

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI



İNTRAUTERİN GEBELİK KAYIPLARI OLAN ÇİFTLERDE FETAL  
MATERYALLERİNİN MOLEKÜLER ETİYOLOJİK SEBEPLER  
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK MİKRODİZİN  
(MikroArray-CGH) YÖNTEMİ İLE ANALİZLERİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. BARIŞ PAKSOY

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. ÖZTÜRK ÖZDEMİR

Çanakkale / 2018

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**İNTRAUTERİN GEBELİK KAYIPLARI OLAN ÇİFTLERDE FETAL  
MATERYALLERİNİN MOLEKÜLER ETİYOLOJİK SEBEPLER  
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK MİKRODİZİN  
(MikroArray-CGH) YÖNTEMİ İLE ANALİZLERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. BARIŞ PAKSOY**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. ÖZTÜRK ÖZDEMİR**

**Çanakkale / 2018**

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı uzmanlık eğitimi  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Arş. Gör. Dr. Barış PAKSOY 'un Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13.10.2018

TEZ KONU BAŞLIĞI

"İNTRAUTERİN GEBELİK KAYIPLARI OLAN ÇİFTLERDE FETAL MATERYALLERİNİN  
MOLEKÜLER ETİYOLOJİK SEBEPLER AÇISINDAN KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK  
MİKRODİZİN (MikroArray-CGH) YÖNTEMİ İLE ANALİZLERİ"

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Tez Jürisi Üyeleri:

Adı Soyadı  
Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Prof. Dr. Fatma SILAN

Doç.Dr. COŞKUN SILAN

ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki

jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim

Kurulunun 17.105.12018 tarih ve 20.../3.. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tamer DEMİR

Dekan

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde beni yönlendiren, her konuda bana yardımcı olan, uzmanlık tezimin hazırlanmasında bilgisi ve sabrı ile her zaman yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR' e çok teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimimde bilgi ve önerileri ile beni yönlendirerek destek olan, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli meslektaşlarım Asistan Dr. Mine URFALI, Asistan Dr. Onur YILDIZ, Asistan Dr. Taner KARAKAYA, ve laboratuvar uygulamalarım sırasında emeği geçen Şengül TÜRÜNZ' e, Duygu KANKAYA' ya Diğdem UYSAL' a, Gaye ACAR' a, Hülya HAS' a, Merve ORDU' ya çok teşekkür ederim.

Her zaman ve her durumda yanımda olan ve olacağını bildiğim canım eşim Belgin Akcan PAKSOY'a ve canım, sevgili oğlum Can PAKSOY'a ve son olarakta beni ben yapan özellikleri katan, tarifi zor büyüklükte sevgi ve emekleri ile bana destek olmuş olan annem Nezahat PAKSOY'a, ve babam Nafiz PAKSOY'a ve doğruluğu ve dürüst olmayı öğreten büyük babalarım Hüseyin PAKSOY'a ve Mehmet DEMİRCİOĞLU'na teşekkür ediyorum.

Dr. Barış PAKSOY

Nisan 2018

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** İntrauterin fetal kayıplarda başta genetik olmak üzere birden fazla etiyolojik sebep bildirilmekle birlikte olguların çok büyük bir oranında (~%60) kesin etiyolojik neden tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada; fetal dönem gebelik kayıpları olan çiftlerde fetüs materyallerinin array komperatif genomik hibridizasyon (aCGH) yöntemi ile analiz edilerek, moleküler genetik etiyolojik sebeplerin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu temel amaç doğrultusunda, özellikle embriyonal dönem hücre bölünmesi, doku farklılaşmasında görev alan gen/genler ve gen ailelerinde olası kopya sayısı varyasyonları (CNV), yapısal değişimlerin (delesyon ve/veya duplikasyonlar) ileri düzeyde tespit edilerek konu ile ilgili güncel literatür verileri ile tartışılması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Mevcut retrospektif araştırma projesinde, 2016-2018 yılları arasında Tıbbi Genetik laboratuvarına gebelik kaybı sebebiyle başvuran çiftlere ait toplam 39 adet fetal tahliye materyali analiz edilmiştir. Araştırmaya dahil edilen her bir materyale ait solid dokudan Qiagen kiti kullanılarak hedef genler açısından genotiplendirmede kullanılmak üzere total genomik Deoksiribo Nükleik Asit (DNA) izole edilmiş ve olgulara ait DNA bankası oluşturulmuştur. Fetal kayıplara ait genomik DNA'lar daha sonra kromozomal mikroarray-CGH yöntemi ile (aCGH, 60 K ISCA dizayn, Agilent, Germany) moleküler etiyolojik sebepler açısından genotiplendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, yine kit ile birlikte sağlanan referans DNA sonuçları ile karşılaştırılmıştır. Olgu ve referans DNA lara ait hibridize prob korelasyonları intrauterin kayıplarla ilişkili toplam 54 fonksiyonel gen CNV'ler açısından genomik varyasyon analizinde kullanılan veri tabanları (Database of Genomic Variants Analysis) ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** Araştırma kapsamında analiz edilen toplam 39 fetal materyalin 32 tanesinde (%82.05) CNV tespit edilmiştir. Saptanan CNV'lerin bazı olgularda duplikasyon şekline (%55), bazılarında delesyon (% 45) şeklinde oldukları saptanmıştır. Değerlendirilen toplam 54 genin 19'unda (%35) delesyon, 26 tanesinde (%48) duplikasyon saptanırken toplam 3 tanesinde ise (%6) hem

delesyon ve hemde duplikasyon saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız, diğer otozom kromozomlar yanısıra (1,2,3,4,5,7,8,10,12,13,14,15,20) intrauterin kayıplarda en fazla tutulumun X kromozomunda olduğunu ortaya koymuştur. Saptanan CNV'lerin yaygın olarak heterozigot allel tipinde ve duplikasyonlar şeklinde olduğu saptandı. Çalışmamızda, fetal kayıp etiolojisi açısından sırasıyla COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 gen CNV'lerinin daha sık olduğu saptanmıştır.

**Tartışma ve Sonuç:** Sınırlı sayıda fetal materyalin analiz edildiği araştırma sonuçları, başta X kromozomu olmak üzere farklı otozom kromozomlar üzerine lokalize fonksiyon genlerde meydana gelen delesyon, duplikasyon gibi yapısal kopya sayısı varyasyonlarının intrauterin kayıplarda önemli moleküler etiolojik sebepler olduğunu ortaya koymuştur. Toplam 54 farklı gene ait analizlerinin yapıldığı mevcut sonuçlarda özellikle embriyonal dönem hücre bölünmesi, doku farklılaşmasında görev alan gen ve/veya genlerde tutulumlarının daha yaygın olduğu saptanmıştır. Bu fonksiyonel genlerden özellikle COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 genlerde yapısal mutasyonların daha sık olduğu ortaya konmuştur. Araştırma sonuçlarının çok sayıda olgunun dahil edildiği ve daha kapsamlı gen profillemesinin yapıldığı ileri araştırmalar tarafından desteklenmesi ve bu doğrultuda özellikle tekrarlı intrauterin kaybı olan çiftlerin sağlıklı çocuk sahibi olmaları için yönlendirildikleri in vitro fertilizasyon vb gibi ihtiyaç duyulan yardımcı üreme tekniklerinden daha etkin yararlanmalarına akademik ve profesyonel katkı sağlanabileceği düşünülmüştür.

**Anahtar kelimeler:** İntrauterin fetal kayıplar; moleküler etiolojik sebepler; aCGH; CNV

THE ANALYSIS OF FETAL MATERIALS FOR MOLECULAR ETHIOLOGICAL  
PARAMETERS IN COUPLES WITH INTRAUTERINE PREGNANCY LOSS BY  
COMPERATIVE GENOMIC HYBRIDISATION (MicroArray-CGH) TECHNIQUE

## SUMMARY

### **Objective and aim:**

Although intrauterine fetal losses have been reported with more than one etiologial cause, mainly genetic, a definite etiologic cause has not been elucidated at a great rate (60%) of the cases. In this study; it is aimed to analyze fetal materials with array comperative genomic hybridization (aCGH) method in couples with fetal death and to reveal molecular genetic etiologial causes. In accordance with this purpose, it is aimed to determine the possible copy number variation (CNV), structural changes (deletions and / or duplications) in the genes / genes and gene families involved in embryonic cell division, tissue differentiation, intended.

### **Method:**

In the current retrospective study, a total of 39 fetal materials from couples who applied due to pregnancy loss to the Medical Genetics Laboratory between 2016 and 2018 were analyzed. Total genomic deoxyribonucleic acid (DNA) was isolated from the solid tissue of each material included in the study to be used for genotyping in terms of target genes using Qiagen kit and a DNA bank of cases was formed. The genomic DNA of the fetal loss was then genotyped for chromosomal microarray-CGH (aCGH, 60 K ISCA design, Agilent, Germany) in terms of molecular etiology. The results were compared with the reference DNA results provided with the kit. The correlations of the hybridization probes of the case and reference DNAs were evaluated by using the database of genomic variation analysis for the total 54 functional gene CNVs associated with fetal death.

### **Results:**

Copy number variation was detected in 32 (82.05%) of 39 fetal material analyzed in the study. The detected CNVs were duplication (55%) and deletion (45%) in some cases. Deletions in 19 (35%) and Duplications in 26 (48%) of the

total 54 genes evaluated were detected, while deletion and duplication were detected in 3 (6%). Our results showed that, besides other autosomal chromosomes (1,2,3,4,5,7,8,10,12,13,14,15,20), the most involvement in fetal death is in the X chromosome. The CNVs detected are commonly heterozygous allele types and duplications. In this study, COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN and SIX3 gene CNV were found to be more frequent in terms of fetal loss etiology.

### **Conclusion:**

The results of analysis of a limited number of fetal material have revealed that structural copy number variations such as deletion and duplication occurring in localized function genes on different chromosomes, mainly X chromosomes, are important molecular etiologic factors in intrauterine losses. In the results of analysis of a total of 54 different genes, it has been determined that especially the embryonic phase cell division, involvement in genes and / or genes involved in tissue differentiation is prevalent. Structural mutations are more frequent in these functional genes, especially in COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN and SIX3 genes. It is thought that the results of the research are supported by the advanced researches in which a large number of cases are included and more extensive gene profiling has been done and in this direction it is thought that couples with a recurrent pregnancy loss can provide academic and professional contribution to make more effective use of assisted reproductive technologies such as In vitro fertilization (IVF) etc. which are directed to have healthy children.

**Key words:** Intrauterine fetal death; molecular etiological reasons; aCGH; CNV



# İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar .....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Fetal Kayıp .....	3
2.1.1 İnsidans .....	3
2.1.2. Etiyoloji .....	4
2.1.3 Fetal kayıp açısından risk altındaki gebeliklerin tespiti .....	16
2.1.4 Fetal kayıpları önlemek için yapılması gerekenler .....	17
2.1.5 Fetal kayıpların değerlendirilmesi .....	18
2.2 Genetik inceleme için örnek toplama prosedürleri.....	20
2.3 Fetal kayıpları incelemede kullanılan genetik yöntemler.....	20
2.3.1 Kromozom analizi .....	21
2.3.2 FISH .....	23
2.3.3 Array CGH .....	26
2.4 Kopya sayısı değişikliklerinin analizi ve yorumlanması .....	28
2.5 aCGH analizinde kullanılan internet veri tabanları .....	29
2.6 CNV'lerin değerlendirilmesi (83).....	31
2.7 Array CGH'in avantajları .....	32
2.8 Array CGH'in sınırlılıkları.....	33
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	34
3.1 Genomik DNA izolasyonu .....	36
3.2 Array CGH Metodu ve Uygulanması .....	37
3.2.1 Genomik DNA'nın Nicel ve Kantitatif Analizi .....	38
3.2.2. DNA'nın Restriksiyon enzimleri ile Kesim işlemi.....	38
3.2.3 Cyanin boyası ile işaretlenmesi işlemi .....	39

3.2.4. Saflaştırma aşaması.....	40
3.2.5 Vakum Konsantratör.....	40
3.2.6. Hibridizasyon basamağı.....	41
3.2.7. Örneklerin array cam slaytları üzerine yüklenmesi.....	41
3.2.8. Kasetlerin fırına yerleştirilmesi.....	42
3.2.9 Hibridizasyon sonrası slayt yıkama basamağı.....	42
3.2.10 Slaytların scanner ile tarama aşaması.....	43
3.2.11 Tarama sonrası ham datanın analize hazırlanması .....	43
4. BULGULAR .....	46
4.1 Olguların demografik özellikleri .....	46
4.2 Maternal trombofil mutasyon analizi sonuçları.....	47
4.3 Olgularda görülen CNV değişiklikleri ve özellikleri.....	48
4.4 Olguların klinik özellikleri ve Olgularda saptanan CNV değişiklikleri .....	64
5. TARTIŞMA .....	93
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	110
KAYNAKLAR.....	114
ÖZGEÇMİŞ.....	124

## KISALTMALAR VE SİMGELER

<b>aCGH</b>	Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (array comparative genomic hybridization)
<b>CA</b>	Konjenital anomali (congenital anomaly)
<b>CGH</b>	Komperatif genomik hibridizasyon (Comparative genomic hybridization)
<b>CNS</b>	Santral Sinir Sistemi (Central Nervous System)
<b>CNV</b>	Kopya sayısı değişikliği (Copy Number Variation)
<b>CVS</b>	Koryon Villüs Örnekleme (Chorionic Villus Sampling)
<b>DGV</b>	Genetik değişkenlerin veritabanı (Database of genomics variants)
<b>DM</b>	Şeker hastalığı (Diabetes Mellitus)
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit (Deoxyribose Nucleic Acid)
<b>FISH</b>	Floresan insitu hibridizasyon (Fluorescence In Situ Hybridization)
<b>ISCN</b>	Uluslararası kromozom sınıflandırma sistemi (Internationally Accepted System of Chromosome Classification)
<b>IVF</b>	Tüp bebek tedavisi (In Vitro Fertilization)
<b>Kb</b>	Kilobaz (kilobase)
<b>LOH</b>	Heterozigosite kaybı (Loss of heterozygosity)
<b>Mb</b>	Megabaz (Megabase)
<b>MLPA</b>	Çoklu prob bağlanmasına dayalı çoğaltma (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification)
<b>PPROM</b>	Membranların erken ve matüre olmayan açılması (Preterm Premature Rupture of Membranes)
<b>RPKM</b>	Reads Per Kilobase per Million mapped reads- haritalanmış her milyon okumada kilobaz okuma değeri
<b>SAB</b>	Spontan Abortus (Spontane abortion)
<b>SGA</b>	Small for Gestasyonel Age (Haftasına göre düşük ağırlıklı)
<b>SIDS</b>	Ani bebek ölüm sendromu (Sudden infant death syndrome)
<b>SLE</b>	Sistemik lupus eritamotosis (Systemic lupus erythematosis)
<b>TSH</b>	Tiroid stimüle edici hormon (Thyroid stimulating hormone)
<b>QF-PCR</b>	Kantitatif floresan polimerize zincir reaksiyonu (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction)
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü ( World Health Organization)

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 2.1.</b> Analizi hazırlanmış metafaz görüntüsü.....	23
<b>Şekil 2.2.</b> Karyotipleme yapılmış bir örnek; 46,XY .....	23
<b>Şekil 2.3.</b> Kromozom X anoploidisini saptamak amacı ile floresan işaretli sentromerik prob uygulanmış bir olguya ait metafaz ve interfaz hücre profilleri. ....	25
<b>Şekil 2.4.</b> X ve Y kromozomlarına ait spesifik problemlerin kullanılarak seks kromozom aberasyonlarının analiz edildiği bir olgumuza ait FISH profilleri .....	25
<b>Şekil 2.5:</b> Array CGH temel bilgileri.....	28
<b>Şekil 3.1.</b> aCGH tarayıcı-fırın malzemeleri.....	35
<b>Şekil 3.4.</b> CNV'lerin kromozomal dağılımı ve tipi .....	.....
<b>Şekil 4.2.</b> Olgu 1'e ait 22. kromozomda görülen aCGH delesyon görüntüsü...65	65
<b>Şekil 4.3.</b> Olgu 2'ye ait NR2F2 geni aCGH duplikasyon görüntüsü.....	66
<b>Şekil 4.4.</b> Olgu 3'e ait X kromozomunda q21.1 lokusunda ATRX, COX7B, ATP7A genlerini içeren kayıp görüntüsü .....	67
<b>Şekil 4.5.</b> Olgu 4'e ait 3. Kromozom q24 lokusunda ZIC1 delesyonu.....	68
<b>Şekil 4.6.</b> Olgu 6'ya ait 12. Kromozom q24.21 lokusunda TBX3, TBX5 genine ait duplikasyon görüntüsü .....	70
<b>Şekil 4.7.</b> Olgu 7'ye ait DSPP, DMP1, PKD2 genlerine ait aCGH duplikasyonu(ok) görüntüsü .....	71
<b>Şekil 4.8.</b> Olgu 9'ye ait FMR1 genlerine ait aCGH duplikasyonu görüntüsü...72	72
<b>Şekil 4.9.</b> Olgu 10'a ait MECP2 genine ait aCGHdelesyonu görüntüsü.....	73
<b>Şekil 4.10.</b> Olgu 11'e ait PRPS1 genine ait aCGHdelesyonu görüntüsü .....	74
<b>Şekil 4.11.</b> Olgu 14'e ait HSD17B10 genine ait aCGH delesyonu görüntüsü(ok).....	76
<b>Şekil 4.12.</b> Olgu 17'ye ait JAG1 genine ait aCGHkazanç görüntüsü .....	78
<b>Şekil 4.13.</b> Olgu 20'ye ait ZIC1 genine ait aCGHduplikasyon görüntüsü.....	80
<b>Şekil 4.14.</b> Olgu 26'ye ait ATP8A2 genine ait aCGHkazanç görüntüsü.....	83
<b>Şekil 4.15.</b> Olgu 27'ye ait 1. Kromozom p13.3 lokusundaki 879 Kb'lik GNAI3, AMPD2 genine ait delesyon aCGH görüntüsü .....	84
<b>Şekil 4.16.</b> Olgu 32'ye ait X. Kromozom q13.1 lokusundaki TAF1 geni delesyonu aCGH görüntüsü .....	87
<b>Şekil 4.17.</b> Olgu 34'e ait 2. Kromozom q31.1 lokusundaki HOXD13 geni duplikasyon aCGH görüntüsü.....	89
<b>Şekil 5.1.</b> Solda analiz sonucu anormal çıkan olguların Qf-PCR ve aCGH ile saptanma oranları görüntüsü, sağda 330 fetüsün aCGH sonuçları görüntüsü.....	98
<b>Şekil 5.2:</b> Gebelik trimesterine göre patojenite dağılımı .....	99
<b>Şekil 5.3.</b> Fetal kayıp etiolojisini içeren literatür çalışmaları ve CNV sonuçları .....	102
<b>Şekil 5.4.</b> Çalışmamızda saptanan en sık gen CNV tipleri .....	103

<b>Şekil 5.5.</b> NEXN geni doku ekspresyon grafiği.....	104
<b>Şekil 5.6.</b> SIX3 geni doku ekspresyon grafiği.....	104
<b>Şekil 5.7.</b> ZIC1 geni doku ekspresyon grafiği.....	105
<b>Şekil 5.8.</b> JAG1 gen-gen ilişkisi .....	107
<b>Şekil 5.9.</b> alışmamızda aCGH ve FISH tetkikleri sonucunda patojen bulgu saptanan olgu sayıları .....	109



## TABLULAR

<b>Tablo 2.1.</b> Fetal kayıplarda genel etiyolojik faktörler. ....	4
<b>Tablo 2.2.</b> Fetal kayıp açısından risk faktörleri.....	16
<b>Tablo 2.3.</b> Fetal kayıpları önlemek için önerilen strateji uygulamaları .....	17
<b>Tablo 2.4.</b> Fetal kayıpların değerlendirilmesinde kullanılan testler .....	19
<b>Tablo 2.5.</b> Kromozom ve genom analizinde kullanılan yöntemlerin çözünürlükleri .....	27
<b>Tablo 2.6.</b> CNV'leri değerlendirmede kullanılan veritabanları .....	29
<b>Tablo 3.1.</b> DNA kesim işlemi bileşenleri.....	38
<b>Tablo 3.2.</b> Floresan işlemi bileşenleri.....	39
<b>Tablo 3.3.</b> Hibridizasyon aşamasında kullanılan ajanlar .....	41
<b>Tablo 3.4.</b> Yıkama işlemi basamakları ve bileşenleri .....	42
<b>Tablo 3.5.</b> aCGH enzimatik etiketlendirme ölçümlerinin eşik değerleri.....	45
<b>Tablo 4.1.</b> Fetal kayıp olgularının klinik özellikleri .....	47
<b>Tablo 4.2.</b> Olguların aCGH analizi genel özellikleri .....	49
<b>Tablo 4.3.</b> Araştırma kapsamında analiz edilen fetal kayıplara ait FISH ve QF-PCR profilleri ve ebeveynlerine ait obstetrik öyküleri.....	50
<b>Tablo 4.4.</b> Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler, kromozomal lokalizasyonları, büyüklükleri ve neden oldukları patolojik durumlar .....	51
<b>Tablo 4.5.</b> Kromozomal Array-CGH analizleri yapılan fetal materyallerinde saptanan mutasyon tipi, kromozomal lokalizasyonu, büyüklüğü, başlama ve bitiş kodonlar ve gen –klinik ilişkileri .....	54
<b>Tablo 4.6.</b> Olgularda saptanan CNV'lerin kromozomlara göre dağılımı.....	62
<b>Tablo 5.1.</b> Fetal kaybın gerçekleştiği maternal yaşın yıllara göre değişimi.....	95
<b>Tablo 5.2.</b> aCGH temelli fetal kayıp etyolojisini içeren literatür çalışmaları ve CNV sonuçları .....	101

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelik kaybı doğurganlık çağındaki kadınların sık görülen sağlık sorunlarından birisidir. Gebelik kayıplarının çoğu sporadik olmakla birlikte, tekrarlayan gebelik kayıpları şeklinde de olabilmektedir. Gebe kalan her dört kadından birisi abortus yaşarken, tüm gebeliklerin yarısı term gebeliğe ulaşmadan önce kaybedilir.

Gebeliğe ait süreçlerin daha iyi anlaşılabilmesi için bu dönem hem gebelik hemde gelişen cenin dönemlere ayrılarak incelenmiştir. Son adet tarihinden 5. Haftaya kadar olan sürece preembriyonik dönem, 6-9 haftalar arasındaki sürece embriyonik dönem, 10. haftadan term doğuma kadar olan süreç ise fetal dönem olarak tanımlanmaktadır. Onuncu haftadan sonra (crown-rump length >30 mm ve fetal kardiak aktivite yokluğunda) fetal kayıp olarak tanımlanmaktadır (1). Stillbirth, fetal demise, fetal death, fetal ölüm terimleri fetal kayıp ile eş anlamlı olarak kullanılmaktadır.

Erken dönem gebelik kaybı (abortus) kadınlarda %31 oranında, geç dönem gebelik kayıpları (stillbirth) ise 5-32/1000 kadında görülmesiyle tüm çiftleri ilgilendiren bir sağlık sorunudur (2,3). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre 2000 yılından bu yana gebelik kayıplarındaki azalma oranı; maternal mortalite ve 5 yaş altı çocuk ölümlerindeki azalma oranıyla karşılaştırıldığında istatistiki iyileşme açısından geride kalmıştır. Sunulan sağlık hizmetleri sayesinde ve elde edilecek daha iyi çalışma verileri sayesinde 2030 yılına kadar fetal kayıp oranında azalma olacağı düşünülmektedir (4).

Fetal kayıpların etiyolojisini incelediğimizde başlıca sebepler arasında açıklanamayan faktörler, fetal büyüme geriliği, ablasyo plasenta, enfeksiyonlar, konjenital anomaliler, genetik anormallikler, maternal hastalıklar, sigara ve ilaç kullanımı, uterin anomalilerinin olduğu görülmektedir. Yaklaşık olarak %30 oranında sebebi açıklanamayan fetal kayıp ve %30 oranında genetik sebeplere bağlı fetal kayıp olduğu anlaşılmaktadır (5). Genetik sebepler arasında kromozomal bozukluklar önemli etiyolojik faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Gebelik kayıplarında fetüse kromozom analizi yapılması önerilmekte fakat kültür başarısı düşük (%45-65) olduğu için array-CGH bu vakalarda uygun moleküler

sitogenetik yöntem olarak öne çıkmaktadır. Ayrıca konvansiyonel sitogenetik inceleme (karyotip analizi) sınırlı sayıda sayısal kromozomal anormallik ve gross yapısal düzenlemeler hakkında bilgi verdiği için çoğu kez normal sonuç raporu elde edilmektedir (6). DNA MikroArray-CGH yönteminin yüksek dansitede tüm genomu 50-100 kilobaz hassasiyetinde taraması sayesinde tanı alan hasta sayısını artırdığını görmekteyiz.

Konvansiyonel sitogenetik analizde 550-1000 band düzeyinde analiz yapılabilmektedir (5-6 Mb'dan daha büyük yapısal kromozom anomalilerini ortaya koyabilmektedir). Ancak MikroArray-CGH yöntemi ile daha yüksek rezolüsyonda analiz yapma olanağını sunmaktadır.

aCGH yöntemi submikroskopik kromozomal abnormallikleri tespit etmede çok güçlü bir yöntem olup genomdaki CNV'lerin tespit edilmesini sağlayarak klinik açıdan önemli olan değişiklikleri ortaya koyacaktır. Biz bu çalışmamızda, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine gelen İntrauterin gebelik kayıpları olan çiftlerde fetal materyallerine yapılan Array-CGH yöntemiyle elde edilen verilerinin retrospektif olarak değerlendirilerek, kopya sayısı değişikliği içeren gen bölgeleri ile intrauterin gebelik kaybı (abortus ve fetal kayıp) arasındaki ilişkiyi belirlemeye dayalı bir çalışma planlamaktayız. Bu faydanın diğer hasta popülasyonların da klinik fayda sağlayarak hastaların tanı ve tedavisine yardımcı olacaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Fetal Kayıp

Fetal kayıp; fetüsün hayat belirtileri olmaksızın doğumunu ifade etmektedir. Onuncu gebelik haftasına kadar olan intrauterin gelişim dönemine embriyolojik dönem, onuncu gebelik haftasından term doğuma kadar olan intrauterin gelişim dönemine ise fetal dönem olarak tanımlanmaktadır (1).

Terminolojide fetal kayıp terimi; bazı sebeplerden dolayı komplike haldedir ve tanımının kafa karıştırıcı olduğu görülmektedir. Bunun sebebi ise embriyolojide onuncu haftadan itibaren fetal dönemin başladığı belirtilmekte beraber, dünya genelinde tanımlamaların farklı olması, fetal kayıp raporlama kriterlerinin farklı olması, doğum ağırlığı ile gebelik haftası uyumsuz olduğunda doğum ağırlığının hafta belirlemek için kriter olduğu çalışmalar, abortus sınırındaki olguların kullanıldığı durumlar, biometrik verilerin sağlıklı ölçülemediği gelişmekte olan ülkelerden gelen raporlar sebebiyle fetal kayıp terimi standartize olmadığı anlaşılmaktadır. Örneğin dünya genelinde stillbirth (fetal kayıp) terimi başlangıç haftası olarak  $\geq 16$  hafta ile  $\geq 28$ . hafta arasında, doğum ağırlığı ise  $\geq 400$  gramdan  $\geq 1000$  gram arasında farklı hafta ve doğum ağırlıklarının temel alındığı görülmektedir (7,8).

Sebebi açıklanamayan ve genetik sebeplere bağlı fetal kayıp oranı %60'a yakın bir oranda olmasından dolayı; doğru tanıya gitmek için klinisyenlerin anneye ve gebeliğe ait medikal özgeçmiş değerlendirmesi yapması, fetüsün ve plasentanın muayenesi, enfeksiyöz nedenleri ekarte etmek için mikrobiyolojik kültür çalışması yapması, dismorfik fetüslerde X-ray ile iskelet abnormalliklerinin incelenmesi ve genetik incelemenin yapılması, aileye genetik ve reproduktif yönde danışma verilmesi önerilmektedir (9).

#### 2.1.1 İnsidans

Fetal kayıp insidansını etkileyen faktörler Tablo 2.1'de sunulmuştur. Dünya sağlık örgütünün bültenlerine bakıldığı zaman, gelişmiş ülkelerin çocuk ölümlerinde azalma sağlayabildikleri halde fetal mortalite de hedefledikleri başarıyı sağlayamadıkları görülmektedir. Hala fetal ölüm oranları infant ölüm oranlarından daha yüksektir. Tarihsel verilere bakıldığında 1750'li yıllardan

itibaren fetal kayıp oranı 60/1000 doğum oranına kadar yükselen trend eğilimi gösterdiği, bu trendin 1940'lı yıllar itibari ile keskin bir azalma gösterdiği ve 21.yüzyıla beraber 3/1000 doğuma kadar düştüğü anlaşılmaktadır (10).

1950'li yıllardan 1980'li yıllara kadar preeklamsi, diabet ve Rh immünizasyonu tedavisindeki gelişmeler sayesinde fetal kayıp oranları azalma göstermiştir. Fakat son 20 yıldır fetal kayıp oranında azalma görece olarak plato çizmiş ve 2002 yılındaki 6.2/1000 doğum oranında seyretmiş olup aynı dönemde infant ölüm oranı %30 oranında azalmıştır (8).

Bir başka derlemede, aralarında Türkiye'den verilerinde bulunduğu 27 popülasyon çalışmasını analiz ederek fetal kayıpların epidemiyolojik verilerini ortaya koymaya çalışmış ve fetal ölüm oranının tespit etmenin güçlüğünü sebepleriyle beraber açıklamıştır. Derlemede değerlendirilen çalışmaların fetal kayıp tanımlamalarının farklı olması hatta 11 çalışmanın fetal kayıp tanımlaması yapmaması, çalışmaya katılan hastaların sosyo-ekonomik durumlarının farklı olması, evde doğumların yaygın olduğu ülkelerde bebeğin postnatal mı prenatal mı öldüğünün net olarak raporlanamaması, gelişmiş ülkelerde diagnostik görüntüleme yöntemlerinin erken tanıya imkan vermesi gelişmekte olan ülkelerde ise fetal ölüm tespitinin fetal hareketlerin yokluğu sonucu yada doğumun başlaması sonrası anlaşılması istatistiki verileri etkilemiştir. Fetal kayıp oranının 1.5/1000 ile 100/1000 aralığında olduğu, çoğu çalışmanın fetal kayıp oranını 20/1000 olarak rapor ettiği anlaşılmaktadır (11).

### 2.1.2. Etiyoloji

Tablo 2.1. Fetal kayıplarda genel etiyolojik faktörler-Robert M. ve ark.(12)'dan alınmıştır.

#### **Açıklanamayan faktörler**

#### **Fetal faktörler**

Ağır-yaşamla bağdaşmayan konjenital

anomaliler Non-immün hidrops

Fetometarnal kanama

İkizden ikize transfüzyon

İntrapartum asfiksi

Fetal büyüme geriliği

Genetik sebepler

**Umbilikal kord**

Prolapsus

Velamantöz insersiyon

**Plasenta**

Ablasyo

Previa

Vasa previa

Plasental infarksiyon

Plasental yetmezlik

**Uterus**

Rüptür

Uterin anomaliler

**Maternal faktörler**

Diabet

Tiroid hastalıkları

Esansiyel hipertansiyon

Antifosfolipit sendromu

Kolestasis

İlaç suistimali

**Travma**

Harici ve İatrojenik sebepler

Açıklanamayan faktörler; fetal kayıp etiyolojisi araştırıldığı zaman klinik değerlendirme sonrası maternal hastalıklar açısından, fetal antepartum taramalar açısından, plasenta ve obstetrik etyoloji ve genetik faktörler açısından

herhangi bir sebep bulunamayabilir. Etiyolojisi açıklanamayan gebelik kayıplarının oranı yaklaşık %30 oranındadır (5).

Bir çalışmada; fetal kayıp etiolojisindeki açıklanamayan faktörlerin oranını düşürmeye yönelik adı ReCoDe olan sınıflandırma sisteminde, klasik sınıflandırma sistemlerinde %60'a kadar varan yüksek orandaki açıklanamayan faktörleri %15'e düşürülebileceği anlaşılmaktadır. ReCoDe sınıflaması ile klasik sınıflandırma ile açıklanamayan fetal kayıpların %43'ü fetal büyüme geriliğine bağlı olduğunu ortaya koymuştur (13).

## **Fetal Faktörler**

### **Lethal(ölümcül) konjenital anomaliler**

Literatürde 1955 fetüsü kapsayan çalışma göstermektedir ki fetüste konjenital anomali (CA) varlığı fetal kayıp riskini %12 oranında artırmaktadır(14). Yapısal kromozomal abnormalliği ile ilişkisi bulunmayan ve fetal kayıp riskini artıran santral sinir sistemi (CNS), konjenital kalp hastalıkları, solunum ve sindirim sistemi tutulumu, abdominal duvar defektleri, renal anomaliler, ekstremiteler defektleri gibi malformasyonların olduğu bilinmektedir. Fetal ölüm ile ilişkili izole malformasyonlardan en sık anensefali (%59), ensefolosel (%15), holoprosensefali (%12), hidrosefali (%9), kalp defektleri (%18) görülmektedir (15).

Trizomi 21 açık ara önde olmak üzere kromozomal abnormallikler CA'lili fetal kayıpların yaklaşık %8.6'sında saptanmıştır. Ancak diğer sendromlar olarak adlandırılan subgrup sendromlar CA'lili fetal kayıpların %30'unda ve klasifiye edilemeyen sendromlar ise CA'lili fetal kayıpların %23.2' sinde tespit edilmiştir(15).

Gebelik komplikasyonları arasında yer alan hidrops fetalis genellikle fatal sonuçları olan bir risk faktördür. Yaklaşık 1/4000 doğumda bir görülen patogenezi net olarak aydınlatılamamış bir durumdur (16). Vücuttaki hidrops yani sıvı birikimi; intersellüler alan ile intravenöz alan arasındaki osmotik basınç ve hidrostatik basınç arasındaki dengenin bozulması sonucu gelişir. Fetal kardiyak aktivite, damar içi sıvı hacminin korunması, kapiller geçirgenlik, lenfatik drenajın devamlılığı, santral venöz basınç değişiklikleri, damar içi osmatik

basınç değişimleri, otonom sinir sistemi, plazma proteinleri ve hormonlar hidrops gelişimi açısından kritik öneme sahiptir (17).

Fetüste batında asit, perikardiyal efüzyon, deride ödem, plevral efüzyon bulgularından ikisi ultrasonda saptanırsa hidrops fetalis tanısı klinik olarak konulabilir. Hidrops fetalisin klinik tanısı konulmasına rağmen etiyolojik faktörün tespiti (ortalama %82'si tespit edilebilmiştir) her zaman mümkün olmamaktadır (16). Burada önemli olan ise; prenatal tedavi edilebilen faktörlerin tespiti ile gebelik haftasını uzatarak preterm doğumdan ve fetal kaybı önleyebilmektir.

Non immün hidrops fetalisin etiyolojisinde kromozomal faktörler %7-16'lık bir oranda görülmektedir. Geniş kapsamlı bir literatür serisinde en sık Turner sendromu (45,X0) ve Down sendromu (Trizomi 21) non immün hidrops fetalis ile ilişkili bulunmuştur. Daha az sıklıkla Trizomi 18, Trizomi 13 ve triploidilerle ilişkili bulunmuştur (18).

Genetik hastalıklar açısından bir diğer önemli hastalık; alfa talesemi önemli bir hidrops fetalis nedeni olup özellikle güneydoğu asya bölgesinde sık görülmektedir. Otozomal resesif geçişli kalıtım gösteren alfa talasemi bu bölgedeki hidrops fetalis olgularının %80'ini oluşturmaktadır. Bu vakalarda hematologlar primer konsültan hekim olsada rekürrens riski açısından Tıbbi genetik uzmanının konsültasyonu gereklidir (19).

Fetomaternal kanama; geniş bir klinik spektrumun yansıması olarak gebeliğin sık görülen, hem anne hemde fetüs açısından morbidite ve mortalitesini artıran komplikasyondur. Ablasyo plasenta, abdominal travma, sezaryan doğum, operatif vajinal doğum, plasenta retansiyonu, multipl gebelik gibi fetomaternal kanama için risk içeren durumlar arasındadır. Fetal kayıp açısından kanama miktarının eşik değeri belli değildir (20).

Literatürde fetomaternal kanamanın 50mL'den fazla olduğu gebeliklerde %13 oranında fetal kayıp ile sonuçlandığı rapor edilmiştir (21).

İkizden ikize transfüzyon; multipl gebeliklerde bir fetüsten diğerine kan akımı sonucu gelişen; preterm eylem, fetal büyüme geriliği, fetal kayıp ile sonuçlanabilen gebelik komplikasyondur. Tedavi edilmediği takdirde çok erken preterm eylem sonuçlanan, tedavi edilse bile yüksek fetal kayıp oranları (%40-60) ile birliktedir (22).

İkizden ikize transfüzyonun tanısı prenatal ultrason incelemesi ile konulabilmektedir. Monokoryonik ikiz gebeliklerde fetüslerden birine ait amniyon kesesinde polihidramnios diğer kesede ise oligohidramnios olması, donör fetüste mesane gözlenemezken, alıcı fetüste büyük bir mesane izlenmektedir. İkinci trimesterdaki bahsedilen tanı kriterlerine ilaveten birinci trimesterde görülen bulgular transfüzyonun ön işaretlerini göstermektedir. Bunlar;

- Monokoryonisite
- Nuchal Translusite (ense kalınlığı) >3mm (10-14 hafta arasında)
- İkizlerden birinde CRL'nin zayıf olması
- Membran kalınlaşması (10-13 hafta aralığında)

Bu bilgiler ışığında ikizden ikize transfüzyon erken haftalarda tespit edilirse preterm doğum tokoliz ile durdurulabilir ve in utero fetal kayıp önlenbilir (23).

Intrapartum asfiksi ile fetal kayıp arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışmada akşam saat 21:00 ile sabah saat 08:59 arasında, temmuz ve ağustos aylarında daha sık olduğu saptanmıştır. Gece saatlerinde ve yaz tatilinde intrapartum asfiksiye bağlı fetal kaybın daha fazla olması bu dönemde deneyimi daha az olan personelin çalışmasına, gece yarısı mental ve fiziksel yorgunluğa bağlı değerlendirme yetisinin azalmasına bağlanmıştır. Çalışma shiftlerinin düzenlenmesi, shiftlerin sirkadyen ritme uygun seçilmesinin iyileşme sağlayabileceği savunulmuştur (24).

Birçok çalışma göstermektedir ki fetal gelişme geriliği sonucu fetal kayıp riski artmaktadır. Fetal büyüme geriliği kadar fetüsün doğum haftasında fetal kayıp insidansını etkilemektedir. Gebelik haftası küçüldükçe fetal kayıp riski artmaktadır (25). Antepartum fetal gözlem perinatal morbidite ve mortaliteyi azaltmaktadır. Takipler sonucu büyüme geriliği saptanırsa kalıcı nöral hasara ve fetal kayıba neden olan fetal asidoz ve hipoksemi saptanmaya çalışılır (26).

Genetik sebepler; yaklaşık olarak %30 oranında sebebi açıklanamayan kayıp ve %30 oranında genetik sebeplere bağlı fetal kayıp olduğu anlaşılmaktadır. Genetik sebepler arasında kromozomal bozukluklar önemli etiyolojik faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (5). Bir başka çalışmada Amerika Birleşik Devletlerinde her yıl 4 milyon doğum gerçekleştiğini ve bunların 26

bininin fetal kayıp olarak sonlandığını bildirmektedir. Makaleye göre genetik etiolojinin oranının tam olarak ortaya konulamadığını belirtmektedir. Sitogenetik abnormallikler tam anöploidi, marker kromozom, büyük delesyon olanlar rapor edilmiştir. Abnormal karyotip dağılımı postnatal dönemdeki verilerle korelasyon göstermektedir. Sırasıyla 45,X0 (%23), trizomi 21 (%23), trizomi 18 (%21), trizomi 13 (%8), mozaisizmler, otozomal monozomiler, delesyonlar, dengesiz translokasyonlar, marker kromozomlar görülmektedir. Bu arada Trizomi 21 gibi yaşamla bağdaşan genetik sebeplerde fetal kayıba sebep olan faktör ise bu genetik sendromlara eşlik eden yapısal anomalilerdir (27).

Fetal (derin deri biopsisi, fetal kartilaj) dokulardan ve plasental dokulardan karyotipleme veya tek gen analizi genetik etiyojolojiyi ortaya koymak için kullanılabilir. Fetal dokuların kültürde üreme başarısızlığına karşı birden fazla biopsi örneği üzerinde çalışılmalıdır. Kültür tüpleri buzdolabında ve formal içermeyen kaplarda muhafaza edilmelidir (28).

Doğum sonrası postmortem muayenede genetik etiyojolojiyi araştırmaya yönelik olarak; morfolojik inceleme, otopsi, mikroskopi, X-ray (röntgen), plasenta ve umbilikal kord incelenmelidir. Gelişme geriliği açısından ağırlık, boy ve vücut ölçümleri yapılmalıdır (28).

Umbilikal kord prolapsusu nadir görülen ve acil müdahale gerektiren kadın doğum komplikasyonudur. Literatürde 1-6/1000 doğum olarak belirtilen kord prolapsusu; fetal malpresentasyon, prematürite, multipl gestasyon, membranların erken açılması, polihidramnios gibi predispozan faktörler sonrası daha sık görülmektedir. Günümüzde iyileşen sağlık hizmetleri sayesinde kord prolapsusuna bağlı fetal kayıp oranı düşmüştür (29).

Umbilikal kordun plasentaya insersiyonunun marjinal olarak gerçekleştiği kord anormalliklerinin sadece %3-7'lik kısmında komplikasyon gerçekleşmektedir. Tekiz gebeliklerde %1 olarak görülen velamentöz insersiyon gelişen teknoloji sayesinde ultrasonla vasa previa, kısa kord, uzun kord, iki damarlı kord, gerçek düğüm tespit edilerek müdahale şansı artmaktadır. Bu sayede erken müdahale olasılığı artmış ve fetal kayıp oranları azaltılabilmektedir (30).

Gebeliklerin yaklaşık olarak %0.5-1.8'inde ablasyo plasenta görülmektedir. Özellikle 28. Gebelik haftasından sonraki gebeliklerin %4'ü vajinal kanama ile komplike olmaktadır ve bu dönemdeki kanamaları %80'inini ablasyo plasenta sebebiyle gerçekleştirmektedir. Ablasyo plasenta patolojisinde; plasenta implante olduğu yerde uterus duvarına invaze olmaktadır. İnvazyonun derecesine göre kliniğin ağırlığı değişmektedir. Ablasyo plasenta fetal ölüme neden olabileceği gibi maternal morbidite ve mortalitenin de önemli sebepleri arasındadır. Etiyolojisi net olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte çok sayıda doğum öyküsü, anne yaşı, tansiyon, preeklamsi, polihidramnios ve kanama bozuklukları ile beraber sık görülmektedir. Perinatal komplikasyonları açısından prematüre, prematüreye bağlı sorunlara, fetal hipoksi ve fetal ölüme bağlı olarak gelişmektedir (31,32).

Plasenta previa yaklaşık olarak 5/1000 doğumda bir görülen ileri anne yaşı, gebelikte sigara içilmesi, sezaryanla doğum öyküsü, IVF (tüp bebek) tedavisi, multiparite gibi risk faktörlerine sahip olan gebelik komplikasyonudur. Ablasyo plasenta gibi komplikasyonlar anne ve bebek açısından morbidite ve mortaliteyi artıran obstetrisinin ana konu başlıkları arasındadır. Otuz yedi hafta altında doğum, preterm doğum, erken neonatal ölüm ve fetal kayıp gibi mortal komplikasyonları mevcuttur. Ayrıca kan perfüzyon yetmezliğine bağlı olarak SGA (haftasına göre düşük doğum ağırlığı) ile ilişkilidir (33).

Vasa previa fetal kan damarlarının koryonik plak dışında seyrederek internal servikal osa yakın seyretmesi olarak tanımlanmakta olup insidansı 1/1200 ile 1/5000 doğumda bir görülmektedir. Bununla birlikte son dönemde çıkan yayınlara göre insidansı bilinen aksine daha fazla olabilir. Normalde fetal damarlar umbilikal kord içerisinde korunaklı bir şekilde seyretmektedir ve bu sayede uterus içerisindeki basınç değişikliklerinden minimize olarak etkilenmektedir. Bu fetüsün kan desteğinin sürekliliğini sağlayan temel faktörlerden birisidir. Vaza previada bu destek ortadan kalkmakta fetal kalp atışları ve kan akımı basınç değişikliklerinden kolay etkilenir hale gelmektedir. Gebeliğin sık görülen komplikasyonlarından birisi olan membranların rüptürü gibi komplikasyonlarda direkt fetal kanama, kan kaybı, fetal kayıp, neonatal morbidite riskinde artış ile sonuçlanmaktadır (34).



Normal gebeliklerin %25'inde minör plasental infarkt alanları görülür. Majör plasental infarktlar hipertansif-preklamtik hastalarda aterosise bağı trombosize bağı olarak görülmektedir. Plasental infarksiyonun büyüklüğü ile hipertansiyon-preeklamsinin şiddetini göstermekte ve fetal etkilenip olasılığı artmaktadır. Yenidoğan bebeklerde düşük APGAR skoru (yenidoğanın iyilik halini ölçen puanlama sistemi), asfiksi riskinde artış, fetal büyüme geriliği, fetal distres ve fetal ölümlerle ilişkilidir (35).

Plasental yetmezlik; fetüse oksijen ve besin maddelerinin yeterince ulaşmaması durumudur ve yetmezlik sonucu özellikle geç dönem fetal büyüme geriliği meydana gelir. Fetal büyüme geriliği fetüsün vücut ağırlığının mevcut gebelik haftasına göre küçük olmasıdır. Bununla birlikte fetüsteki büyüme ve gelişme geriliği simetrik olduğu durumlarda genetik faktörler gözden geçirilmelidir. Fetal kromozomal sebepler, yapısal anomaliler ve fetal enfeksiyonlar açısından fetüs değerlendirilmelidir.

Fetal büyüme geriliği çoğu zaman SGA olarak ifade edilir. SGA plasental yetmezlik sonucu meydana gelir. Plasental yetmezlik sonucu eğer bebek canlı doğarsa bebek haftasına göre düşük doğum ağırlıklı olduğu görülür. Özellikle karın çevresi daha düşük olmaktadır. Plasental yetmezliğin süresi ve derecesine göre sadece doğum ağırlığı düşük bebekten, hipoksinin uzaması ve ağır seyretmesine bağı olarak beyin zedelenmesinde olduğu daha ağır bir tabloya ve hatta intrauterin fetal kayıba kadar değişen yelpazede sonuçlar ortaya çıkabilir (36–38).

Preeklamsi yokluğunda SGA taraması maternal karakteristikler, gebelik öyküsü, biyofizik ve biyokimyasal belirteçlerin kullanılması sayesinde 37 hafta öncesinde SGA olasılığı %75 oranında tahmin edilebilmektedir. Fetal kayıplarda plasental yetmezlik etiyolojiden sorumlu tutulsada çoğu zaman tam olarak sebep ortaya konulamayabilmektedir (36).

Uterin rüptür; gebelik sırasında uterus kas tabakasının yırtılması sonucu uterus duvarının bütünlüğünün bozulmasıdır. Nadir görülen bununla birlikte ciddi maternal ve fetal sonuçları olan obstetrik komplikasyondur. Hafif rüptürde önceki sezaryen skarının üzerinde meydana gelir ve seroza intakttır (uterin

dehissens), bu durumda maternal ve fetal komplikasyon risk oranı düşüktür. Hatta uterin dehissensi rüptür olarak tanımlamayan yazarlar bulunmaktadır.

Önceki ameliyat skarının bulunmadığı uterus rüptürleri ise özellikle uzamış doğum eylemlerinin yaşandığı, tıbbi olanaklara ulaşımın güç olduğu gelişmekte olan ülkelerde yaşanmaktadır. İnsidansı %0.0047 olarak bildirilmiş olup tam kat yırtılmayla birlikte komplikasyon riski artmaktadır(39–41).

Konjenital uterus anomalileri toplumda %1-10 aralığında görülürken, infertil grupta bu oran artmakta hatta gebelik kaybı olan hastalarda %5-30 oranında görülebilmektedir. Unicornuat uterus (uterusun yarım gelişmesi) gibi uterus abnormaliteleri servikal yetmezliğe yol açıp erken doğum ve stillbirth ile ilişkilidir. Uterusun yapısal anormallikleri tespit edilmiş ise erken doğum eylemi açısından gebelik takip edilmelidir. Yaklaşık olarak %30 oranında düşüklere, %20 oranında preterm eyleme, %4 oranında fetal kayıplara, %50 oranında canlı doğumla sonuçlanır. Servikal yetmezlik ikinci gebelik trimesterinde gebelik sancılarının ve doğum sürecinin başlamadığı dönemde gebelik kayıplarına sebep olabilir (42,43).

Birçok araştırma sonucunda maternal faktörlerin; multipl gestasyon, hipertansiyon, diabet, plasenta ablasyo, plasenta previa, önceki abortus, önceki fetal kayıp öyküsü ve 35 yaş üstü gebeliklerin fetal kayıp açısından artmış risk faktörü olarak nitelendirmişlerdir. Adolesan gebelikleri ve 35 yaş üstü gebelikler maternal yaş açısından öne çıkmaktadır (44,45).

Sistemik lupus eritamotosis(SLE); toplumda %1'den az görülme insidansına sahip bir hastalıktır. Bununla birlikte stillbirth ile birlikte görülme ihtimali %4-15 oranındadır. Fetal prognoz tamamen maternal hastalık düzeyine ve renal tutulumun varlığına bağlı olarak değişmektedir. Canlı doğum sonrası annedeki SSA/Ro ve SSB/La antikorlarının yenidoğana geçmesiyle neonatal lupus tutulumu gelişmektedir. Yenidoğanda kalpte ileti sistemindeki A-V kanalda kalıcı destrüktif etkiye yol açarak kardiak aritmi sonucu ölümle(%1-5) sonuçlanabilmektedir (46,47).

Diabetes mellitus (DM) tüm gebeliklerin yaklaşık olarak %2-5'ini etkilemekte ve fetal kayıpların %4'ünden sorumlu bir etiyolojik faktördür. Özellikle glisemik açıdan kontrolsüz annelerin gebeliklerinde konjenital

anomaliler, plasental yetmezlik sonucu fetal büyüme geriliği, makrozomi, polihidramnios, makrozomiye bağlı doğumda sefalopelvik uyumsuzluk fetal kayıpların sebebinin oluşturmaktadır (48).

Diabetin insüline bağımlı ve insülden bağımsız olmak üzere iki tipi vardır. Diabetin tipinden bağımsız, bu hastalıkta maternal hiperglisemi sonucu fetal hiperglisemi ile sonuçlanmaktadır. Fetal hiperglisemide fetal hiperinsülinemiye sebep olmaktadır. İnsülinin metabolizma üzerine anabolik etkisi sonucu fetal adiposit hücrelerde lipid depolanması artmakta ve fetal makrosomiye yol açmaktadır. Fetal kilo artışı orantısız bir şekilde olduğu için fetal oksijen açığı (metabolik asidosis) ve hipoglisemi meydana getirmektedir. Bir diğer etki maternal hiperglisemi sonucu maternal vaskülopatiyeye yol açarak uteroplasental hipoperfüzyona yol açarak fetal büyüme geriliğine sebep olmaktadır (49,50).

Son üç dekatta diabet gebeliklerinde glisemik kontrol üzerine birçok çalışma yapılmış durumda olup sıkı glisemik kontrolün konjenital anomali ve perinatal mortaliteyi düşürdüğü gösterilmiştir. Özellikle pregestasyonel diabette gebelik öncesi danışmanlık alınması gebelik sonuçlarını iyileştirdiği görülmektedir (50).

Hipertansif hastalıklar gebeliklerin yaklaşık olarak %10-16'sını etkilemekte olup ciddi bir fetal kayıp riski yaratmaktadırlar. Genel olarak bakıldığında fetal kayıpların %9'unda etiyolojik faktörün hipertansif hastalıklar olduğu görülmektedir. Gebelikte görülen hipertansiyon kronik hipertansiyona bağlı gelişmişse mortalite oranları genel toplum oranları ile aynı olmaktadır. Kronik hipertansiyon zemininde yada gebelikte ortaya çıkan preeklamsi sonucu fetal mortalite riski gebelik hipertansiyonuna göre çok daha fazladır (51).

Plasental yetmezlik ve ablasyo plasenta gelişimi preeklamsinin patogeneziinde rol oynayan mekanizmalardır. Preeklamsi için başlıca risk faktörleri nulliparite, multipl gestasyon, yeni paternite, mol hidatiform, ileri anne yaşı, vücut kitle oranının fazla olması, Afrika-amerikalı olanlar, böbrek hastalığı, kronik hipertansiyon, SLE, ailevi preeklamsi öyküsü, sigara olarak bilinmektedir. Risk faktörlerinin tespit edilmesi ve hipertansiyonun kontrolü ve preeklamsinin uygun tedavisi gebelik sonuçlarını olumlu etkilemektedir (52).

Fetal kayıpların etiolojisinde enfeksiyonlar orta ve düşük gelirli ülkelerde %50 oranında, yüksek gelir düzeyine sahip ülkelerde ise %10-25 oranında sorumlu tutulmaktadır. Enfeksiyonlar pnömoni gibi maternal sistem hastalığa, malarya gibi plasental yetmezliğe veya fetüsün kendisinde tutulumu yol açarak fetal kayıba sebep olmaktadır (53).

Enfeksiyon vajinal yolla assending (yukarı yönlü) bulaşabileceği gibi maternal hematojenik yolla da gelişmektedir. Enfeksiyonun vajinal yolla ilerlemesi sonucu amnion sıvısı tutulumu gerçekleşirse koryoamniit tablosu oluşmaktadır. Hematojen tutulum ise plasental geçiş yolu ile fetüsü etkilemektedir. Fetal karaciğer ilk etkilenen organ olmakla beraber diğer organlarında tutulumu gelişmektedir. *Escherichia coli*, B grubu streptokoklar, mikoplazma, gardnella, mobilincus, enterokoklar vajinal yolla enfeksiyona neden olurlar. Viral enfeksiyonlardan parvavirüs, sitomegalovirüs ve son yıllarda Ljungan virüs enfeksiyonları fetal kayıplarla ilişkilendirilmiştir (54,55).

Maternal hipertiroidizm gebelikte %0.2 oranında görülen bir komplikasyondur. Graves hastalığına sahip gebelerin %1'inde maternal TSH stimüle edici edici antikorların plasental yolla fetüse geçmesi sonucu fetal hipertiroidizm gelişmekte ve bu vakaların yaklaşık %7'si fetal ölümle sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte hipotirodizm gebelikte çok daha sık (%2-5) görülmektedir. Ağır hipotiroidizm SGA bebek, gebeliğin indüklediği hipertansiyon, ve fetal ölümle ilişkilendirilmiştir (20,56).

Sigara; gebelikte yan etkileri önlenebilen ve modifiye edilebilen bir risk faktörüdür. Sigaranın gebelik üzerine zararlı etkileri bilinmesine rağmen kadınların %10'unun gebe kalmadan önceki üç ay içerisinde sigara kullandıkları ortaya çıkmıştır. Sigara kullanımı preterm doğumlara, infantlarda büyüme geriliğine, preterm doğumla ilişkili ölüme, ani bebek ölüm sendromuna (SIDS) yol açmaktadır (57).

142 çalışmayı kapsayan bir meta analiz sonucuna göre gebelikte aktif sigara kullanımının %20 neonatal dönemde ölüme ve %50 oranında fetal kayıba neden olduğu anlaşılmıştır (58).

Gebeliklerin %7'si postterm periyoda ulaşmaktadır. İstatistiklere bakıldığında gerek açıklanamayan gerekse de bilinen sebeplere bağlı fetal

kayıp hızının 39. gebelik haftasından itibaren ivmelendiği görülmektedir (59). Postterm dönem gebelik kayıpları artmış fetal ve neonatal kayıplarla ilişkili olduğu gibi maternal kayıplarlada ilişkilidir. 37-43 haftalar arasındaki gebelik kayıpları prematürite ve ani bebek ölümü sendromuna (SİDS) göre halk sağlığı sorunları açısından daha fazla öneme sahip tutulmaktadır. Postterm gebeliklere bağlı fetal risk doğum indüksiyonu ile önlenabilir. Tabii ki hasta ve doktor doğum indüksiyonun yaratmış olduğu fetal stress ve artmış müdehaleli doğum risklerini göz önünde tutmalıdır (59).

Fetomaternal morbidite ve mortalite üzerine etkileri bulunan gebelik kolestazi; artmış östrojen seviyelerine bağlı olarak safra asitlerinin vücuttan atılamaması sonucu gelişmektedir. Yaklaşık 600-1000 gebelikte bir görülen bir komplikasyon olup genellikle ikinci gebelik trimesterinde bulgu vermeye başlar. Kaşıntı ve sarılık başlıca hastadaki semptomlarıdır. Medikal tedavi uygulanarak tedavi edilmeye çalışılan gebelik kolestazının preterm eylem, ölü doğum, neonatal dönemde ölüm, intrapartum asfiksi gibi komplikasyonları görülmektedir (60,61).

Kolestazın en önemli yan etkisi olarak fetal mortalite olarak bildirilmekte ve hatta Rioseco ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada perinatal mortalite oranının %11 gibi yüksek bir rakam olduğu belirtilmiştir. Bu yüzden fetal mortaliteden kaçınmak için gebelerin kaşıntı şikayetleri titizlikle ele alınarak temel araştırmalar yapılmalıdır. Kolestazın bulgularının alerjik, dermatolojik ve gastroenterolojik hastalıklarla karışmasından dolayı bu önemli hastalığı akılda tutmak önemlidir (60).

Rapor edilmeme olasılığı bulunan obstetrik komplikasyonlar arasında bulunan travmanın gerçek insidansı tam olarak bilinmemektedir. Rapor edilen travma oranı ise %5-10 arsında değişmekte olup obstetrik olmayan nedenlere bağlı maternal ölümlere sebep olabilir.

Anne açısından morbidite ve mortalite riski yüksek olan travmaların fetal yan etkileride fazladır. Travmanın spontan abortus (SAB), preterm doğum, membranların erken ve matüre olmayan açılması (PPROM), uterin rüptür, plasenta ablasyo, fetal kayıp ve sezaryan ile doğum oranlarında artışa yol açtığı rapor edilmiştir (62).

Yolculuklarda emniyet kemerinin doğru uygulanması, saldırılardan korunma, depresyonun zamanında tedavisi sayesinde suisid girişiminin önlenmesi, gebelikte kalsiyum desteği ve emniyet kemerinin doğru kullanılması yaralanmaları önlediği gibi olası yaralanmalardan sonra yaralanmanın şiddetini azaltmaktadır (63).

### 2.1.3 Fetal kayıp açısından risk altındaki gebeliklerin tespiti

Fetal kayıp belirlenen risk faktörleri (Tablo 2.2) açısından değerlendirilmelidir.

**Tablo 2.2.** Fetal kayıp açısından risk faktörleri- Group SCRNW (64)'den alınmıştır.

- Önceki fetal kayıp
- Önceki düşük
- Non-hispanik bölge/etnisite
- Nulliparite
- Pluraliti (ikinci evlilik-ilişki)
- Diabetes mellitus
- Maternal obesite
- Maternal yaş
- Medeni durum (evli- bekar olmak)
- Sigara
- İlaç kötüye kullanımı

Önceki gebelik öyküleri sonraki gebelik kayıpları açısından güçlü bir tahmin edici faktördür. Daha önceden fetal kayıp ya da düşük öyküsü olmayan multipar hastalara göre; nulliparite, 20 hafta öncesi gebelik kaybı olan nulliparite, fetal kaybı olan multiparite artmış risk ile beraberdir. Özellikle daha önceden fetal kayıp öyküsü 5-10 kat artmış tekrarlayan fetal kayıp riski taşıdığı için bu hastaların yoğunlaştırılmış antenatal gebelik takiplerinin yapılması önerilmektedir. Diabet ile fetal kayıp arasındaki sıkı ilişkiden dolayı bu hastaların diabet tanısının erken konulması ve kontrol altında tutulması diabete bağlı fetal kayıp oranında %10'luk bir azalmaya yol açtığı görülmüştür. Anne yaşının yirminin altında olması, düşük eğitim düzeyi, önceki fetal kayıplar ve düşüklerin olması, önceki sezaryan doğum, obezite, kronik hipertansiyon, diabet, SLE,

sigara kullanımı, çoğul gebelik gibi gebelik öncesi risk faktörlerinin bazı etnisite gruplarında daha fazla oranda bulunduğu tespit edilmiştir (64–66).

İki labaratuvar testi fetal kayıp açısından prediktif değer olarak kullanılmakta olup bununla beraber gebeliğin erken döneminde risk hesaplayıcı yararlı bir biyokimyasal belirteç bulunmamaktadır. Down sendromu için toplum bazlı taramalarda kullanılan testlerde çıkan abnormal biyokimyasal değerler fetal kayıp gibi gebelik komplikasyonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bir diğer prediktif faktör hemokonsantrasyon değeridir. Plazma volümünün artması ve hemodilüsyonun olması fetal iyilik hali ile ilişkilendirilmiştir. Hemodilüsyonun yeterince gerçekleşmemesi fetal büyümenin azalması ve fetal kayıp riski ile ilişkilidir (67,68).

#### 2.1.4 Fetal kayıpları önlemek için yapılması gerekenler

Kost efektif olarak fetal kayıpların nasıl önlenebileceğine yönelik yeterli miktarda veri bulunmamaktadır. Bununla birlikte 2011 yılında bir derlemeye göre (Bhutta ZA et al) Tablo 2.3'te belirtilen 10 uygulamanın dünya genelinde fetal kayıp hızında keskin bir azalma sağlayabileceğini belirtmiştir.

**Tablo 2.3.** Fetal kayıpları önlemek için önerilen strateji uygulamaları- Fretts RC (69)'den alınmıştır.

- Gebelik öncesinden başlanan folik asit desteği
- Sifiliz tespiti ve tedavisi
- Sıtma ile mücadele
- Gebeliğin hipertansif hastalığının tedavisi ve önlenmesi
- Fetal büyüme geriliğinin tespiti ve takibi
- Postterm gebeliklerin tespiti ve uygun protokolle doğurtulması
- Gebelikte diabet tanısı ve tedavisi
- Doğum tecrübesi yüksek personelin istihdamı
- Acil müdahaleye uygun doğum kliniklerinin bulunması

Klinik faktörler açısından yukarıda Tablo 2.2'de bahsedildiği gibi risk faktörleri bilinmekle beraber bu faktörlerin nasıl risk artışında bulunduğu dair

bilgi net olarak ortaya konulamamıştır. Bu yüzden bir önceki gebelikte meydana gelen fetal kaybın patofizyolojisini anlamak bir sonraki gebelikte risk açısından konsültasyon vermek için önemlidir. Örneğin bir önceki fetal kaybı anoplidiye bağlıysa tekrarlama oranı %1, familyal DiGeorge sendromuna bağlıysa tekrarlama oranı %50 olacaktır. Bu açıdan değerlendirilen hasta verilen konsültasyon doğrultusunda koryon villüs örnekleme (CVS) veya amniosentez yaptırma kararını alabilecektir. Keza maternal kan glukoz seviyelerinin kontrolü konjenital anomali riskini düşürecektir (70).

### **2.1.5 Fetal kayıpların değerlendirilmesi**

Fetal kayıp meydana geldiği zaman fetüsün, plasentanın ve annenin biyokimyasal, makroskopik ve mikroskopik alanlarda açıklanabilir bir etiyolojik faktör açısından incelenmesi gereklidir. Sonraki gebeliklerde hastaya risk açısından danışma verilebilmesi için gerekli bir uygulamadır.

Yaklaşık 500 fetüsü kapsayan bir çalışmada; fetal ölüme neden olan faktörlerin belirgin olmayıp, bir grup heterojen multifaktörün etkin olduğunu sıklıklada az rastlanan faktörlerin etkin rol alabileceğini belirtmektedir. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) tarafından etiyolojik araştırmanın yapılması tavsiye edilmekle birlikte; bu araştırma zaman alıcı, maliyet oluşturan ve yalancı (false positif) sebeplerin tespit edilmesi sonucu sonraki gebeliklerde agresif ve gereksiz müdahalelere sebep olabileceği düşünülmektedir (71).

Özet olarak; otopsi, karyotipleme, plasental inceleme, Kleihauer-Betke testi, antikor titreleri, sifiliz için serolojik incelemenin yapılması önerilmekte olup Tablo 2.4'de araştırma metodları özetlemektedir.



**Tablo 2.4.** Fetal kayıpların değerlendirilmesinde kullanılan testler-Page ve ark.'dan alınmıştır(71)

<ul style="list-style-type: none"><li>• Fetal otopsi</li><li>• Karyotipleme</li><li>• Plasental inceleme</li><li>• Sifiliz serolojik testleri</li><li>• Fetomaternal kanama testi- Kleihauer-Betke</li><li>• Toksikoloji testleri</li><li>• Tıbbi ve obstetrik özgeçmişin sorgulanması</li><li>• Parvovirüs serolojisi</li><li>• Lupus antikoagülanı testi</li><li>• Trombofili testleri</li><li>• Antikardiolipin testleri</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Hemoglobin A1c</li><li>• TORCH serum titreleri</li><li>• TSH</li><li>• Plasenta kültürü</li><li>• Comparative genomic hybridization(aCGH)</li></ul>

Fetal ölümün nedenini belirlemenin medikal yararının ve sonraki gebeliği planlamaya yardımcı olmasının yanısıra, ailenin özellikle annenin depresyonunu azaltıcı ve suçluluk duygusunu azaltıcı yararlarına sahiptir.

Böylece katastrofik sonuçları olan olaya psikolojik açıdan adaptasyona olanak sağlanmış olur (72).

Fetal otopsi araştırmada en yararlı testlerden birisi olup, gerekliliği aileye anlatılmalıdır. Otopsi; konusunda uzman bir patalog ve Tıbbi genetik uzmanın plasenta ile birlikte fetüsü makroskopik ve mikroskopik boyutta incelemesi ile tamamlanır. Spesifik incelemeye rağmen sebep bulunamayabilir. Eğer aile otopsiyi reddederse inspeksiyonel muayene yapılmalıdır (73).

Tablo 2.4'deki testlerin hepsi tüm fetal ölümlerde yapılmamaktadır. Hastaneler arasındaki diagnostik protokol farklılıkları, ailenin onamı ve lojistik faktörler araştırmanın çerçevesini belirlemektedir. Ek testler; belirli şartların oluşması durumunda gerçekleştirilmektedir. Bazı yazarlar Tablo 2.4'deki testlere ilaveten amnion sıvısından karyotipleme, fetal kalp kanından enfeksiyon araştırması ve fetal radyografi ile iskelet displazilerinin araştırılmasının yapılmasını tavsiye etmektedir(74).

## **2.2 Genetik inceleme için örnek toplama prosedürleri**

En az 3 ml kan umbikal arteden heparinize tüpe toplanabilir. Deri biopsisi steril izotonikle veya alkolle iyice yıkandıktan sonra gazlı bezle kurutulur ve bir santimetre kare dermis içeren biopsi ayrılmalıdır. Biopsinin derinliği ve miktarı kültür başarısını etkilemektedir. Elde edilen biopsi materyali steril medyumlara, steril izotonik sıvıya konularak oda sıcaklığında taşınmalıdır. Transport tüpüne fiksatif ajanlar katılmamalıdır. Eğer fetal ölüm uzun süre önce gerçekleşmişse otoliz başlamış olabilir. Bu durumda hem fetal cilt hemde fetal kan örneği alınır (75).

## **2.3 Fetal kayıpları incelemede kullanılan genetik yöntemler**

Karyotipleme için canlı hücreye ihtiyaç olması ve fetal hücrelerin yaklaşık bir gün içerisinde canlılığını yitirmesi, kültür başarısızlığı oranlarının %40 gibi yüksek seviyelerde olması sebebiyle; fetal kültür gerektirmeyen Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) veya Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction (QF-PCR) yöntemleri ile kolayca kromozomal sayısal abnormallikleri tespit edilebilmektedir.

Gebelik; stillbirth/fetal kayıp ile sonlandığı zaman hekim karyotipleme yöntemi ile bebeğin kromozom analizi yapmak isteyebilir. Kromozom analizi yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerinin teşhisine yardımcı olan genetik analiz yöntemidir. Yukarıda da bahsedildiği gibi kromozom analizi için canlı hücrelere ve bu canlı hücrelerin kültür ortamı içerisinde üremesine ihtiyaç vardır. Üreme sayesinde hücreler mitoz girerek metefaz evresindeki kromozomları mikroskop üzerinde görülmeye çalışılır. Söz konusu canlılığını

yitirmiş olan fetüs olduğu zaman kültür işlemi sıklıkla başarısızlıkla sonuçlanabilir. Bu noktada diğer bir sitogenetik inceleme yöntemi olan fluorescence in situ hybridization (FISH) sık rastlanan genel kromozom abnormalliklerinin ve 5 megabazdan (Mb) daha büyük delesyon ve duplikasyonların teşhisinde kullanılmaya başlanmıştır (66).

Prenatal genetik tanıda kullanılan bir diğer moleküler yöntem ise quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR); majör kromozomal abnormalliklerini yüksek sensitivite ve spesifitede saptayabilmektedir. QF-PCR yöntemi otomasyon olarak sonuçları oluşturması ve çok düşük maliyeti sayesinde bazı avantajlara sahiptir. Yirmi dört saat gibi kısa bir süre içerisinde 21,18,13,X ve Y kromozomu gibi sık rastlanan kromozom anormalliklerini tespit edebilmekte ve Avrupa'nın birçok bölgesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (76).

Sağlıklı yaşayan insanların taşıdığı oldukları Copy Number Variation adı verilen küçük yapısal farklılıkların insan fenotipinde farklılıklar yaratabileceği ile ilgili bilgi gün geçtikçe artmaktadır. Büyük yapısal ve sayısal kromozomal anormallikler fetal kayıpların yaklaşık olarak %6-12'sinde görülmektedir. Geleneksel sitogenetik ve moleküler teknikler ile çözünürlüklerindeki sınır nedeni ile CNV değişiklikleri gösterilememiştir. Array CGH yöntemi ile bu sorunun üstesinden gelinebilecektir (77).

İnsan genomunda delesyon, duplikasyon, translokasyon, inversiyon ve birçok değişik tip aberrasyonlar bulunmaktadır. Delesyon ve duplikasyonlar diğer değişikliklerden farklı olarak genomdaki gen dozajını etkilemekte ve bu etkilenime kopya sayısı değişikliği (Copy Number Variation-CNV) olarak ifade edilmektedir. Genomdaki DNA sekansındaki nükleotid diziliminde meydana gelen tek nükleotidlik değişimler (Single Nükleotid Polimorfizm-SNP) ise gen dozajı üzerine etkisi bulunmamaktadır. Bu sebeple CNV değerlendirmelerinde SNP değerlendirmesi yapılmamışsa aCGH yöntemi ile tespit edilemez (77).

### **2.3.1 Kromozom analizi**

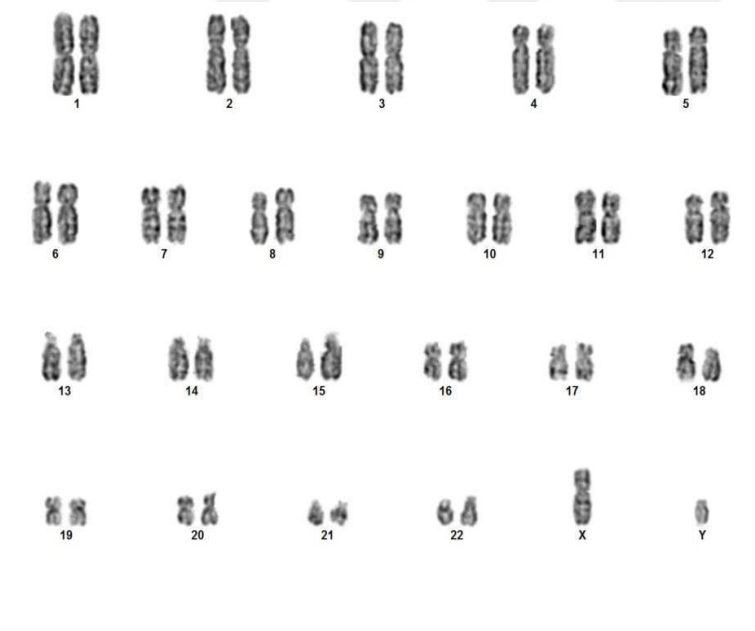
Klinik sitogenetik kromozomları, yapısını, sayısını, kalıtım şekillerini çalışma konusu haline getirerek tıp pratiğinde kullanılmaktadır. Kromozomal

hastalıklar olarak adlandırılan hastalıklar yaklaşık elli yıldır mikroskop altında kromozomların incelenmesi ile tanı almaktadırlar. Günümüzde kromozom analizi konvansiyonel düzeyden moleküler düzeye çözünürlüğün arttığı yeni yöntemlerle birlikte kliniğe ışık tutmaktadır. Sitogenetik bilimi sayesinde bugün klinikte önemli yer tutan konjenital anomaliler, zeka gerilikleri, kanser mutagenезisi, infertilite ve gebelik kayıplarına tanı konulabilme fırsatı doğmuştur. Yaşayan canlı doğumlara %1, prenatal tanı almış 35 yaş üstü gebeliklerin %2'sinde ve ilk trimester abortuslarının yaklaşık yüzde ellisinde kromozomal nedenler bulunur (78).

İnsanda bulunan 24 adet adet kromozom tipi çeşitli boyama tekniklerine göre incelenir. En sık kullanılan boyama yöntemi Giemsa ile yapılan G-bantlama tekniğidir. Şekil 2.1'de G bantlama yöntemi analize hazır hale getirilmiş metafaz örneği ile Şekil 2.2'de analiz sonrası analizin karyogram haline dönüştürülmesi görülmektedir. Diğer teknikler arasında C bantlama, R bantlama ve NOR bantlama bulunmaktadır. Bütün boyama teknikleri ile yapılan tüm kromozomal abnormallikleri uluslararası ortamda okunurluğu açısından klasifikasyon sistemi geliştirilmiştir. İnternationally accepted system of chromosome classification (ISCN) sisteminde kromozom rapor tekniği anlatılmaktadır. Klasik sitogenetik yöntemlerle ortalama 5Mb'dan büyük abnormallikleri saptamak mümkündür (78,79).



Şekil 2.1. Analizi hazırlanmış metafaz görüntüsü



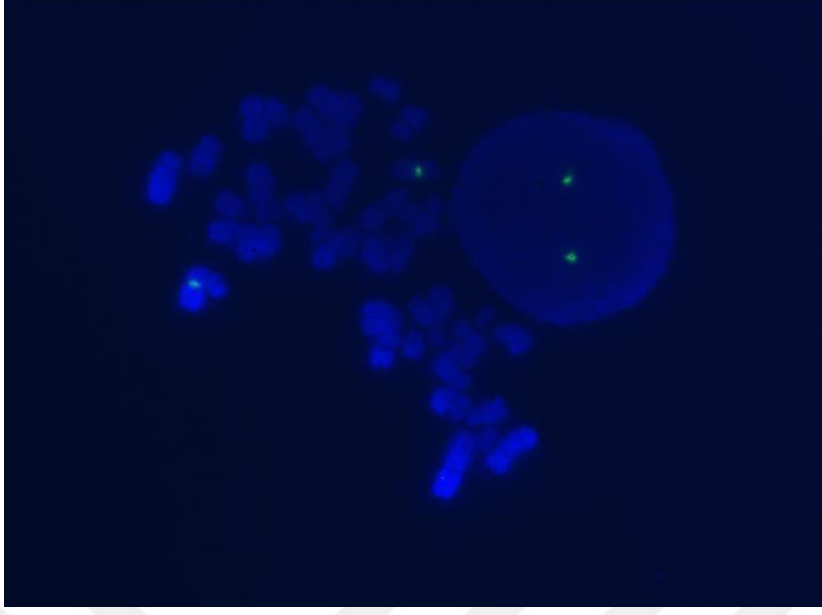
Şekil 2.2. Karyotipleme yapılmış bir örnek; 46,XY

### 2.3.2 FISH

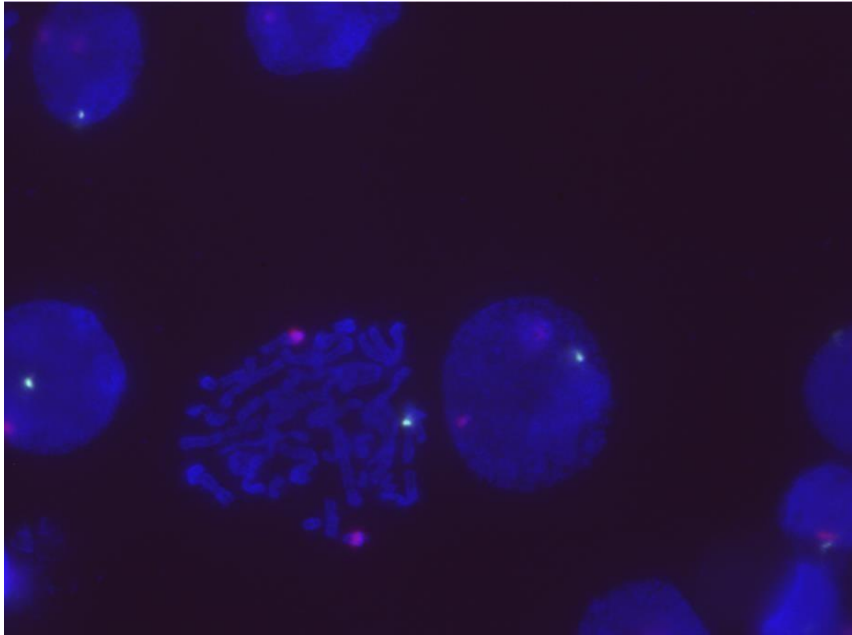
Fetal dermis gibi canlı olmayan dokulardan fetal karyotip elde etmek konvansiyonel yöntemlere göre 10-17 gün sürmektedir. Bununla birlikte kültür

başarısızlığı %40 gibi yüksek oranlarda olması sebebiyle kromozom analizi sonuçlanmayabilir (6). Bu sebeple gelişmiş ülkelerde prenatal tanıda anöploidi taraması için kültür gereksinimi olmaması sebebiyle FISH yöntemi tercih edilmektedir. FISH yöntemi ayrıca amniosentez sonrası anöploidi tanısı içinde kullanılmaktadır. FISH yönteminde metafazdaki kromozom yapısının elde edilmesi gerekli değildir. Bunun yerine daha az organize durumdaki kromatin yapısı kullanılmaktadır. FISH ile yapılan rutin taramalarda özellikle 13, 18, 21, X ve Y kromozomuna yönelik anöploidi taraması yapılmaktadır. Şekil 2.3 ve Şekil 2.4'de FISH uygulaması örnekleri görülmektedir. Diğer kromozomlara ait sayısal kromozomal abnormallikler gebeliğin ilk trimesteri içerisinde abortus olarak sonlandığı için yukarıda bahsedilen kromozomlara ait FISH problemleri amniosentez sonrası çoğu kez anöploidinin tanısında güvenle kullanılmaktadır. FISH tetkikini uygularken göz önünde bulundurulması gereken önemli bir noktada maternal kontaminasyon riskinin varlığıdır (80). Bu yüzden tanının diğer yöntemlerle desteklenmesi gerekir.

FISH tekniği ile anöploidi gibi sayısal abnormalliklerin yanısıra mikrodelyasyon sendromlarında tetkik edilebilmektedir. FISH tekniğinde bölge spesifik problemler genomdaki hedef bölgeye bağlanıp hibridize olup sinyal vermektirler. Bölge spesifik olduğu için tüm genomu içine alan bir tarama işlemi sağlamamaktadır (79).



**Şekil 2.3.** Kromozom X anoploidisini saptamak amacı ile floresan işaretli sentromerik prob uygulanmış bir olguya ait metafaz ve interfaz hücre profilleri. Olgunun her iki hücresinde hedef kromozoma ait 2 adet sinyal saptanmış ve normal yapıda olduğu değerlendirilmiştir. Yeşil floresan sinyal spesifik olarak X kromozomunu tanımlamaktadır. İnce oklar metafaz plağında ve kalın oklar ise interfaz hücresinde normal diploid yapıdaki hedef X kromozomlarını göstermektedirler



**Şekil 2.4.** X ve Y kromozomlarına ait spesifik problemlerin kullanılarak seks kromozom aberasyonlarının analiz edildiği bir olguya ait FISH profilleri. Olgunun XYY kromozom kurulumuna sahip olduğu görülmektedir. Olguya ait metafaz ve interfaz hücrelerinde X ve Y kromozom sinyalleri izlenmektedir. Kırmızı sinyaller Y kromozomlarını (oklar) ve yeşil sinyal ise X (kalın oklar) kromozomunu spesifik olarak tanımlamaktadır.

Bir çalışmada; parental array CGH tetkiki sonrası submikroskopik (<1-10Mb) abnormalliklerin FISH yöntemi ile ileri analizi yapılarak teyit edilmesini önermektedir (81).

### 2.3.3 Array CGH

Tıbbi genetikte; spesifik bulguları olan durumlarda rutin diagnostik prosedür olarak kromozom analizi uygulanmaktadır. Erken dönem büyüme ve gelişme geriliği, fetal ölüm ve yenidoğan ölümleri, fertilité, şüphelenilen ailevi olma riski yüksek kalıtsal klinik bulgular, neoplazi, gebelik ve prenatal danışmanlığın gerekli olduğu durumlar kromozom analizi için bilinen endikasyonlardandır (78).

Standart G bandlama karyotiplemede 400-550 band seviyesinde çözünürlük sağlanarak 5-10 Mb'dan büyük olan delesyon, duplikasyon, translokasyon ve inversiyonlar saptanabilmektedir. Bu seviyedeki mikroskopik çözünürlük genomdaki değişiklikleri saptamada yeterli olmadığı durumlar oluşabilmektedir. Yüksek çözünürlüklü hedefe yönelik FISH uygulamalarıyla kromozom veya kromozom alt bölgelerinin varlığı veya yokluğunu ortaya koymak için uygulanmaktadır. FISH yöntemi ile kromozom analizi ile saptanamayan <3Mb değişiklikleri saptayabilmektedir (82).

Komperatif genomik hibridizasyon (CGH) moleküler sitogenetik analiz yöntemi olup konvansiyonel sitogenetik yöntemleri ile saptanamayacak (karyotip analizi ve Floresan İn situ Hibridizasyon (FISH) analizleri) kadar küçük submikroskopik genomik değişikliklerin analizine olanak sağlamaktadır.

CGH yöntemi konvansiyonel ve array tabanlı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Konvansiyonel CGH yöntemi ilk kez 1992 yılında solid tümör çalışmaları için kullanılmaya başlanmıştır. İki farklı renkte floresan kullanılarak etiketleme yapılır ve veriler bilgisayarlı analiz programları sayesinde bilgiye dönüştürülür. Konvansiyonel CGH yönteminin düşük çözünürlüğü, kolay kontamine olabilmesi, interferans ve floresans boyalarla çalışma güçlükleri nedeni ile günlük kullanımdan kullanımı giderek azalmıştır (83). Tablo 2.5'te analiz teknikleri ve çözünürlük dereceleri şematize edilmiştir.



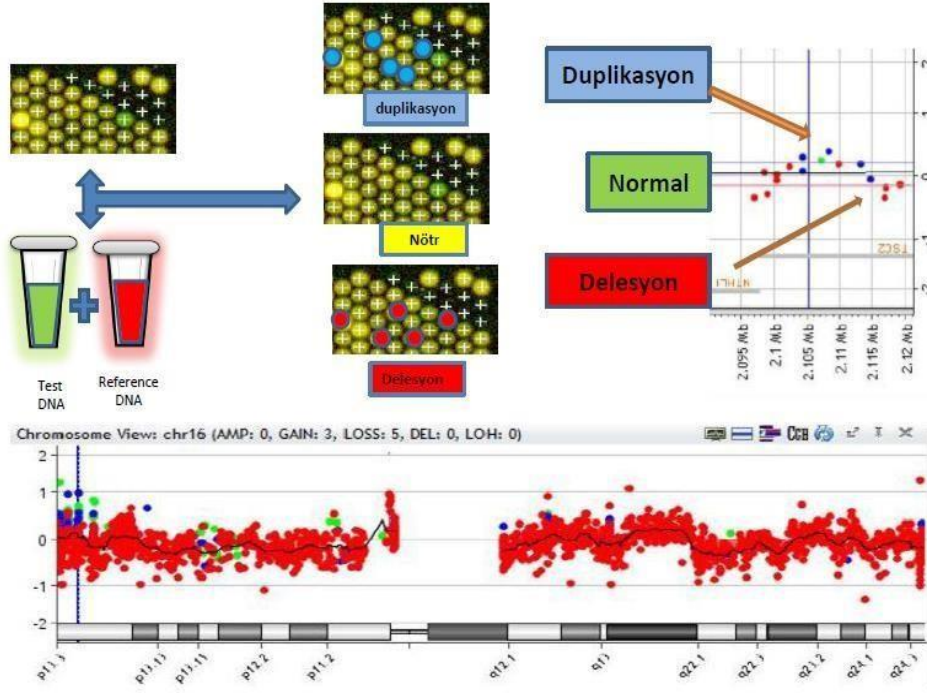
**Tablo 2.5.** Kromozom ve genom analizinde kullanılan yöntemlerin çözünürlükleri- Robert L. Ve ark. (78)'dan alınmıştır.

Çözünürlük derecesi	Yaklaşık alan büyüklüğü	Tipik tanı aracı	Artan çözünürlük
Haploid genom	3 milyar bp	Standart karyotipleme	
Tüm kromozomlar	50-250 milyon bp		
400-550 bandlama	5-15 milyon bp	Rutin bantlama	
850 bandlama	1-3 milyon bp		
Submikroskopik bölge	50-250 bin bp	CGH FISH Kromozomal mikroarray	
Nükleotid	1-1000 bp	WES(tüm genom dizileme)	

Konvensiyonel CGH yönteminin yetersiz kalması sonucu 1997 yılında Solinas-Toldo ve ekibi Array CGH yöntemini geliştirmişlerdir. Konvensiyonel CGH'teki mikroskoba bağımlılık ve metafaz kromozomu elde edilmesi gerekliliği ortadan kaldırılmış ve cam üzerindeki problemleri okuma otomatik tarayıcı sistem tarafından yapıldığı için çözünürlük düzeyi daha yüksek olmaktadır. Kopya sayısı değişiklikleri (CNV) olarak tabir edilen ve yaklaşık olarak 1Kb'lik genomdaki kayıp yada artışların belirlenmesi referans ve hasta DNA'sının problemler ile olan hibridizasyon oranına göre yapılır (79,83).

Array CGH yönteminde hasta ve referans DNA farklı boylarla fikse edilir ve hibridizasyon işlemi cam lam üzerindeki metafaz üzerinde gerçekleşmektedir. DNA örneklerinden gelen sinyaller floresan mikroskobunda 3-10 Mb çözünürlükte tespit edilebilmekte ve dengesiz aberrasyonları görebilmektedir. Cam üzerinden gelen iki farklı renkten gelen sinyallerin karşılaştırması yapıldığında sinyal fazlalığı olduğunda duplikasyon, sinyal zayıflığı olduğunda ise delesyon olarak okunur. Array CGH yönteminin en büyük kısıtlılığı çözünürlüğü, perisentromerik ve telemorik bölgelerde okuma

hassasiyetinin düşük olması, analiz ve uygulamadaki güçlükler ve teknik güçlükler yer almaktadır (82,84).



**Şekil 2.5:** Array CGH temel bilgileri. Array CGH kromozomal ve genom dozajını tespit etmektedir. Sol üstte array çalışmasının temel mekanizması anlatılmaktadır. Yeşil floresanlı hasta DNA'sı ile kırmızı floresanlı referans DNA'sının birlikte hibridize edilmesini şematize etmektedir. Hibridize edilen iki DNA'nın platform üzerindeki problarla olan bağlanma derecesi istatistiksel veri olarak bilgiye dönüştürülür. İki örnek arasındaki göreceli fark probtan gelen sinyalin duplikasyon (mavi) ya da delesyon (kırmızı) yansımalarını sağlar. Sağ üstte; genom boyunca her bir probun logaritmik sayısal değerinin genom boyunca dağılımı resmedilmiştir. Altta; kromozom düzeyinde bakış yapılabilmesi sayesinde anomaliğin lokalizasyonu açısından oryantasyon sağlanmaktadır. Thompson ve ark.(78)'den alınmıştır.

## 2.4 Kopya sayısı değişikliklerinin analizi ve yorumlanması

Tüm genomun taranması sonucu ortalama olarak 10 ile 20 arası kopya sayısı değişikliği saptanmaktadır. Üç aşamada değişiklikler değerlendirilerek raporlama aşamasına gelinmektedir.

**Birinci aşamada yalancı pozitifliklerin ayıklanması:** Birim alana düşen prob sayısının ve prob dağılımını değerlendirilir, farklı hastaların analizi yapılırken benzer genom noktalarındaki pozitifliklerin aynı noktalarda hastaların çoğunda pozitif olması ile gerçekleştirilir. Yanlış pozitiflikleri ekarte etmenin bir diğer yöntemi de bulunan değişikliklerin farklı bir moleküler yöntemle teyit edilmesi yoludur (85).

**Popülasyonda sık görülen pozitifliklerin ayıklanması:** Aynı çalışma popülasyonunda sağlıklı veya farklı tanılarla gelen hastaların sonuçları değerlendirilirken bulunan CNV'ler ile ciddi bulguları olan hastaların CNV'leri karşılaştırıldığında ya da Genetik değişkenlerin veritabanı (DGV) adlı veritabanında sağlıklı bireylerde bulunan CNV'lerin hastada bulunması bu değişikliklerin bening olma ihtimalini artırmaktadır.

İlk iki uygulama ile yalancı pozitifliklerin ve patojen olmayan ve bening olduğu yönünde bulgular içeren CNV'lerin analiz sırasında ekarte edilmesinden sonra patojen olduğu düşünülen CNV'lerin hastanın kliniği ile olan ilişkisi değerlendirilmelidir. Bu değerlendirme çok basamaklı olup veri tabanlarının gen-protein-fonksiyon ilişkisi değerlendirilmelidir. Bu aşamada kullanılan veri tabanları tabloda belirtilmiştir (85).

**Tablo 2.6.** CNV'leri değerlendirmede kullanılan veritabanları-Kirbiyik ve ark, Ceylan ve ark. (83,85)'dan alınmıştır.

<input type="checkbox"/>	OMIM
<input type="checkbox"/>	Genecards
<input type="checkbox"/>	Pubmed
<input type="checkbox"/>	DECIPHER
<input type="checkbox"/>	DGV
<input type="checkbox"/>	STRING
<input type="checkbox"/>	UCSC
<input type="checkbox"/>	UniProt
<input type="checkbox"/>	ClinGen
<input type="checkbox"/>	Coremine medical
<input type="checkbox"/>	Endeavor GeCCO
<input type="checkbox"/>	Geneimprint
<input type="checkbox"/>	Genetests
<input type="checkbox"/>	Chromosomal Mosaicism
<input type="checkbox"/>	Small Supernumerary Marker Chromosomes Database
<input type="checkbox"/>	Unique
<input type="checkbox"/>	

## 2.5 aCGH analizinde kullanılan internet veri tabanları

**OMIM:** (Online Mendelian Inheritance in Medicine) güncel bilgi içeren bu site genlerin genel bilgilerini ve gen fenotip ilişkisini ortaya koymaktadır. John

Hopkins Üniversitesi tarafından düzenlenmektedir. Tıbbi genetik konularında sık kullanılan bu veri tabanı klinik, kalıtım ve patogenezis ile ilgili bilgi sunmaktadır.

**Genecards:** Genler hakkında genetik ve fonksiyonel bilgileri, genomik, proteomik, transkriptomik bilgiyi sunar. Yüzden fazla veri tabanının derlenmesi ile oluşturulmuştur.

**Pubmed:** (The U.S. National Library of Medicine) bilimsel yayınları barındıran arama motorudur. Yayınlar PMID (Pubmed ID) numarası ile takip edilir. Ve özellikle sağlık alanında çalışmaları kapsar.

**DECIPHER:** Submikroskopik kromozomal abnormalliklerin yorumlanması için geliştirilmiş bir veri tabanıdır. Hedefleri: delesyon ve duplikasyonlar hakkında bilimsel bilginin artırılması ve bu yönde hastaların genetik danışma kalitesinin artırılması, sağlık yönünden etkisi olan genler hakkında bilimsel çalışmalara olanak sağlamayı amaçlamıştır.

**DGV:** Farklı olarak kontrol verilerindeki değişikliklere odaklanmış bir veri tabanıdır. Fenotipik değişiklik ile genetik abnormallik arasındaki ilişkiyi kurmayı amaçlamıştır. Kısaca DGV insan genomunda bulunan yapısal değişiklikleri ortaya koymaya çalışmaktadır.

**STRING:** (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins): Özellikle protein fonksiyonları ile ilgili veri sunmaktadır. Protein-protein ilişkisini ortaya koyarak hücre içi süreçlerin anlaşılmasını sağlamak amaçlı düzenlenmiş bir veri tabanıdır.

**UCSC:** University of California Santa Cruz tarafından düzenlenmiştir. Genom versiyonları arasında birbirlerinin karşılığını bulma ve "in silico PCR" uygulaması özelliği mevcuttur.

**UniProt:** Protein dizileri ve fonksiyonları hakkında bilgi sağlar.

**ClinGen:** Varyantlar ile fenotip arasında ilişkilendirme sağlamak amacıyla kurulmuş bir veri tabanıdır.

**Coremine medical:** Pubgen şirketi tarafından tasarlanmış ve serbest kullanıma açık sağlık alanında verilerin bulunduğu bir portaldır.

**Endeavor:** Fonksiyonel olduğu düşünülen aday genlerin araştırılma süreçlerinde önceliğinin belirlenmesi amacıyla kurulmuş bir veri tabanıdır.

**GeCCO:** CNV'lerin klinik önemini ortaya koymak için patojenite ile ilgili veri sunan araçtır.

**Geneimprint:** Genomik imprinting ile ilgili verileri, sonuçları, sunumları bünyesinde barındıran portaldır.

**Genetests:** Konusunun uzmanı sağlık personeli için düzenlenmiş bir sağlık veri tabanıdır.

**Chromosomal Mosaicism:** Kromozomal mozaizim ile tüm topluma bilgi sağlayan bir internet sitesidir.

**Small Supernumerary Marker Chromosomes Database:** Marker kromozomlar hakkında veri barındırarak sağlıktan hizmet veren personele bilgi sağlar.

**Unique:** Nadir rastlanan kromozomal hastalıklara sahip ailelere ve onlarla ilgilenen konsültanlara bilgi desteği sağlayan bir websitesidir.

## 2.6 CNV'lerin değerlendirilmesi (83)

Array CGH teknik analizi yaparken yöntemin hangi array platformunda yapıldığının, testin sınırlılıklarının ve saptanan bulguların doğrulanması gerekiyorsa hangi testlerin (FISH, MLPA, karyotipleme) ek çalışma olarak yapılması gerektiği, kısaca array CGH algoritmasının uygulanması önemlidir. Nadir de olsa aile üyelerinden bir tanesinde saptanan değişikliğin %50 oranında kalıtsal hale gelebileceği ve bu yüzden de prenatal tanı yapılması gerekliliğinin oluşabileceği, aCGH'in dengeli düzensizlikler ve inversiyon gibi genom miktarında değişiklik yapmayan abnormallikleri tespit edemeyeceğini ayrıca klasik serbest trizomi ile dengesiz robertsonyan translokasyonu ayırt edemeyeceğini unutmamak gerekir. Arraye ait bu kısıtlılıkları akılda tuttuktan sonra sitogenetikte algoritm uygularken hastaya hangi testi istemenin tanıya daha fazla yaklaştıracaklarını bilmek gerekir. Özellikle mental retardasyon, gelişim geriliği, otistik bozukluklarda array CGH iyi bir seçenek iken, sık görülen Down sendromu, Turner sendromu gibi klasik anöploidi vakalarında konvensiyonel kromozom analizini tercih etmek gerekir. Öte yandan kromozom bölge spesifik mikrolelesyon-mikroduplikasyon sendromlarının, örneğin DiGeorge sendromu

gibi bu hastalara FISH analizi ile tanıya gitmek hem maliyet açısından hemde pratik olması açısından daha uygundur.

ACMG (American College of Medical Genetics), array platformlarının kapsayıcılığı ve prob seçimi hakkında önerilerde bulunmuştur. Bu öneriler:

a) Problar genom boyunca homojen dağıtılmalı, böylece yeni CNV'ler fark edilebilecek ve varsa hastada daha önceden klinik olarak tanımlanmış sendromlar yakalanabilecektir.

b) Prob homojenitesinin yanısıra; tanımlanmış sendromlar ve özellikle mental retardasyona yol açan genlerde dahası bu genlerin içerisinde mutasyon spesifikliği gösteren bölgeleri üzerinde prob yoğunluğunu artırmak gereklidir.

Testin duyarlılığının yüksek olabilmesi için istenen değer 400 Kb'nin altındaki CNV'lerin %99'unu yakalayabilmelidir. Ancak bu durumda testin duyarlılığından bahsedebilir ve test güvenilir diyebiliriz. Ayrıca CNV olmadığı halde pozitif sonuç veren prob sayısının %1'den az olmalıdır. Bu değer spesifikite için yeterli görülmektedir.

Mikroarray'in ACMG'nin 2013 yılında yayınlamış olduğu avantaj ve kısıtlılıkları hakkında özet aşağıda listelenmiştir:

## 2.7 Array CGH'in avantajları

- Kültüre canlı hücreye ihtiyaç yoktur. DNA bankasından veya herhangi bir doku bloğundan çalışılabilir.
- Konvansiyonel kromozom analizi ile saptanamayan submikroskopik kromozomal abnormallikler tespit edilebilmektedir.
- Saptanan yapısal abnormalliklerin sınırları konvansiyonel incelemeye göre daha spesifik olarak çizilebilir.
- Konvansiyonel değerlendirme göz ile olmakta ve bu değerlendirme kısmi olarak subjektiftir. Array ile elde edilen verinin standardize olması daha objektif bir veri sağlamaktadır.

## 2.8 Array CGH'in sınırlılıkları

- Array CGH dengeli kromozomal abnormallikleri tespit edemez.
- Kısmi mozaikliğin olduğu durumlarda dengesiz yapısal abnormalliklerin tespiti mümkün olmayabilir.
- Abnormalliğin dinamiği, mekanizmasını açıklamak mümkün olmayabilir.
- CNV bölgesi ile ilgili prob yeterli miktarda değilse tespiti mümkün olmayabilir.
- Veriler karşılaştırılmalı olarak bilgiye dönüştüğü için tetraploidi gibi ploidilerin tespiti zor olabilir.
- Hastanın kliniğine katkıda bulunan nokta mutasyonlar, gen ekspresivitelemeleri, epigenetik değişiklikleri tespit edilememektedir.
- Herhangi bir lokusta değişiklik olmaması o bölgede mutasyonu dışlamamaktadır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik polikliniğine başvuran ve Tıbbi Genetik Laboratuvarında tanı amaçlı tetkikleri yapılan ve genetik raporları çalışma öncesinde tamamlanan hasta verileri retrospektif olarak değerlendirme altına alındı. Çalışmada maternal kontaminasyon riskinden kaçınmak için fetüsün gross olarak seçilebildiği biopsiye sahip fetal kayıp olguları tercih edildi.

Çalışma öncesince araştırmanın etik açıdan uygunluğu;

Karar Tarihi:10.01.2018

Karar No:2018-01

Karar-01)2011-KAEK-27/2017-E.66893 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Prof.Dr. Öztürk ÖZDEMİR'in çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada"ETİK KURUL ONAYINI ALIR" kararı verilmiştir.

Nanodrop implen P330 cihazı ile hastalara ait DNA'ların miktarı ölçüldü. Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon platformu olarak Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarında rutin çalışmalarında kullanılan Agilent 60 K ISCA dizayn aCGH kiti kullanılmaktadır. Agilent ISCA dizayn kiti içerisinde bulunan referans DNA'ya ait DNA'nın miktarı ile hastalara ait DNA'nın miktarı kit uygulama rehberine uygun olacak şekilde eşitlendi.

Agilente ait oligonükleotid temelli Genomik DNA analizi için ürettiği array 7.4 nolu protokolüne göre hasta ve referansa ait DNA'lar Cy3 ve Cy5 ile işaretlendi. Daha sonra DNA'lar aynı tüpte birleştirildi. Birleştirilen DNA'lar Agilente ait SurePrint G3 ISCA V2 60Kb'lik 8 örnek barındıran array cam slaytlarının üzerine işlendikten sonra oligo probler ile DNA oligo nükleotidlerinin birleştirildiği hibridizasyon fırınına (aCGH fırını) chamberlar (kasa) içinde konuldu. Minimum 18 saat maksimum 24 saat aralığını geçmeyecek şekilde 67 santigrad derecede hibridizasyon olması için beklendi.





**Şekil 3.1.** aCGH tarayıcı-fırın malzemeleri Şekil 3.1. A'da sağda array problemlerinin hibridizasyon işleminin gerçekleştiği hibridizasyon fırını solunda ise fırından çıkan problemlerin taramasının yapıldığı, ham datanın oluşturulduğu tarayıcı ((AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner) bulunmaktadır. Şekil 3.1. B'de hasta ve referansa ait DNA'nın hibridizasyonunun gerçekleştiği(fırına yerleştirilen) ve üzerinde array problemlerinin bulunduğu 60Kx8'lik array kiti, Şekil 3.1. C'de tarayıcının cam slayt yerleştirilen gözleri görülmektedir.

24 saatlik hibridizasyon basamağı sonunda array cam slaytı usulüne uygun olarak yıkandı. Scanner içerisine plastik kaset içerisinde yerleştirilen cam slayt; AGT- G4900DA SureScan Microarray Scanner isimli özel laser tarayıcı ile tarandı. Oluşan ham datalar Agilent Feature Extraction programı ile tif ve txt dosyaları oluşturuldu. Bu dosyalar daha sonra klinik değerlendirmenin yapılacağı AgilentCytoGenomic3.0.2.11software programında analize olanak sağlayan data işleme süreci tamamlanıp genom üzerindeki aberrasyonları görebildiğimiz istatistiksel veri haline dönüştürüldü.

### 3.1 Genomik DNA izolasyonu

Araştırmaya toplam 39 adet fetal tahliye materyali analizleri dahil edilmiştir. Tahliye materyallerine ait solid doku DNA izolasyonlarında PureLink Genomik DNA izolasyon kiti(Qiagen DNA mini kit, lot 157037013, Cat no: 51304,Germany) kullanılmıştır. aCGH genotiplemesinde kullanılmak üzere izole edilen DNA saflıkları ve miktarları Nanodrop (IMPLEN, P330 Nanophotometer, Germany) ölçülmüştür. Olgulara ait DNA izolasyonu protokol basamakları aşağıda listelenmiştir;

1. 1,5 mL'lik eppendorf tüplere 200 µl fetal solid dokudan ve 200 µl PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer, 40 µl Proteinase K, eklendi ve vortekslenerek eşit şekilde karışması sağlandı.
2. İnkübasyon işlemi için hazırlanan mix, 56°C ısıtıcı blokta 10 dakika bekletildi.
3. Karışım inkübe edildikten sonra %96-100'lük izopropil alkolden 200 µl eklendi. Daha sonra vortekslenerek alkolün iyice nüfuz etmesi sağlandı.(Bu sırada Elution Buffer 70 derecelik ısıya getirilmiş fırına konuldu.)
4. Daha sonra karışım spin kolan içerisine transfer edildi. Spin kolonda 8000 rpm de 1 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirildi.
5. Santrifüj sonrası spin kolonun dibine çöken sıvı ayrıştırıldı. Filtre edilmiş olan sıvı yeni bir 2 mL'lik collection tüp içine konuldu.
6. Sonrasında filtre edilmiş sıvıya 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 8000 rpm'de 1 dakikalık santrifüj edildi.
7. Santrifüj sonrası kolon dibindeki toplanan sıvı aynı şekilde atıldı ve filtrasyon sıvısı yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
8. Filtre sıvıya bu sefer 500 µl Wash Buffer 2'den eklendi ve 10000 rpm'de 1 dakika santrifüje edildi.
9. Kolonun dibinde toplanan sıvı pipetle atıldı ve yeni bir collection tüp alındı.
10. Kolon dibinde toplanan sıvı atılarak filtrede kalan sıvı 1,5 mL'lik eppendorf tüpü içine yerleştirildi.
11. Ependorf tüpünün üzerine 40 µl Elution Buffer eklendi.

12. Bir dakika boyunca oda sıcaklığına inkübasyon işlemi gerçekleştirildi ve 8000 rpm'de bir dakika boyunca santrifüje edildi.
13. Filtrasyon tüpü atılarak, ependorf tüp içerisindeki elde edilen DNA - 20°C'de aCGH çalışmasında kullanılmak üzere muhafaza edildi.

### 3.2 Array CGH Metodu ve Uygulanması

**Agilent Genomics ürünü olan array CGH kitinin içerisinde bulunan bileşenler:**

- SureTag Complete DNA Labeling Kiti
- SurePrint G3 Human CGH Bundle, 8x60K
- Hibridizasyon gasket slides
- Oligo aCGH Hibridizasyon Kiti
- SureTag DNA Labeling Kit Purification kolonları
- İnsan Cot-1 DNA'sı
- Oligo aCGH Wash Buffer 1 and Oligo aCGH Wash Buffer 2

**Çalışma için gerekli olan diğer malzemeler:**

- 1,5 mL'lik Eppendorf tüpleri
- 0,2 mL'lik PCR tüpü
- Agilent CGH Wash Buffer 1
- Agilent CGH Wash Buffer 2
- 8x60K Gasget Slideları
- Referans DNA-erkek ve kadın (250 ng/uL) Agilent
- TBE Buffer
- Kapak ısıtmalı termal cyclers
- Nano fotometre (implen P330)
- Vakum konsantrator cihazı (Christ RVC 2-18 CD Plus Vakum Concentrator)
- Agilent hibridizasyon fırını
- AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner Analizin Yapılacağı Bilgisayar Programları
- Ham datanın işleneceği Agilent Cyto Genomic 3.0.2.11 yazılım programı

## Array CGH çalışmasının sıralı işlem basamakları

DNA izolasyonu
Genomik DNA'nın kesim enzimleri ile bölünmesi
Genomik DNA'nın işaretlenmesi
24 saat sürede 67 derecede sıcaklıkta hibridizasyon
Hibridizasyon sonrası array camlarının yıkanması
Scanner ile array camlarının taranması
Tarama sonrası ham datanın analize hazırlanması ve datanın analizi

### 3.2.1 Genomik DNA'nın Nicel ve Kantitatif Analizi

Genomik DNA'nın izolasyonu yapıldıktan sonra referans DNA örnekleri ve hastalara ait olan DNA örneklerinin hepsi birden 50 nanogram DNA içerecek şekilde eşitlendi. Eğer miktar olarak 350 ng/ $\mu$ l'den fazla DNA içeren örnekler varsa yarı yarıya TE tampon ile sulandırıldı.

### 3.2.2. DNA'nın Restriksiyon enzimleri ile Kesim işlemi

Restriksiyon işlemi için gerekli olan malzemeler Tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 3.1.** DNA kesim işlemi bileşenleri

Restriksiyon işlem bileşenleri	Reaksiyon işlemi başına gerekli olan miktarlar ( $\mu$ l)
10x Restriksiyon Enzim Buffer	1.3 $\mu$ l
BSA	0.1 $\mu$ l
Nukleaz İçermeyen Su	1 $\mu$ l
Alu1 kesim enzimi	0.25 $\mu$ l
Rsa1 kesim enzimi	0.25 $\mu$ l

Örnekler için işlem tüpüne konulması gereken master karışımı miktarı 2.9  $\mu$ l'dir. Toplam hacim DNA eklendikten sonra 13  $\mu$ l olacak şekilde tüpler hazırlanmalıdır. İlk önce 37 derecede iki saat sonrasında 65 derecede yirmi dakika sürecek olan PCR işlemi yapıldı.

DNA'nın parçalara ayrılması sürecinden sonra fragmantların tarayıcıda okunurken işaret verebilmesi için boya ile işaretlenmesi gerekmektedir. Aşamalar arasında fragman DNA parçalarının bozulmaması için işlem yapılan

sporların altında soğuk takviyesi yapması için buz konteynırları kullanıldı.

DNA denatürasyonu fragmantasyonu için üç dakikalık doksan sekiz derecede PCR işlemi aşamasına gelindi.

Konvansiyonel PCR işleminde istenilen DNA bölgesinin spesifik sekansı çoğaltılmak istendiği için bölge uyumlu primer kullanıldı. Array CGH işleminde tüm genomun çoğaltılması istendiği için spesifik olmayan primerlerle tüm genomun amplifiye edilmesi sağlandı. 2.5 µl random primer reaksiyon tüplerine aktarılır. Ve son hacimleri 13 µl olan tüplerin son hacimleri 15.5 µl'ye ulaşır. Üç dakikalık PCR işlemi gerçekleştirildi.

### 3.2.3 Cyanin boyası ile işaretlenmesi işlemi

İşaretleme işlemi için gerekli olan reaksiyon bileşenleri tabloda belirtilmiştir.

**Tablo 3.2.** Floresan işlemi bileşenleri

Reaksiyon bileşenleri	Reaksiyon başına için gerekli miktar (µl)
Cyanin-3 (Cy-3)	1.5 µl
Cyanin-5 (Cy-5)	1.5 µl
Exo(-) Klenow (Enzim)	0.5 µl
10x dNTP'ler	2.5 µl
5x Reaksiyon Buffer	5.0 µl

Cyanin-3 ve Cyanin-5 için iki ayrı karışım tüpü hazırlandı. Cyanin-5 master mix karışımından 9.5 µl miktarında her bir hasta tüpüne pipetlendi (siyanin-5 mavi renkte floresan vermektedir). Cyanin-3 floresan master mix karışımından yine 9.5 µl referans örneklerine pipetleme yapıldı (Cyanin-3 kırmızı floresan renk vermektedir). Otuz yedi derecede iki saat PCR işlemi gerçekleştirildikten sonra altmış beş derecede on dakika PCR işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem sonrası PCR ürünleri -20 derecede istenildiği zaman işlemi ilerletilmek üzere saklandı.



Şekil 3.2. Örnek ve referans DNA'larının floresan işaretleme basamağı

### 3.2.4. Saflaştırma aşaması

Saflaştırma işlemi için kullanılan pürifikasyon kolonları ve ikişer mL'lik toplama tüpleri SureTag işaretleme kiti ile yapıldı. İkişer mL'lik toplama tüpleri içine kolonlar yerleştirildi ve reaksiyon tüplerine 430 µl 1x TE Buffer (pH 8.0) ilave edildi. Kolonların içerisine işaretleme yapılmış DNA'lar ilave edildi. On iki bin rpm'de on dakikada santrifüj edilerek altta biriken sıvı ayrıştırıldı. Benzer işlem tekrar TE buffer ekleyerek ve santrifüj işlemine tabi tutularak tekrar edildi. Sonra kolonlar ikişer mL'lik yeni tüplere konularak üç bin iki yüz rpm'de bir dakika santrifüj edildi.

Saflaştırma işleminin amacı otuz kilo Dalton büyüklüğünden daha küçük parçacıkları kirlilik oluşturmasını engellemek amacıyla ortamdaki uzaklaştırılması için yapılmaktadır. İkişer mL'lik tüplerde kalan ürünler PCR tüplerine yüklendi. Sonra işaretleme ve ürünlerin spesifik aktiviteleri ölçüldü.

Ürün (µg) = DNA konsantrasyonu (ng/µL) x örnek hacmi (µL) /1000 ng/µg hesaplamasına göre nanofotometre cihazında değerler elde edilerek formüle uygun olarak hesaplama yapıldı.

### 3.2.5 Vakum Konsantratör

1.5 mL'lik RNAase free tüplerinde hastaların her birisi ayrı ayrı tüplerde olmak üzere referans DNA'lar ile birleştirildi. Sonra vakum konsantratörde işaretleme DNA pelleti kalacak şekilde konsantratörün kapasitesine göre ortalama

bir-bir buçuk saat süresince 55 derece sıcaklıkta vaporize edildi. Son hacim 16 µL olmasına özen gösterildi.

### 3.2.6. Hibridizasyon basamağı

Öncelikle 10x bloke edici ajan hazır hale getirildi. Sonrasında hibridizasyon yani melezleme işlemi uygulandı. Bloke edici ajan preparasyonu: 1.350 mikro litre saf su 10x array CGH bloke edici Agent'a ilave edildi. Bu karışım bir saat oda sıcaklığında bekletildi.

**Tablo 3.3** Hibridizasyon aşamasında kullanılan ajanlar

Reaksiyon bileşenleri	Reaksiyon başına gerekli miktar (µl)
10x aCGH Bloke edici Agent	4.5 µl
Cot-1 DNA (1.0 mg/mL)	2 µl
2x HI-RPM Hibridizasyon Bufferı	22.5 µl

Vakum konsantre edici ile PCR tüplerindeki vaporizasyon işlemi bittikten sonra kalan işlem ürünlerinin üstüne Cot-1 DNA birleşeni master mix yapılarak tüplere dağıtıldı. İki x HI-RPM hibridizasyon tampon vizkozitesi fazla olan bir sıvı olduğu için pipetaj işlemi ile en son eklenerek tamamlandı. Bu pipetaj işlemi aCGH işleminin en kritik basamaklarından birisidir. Çünkü vizkoz olan bileşen ortama homojen olarak difüze olmazsa slaytlar tarayıcı tarafından tam kapasiteli olarak okunamayacaktır.

### 3.2.7. Örneklerin array cam slaytları üzerine yüklenmesi

Array camlarına yükleme yaparken problemlerin olduğu yüzün seçilmesi önemlidir. Problemler camın sadece tek bir yüzünde bulunmaktadır. 60K aCGH'te sekiz bölme yani sekiz hasta kapasitesine sahiptir. Kırk mikro litre her bir alana nazik bir pipetleme ile cam yüzeye dokunmadan yüklendi. Slayt barkod numarası yukarıya bakacak şekilde gasket slide cam üzerine yerleştirme işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemler sırasında aşırı derecede titiz hareket edilmelidir. Slayt yüzlerine ya da prob içeren cama parmak veya tırnak izi ile dokunmuş yapıldığında dokunulan bölgede yüzlerce prob kör hale gelecektir. Ayrıca hasta örneklerinin pipetajı sırasında aynı vizküz sıvının karıştırılması aşamasında

olduğu gibi hassas davranılmalıdır. Bu aşamada kaset üzerinde hava balonu bırakılmaması önemlidir. Hava baloncukları hibridizasyon esnasında fırında devir daim olurken slide üzerinde bir noktaya fikse olması durumunda o bölgedeki problemler örnek DNA'sı ile eşleşemez ve array kalitesini düşürür.

### 3.2.8. Kasetlerin fırına yerleştirilmesi

Cam slaytlar çelik kasaya (chamber) yerleştirilir. Fırına konulan son ürün hibridizasyon kalitesi için en az 18 saat ortalama 24 saat maksimum olarakta 40 saat olacak şekilde 67°C sıcaklıkta bekletilir.

### 3.2.9 Hibridizasyon sonrası slayt yıkama basamağı

Agilent Oligo aCGH/ChIP on Chip Wash Buffer 1 ve Wash buffer 2 tamponları kullanılmıştır.

**Tablo 3.4.** Yıkama işlemi basamakları ve bileşenleri

Kap Numarası	Yıkama tamponu	Isı derecesi	Zaman
1. Kap	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığında	
2. Kap	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığında	5 dakika
3. Kap	Wash Buffer 2	37°C	1 dakika

Yıkama mutlaka cam kaplarda yapılmalıdır. Kapların bol saf su ile yıkanması bir önceki işlemde kalma atıkların kalmaması için hem işlem tamamlanınca hemde yeni yapılacak işlem öncesinde temizliğine özen gösterilmelidir. Su ile yıkama yaptıktan sonra asetonyitril ile yıkama yapıldı. 24 saatlik hibridizasyon işlemi sonrasında fırından çıkarılan chamber içerisindeki cam slaytlar birinci cam kaba alındı. Penset yardımı ile slayt camları tampon içerisinde itina ile açıldı. Üstteki barkodlu cam özenle parmak izi oluşturmadan alındı. Kuyu içeren alttaki slayt sıvı içerisinde bırakılır ve işleme SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K array slaytı ile devam edildi.

Barkodlu slayt camının cam kaplarındaki işlemleri ardışık olarak devam edildi. Birinci cam kaptan alınan barkodlu slayt; Wash Buffer 1 içeren ikinci kap içine slayt yuvası barındıran şale içine yavaşça yerleştirilerek beş dakika



beklendi. Etüvde sıcaklığı 37 dereceye ayarlanmış olan Wash buffer 2 ısıtıcı üzerinde sıcaklığı 60-70 derece olan kap içine konuldu. İkinci kap içerisinde karıştırıcı olarak balık kullanıldı. Balık suyun kap içerisinde devir daim olmasını sağlayarak slayt üzerindeki artıkların atılma sürecini optimize etmek için kullanıldı.

Slayt tutucu şale birinci kaptan yavaş yavaş çıkarılıp aynı hızda ikinci kaba yerleştirildi. Slayt bütün kaplarda tam olarak tampona gömülü şekilde hava ile temas etmeyecek şekilde tutuldu. Wash buffer 2 içinde bir dakika tutulan slayt çıkarıldı.

### **3.2.10 Slaytların scanner ile tarama aşaması**

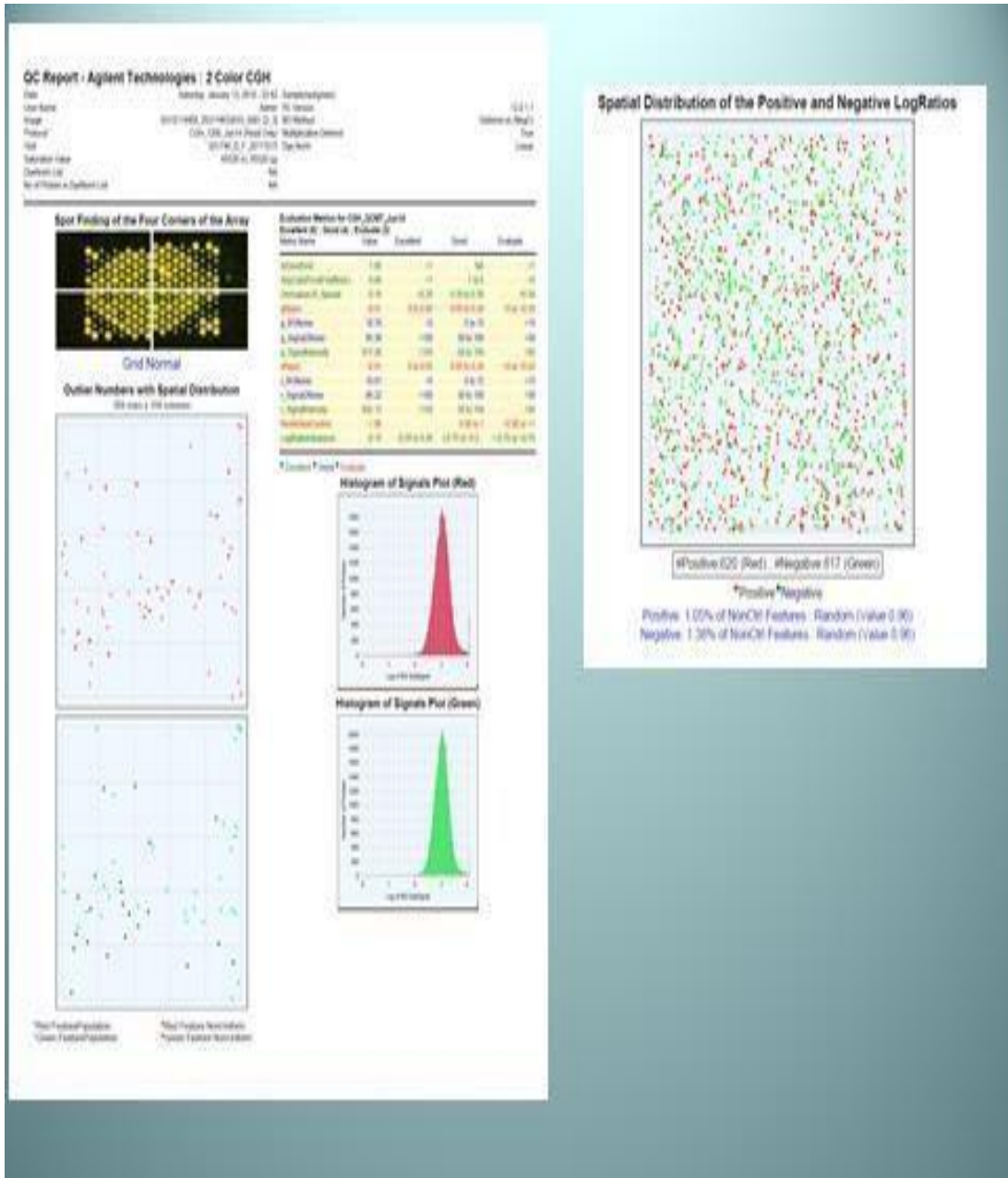
Plastik çerçeve içerisine konulan slayt ozon ile temasını minimum indirmek için hızlı bir şekilde tarayıcının gözlerinden birisine yerleştirilir. Bu sırada bilgisayarda tarama işlemini yapan feature extraction programının açılıp hazır halde tutulması gerekmektedir.

Array CGH kiti için yukarıda anlatılmış olan program örüntüsü tıbbi genetik laboratuvarında rutin çalışmalar esnasında kullanılan yükleme programıdır. Bu program Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis ve Enzymatic Labeling for Blood, Cells, or Tissues (with a High Throughput option) Protocol Version 7.5 olup en son 2016 yılı haziran ayında revise edilmiştir. İnternet üzerinden yeni versiyonlar çıkması halinde güncel gelişmeler takip edilerek işlem optimize edilmelidir. Ayrıca açıklanan her yeni versiyon kitapçığının başlangıcında bir önceki versiyona göre yapılmış olan revizyon kısaca özetlenmiş olarak bulunabilir. Program [www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G441090010\\_CGH\\_Enzymatic\\_7.5.pdf](http://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G441090010_CGH_Enzymatic_7.5.pdf) web adresinden erişime açık bir şekilde bulunmaktadır (79,86).

### **3.2.11 Tarama sonrası ham datanın analize hazırlanması**

Hasta verilerinin niteliksel verilere yani son haline dönüştürülmesi için Agilent feature extraction programı ile işlemden geçirildi. Extracrion işlemi sonrası kalite kontrol raporu şekil 3.3'de görülmektedir. Feature Extraction kalite kontrol raporunda; array camı üzerindeki spotların dağılımını gösteren şematik

görüntü, problemlerin uzaysal dağılımı, pozitif ve negatif LogRatios uzaysal dağılımı, metrikler değerlendirme değerleri, kırmızı ve yeşil spotların histogramı bulunur. Tablo 3.5’de enzimatik etiketlendirme değerlendirme kriterleri verilmiştir. Bu değerlere bakarak analiz edilen verinin kalitesi ölçüldü.



Şekil 3.3 Feature Extraction yazılımının oluşturduğu aCGH kalite kontrol rapor örneği

**Tablo 3.5.** aCGH enzimatik etiketlendirme metrics eşik değerleri

<b>Metrics değerleri</b>	<b>Mükemmel sonuç</b>	<b>İyi sonuç</b>	<b>Değerlendirme altına al</b>
DerivativeLR_Spread	<0.20	0.20-0.30	>0.30
Back ground noise	<5	5-15	>15
Reproducibility	0-0,05	0,05-0,20	<0 veya >0,20
Signal intensity	>150	50-150	<50
Signal/Noise	>100	30-100	<30



## 4. BULGULAR

Tez çalışmamıza Çanakkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Polikliniğine başvurmuş ve başvuru sonrası Tıbbi Genetik Laboratuvarında array CGH tetkiki çalışılmış ve analiz dosyaları, sonuç raporları oluşturulmuş olan hastaların verilerinin retrospektif olarak değerlendirilmesi ile üretilmiştir. Hastalara ait tüm bilgiler arşivdeki hasta dosyalarından temin edilmiştir.

### 4.1 Olguların demografik özellikleri

Tez çalışmamıza dahil edilmiş olan 39 fetal kayıp olgusunun hepsi 10 hafta sonrasında gerçekleşmiş olan embriyonik dönemini tamamlayıp, fetal periyoda girmiş olan geninlerin intra uterin dönemdeki kayıplarını kapsamaktadır. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinden ve Çanakkale Mehmet Akif Ersoy Devlet Hastanesinden fetal kayıp olarak sonuçlanmış gebeliklere ait fetal biopsi materyali Tıbbi Genetik Polikliniği ve Tıbbi Genetik Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Hastaların anemnezleri ve klinikleri retrospektif olarak sorgulanmış ve etiyolojik faktörler incelenmiştir.

Çalışmamıza dahil olan fetal kayıp olgularına ait klinik veriler Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Buna göre 10 haftalık fetal dönemin başlangıcından term doğuma kadar olan süreçteki 39 fetal kayıp olgusunun %41'inin kız fetüs, %59'unun erkek fetüs olduğu, ortalama gebelik haftası 25, ortalama maternal yaşı 29, en küçük anne yaşı 19, en büyük anne yaşı 42, ortalama paternal yaşı 34, daha önceden abortus öyküsü olan hasta sayısının 6 olduğu ve bunlardan 3 tanesinin tekrarlayan gebelik kayıplarının olduğu, bir hastada tüp bebek tedavisi başarısızlığının bulunduğu görülmektedir.

**Tablo 4.1.** Araştırmaya dahil edilen fetal kayıp olgularına ait bazı klinik özellikler

<b>Olgu</b>	<b>Klinik özellik</b>
Olgu özelliği	Fetal kayıp
İncelenen genom	Fetal genom
İncelenen materyal	Fetal biopsisi
Olgu sayısı	39
Olguların cinsiyeti	16 kız (%41) 23 erkek (%59)
Ortalama gebelik haftası	25
Ortalama maternal yaş	29
Maternal yaş en küçük-en büyük yaş	19-42
Ortalama paternal yaş	34
Paternal yaş en küçük-en büyük yaş	26-43
Önceki abortus öyküsü (10 hafta öncesi gebelik kaybı)	7 (%22) , bunların 3 tanesi tekrar eden düşük
Önceki fetal kayıp	3 (%8)
IVF başarısızlığı öyküsü	1(%3)
FISH sonucu anöploidi varlığı	5 adet

#### **4.2 Maternal trombofilik mutasyon analizi sonuçları**

Olguların etiyojilerinin ortaya konulması için maternal pıhtılaşmaya olan yatkınlıklarının araştırılmıştır. Bunun için FVL, Protrombin, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, faktör X III, PAI mutasyonları açısından değerlendirildi.

Buna göre maternal FV Leiden R506Q mutasyonu açısından 4 olgu (%10) heterozigot mutant olduğu tespit edilmiştir. Olguların hiçbirisinde homozigot mutasyona rastlanmamıştır. Protrombin (FII) G20210A mutasyonu açısından hiçbir olguda heterozigot yada homozigot mutasyona saptanmamıştır.

MTHFR C677T (Ala222Val) mutasyonu açısından maternal 16 olguda (%41) mutasyon saptanmıştır. 3 olguda homozigot, 13 olguda heterozigot mutasyon saptanmıştır.

MTHFR A1298C (Glu429Ala) mutasyonu açısından maternal 22 olguda (%56) mutasyon saptanmıştır. 14 olguda homozigot, 8 olguda heterozigot mutasyon görülmüştür.

Plasminogen activator inhibitor-1 geni polimorfizmi açısından maternal 22 olguda (%56) mutasyon saptanmıştır. 6 hastada homozigot, 16 hastada heterozigot mutasyon saptanmıştır.

### 4.3 Olgularda görülen CNV değişiklikleri ve özellikleri

Tez çalışmamızın 2. Bölüm 3. Alt başlığı olan Fetal kayıpları incelemede kullanılan genetik yöntemler içerisinde anlatıldığı gibi genom içerisinde kromozom segmentlerindeki delesyonlar ve duplikasyonlar CNV olarak tanımlanmıştır (77). Delesyon ve duplikasyon analizinde Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntemin bölge spesifik çalışması, tüm genom taramalarında tercih edilmemesi sebebiyle bugünkü şartlar altında genom boyu incelemede array CGH yöntemi CNV taramasında tercih edilmektedir. 3.2.11'de Tarama sonrası ham datanın analize hazırlanması bölümünde bahsedildiği gibi Ekstraksiyon işlemi sonrası metrics değerlerinin verileri standardize edilmiş değerler ile karşılaştırıldıktan sonra olgularının hepsinin analize uygun olduğu tespit edilmiş ve analizler 39 olgu üzerinde gerçekleştirilmiştir. Olguların analizleri yapılırken LOH (Loss of Heterozigosite) mevcut array platformunda değerlendirilememektedir. Bu yüzden hasta kliniğine sebep olma olasılığı bulunan LOH değişiklikleri ile ilgili veri üretilmemiştir.

CNV değerlendirmesi yapılan olgulara ait analiz verilerinin genel özelliklerine ait kısa özet Tablo 4.2'de verilmiştir. Çalışmaya olgu seçimi yapılırken 10 haftanın üstünde QF-PCR analizinde anöploidi, poliploidi gibi kromozomal anormallikleri olanlar dahil edilmedi. 2016-2017 yıllarında 10 hafta üzeri 50 fetal kayıp olgusundan 11 tanesi kromozomal anormallik taşıdığı için sonucu normal çıkan 39 olgu üzerinde çalışıldı. Olguların analizleri yapılırken Mean LogRatio değerinin delesyonlar için -0,5 altında, duplikasyonlar için +0,5 değerinin üzerinde olan CNV'ler çalışmaya dahil edildi. Sonuçlar elde edildikten sonra aday genlerin seçimi yapılırken 3 olgu ve daha fazla olguda pozitif

bulunan genler öne çıkarıldı. 3 olgu (%8 oranı) seçilmesinin nedeni; teze dahil olan olgu sayısının az olmasından dolayı Tablo 4.6'da görüldüğü gibi birçok gende 1 ve 2 olguda pozitiflik oranının fazla olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca olgularda gen CNV'si analiz edilirken 3 aCGH probunun Logratio değerinin delesyonlar için -0,5'den daha küçük, duplikasyonlar için +0,5'den daha büyük olmasına dikkat edildi.

**Tablo 4.2.** Olguların aCGH analizi genel özellikleri

<b>Olgu</b>	<b>Özellik</b>
En çok etkilenen kromozomlar (sırasıyla)	X
En çok etkilenen kromozom bölgesi	Xq21.1
Mutasyonların gen dozajı	Heterozigot (%95)
En fazla görülen yapısal abnormalite (CNV)	Duplikasyon

Tablo 4.3'te ve Şekil 4.1'de Araştırma kapsamında analiz edilen fetal kayıplara ait FISH ve QF-PCR profilleri ve ebeveynlerine ait obstetrik öyküleri görülmektedir. Buna göre QF-PCR analizi sonuçlarının fetal cinsiyetle uyumlu olduğu, FISH analizi sonucunda 5 olguda (%13) anöploidi ve 1 olguda (%3) duplikasyon (14q duplikasyonu) saptanmıştır.

Tablo 4.4'de Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler, kromozomal lokalizasyonları, büyüklükleri ve neden oldukları patolojik durumlar Langman's Medical Embryology 12. Baskı ve raredisease.org adlı genetik hastalık/sendromlarının bulunduğu internet veri tabanından taranmıştır.

Tablo 4.5'te olgularda saptanan ve -0.5/+0.5 MeanLog Ratio değerlerinin üstündeki CNV'ler listelenmiştir. Bu tabloda Kromozomal Array-CGH analizleri yapılan fetal materyallerinde saptanan mutasyon tipi, kromozomal lokalizasyonu, büyüklüğü, başlama ve bitiş kodonlar ve gen –klinik ilişkileri özetlenmiştir.

**Tablo 4.3.** Araştırma kapsamında analiz edilen fetal kayıplara ait FISH ve QF-PCR profilleri ve ebeveynlerine ait obstetrik öyküleri

Materyal no	Fetal kayıp haftası	Cinsiyeti	Bilinen düşük nedeni				Anne-baba yaşları		IVF başarısızlığı	Laboratuvar Tanısı	
			Önceki düşüklükler	Önceki fetal kayıp	Yaşayan çocuk	Bilinmiyor	Anne	Baba		FISH	QF-PCR (13,18,21, X,Y)
1	20	Dişi	0	0	1	+	34	34	0	Normal	Normal
2	38	Dişi	0	0	0	+	25	32	0	Normal	Normal
3	19	Erkek	0	0	0	+	27	29	0	Normal	Normal
4	38	Erkek	0	0	0	+	28	-	0	Normal	Normal
5	16	Erkek	0	0	0	+	27	27	0	Normal	Normal
6	20	Erkek	0	0	6	+	42	27	0	Normal	Normal
7	24	Dişi	0	0	0	+	29	28	0	Normal	Normal
8	37	Dişi	0	0	1	+	35	33	0	Mosaik15 Monozomi/dizomi	Normal
9	34	Erkek	0	1	0	+	19	35	0	Normal	Normal
10	34	Erkek	0	0	0	+	26	26	0	14 q duplikasyonu	Normal
11	10	Erkek	0	0	0	+	34	-	0	Normal	Normal
12	10	Dişi	0	0	0	+	22	27	0	Monozomi/trizomi 16	Normal
13	17	Erkek	1	0	2	+	37	43	0	Normal	Normal
14	11	Dişi	0	0	0	+	29	30	0	Normal	Normal
15	34	Erkek	0	0	0	+	23	37	0	Normal	Normal
16	25	Erkek	0	0	0	+	29	28	0	Normal	Normal
17	38	Erkek	1	0	0	+	31	30	0	Mozaik trizomi	Normal
18	11	Dişi	0	0	0	+	40	-	0	Normal	Normal
19	30	Erkek	0	0	2	+	26	-	0	Normal	Normal
20	34	Dişi	0	0	0	+	20	26	0	Normal	Normal
21	35	Dişi	0	0	0	+	32	35	0	Monozomi 15	Normal
22	33	Dişi	0	0	0	+	37	37	0	Normal	Normal
23	28	Dişi	0	0	1	+	29	31	0	Normal	Normal
24	38	Dişi	0	0	0	+	33	37	0	Normal	Normal
25	26	Erkek	0	1	2	+	30	37	1	Normal	Normal
26	19	Erkek	0	0	1	+	22	31	0	Normal	Normal
27	16	Erkek	1	0	0	+	23	27	0	Normal	Normal
28	21	Erkek	0	0	1	+	27	34	0	Normal	Normal
29	32	Erkek	0	0	0	+	21	25	0	Normal	Normal
30	14	Dişi	3	0	0	+	36	32	0	Normal	Normal
31	18	Dişi	2	0	2	+	35	37	0	Normal	Normal
32	16	Erkek	2	1	0	+	32	33	0	Mozaik trizomi 16	Normal
33	34	Erkek	0	0	1	+	20	-	0	Normal	Normal
34	17	Erkek	0	0	0	+	30	37	0	Normal	Normal
35	25	Erkek	0	0	0	+	27	28	0	Normal	Normal
36	27	Erkek	0	0	0	+	25	27	0	Normal	Normal
37	26	Dişi	0	0	0	+	25	28	0	Normal	Normal
38	20	Erkek	1	0	1	+	37	36	0	Normal	Normal
39	12	Dişi					20			Normal	Normal



**Tablo 4.4.** Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler, kromozomal lokalizasyonları, büyüklükleri ve neden oldukları patolojik durumlar

Gen	Lokasyon	Başlangıç	Bitiş	Protein/Hastalık/Sendrom
BMP7	20q13.32	55,663,582	55,804,530	Kemik morfogenetik proteini
CHRNA1	2q31.1	175,548,502	175,548,561	Multipl pterigium sendromu ölümcül tip
CHRND	2q31.1	131,357,208	131,357,267	Multipl pterigium sendromu ölümcül tip
CHRNA1	2q31.1	131,357,208	131,357,267	Multipl pterigium sendromu ölümcül tip
COL1A	17q21.33	101,764,038	101,764,097	Ehlers-danlos sendromu, artrokalazi tip, 1 osteogenezis imperfekta, tip I.II.III.IV
COX7B	Xq21.1	76,830,525	77,160,315	Linear cilt defekti multipl konjenital anomaliler ile beraber 2
FAM20C	7p22.3	191,588	229,852	Raine sendromu
FLNA	Xq28	153,541,230	153,601,836	Ehler danlos hastalığı FLNA-ilişkili periventrikuler nodüler heterotopi
FLNB	3p14.3	153,601,790	153,626,762	Larsen sendromu. Boomerang dizplazisi. Spondilokarpotarsal sinostosis sendromu. Atelosteogenezis I.III
FGFR1-23	8p11.23	38,216,845	38,325,092	Trigonocephali 1. Pfeiffer sendromu. Osteoglofonik dizplazi. Jackson-weiss sendromu. Ensefalokraniokutanöz lipomatozis
FGF8	10q24.32	103,454,492	103,454,536	Hipogonadotropik hipogonadizm 6 ve/veya anozmi ile birlikte
FOXD3	1p31.3	63,713,875	63,713,934	Atoimmun hastalık, şüphesi, 1
FOXP1	14q12	29,204,820	29,238,897	Rett sendromu, konjenital varyant
FMR1	Xq27.3	146,977,059	147,032,524	Frajile X sendromu. Frajile X tremor/ataksi sendromu. Prematur ovaryan yetmezlik 1
EPHB4	7q22.1	100,374,133	100,374,191	Hidrops fetalis, nonimmün, ve/veya atrial septal defekt
GPC3	Xq26.2	132,570,375	133,117,765	Simpson-golabi-behmel sendromu, type 1. Wilms tümörü, somatik
HAND1	5q33.2	153,827,442	153,827,501	Kalp-Nöral krest derivatifleri-eksprese edilmiş olan 1
HAND2	4q34.1	174,434,163	174,434,222	Kalp-Nöral krest derivatifleri-eksprese edilmiş olan 2
HCCS	Xp22.2	11,113,893	11,141,138	Linear cilt defekti - multipl konjenital anomalilerle birlikte 1
HOXA	7p15.2	27,158,260	27,158,319	HOXA distal transkript antisenseRNA
HOXB	17q21.32	46,498,496	46,498,555	HOXB kluster antisense RNA 5
HOXC	12q13.13	54,347,286	54,347,345	Büyüme/Farklılaşma faktörü 11

HOXA2	7p15.2	27,062,058	27,062,117	Küçük kulak ve/veya işitme kaybıyla beraber. Küçük kulak , işitme kaybı, ve yarık damak (ar)
HOXB3	17q21.32	46,498,496	46,498,555	Embriyogeneziste arka beyin gelişiminde etkili
HOXA13	7p15.2	27,216,492	27,216,551	Guttmacher sendromu. El –ayak- uterus sendromu
HOXD3	2q31.1	177,025,781	177,037,460	Hematopoetik hücre farklılaşmasında görevli
HOXD13	2q31.1	176,957,860	176,960,675	Brakidaktili-sindaktili sendromu
IKBKG	Xq28	153,770,576	153,783,639	Ektodermal displazi, hipohidrotik, immün yetmezlikle beraber. İnkontinentia pigmenti
LBR	1q42.12	225,626,182	225,626,241	Reynolds sendromu. Greenberg iskelet displazisi. Pelger-huet anomalisi
MECP2	Xq28	153,194,797	153,361,493	Ensefalopati, yenidoğan şiddetli. Mental retardasyon, X-linked, sendromik. Rett sendromu. Otizm şüphesi, X-linked
MITF	3p13	69,782,417	70,023,268	Tietz albinizm-sağırılık sendromu. waardenburg sendromu, tip 2A. Commad sendromu
MSX2	5q35.2	174,151,663	174,157,924	Kranyosinostozis 2. paryetal foramina 1. paryetal foramina kleidokranial displazi
MYOD	6p21.1	17,737,036	17,737,095	Embriyogeneziste iskelet kasları prekürsörlerini belirler
OTX2	14q22.3	57,220,886	57,276,927	mikroftalmi, sendromik. Pituitari hormonu yetmezliği. Retinal distrofi, erken başlangıçlı, ve/veya hipofiz yetmezliği ile beraber
PAX1	20p11.22	21,667,045	21,667,104	Otofasyoservikal sendromu 2
PAX2	10q24.31	102,407,919	102,407,978	Glomerulosklerozis, fokal segmental, papillorenal sendromu
PAX3	2q36.1	222,983,662	223,162,138	Kranyofasyal-sağırılık-el sendromu. Rabdomyosarkoma 2, alveolar. Waardenburg sendromu, type 1.3
PDX1	13q12.2	28,483,261	28,483,320	Pancreatik agenezi
PHEX	Xp22.11	22,033,900	22,271,711	Hipofosfatemik rikets, X-linked dominant
PORCN	Xp11.23	48,361,164	48,379,190	Fokal dermal hipoplazi
PRPS1	Xq22.3	106,791,412	106,894,224	Arts sendromu. Charcot-marie-tooth disease, X-linked recessive
RET	10q11.21	43,562,468	43,626,679	Hirschsprung hastalığı. Meduller tiroid karsinomu
SHH	7q36.3	155,559,462	155,604,638	Holoprosensefali 3. şizencefali. Microftalmi coloboma ile beraber 5
SIX3	2p21	45,143,253	45,172,394	Holoprosensefali 2. şizensefali
SOX2	3q26.33	181,429,370	181,430,885	Mikroftalmi, sendromik 3. optik sinir hipoplazisi ve santral sinir sistemi anormallikleri ile beraber

SOX9	17q24.3	70,052,260	70,122,586	Akampomelik kampomelik dizplazi. Kampomelik dizplazi
TAF1	Xq13.1	70,543,060	70,743,623	Distoni-parkinsonizm, x-linked. Mental retardation, x-linked, sendromik 33
TBX4	17q23.2	59,498,815	59,498,874	Ischiocoxopodopatellar sendromu
TBX5	12q24.21	114,762,899	114,845,866	Holt-oram sendromu
TWIST1	7p21.1	19,154,855	19,157,193	Kranyosinostozis 1. Robinow-Sorauf sendromu. Sweeney-cox sendromu. Saethre-chotzen sendromu ve/veya göz kapağı anormallikleri ile beraber
WNT3A	1q42.13	228,183,068	228,275,627	Entopedunkular progenitor hücreleri ve kaudal ganglionik eminens progenitör hücreleri, kardiyak progenitör hücreleri, nöral retina hücreleri için uyarıcı
WNT4	1p36.12	22,424,449	22,424,508	Serkal sendromu. Mulleryan aplazi ve hiperandrojenizm
WNT6	2q35	219,675,349	219,675,408	Beyinde meninjiyal hücre gelişimi ve somatik mezenşimal hücrelerin gelişiminde etkili
WNT9B	17q21.32	44,876,738	44,876,797	Renal cap ve henle kulbu hücrelerinin gelişimi

**Tablo 4.5.** Kromozomal Array-CGH analizleri yapılan fetal materyallerinde saptanan mutasyon tipi, kromozomal lokalizasyonu, büyüklüğü, başlama ve bitiş kodonlar ve gen –klinik ilişkileri. Tabloda, etkilenen farklı gen/genler olmasına karşın güncel literatürde fetal kayıplar açısından anlamlı olanlar koyu renkli (bold) olarak belirtilmiştir.

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
1	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
2	Del	--						
	Dup	het	15	q26.2	11.8	96,869,390- 96,881,219	<b>NR2F2</b>	<b>NR2F2:</b> Konjenitalkalpdefektleri, multipl tip
3	Del	het	X	q21.1	502.2	76,776,651- 77,368,137	<b>ATRX</b> , <b>MAGT 1</b> , <b>COX7B</b> , <b>ATP7A</b> , <b>PGAM4</b> , <b>PGK1</b>	<b>COX7B:</b> Linear cilt defekti- multipl konjenital anomali 2 <b>ATRX:</b> alfa talasemi myelodisplastik sendromu, somatik Mental retardasyon- hipotonik yüz sendromu, X-linked <b>ATP7A:</b> Spinal muskular atrofi, Occipital horn sendromu, Menkes hastalığı
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
4	Dup	het	2	<u>q31.1</u>	1.5	176,958,034- 176,959,625	<b>HOXD13</b>	<b>HOXD13:</b> Brakidaktili-sindaktili sendromu
	Dup	het	3	q24	404	146,729,902- 147,133,996	<b>ZIC4</b> , <b>ZIC1</b>	<b>ZIC1:</b> Kraniyosinostozis 6
	Dup	het	7	<u>p21.1</u>	1.1	19,154,855- 19,157,193	<b>TWIST1</b>	<b>TWIST1:</b> Kraniyosinostozis sendromu
5	Del	het	X	<u>q21.1</u>	1,6	77,157,760- 77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B:</b> Linear cilt defekti- multipl konjenital anomali 2
	Dup	het	14	<u>2</u>	9.8	54,417,617- 54,427,486	<b>BMP4</b>	<b>BMP4:</b> Mikrooftalmik sendromik, Orofasyal kleft 11
	Dup	het	2	<u>p21</u>	3.5	45,168,836- 45,172,394	<b>SIX3</b>	<b>SIX3:</b> Holoprozensefali 2, şizensefali
	Dup	het	14	q22.2	10	57,267,408- 57,276,927	<b>OTX2</b>	<b>OTX2:</b> Mikroftalmi sendromik 5, hipofiz hormon eksikliği, kombine tip 6
	Dup	het	X	q28		153,770,700- 153,783,639	<b>IKBKG</b>	<b>IKBKG:</b> İnkontinenti pigmenti

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
	Dup	het	X	p11.23	17	48,361,164-48,379,190	<b>PORCN</b>	<b>PORCN</b> : Fokal dermal hipoplazi
6	Dup	het	2	P21	2.8	45,169,517-45,172,394	<b>SIX3</b>	<b>SIX3</b> : Holoprozensefali 2, şizensefali
	Dup	het	2	Q35.2	6	174,151,663-174,157,924	<b>MSX2</b>	<b>MSX2</b> : Kraniyosinostoz, Parietal foramina kleidokranial displazi
	Dup	het	7	p21.1	2.3	19,154,855-19,157,193	<b>TWIST1</b>	<b>TWIST1</b> : Kraniyosinostozis 1, Robinow-Sorauf sendromu  Saethre-Chotzen sendromu göz kapağı anomalisi ile beraber  Sweeney-Cox sendromu
	Dup	het	14	<u>14q12</u>	1041	28,304,052-29,345,932	<b>FOXP1</b>	<b>FOXP1</b> : Rett sendromu, konjenital varyant
	Dup	het	12	<u>12q24.21</u>	329	114,791,887-115,121,468	<b>TBX5, TBX3</b>	<b>TBX5</b> : Holt-Oram sendromu <b>TBX3</b> : Ulnar-mammari sendromu
7	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Dup	het	4	q21.3-q22.1	1098	87,869,469-88,968,084	AFF1, KLHL8, HSD17B13, HSD17B11, <b>DSPP</b> , <b>DMP1</b> , IBSP, MEPE, SPP1, <b>PKD2</b>	<b>DMP1</b> : Hipofosfotemik rikets, AR <b>PKD2</b> : Polikistik böbrek hastalığı 2 <b>DSPP</b> : sağırılık, otozomal dominant 39, dentinogenesis
8	Del		--	--	--	--	--	--
	Dup		--	--	--	--	--	--
9	Dup	het	X	<u>q27.3</u>	36.2	146,994,804-147,032,524	<b>FMR1</b>	<b>FMR1</b> : Frajil X tremor/ataksi sendromu
	Dup	het	5	<u>q35.2</u>	4.1	174,153,810-174,157,924	<b>MSX2</b>	<b>MSX2</b> : Kraniyosinostoz, Parietal foramina kleidokranial displazi
	Dup	het	X	<u>q22.3</u>	13.4	106,877,900-106,891,393	<b>PRPS1</b>	<b>PRPS1</b> : Arts sendromu, Charcot-Marie-Tooth hastalığı, X-linked resesif, 5
10	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
11	Del	het	1	P31	387	78,107,120-78,494,303	USP33, FAM73A, <b>NEXN</b> , FUBP1-----TGFB3, BRD1, RPAP2, GFI1, EVI5, <b>RPL5</b> , FAM69	<b>NEXN</b> : Kardiyomiyopati
				p22	1723	92,333,192-94,056,303		<b>RPL5</b> : Diamond-Blackfan anemisi 6
				p13	526	109,465,048-		<b>GPSM2</b> : Chudley-McCullough sendromu

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87-89)
						109,991,413	A, MTF2, DR1, FNBP1L, BCAR3 ---- <b>GPSM2</b> , WDR47, KIAA1324, SARS, CELSR2, PSRC1, SORT1, PSMA5	
	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Del	het	X	<u>q21.1</u>	1169	76,124,793-77,294,633	FGF16, <b>ATRX</b> , MAGT1, <b>COX7B</b> , <b>ATP7A</b> , PGAM4	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2 <b>ATRX</b> : alfa talasemi myelodisplastik sendromu, somatik Mental retardasyon- hipotonik yüz sendromu, X-linked <b>ATP7A</b> : Menkes hastalığı, oksipital horn sendromu, Spinal muskuler atrofi, distal X-linked 3
	Del	het	3	<u>p14.3</u>	1863	56,598,066-58,461,365	FAM208A, ARHGEF3, SPAT A12, IL17RD, <b>HESX1</b> , APPL1, DNAH12, PD E12, ARF4, <b>FLNB</b> , DNASE1L3, RPP14, PPK, PDHB,	<b>HESX1</b> : Büyüme hormonu yetmezliği-hipofiz anomalisi ile beraber <b>FLNB</b> : Atelosteogenezis, tip I Larsen sendromu, Boomerang displazisi
	Del	het	X	<u>q22.3</u>	20	106,874,245-106,894,224	<b>PRPS1</b>	<b>PRPS1</b> : Arts sendromu
12	Del	het	1	q32.1	425	203,625,291-204,050,423	ATP2B4, ZC3H11A, ZBED6, <b>SNRPE</b> , SOX13	<b>SNRPE</b> : Hipotrikozis 11
	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Del	het	X	<u>q21.1</u>	1,6	77,157,760-77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2
	Del	het	X	<u>q22.3</u>	20	106,874,245-106,894,224	<b>PRPS1</b>	<b>PRPS1</b> : Arts sendromu
	Dup		--	--	--	--	--	--
13	Del	het	14	q23.2-q23.3	837	64,054,041-64,891,348	SGPP1, <b>SYNE2</b> , ESR2	<b>SYNE2</b> : Emery-Dreifuss muskuler distrofi 5, otozomal dominant

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
	Del	het	X	q21.1	1,6	77,157,760-77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2
	Dup	het	12	q24.22	33	114,791,887-114,824,183	<b>TBX5</b>	<b>TBX5</b> : Holt-Oram sendromu
	Dup	het	X	p22.2	289	11,056,336-11,345,765	<b>HCCS, ARHGA P6, AMELX</b>	<b>HCCS</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 1
	Dup	het	X	q27.3	36.2	146,994,804-147,032,524	<b>FMR1</b>	<b>FMR1</b> : Frajil X tremor/ataksi sendromu
	Dup	het	8	q24.22	195	133,879,951-134,075,815	<b>TG, SLA,</b>	<b>SLA</b> : Pontocerebellar hipoplazi tip2D
14	Del	het	X	p11.22	0.1	53,460,311-53,460,442	<b>HSD17B10</b>	<b>HSD17B10 HSD10</b> : Mitokondriyal hastalık. Mental retardasyon. X linked sendromik
	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Dup	het	X	p22.2	511	10,834,439-11,345,765	<b>MID1, HCCS, ARHGAP6, A MELX</b>	<b>MID1</b> : Opitz GBBB sendromu, tip I <b>HCCS</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 1
15	Del	het	X	q24	81	153,287,517-153,359,700	<b>MECP2</b>	<b>MECP2</b> : Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
16	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
17	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	het	3	q28	1058	188,389,234-189,447,715	<b>LPP, MIR28, TP63</b>	<b>TP63</b> Ectrodaktili, ektodermal dizplazi ve yarık dudak/damak sendromu 3  Hay-Wells sendromu  ADULT sendromu
	Dup	het	20	p12.2	131	10,534,477-10,665,574	<b>SLX4IP, JAG1,</b>	<b>JAG1</b>  Alagillesendromu  Fallot tetralojisi  Konjenital kalp defekti ve arka embriyotokson
18	Del	het	X	q21.1	605	76,762,631-77,367,966	<b>ATRX, MAGT1, COX7B, ATP 7A, PGAM4, PGK1</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
19	Del	het	1	31.1	429	78,107,120-78,536,731	USP33, FAM73A, <b>NEXN</b> , FUBP1	<b>NEXN</b> : Kardiyomiyopati,
	Del	het	X	<u>q21.1</u>	1,6	77,157,760-77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2
	Dup	het	X	<u>q27.3</u>	36.2	146,994,804-147,032,524	<b>FMR1</b>	<b>FMR1</b> : Frajil Xtremor/ataksi sendromu
20	Del	het	2	q31.1	81	176,944,823-177,025,840	EVX2, <b>HOXD13</b> , <b>HOXD12</b> , <b>HOXD11</b> , <b>HOXD10</b> , <b>HOXD9</b> , <b>HOXD8</b> , <b>MIR10B</b> , <b>HOXD4</b> ,	<b>HOXD13</b> : Brakidaktili-sindaktili sendromu
	Dup	het	3	q24	404	146,729,902-147,133,996	<b>ZIC4</b> , <b>ZIC1</b>	<b>ZIC1</b> : Kraniosinostozis 6
21	Del	het	X	<u>q21.1</u>	1,6	77,157,760-77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 2
	Dup	het	X	<u>q27.3</u>	36.2	146,994,804-147,032,524	<b>FMR1</b>	<b>FMR1</b> : Frajil Xtremor/ataksi sendromu
22	Del		X	<u>q21.1</u>	1,6	77,157,760-77,159,406	<b>COX7B</b>	<b>COX7B</b> : Linear deri defekti-multipl konjenital anomali 2
	Del	het	12	q13.2-q13.3	804	56,159,652-56,974,447	SARNP, ORM DL2, MMP19, DGKA, CDK2, RAB5B, SUOX, IKZF4, RPS26, <b>ERBB3</b> , PA2G4, RPL41, ESYT1, MYL6B, MYL6, SMARCC2, SL C39A5, CS, PAN2, IL23A, STAT2, APOF, TIMELESS, MIP, GLS2,	<b>ERBB3</b> : ölümcül konjenital konotrunkal sendrom 2
	Dup	het	2	q31.1	305	176,719,953-177,025,840	EVX2, <b>HOXD13</b> , <b>HOXD12</b> , <b>HOXD11</b> , <b>HOXD10</b> , <b>HOXD9</b> , <b>HOXD8</b> , <b>MIR10B</b> , <b>HOXD4</b>	<b>HOXD13</b> : Brakidaktili-sindaktili sendromu <b>HOXD10</b> : Charcot-Marie-Tooth hastalığı, ayak deformitesi-vrikal talus, konjenital



Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
	Dup	het	10	q26.11	36	119,302,225-119,339,004	EMX20S, EM X2	<b>EMX2:</b> şizensefali
	Dup	het	3	q24	404	146,729,902-147,133,996	ZIC4, ZIC1	<b>ZIC1:</b> Kraniyosinostozis 6
	Dup		14	<u>q12</u>	2.3	29,236,277-29,238,620	FOYG1	<b>FOYG1:</b> Rett sendromu, konjenital varyant
23	Del		--	--	--	--	--	--
	Dup		--	--	--	--	--	--
24	Del	het	5	Q31.2	1803	137,221,748-139,025,407	MYOT, PKD2L2, WNT8A, NME5, KIF20A, CDC23, GFRA3, CDC25C, KDM3B, REEP2, EGR1, ETF1, HSPA9, CTNNA1, LRRTM2, SIL1, MATR3, PAIP2, SLC23A1, MZB1, ECSCR, TMEM173, UBE2D2,	<b>MYOT:</b> Kas distrofisi <b>REEP2:</b> Spastik parapleji <b>SIL1:</b> Marinesco-Sjogren sendromu
25	Del		--	--	--	--	--	--
	Dup		--	--	--	--	--	--
26	Del	het	X	<u>Xq21.1</u>	1,6	77,157,760-77,159,406	COX7B	<b>COX7B:</b> Linear deri defekti-multiple konjenital anomali 2
	Dup	hom	13	Q12.13	238	26,207,304-26445,861	ATP8A2	ATP8A2 serebellar ataksi, mental retardasyon, ve disekulibrium sendromu 4
27	Del	het	1	P13.3	879	109,512,869-110,392,345	WDR47, KIAA1324, SARS, CELSR2, PSRC1, SORT1, PSMA5, AMIGO1, GPR61, GNAI3, MIR197, GNAT2, AMPD2, GSTM4, GSTM2, GSTM1, GSTM5, GSTM3, EPS8L3,	<b>GNAI3:</b> Aurikulocondiler sendromu 1 <b>AMPD2:</b> Pontoserebellar hipoplazi
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
	Del	--	--	--	--	--	--	--

Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87–89)
28	Dup	het	3	q24	404	146,729,902-147,133,996	ZIC4, ZIC1	ZIC1: Kraniyosinostozis 6
29	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
30	Del	het	15	q26.2	1.7	96,873,441-96,875,178	NR2F2	NR2F2:Konjenitalkalpdefektleri, multipl tip, 4
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
31	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	--	--	--	--	--	--	--
32	Del	het	1	p32.3	1003	52,474,062-53,477,097	TXNDC12, ZFY VE9, ORC1, Z CCHC11, GPX 7, COA7, SCP2	ORC1: Meier-Gorlin sendromu 1 SCP2: Löloensefalopati- distoni ve motor nöropati
	Del	het	1	P31.1	470	78,107,120-78,577,692	USP33, FAM7 3A, NEXN, FU BP1	NEXN: Kardiyomyopati,
	Del	--	X	q13.1	251	70,543,060-70,794,385	TAF1, INGX, O GT	TAF1:Mental retardasyon, X-linked, sendromik 33
33	Dup	het	20	p12.2	24.1	10,629,661-10,653,828	JAG1,	JAG1: Alagille sendromu Fallot tetralojisi Konjenital kalp defekti ve arka embriyotokson
	Dup	het	3	q24	1109	146,362,487-147,472,385	ZIC4, ZIC1	ZIC1: Kraniyosinostozis 6
34	Del	het	X	Xq21.1	0.7		COX7B	COX7B: Linear deri defekti- çoklu konjenital anomali 2
	Del	hom	15	q26.2	1.7	96,873,441-96,875,178	NR2F2	NR2F2:Konjenitalkalpdefektleri, multipl tip 4
	Dup	hom	2	q31.1		176,958,852-176,959,346	HOXD13	HOXD13: Brakidaktili-sindaktili sendromu
35	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	het	15	q26.2	10.1	96,869,902-96,880,063	NR2F2	NR2F2:Konjenitalkalpdefektleri, multipl tip 4
	Dup	het	20	p12.2	577	10,620,343-11,197,525	JAG1	JAG1: Alagille sendromu Fallot tetralojisi Konjenital kalp defekti ve arka

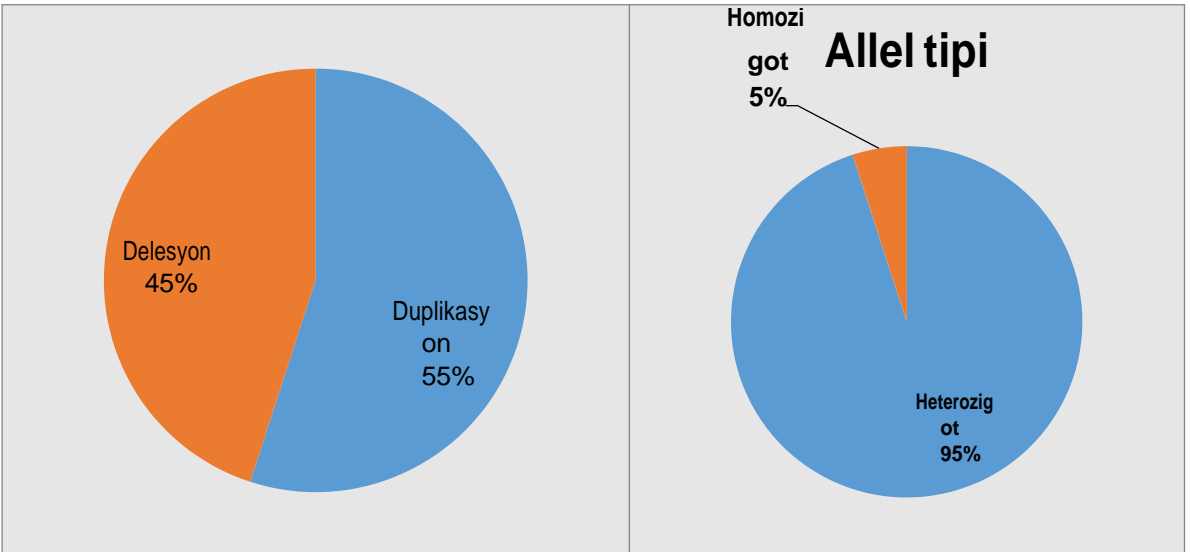
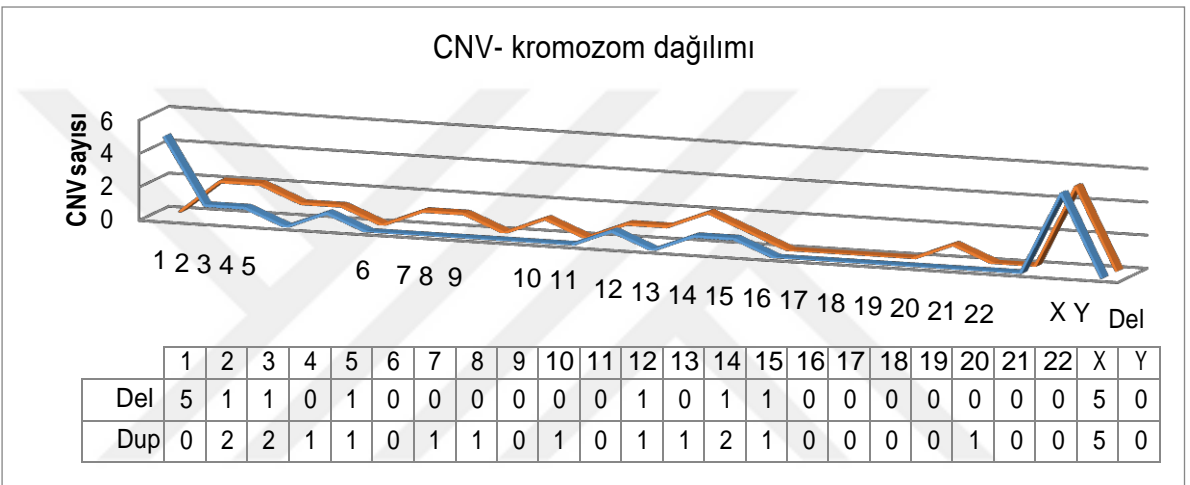
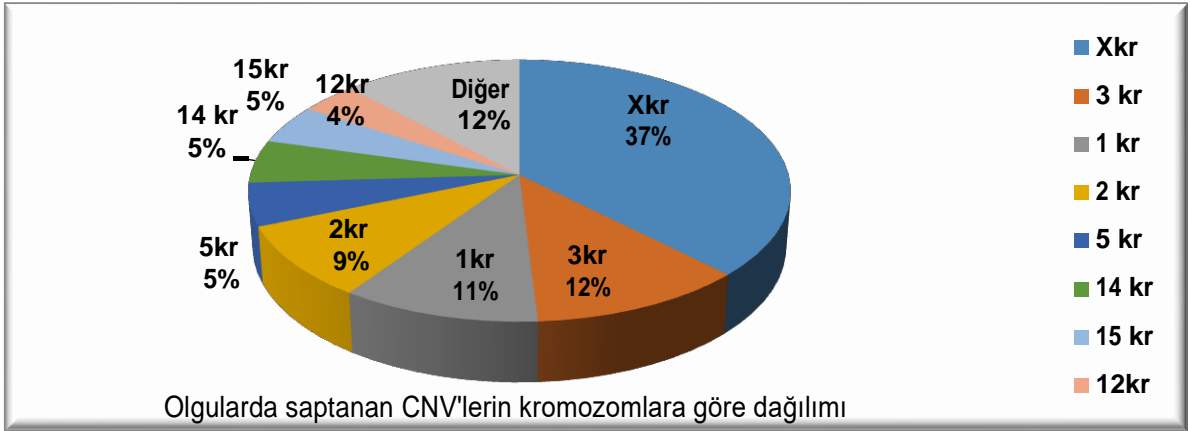
Vaka no	Mutasyon	Allel	Kromozom	Lokus	Büyükük (Kb)	Başlangıç-Bitiş Kodonları	Etkilenen genler	Klinik ilişkisi saptanan genler (87-89)
								embriyotokson
	Dup	het	3	q24	771	146,362,487-147,134,223	ZIC4, ZIC1	ZIC1: Kraniyosinostozis 6
36	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	het	X	p11.4	4.5	39,950,434-39,954,957	BCOR	BCOR: Mikrooftalmi, sendromik 2
37	Del		--	--		--	--	--
	Dup		--	--		--	--	--
38	Del	--	--	--	--	--	--	--
	Dup	het	2	p21	3.5	45,168,836-45,172,394	SIX3	SIX3: Holoprozensefali 2
	Dup	het	3	q24	124	147,008,963-147,133,632	ZIC4, ZIC1	ZIC1: Kraniyosinostozis 6
	Dup	hom	5	q35.2	50.4	174,151,663-174,202,136	MSX2	MSX2: Kraniyosinostozis 2
	Dup	het	X	q27.1	200.8	139,384,622-139,585,454	SOX3	SOX3: Panhipofizizm, X-Linked, Mental retardasyon, X-linked, izole büyüme hormone yetmezliği ile beraber
39	Del		--	--	--	--	--	--
	Dup		--	--	--	--	--	--

**Tablo 4.6.**Olgularda saptanan CNV'lerin kromozomlara göre dağılımları

Kromozom	Lokus	CNV tipi	Olgu sayısı(n)	Oran (%)
1	p13	Del	2	5
	p22	Del	1	3
	p31	Del	3	8
	p32	Del	1	3
	q32	Del	1	3
2	q31	Del	1	3
	p21	Dup	3	8
	q31	Dup	3	8
3	p14	Del	1	3
	q24	Dup	7	<b>18*</b>
	q28	Dup	1	3
4	q21	Dup	1	3
5	q31	Del	1	3
	q35	Dup	3	8
7	p21	Dup	2	5
8	q24	Dup	1	3
10	q26	Dup	1	3
12	q13	Del	1	3
	q24	Dup	2	5
13	q12	Dup	1	3
14	q23	Del	1	3
	q12	Dup	2	5
	q22	Dup	1	3
15	q26	Del	2	5
	q26	Dup	2	5
20	p12	Dup	3	8
X	q13	Del	1	3
	q21	Del	11	<b>28*</b>
	q24	Del	6	<b>15*</b>
	p11	Del	1	3
	q22	Del	1	3
	p11	Dup	2	5
	q22	Dup	1	3
	p22	Dup	2	5
	q27	Dup	4	10
q28	Dup	1	3	

\*: CNV oranı

Araştırma sonuçları 3 kromozom uzun kolda (3q24)duplikasyonlara, Xkromozomunda uzun kolda (Xq21 ve Xq24) delesyon şeklinde meydana gelen CNV'lerin daha sık olduğunu ortaya koymuştur.



**Şekil 3.4.** CNV'lerin kromozomal dağılımı ve tipi. CNV'lerin kromozomlara göre görülme oranı (üstte), saptanan her bir CNV'nin kromozom dağılım sayısı (orta grafik) ve CNV'lerin yapısal mutasyon oranları ve allel tipleri (alt sol ve alt sağdaki grafik)

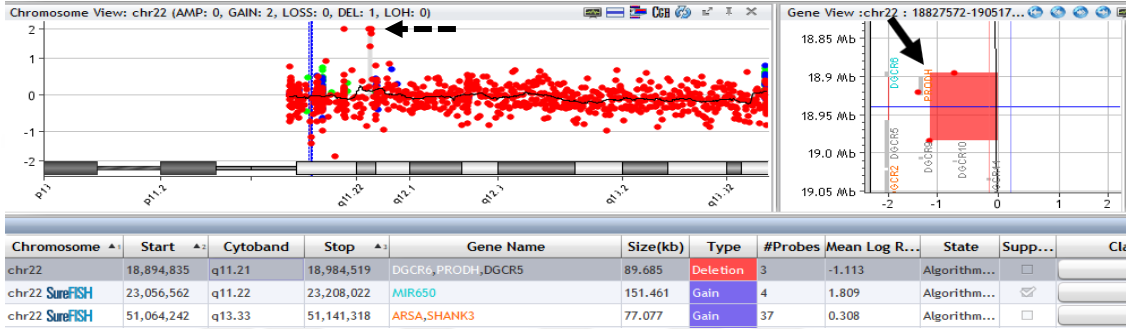
Araştırma kapsamında analiz edilen toplam 39 fetal materyalin 32 tanesinde (%82.05) CNV tespit edilmiştir. Saptanan CNV'lerin bazı olgularda duplikasyon şekline (%55), bazılarında delesyon (%45) şeklinde oldukları saptanmıştır. Değerlendirilen toplam 54 genin 19'unda (%35) delesyon, 26 tanesinde (%48) duplikasyon saptanırken toplam 3 tanesinde ise (%6) hem delesyon ve hemde duplikasyon saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız, diğer otozomal kromozomlar yanısıra (1,2,3,4,5,7,8,10,12,13,14,15,20) intrauterin kayıplarda en fazla tutulumun X kromozomunda olduğunu ortaya koymuştur. Saptanan CNV'lerin yaygın olarak heterozigot allel tipinde ve duplikasyonlar şeklinde olduğu saptandı. Çalışmamızda, fetal kayıp etiyojisi açısından sırasıyla COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 genlerini içeren CNV'lerinin daha sık olduğu saptanmıştır.

#### **4.4 Olguların klinik özellikleri ve Olgularda saptanan CNV değişiklikleri**

##### **Olgu 1**

34 yaşındaki anne ile 34 yaşındaki babanın; 8 yaşındaki kızlarında 6 aylıktan başlayan epilepsi nöbetleri mevcut. Antikonvülzan ilaç kullanımı olan çocuğun hafif mental geriliği olduğu gözlenmiştir. İkinci gebelikleri olan 20 haftalık kız fetüs açıklanamayan nedenlerle fetal kayıp olarak sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 16 adet kazanç ve 5 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla kromozomal aberasyon 14 kromozomda olduğu görülmüştür. 14. Kromozomda 3 adet kazanç ve 1 adet kayıp mevcuttur. Büyüklük açısından en büyük abnormallik 8. Kromozomda gözlenen 3,712 Kb'lik kayıptır. Şekil 4.2'de 22. kromozom q11.21 lokusunda 18,894,835-18,984,519 başlangıç ve bitiş kodonlu 151,4 Kb'lik PRODH genine ait aCGH delesyon görüntüsü görülmektedir. Prolin dehidrogenaz mitekondride enerji üretimi ve prolinden glutamat sentezinde önemlidir. PRODH geninde nokta mutasyonları şizofreni ile ilişkili bulunmuştur. Gen aktivitesini azaltan patojenik mutasyonlar prolilin birikimine yol açmaktadır. Hiperprolinemi

olgularında konvülziyonlar, zeka geriliği, nörolojik ve psikiyatrik problemler görülebilmektedir. H Jacquet ve arkadaşları (J of Med Genetics 2003) sunduğu bir olguda homozigot delesyon bildirmiştir. Akraba olan ebeveynler heterozigot taşıyıcı ve sağlıklı fenotipte olduğundan bu heterozigot delesyon fetal kaybın etiolojisinde anlamlı bulunmamıştır. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde fetal kayıp kliniği ile ilişkili gen içeren veya gen içermeyen CNV saptanmamıştır.

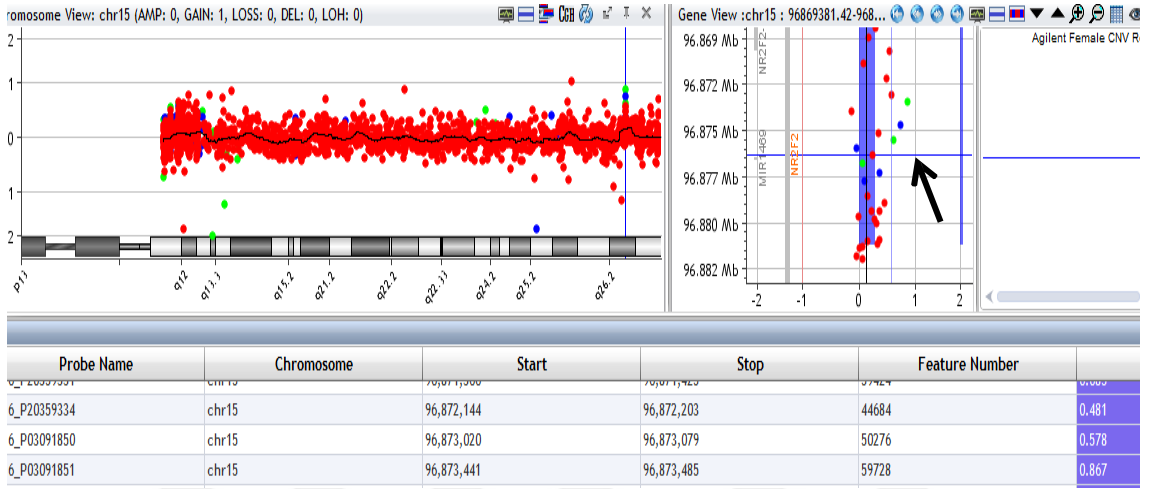


**Şekil 4.2.** Olgu 1'e ait 22. kromozomda görülen aCGH delesyon görüntüsü. 22. kromozom q11.21 lokusunda 18,894,835-18,984,519 başlangıç ve bitiş kodonlu 151,4 Kb'lık PRODH genine ait aCGH delesyon (ok) görüntüsü görülmektedir. PRODH geninin fetal dönemde farklılaşmada etkin gen grubunda olmadığı için çalışmaya dahil edilmemiştir. Şeklin sol tarafında PRODH geninin 22. Kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (mavi çizgi) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen CNV'leri (kesik ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 2

25 yaşındaki anne ile 32 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 2 miad ileri hafta fetal kayıp olarak 38. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede 6 adet kazanç ve 1 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. Bu bölgelere bakıldığında en fazla 14 ve 22 kromozomda CNV tespit edilmiştir. En fazla 14 ve 22 kromozomda CNV tespit edilmiştir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde de 1 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Tezin giriş kısmında "2.4 Kopya sayısı değişikliklerinin analizi ve yorumlanması" ile ilgili popülasyonda sık görülen pozitifliklerin ayıklanması yöntemine göre incelendiğinde yalancı pozitiflik olarak değerlendirilmiş ve fetal kayıp kliniği ile ilişkili bulunmamıştır. Olgu 2'ye ait

aCGH verileri Şekil 4.4'deki Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde 15. kromozomda q26.2 lokusunda heterozigot 11.8 Kb'lık başlangıç-bitiş kodonları 96,869,390-96,881,219 olan NR2F2 geni açısından 8 probluk gen boyunca duplikasyon olduğu saptanmıştır. NR2F2 geni multipl konjenital kalp defektleri ile ilişkilendirilmiş OMIM numarası 107773 olan bir genidir. Şekil 4.3'de olgu 2'ye ait NR2F2 genine ait aCGH görüntüsü izlenmektedir.



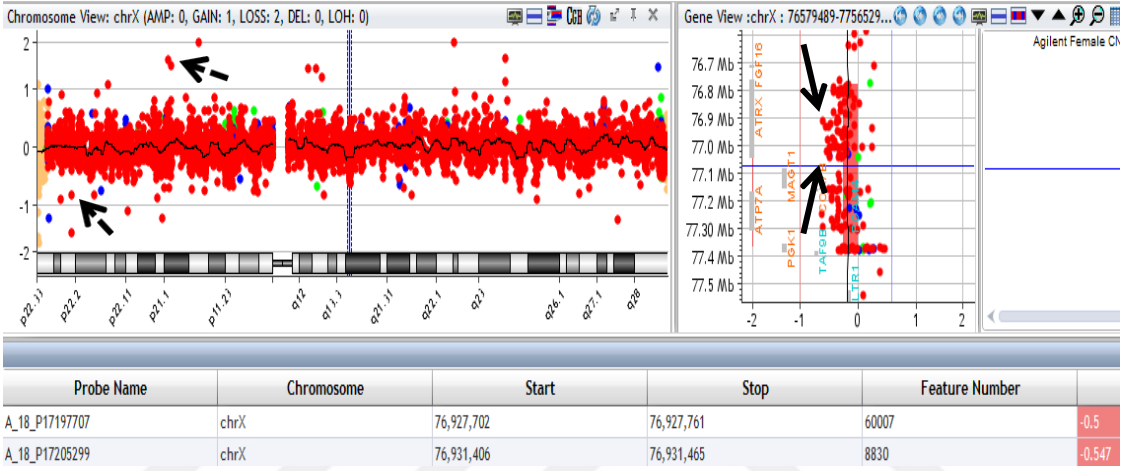
**Şekil 4.3.** Olgu 2'ye ait NR2F2 geni aCGH duplikasyon görüntüsü (ok). 15. kromozomda q26.2 lokusunda heterozigot 11.8 Kb'lık başlangıç-bitiş kodonları 96,869,390-96,881,219 olan NR2F2 geni açısından 8 probluk gen boyunca duplikasyon olduğu saptanmıştır. Şeklin sol tarafında NR2F2 geninin 22. Kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio(mavi çizgi) görülmektedir.

### Olgu 3

Altı yıllık evli olan infertil 27 yaşındaki anne ile 29 yaşındaki babanın; inseminasyonla (aşılama) gelişen ilk gebeliği olan Olgu 3, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 19. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede 7 adet kazanç ve 17 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2. Kromozomda tespit edilmiş olup bunlardan 4 tanesi kayıp 1 tanesi kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde Şekil 4.4'de görüldüğü gibi X kromozomunda q21.1 lokusunda 502.2 Kb'lık



başlangıç-bitiş kodonları 76,776,651-77,368,137 olan heterozigot ATRX, COX7B, ATP7A genlerini içeren kayıp görülmektedir. Embriyonik gelişim açısından önemi bulunan bu genlerin klinikte ATRX geni OMIM numarası 300032 olan myelodisplastik sendrom-alfa talasemi, COX7B geni OMIM numarası 300885 olan multipl konjenital anomali 2-lineer deri defekti ile birlikte, ATP7A geni OMIM numarası 300011 olan Menkes hastalığı ile ilişkili olduğu görülmektedir.

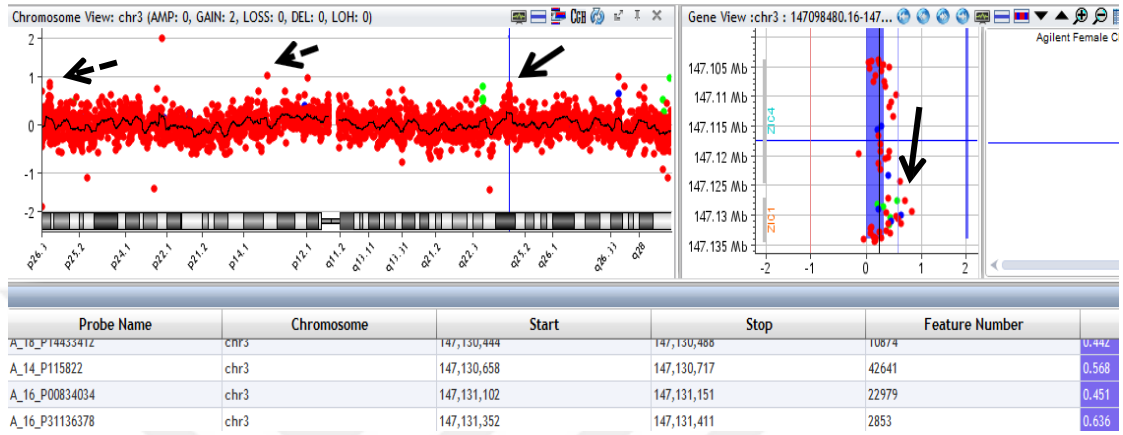


**Şekil 4.4.** Olgu 3'e ait X kromozomunda q21.1 lokusunda 502.2 Kb'lik başlangıç-bitiş kodonları 76,776,651-77,368,137 olan heterozigot ATRX, COX7B, ATP7A genlerini içeren kayıp görülmektedir (ok). Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 4

Yirmi sekiz yaşındaki anne ilk gebeliği olan Olgu 4, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 38. gebelik haftasında sonlanmış. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 21 adet kazanç ve 8 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14. Kromozomda tespit edilmiş olup bunlardan 2 tanesi kayıp 3 tanesi kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 3 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Şekil 4.5'de görüldüğü gibi 2. kromozom q31.1 lokusunda heterozigot 1.5 Kb'lik

176,958,034-176,959,625 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HOXD13 geni kazancı, 3. Kromozom q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik başlangıç ve bitiş kodonları 146,729,902-147,133,996 olan ZIC1 genine ait kazanç, 7. Kromozomda p21.1 lokusunda 1.1 Kb'lik heterozigot başlangıç-bitiş kodonları 19,154,855-19,157,193 olan TWIST1 genine ait kazanç tespit edilmiştir.



**Şekil 4.5.** Olgu 4'e ait 3. Kromozom q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik başlangıç ve bitiş kodonları 146,729,902-147,133,996 olan ZIC1 genine ait duplikasyon (ok). Şeklin sol tarafında ZIC1 geninin 3. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

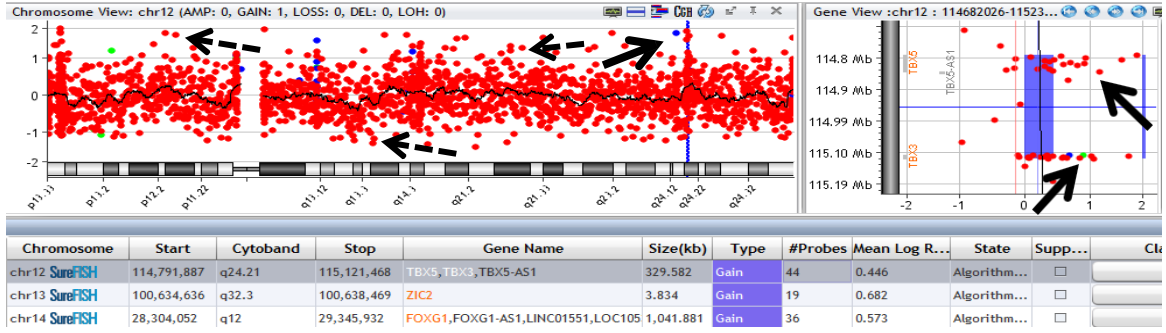
## Olgu 5

Yirmi yedi yaşındaki anne ve 27 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 5, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 16. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmaları abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 32 adet kazanç ve 20 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X Kromozomda tespit edilmiş olup bunlardan 3 tanesi kayıp 5 tanesi kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp 5 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 1,6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç ve bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, 14. Kromozom 22.2 lokusunda heterozigot 54,417,617-54,427,486 başlangıç ve bitiş kodonlarına sahip BMP4 genine ait kazanç, 2. Kromozom p21 lokusunda heterozigot 3,5 Kb'lik 45,168,836-45,172,394 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SIX3 genine ait kazanç, 14. Kromozom q22.2 lokusunda

heterozigot 10 Kb'lik 57,267,408-57,276,927 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip OTX2 genine ait kazanç, X kromozomu q28 lokusunda heterozigot 822 Kb'lik 153,770,700-153,783,639 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip IKBKG genine ait kazanç, X kromozomu p11.23 lokusunda heterozigot 17 Kb'lik 48,361,164-48,379,90 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip olan PORCN genine ait kazanç tespit edilmiştir.

## **Olgu 6**

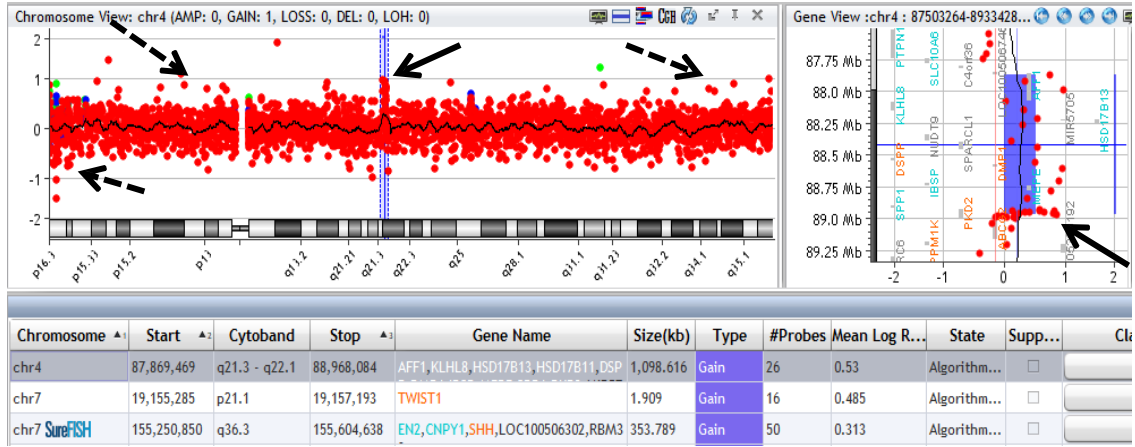
Kırk iki yaşındaki anne ve 27 yaşındaki babanın dördüncü gebeliği olan Olgu 6, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 20. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 58 adet kazanç ve 8 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14 Kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 5 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; şekil 4.6'da gösterildiği gibi, 2. kromozomda p21 lokusunda heterozigot 2,8 Kb'lik 45,169,517-45,172,394 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SIX3 genine ait kazanç, 2. Kromozom q35.2 lokusunda heterozigot 6 Kb'lik 174,151,663-174,157,924 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MSX2 genine ait kazanç, 7. Kromozom p21.1 lokusunda heterozigot 2.3 Kb'lik 19,154,855-19,157,193 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TWIST1 genine ait kazanç, 14. Kromozom q12 lokusunda 1041 Kb'lik 28,304,052-29,345,932 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FOXG1 genine ait kazanç, 12. Kromozom q24.21 lokusunda heterozigot 329 Kb'lik 114,791,887-115,121,468 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TBX3, TBX5 genine ait kazanç saptanmıştır. Şekil 4.6'da TBX3 ve TBX5'e ait kazanç (duplikasyon) görüntüleri izlenmektedir.



**Şekil 4.6.** Olgu 6'ya ait 12. Kromozom q24.21 lokusunda heterozigot 329 Kb'lik 114,791,887-115,121,468 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TBX3, TBX5 genine ait duplikasyon saptanmıştır. Şeklin sol tarafında TBX3 ve TBX5 genlerine ait 12. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 7

Yirmi doku yaşındaki anne ve 28 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 7, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 24. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 20 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14. kromozomda tespit edilmiş olup 4 tane kazanç şeklindedir.. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp, 1adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomda q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait kayıp, 4. kromozomda q21.3-q22.1 lokusunda heterozigot 1098 Kb'lik 87,869,469-88,968084 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip DSPP, DMP1, PKD2 genine ait kazanç saptanmıştır. Şekil 4.7'de DSPP, DMP1, PKD2 genlerine ait kazanç görüntüsü izlenmektedir.



**Şekil 4.7.** Olgu 7'ye ait DSPP, DMP1, PKD2 genlerine ait aCGH duplikasyonu (ok) görüntüsü. 4. kromozomda q21.3-q22.1 lokusunda heterozigot 1098 Kb'lik 87,869,469-88,968,084 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip DSPP, DMP1, PKD2 genine ait duplikasyon saptanmıştır. Şeklin sol tarafında DSPP, DMP1, PKD2 genlerine ait 4. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

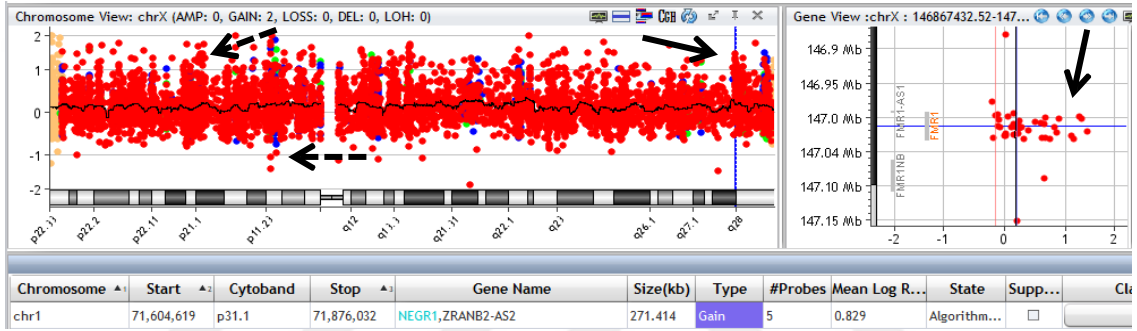
## Olgu 8

Otuz beş yaşındaki anne ve 33 yaşındaki babanın yaşayan bir kız çocukları olup ikinci gebeliği olan Olgu 8, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 37. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında mozaik 15 (monozomi, dizomi) saptanmıştır. FISH çalışması ile saptanan mozaik 15 aCGH ile saptanamamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede 48 adet CNV'si saptanmış olup, bunlardan 24 tanesi kazanç 24 tanesi kayıp şeklindedir. En fazla CNV X ve 2. kromozomda tespit edilmiş olup 7 kayıp ve 8 kazanç bölgesi şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde de CNV tespit edilmemiştir.

## Olgu 9

On dokuz yaşındaki anne ve 35 yaşındaki babanın yaşayan çocukları yok, ilk gebeliği 14 haftalık fetal kayıp olan ve ikinci gebelikleri olan Olgu 9, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 34. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede 3 adet kazanç tespit edilmiştir. Değerlendirme kriterlerimiz ile

yaptığımız analizde de 3 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 5. kromozomda q35.2 lokusunda heterozigot 4.1 Kb'lik 174,153,810-174,157,924 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MSX2 genine ait kazanç, X. kromozomda q22.3 lokusunda heterozigot 13.4 Kb'lik 106,877,900-106,891,393 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait kazanç, X. kromozomda q27.3 lokusunda heterozigot 36,2 Kb'lik 146,994,804-147,032,524 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FMR1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. ŞEKİL 4.8'te FMR1 genine ait kazanç izlenmektedir.

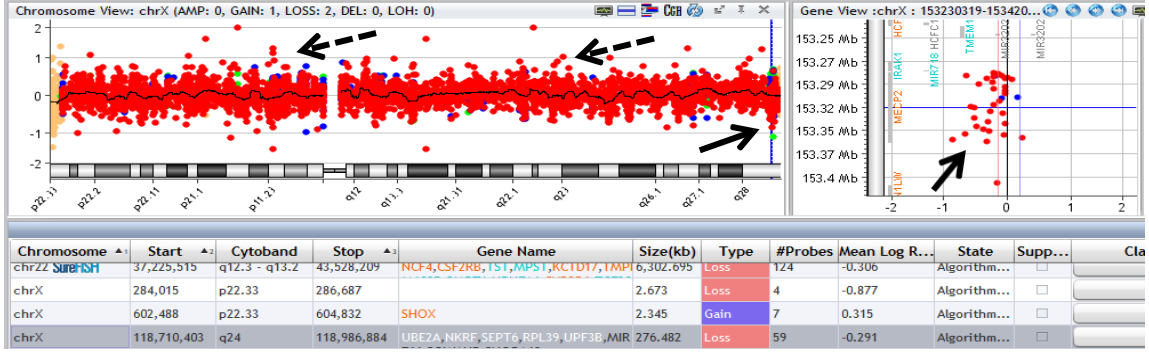


**Şekil 4.8.** Olgu 9'ye ait FMR1 genlerine ait aCGH duplikasyonu görüntüsü (ok). X. kromozomda q27.3 lokusunda heterozigot 36,2 Kb'lik 146,994,804-147,032,524 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FMR1 genine ait duplikasyon olduğu saptanmıştır. Şeklin sol tarafında FMR1 genine ait X. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 10

Yirmi altı yaşındaki anne ve 26 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 10, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 34. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında 14q duplikasyonu saptanmıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 9 adet kazanç ve 33 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 1. kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X. kromozomda q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş

kodonlarına sahip MECP2 genine ait kazanç saptanmıştır. Şekil 4.9'da MECP2 geni kaybı gözlenmektedir.

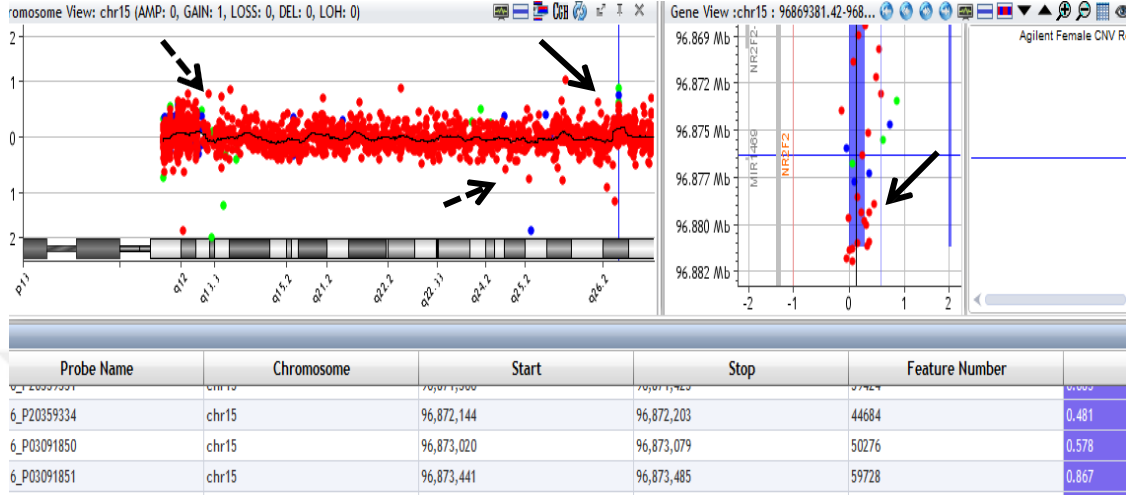


**Şekil 4.9.** Olgu 10'a ait MECP2 genine ait aCGH delesyonu görüntüsü (ok) X. kromozomda q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait duplikasyon saptanmıştır. Şeklin sol tarafında MECP2 genine ait X. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 11

Otuz dört yaşındaki annenin ilk gebeliği olan Olgu 11, ilk trimester dönemi fetal kaybı olarak 10. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun hastanın 50 adet kazanç ve 213 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2. kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kazanç 17 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 5 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 1. kromozomda P31/p22/p13 lokusunda heterozigot 387-1723-526 Kb'lik 78,107,120-78,494,303/92,333,192-94,056,303/109,465,048-109,991,413 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip genlerine ait kayıp, 3. kromozomda p14.3 lokusunda heterozigot 1863 Kb'lik 56,598,066-58,461,365 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HESX1-FLNB genine ait kayıp, X. kromozomda q22.3 lokusunda heterozigot 20 Kb'lik 106,874,245-106,894,224 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip PRPS1 genine ait kayıp, X. kromozomda q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına

sahip MECP2 genine ait kayıp, X. kromozomda q21.1 lokusunda heterozigot 1169 Kb'lik 76,124,793-77,294,633 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B, ATRX, ATP7A genine ait kayıp saptanmıştır. Şekil 4.10'da PRPS1 gen kaybı görülmektedir.



**Şekil 4.10.** Olgu 11'e ait PRPS1 genine ait aCGH delesyonu görüntüsü (ok). X. kromozomda q21.1 lokusunda heterozigot 1169 Kb'lik 76,124,793-77,294,633 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B, ATRX, ATP7A genine ait kayıp saptanmıştır. Şekil 17'de PRPS1 Gen kaybı görülmektedir. Şeklin sol tarafında COX7B, ATRX, ATP7A genine ait X. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 12

Yirmi iki yaşındaki anne ve 27 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 12, birinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 10. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında monozomi-trizomi 16 saptanmıştır. FISH çalışması ile saptanan mozaik 16 aCGH ile saptanamamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 72 adet kazanç,126 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X. kromozomda tespit edilmiş olup 12 tane kazanç ve 9 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 4 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 1. kromozomda q32.1 lokusunda heterozigot 425 Kb'lik 203,625,291-204,050,423 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SNRPE genine ait kayıp, X. kromozomda q24



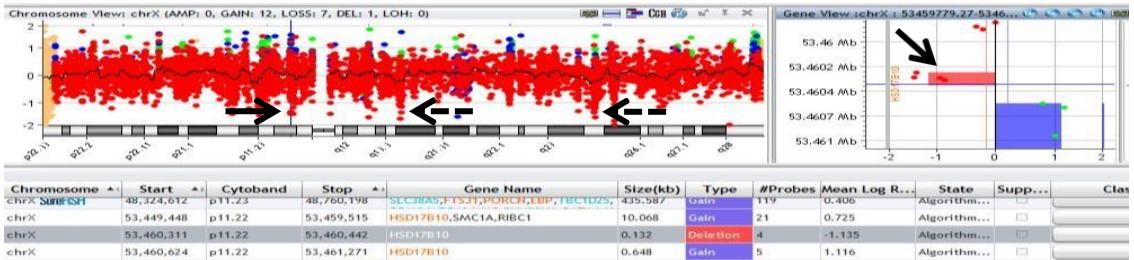
lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait kayıp, X. kromozomda q21.1 lokusunda heterozigot 1,6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, X. kromozomda q22.3 lokusunda heterozigot 20 Kb'lik 106,874,245-106,894,224 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip PRPS1 genine ait kayıp tespit edilmiştir.

### **Olgu 13**

Otuz yedi yaşındaki anne ve 43 yaşındaki babanın ilk gebeliği 7 haftalık abortus, ikinci gebeliğinden yaşayan sağlıklı bir kız çocuğu, üçüncü gebeliği olan Olgu 13, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 17. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 66 adet kazanç, 35 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 8 tane kazanç ve 6 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kayıp, 4 adet gen içeren kazanç, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 14.kromozomda q23.2-q23.3 lokusunda heterozigot 837 Kb'lik 64,054,041-64,891,348 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SYNE2 genine ait kayıp, X kromozomda q21.1 lokusunda heterozigot 1,6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, 12. kromozomda q24.22 lokusunda heterozigot 33 Kb'lik 114,791,887-114,824,183 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TBX5 genine ait kazanç, X kromozomda p22.2 lokusunda heterozigot 289 Kb'lik 11,056,336-11,345,765 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HCCS genine ait kazanç, X kromozomda q27.3 lokusunda heterozigot 36,2 Kb'lik 146,994,804-147,032,524 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FMR1 genine ait kazanç, 8. kromozomda q24.22 lokusunda heterozigot 195 Kb'lik 133,879,951-134,075,815 başlangıç-bitiş kodonlarına SLA genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

## Olgu 14

Yirmi dokuz yaşındaki anne ve 30 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 14, birinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 11. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 61 adet kazanç ve 48 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X Kromozomda tespit edilmiş olup bunlardan 8 tanesi kayıp 12 tanesi kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu p11.22 lokusunda heterozigot 0,1 Kb'lik 53,460,311-53,460,442 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HSD17B10 genine ait kayıp, X kromozomu q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait kayıp, X kromozomu p22.2 lokusunda heterozigot 511 Kb'lik 10,834,439-11,345,765 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MID1, HCCS genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. Şekil 4.11'de X kromozomunda HSD17B10 genine ait aCGH delesyonu gösterilmiştir.



**Şekil 4.11.** Olgu 14'e ait HSD17B10 genine ait aCGH delesyonu görüntüsü (ok). X kromozomu p11.22 lokusunda heterozigot 0,1 Kb'lik 53,460,311-53,460,442 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HSD17B10 genine ait delesyon görülmektedir. Şeklin sol tarafında HSD17B10 genine ait X. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

### **Olgu 15**

Yirmi üç yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 15, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 34. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 17 adet kazanç ve 5 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14 kromozomda tespit edilmiş olup 4 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q24 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 153,287,517-153,359,700 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MECP2 genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.

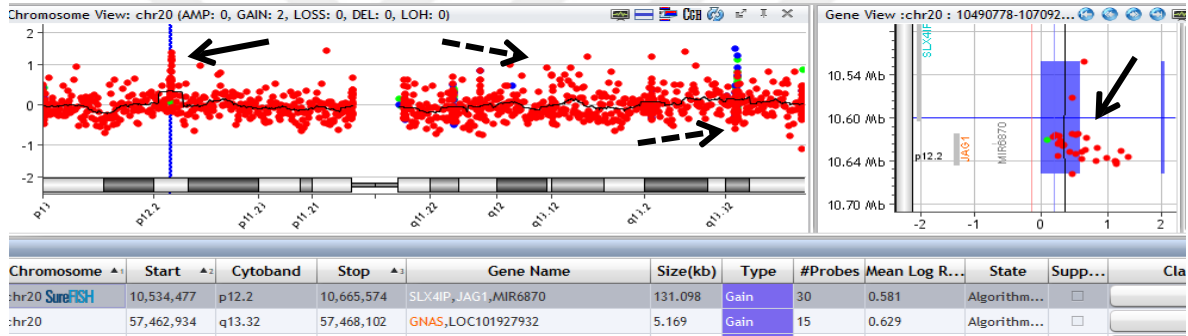
### **Olgu 16**

Yirmi dokuz yaşındaki anne ve 28 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 16, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 25. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 37 adet kazanç ve 27 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2 kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kazanç 2 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; . Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

### **Olgu 17**

Otuz bir yaşındaki anne ve 30 yaşındaki babanın ilk gebeliği 6 hafta abortus olan ve ikinci gebeliği olan Olgu 17, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 38. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre

kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında mozaik trizomi 16 olduğu saptanmıştır. FISH çalışması ile saptanan mozaik trizomi 16 aCGH ile saptanamamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 62 adet kazanç ve 6 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 11 tane kazanç 1 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 3 kromozomu q28 lokusunda heterozigot 1058 Kb'lik 188,389,234-189,447,715 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TP63 genine ait kazanç, 20 kromozomu p12.2 lokusunda heterozigot 131 Kb'lik 10,534,477-10,665,574 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip JAG1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. Şekil 4.12'de JAG1 kazancı görülmektedir.



**Şekil 4.12.** Olgu 17'ye ait JAG1 genine ait aCGH kazanç görüntüsü (ok). 20 kromozomu p12.2 lokusunda heterozigot 131 Kb'lik 10,534,477-10,665,574 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip JAG1 genine ait duplikasyon olduğu saptanmıştır. Şeklin sol tarafında JAG1 genine ait 20. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

### Olgu 18

Kırk yaşındaki annenin ilk gebeliği olan Olgu 18, birinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 11. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanamamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 28 adet kazanç ve 216 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç 22 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile

yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 822 Kb'lik 76,762,631-77,367,966 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.

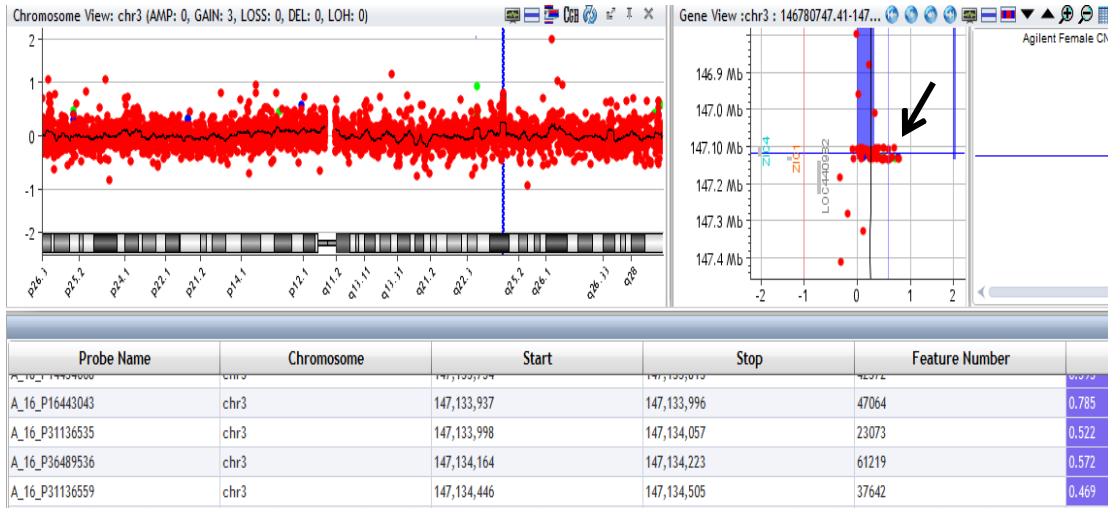
### **Olgu 19**

Yirmi altı yaşındaki annenin yaşayan iki kız çocuğu mevcut olup üçüncü gebeliği olan Olgu 19, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 30. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 87 adet kazanç ve 36 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2 kromozomda tespit edilmiş olup 9 tane kazanç 5 adet kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içeren kazanç, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 1 kromozomu p31.1 lokusunda heterozigot 429 Kb'lik 78,107,120-78,536,731 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip NEXN genine ait kayıp, X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 1,6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, X kromozomu q27.3 lokusunda heterozigot 36,2 Kb'lik 146,994,804-147,032,524 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FMR1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 20**

Yirmi yaşındaki anne ve 26 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 20, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 34. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 22 adet kazanç ve 1 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 3 kromozomda tespit edilmiş olup 3 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız

analizde 1 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içermeyen kayıp, 1 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 2 kromozomu q31.1 lokusunda heterozigot 81 Kb'lik 176,944,823-177,025,840 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HOXD13 genine ait kayıp, 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik 146,729,902-147,133,996 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. Şekil 4.13'de ZIC1 genine ait duplikasyon aCGH görüntüsü görülmektedir.



**Şekil 4.13.** Olgu 20'ye ait ZIC1 genine ait aCGH duplikasyon görüntüsü(ok). 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik 146,729,902-147,133,996 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait duplikasyon olduğu saptanmıştır. Şeklin sol tarafında ZIC1 genine ait 3. kromozom üzerindeki lokusu ve duplikasyon görülmektedir.

### Olgu 21

Otuz iki yaşındaki anne ve 35 yaşındaki babanın ilk gebeliğinden sağlıklı bir kız çocuğu ve ikinci gebeliği olan Olgu 21, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 35. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında monozomi 15 saptanmıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 22 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 1 kromozomda tespit edilmiş olup 2 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 1.6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait

kazanç, X kromozomu q27.3 lokusunda heterozigot 36.2 Kb'lik 146,994,804-147,032,524 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FMR1 genine ait kazanç izlenmiştir.

## **Olgu 22**

Otuz yedi yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 22, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 33. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 68 adet kazanç ve 35 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 21 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kayıp, 4 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 12 kromozomu q13.2-q13.3 lokusunda heterozigot 804 Kb'lik 56,159,652-56,974,447 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ERBB3 genine ait kayıp, X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 1.6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, 2 kromozomu q31.1 lokusunda heterozigot 305 Kb'lik 176,719,953-177,025,840 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HOXD10,HOXD13 genine ait kazanç, 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik 146,729,902-147,133,996 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç, 10 kromozomu q26.11 lokusunda heterozigot 36 Kb'lik 119,302,225-119,339,004 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip EMX2 genine ait kazanç, 14 kromozomu q12 lokusunda heterozigot 2.3 Kb'lik 29,236,277-29,238,620 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip FOXG1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

## **Olgu 23**

Yirmi dokuz yaşındaki anne ve 31 yaşındaki babanın ilk gebeliği sağlıklı yaşayan 4 yaşında kız çocuğu, ikinci gebeliği olan Olgu 23, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 28. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında

abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 11 adet kazanç ve 3 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14. kromozomda tespit edilmiş olup 2 tane kazanç ve 1 kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içermeyen kayıp saptanmıştır. Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

#### **Olgu 24**

Otuz üç yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 24, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 38. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 45 adet kazanç ve 92 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14. kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kazanç ve 7 kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 5 kromozomu Q31.2 lokusunda heterozigot 1803 Kb'lik 137,221,748-139,025,407 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MYOT, REEP2, SIL1 genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.

#### **Olgu 25**

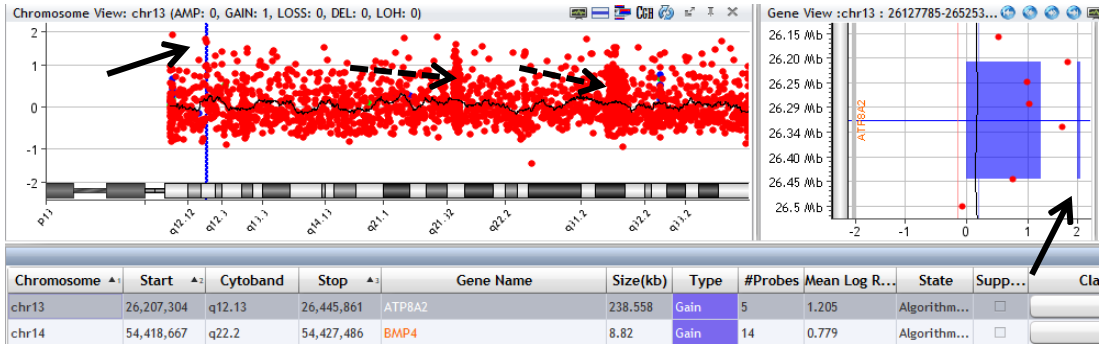
Otuz yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın ilk gebeliği 36 haftalık fetal kayıp, ikinci gebelikleri 8 yaşında yaşayan sağlıklı kız çocuğu, üçüncü gebelikleri sağlıklı yaşayan kız çocuğu, dördüncü gebelikleri olan olan Olgu 25, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 26. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 12 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu



tespit edilmiştir. En fazla CNV 2 kromozomda tespit edilmiş olup 2 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde CNV saptanmamıştır.

## Olgu 26

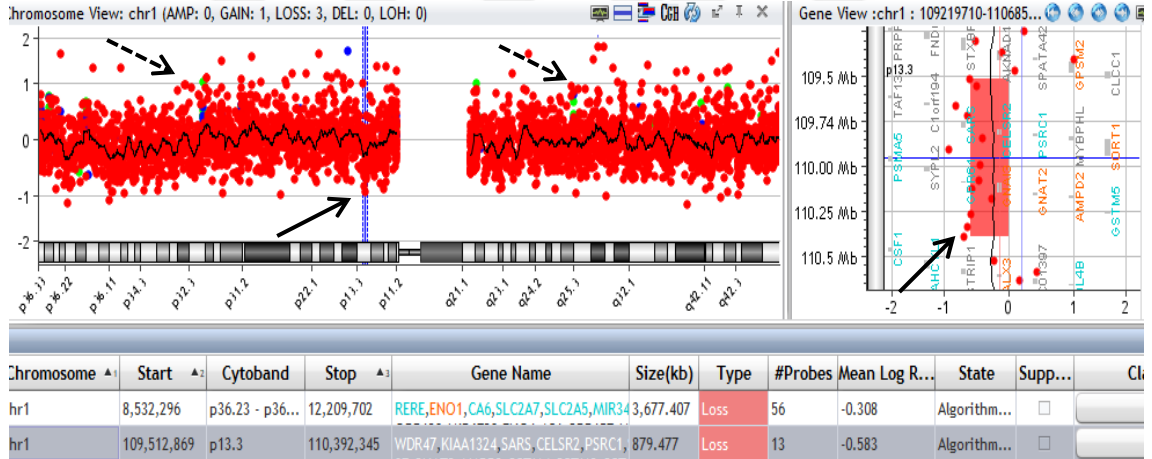
Yirmi iki yaşındaki anne ve 31 yaşındaki babanın ilk gebeliği 5 yaşında sağlıklı erkek çocuk, ikinci gebeliği olan Olgu 26, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 19. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 14 adet kazanç ve 1 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 4 tane kazanç ve 1 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içeren kazanç, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 1.6 Kb'lik 77,157,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, 13 kromozomu q12.13 lokusunda homozigot 238 Kb'lik 26,207,304-26445,861 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ATP8A2 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. Şekil 4.14'de ATP8A2 genine ait kazanç görüntüsü görülmektedir.



**Şekil 4.14.** Olgu 26'ye ait ATP8A2 genine ait aCGH kazanç görüntüsü (ok). 13 kromozomu q12.13 lokusunda homozigot 238 238 Kb'lik 26,207,304-26445,861 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ATP8A2 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır. Şeklin sol tarafında ATP8A2 genine ait 13. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 27

Yirmi üç yaşındaki anne ve 27 yaşındaki babanın ilk gebeliği 5 haftalık abortus, ikinci gebeliği olan Olgu 27, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 16. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmaları abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 19 adet kazanç ve 22 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 11. kromozomda tespit edilmiş olup 3 tane kazanç ve 3 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp, 2 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Şekil 4.15'de görüldüğü gibi; 1 kromozomu p13.3 lokusunda heterozigot 879 Kb'lik 109,512,869-110,392,345 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip GNAI3, AMPD2 genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.15.** Olgu 27'ye ait 1. Kromozom p13.3 lokusundaki 879 Kb'lik GNAI3, AMPD2 genine ait delesyon aCGH görüntüsü (ok). Şeklin sol tarafında GNAI3, AMPD2 genine ait 1. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

## Olgu 28

Yirmi yedi yaşındaki anne ve 34 yaşındaki babanın ilk gebeliği 6 yaşında sağlıklı kız çocuğu ve ikinci gebeliği olan Olgu 28, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 21. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmaları

abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 9 adet kazanç ve 19 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 15 kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç ve 2 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 404 Kb'lik 146,729,902-147,133,996 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 29**

Yirmi bir yaşındaki anne ve 25 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 29, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 32. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 90 adet kazanç ve 108 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 1 kromozomda tespit edilmiş olup 2 tane kazanç ve 9 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde ise CNV saptanmamıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

### **Olgu 30**

Otuz altı yaşındaki anne ve 32 yaşındaki babanın ilk üç gebeliği 8'er haftalık tekrarlayan gebelik kaybı şeklinde olup dördüncü gebeliği olan Olgu 30, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 14. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 22 adet kazanç ve 3 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 8 kromozomda tespit edilmiş

olup 2 tane kazanç şeklidir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 15 kromozomu q26.2 lokusunda heterozigot 1.7 Kb'lik 96,873,441-96,875,178 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip NR2F2 genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.

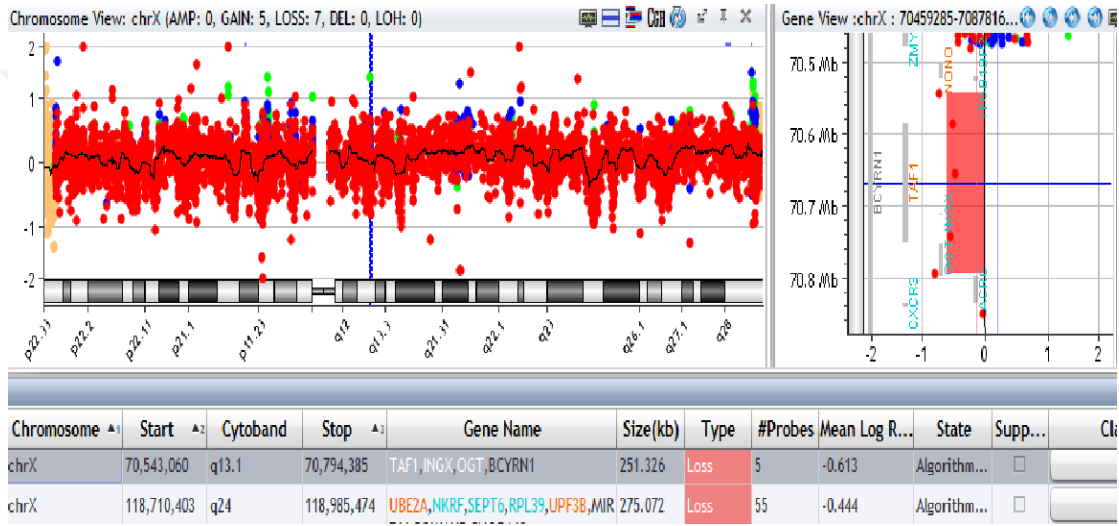
### **Olgu 31**

Otuz beş yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın iki yaşayan sağlıklı erkek çocuğu, iki kez spontan abortus ve son gebeliği olan Olgu 21, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 18. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 4 adet kazanç ve 1 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV11 kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç şeklidir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde CNV saptanmamıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

### **Olgu 32**

Otuz iki yaşındaki anne ve 33 yaşındaki babanın ilk gebeliği 8 yaşında kız çocuğu, ikinci gebeliği olan Olgu 32, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 16. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında mozaik trizomi 16 olduğu saptanmıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 34 adet kazanç ve 126 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2. kromozomda tespit edilmiş olup 3 tane kazanç ve 16 adet kayıp şeklidir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 3 adet

gen içeren kayıp, 1 adet gen içermeyen kayıp saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 1 kromozomu p32.3 lokusunda heterozigot 1003 Kb'lik 52,474,062-53,477,097 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ORC1, SCP2 genine ait kayıp, Şekil 4.16'da görüldüğü gibi 1 kromozomu p31.1 lokusunda heterozigot 470 Kb'lik 78,107,120-78,577,692 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip NEXN genine ait kayıp, X kromozomu q13.1 lokusunda heterozigot 251 Kb'lik 70,543,060-70,794,385 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip TAF1 genine ait kayıp olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.16.** Olgu 32'ye ait X. Kromozom q13.1 lokusundaki TAF1 geni delesyonu aCGH görüntüsü . Şeklin sol tarafında TAF1 genine ait X kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

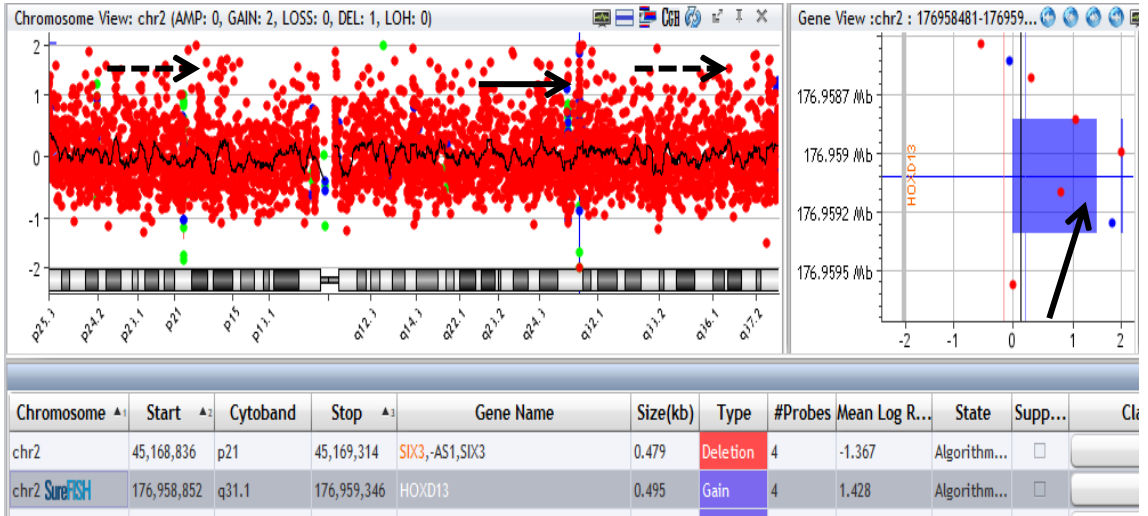
### Olgu 33

Yirmi yaşındaki annenin ilk gebeliği sağlıklı yaşayan kız çocuğu, ikinci gebeliği olan Olgu 33, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 34. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmaları abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 15 adet kazanç ve 10 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2

kromozomda tespit edilmiş olup 3 tane kazanç ve 1 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 1109 Kb'lik 146,362,487-147,472,385 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç, 20 kromozomu p12.2 lokusunda heterozigot 24.1 Kb'lik 10,629,661-10,653,828 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip JAG1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 34**

Otuz yaşındaki anne ve 37 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 34, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 17. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 18 adet kazanç ve 7 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 2 kromozomda tespit edilmiş olup 2 tane kazanç ve 1 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 2 adet gen içeren kayıp, 1 adet gen içeren kazanç, saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu q21.1 lokusunda heterozigot 29 Kb'lik 77,127,760-77,159,406 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip COX7B genine ait kayıp, 15 kromozomu q26.2 lokusunda homozigot 1,7 Kb'lik 96,873,441-96,875,178 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip NR2F2 genine ait kayıp, Şekil 4.17'de görüldüğü gibi 2 kromozomu q31.1 lokusunda heterozigot 0.4 Kb'lik 176,958,852-176,959,346 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip HOXD13 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.



**Şekil 4.17.** Olgu 34'e ait 2. Kromozom q31.1 lokusundaki HOXD13 geni duplikasyon aCGH görüntüsü (ok). Şeklin sol tarafında HOXD13 genine ait 2. kromozom üzerindeki lokusu ve delesyon MeanLogRatio (ok) görülmektedir. Orta hattan uzak olan diğer gen aberasyonları (kesikli ok) incelenmiş ve embriyolojik gelişim ile etkileşim halinde olmadığı saptanmıştır.

### Olgu 35

Yirmi yedi yaşındaki anne ve 28 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 35, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 25. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmaları abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 22 adet kazanç ve 21 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 5 tane kazanç ve 3 tane kayıp şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 3 adet gen içeren kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 771 Kb'lik 146,362,487-147,134,223 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç, 15 kromozomu q26.2 lokusunda heterozigot 10.1 Kb'lik 96,869,902-96,880,063 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip NR2F2 genine ait kazanç, 20 kromozomu p12.2 lokusunda heterozigot 577 Kb'lik 10,620,343-11,197,525 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip JAG1 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 36**

Yirmi beş yaşındaki anne ve 27 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 36, üçüncü trimester dönemi fetal kaybı olarak 27. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 22 adet kazanç ve 1 adet kayıp olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV X kromozomda tespit edilmiş olup 6 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 1 adet gen içeren kazanç, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; X kromozomu p11.4 lokusunda heterozigot 4.5 Kb'lik 39,950,434-39,954,957 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip BCOR genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 37**

Yirmi beş yaşındaki anne ve 28 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 20, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 26. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 9 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 10 kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde CNV saptanmamıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

### **Olgu 38**

Otuz yedi yaşındaki anne ve 36 yaşındaki babanın ilk gebeliği olan Olgu 38, ikinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 20. gebelik haftasında sonlanmıştır.



Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XY olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 9 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 1 kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde 4 adet gen içeren kazanç, 1 adet gen içermeyen kazanç saptanmıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; 2 kromozomu p21 lokusunda heterozigot 3.5 Kb'lik 45,168,836-45,172,394 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SIX3 genine ait kazanç, 3 kromozomu q24 lokusunda heterozigot 124 Kb'lik 147,008,963-147,133,632 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip ZIC1 genine ait kazanç, 5 kromozomu q35.2 lokusunda homozigot 50.4 Kb'lik 174,151,663-174,202,136 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip MSX2 genine ait kazanç, X kromozomu q27.1 lokusunda heterozigot 200.8 Kb'lik 139,384,622-139,585,454 başlangıç-bitiş kodonlarına sahip SOX3 genine ait kazanç olduğu saptanmıştır.

### **Olgu 39**

Yirmi yaşındaki annenin gebeliği olan Olgu 39, birinci trimester dönemi fetal kaybı olarak 12. gebelik haftasında sonlanmıştır. Fetüsün QF-PCR analizi sonucuna göre kromozom kurulumu 46,XX olup, FISH çalışmalarında abnormallik saptanmamıştır. Array CGH software ile yapılan ön değerlendirmede olgunun 3 adet kazanç olan kromozomal bölgesinin olduğu tespit edilmiştir. En fazla CNV 14 kromozomda tespit edilmiş olup 1 tane kazanç şeklindedir. Değerlendirme kriterlerimiz ile yaptığımız analizde CNV saptanmamıştır. Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış fonksiyonel genler açısından incelendiğinde; Olguya ait tüm aCGH verileri fetal kayıp ile olan ilişkisi açısından incelendiğinde ve bu aberasyonlardan MeanLogRatio değeri -0,5'in altında ve +0,5'in üstünde değerlendirmeye alındığında fetal kayıp kliniği ile ilişkili kayıp veya kazanç tespit edilememiştir.

Olgulardaki CNV'ler incelendiğinde; 1, 2, 4, 6, 8, 9, 14, 15, 21 ve X kromozomunda gen içermeyen CNV'lerin 12 olguda bulunduğu saptandı. Değişik büyüklükteki bu CNV'lerin gen içermemesine rağmen, hücre bölünmesi sırasında gen içeren lokuslar üzerine CNV değişikliği açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. Olgulara ait olan tüm istatistiki veriler değerlendirme kriterlerimiz sonucunda elde edilen veriler ile oluşturuldu.



## 5. TARTIŞMA

Fetal kayıplar; gebeliklerin yaklaşık olarak %2'sini etkilemekte olup, hala önemli bir sağlık sorunu olarak devam etmekte ve gündem oluşturmaktadır. Etiyolojik açıdan fetal faktörler, plasental faktörler, maternal hastalık ve maternal obstetrik durumlar gibi üç ana başlık altında toplanmakta olup, açıklanamayan faktörler ve genetik faktörlere bağlı fetal kayıpların oranı %60 gibi büyük bir grubu oluşturmaktadır (9,11,12). Etiyolojik faktörlerin tam olarak aydınlatılması durumunda etkin önleyici hizmet ve tedavilerin geliştirilmesi mümkün olacaktır.

Etiyolojide genetik faktörlerin araştırılmasında anne ve babadan kromozom analizi, fetüsten kromozom analizi, QF-PCR, FISH, MLPA, gen hastalıkları için DNA dizi analizi, trombofili gibi tetkikler yapılmakta olup, literatürde bir çalışmada genetik etiyojinin günümüzde hala tam olarak aydınlatılmadığını ortaya koymaktadır (27). Bu sebeple genetik etyolojiyi aydınlatacak diagnostik yeni teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. Genetik tanı oranının artması sonucu gen düzeyinde tedavi ve preimplantasyon genetik tanıdan faydanılma şansı elde edilmiş olacaktır.

Çalışmamızda fetal kayıpların etiyojisini incelemekte kullanmış olduğumuz array CGH yöntemi, bir sitogenetik moleküler karyotipleme yöntemi olup fetal kayıp gibi canlılığını yitirmiş olgularda bile yüksek oranda sonuç verebilen ve dahası karyotipleme ile saptanamayan submikroskopik değişiklikleri saptayabilen, daha spesifik veriler verebilen, karyotiplemeye göre daha objektif veriler elde edilen bir yöntem olması gibi avantajları olan bir yöntemdir (83).

Bugünkü teknolojik gelişmeler ışığında tetkiklerin genomu kapsama ve ayrıntıyı tespit edebilme gücü açısından karşılaştırıldığında aCGH; yeni nesil sekanslamadan sonra Tablo 2.5'te de gösterildiği gibi ilk sırayı almaktadır. 60K Array CGH tetkikini uygularken göz önünde bulundurulması gereken kurallar ve algoritmalar mevcuttur. Tetkik sonucu tüm genom boyunca CNV dediğimiz, gen veya bir kromozomun belli bir lokusunu kapsayan kopya sayısı değişiklikleri tespit edilmektedir. Array platformunun yapıldığı laboratuvarda analiz yapılırken, daha önceki olgularda tespit edilen yalancı pozitifliklerin ayıklanması,

popülasyonda sık görülen pozitifliklerin ayıklanması yada mutant olduğu düşünülen bulgunun DGV veritabanında sağlıklı bireylerde bulunan CNV'lerle karşılaştırılarak elimine edilmesi ve en sonunda patojen olduğunu düşündüğümüz CNV'lerin diğer moleküler tekniklerle ileri analizi ve doğrulanmasını gerekmektedir (85). Çalışmamızda elde edilen sonuç verileri bu algorithmadan geçirilerek oluşturulmuştur.

Çalışmamızda retrospektif olarak 39 fetüse ait array CGH verileri fetal kayıp etiyojisini araştırmak amacıyla incelenmiştir. Bunun için Genecards organizasyonu internet veri tabanı, Rare Disease Organizasyonu internet veri tabanı, Langman's Embriyoloji kitabı 12. baskısında bulunan fetal gelişimin organogenezis ve morfogenezis basamaklarını içeren ve bu basamaklarda kritik görevleri bulunan 53 adet gen seçilmiştir. Tablo 4.4'de Fetal gelişim süreçlerinde tanımlanmış bahsi geçen 53 adet fonksiyonel gen, bu genlerin kromozomal lokalizasyonları, büyüklükleri ve neden oldukları patolojik durumlar açıklanmıştır.

Çalışmamıza dahil olan 39 fetal kayıp ile sonlanan gebeliğin demografik özelliklerini incelediğimizde Tablo 4.1'de de görülebileceği gibi; olguların 16'sı kız (%41), 23'ü erkek (%59) fetüştür. En küçük gebelik haftası 10 hafta en büyük gebelik 38 haftalık olup ortalama gebelik haftası 25 haftadır. En küçük anne yaşı 19, en büyük anne 42 yaşında olup, anne yaşı ortalaması 29 yaş olduğu anlaşılmıştır. En küçük baba yaşı 26, en büyük baba yaşı 43, ortalama baba yaşı 34 olarak olduğu anlaşılmıştır.

Bizim çalışmamızda 20 ve altı yaş grubunda 3 gebe (%8), 35 yaş ve üstünde 7 gebe (%20) mevcuttur. Toplamda maternal yaş riski açısından olguların %27'lik bir kısmı riskli grupta olduğu tespit edilmiştir. Literatürdeki bir çalışmada fetal kayıp yaşanan ortalama maternal yaş 27-30 yaş aralığı olduğu ve 35-39 yaş gebeliklerinin 30 yaş altı gebeliklerine göre rölatif 1.9 kat, 40 yaş üstü gebeliklerin ise rölatif olarak 2.4 kat daha fazla fetal kayıp insidansı ile ilişkili olduğu saptanmıştır (44). Aynı literatür çalışmasında yaklaşık 30 yıllık periyod on yıllık periyodlar halinde incelenmiş ve ilerleyen her dekadla beraber fetal kayıpların yaşandığı maternal yaşın artış göstermekte olduğu ve yaşa bağlı rölatif risk oranında artmakta olduğu Tablo 17'de görülmektedir. Maternal yaş

ortalamasının yıllar geçtikçe artmasını ve yaşa bağlı rölatif riskin artmasını ilerleyen yaşla beraber toplumda görülen hipertansiyon ve diyabet gibi ko-morbid hastalıkların artmasına bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki maternal yaş ortalaması (29 yaş) ile literatürdeki maternal yaş ortalaması (27-30 yaş) uyumlu bulunmuştur. Çalışmamızdaki olguların %27'sinin yaş açısından riskli bölgede bulunması çalışmamıza katılan olgularda yaşın önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir.

**Tablo 5.1.** Fetal kaybın gerçekleştiği maternal yaşın yıllara göre değişimi- Fretts RC ve ark.(44)'dan alınmıştır.

Özellik	1960'lı yıllar	1970'lı yıllar	1980'lı yıllar	1990-93 yılları
<b>Ortalama maternal yaş</b>	27,1	27	28,9	30
<b>35-39 yaş gebelikleri (%)</b>	9,5	7	11,6	14,6
<b>40 yaş üstü gebelikleri (%)</b>	2,5	1,3	1,9	3

Çalışmamıza dahil olan fetüslerde etyolojik açıdan önceden bilinen veya gebelikte saptanan bilinen predispozan faktör bulunmamaktadır ve genetik etkenler hariç olmak üzere bütün olgular açıklanamayan fetal kayıp grubuna dahil olup ortalama gebelik haftası 25. gebelik haftasıdır (7.Ay). Literatürde açıklanamayan gebelik kayıplarının oranının %60 olarak bildirilmektedir (9,13). Bu çalışmada açıklanamayan gebelik kayıplarının ortalama haftasının 28 hafta (210 gün- 7. ay) olduğu belirtilmiştir. Fetal kaybın yaşandığı gebelik haftası ortalaması açısından çalışmamız literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Fetal kayıp etiolojisini genetik etkenler açısından açıklamaya yönelik olarak yaptığımız çalışmamızda, Tablo 4.4'de yer alan embriyogenezis ve gelişim ile ilgili genler ve bu genlerden bağımsız bir şekilde olgularda saptanan diğer CNV'ler değerlendirilmiş ve anlamlı bulunan CNV'ler her bir olgu için ayrı ayrı Tablo 4.5'te listelenmiştir.

Tablo 4.5'te olgular tek tek ele alındığında; 1,8,16,23,25,29,31,37,39 nolu olgularda olmak üzere toplam 9 olguda (%23) fetal kayıp açısından anlamlı CNV saptanmamıştır. Bu sonuçla çalışmamızda saptadığımız açıklanamayan

sebeplere bağı fetal kayıp oranının (%23) literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (5).

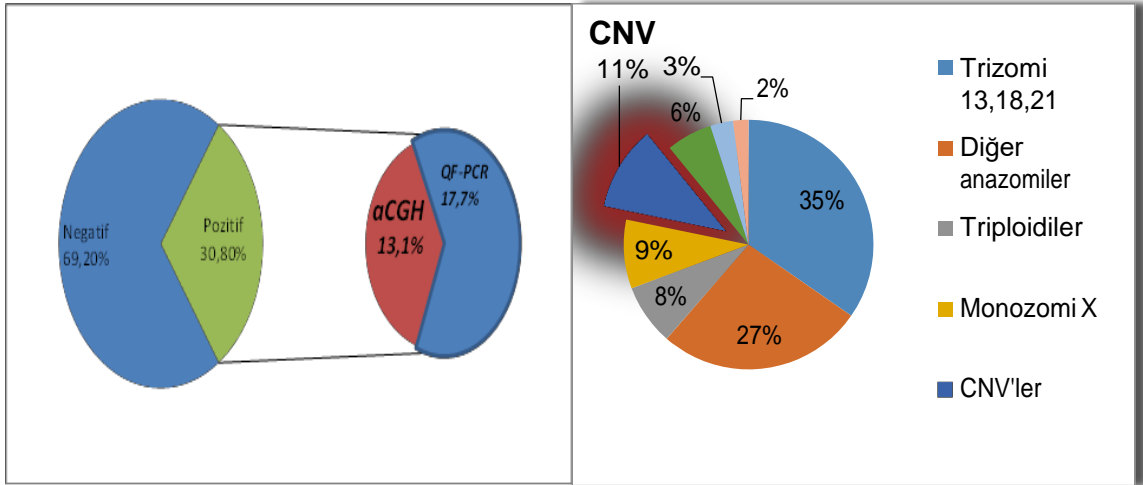
Tablo 4.4'te embriyogeneziste gelişim ve büyüme basamaklarında etkili olan 53 gen incelendiğinde Protein/Hastalık/Sendrom açısından postnatal dönemde hayatla bağdaşan durumlar olduğu görülmektedir. Bu genlerle ilişkili klinik tabloların postnatal dönemle ilişkili-hayatla bağdaşan olmasına rağmen nasıl oluyorsa fetal kayıp etiolojisinde yer aldığına ilişkin sorunun cevabını iki örnekle açıklayabiliriz. Bir çalışmada; ilk 6 hafta abortuslarında etiolojinin %90'ın üzerinde anöploidiye bağı olduğunu ve en sık olarak trizomi 21,18 ve 13'e görüldüğünü belirtilmiş, ayrıca bu sendromların doğumdan sonra trizomi 21 gibi hayatta kalan trizomiler olduğunu açıklamıştır (90). Tüm gebeliklerin %70'inin spontan abortusla sonlandığı ve bunların büyük bir çoğunluğunun anöploidiye bağı olduğuna göre, her ne kadar hayatla bağdaşan bir klinik olsada Down sendromlu olguların çoğu abortus ile kaybedilmekte olduğu anlaşılmaktadır. Diğer bir örnek bizim çalışmamızda da fetal kaybı etkileyen genler arasında ön plana çıkan MECP2 geni; bir çalışmada MECP2 geninin gebelik kaybı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (1). Bununla beraber MECP2 geni postnatal Rett sendromu etiolojisinde yer almaktadır. Dolayısıyla genlerin postnatal klinik sonuçlarıyla embriyolojik dönem fonksiyonlarının karşılaştırılması ve bu genlerin mortalite risklerinin hesaplanması; epigenetik faktörler, gen-gen etkileşimleri, gen ekspresivitesi ve penetransı gibi kompleks süreçler sebebiyle zorluklar içermektedir.

Çalışmamızda CNV verilerinin istatistikleri Tablo 4.2'de görüldüğü gibi en çok X kromozomunda ve q21 lokusunda olduğu, en sık heterozigot ve duplikasyon şeklinde CNV'ler olduğu saptanmıştır. Literatürde yapılmış aCGH temelli fetal kayıp etiolojisini CNV değişiklikleri açısından inceleyen 5 çalışma Tablo 5.2'de ve Şekil 5.3'te temel özellikleri ile birlikte özetlenmiştir. Bu çalışmalara bakıldığında; CNV sıklığının en fazla %22 oranında olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızdaki CNV sıklığı %77 olup aradaki bu farkın metodolojik uygulama açısından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızda programın vermiş olduğu CNV'lerin yanısıra 53 adet embriyolojik dönemde rolü olan genin tek tek incelemesi sonucu veri elde edilmiş olması

daha fazla veri çıkışına dolayısıyla aradaki farkın oluşmasına sebep olmuştur. Literatür çalışmalarında delesyon tipi CNV daha fazlayken, bizim çalışmamızda duplikasyon tipi CNV'nin daha fazla olduğu görülmektedir. CNV'lerin görüldüğü kromozom açısından literatürde baskın CNV taşıyan kromozom tespit edilememiştir ve çalışmaların hepsinde kromozom dağılımı birbirinden farklılık göstermektedir. Bizim çalışmamızda X kromozomu ön plana çıkmakla beraber bu konuda sağlıklı verinin oluşması için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Karşılaştırılmalı genom hibridizasyonunu 1990'lı yılların başında keşfedilmesi ve CGH'te yaşanan yeni teknolojik gelişmelerle birlikte tıbbın birçok alanında CGH ile literatür çalışmaları yapıldığı anlaşılmaktadır. Ancak fetal kayıp etiyojisine yönelik olarak çok az sayıda çalışmanın olduğu ve bununda ötesinde mevcut çalışmaların metaanalizinin yapıldığı derlemenin (review) olmadığı görülmektedir. Literatürde var olan ve Tablo 5.2'de sonuçları özetlenmiş olan sınırlı sayıdaki çalışmanın sonuçlarını incelediğimizde:

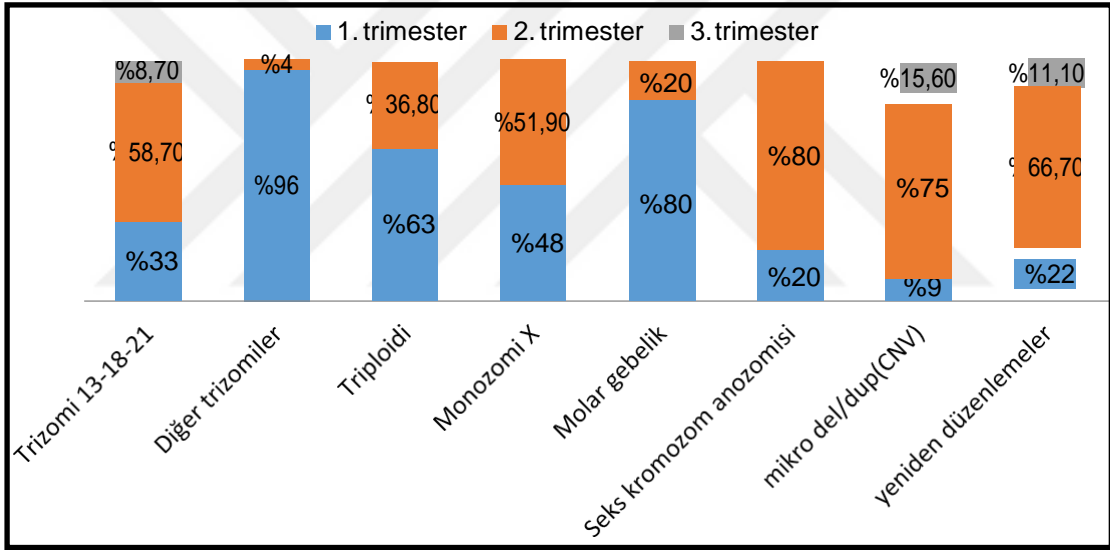
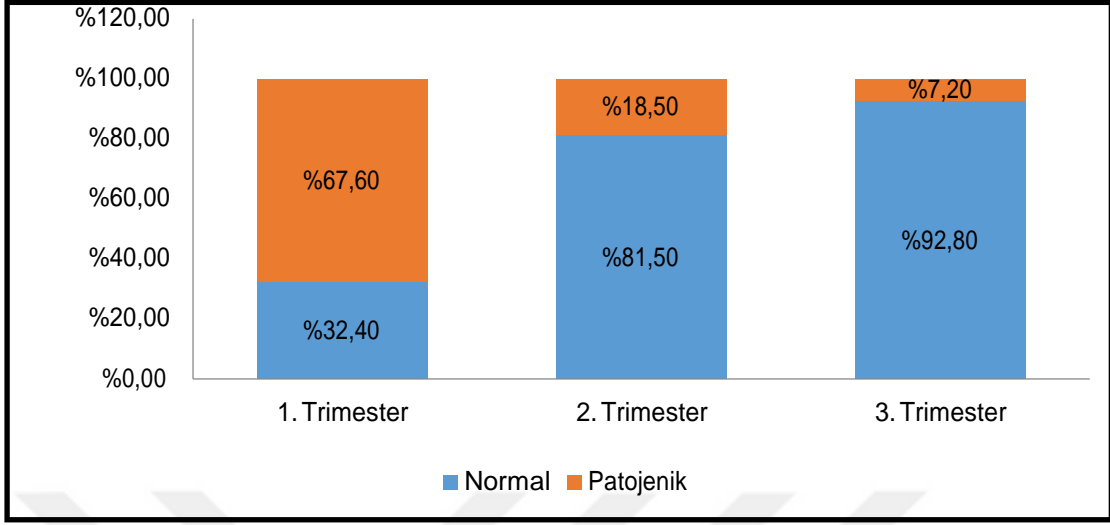
K. Wou ve arkadaşlarının Kanada'da yapmış olduğu bir çalışmada,1071 fetus fetal kayıp sonrası aCGH ile incelenmiş ve olguların yaklaşık %31'nde patojenik bulgular saptanmıştır. Patojenik olan 330 olgunun aCGH sonuçları Şekil 5.1'de görüldüğü gibi %35 oranında trizomi 13,18,21, %27 oranında diğer anöploidiler, %8 oranında triploidiler, %9 oranında monozomi X, %6 oranında molar gebelik ve %10,9 oranında CNV değişiklikleri şeklindedir (91). Bu CNV'lerin %6,1'i delesyon, %4,8'i duplikasyon şeklinde olup, delesyonların duplikasyonlardan fazla olduğu görülmektedir. Çalışmamızda 32 olguda (%82) çeşitli sayı ve büyüklüklerde CNV'ler saptanmış olup literatür oranlarından daha fazladır.



**Şekil 5.1.** Solda analiz sonucu anormal çıkan olguların Qf-PCR ve aCGH ile saptanma oranları görülmekte, sağda 330 fetüsün aCGH sonuçları görülmektedir- K. Wou ve ark. (91)'dan alınmıştır.

Aynı çalışmanın genetik abnormalliklerin gebelik trimesterlerine göre dağılımına bakıldığında Şekil 5.2'de solda görüldüğü gibi en fazla genetik değişiklik birinci trimesterde görülmek olup ikinci ve üçüncü trimesterde patojenik değişiklik oranı azalmaktadır. Şekil 5.2 sağdaki şekilde spesifik abnormalliklerin trimestere göre dağılımı gösterilmiştir. Kırmızı okla CNV'lerin gebelik trimesterine göre dağılımını göstermektedir. Buna göre fetal kayıplarda gözlenen CNV'lerin %75'i ikinci trimesterde, %16'sı üçüncü trimesterde, %9'uda birinci trimesterde görülmektedir. Çalışmamızı trimesterlere göre değerlendirdiğimizde birinci trimester olgu başına düşen CNV ortalaması 3 iken, ikinci trimester CNV ortalaması 2.3 ve üçüncü trimester CNV ortalaması 2.1 olarak bulunmuştur. Bu sonuç literatürden farklılık göstermektedir. Ancak çalışmamızda toplam olgu sayısının 39 olması, olguların trimesterlere göre eşit sayıda olmaması (birinci trimesterde sadece 5 olgu mevcut) ve çalışmamızda CNV saptanmayan 9 adet olgunun bulunması trimester bağımlı CNV dağılımı sonuçlarının literatürden farklı çıkmasına sebep olmuş olabilir. Daha kesin sonuç verebilmek için toplam olgu sayısının ve olguların trimesterlere homojen dağıtılması gerekmektedir.





**Şekil 5.2:** Gebelik trimesterine göre patojenite dağılımı. Üstte tüm mutasyon tipleri altta spesifik genetik değişikliklerin oranları ve CNV'lere ait şekil şematize edilmiştir-K Wou ve ark (91)'dan alınmıştır.

Björn ve arkadaşlarının yapmış olduğu 100 olguluk spontan abortus ve fetal kayıplarını içeren çalışmada; olguların genetik abnormallikler açısından %72'sinin normal olduğu saptanmış ve sadece 3 olguda CNV taşıdığı rapor edilmiştir. Bunlar del(7)(q36qter), dişi; del(X)(q28qter), dişi; del(20)(pterp12.1), dup(13)(q32.1qter) erkek içermektedir. Çalışmamızda Björn ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada saptanan CNV'lerle uyumlu aberasyon saptanmamıştır (92).

Rosenfeld ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; 515 fetal kayıp olgusu incelenmiş ve 17 olguda delesyon ve 4 olguda duplikasyon saptanmış olup, toplam 21 CNV (%4) olgusu rapor edilmiştir. Bu çalışmada CNV dışı diğer genetik abnormallikler 48 olgu (%9) olup, bizim çalışmamızda CNV oranının literatür çalışmasına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Rosenfeld ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da sadece istatistiki veri sunulmuş, CNV saptanan kromozom lokusları veri olarak sunulmamıştır. Sadece bir olguda NRXN1 geni delesyonu rapor edilmiş olup bu genin bulunduğu kromozomal lokusda çalışmamızda CNV değişikliği saptanmamıştır. Ayrıca bu çalışmada aCGH için kullanılan spesmenler ve bu spesmenlerin kültürize edilmesi sonucunda başarı oranları karşılaştırılmıştır. Kültür işlemi sonrasında uygulanan aCGH uygulamaları başarı oranı %100'e yakındır. Özellikle ilk baştan amnion sıvısı kültürü yapılması aCGH başarısını en yüksek seviyeye getirmekte olup, direkt amnion sıvısından yapılan aCGH uygulaması başarısız olursa sonradan yapılan kültür işlemi başarı oranlarını %50'den %83'e taşımaktadır. Dikkat çekici bir başka veride; direkt plasental dokudan yapılan aCGH başarısının (%85) direkt amnion sıvısından yapılan aCGH uygulama başarısından (%54) daha fazla olmasıdır. Bu prenatal tanıda 12. hafta koryon villüs örnekleme ile yapılan aCGH analizinin 18. hafta amnion sıvısından yapılan analize göre daha veri elde etme başarısı adına daha efektif olduğunu göstermektedir. Bizim çalışmamızda fetal biopsi materyalleri direkt olarak kültürize edilmeden çalışmaya katıldı ve olguların hepsi analiz (başarı oranı %100) edilerek rawdata elde edildi (93). Çalışmamızda direkt biopsi materyalinden veri elde edilme oranımız literatür verilerinden daha başarılı olduğu görülmektedir.

Harris ve arkadaşları 22 haftadan büyük 54 fetüsü içeren açıklanamayan etiyojolojiye sahip fetal kayıp üzerine olan çalışmasında, 24 yeni CNV tespit etmiş, bu CNV'lerin ileri analizinde 18 tanesinin (%75) plasental doku olduğu anlaşılmıştır. Fetal CNV'ler incelendiğinde 9.kromozomda ANKRD19, ASPN, AUH, BICD2, C9orf44, C9orf89, CENPP, DIRAS2, ECM2, FGD3, IARS, IPPK, NFIL3, NINJ1, NOL8, OGN, OMD, ROR2, SNORA84, SPTLC1, SUSD3, SYK, WNK2, ZNF484 (completely deleted), C9orf129 (partially deleted) ve 11.

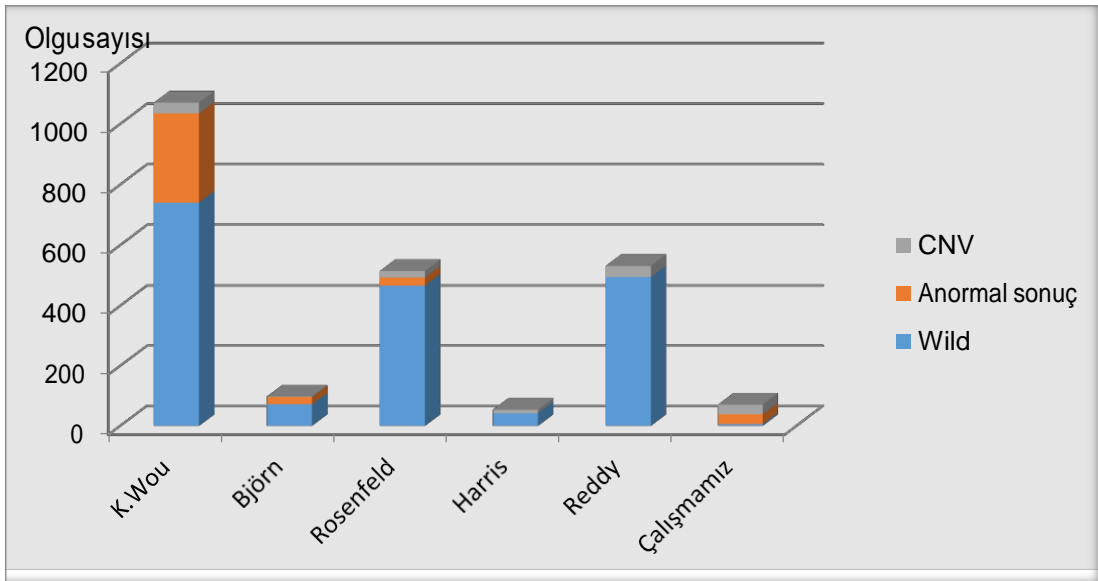
kromozomda OR52R1, OR51F2, OR51S1, OR51T1(completely deleted), 9.kromozomda PAPP-A geni, 12. kromozomda CLLU1 OS, CLLU1 genleri patojenik olarak saptanmış olup, bizim çalışmamızda bu genlere ait CNV gözlenmemiştir (77) .

Reddy ve arkadaşlarının yaptığı 532 fetüs içeren çalışmada, aCGH analizinin karyotiplemeye göre %41.9 daha fazla CNV saptadığını ortaya koymuş ve toplamda %7 olguda CNV olduğu belirtilmiştir. Bu CNV'lerde gen adı verilme de kromozom lokus bilgisi mevcuttur. Lokuslar açısından karşılaştırıldığında 8q24.23(137,042,624–139,247,552)×3 2.2 Mb duplikasyonu, çalışmamızdaki 13 nolu olguda SLA: Pontocerebellar hipoplazi tip 2D geni duplikasyonu ile, Xp22.33q28(108,464–154,849,094)×1 kromozomal boyutta delesyonu, çalışmamızdaki 13. olguda HCCS: Linear deri defekti- multipl konjenital anomali I, 14. Olguda HCCS: Linear deri defekti- multipl konjenital anomali 1 ve MID1: Opitz GBBB sendromu, tip I delesyonları ile uyumludur (94).

**Tablo 5.2.** aCGH temelli fetal kayıp etyolojisini içeren literatür çalışmaları ve CNV sonuçları

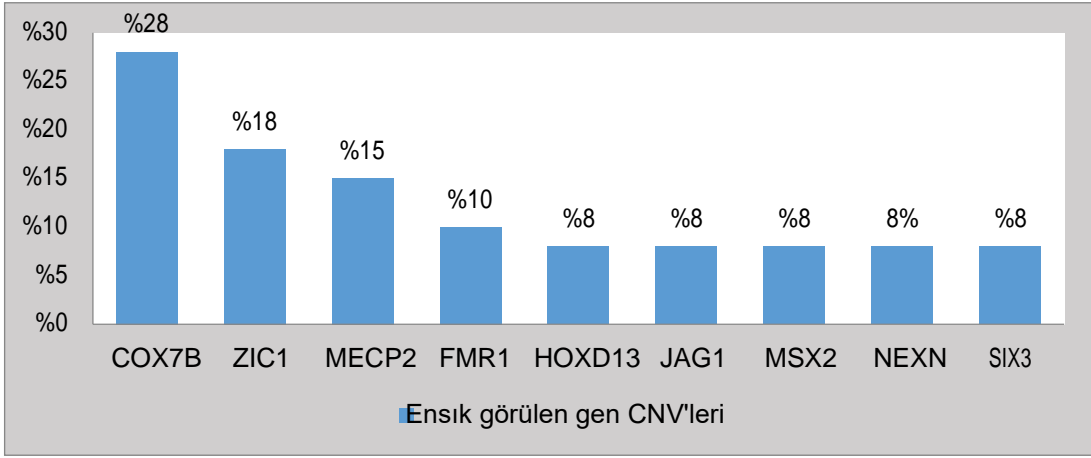
Çalışma adı	Çalışmanın büyüklüğü (n)	Abnormal sonuç (n)	Saptanan CNV (%)	CNV tipi ve oranı (%)	Gen/lokus	CNV içeren En sık kr. lokusu
K. Wou ve arkadaşları (91)	1071	330	36 (%10.9)	Del 20 (%6.1) Dup 16 (%4,8)	Gen belirtilmemiş	Lokus belirtilmemiş
Björn ve arkadaşları(92)	100	28	4 (%4)	Del (%3) Dup (%1)	dup(13)(q32.1qter) del(20)(pterp12.1), erkek del(7)(q36qter), dişi del(X)(q28qter), dişi	7,20,X
Rosenfeld ve arkadaşları (93)	515	48	21 (%4)	Del 17 (%3.3) Dup 4 (%0.7)	1 olguda NRXN1 geni delesyonu	Lokus belirtilmemiş
Harris ve arkadaşları (77)	54	12	12 (%22)	Del8(%15) Dup4(%7)	ANKRD19, ASPN, AUH, BICD2, C9orf44, C9orf89, CENPP, DIRAS2, ECM2, FGD3, IARS, IPPK, NFIL3, NINJ1, NOL8, OGN, OMD, ROR2, SNORA84, SPTLC1, SUSD3, SYK, WNK2, ZNF484, 2R1, OR51F2, OR51S1, OR51T1, CLLU1 OS, CLLU1	9. kromozom

Reddy ve arkadaşları (94)	532	37	37 (%7)	Del 9 (%1,6) Dup28 (%5,4)	Gen belirtilmemiş	En sık 19krCNV'si var. 8q24-SLA geni dup, Xp22-HCCS ve MID1 geni del
<b>Del: delesyon, Dup: Duplikasyon, kr: kromozom n: olgu sayısı</b>						



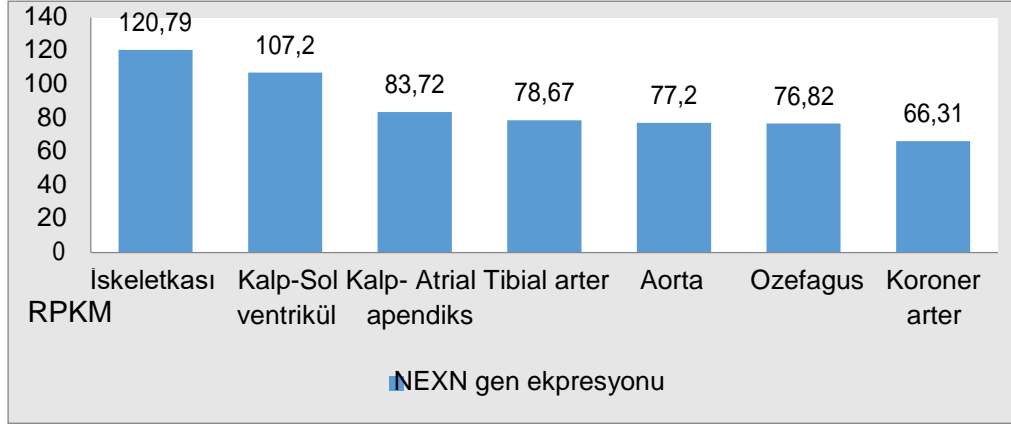
**Şekil 5.3.** Fetal kayıp etiolojisini içeren literatür çalışmaları ve CNV sonuçları ile çalışmamıza ait verilerin CNV sonuçları

Çalışmamız aCGH'te analiz programından çıkan verilere ilave olarak gen eksenli analizde yapılmıştır. Embriyolojik gelişim ve farklılaşma basamaklarında rolü olan 53 gen CNV için aday olarak seçildi. Gen temelli analiz sonucunda Şekil 5.4'te şematize edilen ve Tablo 4.5 ve Tablo 4.6'da görülebildiği gibi ön plana 9 tane fetal kayıp ile ilişkili CNV çıkmaktadır. Aday genlerin ontolojik fenotip özellikleri, gen-gen etkileşimleri, klinik etkileri, embriyolojik gelişim üzerine olan etkileri özellikle GeneCards organizasyonuna ait web veri tabanından elde edilmiştir.



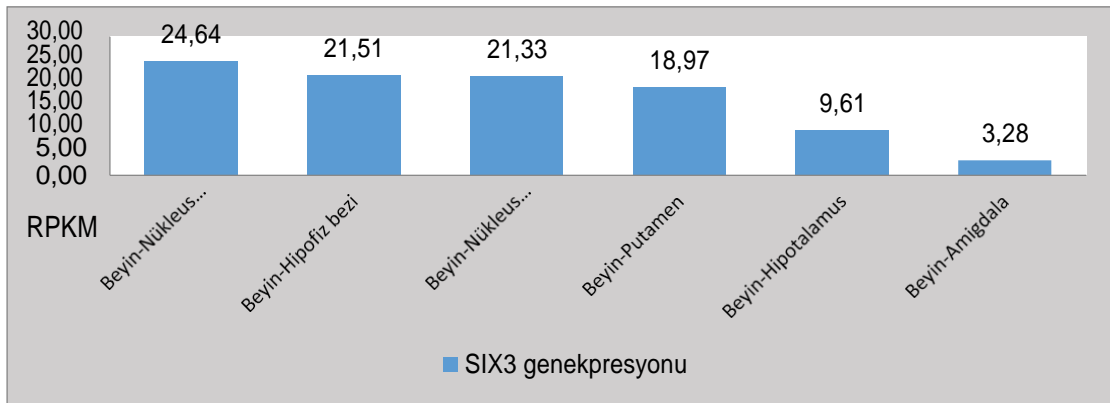
**Şekil 5.4.** Çalışmamızda saptanan en sık gen CNV tipleri

**NEXN geni:** Birinci Kromozom p31.1 kolunda bulunan NEXN geni hücre sitoplazmasında hücre iskeletinin yapıtaşları olan aktin filamentlerinin hücre göçündeki düzenlenmesinde görev almaktadır. Ayrıca kas hücresinde Z çizgisinin oluşumunda ve devamlılığında katkı sağlar. Çalışmamızdaki 11,19,32 nolu olgularda (%8) delesyonu saptanmıştır. Genecards veri tabanında NEXN geni ile ilgili bilinen mevcut üst yolak olmamakla birlikte ilişkili olduğu MYO5C, NMI, FLNA, MYO18A, SFXN4, genleri bulunmaktadır. Bu genlerden FLNA bizim çalışmamızda fetal kayıpla ilişkisi olduğu düşünülen bir diğer gen dir. NEXN geninin ontolojik açıdan hücre iskeleti organizasyonunda görevli olması, kardiyomyopati ile ilişkili olması, hücre göçü gibi fetal gelişim evrelerinde kritik rolü olan fonksiyonla ilişkili olması fetal kayıp etyolojisinden sorumlu olabileceğini göstermektedir. Şekil 5.5'te NEXN geni doku ekspresyon grafiğinde bu genin kas dokusu, kalp kas dokusu, aort damarı, koroner arteri gibi yaşamsal önemi olan dokularda eksprese edilmesi NEXN geni fetal kayıp ilişkisini kuvvetlendirmektedir.



Şekil 5.5. NEXN geni doku ekspresyon grafiği-Varsome veri tabanı (95)'dan alınmıştır. RPKM: Reads Per Kilobase per Million mapped reads- haritalanmış her milyon okumada kilobaz okuma değeri

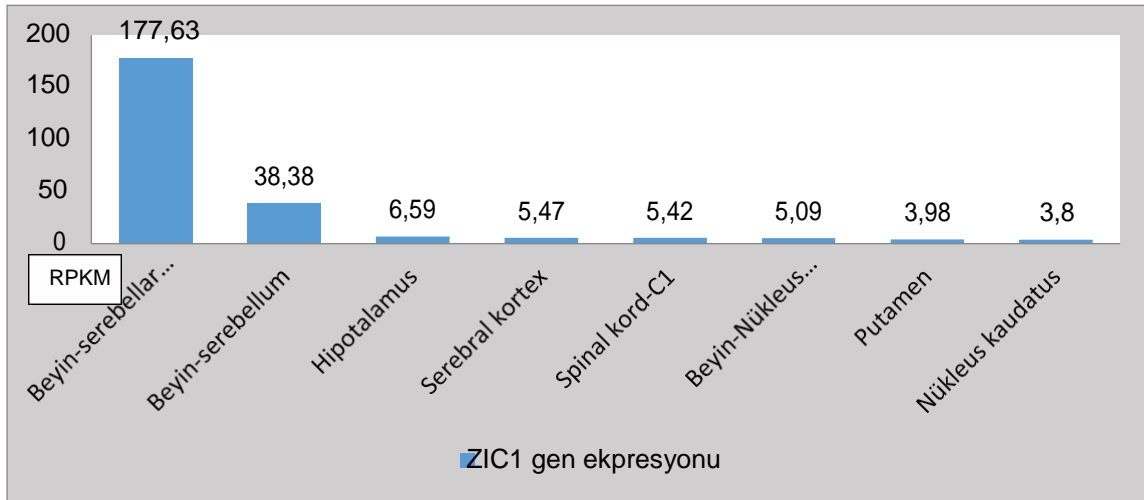
**SIX3 geni:** İkinci kromozomun p21 lokusunda bulunan SIX 3 genine ait duplikasyon 5,6 ve 38. olgularda (%8) saptanmıştır. SIX 3 geni holoprosensefali kliniği ile ilişkili olup, genecards veritabanında üst yolak olarak embriyo preimplantasyonu ve sirkadyen ritm ilişkili genlerle etkileşim halindedir. MTA1, TLE1, AES, PAX6, EYA1 gen proteinleri ile etkileşmektedir. Göz gelişiminde, lens gelişiminde, epitel hücre maturasyonunda ve nükleusa protein transportunda görevlidir. Şekil 5.6'da görüldüğü gibi SIX3 geni beyin, hipofiz bezi, talamik çekirdekler gibi santral sinir sistemi temel yapılardan eksprese olması, embriyo preimplantasyonu, hipofiz fonksiyonu sirkadyen ritm ile ilişkili olması bize fetal kayıp ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 5.6. SIX3 geni doku ekspresyon grafiği-Varsome veri tabanı (95)'dan alınmıştır. RPKM: Reads Per Kilobase per Million mapped reads- haritalanmış her milyon okumada kilobaz okuma değeri

**HOXD13 geni:** İkinci kromozomun q31 lokusunda bulunan HOXD13 geni bizim çalışmamızda 20,22,34 nolu olgularda(%8) duplikasyonu ayrıca 4 nolu olguda delesyonu olduğu saptanmıştır. HOXD13 geni klinik olarak Brakidaktili-sindaktili sendromu ile ilişkili olup, genecards veritabanında iskelet sistemi gelişimi, DNA transkripsiyonu, multiselüler organizmaların gelişiminde görevli olduğu belirtilmektedir. Ayrıca HAND2 ve MEIS1 geni proteinleri ile etkileşim halindedir. HOXD13 geninin transkripsiyon aşamasında ve embriyo gelişim süreçlerinde görevli olması fetal kayıp ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

**ZIC1 geni:** Üçüncü kromozomun q24 lokusunda bulunan ZIC1 geni bizim çalışmamızda 4,20,22,28,33,35,38 nolu olgularda(%18) duplikasyon şeklinde CNV değişikliği saptanmıştır. ZIC1 geni klinik olarak Kraniosinostozis 6 ile ilişkilidir. Moleküler fonksiyon olarak santral sinir sisteminin erken döneminde nörogenesiste önemli rol oynamaktadır. GLI1, GLI2, GLI3, SIN3A, SIN3B geni ile etkileşim halindedir. ZIC1 geninin nörogenesiste etkin rol alması fetal kayıplarla olan patolojik ilişkisini kuvvetlendirmektedir. Şekil 5.7’de ZIC1 geninin en çok santral sinir sisteminde eksprese edildiği gösterilmektedir.



Şekil 5.7. ZIC1 geni doku ekspresyon grafiği-Varsome veri tabanının(95)'dan alınmıştır. RPKM: Reads Per Kilobase per Million mapped reads- haritalanmış her milyon okumada kilobaz okuma değeri

**MSX2 geni:** Beşinci kromozom q35 lokusunda bulunan MSX2 geni çalışmamızda 4,22 ve 34. olgularda (%8) duplikasyon şeklinde 20 nolu olguda delesyon şeklinde olduğu saptanmıştır. DNA transkripsiyonu ile ilişkili çok

sayıda fonksiyonu bulunan gen, yarık damak-dudak, skalp aplazia kutis klinikleri ile ilişkilidir. Etkileşim halinde olduğu PITX2, RUNX2, ZBTB17, SPEN, MAGED1 genleri ile ilişkilidir. Özellikle PITX2 geni ile olan ilişkisi daha güçlüdür. PITX2 geninin morfogenezde organ spesifik kontrol etkinliğinin olması MSX2 geninin fetal kayıplar açısından değerli bir gen olarak öne çıkarmaktadır.

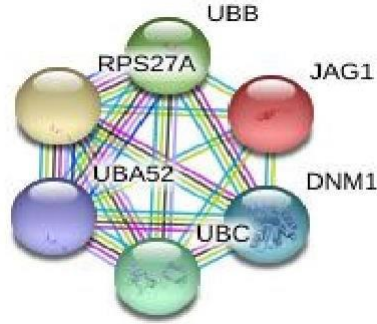
**COX7B geni:** X kromozomu q21 lokusunda bulunan COX7B geni çalışmamızdaki 3, 5, 11, 12, 13, 18, 19, 21, 22, 26 ve 33 nolu olgularda (%28) delesyon tipinde bir CNV olarak tespit edilmiştir. Klinik olarak Linear deri defekti multipl konjenital anomaliler ile beraber-2 anomalisi ile ilişkili olup, moleküler fonksiyon yönünden mitekondrial elektron transport zincirinde terminal oksidaz olan sitokrom C'nin nükleer DNA kökenli peptid zincirlerinden birini kodlamaktadır. Santral sinir sisteminin gelişiminde rolü olan ve multipl konjenital anomalileri ile ilişkisi bulunan doku ekspresyon grafiğinde en çok kalpte sol ventrikül- atrial appendikste eksprese olması, bu genin fetal kayıp etiyolojisinde rolü olmasını mümkün kılmaktadır. Bu açıdan ileri çalışmaların yapılması önerilir.

**MECP2 geni:** X kromozomu q24 lokusunda yer alan MECP2 geni çalışmamızdaki 7,10,11,12,14 ve 15 nolu olgularda (%15) oranında saptanmıştır. Klinik olarak Rett sendromu, Ensefalopati, yenidoğanda şiddetli ile ilişkili olan ve ontolojik açıdan EKG'de anormal T dalgaları, anormal kromozomal segregasyon, abnormal metabolizma, hareket bozuklukları, antiheliks formatının abnormal oluşumu ile ilişkilidir. Gen doku ekspresyonu açısından bakıldığında tüm vücutta homojene yakın bir ekspresyonu olduğu, en fazlada beyin ve serebellumdan eksprese edildiği görülmektedir. Warren ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada MECP2 geninin fetal kayıptan sorumlu genler arasında bildirilmiş olup çalışmamız bu açıdan literatür ile uyumludur (1). MECP2 geninin metabolizma bozuklukları, anormal kromozom segregasyonu gibi hücre bölünme basamaklarına olan etkisinin teorik olarak anöploidi ilişkili gebelik kayıpları ile ilişkili olabileceğini göstermektedir.



**FMR1 geni:** X kromozomu q27 lokusu üzerinde bulunan FMR1 geni çalışmamızdaki 9,13,19,21 nolu olgularda (%10) duplikasyon şeklinde olan CNV tipidir. Klinik olarak Frajil X tremor/ ataksi sendromu ile ilişkili olan ve fetüs ve erişkinde beyin ve testiste eksprese edilen nükleositoplazmik bir çeşit taşıyıcı proteindir. RNA'nın nükleustan sitoplazmaya taşınmasında görevlidir. Nörolojik gelişimde ve mRNA yolaklarında etkin olan bu genin fetal kayıp üzerine olan etkisinin ileri araştırılması önerilir.

**JAG1 geni:** Yirminci kromozomun p12 lokusunda bulunan JAG1 geni çalışmamızda 17,32,35 nolu olgularda (%8) duplikasyon şeklinde saptanmış olup klinik olarak Alagille sendromu, Fallot tetralojisi, Konjenital kalp defekti ve arka embriyotokson ile ilişkilidir. Ontolojik olarak anjiogenezis, immünite, kan damarı remodelingi, epitel hücre morfogenezisinde rol almaktadır. Şekil 5.8'de JAG1 geni gen-gen etkileşimi şematize edilmektedir. Bu şemadanda anlaşılacağı üzere embriyogeneziste rolü olan genlerin hücrenin temel fonksiyonları üzerine olan etkileri ve regülatör fonksiyonlarına bağlı olarak kaskat şeklinde yan etkiler ortaya çıkarabilme potansiyeli bulunmaktadır. Bu yüzden fetal kayıp açısından incelediğimiz aday genlerin fonksiyonel, hayvan modelleri ile çalışılması bilgimizi netleştirecektir.

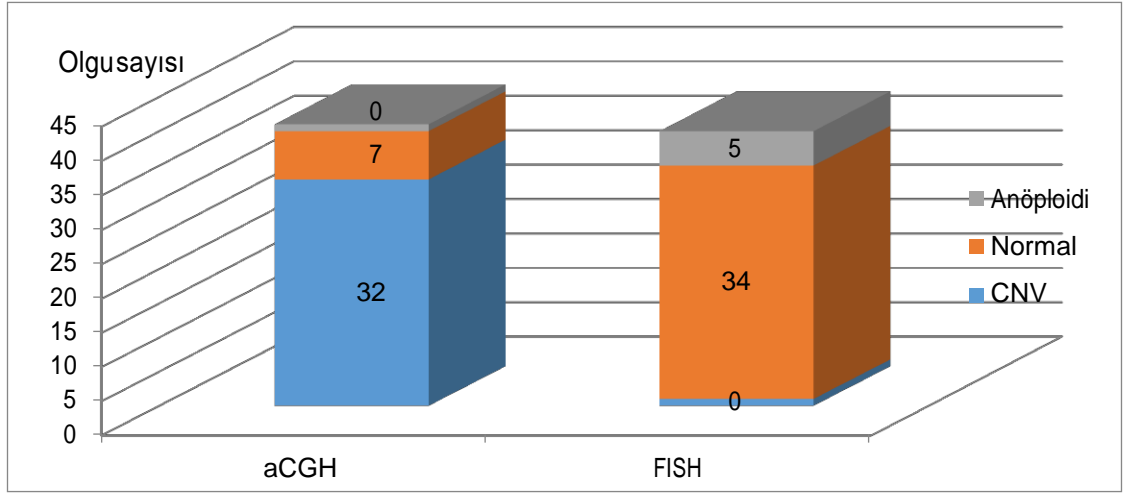


**Şekil 5.8.** JAG1 gen-gen ilişkisi. Genler arası çizgiler etkileşimleri temsil etmektedir- Genecards veri tabanı (88)'dan alınmıştır.

Çalışmamıza dahil olan fetüsler; labaratuvara ilk geldiğinde literatürde tavsiye edildiği üzere ilk önce QF-PCR analizi ile sık görülen trizomiler ve seks kromozomal abnormallikleri açısından (13,18,21,X,Y kromozomu) ve FISH tetkiki ile 15 ve 16. Kromozomları anöploidi açısından incelenmiş olup, bu

sonuçların Tablo 4.3'te de görüldüğü gibi retrospektif olarak değerlendirildiğimizde; FISH tetkiki ile fetüslerin 5 tanesinde (%12,8) anöploidi saptanmıştır. FISH tetkiki ile saptanan bu anormallikler aCGH tetkiki ile tespit edilememiştir. Bununla birlikte aCGH tetkiki ile 32 fetüsün (%82) fetal kayıp açısından anlamlı CNV taşıdığı ve bu CNV'lerin FISH ile tespit edilemediği görülmektedir. Her iki tetkikinde olumlu ve olumsuz yönleri değerlendirildiğinde birbirini tamamladığı görüldü. FISH tetkiki ile makro düzeyde kromozomal abnormallikler ön planda saptanırken, aCGH ile daha çok mikro planda bölgesel kromozomal değişikliklerin tespit edilebildiği görüldü. Şekil 5.1'de görüldüğü gibi K. Wou ve ark. (91)'lerinin yapmış olduğu çalışmada aCGH'in mutasyon saptama oranı %13 olup bu çalışmadaki QF-PCR çalışmasına (%17) göre patojen bulgu saptama oranı düşüktür. Çalışmamız K.Wou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre hem aCGH patojen bulgu saptama oranı açısından hemde QF-PCR'a karşı üstünlüğü açısından daha efektif olduğu saptandı. Literatürde 417 fetüsü içeren Kooper AJA ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada (81) QF-PCR ile 50 olguda (%11,9) anöploidi saptama oranına sahip olduğu ve bizim çalışmamız ile anöploidi oranı açısından uyumlu olduğu gözlemlendi. Söz konusu çalışmada FISH tetkikinin sadece bir olguda CNV'nin doğulanması amacıyla yapıldığı anlaşılmıştır. Aynı çalışmada açıklanamayan fetal kayıplarda aCGH ile CNV saptama oranı %8-13 aralığında olduğu görüldü. Çalışmamız CNV tespiti açısından %82 CNV saptama oranı ile literatürden daha yüksek orana sahiptir (81). Çalışmamıza ait aCGH ve QF-PCR patojenite saptama oranları Şekil 5.9'da görülmektedir.

Çalışmamızın sonuç kısmında fetal kayıplar açısından aday genler tanımlanırken, çalışmaya katılan olgu sayısının sınırlı sayıda olması sebebiyle %8 ve üzeri orana sahip olan genler seçilmiştir. Çalışmamızdaki genlerin saptanma oranı düştükçe, tek veya iki olguda görülen CNV'lerin sonuca yansımalarıyla yalancı pozitiflik olasılığını artırmaktadır. Bu araştırmanın daha güçlü bir söyleme sahip olması için çalışılacak tahliye materyali sayısının artırılması ve güncel literatürdeki verilerle tartışılması önerilir.



**ekil 5.9.** Çalışmamızda aCGH ve FISH tetkikleri sonucunda patojen bulgu saptanan olgu sayıları

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada, fetal dönem gebelik kayıpları olan çiftlerde toplam 39 adet fetal tahliye materyalleri aCGH yöntemi ile analiz edilerek, moleküler genetik etiyojik sebeplerin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu temel amaç doğrultusunda, özellikle embriyonal dönem hücre bölünmesi, doku farklılaşmasında görev alan toplam 54 adet gen olası kopya sayısı varyasyonları (CNV), yapısal değişimlerin (delesyon ve/veya duplikasyonlar) ileri düzeyde tespit edilerek konu ile ilgili güncel literatür verileri ile tartışılmıştır. Fetal materyallerinden total genomik DNA izolasyonları yapılmış, kromozomal mikroarray-CGH yöntemi ile (aCGH, 60 K ISCA dizayn, Agilent, Germany) moleküler etiyojik sebepler açısından genotiplendirilerek intrauterin kayıplarla ilişkili toplam 54 fonksiyonel gen CNV'ler açısından genomik varyasyon analizinde kullanılan veri tabanları (Database of Genomic Variants Analysis) ile değerlendirilmiştir. Araştırma kapsamında analiz edilen toplam 39 fetal materyalin 32 tanesinde (%82.05) CNV tespit edilmiştir. Saptanan CNV'lerin bazı olgularda duplikasyon şekline (%55), bazılarında delesyon (%45) şeklinde oldukları saptanmıştır. Değerlendirilen toplam 54 genin 19'unda (%35) delesyon, 26 tanesinde (%48) duplikasyon saptanırken toplam 3 tanesinde ise (%6) hem delesyon ve hemde duplikasyon saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız, diğer otozom kromozomlar yanısıra (1,2,3,4,5,7,8,10,12,13,14,15,20) intrauterin kayıplarda en fazla tutulumun X kromozomunda olduğunu ortaya koymuştur. Saptanan CNV'lerin yaygın olarak heterozigot allel tipinde ve duplikasyonlar şeklinde olduğu saptandı. Çalışmamızda, fetal kayıp etiyojisi açısından sırasıyla COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 gen CNV'lerinin daha sık olduğu saptanmıştır.

Bu çalışma, fetal kayıp olgularında aCGH analizini sırasında kopya sayısı değişikliklerinin saptanmasında gen temelli yöntemin literatürden daha yüksek oranda sonuç vermesine sebep olduğunu göstermektedir. Literatüre bakıldığında CNV değerlendirilmesinin belli kriterler üzerine oturtulmadığı ve bu konuda CNV klasifikasyonu yapılmadığı için verilerin karşılaştırılmasında güçlüklerin ortaya çıktığı görülmektedir. Bazı çalışmalarda sadece CNV sayısı

veri olarak verilmişken, bazı çalışmalarda sadece kromozom lokusu veri olarak ortaya konulmuş olup, bu lokusların gen bazlı CNV değerlendirmesini içermediği görülmektedir. Fetal kayıplar üzerine aCGH ile CNV analizini içeren gerek makale sayısının azlığı, gerek makalelerdeki olgu sayılarının ve veri içeriğinin derinliği ve bu konuda literatürde bugün itibariyle derleme (review) olmaması; daha fazla ayrıntıya sahip çalışmaların yapılmasının faydalı olacağını bize göstermektedir.

Biz bu çalışmada CNV değerlendirmesi yaparken literatürden farklı olarak embriyolojik dönemde organ gelişimi ve farklılaşması üzerine kritik süreçlerde yeri ve önemi olan 53 aday gen tespit ettik ve gerek kromozom temelli gerekse de gen temelli analiz uygulayarak literatüre göre daha yüksek oranda CNV verisi ürettik.

Çalışmamıza katılan 39 fetüs, embriyolojik dönemde önemi olan gen CNV'leri açısından değerlendirildiğinde 32 fetüsün (%82) fetal kayıp açısından anlamlı gen CNV'si taşıdığı ve literatür verilerinden daha yüksek oranda CNV taşıdığı saptanmıştır. CNV'lerin en çok X kromozomunda, heterozigot alel tipinde ve duplikasyon şeklinde olduğu saptandı. Çalışmamızda, olgularda fetal kayıp etiyolojisi açısından sırasıyla COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN, SIX3 genlerinin CNV'leri daha sık olduğu saptanmış ve aday gen olarak literatüre sunulmuştur.

Son yıllarda aCGH ve yeni nesil sekanslama gibi yüksek çözünürlüklü ve genom boyu tarama yapabilen teknolojik gelişmelerin konvansiyonel analiz yöntemleri ile birleştirilmesi sonucunda, insan genomunda mevcut abnormalliklerin ortaya çıkarılması ve fenotip genotip korelasyonu daha sağlıklı hale gelecektir. Bu açıdan bakıldığında ileriye dönük olarak aCGH verilerinin gen temelli olarak ayrıntılı analizinin faydalı olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, Bu araştırma kapsamında tespit edilen ve güncel literatürde fetal kayıp etiyolojisinde tanımlanmayan 9 adet gen intrauterin kayıplarla ilişkili olduğu saptanmıştır. Eğer CNV'lerle fetal kayıplar arasında korelasyon ispatlanırsa gelecekte preimplantasyon genetik tanı ile sağlıklı embriyo seçimi ile kötü obstetrik öyküye sahip ailelerin çocuk sahibi olması mümkün olacaktır. Sınırlı sayıda fetal materyalin analiz edildiği araştırma

sonuçları, başta X kromozomu olmak üzere farklı otozom kromozomlar üzerine lokalize fonksiyon genlerde meydana gelen delesyon, duplikasyon gibi yapısal kopya sayısı varyasyonlarının intrauterin kayıplarda önemli moleküler etiyolojik sebepler olduğunu ortaya koymuştur. Toplam 54 farklı gene ait analizlerinin yapıldığı mevcut sonuçlarda özellikle embriyonal dönem hücre bölünmesi, doku farklılaşmasında görev alan gen ve/veya genlerde tutulumlarının daha yaygın olduğu saptanmıştır. Bu fonksiyonel genlerden özellikle COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 genlerde yapısal mutasyonların daha sık olduğu ortaya konmuştur. Araştırma sonuçlarının çok sayıda olgunun dahil edildiği ve daha kapsamlı gen profillemesinin yapıldığı ileri araştırmalar tarafından desteklenmesi ve bu doğrultuda özellikle tekrarlı intrauterin kaybı olan çiftlerin sağlıklı çocuk sahibi olmaları için yönlendirildikleri IVF vb gibi ihtiyaç duyulan yardımcı üreme tekniklerinden daha etkin yararlanmalarına akademik ve profesyonel katkı sağlanabileceği düşünülmüştür.

Özetle; sınırlı sayıda fetal materyale ait mevcut aCGH genotip sonuçlarının retrospektif olarak intrauterin kayıpların moleküler etiyolojik sebepleri açısından değerlendirildiğinde;

1. Duplikasyon ve delesyonlar şeklinde meydana gelen çok sayıda CNV saptanmıştır.
2. Saptanan CNV'lerin en fazla X kromozomunda olduğu görülmekle birlikte diğer otozomal kromozomlardan 1,2,3,4,5,7,8,10,12,13,14,15,20 nolu kromozomlarda daha fazla sayıda CNV olduğu tespit edilmiştir.
3. NR2F2, ATRX, MAGT1, COX7B, ATP7A, PGAM4, BMP4, OTX2, TWIST1, AFF1, KLHL8, HSD17B13, HSD17B11, DSPP, DMP1, IBSP, MEPE, SPP1, PKD2, USP33, FAM73A, NEXN, FUBP1, TGFB3, BRDT, RPAP2, GFI1, EVI5, RPL5, FAM69A, MTF2, DR1, FNBP1L, BCAR3, GPSM2, WDR47, KIAA1324, SARS, CELSR2, PSRC1, SORT1, PSMA5, FGF16, FAM208A, ARHGEF3, SPATA12, IL17RD, HESX1, APPL1, DNAH12, PDE12, ARF4, FLNB, DNASE1L3, RPP14, PDK, PDHB, ATP2B4, ZC3H11A, ZBED6, SNRPE, SOX13, PRPS1, SGPP1, SYNE2, ESR2, HCCS, ARHGAP6, AMELX, TG, SLA, HSD17B10, MID1, LPP, MIR28, TP63, SLX4IP, JAG1, PGK1, EVX2, HOXD4, HOXD8, HOXD9,

HOXD10, HOXD11, HOXD12, HOXD13, MIR10B, SARNP, ORMDL2, MMP19, DGKA, CDK2, RAB5B, SUOX, IKZF4, RPS26, ERBB3, PA2G4, RPL41, ESYT1, MYL6B, MYL6, SMARCC2, SLC39A5, CS, PAN2, IL23A, STAT2, APOF, MIP, GLS2, EMX2OS, EMX2, ZIC4, ZIC1, MYOT, PKD2L2, WNT8A, NME5, KIF20A, CDC23, GFRA3, CDC25C, KDM3B, REEP2, EGR1, ETF1, HSPA9, CTNNA1, LRRTM2, SIL1, MATR3, PAIP2, SLC23A1, MZB1, ECSCR, TMEM173, UBE2D2, ATP8A2, AMIGO1, GPR61, GNAI3, MIR197, GNAT2, AMPD2, GSTM4, GSTM2, GSTM1, GSTM5, GSTM3, EPS8L3, TXNDC12, ZFYVE9, ORC1, ZCCHC11, GPX7, COA7, SCP2, TAF1, INGX, OGT, BCOR, SIX3, MSX2, SOX3 olmak üzere toplam 162 adet etkilenmiş gen saptanmıştır.

4. Bunlardan, BMP7, CHRNA1, CHRND, CHRNG, COL1A, COX7B, FAM20C, FLNA, FLNB, FGFR1-23, FGF8, FOXD3, FOXG1, FMR1, EPHB4, GPC3, HAND1, HAND2, HCCS, HOXA, HOXB, HOXC, HOXA2, HOXB3, HOXA13, HOXD3, HOXD13, IKBKG, LBR, MECP2, MITF, MSX2, MYOD, OTX2, PAX1, PAX2, PAX3, PDX1, PHEX, PORCN, PRPS1, RET, SHH, SIX3, SOX2, SOX9, TAF1, TBX4, TBX5, TWIST1, WNT3A, WNT4, WNT6, WNT9B olmak üzere toplam 54 adet genin embriyo büyüme ve gelişimi üzerine fonksiyonel genler oldukları,
5. Saptanan COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 olmak üzere 9 adet genin ise mevcut güncel literatürde fetal kayıp etiolojisinde henüz bildirilmemiş genler olduğu ortaya konmuştur.
6. COX7B, ZIC1, MECP2, FMR1, HOXD13, JAG1, MSX2, NEXN ve SIX3 genlerine ait CNV'lerin diğer moleküler yöntemlerle korelasyonunun yapılması ve ileride deneysel ve fonksiyonel çalışma yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Warren JE, Silver RM. Genetics of pregnancy loss. Clin Obstet Gynecol. 2008;51(1):84–95.
2. Griebel CP, Halvorsen J, Golemon TB, Day AA. Management of spontaneous abortion. Am Fam Physician. 2005;72(7):1243–1250.
3. Liu L-C, Wang Y-C, Yu M-H, Su H-Y. Major risk factors for stillbirth in different trimesters of pregnancy—A systematic review. Taiwan J Obstet Gynecol. 2014;53(2):141–145.
4. Joy E Lawn, HannahBlencowe, PeterWaiswa, Agbessi Amouzou, Colin Mathers, Dan Hogan, Vicki Flenady J Frederik Frøen, Zeshan UQureshi, Claire Calderwood, Suhail Shiekh, Fiorella Bianchi Jassir, DanzhenYou, Elizabeth MMcClure, Matthews Mathai, SimonCousensDipMathstat, Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030. Lancet. 2016;387(10018):587–603.
5. Korteweg, Fleurisca J. MD; Erwich, Jan Jaap H. M. MD, PhD; Holm, Jozien P. Prof; Ravisé, Joke M.; van der Meer, Jan Prof; Veeger, Nic J. G. M. MSc; Timmer, Albertus MD, PhD.Diverse placental pathologies as the main causes of fetal death. Obstet Gynecol. 2009;114(4):809–817
6. Reddy UM, Page GP, Saade GR. The role of DNA microarrays in the evaluation of fetal death. Prenat Diagn. 2012;32(4):371–375.
7. Ruth C Fretts, MD, MPH Catherine Spong M. (2018) Fetal death and stillbirth: Incidence,etiology,and prevention [Online].Erişim: [https://www.uptodate.com/contents/fetal-death-and-stillbirth-incidence-etiology-and-prevention?search=fetal death&source=search\_result&selectedTitle=2~150&usage\_type=default &display\_rank=2] Erişim Tarihi: 25.01.2018
8. Silver RM. Fetal death. Obstet Gynecol. 2007;109(1):153–167
9. Meier PR, Manchester DK, Shikes RH, Clewell WH, Stewart M. Perinatal autopsy: its clinical value. Obstet Gynecol. 1986;67(3):349–351.
10. Woods R. (2018). Long-term trends in fetal mortality: implications for developing countries. Erişim:[http://www.who.int/bulletin/volumes/86/6/07-043471/en/] Erişim



Tarihi:15.02.2018

11. Caracostea Gabriela M.D. (2017). Systematic review on the incidence/prevalence of stillbirths. Erişim:[  
<https://www.gfmer.ch/Endo/Course2003/Stillbirths.htm>] Erişim Tarihi:15.02.2018
12. Robert M. Silver, MD, Michael W. Varner, MD, Uma Reddy, MD, Robert Goldenberg, MD, Halit Pınar, MD, Deborah Conway, MD, Radek Bukowski, MD, Marshall Carpenter, MD. Carol Hogue, PhD, MPH, Marian Willinger, PhD, Donald Dudley, MD, George Saade, MD, and Barbara Stoll, MD. Work-up of stillbirth: a review of the evidence. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(5):433–444.
13. Gardosi J, Kady SM, McGeown P, Francis A, Tonks A. Classification of stillbirth by relevant condition at death (ReCoDe): population based cohort study. *Bmj.* 2005;331(7525):1113–1117.
14. Fretts RC, Boyd ME, Usher RH, Usher HA. The changing pattern of fetal death, 1961-1988. *Obstet Gynecol.* 1992;79(1):35–39.
15. Groen H, Bouman K, Pierini A, Rankin J, Rissmann A, Haeusler M, Yevtushok L, Loane M, Erwich JJHM, de Walle HEK Stillbirth and neonatal mortality in pregnancies complicated by major congenital anomalies: Findings from a large European cohort. *Prenat Diagn.* 2017;37(11):1100–1111
16. Sohan K, Carroll SG, De La Fuente S, Soothill P, Kyle P. Analysis of outcome in hydrops fetalis in relation to gestational age at diagnosis, cause and treatment. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2001;80(8):726–730.
17. Bellini C, Hennekam R. Non-immune hydrops fetalis: a short review of etiology and pathophysiology. *Am J Med Genet Part A.* 2012;158(3):597–605.
18. Norton ME, Chauhan SP, Dashe JS. Society for maternal-fetal medicine (SMFM) clinical guideline# 7: nonimmune hydrops fetalis. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(2):127–139.
19. Steiner RD. Hydrops fetalis: role of the geneticist. In: *Seminars in perinatology.* Elsevier; 1995. p. 516–524.

20. Uma M. Reddy MD M and CYSM. Stillbirth. In: Robert K. Creasy, Robert Resnik, Jay D. Iams, Charles J. Lockwood, Thomas R. Moore MFG, editor.(2018) Creasy and Resnik's Maternal-Fetal Medicine: Principles and Practice. Erişim:[ <https://www.clinicalkey.com/#!/content/book/3-s2.0-B9781455711376000453?scrollTo=%23h10000783>] Erişim Tarihi:15.02.2018
21. Wylie BJ, D'alton ME. Fetomaternal hemorrhage. *Obstet Gynecol.* 2010;115(5):1039–1051.
22. Skupski DW. Twin-twin transfusion syndrome: An update. *Croat Med J.* 2000;41(3):228–234.
23. Arora V, Nijjar IS, Abrol R, Chopra R. Twin-Twin transfusion syndrome:-A case report. *Indian J Radiol Imaging.* 2006;16(4):797.
24. Stewart JH, Andrews J, Cartlidge PHT. Numbers of deaths related to intrapartum asphyxia and timing of birth in all Wales perinatal survey, 1993-5. *Bmj.* 1998;316(7132):657–660.
25. Visser GHA, Bilardo CM, Lees C. Fetal growth restriction at the limits of viability. *Fetal Diagn Ther.* 2014;36(2):162–165.
26. Bamfo JEAK, Odibo AO. Diagnosis and management of fetal growth restriction. *Journal of Pregnancy.* 2011;2011:640715. doi:10.1155/2011/640715.
27. Wapner RJ. Genetics of stillbirth. *Clin Obstet Gynecol.* 2010;53(3):628–634.
28. Dr D Siassakos MRCOG, Bristol; Dr R Fox MRCOG, Taunton; Dr T Draycott FRCOG, Bristol; and Mrs C Winter RM B.(2010). Late Intrauterine Fetal Death and Stillbirth. Green-top Guideline. Committee of the Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Erişim:[[https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg\\_5\\_5.pdf](https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_5_5.pdf)] Erişim Tarihi:15.02.2018
29. Sangwan V, Nanda S, Sangwan M, Malik R, Yadav M. Cord complications: associated risk factors and perinatal outcome. *Open J Obstet Gynecol.* 2011;1(4):174.
30. W D njuguna m. factors associated with intrauterine fetal death as seen

at kenyatta national hospital . department of obstetrics and gynecology, university of nairobi. (2011). Erişim:[ file:///C:/Users/tr/Desktop/tez 21.01.2018/iuex makale/Njuguna\_Factors associated with intrauterine fetal death as seen at Kenyatta national hospital,Nairobi.pdf] Erişim Tarihi:15.02.2018

31. Ülkümen BA, Pala HG, Çalık E, Koyuncu FM. Ablasyo Plasenta Olgularının Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2014;28(1):15–19.
32. Evrim Bostancı, Resul Arısoy, Mesut Polat, Emre Erdoğan, Resul Karakufl, Ayflen Boza, Masum Kayapınar, Oya Pekin, Semih Tuğrul. Dekolman plasenta ve risk faktörleri. Cilt 21| Sayı 2| Ağustos 2013. 2013;21(2):60–65.
33. Räisänen S, Kancherla V, Kramer MR, Gissler M, Heinonen S. Placenta previa and the risk of delivering a small-for-gestational-age newborn. Obstet Gynecol. 2014;124(201):285.
34. Ruitter L, Kok N, Limpens J, Derks JB, de Graaf IM, Mol BW, Pajkrt E. Systematic review of accuracy of ultrasound in the diagnosis of vasa previa. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015;45(5):516–522.
35. Salgado SS, Pathmeswaran A. Effects of placental infarctions on the fetal outcome in pregnancies complicated by hypertension. J Coll Physicians Surg Pak. 2008;18(4):213–216.
36. Spencer K, Chard T. Pregnancy. In: The Immunoassay Handbook (Fourth Edition). Oxford.Elsevier;. p. 757–776. 2013
37. Baschat DAA. Fetal responses to placental insufficiency: an update. BJOG An Int J Obstet Gynaecol. 2004;111(10):1031–1041.
38. Gelber SE, Brent E, Redecha P, Perino G, Tomlinson S, Davisson RL, Salmon JE. Prevention of defective placentation and pregnancy loss by blocking innate immune pathways in a syngeneic model of placental insufficiency. J Immunol. 2015;195(3):1129–1138.
39. Mertihan Kurdoğlu. Uterus Ruptürü (2011). Ulusal Perinatoloji Kongresi 13-16 Nisan 2011. Erişim:[<http://www.perinataldergi.com/Files/Archive/tr-TR/Articles/PD-20110191111tr.pdf>] Erişim Tarihi:15.02.2018

40. Evsen MS, Sak ME, Bozkurt Y, Kapan M, Bakır Ç. Nedbesiz uterus rüptürü: Bölgesel insidans, nedenler ve tedavi. *Dicle Tıp Derg.* 2015;35(4):259–263.
41. Gökhan Aksel, Aslı Bilge Kanber Deniz, Özlem Güneysel.( 2014). A Rare Case: Spontaneous Uterine Rupture in First Pregnancy. /Nadir Bir Olgu: İlk Gebelikte Spontan Uterus Rüptürü." *Akademik Acil Tip Olgu Sunumlari Dergisi* 5.10 (2014): 238.
42. Iverson RE, DeCherney AH, Laufer MR.(2012). Clinical manifestations and diagnosis of congenital anomalies of the uterus. 2012;20(3):1–4. [Online]. Erişim Tarihi:15.02.2018
43. Caserta D, Mallozzi M, Meldolesi C, Bianchi P, Moscarini M. Pregnancy in a unicornuate uterus: a case report. *J Med Case Rep.* 2014;8(1):130.
44. Fretts RC, Schmittiel J, McLean FH, Usher RH, Goldman MB. Increased maternal age and the risk of fetal death. *N Engl J Med.* 1995;333(15):953–957.
45. Fretts RC, Duru UA. New indications for antepartum testing: making the case for antepartum surveillance or timed delivery for women of advanced maternal age. In: *Seminars in perinatology.* Elsevier; 2008. p. 312–317.
46. Breur JMPJ, Kapusta L, Stoutenbeek P, Visser GHA, Van Den Berg P, Meijboom E. Isolated congenital atrioventricular block diagnosed in utero: natural history and outcome. *J Matern Neonatal Med.* 2008;21(7):469–476.
47. Brucato A, Cimaz R, Caporali R, Ramoni V, Buyon J. Pregnancy outcomes in patients with autoimmune diseases and anti-Ro/SSA antibodies. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;40(1):27–41.
48. Group SCRNW. Causes of death among stillbirths. *JAMA.* 2011;306(22):2459.
49. Starikov R, Dudley D, Reddy UM. Stillbirth in the pregnancy complicated by diabetes. *Curr Diab Rep.* 2015;15(3):11.
50. Melamed N, Hod M. Perinatal mortality in pregestational diabetes. *Int J Gynecol Obstet.* 2009;104(Supplement).

51. Ray JG, Burrows RF, Burrows EA, Vermeulen MJ. MOS HIP: McMaster outcome study of hypertension in pregnancy. *Early Hum Dev.* 2001;64(2):129–143.
52. Jeyabalan A. Epidemiology of preeclampsia: impact of obesity. *Nutr Rev.* 2013;71(suppl\_1):S18–25.
53. Goldenberg RL, McClure EM, Saleem S, Reddy UM. Infection-related stillbirths. *Lancet.* 2010;375(9724):1482–1490.
54. Goldenberg RL, Thompson C. The infectious origins of stillbirth. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(3):861–873.
55. Samsioe A, Papadogiannakis N, Hultman T, Sjöholm Å, Klitz W, Niklasson B. Ljungan virus present in intrauterine fetal death diagnosed by both immunohistochemistry and PCR. *Birth Defects Res Part A Clin Mol Teratol.* 2009;85(3):227–229.
56. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE, Williams JR, Mitchell ML, Hermos RJ, Faix JD, Klein RZ. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J Med Screen.* 2000;7(3):127–130.
57. Tong VT, Dietz PM, Morrow B, D'Angelo DV, Farr SL, Rockhill KM, England LJ. Trends in smoking before, during, and after pregnancy—Pregnancy Risk Assessment Monitoring System, United States, 40 sites, 2000–2010. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ.* 2013;62(6):1–19.
58. Pineles BL, Hsu S, Park E, Samet JM. Systematic review and meta-analyses of perinatal death and maternal exposure to tobacco smoke during pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2016;184(2):87–97.
59. Galal M, Symonds I, Murray H, Petraglia F, Smith R. Postterm pregnancy. *Facts, views Vis ObGyn.* 2012;4(3):175.
60. Ergür Ar, Tütüncü I, Yergök yz, Ertekin A, Müngen E. Gebelik İntrahepatik Kolestazi, Tedavisi Ve Perinatal Etkileri. *Perinatoloji Derg.* 1998;6(3–4):86–88.

61. Glantz A, Marschall H, Mattsson L. Intrahepatic cholestasis of pregnancy: relationships between bile acid levels and fetal complication rates. *Hepatology*. 2004;40(2):467–474.
62. El Kady D. Perinatal outcomes of traumatic injuries during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol*. 2007;50(3):582–591.
63. Pearlman MD, Phillips ME. Safety belt use during pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1996;88(6):1026–1029.
64. Group SCRNW. Association between stillbirth and risk factors known at pregnancy confirmation. *JAMA J Am Med Assoc*. 2011;306(22).
65. Gardosi J, Madurasinghe V, Williams M, Malik A, Francis A. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. *Bmj*. 2013;346:f108.
66. Fretts RC. Etiology and prevention of stillbirth. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(6):1923–1935.
67. Stephansson O, Dickman PW, Johansson A, Cnattingius S. Maternal hemoglobin concentration during pregnancy and risk of stillbirth. *Jama*. 2000;284(20):2611–2717.
68. Conde-Agudelo A, Bird S, Kennedy SH, Villar J, Papageorgiou AT. First-and second-trimester tests to predict stillbirth in unselected pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2015;122(1):41–55.
69. Fretts RC.(2018). Fetal death and stillbirth: Incidence, etiology, and prevention. [Online]. Erişim:[ <https://www.uptodate.com/contents/fetal-death-and-stillbirth-incidence-etiology-and-prevention>] Erişim Tarihi:15.02.2018
70. Reddy UM. Prediction and prevention of recurrent stillbirth. *Obstet Gynecol*. 2007;110(5):1151–1164.
71. Page JM, Christiansen-Lindquist L, Thorsten V, Parker CB, Reddy UM, Dudley DJ, Saade GR, Coustan D, Rowland Hogue CJ, Conway D, Bukowski R, Pinar H, Heuser CC, Gibbins KJ, Goldenberg RL, Silver RM. Diagnostic tests for evaluation of stillbirth: results from the Stillbirth Collaborative Research Network. *Obstet Gynecol*. 2017;129(4):699–706.

72. Yaşar D. intrauterin bebek ölümleri. Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve doğum Kliniği, İstanbul,2009
73. Leduc L, Farine D, Armson BA, Brunner M, Crane J, Delisle M-F. Stillbirth and bereavement: guidelines for stillbirth investigation. *J Obstet Gynaecol Canada*. 2006;28(6):540–545.
74. Petersson K, Bremme K, Bottinga R, Hofsjö A, Hulthén-Varli I, Kublickas M, Norman M, Papadogiannakis N, Wångren K, Wolff K. Diagnostic evaluation of intrauterine fetal deaths in Stockholm 1998–99. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2002;81(4):284–292.
75. Drucilla J Roberts M. (2017). Evaluation of stillbirth. [Online]. Erişim:[[https://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-stillbirth?search=fetal death&source=search\\_result&selectedTitle=3~150&usage\\_type=default &display\\_rank=3#H8](https://www.uptodate.com/contents/evaluation-of-stillbirth?search=fetal%20death&source=search_result&selectedTitle=3~150&usage_type=default&display_rank=3#H8). Erişim Tarihi:15.02.2018.
76. Cirigliano V, Voglino G, Ordoñez E, Marongiu A, Paz Cañadas M, Ejarque M, Rueda L, Lloveras E, Fuster C, Adinolfi M. Rapid prenatal diagnosis of common chromosome aneuploidies by QF-PCR, results of 9 years of clinical experience. *Prenat Diagnosis*. 2009;29(1):40–49.
77. R. Alan Harris, Francesca Ferrari, Shay Ben-Shachar, Xiaoling Wang, George Saade, Ignatia Van Den Veyver, Fabio Facchinetti, Kjersti Aagaard-Tillery. Genome-wide array-based copy number profiling in human placentas from unexplained stillbirths. *Prenat Diagn*. 2011;31(10):932–944.
78. Robert L. Nussbaum, Roderick R. McInnes HFW. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. eighth edition. Philadelphia: Elsevier; 2016.
79. Işin B. Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu) Tekniğinin Mental Retardasyonlu Olguların Rutin Tanısındaki Yeri Ve Önemi. Yüksek Lisans tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 2017.

80. Eren S. BAC tabanlı array CGH teknolojisinin ve kromozom analizinin prenatal tanıda kullanım etkinliğinin araştırılması. Doktora tezi. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli,2013
81. Kooper AJA, Faas BHW, Feenstra I, De Leeuw N, Smeets DFCM. Best diagnostic approach for the genetic evaluation of fetuses after intrauterine death in first, second or third trimester: QF-PCR, karyotyping and/or genome wide SNP array analysis. Mol Cytogenet. 2014;7(1):6.
82. Küçük H. Prematür over yetmezliği olgularında genomik kopya sayısı değişikliklerinin array cgh yöntemi ile değerlendirilmesi, Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir,2015
83. Kirbiyik Ö. Tıbbi Genetik Laboratuvar ve Klinik. In: Çoğulu Ö., editor. First Edition. Ankara: Ankara Nobel; 2017. p. 111.
84. Kirchhoff M, Rose H, Lundsteen C. High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics. J Med Genet. 2001;38(11):740–744.
85. Ceylan CA. Array CGH’te saptanan kopya sayısı değişikliklerinin klinikle ve kantitatif pcr ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi.Hacettepe Üniversitesi; 2015.
86. Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis Protocol Version 7.5.(2018).  
[Online].Erişim:[[https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G4410-90010\\_CGH\\_Enzymatic\\_7.5.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/Public/G4410-90010_CGH_Enzymatic_7.5.pdf)] Erişim Tarihi:12.02.2018
87. Rarediseases.org.(2018). [Online]. Erişim:[<https://rarediseases.org/>] Erişim Tarihi:12.02.2018
88. Genecards.org.(2018). [Online]. Erişim:[<http://www.genecards.org/>] Erişim Tarihi:01.03.2018
89. Omim.org .(2018). [Online]. Erişim:[ <https://www.omim.org/>] Erişim Tarihi:01.03.2018
90. Hyde KJ, Schust DJ. Genetic considerations in recurrent pregnancy loss. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5(3):a023119.



91. K. Wou, Y. Hyun, D. Chitayat, M. Vlasschaert, K. Chong, S. Wasim, S. Keating, P. Shannon, E. Kolomietz. Analysis of tissue from products of conception and perinatal losses using QF-PCR and microarray: A three-year retrospective study resulting in an efficient protocol. *Eur J Med Genet.* 2016;59(8):417–424.
92. Björn Menten, Katrien Swerts, Barbara Delle Chiaie, Sandra Janssens, Karen Buysse, Jan Philippé, Frank Speleman. Array comparative genomic hybridization and flow cytometry analysis of spontaneous abortions and mors in utero samples. *BMC Med Genet.* 2009;10(1):89.
93. Rosenfeld JA, Tucker ME, Escobar LF, Neill NJ, Torchia BS, McDaniel LD, Schultz RA, Chong K, Chitayat D. Diagnostic utility of microarray testing in pregnancy loss. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(4):478–486.
94. Reddy UM, Page GP, Saade GR, Silver RM, Thorsten VR, Parker CB, Pinar H, Willinger M, Stoll BJ, Heim-Hall J, Varner MW, Goldenberg RL, Bukowski R, Wapner RJ, Drews-Botsch CD, O'Brien BM, Dudley DJ, Levy B. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2185–2193.
95. Varsome.com (2018). The Human Genomic Variant Search Engine[Online]. Erişim:[ <https://varsome.com/>] Erişim Tarihi: 10.03.2018

## ARŞ. GÖR. Dr. BARIŞ PAKSOY

İletişim Bilgileri:  
Mobil Tel: 0505 892 3062  
(0286) 220 0205- 2412

Adres:  
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı 17100- Çanakkale

## ÖZGEÇMİŞ

### DİPLOMALAR

<b>Lisans</b>	Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi – Eskişehir(1999-2005)
<b>Uzmanlık Eğitimi</b>	Ankara Dr.Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim Ve Araştırma Hastanesi – Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı(2006-2011)
<b>Uzmanlık Eğitimi</b>	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi-Tıbbi Genetik Anabilim Dalı- ÇANAKKALE(2014-2018)
<b>Uzmanlık Eğitimi</b>	İşyeri Hekimi(12.09.2013) Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı

### Görevler

Araştırma Görevlisi -Doktor 2006-2011	Ankara Dr.Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim Ve Araştırma Hastanesi – Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
Kadın Doğum Uzmanı 2011-2013	Karaman Devlet Hastanesi
Kadın Doğum Uzmanı 2012	Ermenek Devlet Hastanesi-Ermenek/Karaman
Araştırma Görevlisi - Doktor 2014-2018	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi- Tıbbi Genetik Anabilim Dalı- ÇANAKKALE

### RUTİN HİZMETLER

2014-2018 yılları arasında tanı laboratuvarı olarak(Sitogenetik ve Moleküler) verdiği hizmetler ve tanı raporları

### Kadın Doğum Pratiği

#### A-Jinekoloji

poliklinik	4000	Pelvik muayene, ultrason uygulaması
Jinekolojik cerrahi	400	Histerektomi,myomektomi,overkisti,ektopik gebelik, vs...

<b>B-İnfertilite</b>		
Poliklinik	2150	İn vitro fertilizasyon, Bazal değerlendirme, IUI tedavisi, İnfertilite, Over kisti, Endometriosis, vs...
Laparoskopi	120	Submükoz myom, Sineşi, Rezeksiyon, vs....
Histeroskopi	105	Ovulasyon indüksiyonu, hasta değerlendirme, protokol belirleme
IVF poliklinik	320	Aşılama tedavisi
Intrauterin inseminasyon	55	Norplant, RIA uygulaması, Küretaj, Vazokemi uygulaması, Danışmanlık
IVF- ovulasyon indüksiyonu	65	HPV tedavisi, Herpes, Kondilom, HIV, Klamidya, Vajinosis tedavisi
Aile planlaması	450	
Cinsel yolla bulaşan hast. polik.	275	
<b>C-Menopoz</b>		
Poliklinik hizmeti	950	Postmenopoz hormon ve koruyucu hekimlik uygulamaları
Pipel biopsi	65	Postmenopozal kanama ve endometrial kalınlaşma endikasyonu
<b>D-Onkoloji</b>		
Poliklinik	1225	Preop ve postop hasta tedavi takibi
Kolposkopi	95	Yüksek risk HPV ve Servikal kanser prekürsör biopsisi
<b>E-Gençlik merkezi</b>		
Poliklinik	1020	Akne, menometroraji, Puberte prekoks ve P. Tarda takibi
<b>F- Gebe polikliniği</b>		
Antenatal takip	10000	Prenatal gebelik muayene, tedavi, risk hesaplamaları
Acil servis	5200	Kadın Doğum acil hasta değerlendirmesi
Sezeryan	1500	Planlı ve Acil müdahaleli doğum endikasyonlu doğumlar
Normal Doğum	2500	Travay takibi ve bebek doğumları

## Tıbbi Genetik Pratiği

<b>A- Sitogenetik</b>		
	Adet	
Lenfosit Hücre Kültürü	2010	Karyotip – karyogram analiz
FISH	315	Metefaz-interfaz analiz
<b>B- Moleküler Genetik</b>		
	Adet	
FMF	950	Moleküler tanı
CVD	850	Tekrarlı düşük, PTE, SVH, Trombozis, Behçet Sendromu, DVT, MI, Atherosclerosis
Farmakogenetik	140	Warfarin, Coumadine, Coumarine ve kompleks ilaç detoksifikasyon profil analizleri
Onkogenetik	80	Kras, EGFR sekans ve Bcr-ABL RT-PCR ile
Prenatal Tanı (QF-PCR)	330	Kromozom 13,18,21,X ve Y STR fragment analizi
CFTR	175	Direkt sekanslama
MLPA	680	Mikrodelesyon, Subtelomerik, kanser, vs panelleri
Diğer	760	Talasemi, TRAPS, CAPS, MVK, Frajil X, HPV
Array CGY	450	Değerlendirme, raporlama
Poliklinik hasta sayısı	2150	Değerlendirme, takip

## İLGİ ALANLARI - LABORATUVAR DENEYİMİ (ARAŞTIRMA ALANI)

## A-Sitogenetik

- A1- Lenfosit hücre kültürü ve kromozom analizi
- A2- Seks kromatin analizi
- A3- Manuel ve otomatik karyotip, karyogram ve ideogram analizler
- A4- GTG, C,NOR, bantlama teknikleri
- A5- Mikronukleus, SCE analizleri ve geno – sitotoksisite

## B- Moleküler Sitogenetik

- B1- Direkt, indirekt hibridizasyon teknikleri, CGH ve FISH
- B2- Kromozomal mikrodiseksiyon

## C- Moleküler Genetik

- C1- Elektroforetik teknikler (agaroz)
- C2- Western blot analiz
- C3- PCR, Multiplex PCR, Nested PCR teknikleri
- C4- RSM, RFLP mutasyon ve polimorfizm taramaları
- C5- Genomik DNA izolasyonu (solid, kan, diş ve diğer dokular) ve DNA dizi analizi
- C6- Epigenetik, DNA metilasyon analizi
- C7- Real Time PCR
- C8- MLPA, Strip Assay
- C9- RT-PCR, QF PCR, Direkt sekanslama
- C10- MikroArray-CGH

## MERKEZİ KURULUŞ ÜYELİKLERİ

1. Tıbbi Genetik Derneği ANKARA
2. Avcılık ve Atıcılık Derneği (TAVŞANLI, ANKARA, KARAMAN)

## BİLİMSEL ÇALIŞMALARI

### A- Uluslararası Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- A1.** Silan F, **Paksoy B**, Ozdemir O, Tas Z. Meirer-Gorlin Syndrome: A primordial dwarfic rare case with growth and mental retardation in normal karyotype. *Genetic Counseling*. 2016; 27(2):149-157
- A2.** Öztürk Özdemir, **Baris Paksoy**, Atilla Gürgen, Mine Oruç, Onur Yıldız, Diğdem Uysal, Ahmet Uludağ, Fatma Silan. [An infertile case of 47, XYY syndrome without autistic spectrum: Cost effective well-define of extra Y chromosome by GTG, C bandings, QF-PCR and FISH analyses](#). *Cumhuriyet Medical Journal*. 2016; 38(4):355-360
- A3.** Fatma Silan, Duygu Kankaya, Taner Karakaya, **Baris Paksoy**, Volkan Turunz and Ozturk Ozdemir. The *GJB2* gene mutation profiles in hearing impaired patients from Western Turkey, Canakkale. *Biomedical Genetics and Genomics*. 2016; 2(2):1-5 doi: 10.15761/BGG.1000130
- A4.** Ozturk Ozdemir, **Baris Paksoy**, Taner Karakaya and Fatma Silan. A mosaic infertile case of isodicentric Y-chromosome with duplicated SRY, SHOX and deleted AZF locus. *Biomedical Genetics and Genomics*. 2016; 2(1):1-3 doi: 10.15761/BGG.1000125
- A5.** Beyazit, F., Silan, F., Gencer, M., Aydin, B., **Paksoy B.**, Unsal, M. A., & Ozdemir, O. (2018). The prevalence of human papillomavirus (HPV) genotypes detected by PCR in women with normal and abnormal cervico-vaginal cytology. *Ginekologia Polska*, 89(2), 62-67.

## B- Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

**B1.O OZDEMİR, B KURU, B PAKSOY, F SILAN.** Kanser Etiyolojisinde Tetikleyici Moleküler Mekanizmalar. Türkiye Klinikleri Journal of Medical Genetics-Special Topics 2017; 2(2):74-87

## BİLDİRİLER

### Uluslararası Kongre ve Bildirileri

**A6.** Ozdemir O, Silan F, **Paksoy B**, Camer G. A case of 47,XYY syndrome without behavioral and emotional difficulties: Cost effective well define of extra Y chromosome by GTG, C bandings and FISH analysis. International Biotechnology Congress. 7-9 May 2015, Bucharest/ROMANIA

**A7.** SILAN F, **PAKSOY B**, YILDIZ O, OZDEMİR O. Familial X chromosome translocation, Xq triplication and SHOX gene deletion with short stature. International Biotechnology Congress. 7-9 May 2015, Bucharest/ROMANIA

**A8.** SILAN F, ARI E, ULUDAG A, YILDIZ O, ISIN B, **PAKSOY B**, OZDEMİR O. The microdeletion/microduplication profiles in spontaneously aborted fetal materials: *Double blind results of QF-PCR and MLPA techniques*. International Biotechnology Congress. 7-9 May 2015, Bucharest/ROMANIA. **Bu araştırma Poster 3. 'lüğü ile ödüllendirilmiştir.**

**A9.** F Silan, **B Paksoy**, O Ozdemir. Clinical characteristics and cytogenetic abnormalities of chromosome 22q11. 2 syndrome: Results from thirteen patients with variable phenotypes European Biotechnology Congress, 05-07 May 2016 Riga-LATVIA. Journal of Biotechnology 231, S82

**A10.** Ozturk Ozdemir, Onur Yildiz, Banu Kuru, **Baris Paksoy**, Digidem Uysal, Fatma Silan. The possible role of chromosome 9q11.1-1.2 duplication resulting with infertility and recurrent pregnancy loss. European Human Genetics Conference 2016, E-P01.38 May 21-24 2016, Barcelona/SPAIN

**A11.** Fatma Silan, Mine Urfali, Onur Yildiz, **Baris Paksoy**, Ahmet Uludag, Ozturk Ozdemir. Familial X chromosome translocation, Xq triplication and SHOX gene deletion with short stature; Conflicting results of QF-PCR analysis for Xq segmental triplication. European Human Genetics Conference 2016, E-P13.17 May 21-24 2016, Barcelona/SPAIN

**A12.** F Silan, T Karakaya, O Yildiz, **B Paksoy**, M Urfali, O Ozdemir. A mental and motor retarded case with derivative chromosome 8p rearrangements: Genotype–phenotype correlation in a case report. European Biotechnology Congress, 25 - 27 May 2017 Dubrovnik, Croatia. Journal of Biotechnology 256, S78. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec>.

**A13.** Ozturk Ozdemir, Mine Urfali, **Baris Paksoy**, Taner Karakaya, Onur Yildiz, Fatma Silan. A balanced non-reciprocal translocated case with recurrent abortions: The importance and validity of conventional cytogenetics analysis in balanced translocations detection when comparing to the MicroArray-CGH technique. European Biotechnology Congress, 25 - 27 May 2017 Dubrovnik, Croatia. Journal of Biotechnology 256, Page S79. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec>.

**A14.** Ozturk Ozdemir, Onur Yildiz, Taner Karakaya, **Baris Paksoy**, Mine Urfali, Fatma Silan. The microdeletion of 15q11.2 locus encompassing *TUBGCP5*, *NIPA1*, *NIPA2*, and *CYFIP1* genes in an epileptic case with macrocephaly, attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD), speech and motor delay. European Biotechnology Congress, 25 - 27 May 2017 Dubrovnik, Croatia. Journal of Biotechnology 256, Page S78. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec>.

**A15.** Fatma Silan, **Baris Paksoy**, Mine Urfalı, Taner Karakaya, Ozturk Ozdemir. Clinical and molecular characterization of SLC7A gene that located in 14q11.2 locus in a seconder infertile rare case with lysinuric protein intolerance. European Biotechnology Congress, 25 - 27 May 2017 Dubrovnik, Croatia. Journal of Biotechnology 256, Page S78. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec>.

## Bildiriler

### Ulusal Kongre ve Bildirileri

**B2.** Silan F, Kahveci DO, Urfalı M, **Paksoy B**, Özdemir O. THE PREVALENCE AND HIGH-RISK GENOTYPE DISTRUBUTIONS OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS (HPV) FROM CERVICAL PAPSEMEAR IN WOMEN FROM ÇANAKKALE COHORT. Erciyes Medical Genetics, Abstracts, OP4, s9. Medical Genetics and Clinical Applications (with International Participation) 11-13 February, 2016, Kayseri

**B3.** Silan F, Urfalı M, Ozdemir O, **Paksoy B**, Uysal D. RECURRENT PREGNANCY LOSS AND PARENTAL CARRIER OF A STRUCTURAL CHROMOSOME TRANSLOCATION: A CASE REPORT OF A MOTHER WITH T(9;13). Erciyes Medical Genetics, Abstracts, OP5, s9. Medical Genetics and Clinical Applications (with International Participation) 11-13 February, 2016, Kayseri

**B4.** Silan F, Karaağaçlı D, Kuru B, Uludağ A, **Paksoy B**, Urfalı M, Ozdemir O. THE 22Q11.21 DUPLICATION IN A NORMAL INTELLIGENCE CASE WITH PREMATURE OVARIAN FAILURE AND HIGH MYOPIA. Erciyes Medical Genetics, Abstracts, OP19, s15. Medical Genetics and Clinical Applications (with International Participation) 11-13 February, 2016, Kayseri

**B5.** Karaağaçlı D. , Silan F. , Yıldız O. , **Paksoy B.** , Özdemir Ö. Mozaik Klinefelter Sendromlu Olgular; Düşük Mozaizm oranının FISH Analizi ile Doğru Tespiti: Çanakkale Deneyimi. 1. Trakya Üniversiteler Birliği Yüksek Lisans Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2016, Çanakkale

**B6.** HasH., Silan F. Özdemir Ö. Uludağ A. , **Paksoy B.**, Urfalı M Her ikisinde de 9. Kromozom Anomalisi Olan Habituel Abortus Çiftinin Trizomi 21'li Fetüs Öyküsü: Çanakkale Deneyimi. 1. Trakya Üniversiteler Birliği Yüksek Lisans Öğrenci Kongresi, 29-30 Nisan 2016, Çanakkale

**B7.** M Urfalı, O Ozdemir, O Yıldız, **B. Paksoy**, F Silan. Fenotipik olarak normal fakat habitüel abortus öyküsü olan bayanda nadir rastlanılan dengeli non-resiprokal 5p; 14p translokasyonu: Dengeli transloke olguların doğru tanısında kromozom analizinin önemi ve MicroArray-CGH yöntemine üstünlüğü. XII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Official Journal of Turkish Society of medical Genetics Volume 1, Suplemented 1, p122, 05-09 Ekim 2016, Çesme- İZMİR

## TOPLANTI KATILIMLARI VE SERTİFİKALAR

Zekai Tahir Burak 9. Geleneksel eğitim günleri	12-15 Mart 2009
Kardiopulmoner Resüsitasyon Eğitimi	15 Ekim 2009
Kadın Hastalıkları ve Doğum Alanında Karşılaşılan Adli Problemlerde Yaklaşımlar	13 Kasım 2009

Ürejinoloji'de Güncel Yaklaşımlar ve Cerrahi Uygulamalar	3-4 Aralık 2010
British Side Presentation Skills in English	8 Aralık 2010
Cinsel Sağlık Enstitüsü Derneği ). Süpervizyon ve Vaka paylaşım Çalışması	18-19 Aralık 2010
Sağlık Bakanlığı Laparaskopi Uygulama Sertifikası	08 Ağustos 2011
Temel Hipnoz Eğitimi – Bülent Uran Eğitim ve Danışmanlık Merkezi	22-23-24 Nisan 2011
1st International Cosmetology and Cosmetic Gynecology Congress, İstanbul	28-30 Nisan 2011
Regresyon Hipnoterapisinde Temel ve ileri Kavramlar ve Yöntemler	23 Temmuz 2011
10. Ulusal Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi, Antalya	09-13 Mayıs 2012
Necmettin Erbakan Üniversitesi-Üreme Tıbbı Derneği (ÜTD) II. Ortak sempozyumu, KONYA	04 Kasım 2012
İşyeri Hekimliği Belgesi Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı Genel Müdürlüğü, ANKARA	12 Eylül 2013
Klinik Araştırmalar ve İyi Klinik Uygulamaları Temel Eğitim Kursu	13 Mart 2015
European Biotechnology Congress,Riga,Latvia	05-07 Mayıs 2016
European Biotechnology Congress,Dubrovnik, Croatia	25-27 Mayıs 2017
PGDIS HANDS-ON WORKSHOP ON PGT FOR GENETIC AND CHROMOSOMAL DISORDERS BY TROPHECTODERM BIOPSY KURSU	29 Nisan- 01 Mayıs 2018

### **HOBİLERİ**

1. Spor (Futbol, Yürüyüş,)
2. Olta balıkçılığı,
3. Kara avcılığı
4. Trekking

### **ÖDÜLLERİ**

- 1.En iyi poster 3'lük ödülü. Uluslararası Biyoteknoloji Kongresi, 7-9 Mayıs 2015 Budapeşte/ROMANIA/2015
2. Akademik teşvik ödülü. (40 puan). Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Çanakkale /2017



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 18920478-604.02.02-E.1800006898  
Konu : Başvuru İncelemesi

11/01/2018

Sayın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Yürüttüğünü yapmış olduğunuz " İntrauterin Gebelik Kayıpları Olan Çiftlerde Fetal Materyallerinin Moleküler Etyolojik Sebepler Açısından Karşılaştırmalı Genomik Mikrodizin(Mikroarray-CGH) Yöntemi ile Analizleri" başlıklı 2011-KAEK-27/2017-E.66893 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 10/01/2018 tarih ve 01-01 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

**Karar Tarihi:**10.01.2018  
**Karar No:**2018-01

**Karar-01)**2011-KAEK-27/2017-E.66893 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'in çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR**" kararı verilmiştir. (Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR projede yer aldığından dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)

*e-İmza*

Prof. Dr. Hakkı Engin AKSULU  
Kurul Başkanı

Belge Doğrulama İçin: <http://ibvs.comu.edu.tr/ERMS/Record/ConfirmationPage/Index.aspx?index=C339HAE> kodu girerek belgeyi doğrulayabilirsiniz.

Adres : 18 Mart Üniversitesi Terzioğlu Yerleşkesi  
Çanakkale

Bilgi İçin İrtibat : Faze Onaran - Sekreter

e-posta :

Telefon :  
Belgeçeçet No :  
İnternet Adresi :



1800006898 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Hakkı Engin Aksulu tarafından 12.01.2018 tarihinde güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FAKÜLTE YÖNETİM KURULU KARARI

**TOPLANTI TARİHİ** : 17/05/2018  
**TOPLANTI SAYISI** : 20

Fakülte Yönetim Kurulu, gündemindeki maddeleri görüşmek üzere 17/05/2018 Perşembe günü saat 14:00'da toplanmış olup, aşağıdaki kararları almıştır.

**KARAR NO** 3: Dahili Tıp Bilimleri Bölümü'nün 16.04.2018 tarih ve E.1800055673 sayılı yazısı ve ekleri okundu.

Fakültemiz Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı uzmanlık öğrencisi **Arş. Gör. Dr. Barış PAKSOY'un** 13/04/2018 tarihinde yapılan (jüri üyelerince başarılı bulunan) Tez Değerlendirme Sınav'ında başarılı olduğunun kabulüne oy birliği ile karar verildi.

**Prof.Dr. Tamer DEMİR**  
Dekan V.  
(imza)

**Prof.Dr. Nihal Arzu MİRİCİ**  
Üye  
(imza)

**Prof.Dr. Mustafa EDREMLİOĞLU**  
Üye  
(imza)

**Prof.Dr. Alirıza ERDOĞAN**  
Üye  
(imza)

**Doç.Dr. Bahadır KIRILMAZ**  
Üye  
(izinli)

**Doç.Dr. Semra ÖZDEMİR**  
Üye  
(imza)

**Dr.Öğr.Üyesi Özge ÇAĞLAR**  
Üye  
(imza)

**Mustafa Serkan DURDAĞI**  
Fakülte Sekreteri  
Raportör  
(imza)

  
ASLI GİBİDİR  
M. Serkan DURDAĞI  
Çomü Tıp Fakültesi  
Fakülte Sekreteri