



2004-2006 Dönemi Pediatrik Hastaların Periferik Kan Sitogenetik Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Şengül Yüksel*, Serap Savacı*, Elif Yeşilada*, Gonca Gülbay**, Gonca Otlu*,
Ebru Kaygusuzoğlu *

* İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD. Malatya,
** İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya

Amaç: Bu çalışmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Tanı Laboratuvarı'na, fenotipik dismorfogenezisin değişik klinik ön tanıları ile başvurmuş olan pediatrik hastalarının, major kromozomal anomaliler yönünden retrospektif değerlendirilmesi yapıldı.

Gereç ve Yöntem: Bu amaçla 204 hastanın kromozomları periferik lenfosit doku kültürü tekniği ile elde edildi ve karyotipler G-bantlama metoduyla boyanarak incelendi. Olguların klinik özellikleri, ilişkili anomaliler ve anneye ait özelliklerine ulaşıldı.

Bulgular: Toplam 57 çocukta (%27,9) kromozomal anomali saptandı. Bunlar sırası ile, trizomi 21 (%21,57), Turner sendromu (%2,94), trizomi 13 (%1,96), trizomi 18 (%0,49), mozaik-trizomi 8 (%0,49) ve inv(9)(p11;q13) (%0,49) olarak belirlendi. Down sendromlu olguların %60'ından fazlasında mongoloid yüz, epikantal kıvrım, hipertelorizm, simian çizgisi, basık burun ve mikrosefali vardı. Doğumsal kalp hastalığı 13 vakada (%32,5) bulundu. Down sendromlu 37 hastada (%84,1) ileri anne yaşı saptandı.

Sonuç: Araştırma sonunda elde edilen bulgular, konjenital malformasyonlara neden olan etyolojik faktörler içinde kromozomal anomalilerin önemli rol oynadığını ortaya koydu. Kromozom aberasyonlu konjenital anomalileri değerlendirirken genetikçi ve pediatriklerin ekip çalışması etyolojik tanının doğru saptanma olasılığını artırır. Bu da ebeveynlerin tekrarlama riskini azaltması dolayısıyla konjenital anomalilerin primer olarak önlenmesi bakımından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Major kromozom aberasyonları, Sitogenetik, Postnatal

An Evaluation Cytogenetic Result of Pediatric Patients' Peripheric Blood within the Years 2004-2006

Objectives: In this study, we investigated pediatric patients admitted to Genetic Diagnostic Laboratory of Medical Faculty, İnönü University, in terms of major chromosomal aberrations, with varied clinical prediagnoses of phenotypic dysmorphogenesis retrospectively.

Methods: For this purpose, chromosomes of 204 patients were obtained by peripheral lymphocyte tissue culture technique and karyotypes were investigated using the G-band method. Besides the clinical presentation features, associated anomalies and maternal characteristics were noted.

Results: Chromosomal anomalies were detected in a total of 57 (27,9%) children. These were as follows, trisomy 21 (21,57%), Turner syndrome (2,94%), trisomy 13 (1,96%), trisomy 18 (0,49%), mosaic-trisomy 8 (0,49%) and inv(9)(p11; q13) (0,49%). Mongoloid slant, epicanthal folds, hypertelorism, simian crease, flat nasal bridge, and microcephaly were observed in >60% of Down syndrome cases. Congenital heart disease was documented in 13 (32,5%) cases. Increasing maternal age was found 37 (84,1%) cases with trisomy 21.

Conclusions: The findings obtained from the results in the study have indicated that, among etiologic factors leading to congenital malformations, chromosomal abnormalities play a significant role. To evaluate congenital anomalies with chromosomal aberrations, the teamwork of geneticists and pediatricians increases the probability of determining the etiological diagnosis properly. This is essential to decrease the parents' reproductive risk, thus contributing to primary prevention of congenital anomalies.

Key Words: Major chromosomal aberrations, Cytogenetics, Postnatal

Karyotip, kromozomların homolog çiftler halinde düzenlenmesi demektir ve her tür için karakteristiktir. Normal insan karyotipini oluşturan 23 çift kromozom, çeşitli nedenlerle sayı, şekil ve yapı bakımından değişiklik gösterebilir.

Daha çok mayoz bölünme mekanizmalarındaki bir sorun nedeniyle gametlere anormal kromozom dağılımı sonucu meydana geldiği düşünülen sayısal kromozom anomalileri insanlarda yaklaşık 200 yeni doğanda bir görülür.¹⁻⁴ Şimdiye kadar 100'den fazla farklı kromozomal sendrom bildirilmiştir. Yenidoğanların yaklaşık %3-10'unda bir yada daha fazla major fiziksel anomaliye rastlanmaktadır. Bunlarda kromozom anomalisi oranı ise %0.6'dır.⁴ Ölü doğumların %6'sı, spontan abortusların ise %50-60'ı kromozom anomalisi nedeniyle oluşur.⁵⁻⁷ Abortus vakaları üzerinde yapılan etyolojik çalışmalar triploidi, 13, 16, 18 ve 21. kromozom trizomileri ve X monozomi olgularının sıklıkla bulunduğunu ve bunları tetraploidi ve yapısal kromozom anomalilerinin izlediğini göstermiştir.⁸

Etyoloji göz önüne alındığında pediatri hastalarının en belirgin endikasyonları bir kromozomal sendromla uyumlu dismorfik özellikler, multiple konjenital malformasyon, açıklanamayan mental-motor retardasyon, mozaikizm kuşkusu, nedeni bilinmeyen büyüme ya da seksüel gelişme anomalileri, frajilite sendromlarının belirlenmesi, hematolojik malignansiler sayılabilir.⁵

Postnatal değerlendirmeler sonucu elde edilen veriler yaklaşık olarak her canlı doğum için Trizomi 13'ün (Patau sendromu) 1/5000, trizomi 18'in (Edward sendromu) 1/3000, trizomi 21'in (Down sendromu) 1/700 görüldüğünü göstermektedir.⁹⁻¹¹ Cinsiyet kromozomlarının trizomileri ise daha sık olarak yaklaşık 1/800 görülürler. Monozomi X (45, X karyotipi; Turner sendromu) gebelik sırasında görülen anomalilerin yaklaşık %5'ini oluşturur. Monozomi X'li 40 zigotun sadece biri doğmak üzere gelişecektir. Turner sendromunun fenotipik spektrumu çok geniştir.^{12,13} Kromozomlardaki yapısal değişiklikler ise kromozoma spesifik gen lokuslarını etkilediğinden belirli fenotiplerle ilişkilidirler.¹⁴

Kromozom anomalileri sitogenetik inceleme ile belirlenebilmektedir. Çalışmamızda kromozomal analiz endikasyonu taşıyan pediatrik hastaların major kromozom anomalisi yönünden sitogenetik değerlendirmesi yapılmıştır. Böylece kromozomal bozukluk sonucu ortaya çıktığı düşünülen vakaların etyolojisinin aydınlatılması, ailede tekrarlama risklerinin ortaya konulması ve hastanemiz için kromozom analizi endikasyonu taşıyan çocuk hastaların sitogenetik profillerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, pediatri kliniğinden son 2 yılda Genetik

Anabilim Dalı'na gönderilen ve fenotipik bozukluğu bulunan 204 çocuktan alınan periferik kan örneklerinin sitogenetik analizleri değerlendirildi. Kromozom anomalisi saptanan hastalarda ayrıntılı aile bilgilerine ulaşıldı ve olgular anne-baba yaşı, akraba evliliği, doğum fenotipik özellikleri ve genetik sonuçlar yönünden değerlendirildi.

Hastaların karyotipinin ortaya konulması için fitohemaglutinin (PHA) ile indüklenmiş periferik kan lenfositleri kullanılarak 72 saatlik lenfosit kültürü yapıldı. Kültür ortamı olarak Mc Coy's 5A Medium, Fetal Calf Serum, L-Glutamin, PHA ve Antibiyotik içeren besi yeri kullanıldı. Elde edilen kromozom preparatlarına G-bantlama yapıldı.^{15,16} İncelenen 20 metafazda saptanan karyotipler sonuç olarak verildi.

İstatistiksel değerlendirmede kromozomal düzensizliklere ilişkin veriler literatür bilgileri ışığında yüzde hesaplanarak verildi.

BULGULAR

Laboratuvarımıza sitogenetik analiz amaçlı gönderilen pediatrik hastaların yıllara göre dağılımı Tablo 1 de gösterildi. Buna göre 2004 yılında sonuç verilen 59 hastanın 16'sında (%27,12), 2005 yılında 126 hastanın 35'inde (%27,7) ve 2006 yılının ilk üç ayında ise 19 hastanın 6'sında (%31,58) major kromozom anomalisi saptandı.

Toplam 44 çocuğa Down sendromu tanısı kondu. Bunlardan 42'sinde klasik trizomi 21, 2'sinde mozaik trizomi 21 vardı. Bir çocukta mozaik trizomi 8 saptanırken 4 çocuğa Patau sendromu (47, XX/XY, +13) 1 çocuğa Edwards sendromu (47, XX,+18) ve 6 çocuğa ise Turner sendromu (45,X) tanısı kondu, yine 1 çocukta inv(9)(p11;q13) olgusuna rastlandı. Kromozom anomalisi gösteren vakalarda ayrıntılı kişisel ve anneye ait bilgilere ulaşıldı. Buna göre ileri anne yaşı özellikle Down sendromlu olgularda içinde belirgin bulundu ve toplam değer %70,2 olarak belirlendi (Tablo 2). Kromozom anomalisi gösteren vakaların fenotipik özellikleri ve diğer eşlik eden önemli dismorfik özellikler Tablo 3'de verildi. Tüm olgular içinde 19 vakada (%43,2) konjenital kalp anomalileri (8 USD, 6 VSD ve 5 USD+VSD) gözlemlendi. Down sendromlu olguların çoğunda mongoloid yüz, epikantal kıvrım, hipertelorizm, simian çizgisi, basık burun ve mikrosefali gibi fenotipik özelliklerin yanı sıra 9 vakada akciğer enfeksiyonu gelişmişti (Tablo 3 a). Trizomi 13 ve trizomi 18 vakalarında multiple konjenital anomalilere eşlik eden çeşitli sistemik bozukluklar izlendi (Tablo 3 b ve c). Mozaik trizomi 8 ön tanılı hastada (12 yaş, ♀)

Tablo 1. Sitogenetik analizi yapılan pediatri hastalarının yıllara göre dağılımı

	Toplam hasta	Normal karyotipli hasta	Anomalili hasta	%	Anomaliler					
					Down sendromu	Trizomi 13	Trizomi 18	Trizomi 8	Turner sendromu	inv(9) (p11;q13)
2004	59	43	16	27,12	14 (10♂,4♀)	2 (1♂,1♀)	-	-	-	-
2005	126	91	35	27,77	25(11♂,14♀)	2 (1♂,1♀)	1(♀)	1(♀)	5	1(♂)
2006	19	13	6	31,58	5 (3♂,2♀)	-	-	-	1	-
Toplam	204	147	57	27,94	44 (%21,57)	4 (%1,96)	1 (%0,49)	1 (%0,49)	6 (%2,94)	1 (%0,49)

Tablo 2. Kromozom anomalisi gösteren olgularda anneye ait özellikler

	İleri anne yaşı	Ailede kalıtsal hastalık öyküsü	Tekrarlayan düşük-ölü doğum öyküsü	Akraba evliliği
Down sendromu	37	1	2	3
Trizomi 13	2	-	1	-
Trizomi 18	1	-	-	-
Toplam	40 (%70,20)	1 (%1,75)	3 (%5,26)	3 (%5,26)

karyotip sonucu 46,XX [21]; 47,XX,+8 [54] olarak saptandı. Bu hastanın klinik muayene kayıtlarında uzun silindir gövde ve dar pelvis bulgularının yanı sıra hafif mental retardasyon, hipertelorizm, ve alt dudak anomalisi olduğu belirlendi. Turner sendromu tanısı konan hastalar tipik klinik bulgular gösterirken bir vakada ayrıca doğumsal kalp defekti (VSD) gözlemlendi.

TARTIŞMA

Kromozomal hastalıkların spontan düşük, ölü doğum, doğumsal defektler, zeka geriliği, büyüme-gelişme geriliği, anormal seksüel gelişim, fertilitate azalması hatta infertilite, malignansi etyolojisinde rol alması ve insidanslarının yüksek olması bu hastalık grubunu oldukça önemli bir konuma getirmiştir.

Konjenital anomalinin, genetik ve/veya çevresel etmenlere (teratojenler) bağlı olabileceği unutulmamalıdır. Doğumsal anomaliler genelde intrauterin yaşamın ilk üç ayında oluşurlar.⁴ Doğumsal defektli hastalarda kromozom aberasyon oranı, defektin yapısına ve diğer majör yapısal defektlerin varlığına bağlı olarak değişmektedir.¹⁷ Bu bireylerde kromozomal anomali oranı %6 kadardır. Otozomal anomalilerin çoğu doğumla birlikte belirlenebilirken seks kromozomu anomalileri (Turner sendromu hariç) genellikle puberteye kadar teşhis edilememektedir. Dengeli anomaliler, ancak taşıyıcı konumundaki anne-babanın dengesiz kromozomal yapı gösteren bir çocuk sahibi olmaları ya da aile çalışmaları sırasında anlaşılabilir.

Tablo 3. Kromozom anomalisi gösteren olguların fenotipik özellikleri ve eşlik eden dismorfik anomaliler

Tablo 3 a	Başlıca Klinik Bulgular							Enf.
DOWN SENDROMU	Mongoloid yüz	Epikantal kıvrım	Hiper-telorizm	Basık burun	Mikrosefali	Simian çizgisi	Kalp defektleri	
Hasta sayısı	26	24	30	28	21	22	13	9

Tablo 3 b	TRİZOMİ 13							Enf.
	mikrosefali	mikroftalmi	Kalp defektleri	Yarı dudak/damak	Göz-kulak anomalisi	polidaktili	kriptorşizim	
1. hasta (♀) 2 aylık	+	+	+	-	+	+	-	
2. hasta (♂) 13 günlük	+	+	+	+	+	+	-	
3. hasta (♂) 2 aylık (ex)	+	+	+	+	+	+	-	
4. hasta (♀) 2 aylık (ex)	+	+	+	-	+	-	+	

Tablo 3 c	TRİZOMİ 18						
	mikrognati	mikrosefali	Kalp defektleri	hipertoni	göz-kulak anomalisi	El-ayak anomalisi	Fleksif parmaklar
1 aylık (♀) (ex)	+	+	+	+	+	+	+

Postnatal periferik kan örnekleri üzerine yaptığımız sitogenetik çalışmalarımızda kromozom aberasyon

oranı %28.4 olarak bulundu. Dünya sağlık örgütüne göre 1000 çocuktan 7'si kromozom anomalilidir. Ancak bu oran ülkelere göre farklılık göstermektedir. Yenidoğan bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada kromozomal anomali sıklığı %0.85 olarak tespit edilmiş¹⁸ daha az bireyle yapılan bir başka çalışmada ise bu oran %13 olarak bildirilmiştir.¹⁹ Küba'da 1986-1999 yılları arasında doğumsal defektli 5819 bireylerde kromozom anomalisi oranı ise %23 olarak rapor edilmiştir.²⁰

Çalışmamız epidemiyolojik bir araştırma değildir. Bu nedenle sadece konjenital anomalisi ve kromozomal aberasyon şüphesi olan bireylerin çalışıldığı bu çalışmada bu değer beklenenin altındadır. Bu durum ise patolojik olarak anlamlı bulmadığımız minör kromozom varyantlarını değerlendirmeye almamızla açıklanabilir.

En sık rastlanan öploidi olgularından olan Down sendromu, çalışmamızda da en çok gözlenen anomali olmuştur (%21,57). Down sendromunun etyolojisinde en önemli faktör olarak düşünülen mayoz bölünmedeki kromozom ayrılmaması olayı, ileri anne yaşı ile ilişkilendirilmektedir.²¹ Çalışmamızda 37 trizomi-21 vakasında 35 yaş ve üzeri anne yaşı anlamlı bulunmuştur. Ebeveynlerden birinin veya her ikisinin dengeli translokasyon (Robertsonian translokasyon) taşıyıcısı olması da özellikle translokasyon tipi Down sendromu [46,XX/XY,t(14q;21q)] oluşma sıklığını artırmaktadır. Translokasyon tipi Down sendromu tanısı koyduğumuz hasta olmadığı için ebeveynlerden kromozom analizi yapılmamıştır. Trizomi 8 mozaizmi çok nadir görülür. Mozaik trizomi 8 tanısı koyduğumuz hastada hafif mental retardasyon, hipertelorizm ve alt dudak anomalisi dikkati çekerken dar pelvis yapısına bağlı olarak genitoüriner anomaliler saptandı. Kromozomal mozaizim olgularında hastalığın fenotipik ifadesi mozaizim derecesine bağlı olarak değişmektedir.

Akraba evliliği ile kromozomal hastalık oluşumu arasında doğrudan bir ilişki olmamasına karşın doğumsal kusurların bir kısmına eşlik eden multifaktöryel kalıtsal hastalıklarda akraba evliliğinin hastalık riskini artırdığı bilinmektedir. Çalışmamızda 3 vakada 1. derece akraba evliliği saptandı.

Çocukluk çağı hastalıklarının önemli kısmını oluşturan genetik hastalıklarda tedavinin çoğunlukla sınırlı olması nedeniyle genetik danışmanlık oldukça önemlidir. Tekrar riskini belirleyebilmek, genetik danışma verebilmek ve aileye sonraki gebeliklerde yardımcı olabilmek için kesin tanı şarttır. Bu çalışma, periferik kan kromozom analizini gerektiren vakaların etyolojisinin aydınlatılması, ailede tekrarlama risklerinin ortaya konulması ve sonraki gebeliklerde prenatal tanı yöntemleri de dahil olmak üzere gerekli girişim ve yaklaşımların saptanması açısından anlamlıdır.

KAYNAKLAR

1. Therman E, Susman M. Human Chromosomes. Structure, Behavior and Effects. 3rd ed, New York-Heidelberg:Springer, 1993.
2. Jacobs PA, Hassold TJ. The origin numerical chromosome abnormalities. Adv. Genet. 1995; 33:101-133.
3. Başaran N, Tibbi Genetik (Ders Kitabı) 7. Baskı, Güneş&Nobel Tıp Kitabevi; 1999;161-18.
4. Baumann C, Heron D. Dysmorphic syndromes at birth: what to do? Arch Pediatr 2001, 8(9):1000-5.
5. Rimoin DL, Connor JM, Pyeritz RE. Principles and practice of medical genetics, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone Inc; 1997, 1114-6.
6. Nagaishi M, Yamamoto T, Iinuma K, Shimomura K, Berend SA, Knops J. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan, J Obstet Gynaecol Res 2004, 30(3):237-41.
7. Menasha J, Levy B, Hirschhorn K, Kadron NB. Incidence and spectrum of chromosome abnormalities in spontaneous abortions:new insights from a 12-year study, Genet Med. 2005;7(4): 251-63.
8. Cernach MC, Patricio FR, Galera MF, Moron AF, Brunoni D. Evaluation of a protocol for postmortem examination of stillbirths and neonatal deaths with congenital anomalies, Pediatr Dev Pathol 2004, 7(4): 335-41.
9. Rasmussen SA, Wong LY, Yang Q, May KM, Friedman JM. Population-based analyses of mortality in trisomy 13 and trisomy 18, Pediatrics 2003, 111(4Pt1):777-84.
10. Mokhtar MM, Abd el-Aziz AM, Nazmy NA, Mahrous HS. Cytogenetic profile of Down Syndrome in Alexandria, Egypt, East Mediterr Health J, 2003, 9(1-2): 37-44.
11. Ahmed I, Ghafoor T, Samore NA, Chattha MN. Down syndrome: clinical and cytogenetic analysis, J Coll Physicians Surg Pak 2005, 15(7): 426-9.
12. Kamischke A, Baumgardt A, Horst J, Nieschlag E. Clinical and diagnostic features of patients with suspected Klinefelter syndrome. J. Androl 2003;24: 41-8.
13. Massa G, Verlinda F, De Schepper J, et al. Trends in age at diagnosis of Turner syndrome, Arch Dis Child 2005, 90(3): 267-8.
14. Shaffer LG, Lupski JR. Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans, Annu Rev Genet 2000, 34: 297-329.
15. Şaylı BS. Medikal Sitogenetik. Yargıçoğlu, Ankara, 168-71, 1986.
16. Lüleci G, Başaran S. Sitogenetik uygulama yöntemleri, Meteksan, Ankara, 1990.
17. Forrester MB, Merz RD. Impact of excluding cases with known chromosomal abnormalities on the prevalence of structural birth defects, Hawaii, 1986-1999, Am J Med Genet A. 2004, 128(4): 383-8.
18. Neilsen J, Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in arhus. Hum Genet 1991, 87: 81-3.
19. Badovinac AR, Tomjanovic AB, Stracevic N. Chromosome studies in patients with defective reproductive success, AJRI 2000, 44: 279-83.
20. Mathias B, Forrester and Ruth D. Merz, Impact of excluding cases with known chromosomal abnormalities on the prevalence of structural birth defects, Hawaii, 1986-1999, Am.J. Med. Genet., 2004, 128A: 383-388.
21. Mathias B, Forrester and Ruth D. Merz, Maternal age-specific down syndrome rates by maternal race/ethnicity, Hawaii, 1986-2000., Birth Defects Research (Part A), 2003, 625-629.

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç.Dr. Şengül Yüksel
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Malatya