücrenin normal 46,XX, 24 hücrenin ise 47,XXX karyotipinde olduğu gözlendi(Şekil 3). Ayrıca literatürde normal bir polimorfizm olarak değeriendirilen perisentrik inversiyon 9 (inv 9) yapısal kromozom değışikliği, şüpheli olgulardan 1827 nolu erkek bebek hücrelerinde gözlendi. Yine klinik önemi olmadığı bildirilen 1759 nolu erkek bebekte Y kromozomu normalden büyük bulundu.

Mozaik triple X'li bebeğin seks kromatin preparatları incelendiğinde, normalde % 15 oranında bulunan seks kromatin oranı, olgumuzda % 30 olarak yüksek bir değerde bulundu. % 7 oranında da aynı çekirdekte iki adet seks kromatini bulundu (Şekil 4).





Şekil 3- Mozaik Triple X Sendromlu Olgunun Karyotipi



Şekil 4- Mozaik Triple X'li Olgunun İnterfaz Çekirdeğinde İki Adet Seks Kromatin İçeren Yanak Epitel Hücresi.

Diğer şüpheli olgulardan tekrarlanan seks kromatin preparatları incelendiğinde olgu 632 de % 16 ve olgu 1458' de % 18 oranında seks kromatin saptandı. Olgu 1564'de ve 2252'de tekrarlanan preparatlarda aynı çekirdekte ikinci bir seks kromatinine rastlanmadı. Geriye kalan 15 olgunun hiçbirinde seks kromatin gözlenmedi (Tablo 5).

OLGU NO	CİNSİYET	I.PREPARATTA SEKS KROMATİN %	II.PREPARATTA SEKS KROMATİN %	KROMOZOM ANALİZİ SONUCU
81	♂	8	0	46,XY
151	♂	4	0	46,XY
363	♂	5	0	46,XY
399	♂	4	0	46,XY
632	♀	0	16	46,XX
810	♂	5	0	46,XY
816	♂	4	0	46,XY
919	♂	8	0	46,XY
1089	♂	4	0	46,XY
1228	♂	7	0	46,XY
1305	♀	*30-8**	*30-8**	46,XX/47,XXX
1458	♀	0	18	46,XX
1515	♂	5	0	46,XY
1564	♀	*22-6**	20	46,XX
1711	♂	4	0	46,XY
1759	♂	7	0	46,XY(Y'si büyü)
1771	♂	6	0	46,XY
1827	♂	8	0	46,XY Inv(9)(p21.q12)
2182	♂	6	0	46,XY
2252	♀	*25-2**	22	46,XX

Tablo 5: Şüpheli Olgularda İlk Alınan Preparatlarla, Tekrarlanan Preparatlarda Elde Edilen % Değerlerinin Karşılaştırılması.

\* Aynı çekirdekte bulunan bir tek seks kromatinine ait

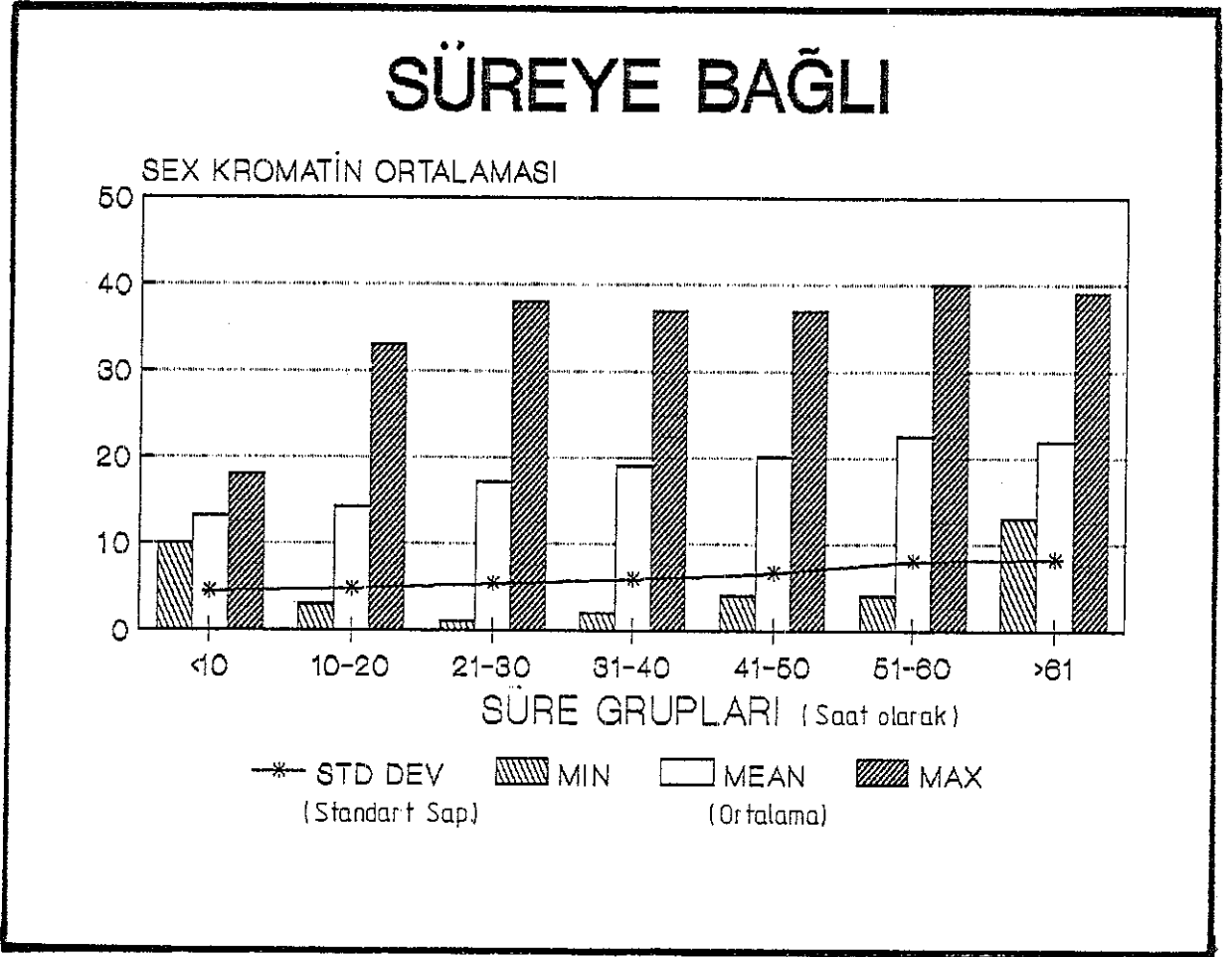
\*\* Aynı çekirdekte bulunan iki adet seks kromatinine ait

Bebeklerin doğduğu andan preparat alınımına kadar geçen sürenin seks kromatin yüzdesini etkileyip etkilemediğini incelemek üzere yapılan varyans analizi sonucunda  $P < 0.05$  olduğundan süre ile seks kromatin yüzdesi arasındaki ilişki anlamlı bulundu. Tablo 6 ve Şekil 5'te görüldüğü gibi süre arttıkça seks kromatin yüzdesi yükselmektedir. 10 saatten daha az sürede ortalama seks kromatin % si 13.2 iken 51-60 saatlik bir bebekte ortalama seks kromatin % si 22.2 ye çıkmaktadır.

SÜRE (saat olarak)	BİREY SAYISI	SEKS KROMATİN YÜZDESİ			STANDART SAPMASI
		MINİMUM	MAKSİMUM	ORTALAMA	
10	5	10	18	13.2	4.382
10-20	530	3	33	14.2	4.776
21-30	600	1	38	17.2	5.372
31-40	241	2	37	19	5.835
41-50	121	4	37	20	6.602
51-60	20	4	40	22	8.04
61	8	13	39	21.8	8.254

$P < 0.05$

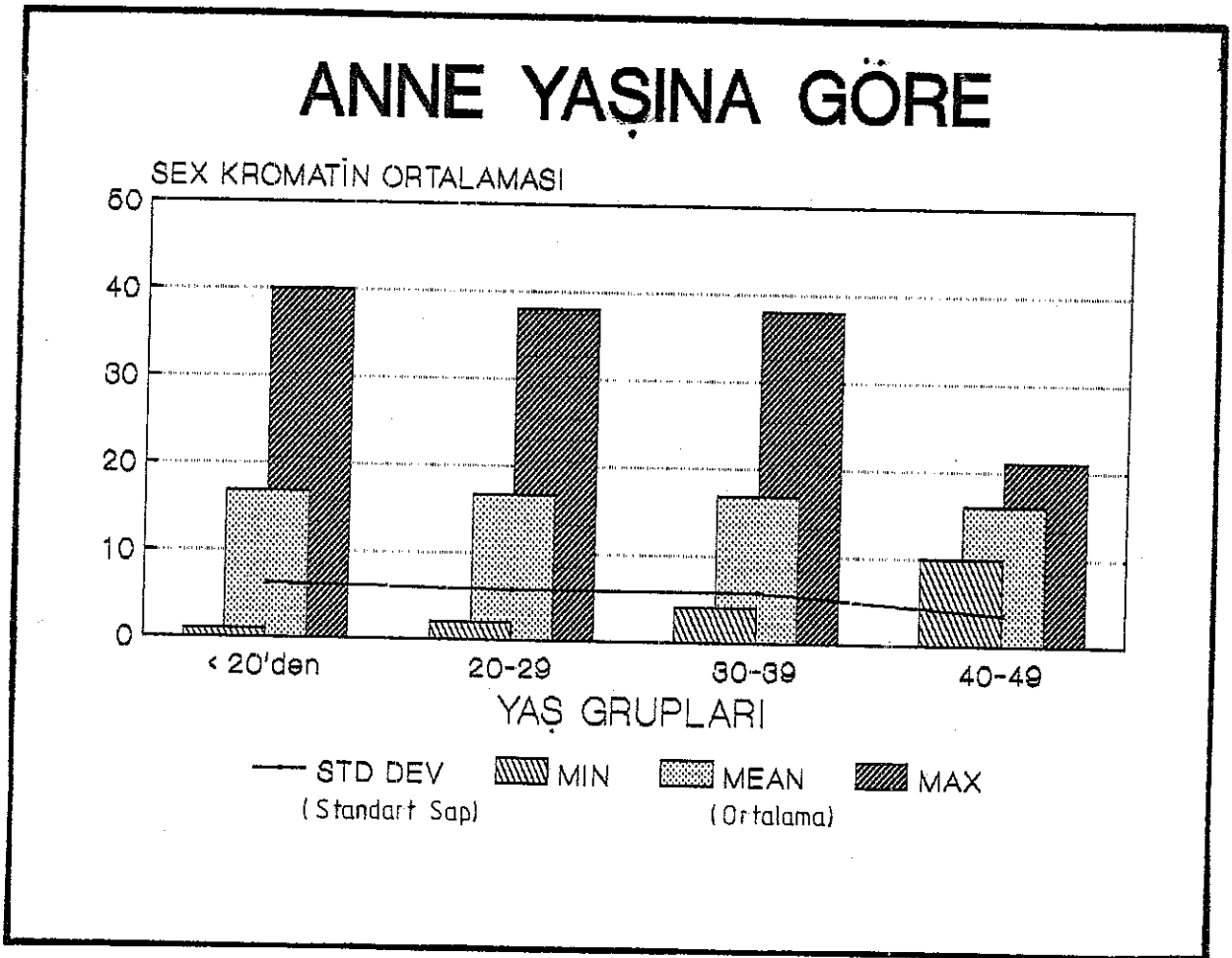
Tablo 6: Seks Kromatin Yüzdesi İle Preparat Alınımına Kadar Geçen Süre Arasındaki İlişki.



Şekil 5- Seks Kromatin Yüzdesi İle Preparat Alınımı Arasındaki İlişki.

Anne yaşının seks kromatin yüzdesi üzerinde etkisi olup olmadığını anlamak amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonucunda  $P > 0.05$  olduğundan, seks kromatin yüzdesi ile anne yaşı arasındaki ilişki anlamlı bulunmadı. Şekil 6'da görüldüğü gibi anne yaşı ilerledikçe seks kro-

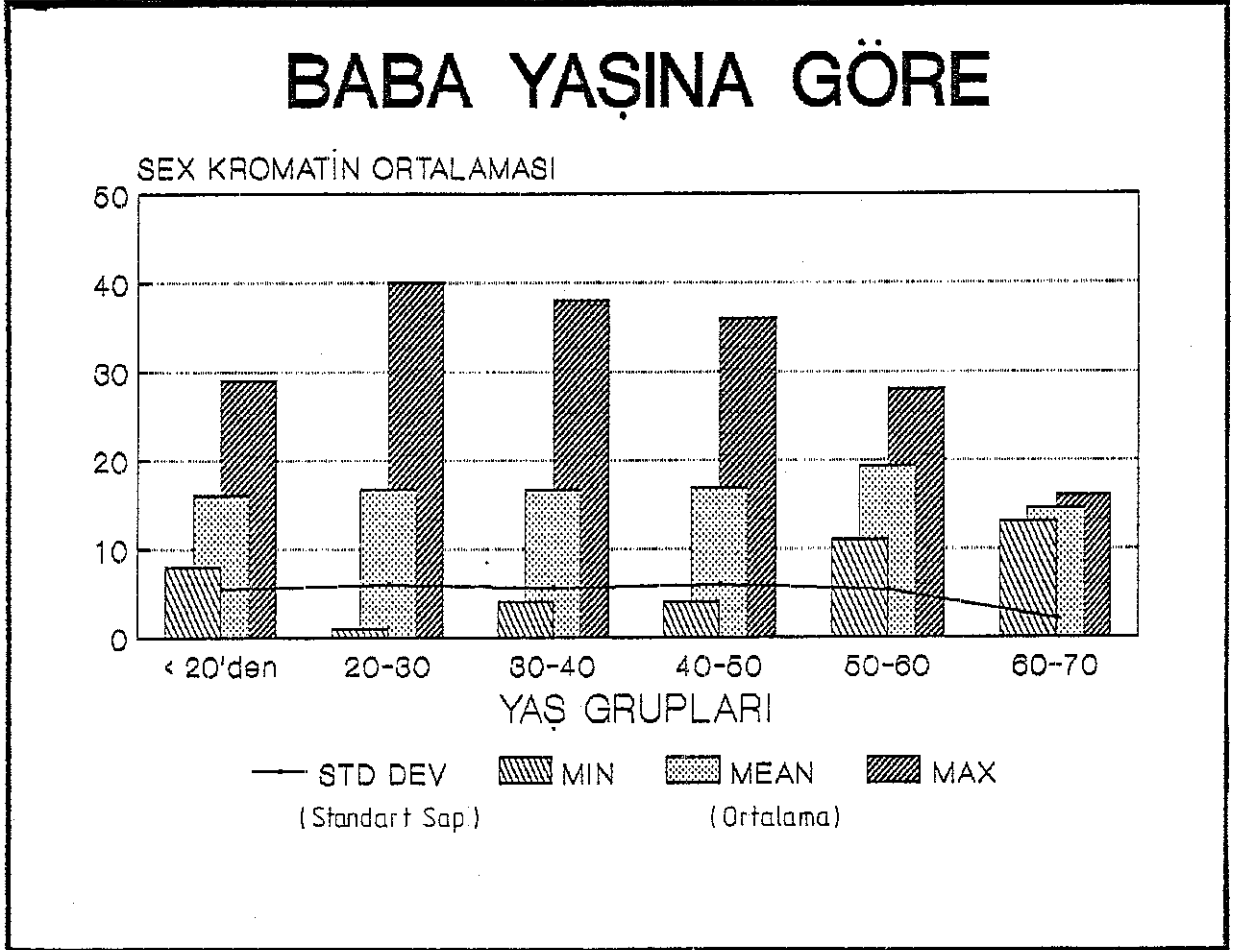
matin yüzdesinde önemli değişiklik olmamış, 30 yaşından sonra seks kromatin % sinde düşük oranda azalma gözlenmiş, istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur.



Şekil 6- Anne Yaşı ile Seks Kromatin Yüzdesi Arasındaki İlişki.

Yine baba yaşının seks kromatin yüzdesini etkileyip etkilemediğini göstermek amacıyla yapılan varyans analizi sonucunda  $P > 0.05$  olduğundan baba yaşı ile seks kromatin

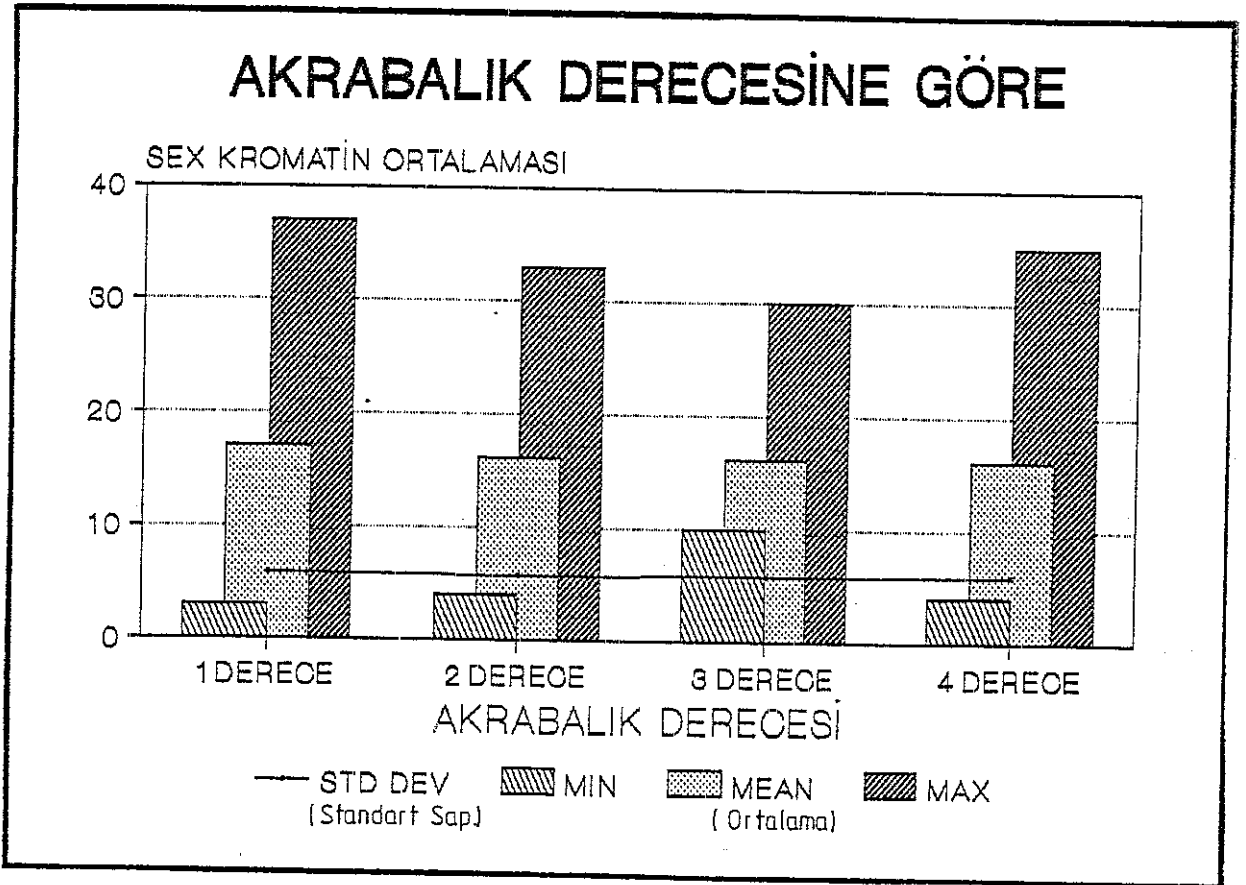
arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Baba yaşı ilerledikçe seks kromatin yüzdesinin belirli bir ortalama (%16.8) sabit düzeyde kaldığı gözlemlendi (Şekil 7)



Şekil 7- Baba Yaşı ile Seks Kromatin Yüzdesi Arasındaki İlişki.

3090 bebeğin 685'i (% 22'si) akraba evliliği sonucu dünyaya gelmiştir. 685 evlilikten % 56'sı 1.derece yeğen evliliği, % 16'sı 2.derece yeğen evliliği, % 8'i ise 3.derece yeğen evliliği yapmış olup 685 çiftin % 20 sinde uzaktan akrabalık vardır. Akraba evliliğinin seks kromatin yüz-

desi üzerinde etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılan istatistiksel analiz sonucunda  $P > 0.05$  olduğundan, akrabalık ile seks kromatin yüzdesi arasındaki ilişki anlamlı bulunmadı. 1.dereceden, 2.dereceden ve 3.dereceden yeğen evliliğinde seks kromatin yüzdesinin belirli bir ortalamada (% 16.8) sabit değerde kaldığı gözlemlendi (Şekil 8).



Şekil 8- Akraba Evliliği ile Seks Kromatin Yüzdesi Arasındaki İlişki.

Bebegin sağlık durumu ile seks kromatin % si arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak bir anlam



bulunmamıştır. 3090 bebeğin 15'inde (% 0.04) organ anomalisi tesbit edilmiş, sağlıklı bebeklerle, seks kromatin yüzdesi açısından kıyaslandığında bir fark gözlenmemiştir. Her iki durumda da ortalama seks kromatin % si 16.8 olarak saptanmıştır.

## T A R T I Ő M A

X'e bağlı seksüel gelişme bozukluğu olan bireylerde rutin sitogenetik teknikler kullanılarak hem kromozom analizi hemde seks kromatin tayini yapılmaktadır<sup>65-68</sup>. Ayrıca X'e bağlı seksüel gelişme düzensizliği düşünölen mozaik bireylerde sayısal anomalilerin saptanmasında birçok araştırıcılar değişik doku kültür yöntemlerini uygulamaktadır<sup>34,36,51,53</sup>. Çok fazla sayıda bireyi içeren popülasyonlarda, X'e bağlı seksüel anomalilerin saptanmasını amaçlayan çalışmalarda, kromozom analizleri çok fazla zaman alan, oldukça fazla maddi yük getiren yöntemlerdir. Bu nedenle popülasyon tarama çalışmalarında kromozom analizleri kadar doğru sonuç vermese de seks kromatin yönteminin uygulanması öncelikle tercih edilmektedir<sup>69-74</sup>.

1959 yılında Jacobs ve arkadaşları tarafından başlatılan ve günümüzde de sürdürölen popülasyon çalışmalarında, temelde kromatin boyamaya yönelik birçok modifiye metodlar kullanılmaktadır. <sup>43</sup> Seks kromatin saptanmasında

Howard ve arkadaşları uyguladıkları metotda, Aseto-orsein boyası kullanarak sonucun daha çabuk elde edilebileceğini öne sürmüşlerdir<sup>72</sup>. Genellikle yanak mukozasında yapılan seks kromatin çalışmalarına ek olarak, Goldman kan ve değişik dokulardan elde edilen kesitlerde, vaginal yaymada farklı boyaarla çalışmalar yapmış ve Cresyl echt violet ile en iyi sonuç alındığını bildirmiştir<sup>75</sup>. Elizabeth ve arkadaşlarının Millipore teknik ile yaptıkları karşılaştırmalı çalışmada ise Fuelgen'in seks kromatin tesbitinde tercih edilebilir boya olduğu vurgulanmaktadır<sup>76</sup>. Değişik bölümlerden gönderilen 257 olgunun patoloji laboratuvarında yanak mukozası ile yapılan bir başka çalışmada Papanicalau boyaması yapılmış ve tekniğin önemi vurgulanmıştır<sup>73</sup>. Aynı şekilde Gökçek tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada da 30 dişinin yanak mukozasında Guard, Fuelgen, Papanicalau ve Hematoxylin-eosin boyama yöntemleri kullandığında, en iyi sonuç Papanicalau yöntemi ile elde edilmiş ve ortalama % 28 oranında seks kromatin pozitif hücreler saptanmıştır<sup>77</sup>.

Yukarıda adı verilen çalışmaların ortak yönü her laboratuvarın farklı boyama yöntemi ile kendine özgü sonuç almış olmasıdır. Seks kromatin sıklığı laboratuvarından laboratuvara, uygulanan farklı tekniklere, örnekten örneğe ve hatta aynı bireyden alınan bir örnekten diğerine değişiklik göstermektedir. Bu nedenle her laboratuvarın kendine özgü bir standart değeri vardır<sup>78</sup>.

Bu araştırmada rutin olarak sitogenetik laboratuvarımızda kullanılan Guard ve Fuelgen boyama metodlarının modifikasyonu ile elde edilen boyama tekniği uygulanmıştır. Metodumuzda kromatin boyası olarak bazik fuksin ve daha iyi kontrast ve sonuç alabilmek için hücre stoplazmasını boyayan fast green boyası kullanılmıştır. Ayrıca hidroliz sırasında kullandığımız IN HCL'nin 10 dakikanın üzerine çıkarılması hücre yapısını bozduğundan ve hidrolizi takiben boyama çalışmaları sonuç vermediğinden hidroliz işleminin 10 dakikada sabit tutulması en önemli aşamalarından biri olmuştur. nce kontrol grubu olarak ele aldığımız 30 sağlıklı dişide ortalama değer % 18 olarak saptanmıştır. Kontrol gruplarında seks kromatin sıklığının çoğunlukla % 20-40 arasında değiştiği birçok araştırıcının epitel hücreleriyle yaptığı araştırmalarda gösterilmiştir<sup>6,7</sup>. Kontrol grubuna ait ortalama % 18 olan değerin, bu verilen sonuçlarla kıyaslandığında düşük olduğu gözlenmektedir. Fakat bu değer daha önce laboratuvarımızda tesbit edilmiş olan ortalama değerimize uygunluk göstermektedir. İncelemeye alınan 1525 dişi bebek grubunda ise ortalama % 16.8 olmak üzere % 10-40 arasında değişen seks kromatin pozitifliği gözlenmiştir (Tablo 1). Oranın % 16.8 olarak bulunması yanak epitel hücrelerinin alım zamanına bağlıdır. Yeni doğanlarda doğumdan hemen sonra alınan seks kromatin yüzdesi ile daha sonraki oran arasında farklılık görülmektedir. Bu konuda Smıth ve arkadaş-

ları 23 yeni doğanda yaptıkları araştırmada 4 gün boyunca seks kromatin yüzdesinin gittikçe arttığını gözlemişlerdir<sup>30</sup>. Meksika'da 3000 yeni doğanda yapılan bir başka çalışmada ise doğum sonrası seks kromatin yüzdesinin günlere bağımlı olarak arttığı<sup>55</sup>, Türkiye'de Sakhaullah'ın yaptığı çalışmada da yeni doğanda ilk üç günde seks kromatin sıklığının normalden düşük olduğu bildirilmiştir<sup>59</sup>. Yine Hindistan'da Roy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda, 18 yeni doğan dişi bireyde doğumdan bir gün sonra başlamak suretiyle 6 gün boyunca seks kromatin örnekleri alınmış ve seks kromatin yüzdesinin 5.güne kadar yükseldiği daha sonra ise sabit bir değerde kaldığı gözlenmiştir<sup>31</sup>. Örnek alınımının süresi ile seks kromatin yüzdesi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmamız gün olarak değil saat olarak yapılmış, doğum sonrası 10. saatten başlayarak 60.saate kadar uzatılmıştır (Tablo 6). İlk 10.saatte ortalama seks kromatin yüzdesi 13.2 iken, bu değer lineer artış göstererek 50-60. saatlerde % 22'ye ulaşmıştır. Değişik araştırmacılar tarafından günlere bağlı olarak bulunan artış bizim çalışmamızda da saatlere bağlı olarak benzer artışı göstermiş ve seks kromatin yüzdesi ile preparat alım zamanı arasındaki ilişki  $P < 0.05$  seviyede anlamlı bulunmuştur (Şekil 5). Ancak araştırma bölgemizde yeni doğan ve annesinde herhangi bir sağlık problemi olmadığı takdirde hastanede 24 saat bile kalınmadığından sonraki günlerde

olgular takip edilememiştir.

Genotipe bakmaksızın seks kromatin pozitif bulunduğumuz bireylerin çoğunda (n=502) seks kromatin % 11-15 ve diğer bir kısmında (n=472) seks kromatin % 16-20 arasında bulunmuştur. Seks kromatin + bulduğumuz 1540 birey, olgularımızın % 49.84'ünü oluşturmaktadır. Buna karşılık seks kromatin - bulduğumuz 1550 bireyin içinde, iki birey fenotipik olarak dişidir. Aynı şekilde seks kromatin + bulduğumuz 1540 bireyin 15'i de fenotipik olarak erkektir ( Tablo 1, 2, 3). Moore, İngiltere'de yaptığı çalışmasında, 1911 fenotipik erkeğin 5'inin seks kromatin + olduğunu (% 0.26) ve Subray Hindistan'da yaptığı toplam 3890 bebeklik bir çalışmasında, (2058 erkek, 1832 dişi) herhangi bir seks kromatin sapması gözlemediklerini bildirmişlerdir<sup>50</sup>. Çalışmamızda seks kromatin sapması % 0.6 (n = 20) olarak bulunmuştur (Tablo 4). Moore'un sadece fenotipik erkeklerde bulunduğu seks kromatin sapması çalışmamızda hem fenotipik olarak erkeklerde, hem de fenotipik olarak dişi bireylerde görülmüştür. Petersen'in 1000 yeni doğanda yaptığı çalışmada da her iki cinsiyette normal seks kromatin değerlerinin bulunması<sup>58</sup>, bizim 3090 bireyde elde edilen % 0.6'lık anormal değer oranının yüksek olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ancak seks kromozom anomalisi şüphesi ile incelenen 20 bireye ait bu bulgular (Tablo 4) gözden geçi-

rildiğinde, hepsinde düşük oranda da olsa seks kromatin gözlenmesi karyotip analizlerinin yapılmasını gerekli kılmıştır ve sonuç olarak şüpheli 20 bebekten sadece birinde 46,XX/47,XXX karyotipi gözlenmiştir (Şekil 3). Bu olgularda tekrarlanan seks kromatin çalışmalarında mozaik triple X olgusu hariç diğerlerinde seks kromatin yüzdesi ilk orandan farklılık göstermiş ve seks kromatin sapması % 0.03 bulunmuştur. Yukarıda tartıştığımız çalışmalarla ikinci kez karşılaştığımızda, ilkinin aksine bu değer oldukça düşüktür. Fakat ele aldığımız 20 bireyin ilk seks kromatin yüzdelerine bakıldığında, hepsinin gerek normal değerden, gerekse 1525 olguda bulduğumuz en düşük değerden daha düşük olduğu görülmektedir. Bu gözlem, hem yeni doğanda seks kromatin yüzdesinin beklenen değerlerden sapmalar gösterebileceğini, hem de seks kromatin sapmalarının teknik hatadan kaynaklanabileceğini ortaya çıkarmaktadır.

Maclean ve arkadaşları İngiltere'de 20725 yeni doğanın 37'sinde<sup>53</sup>, Robinson ve arkadaşları Amerika'da 3367 yeni doğanın 5'inde<sup>52</sup>, Dougherty ve arkadaşları Amerika'da 8575 yeni doğanın 15'inde<sup>56</sup>, Jacobs ve arkadaşları İngiltere'de 11680 yeni doğanın 28'inde<sup>57</sup> seks kromatin sapmalarını bulmuşlar yaptıkları kromozom analizleri ile de seks kromatin bulgularını desteklemişlerdir. Seks kromatin sapmaları gözlediğimiz 20 olgudan (15 erkek, 5 dişi)

sadece birinde karyotip analizi aynı çekirdekte iki seks kromatinin olduğunu desteklemiştir (Şekil 3,4). 3090 olgudan sadece birinde seks kromatin sapmasının gözlenmesi, diğer araştırmacıların yaptığı çalışmalarla karşılaştırıldığında oldukça düşük bulunmuştur.

X'e bağlı kromozomal anomalilerin sıklığı değişik ülkelerde yapılan çalışmalarla değişik oranlarla verilmektedir. Klinefelter sendromu için görülme sıklığı 1/250, 1/500 ve 1/1000 olarak verilirken bizim 3090 olgumuzda Klinefelter sendromu gözlenmemiştir. Triple X sendromu için 1/300, 1/500 ve 1/1000 şeklinde sıklık bildirilirken bizim çalışmamızda 3090 bireyde yalnızca bir mozaik triple X olgusu bulunmuştur. Türkiye'de kadınların halâ bir kısmının evde ebelerle doğum yapmasının ve hastanelere seçilmiş olguların gelmesinin bu sıklığı etkileyebileceği düşünülebilir. Turner sendromu, X'e bağlı sayısal kromozom anomalileri içinde en az sıklıkla gözlemlendiğinden (1/5000 - 1/25.000) bizim Turner sendromlu olgu gözlemeyişimiz normal olabilir. Ayrıca 3090 olgumuzda iki erkek bebekten birinde büyük Y kromozomu, diğerinde perisentrik inversiyon 9 [inv(9),(p21;q12)] şeklinde klinik önemi olmayan polimorfizmler olarak tanımlanan yapısal düzensizlikler saptanmıştır. Yeni doğanlarda seks kromatin üzerinde Türkiye'de yapılan bir çalışmada 250 bebekten sadece birinde aynı şekilde iki adet seks kromatinine rastlanmış ancak kromozom analizi



yapılmadığından, karyotipik desteklemeyle gösterilememiştir<sup>60</sup>.

Seks kromatin sıklığının ebeveyn yaşına göre olan değişimi çok az araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Ankara doğumevinde 250 vakada yapılan çalışmada akraba evliliklerinde 20 yaşından başlamak üzere 25 yaşına kadar seks kromatin sıklığının arttığı, akrabalık dışı evlenmelerde ise artmadığı gözlenmiştir<sup>60</sup>. Çalışmamızda ise 20 yaştan itibaren anne ve baba yaşı ile seks kromatin yüzdesi arasında beklenildiği gibi, istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ( $P > 0.05$ , Şekil 6 ve 7). Akraba evliliğinin spontan abortus, ölü doğum ve erken yaş bebek ölümü gibi birçok biyolojik olayda etkili olduğu birçok araştırmayla kanıtlanmıştır. Çalışmamızı yaptığımız Antalya ve yöresinde akraba evliliği yüzdesi 35.17 dir<sup>79</sup>. Bu çalışmada 3090 bebeğin ebeveynlerinin % 22'sinin akraba evliliği yaptığı gözlenmiştir. Çeşitli biyolojik olgular üzerine etkili akraba evliliğinin seks kromatin yüzdesi ile ilişkisi karşılaştırıldığında, akrabalık derecesine göre (1. 2. 3. derece yeğen evliliği ve uzak akraba) istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $P > 0.05$ , Şekil 8).

Çalışmamızın amacı, yeni doğanda seks kromatin metodu ile seks kromozom anomalilerinin sıklığını saptamaktı. Çünkü yeni doğanda konjenital abnormalitelerle pek

ilişkisi olmayan sekse bağlı anomalilerin morfolojik olarak saptanması oldukça güçtür. Çocukluk çağında cinsel anomali göstermediği halde kromozomal kuruluşu X'e bağlı anomaliyi yansıtan, davranış bozukluğu da gösterebilen olgular da vardır<sup>80</sup>. Turner ve Klinefelter sendromu gibi X'e bağlı sayısal anomalilerin puberta döneminde klinik olarak tanımlanması fakat yeni doğanda çoğu kez mümkün olmaması, seks kromatin tayininin önemini ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca seks kromozom anomalisi gösteren her iki cinse ait bireylerde infertilitenin dışında büyüme, davranış ve öğrenme becerilerinde de benzerlik görülmektedir. Yeni doğanda yapılan seks kromatin çalışmalarında bu tür benzerliklerden dolayı aileye genetik danışma verilerek, seks kromatin sapması gösteren bireylerde geleceğe dönük yönlendirmeler yapılabilir. Bizim çalışmamızda 46,XX/47,XXX karyotipi gözlenen mozaik triple X sendromlu olgumuza genetik danışma verilecek ve takibe alınacaktır.

Seks kromatin analizi, son yıllarda epidemiyolojik alanda da kullanılmaktadır. Seks kromozom analizleri ile kriminolojik olgular arasında belirli bir ilişkinin olduğu birçok çalışmada ortaya konmuştur<sup>81-83</sup>. Aynı şekilde şizofren bireylerde yapılan çalışma sonucunda Klinefelter sendromuna, normal erkek bireylerden daha sıklıkla rastlandığı bildirilmiştir<sup>84</sup>. Yine akıl hastalıkları-

rı hastanesinde sağlıklı bireylerle karşılaştırılarak yapılan çalışmalarda seks kromatin pozitif erkek bireylere daha sıklıkla rastlanmıştır<sup>85,86</sup>. Seks kromatin testinin uygulandığı diğer bir alan ise feminite kontrolüdür<sup>87</sup>. Bu amaçla spor karşılaşmalarında olabilecek yapısal ve hukuksal bazı problemlerin çözümünde X-kromatin ve Y-kromatin testleri yapılmaktadır.<sup>88-90</sup>

Sonuç olarak, bugüne kadar Türkiye'de seks kromatin üzerinde 4 çalışma yapılmıştır. İlk yapılan çalışmada 81 yeni doğanda seks kromatin yüzdesinin farklılığı, ikincisinde oral kontraseptif kullanan ve kullanmayan kadınlarda seks kromatin yüzdesi, üçüncüsünde ise yeni doğanda seks kromatin yüzdesi araştırılmış ve en son çalışmada ise seks kromatin metodunda boyama teknikleri karşılaştırılmıştır. Böylece 3090 olgu ile bizim çalışmamız Türkiye'de sekse bağlı kromozom anomalilerinin saptanması amacıyla yapılan ilk çalışma olmaktadır. Seks kromatin metodu, kromozom analizi kadar yüzde yüz güvenilirliği olan bir metod değildir. Ancak olgu sayısının yüksek olduğu popülasyon çalışmalarında hem kolay olduğundan hem de zaman kaybını ve fazla masrafı önlediğinden tercih edilmeli ve şüpheli olgularda mutlaka kromozom analizine başvurulmalıdır. Çalışmamızda şüpheli olgu sayısı yüksektir (n=20). Fakat en ufak bir şüpheyi ortadan kaldırmak amacıyla kromozom analizine gidilerek kontrollü bir çalışma yapılmış-

tır. Seks kromatin metodu günümüzde de geçerliliğini koruyan ve önerilebilecek bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır.

Görüldüğü gibi ülkemizde seks kromatin metoduna dayalı X'e bağlı anomalilerin sıklığını yansıtan gerek yeni doğanla yapılan, gerekse epidemiyolojik olarak yapılan çalışmalar oldukça az olup, istatistiksel veriler henüz tam olarak ortaya konmuş değildir. Bu bakımdan çalışmamızın, yapılacak olan bu tür çalışmalara katkısı olacağı ve kurulacak olan genetik danışma merkezlerinde, bulgularımızın kullanılacağı kanısındayız.

## Ö Z E T

Bu çalışmada, yeni doğan bireylerde seks kromatin metoduyla seks kromozom anomalilerinin sıklığı araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak 30 sağlıklı dişi bireyden örnek alınmış ve seks kromatin ortalaması % 18 bulunmuştur. İncelenen 3090 bebeğin 1527'si dişi, 1563'ü erkek fenotipli olup, seks kromatin oranı % 16.8 olarak gözlenmiştir. Seks kromatin bulgularıyla şüpheye düşülen 20 bireyde hem seks kromatin metodu tekrarlanmış, hem kromozom analizi yapılmıştır. Sonuçta 20 şüpheli olgudan sadece birinde aynı çekirdekte normalde bir tane olması gerekirken iki adet seks kromatin gözlenmiş ve X'e bağlı kromozomal aneuploidi sıklığı % 0.03 olarak saptanmıştır. Kromozom analizi sonucunda olgumuzun mozaik triple X sendromuna sahip olduğu ortaya çıkarılmış ve karyotipi 46,XX/47,XXX şeklinde belirlenmiştir. Bu olgunun ileride karşılaşılabileceği psikolojik ve fizyolojik sorunlar açısından aileye genetik danışma ve klinisyene bilgi verilmesi planlanmıştır.

Tarih: .../.../....

Yer :

### ANKET FORMU

1. Sıra No:
2. Protokol No:
3. Bebeğin cinsiyeti:
4. Bebeğin ağırlığı :
5. Bebeğin boyu :
6. Bebeğin soyadı :
7. Anne adı :
8. Baba adı :
9. Bebeğin doğum tarihi:
10. Doğumdan-preparat alınımına kadar geçen süre(saat olarak):
11. Bebeğin sağlık durumu:
12. Anne yaşı :
13. Baba yaşı :
14. Annenin memleketi:
15. Babanın memleketi:
16. Akraba evliliği olup olmadığı:
17. Adres :
18. Genetik teşhis :

## K A Y N A K L A R

1. Sinnott, E.W., Dunn, L.C., Dobzhansky, T.: Principles of genetics. Fifth edition, 232, Japan, 1958.
2. Barr, L., Bertram, G.: A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nuclear satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. Nature. Vol 163, 676-677, 1949.
3. Taylor, J.H.: Asynchronous duplication of chromosomes in cultured cells of chinese hamster. J. Biophys. Biochem. Cytology. 7: 455-464, 1960.
4. Ohno, S., Makino, S.: The single-X nature of sex chromatin in man. Lancet. I: 78, 1961.
5. Lyon, M.: Gen action in the X-chromosome of the mouse (Mus.Musculus L.). Nature. Vol 190, 372-373, 1961.
6. Tayşi, K., Say, B.: Tibbi Genetik. Hacettepe Üniversitesi Yayınları. A-12, Ankara, 1975.

7. Vogel, F., Motulsky, A.G.: Human genetics. Second edition, Heidelberg, 1986.
8. Beutler, E.: Autosomal inactivation. *Lancet*. I: 1242, 1963.
9. Gartler, M., Sparkes, S.: The Lyon-Beutler hypothesis and isochromosome X patients with the Turner syndrome. *Lancet*. II: 411, 1963.
10. Born, G., Grützner, P.: Evidence for reduced colour vision in carriers of congenital colour vision deficiencies. *Hum. Genet.* 32: 189-196, 1976.
11. Epstein, J.: Inactivation of the X-chromosome. *The New England Journal of Medicine*. Vol. 286, No 6, 318-319, 1972.
12. Riggs, D.A.: X inactivation, differentiation and DNA methylation. *Cytogenet. Cell. Genet.* 14: 9-25, 1975.
13. Moser, H., Emery, H.E.A.: The manifesting carrier in Duchenne muscular dystrophy. *Clinical Genetics*. 5: 271-284, 1974.
14. Davidenkova, E.F., Verlinskaja, D.K., Mashkova, M.V.: Structural aberrations of the X chromosome in man. *Hum. Genet.* 41: 269-279, 1978.
15. Mattei, J.F., Taramasco, H., Mattei, M.G., et al.: A girl with mosaicism for a dicentric X chromosome. *Hum. Genet.* 38: 39-48, 1977.



16. Fujita, H., Tanigawa, Y., Yoshida, Y., et al.:  
Cytological findings of 10 cases with  $i(Xq)$  and  
one with  $dic(X)(qter \rightarrow cen \rightarrow p22::p11 \rightarrow qter)$ .  
Hum.Genet. 39: 147-155, 1977.
17. Fraccaro, M., Maraschio, P., Pasquali, F., et al:  
Women heterozygous for deficiency of the ( $p21 \rightarrow pter$ )  
region of the X chromosome are fertile. Hum.Genet.  
39: 283-292, 1977.
18. Summitt, R.L., Martens, P.R., Wilroy, R.S.: X-auto-  
some translocation in normal mother and effecti-  
vely 21-monosomic daughter. The Journal of  
Pediatrics. 84: 539-546, 1973.
19. Therman, E., Sarto, G.E., Palmer, C.G., et al.:  
Position of the human X inactivation center on Xq.  
Hum.Genet. 50: 59-64, 1979.
20. Ohno, S.: Evolution of sex chromosomes in mammals.  
Ann.Rev.Genet. 3: 495-524, 1969.
21. Comings, D.E.: Methylation of euchromatic and hete-  
rochromatic DNA. Experimental Cell Research.  
74: 383-390, 1972.
22. Brown, S.W., Chandra, H.S.: Inactivation system of  
the mammalian X chromosome. Proc.Nat.Acad.Sci.  
USA. Vol 70, No 1, 195-199, 1973.
23. Gartler, S.M., Riggs, A.D.: Mammalian X chromosome  
inactivation. Ann.Rev.Genet. 17:155-190, 1983.

24. Levij, I.S., Meulendijk, P.N.: The localization of sex chromatin. *Lab.Inves.* Vol 11, No 2, 192-194, 1962.
25. Başaran, N.: *Tıbbi genetik. Anadolu Üniversitesi Basımevi, Eskişehir, 1984.*
26. Csaba, I., Szabo, I., and Nagy, P.: Correlation between G-6-PDH activity of the erythrocytes and the sex chromatin frequency in the somatic cells in new-born girls. *Biol.Neonate.* 24: 113-116, 1974.
27. Grob, H.S., Kupperman, H.S.: Experiences with technics of chromatin sex determination. *The American Journal of Clinical Pathology.* Vol 36, No 2, 132-138, 1961.
28. Taylor, A.I.: Sex chromatin in the newborn. *Lancet.I.* 912-914, April 27, 1963.
29. Shoemaker, R.H.: X chromatin and aging. *Acta Cytologica.* Vol.21, No 1, 127-131, 1977.
30. Smith, D.W., Marden, P.M., McDonald., M.J. et al.: Lower incidence of sex chromatin in buccal smear of newborn females. *Pediatrics.* 707-711, November, 1962.
31. Roy, S., Phil, D., Das, A.K., et al.: Frequency of sex chromatin in the buccal smear of newborn females and their mothers during first six days after delivery. *Acta Cytologica.* Vol 20, No 1, 83-86, 1976.

32. Ford, C.E., Jones, K.W.: A sex chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). Lancet. 711-713, April, 1959.
33. Polani, P.E., Hunter, W.F., Lennox, B.: Chromosomal sex in Turner's syndrome with coarctation of the aorta. Lancet. 120-121, July 17, 1954.
34. Verp, M.S., Amarose, A.P.: Inflammatory bowel disease and X chromosome abnormalities. The Journal of Reproductive Medicine. Vol 32, No 6, 466-468, 1987.
35. Muench, K.H.: Genetic medicine. Elsevier Science Publishing Co., Inc. 52 Vanderbilt Avenue, New York, New York 10017, 1988.
36. Smith, A., Collis, J.: Paucity of 47,XXX and 46,XX/47,XXX among routine diagnostic cytogenetic referrals. The Medical Journal of Australia. 9-10, July 9, 1983.
37. Cohen, F.J., Durham, J.D.: Sex chromosome variations in schoolage children. Journal of School Health. Vol 55, No 3, 99-102, 1985.
38. Robinson, A., Bender, B.G., Borelli, J.B., et al.: Sex chromosomal aneuploidy: Prospective and longitudinal studies. Birth Defects. Vol 22, No 3, 23-71, 1986.

39. Leonard, M.F., Sparrow, S.: Prospective study of development of children with sex chromosome anomalies. New Haven study IV. Adolescence. Birth Defects. Vol 22, No 3, 221-249, 1986.
40. Smith, D.W.: Recognizable patterns of human malformation. Third edition, Philadelphia, 1982.
41. Netley, C.T.: Summary overview of behavioural development in individuals with neonatally identified X and Y aneuploidy. Birth Defects. Vol 22, No 3, 293-306, 1986.
42. Ratcliffe, S.G., Murray, L., Teague, P.: Edinburgh study of growth and development of children with sex chromosome abnormalities III. Birth Defects. Vol 22, No 3, 73-118, 1986.
43. Jacobs, P.A., Strong, J.A.: A case of human intersexuality having a possible XXY sex determining mechanism. Nature. Vol 183, 302-303, January 31, 1959.
44. Rus, P., Johnsen, S.G., Masboch, J.: Nuclear sex in Klinefelter's syndrome. Lancet. 962-963, June 16, 1956.
45. Jacobs, P.A., Brunton, M., Melville, M.M.: Aggressive behaviour, mental subnormality and the XYY male. Nature. Vol 208, No 5017, 1351-1352, 1965.

46. Carothers, A.D., Collyer, S., De Mey, R., et al.:  
An aetiological study of 290 XXY males, with  
special reference to the role of paternal age.  
Hum.Genet. 68: 248-253, 1984.
47. Farge, P., Dallaire, L., Albert, G., et al.: Oral  
and dental development in X chromosome aneuploidy  
Clinical Genetics. 27: 122-126, 1985.
48. Autio-Harmainen, H., Rapola, J., and Aula, P.: Fetal  
gonadal histology in XXXXY, XYY and XXX syndromes  
Clinical Genetics, 18: 1-5, 1980.
49. Fraccaro, M., Lindsten, J., Kaijser, K.: A child  
with 49 chromosomes. Further investigations.  
Lancet. 509, September 8, 1962.
50. Subray, N., Prabhaker, S.: Sex chromatin anomalies in  
newborn babies in India. Science. Vol 136, 1116,  
1962.
51. Maclean, N., Harnden, D.G., Court Brown, W.M.: Abnor-  
malities of sex chromosome constitution in newborn  
babies. Lancet. 406-408, August 19, 1961.
52. Robinson, A., Puck, T.T.: Sex chromatin in newborns.  
Presumptive evidence for external factors in  
human nondisjunction. Science. Vol 148, 83-85,  
1915.

53. Maclean N.: Sex chromosome abnormalities in newborn babies. *Lancet*, 286-290, February 8, 1964.
54. Taylor, A.I.; Moores, E.C.: A sex chromatin survey of newborn children in two London Hospitals. *J. Med. Genet.* 4: 258-259, 1967.
55. Marouez-Monter, H., Carnevale-Lopez, A., Kofman, Alfero, S.: Sex chromatin survey in 3000 newborn infants in Mexico. *Pediatrics*. 41: 664-666, 1968.
56. Daugherty, C.M., McCormick, M.: X chromosomal anomalies in the newborn. *Acta Cytologica*. Vol 17, No 5, 423-424, 1973.
57. Jacobs, P.A., Keay, A.J., Syme, J.: A cytogenetic survey of 11.680 newborn infants. *Ann. Hum. Genet.* 37: 359-371, 1974.
58. Petersen, K.W., Jacobson, C.B., Telford, I.R., et al.: A survey of X chromatin in the newborn. *Biol. Neonate*. 29: 267-273, 1976.
59. Sakhaullah, S.: Sex chromatin and nuclear sex specific appendages in the newborn. *Turkish J. Ped.* 11: 75-89, 1969.
60. Saltoğlu, C.: Yeni doğanlarda X kromatini üzerine araştırma. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Ankara Doğum ve Çocuk Bakımevi. İhtisas Tezi, Ankara, 1976.

61. Klinger, H.P. and Hammond, D.O.: Rapid chromosome and sex chromatin staining with pinacyanol. Stain technology. Vol 46, No 2, 43-47, 1971.
62. Klinger, H.P. and Ludwig, K.S.: A universal stain for the sex chromatin body. Stain technology. 235-244, March 29, 1957.
63. Moorhead, P.S., Nowel, P.C., Mellman, W.J. et al.: Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. Exp.Cell.Res. 20: 613-616, 1961.
64. Seabright, M.: A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet. 2: 971, 1971.
65. Nielsen, J. and Videbech, P.: Diagnosis of chromosome abnormalities in Denmark. Clinical Genetics. 26: 422-428, 1984.
66. Videbech, P. and Nielsen, J.: Chromosome abnormalities and season of birth. Hum. Genet. 65: 221-231, 1984.
67. Hamerton, J.L., Ray, M., Abbott, J., et al.: Chromosome studies in a neonatal population. C.M.A. Journal. Vol 106, 776-779, April 8, 1972.
68. Eller, E., Frankenburg, W., Puck, M., et al.: Prognosis in newborn infants with X chromosomal abnormalities. Pediatrics. Vol 47, No 4, 681-688, April, 1971.

69. Moore, L. and Barr, L.: Smears from the oral mucosa in the detection of chromosomal sex. *Lancet*. II. 57-58, 1955.
70. Dixon, A.D. and Torr, J.B.D.: Sex chromatin as an aid to the identification of sex in forensic medicine. *Nature*. No 4537, 797, October 13, 1956.
71. Moore, L.: Sex reversal in newborn babies. *Lancet*. 217-218, 31 January, 1959.
72. Grob, H.S. and Kupperman, H.S.: Experiences with technics of chromatin sex determination. *The American Journal of Clinical Pathology*. Vol 36, No 2, 132-138, August, 1961.
73. Douglass, L.E. and Beaver, D.L.: Experience with buccal smears in the general cytopathology laboratory. *Acta Cytologica*. Vol 13, No 10, 595-600, 1969.
74. Curtis, D.J.: Sex chromatin frequency in buccal mucosal tissue: the normal female population. *Cytogenetics*. 8: 20-29, 1969.
75. Goldman, L. and Goldman, J.: Some studies of sex chromatin in dermatology. *Dermatologica*, 127: 445-456, 1963.



76. Chu, E.W., Malmgren, R.A., Dewitt, S.H., et al: Millipore technique for nuclear sex chromatin. Acta Cytologica. Vol 10, No 2, 89-92, 1966.
77. Gökçek, B.: Cinsiyet anomalilerinin taranmasında barr cisimciği (X kromatini) tayini yöntemlerinin karşılaştırılması ve değeri. İstanbul Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul 1989.
78. Miller, O.J., and Warburton, D.: The control of sex chromatin. Cytogenetics. 7: 58-77, 1968.
79. Güz, K.: Antalya yöresinde akraba evliliği sıklığı ve tıbbi sonuçları. Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Antalya-1987.
80. Bağcı, G., Bağcı, H., Lüleci, G., et al.: Seks kromozom düzensizlikleri olan bireylerde sitogenetik bulgular. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Cilt 6, Sayı 1, 68-71, Antalya, 1989.
81. Tsuboi, T.: Crimino-Biologic study of patients with the XYY syndrome and Klinefelter's syndrome. Humangenetik. 10: 68-84, 1970.
82. Schröder, J., Dela Chapelle, A., Hakola, P., et al: The frequency of XYY and XXY men among criminal offenders. Acta Psychiat Scand. 63, 272-276, 1981.

83. Kazamatsuri, H., Nenko, S., and Mato, Y.: Homicidality in a woman with a 47,XXX karyotype. *J.Clin. Psychiatry.* 46: 8, 346-347, August, 1985.
84. Müller, N. and Endres, M.: An XX male with schizophrenia: A case of personality development and illness similar to that in XXY males. *J.Clin Psychiatry.* 48: 9, 379-380, September, 1987.
85. Cosey, M.D., Street, D.R.K., Segall, L.J., et al.: Patients with sex chromatin abnormality in two state hospitals. *Ann.Hum.Genet. Lond.* 32: 53-54, 1968.
86. Salbenblatt, J.A., Meyers, D.C., Bender, B.G., et al.: Gross and fine motor development in 47,XXY and 47,XYY males. *Pediatrics.* Vol. 80, No 2, 240-243, August, 1987.
87. Sakamoto, H., Nakanoin, K., Komatsu, H., et al.: Femininity control at the XXth universiade in Kobe, Japan, *Int.J.Sports.Med.* 9: 193-195, 1988.
88. Dela Chapelle, A.: The use and misuse of sex chromatin screening for "Gender Identificiation" of female athletes *Jama.* Vol 256, No 14, 1920-1923, October 10, 1986.

89. Kaluzewski, B., Jakubowski, L., and Moruzgala, T.:  
Value of X and Y body tests. C.M.A Journal. Vol II6,  
1342-1343, June 18, 1977. .
90. Bassis, L.M.: Sex chromatin screening of female  
athletes. Jama. Vol 257, No 14, 1896-1897,  
April 10, 1987.

Akdeniz Üniversitesi  
Rektörlüğü Kütüphanesi  
Demirbaş No. 4945