

NIHAN BİLGE SATKIN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2014

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(DOKTORA TEZİ)

**GÖRÜNÜRDE DENGELİ YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİNDE
SUBMİKROSKOBİK DENGESİZLİKLERİN A-CGH YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

NIHAN BİLGE SATKIN

**DANIŞMAN
PROF.DR.SEHER BAŞARAN**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2014

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Genetik Programında Nihan Bilge Satkın tarafından hazırlanan Görünürde dengeli yapısal kromozom anomalilerinde submikroskopik dengesizliklerin a-CGH yöntemi ile araştırılması başlıklı Doktora tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

28 / 11 / 2014

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Prof.Dr.Seher Başaran	İ.Ü.İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Genetik ABD	
2.Doç.Dr. Birsen Karaman	İ.Ü.İstanbul Tıp Fak. Tıbbi Genetik ABD	
3.Doç.Dr. Burçak Vural	İ.Ü., Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik ABD	
4.Prof. Dr Şükrü Öztürk	İ.Ü. İstanbul Tıp Fak., İç Hast. ABD, Tıbbi Genetik BD	
5.Prof.Dr. Sevilhan Artan	Osman Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Nihan Bilge Satkın



Sevgili aileme...

TEŞEKKÜR

Sadece kendimize ait olduğunu söyleyebileceğimiz hiçbir şeyimiz yoktur. Fikirlerimiz dâhil. Bu tez çalışmasının olumlu olarak nitelendirilebilecek bütün özellikleri için;

yaşamın her alanında rehberliğinden pay alma onuruna ve mutluluğuna sahip olduğum, tezin her satırında emeği olan danışmanım Prof.Dr.Seher Başaran'a,

doktora süreciminin başlamasına önayak olduğu için minnettar olduğum, uzun teşrik-i mesailerimizde bilgi birikimlerini tüm içtenliğiyle paylaşan Doç.Dr.Birsen Karaman'a,

genetiği en yalın haliyle sabırla öğreten, yoğun olduğu anlarda bile bana yol gösteren Prof.Dr.Oya Uyguner'e,

olguların klinik çalışmalarını gerçekleştiren, entellektüel ufku ve üretkenliği benim için rehber olmuş olan Prof.Dr.Hülya Kayserili'ye ,

doktora sürecimin zorluklarını naif esprileriyle bertaraf eden ve tecrübelerinden yararlandığım Dr.Güven Toksoy'a,

yüksek lisans eğitimimin başlangıcından bu yana üzerimde emekleri olan değerli hocalarım Prof.Dr. Şükrü Palanduz, Prof.Dr.Şükrü Öztürk, Prof.Dr. Kıvanç Çefle'ye

yaşamın dostlar olmadan kavranamayacağını öğreten sevgili çalışma arkadaşım Uzm.Dr.Umut Altunoğlu'na,

her biri ayrı ayrı bu tez çalışmasına katkıda bulunan ve yarattıkları aile ortamının içine beni de dahil eden tüm Tıbbi Genetik ABD çalışanlarına,

yirmi beş seneyi dolduran eğitim hayatımın her anında destekleri ve koşulsuz sevgileri ile yanımda olan yaşamdaki en büyük hazinem "aileme",

hem yüksek lisans hem de doktora sürecimi maddi olarak destekleyen

TÜBİTAK'a

teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 34325

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI.....	İİ.
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VİX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	XIII
ÖZET.....	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TARİHÇE.....	3
2.2. KROMOZOM ANOMALİLERİ.....	4
2.2.1. Kromozom anomalilerinin sınıflandırılması.....	4
2.2.2 Kromozom anomali sıklıkları.....	4
2.2.3 Sayısal kromozom anomalileri.....	7
2.2.3.1 Poliploidiler.....	7
2.2.3.2 Tetraploidi.....	7
2.2.3.3 Anöploidiler.....	8
2.2.3.4. Anöploidi oluşum mekanizması.....	9
2.2.4 Yapısal kromozom anomalileri.....	14
2.2.4.1 Dengesiz Yapısal Kromozom Anomalileri.....	15
2.2.4.1.1 Delesyonlar.....	15
2.2.4.1.2 Duplikasyonlar.....	15
2.2.4.1.3 Halka Kromozomlar.....	16
2.2.4.1.4. İzokromozomlar.....	17
2.2.4.1.5. Disentrik Kromozomlar.....	17

2.2.4.1.6. Marker Kromozomlar.....	18
2.2.4.1.7. Mozaisizm.....	19
2.2.4.2. Mikroskopik olarak “Görünürde” Dengeli Yapısal Kromozom Anomalileri...	19
2.2.4.2.1. İnversiyonlar.....	20
2.2.4.2.2. Translokasyonlar.....	21
2.2.4.2.2.1. Resiprokal Translokasyonlar.....	21
2.2.4.2.2.2. Robertson Tipi Translokasyonlar.....	23
2.2.4.2.2.3. İnversiyon Translokasyonlar.....	23
2.2.4.2.2.4. Kompleks Kromozom Anomalileri (CCRs).....	24
2.2.5. YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİNİN OLUŞUM MEKANİZMALARI ve ETİYOLOJİSİ.....	25
2.2.5.1. Nonallelik Homolog Rekombinasyon (NAHR).....	25
2.2.5.2. Nonhomolog End Joining (NHEJ).....	28
2.2.5.3. Fork Stalling and Template Switching (FoSTeS).....	29
2.2.5.4. Kromotripsis ve kromoanagenezis kavramları.....	30
2.2.6. Kopya sayısı varyasyonları (CNVs) ve Tek nükleotid polimorfizmi (SNP).....	31
2.2.6.1. CNV'lerin fenotipik etkileri.....	34
2.3. KROMOZOM ANOMALİLERİNİN TANI YÖNTEMLERİ.....	38
2.3.1 Kromozom anomalilerinin tanısında klasik sitogenetik yöntemler.....	38
2.3.2 Mikroarray analizleri.....	41
2.3.2.1. Mikroarray'lerin dizaynı ve karşılaştırılması.....	41
2.3.2.2 Mikroarray analizlerinin tanıya katkısı.....	44
2.3.2.2.1. Gelişim geriliği ve MKA/MR olguları.....	44
2.3.2.2.2. Psikiyatrik hastalıklar.....	45
2.3.2.2.2.1. Otizm.....	45
2.3.2.2.2.2. Şizofreni.....	46
2.3.2.2.3. Mozaisizm, kimerizm ve UPD.....	46
2.3.2.2.4. Prenatal tanıya katkısı.....	48
2.3.3. Mikroarray verilerinin değerlendirilmesi.....	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	50
3.1. MATERYAL.....	50
3.2. YÖNTEMLER.....	50
3.2.1. Gereçler.....	50

3.2.1.1. Kullanılan Taşınabilir Cihazlar.....	50
3.2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	51
3.2.2. Kullanılan Teknikler.....	52
3.2.2.1. DNA eldesi.....	52
3.2.2.2. A-CGH Çalışması.....	52
3.2.2.2.1. Test ve Referans DNA'sının işaretlenmesi.....	52
3.2.2.2.2. Hibridizasyon Aşaması.....	54
3.2.2.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması.....	54
3.2.2.2.2.2. Hibridizasyon.....	54
3.2.2.2.3. Hibridizasyon Sonrası Yıkama.....	55
3.2.2.2.3. Slayt Tarama.....	55
3.2.2.2.4. Verilerin analizi.....	55
4. BULGULAR.....	58
4.1. Postnatal olgu sunumları.....	59
4.2. Prenatal olgu sunumları.....	90
5. TARTIŞMA.....	105
5.1. Postnatal olgulardaki bulgular.....	116
5.2. Prenatal olgulardaki bulgular.....	118
KAYNAKLAR.....	120
FORMLAR.....	139
ETİK KURUL KARARI.....	144
ÖZGEÇMİŞ.....	145

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1:1 yaş ve öncesi olgularda 2000-2006 yılları arasında tüm dengesiz kromozom anomalilerinin oranı.....	5
Tablo 2.2: Nadir kromozom anomalilerinin sınıflandırılması ve sıklıkları.....	6
Tablo 3-1: İşaretlemede kullanılan kimyasal miktarları.....	53
Tablo 5.1: a-CGH tekniği ile postnatal olgularda saptanan submikroskopik anomalilerin sitogenetik anomalinin tipi ve saptandığı yere (kırık noktası ya da bağımsız bir bölge) göre dağılımı.....	109
Tablo 5.2: Saptanan submikroskopik anomalilerin olgu bazında dökümü.....	109
Grafik 2.1:1989-1994 yılları arasında MKA/MR grubu 835 olgunun karyotip sonuçlarına göre yüzdeleri.....	6

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Triploidi oluşum mekanizmaları.....	7
Şekil 2.2: Tetraploidi oluşum mekanizması.....	8
Şekil 2.3: Hücre bölünmesinin MIve MII fazlarında non-disjunktion.....	10
Şekil 2.4.: Kohezini kompleksi ve alt ünitelerinin yapısı.....	13
Şekil 2.5:Mayoz bölünmede separaz enzim aktivitesi ile kohezini davranış modeli.....	14
Şekil 2.6.: Halka kromozom oluşum mekanizması.....	16
Şekil 2.7: Disentrik ve izokromozom oluşum mekanizması.....	17
Şekil 2.8: Parasentrik inversiyonda disentrik kromozomun oluşumu.....	18
Şekil 2.9: Resiprokal translokasyonların dağılım şeması; A- 2:2 dağılım, B- 3:1 dağılım; C- 4:0 dağılım.....	22
Şekil 2.10: NAHR oluşum mekanizmaları.....	27
Şekil 2.11. NHEJ oluşum mekanizması.....	29
Şekil 2.12.: FOSTES oluşum mekanizması.....	30
Şekil 2.13.: Kromotripsis sürecinde gerçekleşmesi muhtemel olay örnekleri.....	31
Şekil 2.14.:CNV oluşum mekanizmaları ve olası sonuçları.....	33
Şekil 2.15: Çift vuruş hipotezi ve klinik etkileri.....	34
Şekil 2.16: Yapısal varyasyonların fonksiyonel sonuçları.....	36
Şekil 2.17: Protein seviyesinin düzenlenme mekanizmaları.....	37
Şekil 2.18: CGH array'ler ile SNP array'lerin karşılaştırılması.....	42
Şekil 2.19: Agilent SNP+CGH(a) array ile Illumina SNP array(b)'in 14. kromozomdaki UPD'yi gösteren karşılaştırmalı görüntüsü.....	43
Şekil 3.1: NEXUS programı arayüzü.....	55
Şekil 3.2: Örnekteki değişimler ve kalite hakkında bilgi veren NEXUS programı arayüzü.....	56
Şekil 3.3: NEXUS programında analiz sonrası tüm genom grafik görüntüsü.....	56
Şekil 3.4: NEXUS programında analiz sonrası tek bir kromozomun genel görüntüsü...57	57
Şekil 4.1.: Olgu 1'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	59
Şekil 4.2: Olgu 2'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	61
Şekil 4.3: Olgu 2'ye ait saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü.....	61

Şekil 4.4: Olgu 3'e ait parsiyel karyotip sonuçları a) 2. kromozomdaki insersiyon, b) 8q ve 13q arasında resiprokal translokasyon.....	63
Şekil 4.5: Olgu 3'e ait ait saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü.....	63
Şekil 4.6: Olgu 4'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	64
Şekil 4.7: Olgu 5'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	66
Şekil 4.8: Olgu 5'e ait saptanan delesyonların a-CGH görüntüsü.....	66
Şekil 4.9: Olgu 6'ya ait karyotip görüntüsü.....	68
Şekil 4.10: Olgu 6'ya ait saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü.....	68
Şekil 4.11: Olgu 7'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	69
Şekil 4.12.:Olgu 8'e ait parsiyel karyotip görüntüsü ve idiogramı.....	71
Şekil 4.13.: Olgu 8'e ait delesyonun a-CGH görüntüsü.....	71
Şekil 4.14: Olgu 8'e ait duplikasyonun a-CGH görüntüsü.....	72
Şekil 4.15: Olgu 9'a ait parsiyel karyotip görüntüsü ve idiyogram.....	73
Şekil 4.16.: Olgu 10'a ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	74
Şekil 4.17.: Olgu 11'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	75
Şekil 4.18: Olgu 12'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	77
Şekil 4.19: Olgu 12'ye ait delesyonun a-CGH görüntüsü.....	77
Şekil 4.20: Olgu 12'ye ait delesyonun a-CGH görüntüsü.....	80
Şekil 4.21: Olgu 13'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	80
Şekil 4.22: Olgu 13'e ait 11.kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü.....	
Şekil 4.23: Şekil 4.19: Olgu 13'e ait 18.kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü.....	80
Şekil 4.24: Olgu 13'e ait 21. kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü.....	81
Şekil 4.25: Olgu 14'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	82
Şekil 4.26: Olgu 15'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	83
Şekil 4.27: Olgu 16'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	84
Şekil 4.28: Olgu 17'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	85
Şekil 4.29: Olgu 18'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	86
Şekil 4.30: Olgu 19'a ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	87
Şekil 4.31: Olgu 20'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	88
Şekil 4.32: Olgu 21'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	89
Şekil 4.33: Olgu 22'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	90
Şekil 4.34: Olgu 23'e ait parsiyel karyotip görüntüsü	

Şekil 4.35: Olgu 24'ya ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	92
Şekil 4.36: Olgu 24'e ait delesyonun a-CGH görüntüsü.....	93
Şekil 4.37: Olgu 25'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	94
Şekil 4.38: Olgu 26'ya ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	95
Şekil 4.39: Olgu 27'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	96
Şekil 4.40: Olgu 27'ye ait duplikasyonun a-CGH görüntüsü.....	97
Şekil 4.41: Olgu 27'nin anneninin a-CGH sonucu ile karşılaştırılması.....	97
Şekil 4.42: Olgu 28'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	98
Şekil 4.43: Olgu 29'a ait parsiyel karyotip görüntüleri.....	99
Şekil 4.44: Olgu 30'a ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	100
Şekil 4.45: Olgu 31'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	101
Şekil 4.46: Olgu 32'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	102
Şekil 4.47: Olgu 33'e ait parsiyel karyotip görüntüsü.....	103
Şekil 4.48.: Olgu 34'e ait karyotip parsiyel karyotip görüntüsü.....	104

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

A-CGH: Array Comparative Genomic Hybridisation (Dizinle karşılaştırmalı genomik hibridizasyon)

AS: Amniosentez

ASD: Autism spectrum disorders (Otizm spektrum hastalıkları)

BAC: Bacterial Artificial Chromosome (bakteri kökenli yapay kromozom)

bç: baz çifti

CGH: Comparative Genomic Hybridization (Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon)

CNV: Copy number variation (Kopya sayısı değişimi)

Cy3: Cyanin3 (Siyanin3)

Cy5: Cyanin5 (Siyanin5)

DD/ID: Developmental delay/intellectual disability (Gelişme geriliği/zihinsel engel)

DNA: Deoksiribonükleik asit

dNTP: Deoksinükleotid trifosfat

FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon

FKÖ: Fetal kan örnekleme

GH: Gebelik haftası

HRBT: High Resolution Banding Technique (Yüksek çözünürlüklü bantlama tekniği)

ISCA: International Standards for Cytogenomic Arrays

IUGG: Intra Uterin Gelişme Geriliği

Kb: Kilobaz

- KKH:** Konjenital Kalp Hastalığı
- KMA:** Kromozomal Mikroarray
- KVÖ:** Koryon Villus Örneklemesi
- LHC:** Labeling and Hybridization Control
- LOH:** Loss of Heterozygosity (Heterozigosite kaybı)
- Mb:** Megabaz
- MKA/MR:** Multipl Konjenital Anomali / Mental Retardasyon
- MLPA:** “Multiplex ligation-dependent probe amplification”
- MR:** Mental Retardasyon
- MSS:** Merkezi sinir sistemi
- NOR:** Nuclear Organiser Region
- OMIM:** Online Mendelian Inheritance in Man
- PATUSG:** Patolojik Ultrasonografik Bulgu
- PCR:** Polimeraz zincir reaksiyonu
- QF-PCR:** Quantitative Fluorescence PCR
- r_{cf}:** relative centrifugal force (rölatif santrifüj gücü)
- SIGU:** Italian Society of Human Genetic
- SNP:** Single nucleotide polymorphism (Tek nükleotit polimorfizmi)
- STC:** Sample Tracking Samples
- STR:** Short Tandem Repeat (kısa ardışık tekrar dizileri)
- TE:** Tris-EDTA
- TG:** Tek gen
- UPD:** Uniparental Dizomi
- USG:** Ultrasonografi
- WGA:** Whole genom array

ÖZET

Satkın NB, Görünürde dengeli yapısal kromozom anomalilerinde submikroskopik dengesizliklerin a-CGH yöntemi ile araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Doktora Tezi. İstanbul. 2014.

Canlı doğumların %5,2'sinde saptanan dengeli kromozomal yeniden düzenlenmelerde, olguların klinik olarak etkilenmesi beklenmemesine karşın normal popülasyona oranla 2-3 kat artmış risk taşıdığı bildirilmektedir (%2-3). Klinik olarak etkilenmiş ve görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi saptanan olgularda yeniden düzenlenmenin kırık noktalarında, yakınında veya kırık noktalarından bağımsız bölgelerde yer alan genlerin yapısını, dolayısıyla ekspresyonunu bozabilecek gen içi kırıklar, delesyon ya da duplikasyonlar saptanmıştır. Ayrıca genin yeni pozisyonunda ekspresyonunun bozulması, kimerik yeni bir genin oluşması, genlerin fonksiyon kazanımı/kaybetmesi, imprinting kalıbının bozulması da klinik bulguların ortaya çıkmasına yol açar. Konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle mikroskopik düzeyde dengeli olarak değerlendirilmesine rağmen bu değişimlerin submikroskopik düzeyde dengesiz olabilecekleri array teknikleri ile gösterilmiştir.

Bu çalışmada, görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi taşıyan ve klinik olarak etkilenmiş 21'i postnatal, 13'ü prenatal 34 olgu, a-CGH tekniği ile incelendi. Postnatal olguların 14'ü *de novo*, 7'si ise ailevi kalıtım göstermekteydi ve bu olguların 7'sinde (%33), genomik düzeyde dengesizlik saptandı. Bu anomalilerin tümü *de novo* olgulardaydı. Prenatal olguların 6'sı *de novo*, 5'i ailevi iken 2 olgunun kalıtımı bilinmiyordu ve sadece 2'inde (%15,3) genomik düzeyde dengesizlik saptandı. Saptanan bu genomik değişimlerin *de novo* oldukları ebeveynlerin a-CGH incelemeleri ile gösterildi.

Literatürde de aynı popülasyon için yapılan array çalışmalarında anomali oranı postnatal serilerde %33-60, prenatal serilerde %16-28 olarak bildirilmektedir. Postnatal serideki genomik değişim oranımız literatür ile uyumlu iken prenatal serideki oranımızın daha düşük olduğu gözlemlendi. Kırık noktalarından bağımsız bölgelerdeki genomik dengesizliklerin anomaliler içindeki oranı (%42,8) literatür ile (%15-40) uyumluydu.

Tek bir testte tüm genomu kb düzeyinde inceme olanağı sağlayan mikroarray teknikleri, günümüzde post ve prenatal olgularda saptanan görünürde dengeli yapısal anomalilerin aydınlatılmasında en etkin tekniktir.

Anahtar Kelimeler: görünürde dengeli yapısal kromozom anomalileri, a-CGH, genomik dengesizlikler, Multiple konjenital anomaliler ve mental retardasyon, patolojik ultrason bulguları

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (proje no:34325) ve TÜBİTAK Yurt içi doktora burs programı tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Satkın,NB. Investigation of submicroscopic imbalances in apparently balanced structural chromosomal abnormalities via array-CGH method. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics, PhD thesis, Istanbul, 2014.

Although the subjects are not expected to be influenced, it's reported that 5.2% of live births have a risk ratio of 2-3 fold in balanced chromosomal rearrangements (2-3%) compared to normal population. Internal gene breaks, deletions or duplications that could alter the structure and thus the expression of genes located in or near breakpoint of rearrangements or at regions independent to breakpoints were observed in cases which are clinically affected and carrying an apparently balanced structural chromosomal abnormality. Furthermore, the impairment of the expression of the gene in its new location, formation of a new chimeric gene, gain or loss of function of the genes, impairment of the imprinting pattern could also lead to clinical findings. It has been shown that even though these alterations are considered as balanced via conventional cytogenetic methods at microscopic level, they can be imbalanced at submicroscopic level as shown via array techniques.

In this study, 34 cases (21 postnatal, 13 prenatal) which carry apparently balanced structural chromosomal abnormalities and clinically affected subjects were analyzed with a-CGH technique. 14 of the postnatal cases were *de novo*, 7 were inherited, and in 7 of these cases an imbalance was detected at genomic level (33%). These abnormalities were all detected in *de novo* cases. 6 of prenatal cases were *de novo* and 5 were inherited, the inheritance of 2 cases was not known and a genomic imbalance was detected in 2 of the cases (%15,3). Array-CGH analyses of parents have shown that these genomic alterations were *de novo*.

The anomaly percentage of the same population acquired with array studies were reported as 33-60% in postnatal series and 16-28% in prenatal series in the literature. Our genomic alteration level findings in postnatal series were consistent with the literature, on the other hand our percentage in prenatal series were lower. The percentage of genomic imbalances at regions non-related to breakpoints in all abnormalities (42.8%) was also correlated with literature findings (15-40%).

Microarray techniques, which allow analyzing the whole genome at kb level in one test, are the best technique in detecting the apparently balanced structural chromosomal abnormalities observed in post- and prenatal cases at the present time.

Keywords: apparently balanced structural chromosomal abnormalities, array-CGH, genomic imbalances, multiple congenital anomalies and mental retardation, pathologic ultrasound findings

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University (project no: 34325) and TUBITAK National PhD Scholarship programme

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlı doğumların yaklaşık %5'inde dengeli kromozomal yeniden düzenlenmeler (translokasyon, insersiyon ve inversiyon) saptanmaktadır ve bunların önemli bir kısmı ailevi olup anormal bir fenotiple ilişkili değildir (Gardner RJM ve ark., 2011). Warburton'un (1991), yaklaşık 350000 gebelik sonuçlarını kapsayan serisinde, konjenital anomali sıklığı, resiprokal translokasyonlar için %6,1, inversiyonlar için %9,4 olarak belirlenmiştir ki bu genel popülasyona oranla %2-3 artmış bir risk olduğu anlamını taşımaktadır. Madan (1997), bu riski kompleks yeniden düzenlenmeler için %23 olarak vermiştir (Warburton D.,1991; Madan K ve ark., 1997)

Dengeli yeniden düzenlenme taşıyıcılarının dengesiz gamet olasılığı yüksek (yaklaşık %50) olmasına karşın dengeli gamet olasılığı da vardır ve bu dengeli taşıyıcı fetus/çocuklar için fenotipik olarak etkilenme beklenmez. Ancak, bir çok çalışmada dengeli anomali taşıyan normal fenotipli ebeveynlerin taşıyıcı çocuklarında konjenital anomaliler bildirilmiştir (Fryns JP ve ark., 1991; Wenger SL ve ark., 1995; Ciccone R ve ark., 2005). Bu anormal fenotiplerin ortaya çıkmasına sebep olan mekanizmalar; i) değişimin kırık noktalarında kromozom analizlerinde görülemeyecek büyüklükte mikrodelsyon / duplikasyonların olması, ii) değişimin kırık noktalarında yer alan genlerin ekspresyonunun bozulması, iii) kırık noktalarında yer alan genlerin inaktif olması (pozisyon efekti), iv) post zigotik bölünmelerde anöploid kromozom seti taşıyan hücrelerde yapılan düzeltmede normal ebeveynden kalıtılan homolog kromozomun kaybı ile ortaya çıkan uniparental dizomi (UPD), v) değişimin aslında kriptik bir kompleks kromozomal yeniden düzenlenme (CCR) olması ile açıklanmaktadır (Gardner RJM ve ark., 2011).

Konvensiyonel sitogenetik ile 5-10 Mb'dan daha küçük dengesizliklerin saptanması mümkün değildir. Konvensiyonel sitogenetik ile Down Sendromu dışlandığında Multiple Konjenital Anomali /Mental Retardasyonlu (MKA/MR) olguların %3-5'ine tanı koyulabilirken çözünürlüğü yüksek yeni tekniklerin kullanımı ile saptanabilen anomali oranı %15-20'ye çıkmıştır (Rauch A ve ark., 2006; Hochstenbach ve ark., 2009; Miller DT ve ark., 2010).

Görünürde dengeli *de novo* kromozom anomalisi taşıyan MKA/MR olgularında ise array teknikleri ile kriptik dengesizlik oranı %33-60 olarak bildirilmiştir. Bu

genomik anomalilerin önemli bir kısmı kırık noktalarında iken kırık noktalarından bağımsız genomun herhangi bir yerinde de fenotipi etkileyen anomalilerin varlığı (%15-40) gösterilmiştir. Bu submikroskopik dengesizliklerin çoğu iki veya daha fazla kırık sayısı olan CCR'larda saptanmaktadır (Gribble SM ve ark., 2005; De Gregori M ve ark., 2007; Sclyth-Bolard C ve ark., 2009). Baptista ve ark., (2005) fenotipik olarak normal 31 görünürde dengeli kromozom anomalisi taşıyan olguda yaptığı çalışmada olguların hiçbirinde submikroskopik değişim saptamamıştır.

Literatürde, görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi taşıyan olgularda array tekniklerinin sonuçlarını gösteren sınırlı sayıda çalışma vardır. Biz de bu çalışmamızda, görünürde dengeli ailevi ya da *de novo* yapısal kromozom anomalisi taşıyan olguları, genomu yüksek çözünürlükte (>1 kb) inceleme olanağı sunan a-CGH (Comperative Genomic Hybridization) tekniği ile incelemeyi ve kırık noktalarında veya bağımsız bölgelerdeki kriptik genomik dengesizlikleri saptamayı, saptanan bu bölgelerdeki genlerin genotip- fenotip ilişkisini kurarak fenotip ile ilişkili olası aday genlerin belirlenmesini amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. TARİHÇE

İlk olarak 19. yüzyılın ortalarında hücre nükleuslarında parlak boyanan objeler olarak gösterilen yapılar, Alman Heinrich Wilhelm Gottfried von Waldeyer-Hartz tarafından gösterilmiş ve Yunanca renkli anlamındaki *chrom* ve beden anlamındaki *soma* kelimelerinin kombinasyonu ile oluşturulan “Kromozom” (Chromosoma) olarak adlandırılmış ve kalıtım ile ilişkili olduğu kabul edilmişti. 20. yüzyılın başlarında insan kromozomlarının 48 adet oldukları düşünülürken 1950'lerde geliştirilen teknikler özellikle hipotonik bir solüsyonun kullanımı kromozomların daha doğru değerlendirilmesine olanak sağladı. Joe Hin Tjio ve Albert Levan 1956 da insan kromozomlarının sayısının 46 olduğunu bu teknikle gösterdi. 1959'da (insan sitogenetiğinin en harika yılı olarak bilinir) ilk medikal uygulamalar olarak, Down Sendromu Lejuenne ve ark. tarafından, Klinefelter sendromu, Jacobs ve Strong tarafından ve Turner sendromu Ford ve ark. tarafından hem klinik hem de sitogenetik bulguları ile gösterildi. Harper 2006 yılında yayımladığı *First Years of Human Chromosomes* adlı çalışmasında kromozomların keşfini, "sitogenetikçilerin artık konuşabilmek için kendi organlarına sahip oldukları" şeklinde betimlemektedir. 1970 ve 90'larda farklı boyama teknikleri kullanılarak kromozomların farklı bölgeleri gösterildi. Moleküler genetik alanındaki gelişmeler, kromozom analizlerinde yeni tekniklerin geliştirilmesine ve kromozomların çok daha hassas incelenebilmesine olanak verdi (Harper PS, 2006). Bu yeni tekniklerin kullanımı ile, kromozomların fiziksel ve moleküler yapısı, taşıdıkları bilginin dağılımı, genomun organizasyonu, dengesiz düzensizlikler ve bunların fenotipe etkileri gibi birçok bilgiye ulaşıldı. Bununla birlikte, anomalilerin oluşum mekanizmaları, hücre siklusunun interfaz evresinde kromozomların organizasyonları, tanımlanmamış kromozomal düzensizliklerin fenotipe etkileri gibi pek çok alanda araştırmalar ise devam etmektedir (Miller ve Therman, 2001).

İnsandaki kromozom anomalilerinin araştırılmasında yeni moleküler teknolojilerin kullanılması ile çok daha küçük değişimler saptanabilir hale geldi ve bu yeni bilgiler anomalilerin klinik etkilerinin (fenotip-genotip ilişkileri) ortaya konulmasına olanak sağladı.

2.2. KROMOZOM ANOMALİLERİ

2.2.1. Kromozom anomalilerinin sınıflandırılması

Kromozom anomalisi, kromozomların sayı ve/veya yapılarında meydana gelen değişimler olarak tanımlanmaktadır. Bu değişimler, kromozomların heterokromatin bölgeleri ya da akrosentrik kromozomların satellitlerinde oluştuğunda genetik bilgede değişime yol açmadığından fenotipi de etkilemesi beklenmemektedir ve kromozomal polimorfizm olarak adlandırılırlar. Ökromatin bölgelerde oluşan değişimler ise “kromozom anomalisi” olarak tanımlanır. Bu değişimler gonad hücrelerinin oluşumu sırasında (mayotik) veya döllenmeden sonraki (postzigotik) evrede mitoz bölünmelerde de oluşabilir ve oluşan anomali hayatla bağdaşır ve fertilitiyi etkilemezse kuşaktan kuşağa aktarılır (Gersen S , Keagle MB, 2013)

Kromozomal anomalileri, klinik etkisi, kalıtım şekli, tüm hücrelerde bulunup bulunmamasına ya da morfolojik farklarına göre sınıflandırılmaktadır. Klinik etkisi açısından yapısal genlerde doz değişimlerine yol açarsa fenotip etkilendiğinden, bu tür anomaliler “dengesiz kromozom anomalisi”, yapısal genlerde doz değişimine yol açmayan anomaliler de fenotip etkilenmediğinden “dengeli kromozom anomalisi” olarak adlandırılır.

Kromozom anomalileri, kalıtım şekli açısından “ailevi” ve “*de novo*” olarak, sitogenetik açıdan da “sayısal” ve “yapısal kromozom anomalileri” olarak sınıflandırılır. Anomali, organizmanın tüm hücrelerinde bulunuyorsa “nonmozaik”, farklı hücre ve dokularda farklı kromozom yapılarının bulunması ise "mozaik" olarak tanımlanır ki bu tür aynı bir zigottan köken alan farklı hücre dizilerinin bir organizmada birlikte bulunması postzigotik olaylar sonucu ortaya çıkarlar (Gersen S , Keagle MB, 2013).

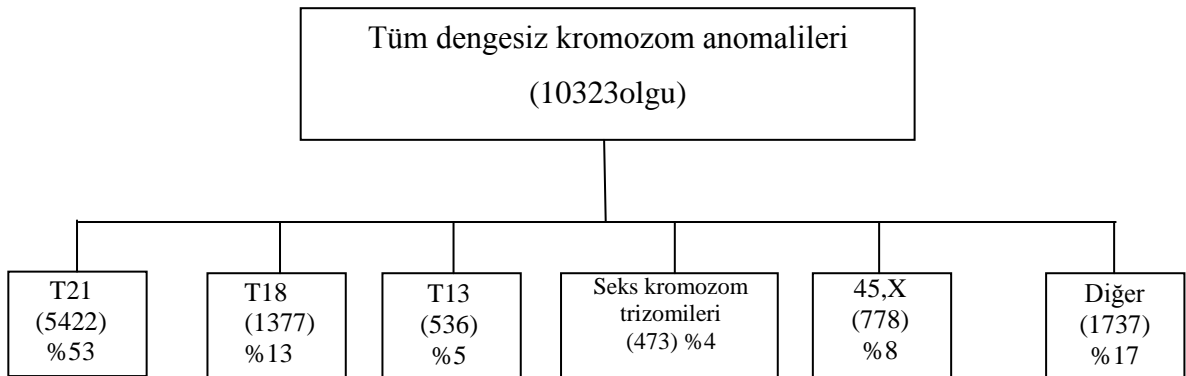
2.2.2 Kromozom anomali sıklıkları

Kromozom anomali sıklığı, anomalinin klinik etkisine bağlı olarak farklı populasyonlarda önemli farklılıklar gösterir. En yüksek anomali oranları ilk trimester düşük materyallerinde saptanmaktadır (%50-60). Doğal olarak bu materyalde saptanan anomaliler kliniği ağır etkileyen ve bu nedenle yaşamla bağdaşmayan anomalilerdir. En yüksek anomali oranınınin zigot aşamasında olduğu ve ilerleyen zamanla bu oranın azaldığı bilinmektedir. *In vitro* fertilizasyon (IVF) uygulamaları ile elde edilen embriyolarda yapılan çalışmalar bu konuda önemli bilgiler sağlamıştır. ≥ 35 annelerin

oositlerinde 1. ve 2. polar body'leri 5 otozom için (13,15,16,18,21) FISH (Floresan in situ hibridizasyon) ile incelendiğinde, yarıdan fazlasında anomali saptamıştır (Verlinsky Y ve Kuliev A., 2004). Normal morfolojili 3. gün embriyolarında 8 kromozom (13,15,16,18, 21, 22, X, Y) için yapılan FISH incelemelerinde anomali oranı % 66 olarak saptanmıştır (Ferraretti AP ve ark.,2004). Prenatal tanı çalışmalarında 1. trimesterde koryon villus dokusunda saptanan anomali oranları da 2. trimester amniyotik sıvı ya da koryon villus dokusuna oranla daha yüksektir. Örneğin, 35 yaş annelerinin gebeliklerinde 1. trimester CVS'de saptanan anomali oranı %3,10 iken amniyosentezde saptanan anomali oranı %0,76'dır (Milunsky A, 1998). Tüm yeni doğarlarda yaklaşık % 0.6, tüm ölü doğum ve geç intra uterin ölümlerde %25 oranındaki kromozom anomalilerin büyük çoğunluğu mayotik non-disjunction sonucu oluşan anöploidilerdir.

Dengeli yapısal kromozom anomalileri postnatal normal fenotip taşıyan popülasyonda yaklaşık 1:500 iken, dengesiz yapısal anomaliler yenidoğanlarda 1:250'dir. (Shaffer LG, Lupski JR, 2000). Wellesley ve ark. (2012), 2000-2006 yılları arasında 11 Avrupa ülkesinin katılımıyla gerçekleştirdiği, yaklaşık 2.4 milyon doğumu içeren çalışmada tüm dengesiz ve nadir kromozom anomalilerinin sıklığını yayımlamıştır. ≥ 1 yaş olguların 10323'ünde dengesiz kromozom anomalisi saptanmıştır ve prevalans 43,8/10000 olarak bildirilmiştir (Wellesley D ve ark., 2012)(Tablo 2.1 ve Tablo 2.2).

Tablo 2.1:1 yaş ve öncesi olgularda 2000-2006 yılları arasında tüm dengesiz kromozom anomalilerinin oranı (Wellesley D ve ark., 2012)

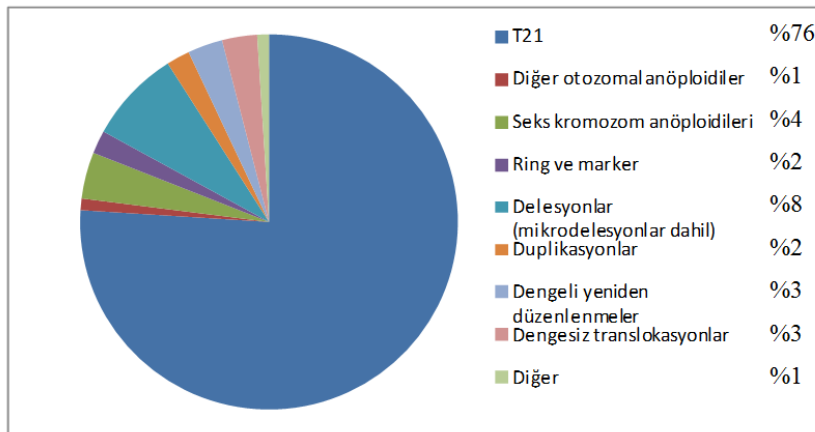


Tablo 2.2: Nadir kromozom anomalilerinin sınıflandırılması ve sıklıkları (Wellesley D ve ark., 2012)

Diğer (1737)						
Triploidi (296) 1,26/10000	Diğer trizomiler (202) (0,86/10000)	Marker (101) 0,43/10000	Dengesiz translokasyonlar (221) 0,94/1000	Delesyonlar (736) 3,13/10000	Duplikasyonlar (165) 0,70/10000	Diğer (16)
	Full trizomi (58)			4p- (31)		
	Mosaik trizomi (141)			5p- (35)		
	Ring (3)			mikrodelesyonlar (299)		
				ring delesyonlar (31)		
				diğer (340)		

MKA/MR olgularında saptanan anomaliler sayısal ya da yapısal dengesiz kromozom anomalileridir. Klasik kromozom analizleriyle bu popülasyonlarda saptanan anomali oranları kullanılan tekniğe ve hasta seçim kriterlerine bağlı olarak %15-20 arasında değişmektedir. Bu popülasyonda saptanan anomalilerin en önemli kısmını (%76) Trizomi 21 (T21) oluşturmaktadır (Phelan MC ve ark., 1996) (Grafik 2.1). T21 den sonra en sıklıkla saptanan anomaliler delesyonlar, cinsiyet kromozom anöploidileri, dengesiz translokasyonlar ve dengeli yeniden düzenlenmeler olarak bildirilmiştir (Grafik 2.1).

Grafik 2.1:1989-1994 yılları arasında MKA/MR grubu 835 olgunun karyotip sonuçlarına göre yüzdeleri (Phelan ve ark., 1996).



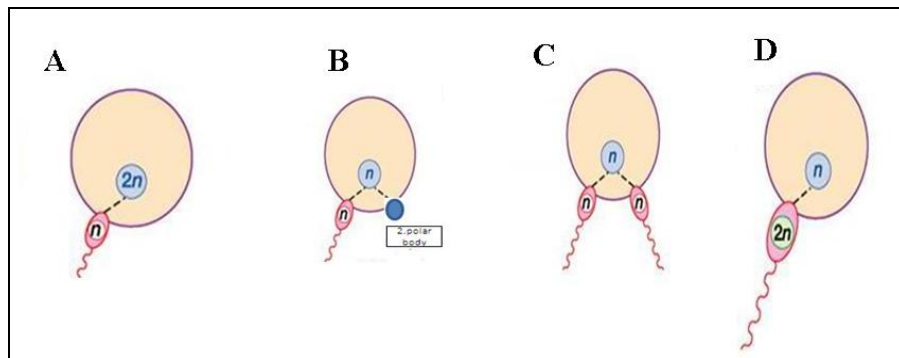
2.2.3 Sayısal kromozom anomalileri

Kromozom sayısında tüm artış ya da azalmalar ile ortaya çıkan anomaliler “sayısal kromozom anomalisi” olarak tanımlanır.

Bu grup ya genom mutasyonları ya da kromozom mutasyonları ile oluşur. Sayısal anomaliler, poliploidi ve anöploidi olmak üzere iki grupta değerlendirilir (Gersen S , Keagle MB, 2013).

2.2.3.1 Poliploidiler

Kromozom haploid set sayısının ($n=23$) katları halinde artışı ile ortaya çıkan (triploidi= $3n$, tetraploidi= $4n$) sayısal kromozom anomalilerine "poliploidi" denir . Poliploidiler, daha çok spontan abortus materyallerinde görülürler.1. trimester gebelik kayıplarında saptanan kromozom anomalilerinin %20'si triploidi ve %4-5'i ise tetraploidi'dir (Milunsky A. ve Milunsky JM, 2010). Poliploidiler, diploid yumurtanın dölleni (A), polar cisimciğin sonradan zigot/blastomere katılması (B), ovumun iki ayrı sperm (dispermi) (C) ya da diploid kromozom taşıyan sperm (D) tarafından dölleni ile oluşur (Şekil 2.1). Triploidi olgularının 2/3'ünde ekstra set paternal kökenlidir ve bu olgularda plasenta hidatiform yapıda olup fetusta ağır intrauterin gelişme geriliği gözlenir. Ekstra setin maternal kökenli olduğu olgularda ise plasenta küçük ve fibrotik yapıdadır, fetusta ise ağır embriyonik gelişme geriliği söz konusudur. (McFadden DE ve Kalousek DK , 1991; Staessen C ve Van Steirteghem AC, 1997; Daniel A ve ark., 2001).



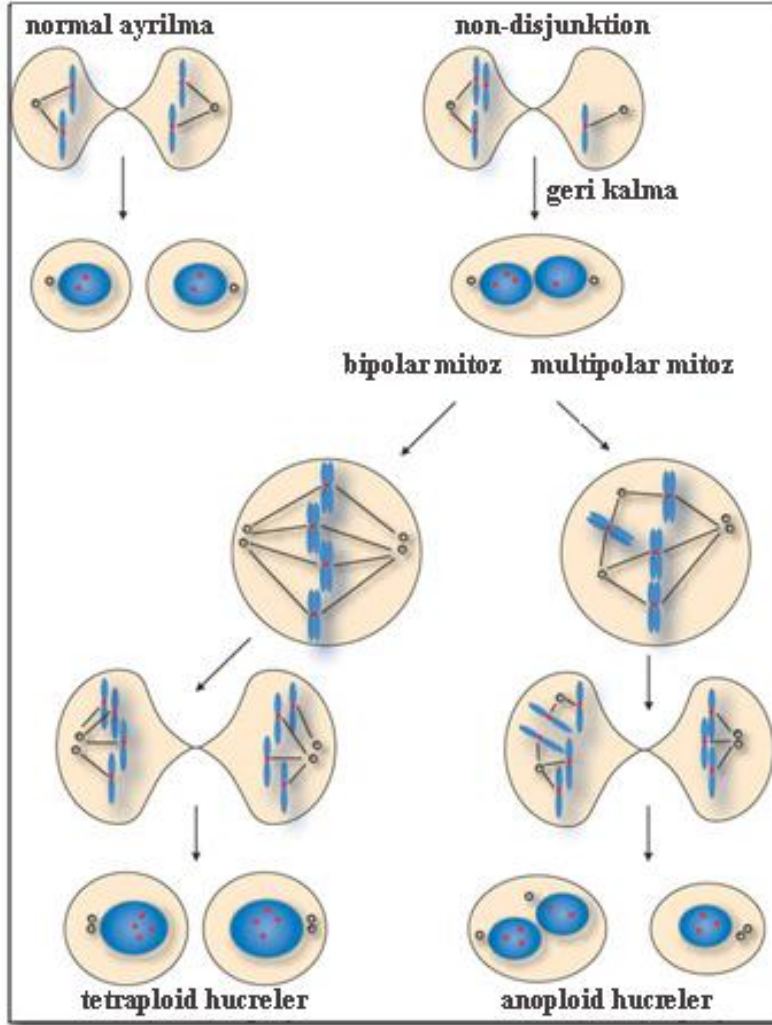
Şekil 2.1: Triploidi oluşum mekanizmaları

2.2.3.2 Tetraploidi

Tetraploidinin oluşum mekanizması ise postzigotik bölünmelerde (mitoz bölünmelerde) nükleer bölünmeyi takip eden sitokinezin (sitoplazmik bölünme) gerçekleşmemesi ile $4n$ hücrelerin oluşmasıdır. Diğer bir mekanizmada ise mitoz bölünme sırasında non-disjunktion oluşması ve bu aşamada sitoplazmik bölünmenin gerçekleşmemesidir. Bu

durumda bir nukleusun triploid, diğzerinin ise monozomik olduğu tek bir hücre oluşur. Bu tetraploid hücrede eğer bipolar mitoz gerçekleşirse iki tetraploid yavru hücre oluşurken, multipolar mitoz gerçekleşirse anöploid yavru hücreler oluşur (Q Shi Q ve King RW, 2005)(Şekil 2.2).

Bu olgular olayların postzigotik gerçekleşmesi nedeni ile genellikle $2n/4n$ mozaisizmi olarak karşımıza çıkarlar.



Şekil 2.2: Tetraploidi oluşum mekanizması (Q Shi Q ve King RW, 2005)

2.2.3.3 Anöploidiler

"Anöploidi", diploid bir hücrede tek bir kromozomun artması ($2n+1$ =trizomi) ya da eksilmesi ($2n-1$ =monozomi) ile oluşur (Gersen SL ve Keagle MB, 2013).

T21, insanda ilk tanımlanan ve 1/700'lük insidansla yenidoğanlarda en sık görülen anöploididir. Bunu 1/426'lık insidansla cinsiyet kromozom anöploidileri (47,XXY, 47,XYY ve 47,XXX) izler. Yenidoğanlarda çok ender de olsa görülebilen trizomi 18 ve

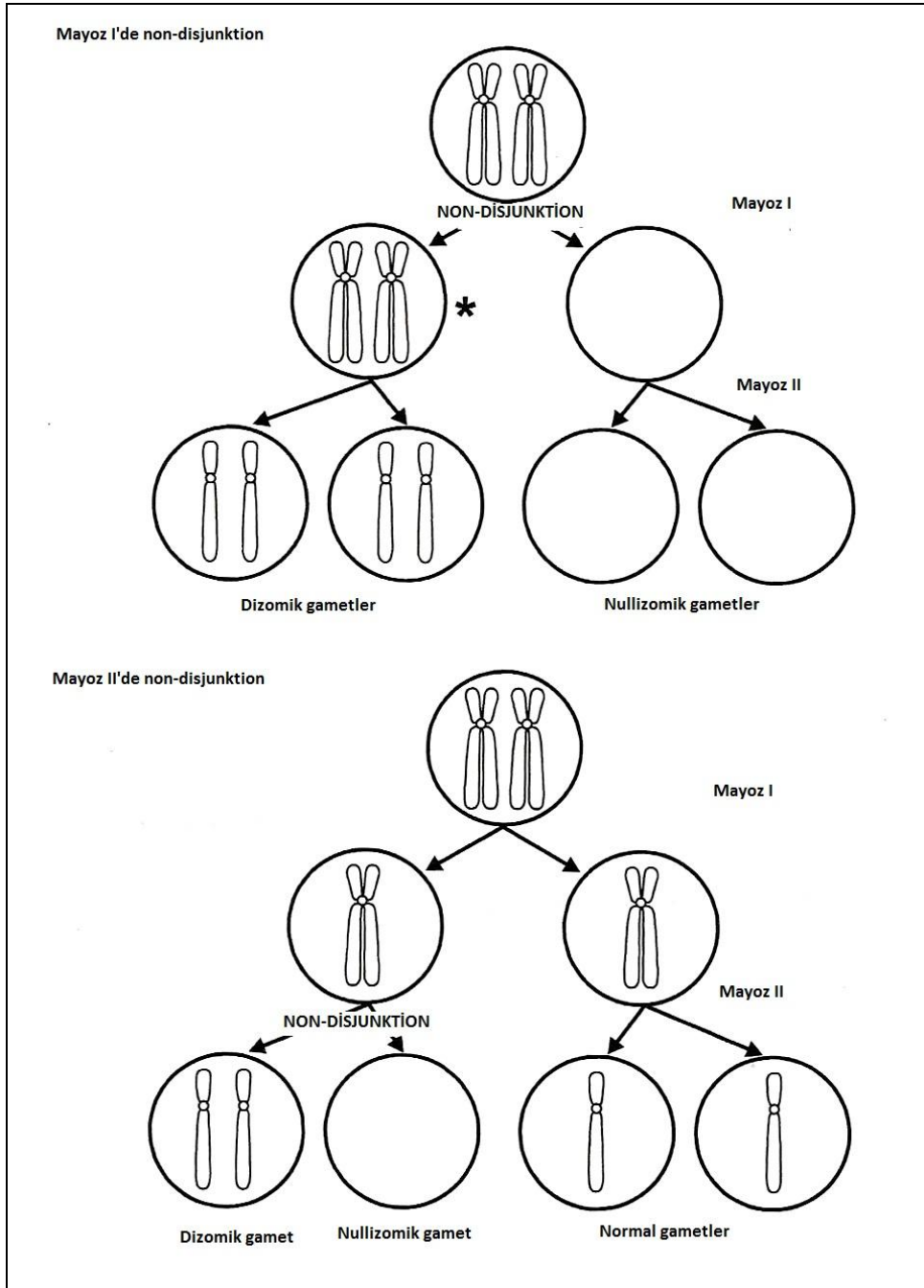
trizomi 13 daha çok spontan abortus çalışmalarında saptanır. Yaşamla bağdaşan tek monozomi örneği, Turner Sendromu' na yol açan X kromozom monozomusudur (45,X). 45,X'li hücre dizileri 46,XX ya da 46,XY zigotlarının postzigotik bölünmelerde bir X ya da Y kromozomunu kaybetmesi ile oluşmaktadır. Bu nedenle 45,X'li olguların mozaik olduğu kabul edilmektedir. Otozomal monozomiler ise letaldir ve abortus materyali çalışmalarında dahi ancak mozaik olarak saptanmaktadır ve canlı doğumlarda görülmezler (Nielsen J ve Wohlert M, 1991).

2.2.3.4. Anöploidi oluşum mekanizmaları

Genellikle oogeneze veya spermatogeneze I. ya da II. mayoz bölünme sırasında, ender olarak da postzigotik mitotik bölünmelerde oluşan non-disjunktion, gametlerde kromozom sayısında artış ya da azalmaya yol açar (Gersen SL ve Keagle MB, 2013). DNA markerları kullanılarak 2, 7, 13, 14, 15, 16, 18, 21 ve 22. kromozomların trizomileri için yapılan parental köken çalışmalarında, bu anomalilerin genellikle maternal kökenli olduğu bildirilmiştir. (Hassold T ve Takaesu N, 1989; Fisher JM ve ark., 1995). Yakın dönemde non-disjunktion üzerine yapılan bir çalışma, T13 oluşumunda, Mayoz I (MI) ve Mayoz II (MII)'de hatalarının eşit oranda görüldüğünü ortaya koymuştur ve trizomi 7, 13 ve 18. dışında non-disjunktion, genellikle 1. mayoz bölünmede oluşmaktadır (Bugge M ve ark., 2007).

MI veya MII evrelerinde Non-disjunktion

- MI'de homolog kromozomlar eşleşerek bivalentleri oluşturur ve normalde bu kromozomların kardeş hücrelere dağılması beklenir. Homolog kromozomların ayrışma hataları iki yol ile meydana gelebilir; bunlardan birinde her iki homologu da içeren bivalent kromozomlar aynı kutuba giderler. Diğerinde ise homolog kromozomların birinde erken kardeş kromatid ayrışması gerçekleşir ve bağımsız kromozom olarak davranır (Şekil 2.3).
- MII'de kardeş kromatidler birbirinden ayrılarak kardeş hücrelere dağılır. Bu ayrışma gerçekleşemez ve her iki kardeş kromatid de aynı kutuba giderse gamette bu kromozom için artış gerçekleşir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Hücre bölünmesinin MI ve MII fazlarında non-disjunktionı gösteren şekil (Gardner RJ ve Sutherland GR, 2011)

Otozom kromozomlarının anöploidisi ile anne yaşı arasındaki doğru orantı uzun yıllardan beri bilinmektedir. 1933'de Penrose ve arkadaşları, Down Sendromlu çocuk doğumunda anne yaşının anahtar bir rolü olduğunu vurgulamıştır (Penrose L, 1933).

Oositlerin polar body'lerinde FISH tekniği kullanılarak yapılan bir çalışmada, bivalent kromozomlarda gerçekleşen hatalı ayrışmanın (MI hatası) anne yaşına bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (Angell RR ve ark., 1994). Multipleks FISH (M-FISH) yöntemi kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada da fertilizasyon gerçekleşmemiş oositlerde

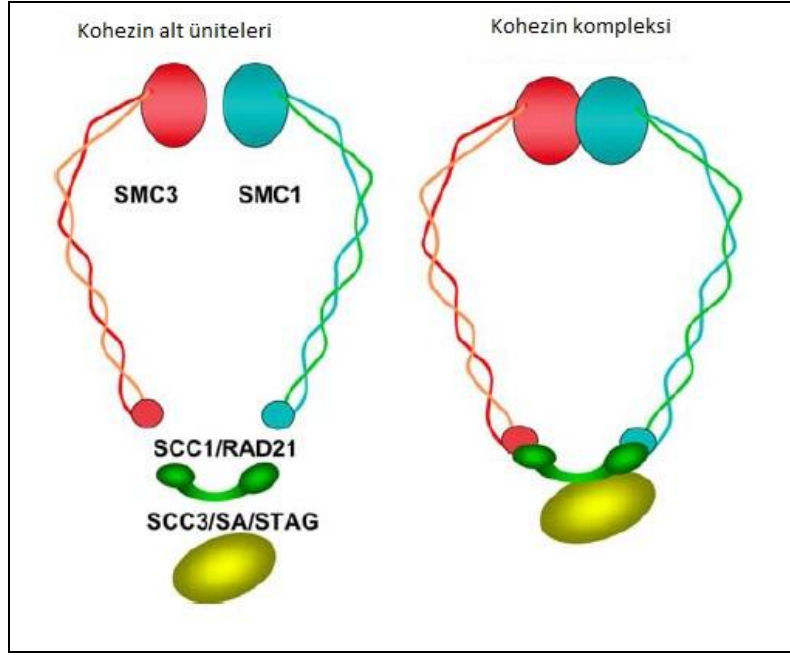
MI'deki erken kardeş kromatid ayrılmasının anne yaşı ile birlikte arttığı gösterilmiştir (Kumar RM ve Khuranna A, 1995). Pek çok yeni makalede de anne yaşı ve anöplodiler arasında direkt bağlantı olduğu belirtilmektedir (Sherman SL ve ark., 2005).

Anne yaşı ile anöploidi sıklığı arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışan farklı mekanizmalar önerilmiştir. Bunlardan birisi "production line" hipotezidir. Bu hipoteze göre, oositler fetal dönemde MI'e girme sıraları ile postpubertal dönemde aynı sırada mayoz bölünmeye girerler. Postpubertal dönemin geç yıllarında sırası gelince mayoz bölünmeye giren oogonia, kiazmata oluşumunda daha sorunlu olabilir ve bu durum non-disjunktion'a yol açabilir. 13-14. haftalar ve 32-41. haftalar arasındaki gebeliklerin abortus materyallerinden elde edilen oositlerde MI'in pakiten ve diploten evrelerinde eş olmayan homologların sıklığının araştırıldığı bir çalışma bu hipotezi destekleyen kanıtlar sağlanmıştır. Çalışılan altı kromozom (X, 7, 13, 16, 18 ve 21) için, 1.trimesterdaki eşleşme hatalarının (%0-1,2), ileri gebelik haftalarındaki fetuslara oranla (%1,3-5,5) dikkat çekici bir biçimde düşük olduğu gösterilmiştir (Cheng EY ve ark., 1995). Fetal dönemde ilk mayoza giren oositin, erişkin dönemde ilk mayoza giren oosit olup olmadığı ilginç bir soru olarak kalmıştır.

Bir diğer hipotez ise "limited oocyte pool", "sınırlı oosit havuzu" modelidir. Her bir menstrüel döngünün antral döneminde, farklı gelişim evrelerinde bulunan pek çok folikül mevcuttur. Yüksek seviyeli Folikül Stimulan Hormon (FSH) ile sadece tek bir folikül ki bu da büyük ihtimalle en kaliteli tek bir foliküldür uyarılır ve MI tamamlanarak ovulasyon gerçekleşir. Anne yaşı arttıkça antral dönemdeki folikül sayısı azalır. Zamanla azalan folikül sayısı nedeni ile kaliteli olmayan oositler de ovulasyon için seçilebilir. Bu "daha az kaliteli" oositler, MI'de non-disjunktion oluşumuna neden olabilir (Warburton D, 2005; Kline J ve ark., 2004).

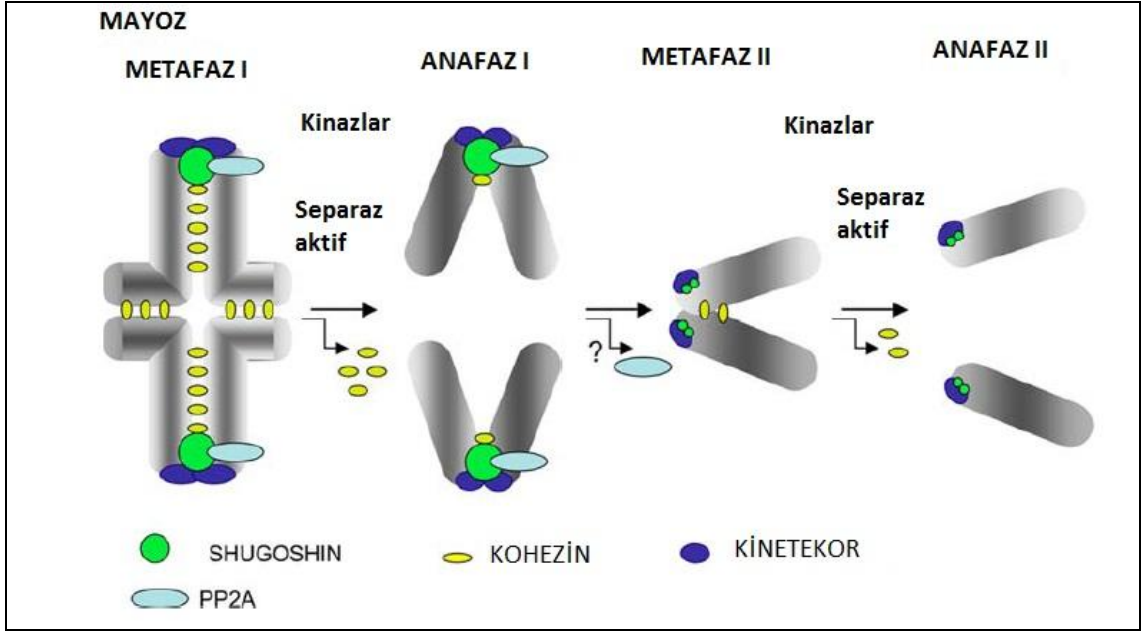
Non-disjunktion oluşumuna yatkınlığı arttıran diğer bir olası faktör ise anormal rekombinasyondur. 15, 16, 18 ve 21. kromozom trizomilerinin rekombinasyon paternleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur. 15. kromozomun UPD'sindeki non-disjunktion çalışmaları, maternal non-disjunktion'a bağlı rekombinasyonda azalmanın beklendiği kadar az olmadığını göstermiştir (Robinson WP ve ark., 1993). Trizomi 16 olgularında rekombinasyonun azalmış olduğu, ancak yine de özellikle kromozomun proksimal bölgesinde nadir olarak krossing over'in gerçekleştiği gözlenmiştir. Genç yumurta donörlerinin oositleri üzerinde yapılan son bir çalışma, FSH hormon yüklemesi sonrası 16. kromozom bivalentlerinin %2,5'inde crossing over gerçekleşmediği ve %19,8'inde sadece bir rekombinasyonun gerçekleştiğini bildirmiştir

(Garcia-Cruz R ve ark., 2010). Lamb ve arkadaşları, (1997) T21 için olguların çoğunda rekombinasyon olaylarının azaldığını ve %35-40'ında hiç crossing over gerçekleşmediğini bildirmiştir (Lamb NE ve ark., 1997). Trizomi 16 ve 21 için yapılan bu çalışmalar distal kiazmata'nın MI'deki non-disjunktion'ın önlenmesinde çok az etkili olduğunu göstermiştir. MII'deki maternal non-disjunktion'da ise, özellikle 21q bölgesinin proksimalinde, rekombinasyon olaylarının arttığı gözlenmiştir. Bu proksimal rekombinasyonlar bir "dolanma" etkisine yani iki homolog kromozomun dolanması ile, MI'de bivalentin aynı kutuba taşınmasına neden olabilir ve sonra MII'de iki homolog kromozom ayrıldığında her biri aynı sentromere tutunan iki kromatid içeren, iki dizomik gamet oluşur. Alternatif olarak, bu dolanma, kardeş kromatid kohezyonunu bozarak MI'de erken kardeş kromatid ayrılmasına neden olabilir. Kısaca, 21. kromozom için, MI'deki hatanın distal rekombinasyonlar ile, MII'deki hatanın ise proksimal rekombinasyonlar ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Lamb NE, 1996). Lamb ve arkadaşları (1996) rekombinasyon paternindeki değişimin, maternal yaş ile ilişkili olmadığını belirterek "iki vuruş" modelini önermiş ve belirli rekombinasyon oluşumlarının daha yaşlı kadınlarda daha az işlendiğini varsaymışlardır. Örneğin, sonraki yıllarda Lamb. ve ark.'nın 21. kromozomda yaptığı gözlemlere dayanarak, rekombinasyon paterninin değişiminin anne yaşına bağlı olmamasına rağmen, yaşa bağlı iğ iplikçiği şekillendirme yeteneğinin kaybına yol açtığını ve böylece mayotik bozulmaya sebep olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir (Hawley RS ve ark., 2009). Hücrenel mekanizmada, kromozomların kardeş hücrelere doğru ayrılma ile aktarılmasında 4 protein kompleksi (SMC1, SMC3, SCC1/RAD21, SCC3/SA/STAG) rol almaktadır. Bu kompleksler yüzük benzeri bir yapı ile kohezin kompleksini oluşturur (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4.: Kohezin kompleksi ve alt ünitelerinin yapısı (Barbero JL, 2009).

Kohezin kompleksi bir "kromozom tutkalı" gibi davranarak hücre bölünmesi süresince iki kardeş kromatidin bir arada tutulmasını kontrol eder. Metafaz/anafaz geçişi süresince her iki kolun, sentromer ve telomerin kohezyon kaybı spesifik proteazların (separin/separaz) kontrolündedir. MI'de separaz aktivitesi ile rekombine homologların farklı kutuplara çekilmesi sağlanırken, MII kromozomlarında kardeş kinetokorlar mikrotübüllere farklı kutuplardan bağlanır ve kohezin kompleksleri içteki sentromer domainlerinde bulunur. Sentromer kohezinleri SHUGOSIN ve PP2A proteinleri ile korunmaktadır. Separaz-bağımlı bu mekanizma kontrolünde ortaya çıkacak herhangi bir sorun non-disjunktion olayını tetiklemektedir (Barbero JL, 2009).(Şekil 2.5.)



Şekil 2.5:Mayoz bölünmede separaz enzim aktivitesi ile kohezinlerin davranış modeli (Barbero JL, 2009).

Kromozom 21 ile yapılan çalışmalar, oositlerdeki kiazmata ve rekombinasyonların, spermatoisitlerdeki kadar verimli olduğunu ortaya koymuştur. Maternal kökenli trizomi 21'lerde, oogeneizde mayotik kontrol noktalarının daha az etkin olduğu gösterilmiştir (Garcia-Cruz R ve ark., 2010).

İki çalışmada ise non-disjunktion oluşumuna “genetik yatkınlıktan” söz edilmektedir. Kuveyt'te yapılan bir çalışmada, Down Sendromu'nun sıklığının akraba evliliği olanlarda akraba olmayanlara oranla 4 kat arttığı saptanmıştır. Güney Amerika'daki bir çalışmada ise farklı kromozom trizomilerinin akraba evliliği olan ailelerde daha sıklıkla gözlemlendiği belirtilmiştir (Warburton D ve ark, 2004). Bu veriler non-disjunktion'un hücresel düzeydeki mekanizmada yer alan genlerin mutasyonlarının genetik yatkınlığa yol açabileceğini destekler niteliktedir.

2.2.4 Yapısal kromozom anomalileri

Kromozom sayısında değişiklik olmaksızın (Robertsonyan translokasyon dışında) kromozomların yapısında oluşan değişimler (segmental kayıplar, artışlar ya da yer değiştirmeler) "yapısal kromozom anomalisi" olarak gruplandırılır ve yenidoğandaki sıklığı yaklaşık 1/450' dir (Vaz N ve Shyama SK, 2005). Yapısal kromozom anomalileri ailevi olabilecekleri gibi, *de novo* da oluşabilir. Bu yeni oluşumlar iyonize

radasyon, bazı viral enfeksiyonlar ve bazı kimyasallar gibi kırığa neden olan ajanlarla indüklenebilecekleri gibi kendiliğinden de oluşabilir (Thompson MV ve ark, 2001).

2.2.4.1 Dengesiz Yapısal Kromozom Anomalileri

Genetik materyalde kayba ve/veya artışa yol açan yapısal kromozom anomalileri, fenotipin etkilenmesine yol açar. Klinik bulguların şiddeti olaya katılan kromozom bölgesinin büyüklüğü, ve o bölgedeki fonksiyonel genlerin miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Bu anomaliler *de novo* oluşabildikleri gibi parental translokasyon ve inversiyonların dengesiz ürünleri olarak da ortaya çıkabilmektedir. Bu anomaliler parsiyel monozomi (delesyon), parsiyel trizomi (duplikasyon) olabilecekleri gibi her iki anomali birlikte de görülebilmektedir (Milunsky ve Milunsky, 2010).

Başlıca dengesiz yapısal kromozom anomalileri; delesyonlar, duplikasyonlar, marker ve ring kromozomlar, izokromozomlar ve disentrik kromozomlardır.

2.2.4.1.1 Delesyonlar

Delesyon, bir kromozom parçasının (segment) kaybıdır ve kaybolan bu parça için genomda parsiyel monozomi oluşur. Klinik bulguların şiddeti, delesyona uğrayan parçanın büyüklüğü ve bu parçadaki genlerin sayısı ve işlevine bağlıdır. Özellikle total genomun %3'ünden fazlasının kayba uğradığı büyük delesyonlar yaşamla bağdaşmazlar (Mueller RF ve Young ID, 1995; Thompson MW, 2001).

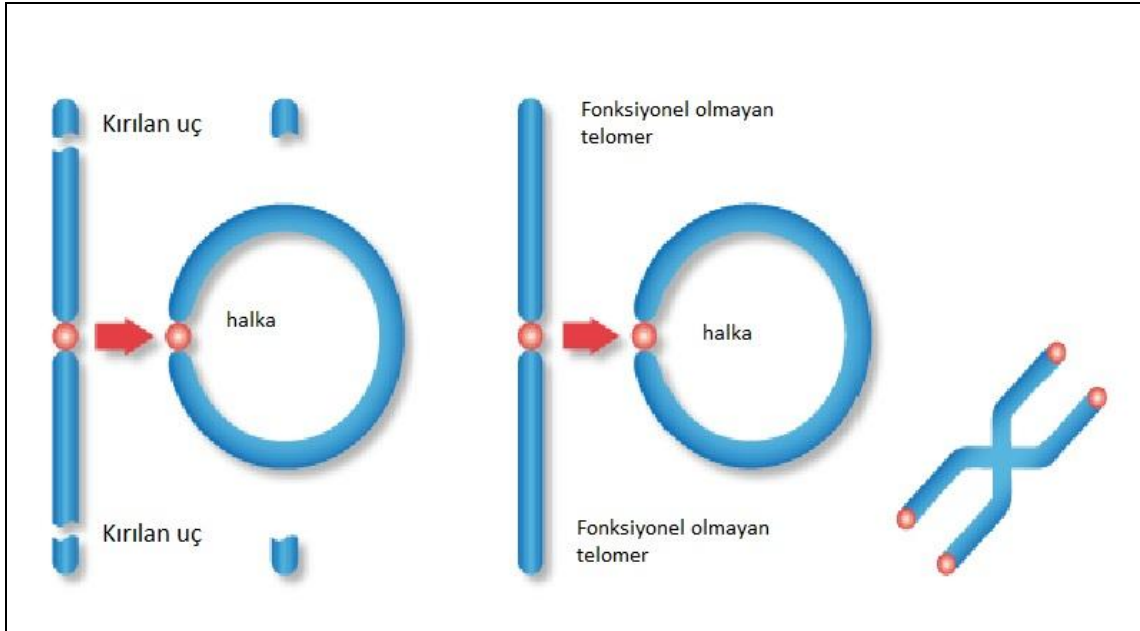
Delesyonlar kromozomların uç bölgelerinde oluştuklarında “terminal”, ara bölgelerde oluştuklarında “intersisyel” olarak isimlendirilir ve basit olarak kromozom kırılması ve asentrik parçanın kaybolması ile ya da homolog kromozomlar veya kardeş kromatidler arasında eşit olmayan crossing over sonucu oluşabilirler.

2.2.4.1.2 Duplikasyonlar

Duplikasyon, genomda belli bir bölgenin artışına verilen genel bir tanımlamadır. Duplikasyonlar, artış görülen bölge/segmentin genomda trizomisine yol açar ve bu bölgedeki genler üç doz olarak bulunurlar. Duplikasyonlar da delesyonlarda olduğu gibi, eşit olmayan krosing-over ile ortaya çıkabilir (Thompson MW, 2001).

2.2.4.1.3 Halka Kromozomlar

Halka kromozomlar, aynı bir kromozomun iki kolunda oluşan kırık noktalarının birbirleriyle birleşmesiyle oluşurken kırık noktası ile telomer arasında kalan asentrik parçalar ilk hücre bölünmesinde kaybolur. Bu oluşum sırasında kırık noktası ile telomerler arasında fonksiyonel genler bulunmazsa fenotip olarak etkilenme beklenmez. Kaybolan parçalarda fonksiyonel genlerin varlığında ise parsiyel monozomi nedeniyle fenotipin etkilenmesi beklenir. Bir diğer mekanizmada ise aynı kromozomda işlevsel olmayan telomerlerin füzyonu sonucu oluşur. (Şekil 2.6) En sık görülen halka kromozom X kromozomu kökenlidir ve kırık noktasına bağlı olarak Turner Sendromu'nda görülür. Otozomal kromozom kökenli halka kromozomlar ender görülmelerine karşın her otozom için bildirilmiştir. Otozom kökenli halka kromozomlarda klinik tablo ağır, cinsiyet kromozom kökenlilerde ise daha hafif bulgu verir. Halka kromozomlar normal kromozom setine ilave olarak da gözlenmektedir ve bu durum parsiyel trizomilere yol açar. Marker kromozomların bir bölümü halka kromozomlardan oluşur. Halka kromozomlar mitoz bölünmelerde stabil kalamadıklarından mozaisizm sıklıkla gözlenir (Callier P ve ark. 2009).

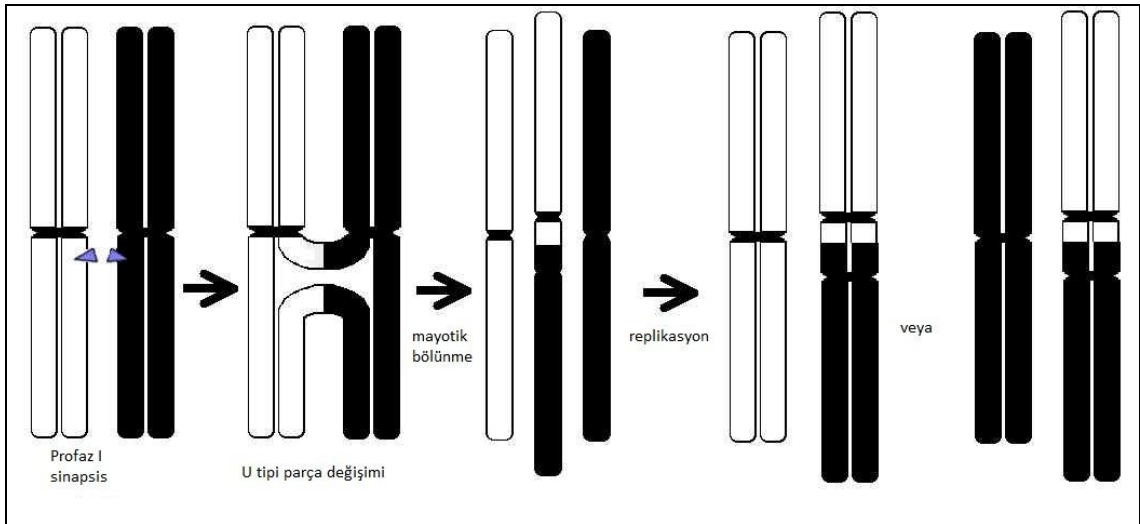


Şekil 2.6.: Halka kromozom oluşum mekanizması

([http:// http://sonoworld.com/fetus/page.aspx?id=1040](http://sonoworld.com/fetus/page.aspx?id=1040))

2.2.4.1.4. İzokromozomlar

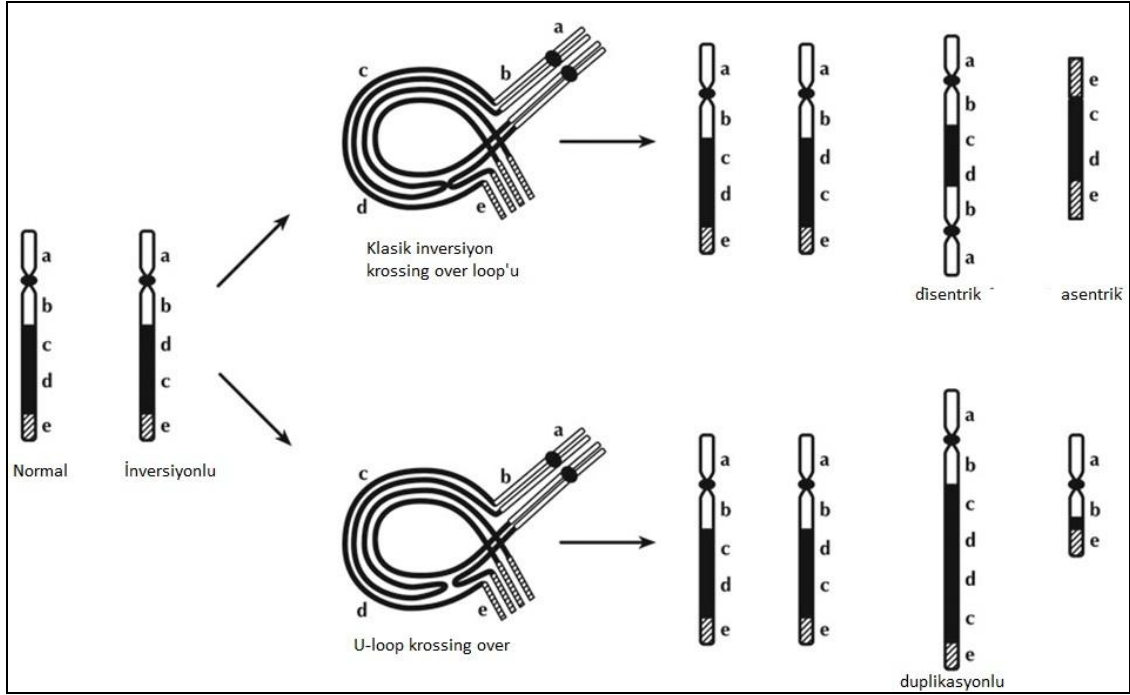
Sentromerin her iki tarafında da aynı kromozom kolunun bulunduğu simetrik yapıdaki kromozomlar "izokromozom" olarak adlandırılır. Bu kromozomlar genomda, kromozomun bir kolu için monozomi, diğer kolu için trizomiye yol açarlar. Eğer izokromozom normal kromozom setine ek olarak bulunuyorsa, bu kromozom kolu için olgu tetrazomiktir. Oluşum mekanizmasında iki olayın rol aldığı düşünülmektedir. Bunlarda birisi, mayoz II'deki hatalı sentromer bölünmesi, diğeri ise kromozomun bir kolunun diğere homolog kromozomun yine aynı kolu ile perisentromerik bölgede translokasyonudur (Schinzel A, 1991). (Şekil 2.7)



Şekil 2.7: Disentrik ve izokromozom oluşum mekanizması (Gardner RJM, 2011)

2.2.4.1.5. Disentrik Kromozomlar

Çift sentromer taşıyan "disentrik" kromozomlar genellikle simetrik yapıdadır ve sentromerlerden biri inaktif olduğundan kromozom analizlerinde inaktif sentromer farkedilmeyebilir, ancak sentromer spesifik bantlama (C bantlama v.d.) ile gösterilebilir. Bu kromozomlar parasentrik inversiyon taşıyıcılarının dengesiz ürünleri olarak ortaya çıkabileceği gibi iki homolog kromozom arasında kardeş olmayan kromatidler arasındaki değişimler ile de oluşabilir. Disentrik kromozomlar mitotik olarak stabildir (Thompson MW, 2001). (Şekil 2.7, Şekil 2.8)



Şekil 2.8: Parasentrik inversiyonda disentrik kromozomun oluşumu (Gersen S , Keagle MB, 2013)

2.2.4.1.6. Marker Kromozomlar

Normal kromozom setine ek ve genellikle mozaik olarak bulunan, klasik sitogenetik yöntemlerle tanınamayan kromozomlar "marker kromozom" olarak adlandırılır. Genel populasyonda görülme sıklıkları yaklaşık 1:2000'dir. Marker kromozomlar, fenotipik olarak etkilenmiş bireylerde saptandığı gibi normal fenotipli bireylerde de görülmektedir. Sentrik heterokromatin/satellit'den oluşan marker kromozomlar fonksiyonel gen taşımadığından fenotipi etkilememektedir, oysa ökromatin materyal yani fonksiyonel genler taşıyan kromozomlar ağır klinik bulgulara neden olurlar. Fenotipi etkilemeyen marker kromozomlar ailevi de olabilir. Özellikle prenatal karyotip analizlerinde *de novo* marker kromozom saptandığında kromozomal kökenin ve ökromatin materyal taşıyıp taşımadıklarının belirlenmesi son derece önemlidir. Klasik sitogenetik yöntemlerin (G,C ve NOR bantlama) yetersiz kaldığı durumlarda moleküler sitogenetik yöntemler kullanılmaktadır.

Marker kromozomlar, X/Y ya da otozom kromozomlarından köken alabilir. Disentrik, izodisentrik veya halka kromozom yapısında olabilirler. Otozomal kökenli markerlar içinde en sıklıkla (~ %40) görülen 15'inci kromozom kökenli disentrik kromozomlardır. Çoğunlukla *inv dup(15)* olarak belirtilen bu markerlar, 15'inci kromozomun kısa kolunu ayna simetrisinde taşıyan çift satellitli markerlardır. Marker kromozomun ökromatin materyali içerip içermediğine bağlı olarak fetal anomali riski

çok düşükten %100'e kadar geniş bir dağılım gösterebildiğinden genetik danışmada problemlere yol açabilir (Lopez-Valdes JA ve ark. 2009; Karaman B ve ark, 2006) .

2.2.4.1.7. Mozaisizm

Mozaisizm, bir organizmada aynı zigottan kaynaklanan ancak genetik yapıları farklı birden fazla hücre dizisinin birlikte bulunmasıdır. Bu durum, zigotun geçirdiği mitoz bölünmelerde yeni bir mutasyon oluşmasından kaynaklanır. Bu mutasyon gen ya da kromozomal düzeyde olabilir. Kanserde olduğu gibi belli bir doku ile sınırlı kalabileceği gibi tüm dokularda da yaygın olarak bulunabilir. Postzigotik mutasyonlar normal bir zigottan anomalili hücre dizisinin ya da anomalili bir zigottan normal hücre dizisinin oluşmasına yol açabilir. Trizomik bir zigotun postzigotik bölünmelerde fazla bir kromozomunu kaybederek (trizomiden kaçış mekanizması) diploid hücre dizisinin ve mozaisizmin oluşması, letal olabilecek trizomik embriyoya yaşam şansı verirken, normal embriyoda postzigotik mitotik hatalar ile trizomik hücre dizisinin ortaya çıkması mozaik kromozom anomalili bireylerin dünyaya gelmesine yol açar. Mozaisizmin letal kromozom anomalilerine yaşam şansı verdiği bir örnek olarak Pallister-Killian sendromu verilebilir. Sitogenetik olarak normal kromozom setine ek olarak izokromozom 12p nin bulunması ile karakterize bu sendromda anomali, periferik lenfosit kültürlerinde değil, fibroblast dokusunda gösterilebilmektedir. Bu nedenle, fenotipik olarak bu sendromu gösteren bireylerde tanı çalışmalarında doğru dokunun seçimi önemlidir. Mozaisizmin bireyin fenotipine etkilerini değerlendirmek, özellikle prenatal tanıda saptandığında çok güçtür. Bu etkiler, kromozom anomalisinin türü, non-disjunction olayının zamanı, anomalili hücrelerin oranları ve etkilenen dokulara bağlı olarak değişir (Turleau C ve ark., 1986; Pagon RA ve ark., 1979).

2.2.4.2. Mikroskobik olarak “Görünürde” Dengeli Yapısal Kromozom Anomalileri

Dengeli yapısal anomalilerde, kromozom setindeki genetik bilgide herhangi bir değişim olmadığından fenotipin etkilenmesi de beklenmemektedir. Ancak, *de novo* oluşan kromozom anomalilerinin, sitogenetik olarak dengeli görüldükleri halde moleküler düzeyde dengesiz olmaları durumunda klinik bulgulara yol açabildikleri bilinmektedir. Görünürde dengeli bu kromozomal değişimin fenotip üzerindeki etkisi beş farklı mekanizma ile açıklanmaktadır;

1-) Doz etkisi; submikroskobik düzeyde kırık bölgelerinde oluşan dengesizliklerde söz konusu genlerde dozaj değişimi sonucunda fenotipin etkilenmesi,

- 2-) Direkt olumsuz etki; yapısal kromozom anomalisinin oluşumu sırasında kırık noktasının işlevsel bir geni bölmesi ile anlatımının bozması,
- 3-) Parental origin etkisi; ilgili kromozom segmentinin parental kökeninin önemli olması (uniparental dizomi),
- 4-) Pozisyon efekti; genin oluşan anomali ile yeni yerinde farklı işlev ya da anlatım modeli kazanması ile füzyon genlerinin ortaya çıkması,
- 5-) Bahsedilen dört etkinin kombinasyonudur (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

Yapılan çalışmalarda, *de novo* görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi taşıyan olgularda fenotipik olarak etkilenme oranları; resiprokal translokasyonlar için % 6,1, Robertsonian translokasyonlar için % 3,7, inversiyon ve insersiyonlar için % 9, CCR'lar için ise % 18 - 23 olarak verilmektedir. Normal fenotipteki dengeli taşıyıcı ebeveynlerin, kromozomal olarak kendileri gibi dengeli taşıyıcı olmasına rağmen fenotipik olarak etkilenmiş çocukları olabilmektedir. Bu durum da submikroskopik dengesizliklerin varlığı, dengeli/dengesiz mozaiklik olması, pozisyon efekti ve UPD gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır (Warburton D, 1991; Madan K, 1997; Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

2.2.4.2.1. İversiyonlar

İversiyonlar, intrakromozomal yapısal anomalilerdir. Bir kromozomda 2 kırık ile oluşan segmentin ters dönerek, aynı bölgeye girip birleşmesiyle meydana gelir. Anomali, segment sentromer içeriyorsa “perisentrik inversiyon”, sentromer içermiyorsa “parasentrik inversiyon” olarak adlandırılır. Perisentrik inversiyonlarda kromozomun p/q kol oranında değişim olduğundan sitogenetik tanı oldukça kolaydır. Parasentrik inversiyonlar ise kol oranında değişim olmadığından ancak bant yapısındaki değişim ile tanınabilirler. İversiyonlar genellikle taşıyıcılarda anormal bir fenotipe neden olmazlar, ancak taşıyıcıların dengesiz gamet oluşturma riski yüksektir.

En sık görülen inversiyon, 9 numaralı kromozomun p11q12 heterokromatin bölgesini içeren perisentrik inversiyondur ve toplum riski %0.8-2'dir (Lee SG ve ark., 2010). Bu inversiyon fenotipi etkilemediğinden ve ayrıca fetal kayıplar veya dengesiz karyotipli çocukların doğmasına ilişkin önemli bir risk oluşturmadığından normal varyant veya polimorfizm olarak kabul edilir (Nussbaum RL ve ark., 2004).

Perisentrik inversiyonlarda genel rekombinasyon riski %0.8-15 arasında verilmekte ancak inversiyon segmentinin her iki kırık noktasının terminal uçlara yaklaştığı durumlarda yani segmentin büyümesi ile bu oran (%75-80) artmaktadır.

Parasentrik inversiyonların rekombinasyonlarında asentrik ve disentrik ürün oluştuğundan yaşayabilen dengesiz ürün olasılığının çok düşük olduğu bildirilmektedir (Kaiser P, 1984; Daniel ve ark., 1989; Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).(Şekil 2.8)

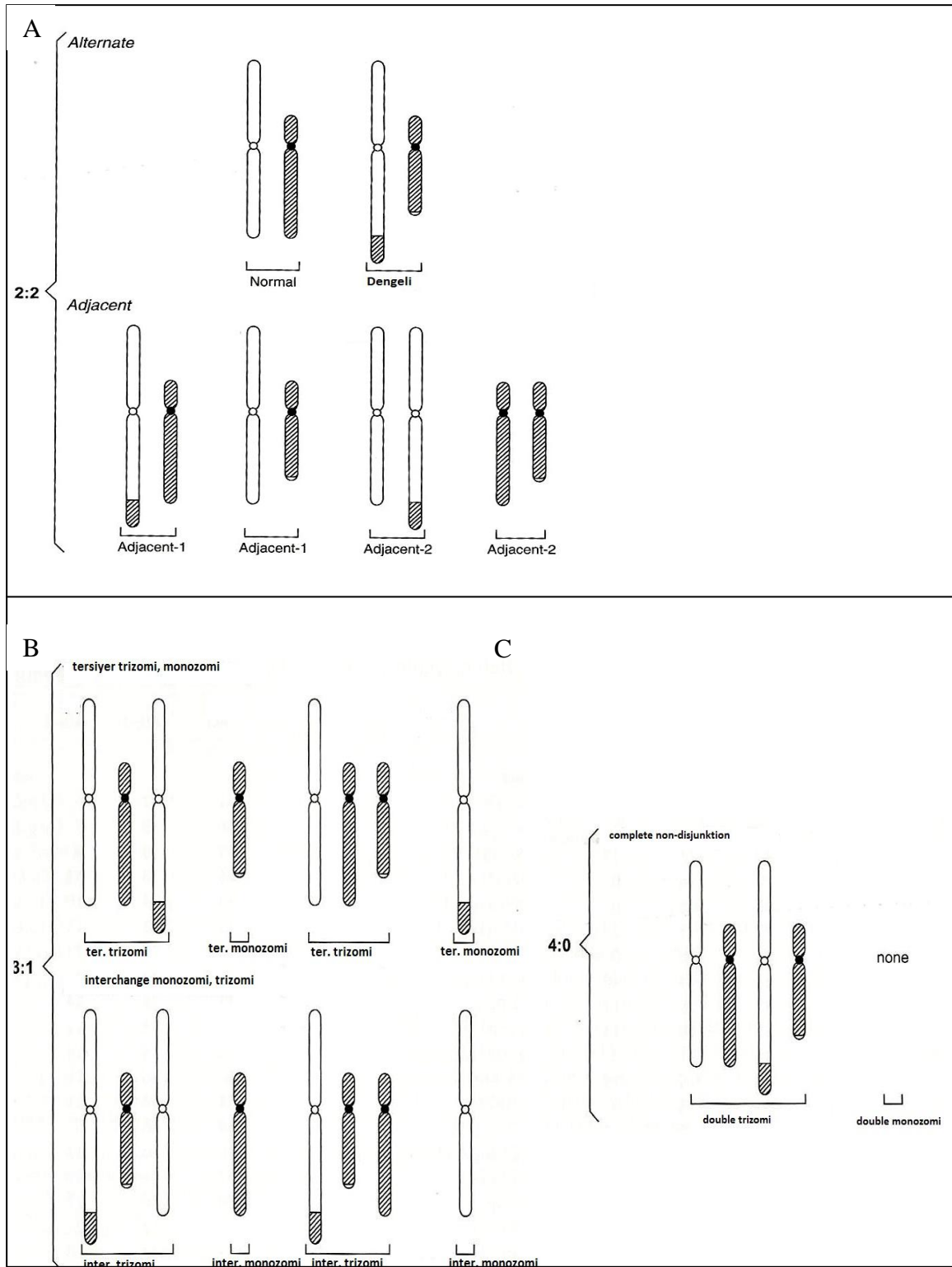
2.2.4.2.2. Translokasyonlar

Translokasyonlar, homolog olmayan kromozomlar arasında parça değişimi (resiprokal translokasyon), kromozomun ara bir segmentinin koparak aynı ya da farklı bir kromozomun ara bölgesine katılması (insersiyonal translokasyon) ya da bağımsız iki akrosentrik kromozomun sentromer ya da p kollarından birleşmesi (Robertsonyan translokasyon) ile oluşan yapısal kromozom anomalileridir (Miller OJ ve Therman E, 2001; Nussbaum RL ve ark. 2004).

2.2.4.2.2.1. Resiprokal Translokasyonlar

Homolog olmayan iki kromozom arasında karşılıklı parça değişimi “resiprokal translokasyon” olarak adlandırılır. Genellikle en az iki kromozom arasında, iki kırık oluşumu ile meydana gelir ve toplam kromozom sayısı değişmez. Genellikle dengeli anomalilerdir ve klasik bantlama teknikleri ile tanımlanabilirler. Resiprokal translokasyonlar, yaklaşık olarak 500 yenidoğanda 1 görülürler (Jacobs PA ve ark. 1992).

Translokasyon taşıyıcılarının gametogenez sırasında oluşacak kromozom dağılımına göre, farklı ürünler ortaya çıkmaktadır. Resiprokal translokasyonların mayoz bölünmenin pakiten evresinde kuadriyalent oluşturup ardından kutuplara çekilmesi esnasında her iki kutba translokasyona katılan kromozomlardan birer kromozomun gitmesi ile 2:2 dağılım, bir kutba 3 diğer kutba ise 1 kromozom gitmesi ile 3:1 dağılım ve dört kromozomun da bir kutba çekilmesi ile 4:0 dağılım gerçekleşir (Nussbaum RL ve ark. 2004). (Şekil 2.9)



Şekil 2.9: Resiprokal translokasyonların dağılım şeması; A- 2:2 dağılım, B- 3:1 dağılım; C- 4:0 dağılım (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011)

Translokasyonlarda dengesiz ürün olasılıkları, translokasyona katılan kromozom segmentinin büyüklüğü, kırık noktasının yeri, bu segmentlerin taşıdığı işlevsel genlerin

miktarı, taşıyıcının anne ya da baba olmasına göre önemli değişiklikler göstermektedir. Translokasyon taşıyıcılarında, dengesiz ürün taşıyan gamet riski, etkilenmiş çocuk doğurma riski ve gebelik kaybı riski ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Transloke olan segment büyüklüğü arttıkça dengesiz ürünün yaşama bağdaşma oranı düşmektedir. Translokasyon segmentinin küçük olmasının adjacent 1 dağılım modeline, sentrik segmentin küçük olmasının adjacent 2 dağılım modeline, akrosentrik kromozomların küçük segmentle katıldığı translokasyonlarda 3:1 dağılım modeline yatkınlık oluşturduğu, hem transloke olan hem de geri kalan kromozom segmentinin büyük olduğu translokasyonlarda ise yaşama bağdaşabilen dengesiz ürün olasılığının olmadığı öne sürülmektedir (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

2.2.4.2.2.2. Robertsonyan Tipi Translokasyonlar

İki akrosentrik kromozomun kısa kollarını kaybederek sentromer ya da sentromere yakın bölgeden birleşmesiyle oluşur. Akrosentrik kromozomların kısa kollarında, p11 bölgesinde satellit DNA'lar I, II, III, IV, ve β ; p12 bölgesinde 18S ve 28S ribozomal RNA'yı kodlayan genlerin tekrar dizileri; ve p13 bölgesinde β -satellit DNA ve telomerik diziler vardır. Bu nedenle kısa kol kayıplarında fenotipin etkilenmesi beklenmemektedir. Dengeli Robertsonyan tipi translokasyon taşıyıcılarında total kromozom sayısı 45'dir. Genel populasyonda görülme sıklıkları 1/1000'dir. Tüm akrosentrik kromozomlar arasında Robertsonyan tipi translokasyon kombinasyonları saptanmakla birlikte en sık görülen iki tip 13q14q (~1/1300) ve 14q21q translokasyonlarıdır. Bunlar tüm Robertson tipi translokasyonların yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır .

Dengeli Robertson tipi translokasyon taşıyıcıları fenotipik olarak normal olmalarına karşın dengesiz gamet verme olasılıkları yüksektir; trizomik ve monozomik zigotlar ortaya çıkar. Homolog kromozomların Robertson tipi translokasyonları için taşıyıcıların verdiği gametlerin yarısı dizomik, diğer yarısı da nullizomik olduğundan, sağlıklı ürün şansı yoktur (Shaffer LG ve Lupski CR, 2000; Marand GA, 2005).

2.2.4.2.2.3. İnsersiyel Translokasyonlar

İnsersiyel translokasyonlar, iki kırık noktası ile serbest kalan intersiyel bir kromozom parçasının, oluşan üçüncü bir kırık noktaya girerek birleşmesi ile oluşur. Bu olay aynı bir kromozom üzerinde ya da farklı kromozomlar arasında oluşabilir ve çok ender görülürler. Dengesiz gametlerin döllenişmesiyle oluşan gebelik ürünlerinde, araya giren

segmentin parsiyel delesyonu veya duplikasyonuna bağlı olarak ağır klinik bulgular ortaya çıkar (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

İnsersiyel translokasyonların %14'ü *de novo* oluşmaktadır, %86'sı ise ailevi kalıtım göstermektedir (Van Hemel JO ve Eussen HJ, 2000).

2.2.4.2.2.4. Kompleks Kromozom Anomalileri (CCRs)

Kompleks kromozom anomalileri (complex chromosomal rearrangements: CCRs), en az iki kromozomda en az üç kırıkla oluşan yeniden dzenlenmelerdir. Çoğunlukla *de novo* oluşan bu anomaliler nadiren ailevi de olabilmekte, dengeli yada dengesiz olarak görülmektedir. Dengesiz *de novo* CCRs sıklıkla MKA/MR 'li bireylerde saptanırken dengeli CCRs kötü obstetrik öykülü çiftlerde saptanmaktadır. Kırık noktalarının sayısı artıkça etkilenme olasılığı da artmaktadır .

FISH çalışmalarının yaygın olarak kullanılmasından önce CCRs, kırık noktalarının sayısı, ailevi yada *de novo* oluşu ve anomaliye katılan kromozom sayısı gibi kriterlere göre sınıflandırılmıştır (Kleczkowska A ve ark.1982 ; Kousseff BG ve ark., 1993).

FISH çalışmalarının yaygın olarak kullanılması ile birlikte en kabul gören sınıflandırma Gardner ve Sutherland'ın sınıflandırmasıdır. Buna göre CCRs;

- Three way exchange ( kırıklı değişim) : 3 kromozomun katıldığı, 3 kırıkla oluşan yeniden düzenlenmeler
- Complicated CCRs (Komplike CCRs) : Kırık sayısının anomaliye katılan kromozom sayısından daha fazla olduğu komplike yeniden düzenlenmeler
- Simple CCRs (Basit CCRs) : 2 bağımsız, basit düzenlenmenin bir arada görüldüğü anomaliler olmak üzere 3 grupta değerlendirilir .

Madan 2012'de CCR ları aşağıdaki gibi 4 farklı grupta sınıflamayı önermiştir;

Tip 1: Kırık sayısı = kromozom sayısı

Tip 2: Kırık sayısı = kromozom sayısından bir fazla ve bir inversiyon segmenti içerir.

Tip 3: Kırık sayısı > kromozom sayısı ve bir veya daha fazla insersiyon segmenti içerir.

Tip 4: Kırık sayısı > kromozom sayısı ve bir orta segment içerir (Madan K, 2012).

CCR taşıyıcılarında genetik danışma oldukça zordur. CCR taşıyıcılarının gebeliğinde 4 muhtemel sonuç öngörülebilir;

1- Gebeliğin spontan düşükle sonlanması; CCR taşıyıcılarının gebeliklerinin düşükle sonlanma olasılığı dişi taşıyıcılar için %46, erkek taşıyıcılar için ise %60'tır (ortalama risk %48,3) (Gorski JL ve ark., 1988; Madak K. ve ark., 1997; Wang H ve ark., 1993).

2- Dengesiz yapısal kromozom anomalisi taşıyan MKA/MR'li çocuk riski %18,4 dir.

3- Canlı doğanlar içinde aynı dengeli CCR için taşıyıcılık olasılığı %50 ve normal karyotip olasılığı %31,6'dır (Gorski JL ve ark., 1988; Madak K. ve ark., 1997).

269.371 olguluk bir prenatal tanı serisinde CCR sıklığı % 0.03 olarak belirlenmiş ve dişi taşıyıcıların erkeklerden 3 kat fazla olduğu gösterilmiştir (Giardino D ve ark. 2009). Erkek CCR taşıyıcılarının önemli bir kısmında oligospermi ve azosperminin yol açtığı infertilite sorunu olduğu bildirilmektedir (Kim JW ve ark., 2010).

Madan ve ark.'nın (1997) CCR taşıyıcısı 60 olguluk serilerindeki olguların %68'i (41/60) normal fenotipli (32 erkek / 9 dişi) olup kötü obstetrik öykü nedeniyle, %28'i (14/60) ise MKA/MR nedeniyle, %9'u ise (5/60) prenatal tanıda tesadüfi olarak saptanmış. Bu anomalilerin %18'i (11/60) ailevi, %52'si ise *de novo* idi ve %30'unun (18/60) kalıtım modeli belirlenememişti. Bu seride, *de novo* dengeli CCR olgularında fenotipik olarak etkilenme oranı %23 idi. Ballarati ve ark., (2009) CCR olgularında array tekniği ile yaptıkları çalışmada anomalinin submikroskobik olarak dengeli olmadığını, kırık noktalarında ya da kırık noktalarından bağımsız bölgelerde genomik dengesizliklerin olduğunu göstermiştir.

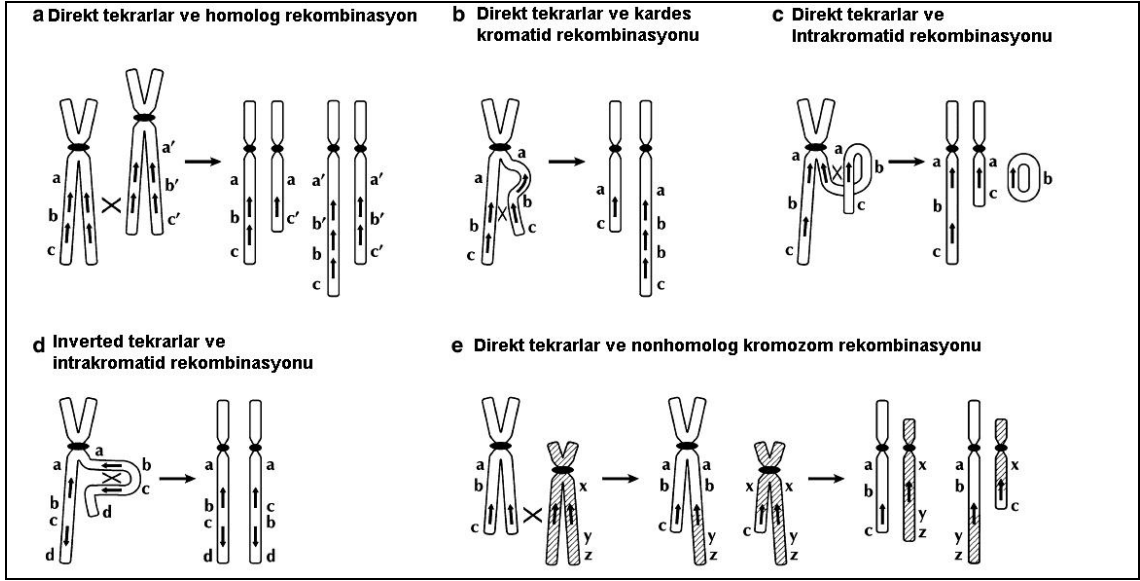
2.2.5. YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİNİN OLUŞUM MEKANİZMALARI ve ETİYOLOJİSİ

2.2.5.1. Nonallelik Homolog Rekombinasyon (NAHR)

Somatik ve germ hücrelerinde homolog kromozomların kardeş olmayan kromatidleri arasında genetik materyal değişimi normal bir olaydır. Bu tip parça değişimleri gen havuzunun çeşitliliğini sağlamaktadır ve normal bir hücre bölünmesinin zorunlu elemanıdır. Allelik olmayan kromozom bölgelerinin değişimi yapısal yeniden düzenlenmelere neden olur. Kromozom kırılması teorik olarak insan genomunun herhangi bir yerinde meydana gelebilir ve ilgili kromozom/lar sayısız yolla yeniden düzenlenebilir. Bu sebeple potansiyel yeniden düzenlenmelerin sayısının sonu yoktur. Ancak, genomun bazı özel bölgeleri, temelindeki mimari neden ile kromozom kırıklarına daha yatkındır. Genomun başka yerlerinde de tekrarlayan bir DNA dizisinin varlığı çift zincir kırıklarının oluşumuna yatkınlık sağlayabilir ve/veya özel bir sekonder DNA yapısının oluşmasına neden olabilir (Stankiewicz P ve Lupski JR, 2002; Gu W ve ark., 2008).

Pek çok yeni çalışma, tekrarlayan ve *de novo* yeniden düzenlenmelerin allelik olmayan homolog bölgelerin arasındaki rekombinasyona sekonder olarak meydana geldiğini göstermiştir. Bu bölgelerin homolojisi bazen "high copy number repeats" olarak karşımıza çıktığı gibi (Alu veya satellit DNA dizileri), büyük çoğunluğu low copy repeats (LCRs)'dir. Literatürlerde tanımlanan tekrarlayan duplikasyon, delesyon, inversiyon, translokasyon, izokromozom ve marker kromozom örnekleri "LCR-mediated nonallelic homologous recombination (NAHR)" olayına sekonder olarak ortaya çıkmaktadır. LCRs'lar bu rekombinasyon olayları için temel görev yaparlar ve bu bölgeler 10-500 kilobaz (kb) büyüklüğünde olup %95 dizi benzerliği gösterirler. Genom boyunca dağılmış olmalarına rağmen, perisentrik kromozomal bölgelerde daha sık bulunurlar. Bu nonallelik homolog olmayan rekombinasyonlar sonucunda oluşan değişimin büyüklüğü ve yeniden düzenlenmenin tipi, aralarındaki krosingover sayısına bağlı olduğu kadar, LCRs'ın büyüklüğü, lokalizasyonu ve yönüne de bağlıdır (Stankiewicz P ve Lupski JR, 2002; Kumar D., 2008)

Aynı kromozomda yer alan direkt LCRs (aynı yönde olan) hem duplikasyon hem de delesyon oluşumuna neden olabilir (Şekil 2.10-a). Direkt LCRs yardımıyla, homolog kromozomlar veya kardeş kromomatitler arasında gerçekleşen tek bir NAHR komplementer delesyon ve duplikasyon oluşumuna neden olur (Şekil 2.10-b). Eğer direkt LCRs'ın NAHR'u tek bir kromatitde (intrakromatid) gerçekleşirse sadece delesyonlar karşımıza çıkar (Şekil 2.10-c). Şekil 2.10-d'de görüldüğü gibi inversiyonlar, ters yönlü LCRs'ın intrakromatid rekombinasyonlarına bağlı olarak oluşabilir. Tamamen farklı kromozomlar üzerinde yerleşmiş LCRs'lara bağlı NAHR olayları, translokasyonların ya da daha kompleks yeniden düzenlenmelerin oluşumuna neden olabilir (Şekil 2.10-e) (Giglio S ve ark., 2001).



Şekil 2.10: NAHR oluşum mekanizmaları (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011)

Rekombinasyon olayları ile oluşan inversiyon, duplikasyon ve delesyonların büyüklüğü LCRs'ların birbirine yakınlığı ve uzunluğu ile ilişkilidir. Genel olarak, daha geniş yeniden düzenlenmiş bölgeler, daha geniş LCRs'ların varlığında ortaya çıkar.

LCRs, tek gen içinde oluşan büyük delesyon/duplikasyonlar, genin içinde veya bitişiğinde meydana gelen rekombinasyonlar sonucu oluşur. Bu yeniden düzenlenmeler submikroskobiktir ve tanısı için moleküler tekniklerin kullanılması gerekir. Örneğin Hunter Sendromu, Hemofili A, ailevi juvenil nefronofitizis gibi hastalıklar bu mekanizma ile oluşurlar (Gu W ve ark., 2008). Tek gen yeniden düzenlenmelerinin tersine, farklı kromozomlarda LCRs aracılı NAHR'lerin varlığı (tipik olarak 1.5-5 megabaz(mb) büyüklüğünde) moleküler sitogenetik yöntemlerle gösterilebilir ve pek çok geni kapsar. Bu grup için tanımlanmış çok sayıda mikrodelsiyon/mikroduplikasyon sendromları kadar pek çok tekrarlayan yeniden düzenlenmeler (örneğin (4p16;8p23) translokasyonu) ve 15. ve 22. kromozomlardan köken alan inverted duplikasyon anomalileri yer alır (Giglio S ve ark., 2002).

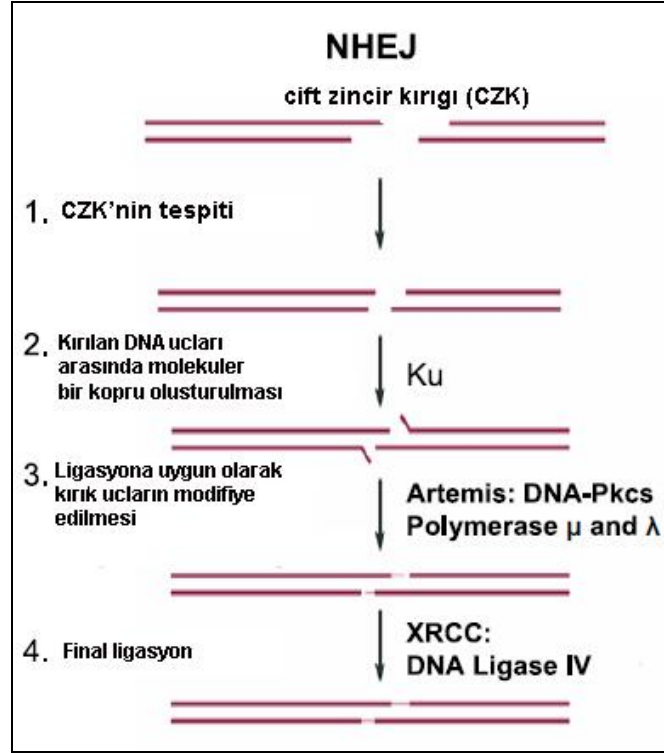
Pek çok kromozomal yeniden düzenlenmede, LCRs temel neden olarak görünse de, Alu veya satellit DNA dizileri gibi high copy number repeat'ler de rol oynamaktadır. En az 32 tek gen hastalığı ve 16 kanser olgusunun, intrakromozomal Alu- aracılı rekombinasyon olayları sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Deininger PL ve Batzer MA, 1999). Daha az görülmesine rağmen interkromozomal Alu-Alu rekombinasyonları da meydana gelmektedir. Alu tekrarlarının neden olduğu XY translokasyon taşıyıcısı bir XX erkek, bu olaya bir örnek olarak gösterilebilir (Rouyer F ve ark., 1987). Ek olarak,

satellit DNA dizileri ve/veya akrosentrik kromozomların kısa kollarında yer alan diğer tekrarlayan komşu diziler aracılı interkromozomal NAHR'ların bazı Robertsonyan tipi translokasyonların oluşumundan sorumlu olduğu hipotezi de vardır. Satellit DNA dizilerinin rekombinasyonlarının, 9. kromozomun uzun kolunun proksimalinde yer alan heterokromatin bölgenin tekrarlayan inversiyonlarına neden olduğu da bildirilmiştir (Samonte RV ve ark., 1996).

2.2.5.2. Nonhomolog End Joining (NHEJ)

Tekrarlayan (11;22) translokasyonu üzerinde yapılan çalışmalar, DNA'nın yapısının kromozom yeniden düzenlenmeler için "hot spot"lar oluşturabileceğini desteklemiştir. Bu translokasyonun kırık noktalarını içeren bölgeler homoloji göstermemektedir. Ancak stabil olmayan AT-zengin palindromik DNA dizileri içermektedir. Bu palindromik diziler, DNA'da çift zincir kırıklarına ve dolayısıyla translokasyonların oluşumuna neden olan nukleazlara duyarlı, kusurlu saç tokası ya da haç biçimindeki sekonder yapının oluşumundan sorumludurlar. DNA'da meydana gelen bu çift zincir kırıkları nonhomolog end joining (NHEJ) diye adlandırılan bir mekanizma ile tamir edilir (Sheridan MB ve ark., 1997). Pek çok detaylı incelenmiş translokasyonun kırık noktalarında nadir olarak palindromik diziler saptanmıştır. 22. kromozomun kısa kolunun proksimalinde, aynı tekrarlayan 11q;22q translokasyonunda olduğu gibi, AT-zengin palindromik dizinin gösterilmesi bu nadir olgulara örnek verilebilir. *NFI* geninin 31. intronundaki bir palindromik dizi, birbirinden bağımsız iki 17q;22q translokasyonunda da bildirilmiştir. 5 olguda ise tekrarlayan 8q;22q translokasyonun 8q24.13 bölgesinde yer alan bir AT-zengin palindromik dizi nedeniyle oluştuğu öne sürülmüştür (Kehrer-Sawatzki H ve ark. 1997; Sheridan MB ve ark., 1997; Kurahashi H ve ark., 2003; Gotter AL ve ark., 2004).

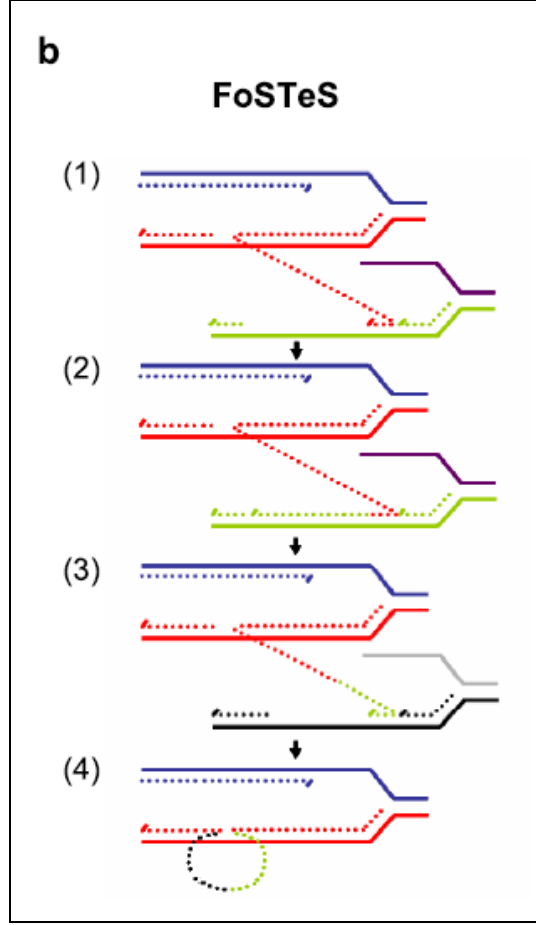
Pek çok yeniden düzenlenme NHEJ'ye sekonder olarak meydana geldiği için palindromik dizilerin kullanılmış olduğu görülememiş ve bunun yerine, DNA'da çift zincir kırıklarının oluşumuna meyilli kromatin yapılarına (topoizomeraz II kesim bölgesi, DNaz I duyarlı bölgeler veya artmış trinüklotid tekrar bölgeleri gibi) atıfta bulunulmuştur (Lieber MR, 2010).



Şekil 2.11. NHEJ oluşum mekanizması (Gu W ve ark., 2008)

2.2.5.3. Fork Stalling and Template Switching (FoSTeS)

Son olarak, üçüncü bir mekanizma olan fork stalling and template switching (FoSTeS) modelinin, NAHR ve NHEJ mekanizmalarına sekonder olduğu gösterilemeyen çoklu kompleks yapısal kromozom yeniden düzenlenmelerinin oluşumundan sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (Zhang F ve ark., 2009). FoSTeS ile ilişkili kompleks yeniden düzenlenmeler, kesintili replikasyon zincirinin, kendi replikasyon çatalından diğer replikasyon çatallarına sıçrayarak taşınmasına sekonder olarak gelişmiş , aralıklı ve rastgele bir şekilde nonduplike veya triplike olmayan segmentlerle birlikte serpiştirilmiş delesyon/duplikasyonları kapsar. Bu anormal replikasyon sürecinin replikasyon çatalının durmasına sekonder olarak, protein-DNA komplekslerinin ve/veya spesifik DNA yapıları tarafından başlatıldığı düşünülmektedir. İlk önce çatalda replikasyon durur (1), kesintili DNA zinciri orijinal template'ten çözülür ve kısa homolog bölgeler kullanılarak aynı ya da farklı kromozomun başka bir yerine bağlanır (2,3) ve replikasyon yeniden başlatılır (4)(Şekil 2.12). Palizaeus-Merzbacker hastalığında sorumlu *PLP1* geninin duplikasyonlarının çoğunun, Potocki-Lupski ile ilişkili 17p11.2 duplikasyonlarının FoSTeS mekanizmasına sekonder olarak ortaya çıktığına inanılmaktadır (Zhang F ve ark., 2009).



Şekil 2.12.: FOSTES oluşum mekanizması (Gu W ve ark., 2008)

2.2.5.4. Kromotripsis ve kromoanagenezis kavramları

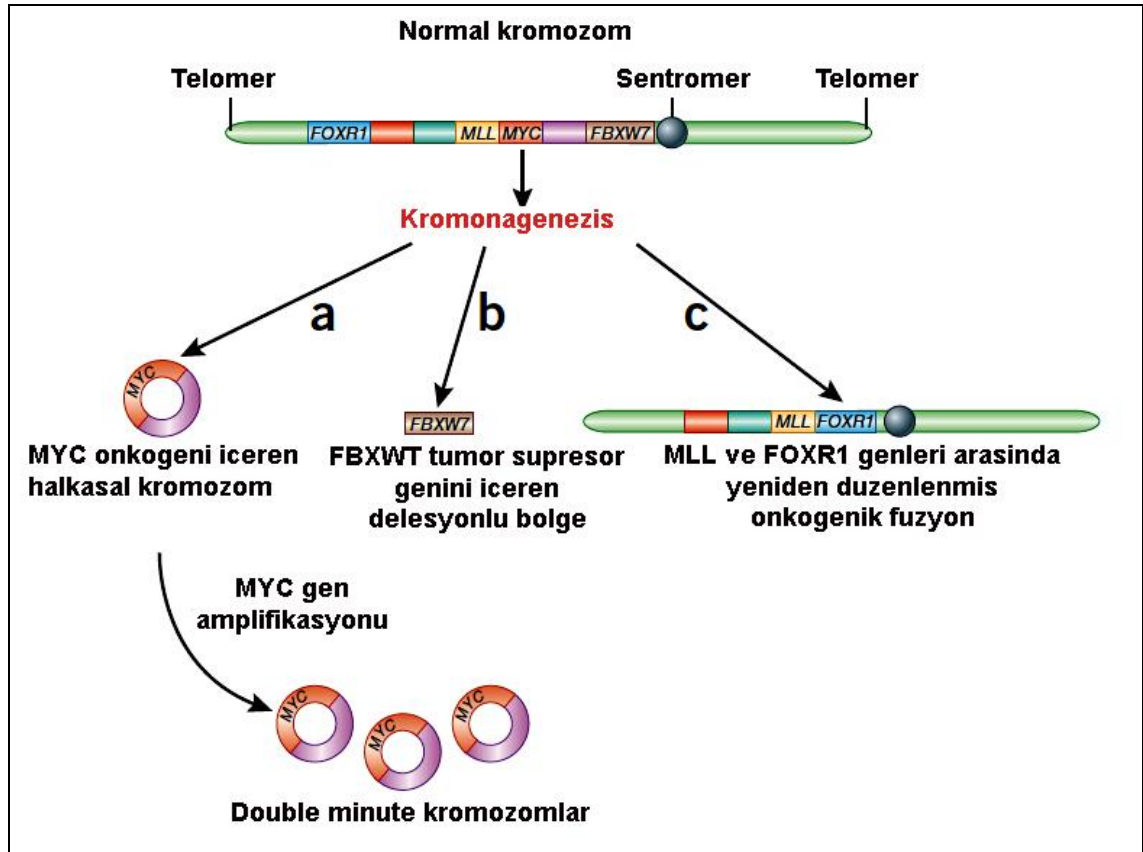
Özellikle kanser dokularında, tek bir hücrede tek bir olay ile pek çok yeniden düzenlenmenin bir arada olduğu görülmektedir. Bu tip yeniden düzenlenmeleri açıklamak üzere provoke edilmiş iki mekanizma mevcuttur. Birinci mekanizma; kromotripsis olarak adlandırılır (Chromo=kromozomlar, tripsis=parçalanma). İkincisi ise; lokal yeniden düzenlenmelerin, DNA replikasyonu sırasında, mikrohomolog dizilerin yönlendirdiği template değiştirme mekanizmasının "kromoanagenezis (anagenez=yeniden doğma)" olarak adlandırılmasıdır. Kanser hücrelerinde yapılan çalışmalar, pek çok yeniden düzenlenmenin kromotripsis mekanizması ile gerçekleştiğini ortaya koyan kanıtlar sunmuştur. Kromoanagenezis mekanizması ile ortaya çıkan birbirinden bağımsız yeniden düzenlenmeler, tek bir katastrofik olay ile ortaya çıkarlar (Holland AJ ve Cleveland DW, 2012).

Yeniden düzenlenmelerin sonucunda DNA fragmentlerinin ve heterozigozitenin kaybı, kromotripsis süresince bir kez olan ve bir daha tekrarlanmayan kataklizmik bir olay ile gerçekleşir (Şekil 2.13). Şekil 2.13'de 'da kromozom parçalanmasının ardından NHEJ mekanizması ile kompleks yeniden düzenlenmelerinin ortaya çıkışı gösterilmektedir.

Kromotripsis sonucunda spontan bir şekilde pek çok çift zincir kırıkları oluşur ve parçalanmış bir veya birkaç kromozom (veya bir kromozom kolu) ortaya çıkar. Parçalanmış fragmentlerin pek çoğu NHEJ mekanizması ile bir araya getirilir (kromoanajenezis).

Yeniden düzenlenmiş kromozom iki kopya sayısı durumu içermektedir. Bir yüksek (high) kopya sayısı durumu (her bir yeniden bağlanmış fragment) ve bir düşük (low) kopya sayısı durumu (kaybolmuş ve yeniden birleştirilememiş DNA fragmentleri).

Aynı zamanda kırılmış DNA fragmentleri halkasal formda birleşerek ekstra kromozomal double minute kromozomları oluşturabilirler (Chen JM ve ark., 2012).



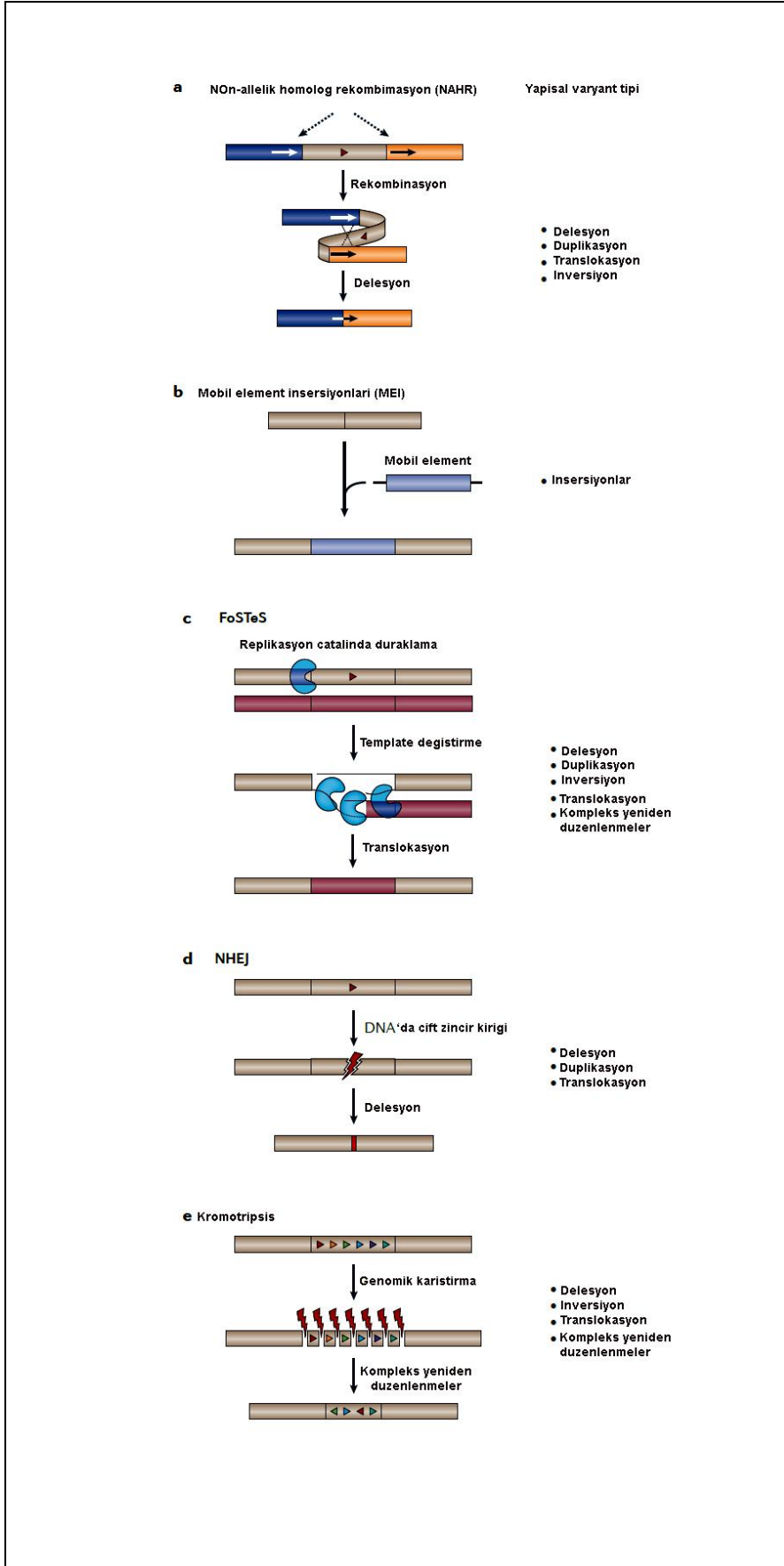
Şekil 2.13.: Kromotripsis sürecinde gerçekleşmesi muhtemel olay örnekleri (Holland AJ ve Cleveland DW, 2012)

2.2.6. Kopya sayısı varyasyonları (CNVs) ve Tek nükleotid polimorfizmi (SNP)

İnsan genomunun polimorfizmler olarak adlandırılan sadece %0,1'lik kısmı bireyden bireye değişiklik gösterir ve fenotipik farklılıklarla ilişkili olabilir. Genomdaki varyasyonlar arasında klinik sonuçları açısından en önemli olanlar yapısal varyasyonlardır. Yapısal varyasyonların dengesiz olan formları (kopya sayısı

değişikliklerine yol açan) büyük delesyon, duplikasyon ve insersiyonları, dengeli formları ise inversiyon ve translokasyonları kapsar. Referans genomla kıyasla, genomda farklı sayılarda bulunan ve büyüklüğü >1 kb olan bu DNA segmentleri "kopya sayısı varyasyonları (CNV)" olarak adlandırılır. Gelişen yeni teknolojiler sayesinde (mikroarray teknolojileri) genomdaki varlıkları keşfedilen bu değişimlerin tek bazlık varyasyonları, mutasyonlar ya da bir diğer polimorfizm olan "tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs)" olarak adlandırılır.

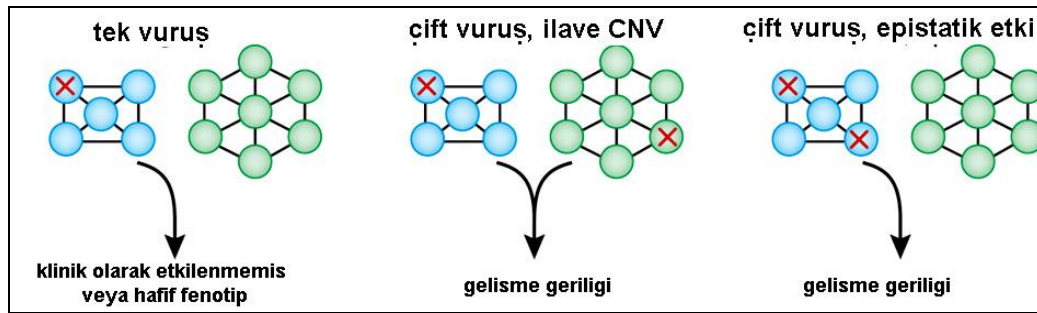
CNV'lerin oluşumlarından yapısal kromozom anomalilerinin oluşum mekanizmaları başlığında anlatılan mekanizmalar (NAHR, NHEJ, FoSTeS) sorumludur. Şekil 2.14'te bu mekanizmalar ve sonuçlarında oluşabilecek yapısal varyasyonlar özetlenmiştir (Weischenfeldt J ve ark., 2013).



Şekil 2.14.:CNV oluşum mekanizmaları ve olası sonuçları (Weischenfeldt J ve ark., 2013)

2.2.6.1. CNV'lerin fenotipik etkileri

Yapısal varyasyonların klinik sonuçları penetrans yokluğu veya ekspresivite değişkenliği gibi nedenlerle aynı ailedeki bireyler arasında bile değişiklik göstermektedir. Örneğin 1q21.1 bölgesinin yapısal varyasyonlarının mikrosefaliden, konjenital kalp anomalileri ile şizofreniye kadar ulaşan bir fenotipik spektrumu vardır. Çevresel faktörler / diğer yapısal varyasyonların varlığı bu fenotipik farkların ortaya çıkmasında etkili olabilmektedir. Klinik olarak fenotipi etkilemeyecek bir CNV'nin genomun başka bölgesindeki bir CNV'nin ya da çevresel faktörlerin etkileriyle patolojik bir özellik kazanması, "çift vuruş hipotezi" ile açıklanmaktadır (Şekil 2.15) (Veltman JA ve Brunner HG, 2010). TAR (trombositopeni-radius yokluğu) sendromu'nda, 1q21'de a-CGH tekniği ile gösterilen 200 kb'lık ve 11 geni kapsayan bir delesyon saptanmıştır. Otozomal resessif kalıtım modeli gösteren bu sendromda tek bir allelde gösterilen bu delesyon, diğer allelde fenotipin ortaya çıkmasına yol açan başka bir genetik nedenin varlığı ile açıklanmıştır. Ekzom tarama tekniği ile TAR hastalarında yapılan genom boyu dizileme analizlerinde *RBM8A* geninin 5' untransleted bölgesinde düşük frekanslı bir SNP saptanmıştır. Bu gen 200 kb'lık delesyon bölgesindeki genlerden biridir. Fonksiyonel çalışmalar, proteine çevrilmeyen bölgede ender görülen bir SNP'nin *RBM8A* geninin ekspresyonunun düşmesine sebep olduğunu göstermiştir. Bir veya daha fazla genin etkisiyle (modifier genler olarak bilinir) başka bir genin allellerinden birindeki ekspresyonun modifikasyonu fenotipik farklılıklardan sorumlu olabilir. Bu mekanizma "epistatik etkileşimler" (epistatic interactions) olarak bilinir. Bardet-Biedl sendromu ve Crohn hastalığında da fenotipik varyasyonların bu mekanizma ile oluştuğu bilinmektedir (Badano JL ve ark., 2006; Albers CA ve ark., 2012).

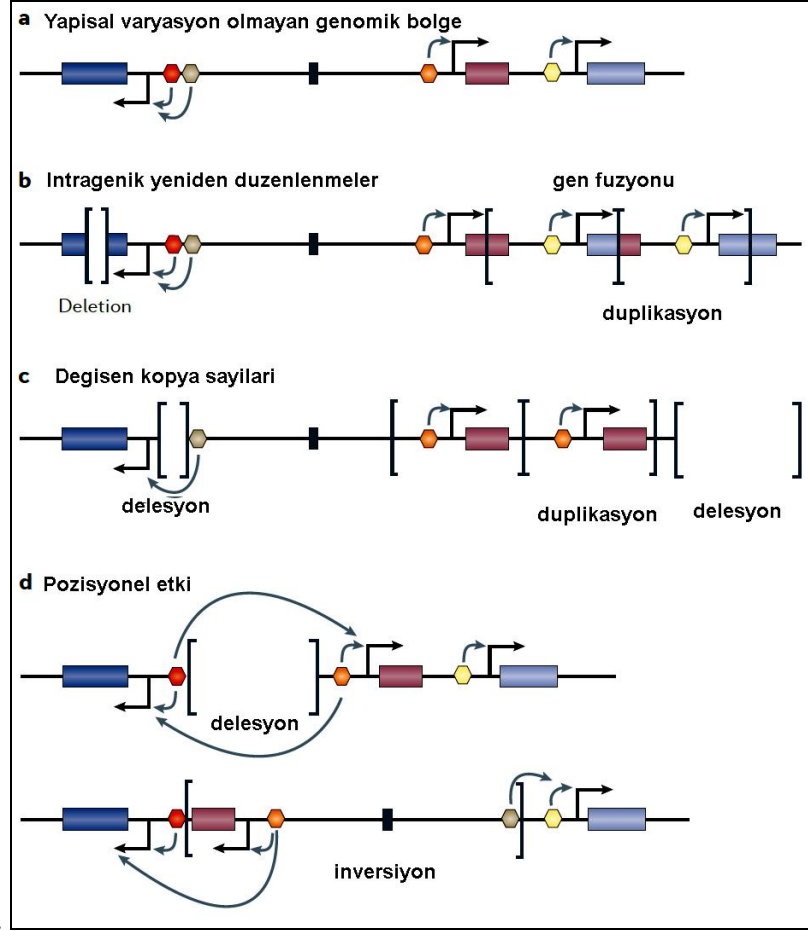


Şekil 2.15: Çift vuruş hipotezi ve klinik etkileri (Veltman JA ve Brunner HG, 2010)

Yapısal varyasyonlar, füzyon gen oluşturması veya aminoasite çevrilen bölgesindeki bir kısılma (truncated gen) da görünürde dengeli bir varyasyonun moleküler düzeyde fenotipik bir etkiye yol açmasına neden olur.

Genlerin kopya sayısındaki değişimlerin mRNA seviyesinde etkisi, fare ve transforme edilmiş insan hücrelerinde araştırılmaktadır. Bu çalışmalar CNV'ler ile mRNA seviyesinin arasında ciddi bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Schlattel A ve ark., 2011). Cis-regülatör elementleri (=aynı kromozomdaki genlerin ekspresyonunu regüle eden genomik bölgeler) kapsayan bir CNV direkt olarak mRNA seviyesini etkileyecektir. Örneğin silencer veya insulater elementleri etkileyen bir delesyon o genin ekspresyonunda beklenenin tersine artışa sebep olabilir.

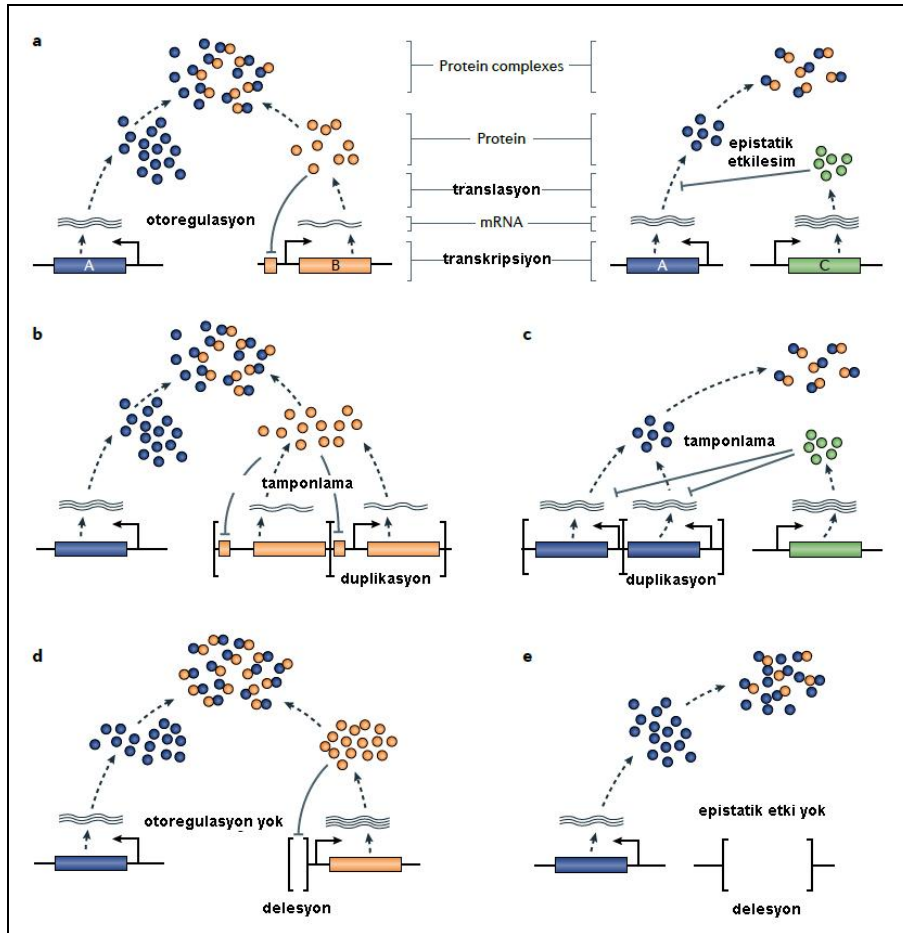
Şekil 2.16-a'da renkli kutular genleri, altıgen kutular doku spesifik enhancer'ları, siyah renkli dikdörtgenler ise insulatör'leri (regülatör elementlerin aktivitesini bloklayan yapılar) temsil etmekte, oklar ise hedef geni işaret etmektedir. Şekil 2.16' b ve d'de gendeki kodlanan bölgenin yeniden düzenlenmesi veya gen füzyonunun oluşmasının regülatör elementleri işlevsiz kılması gösterilmektedir. Ayrıca genomdaki farklı bir bölgeye yerleşen CNV'ler pozisyonel etkiyle gen ekspresyonunu etkileyen farklı regülatör elementlere maruz kalırlar (Şekil 2.16-d) (Schlattel A ve ark., 2011).



Şekil 2.16: Yapısal varyasyonların fonksiyonel sonuçları (Schlatti A ve ark., 2011).

CNV'ler mRNA düzeyinde ekspresyon değişikliklerine neden olduğu gibi protein düzeyinde de değişikliklere yol açabilir. Son zamanlardaki pek çok çalışma mRNA ve protein seviyeleri arasındaki korelasyonu araştırmaktadır (Schrimpf SP ve ark., 2009; Vogel C ve ark., 2010). Tüm genom boyu çalışmalara göre; özellikle memelilerde transkripsiyon oranı ve elementlerini etkileyen faktörler göz önünde bulundurulsa dahi, %40'tan fazla proteinin hücresel miktarı mRNA miktarına bağlı olarak değişmektedir. Sadece kopya sayısı değişikliklerine bağlı olmaksızın, hücresel protein seviyesi, post-transkripsiyonel düzenlenme, transkripsiyon kontrolü, proteinin tersiyer yapısı ve stabilitesi genler ve proteinler arasındaki etkileşimler ile düzenlenmektedir. Şekil 2.17'de CNV'lerin varlığında veya yokluğunda bu mekanizmanın nasıl gerçekleştiği özetlenmiştir. Şekilde genler (A,B,C genleri) farklı renklerdeki kutucuklarla gösterilmiştir. Normal durumlarda genlerin protein seviyeleri transkripsiyon ve transkripsiyon aşamalarında otoregülasyon ile düzenlenmektedir. B geni transkripsiyon oranını hemen önünde yer alan kendi cis-regülatör element ile düzenlemektedir (negatif feedback). İki genin ürünlerinin birbirleri arasındaki etkileşimleri de fenotipi

etkileyebilir. Şekil 2.17-c'de C proteini A proteinini seviyesini epistatik etki ile düzenlemekte ve A proteini B proteini ile fonksiyonel bir kompleks oluşturmaktadır. Gen dozajlarında değişime sebep olan yapısal varyasyonlar çeşitli mekanizmalarla tolere edilebilir. İki doz olan genin protein seviyesi yine negatif feedback mekanizması ile optimal seviyede tutulabileceği gibi, çapraz düzenleme ile başka bir genin proteinleri tarafından da düzenlenebilir (b,c). Bu mekanizma bazı genlerin neden dozaja hassas olmadığını ve duplikasyonların fenotipik etkilerinin daha az olduğunu açıklayabilmektedir. Bir genin protein seviyesini düzenleyen elementlerinden yoksun olması (delesyon), artık o genin otoregülasyon gerçekleştirememesine sebep olur (d). Diğer bir olasılıkta epistatik etki ile başka bir genin proteinini seviyesini düzenleyen genin delesyonu, düzenlediği genin protein ekspresyonunun artmasına sebep olabilir (e) (Veltman JA ve Brunner HG, 2010; Ghazalpour A ve ark., 2011).



Şekil 2.17: Protein seviyesinin düzenlenme mekanizmaları (Schlatti A ve ark., 2011).

CNV'lerin fenotipik etkilerini anlamak için, daha fazla sayıda klinik bulguları iyi tanımlanmış, genotip-fenotip korelasyonları yorumlanmış, doku ekspresyon bilgileri olan hasta popülasyonlarının incelenmesi gerekmektedir.

2.3. KROMOZOM ANOMALİLERİNİN TANI YÖNTEMLERİ

Kromozom analizlerinde hedef, sayısal anomalilerin yanı sıra olası tüm yapısal dengesizliklerin de araştırılmasıdır. İlk sayısal anomalinin tanımlandığı 1959 yılından günümüze kadar bu alanda büyük aşamalar kaydedilmiş, geliştirilen yeni tekniklerin kullanımı ile birçok mikrodilesyon/duplikasyon sendromu tanımlanmıştır (Portnoi MF ve ark., 2005; Bonnet C ve ark., 2010).

Günümüzde, bu tekniklerin birlikte kullanımı ile daha etkin fakat maliyet açısından da daha uygun olan yöntem ve algoritmaların geliştirilmesine çalışılmış ve çalışılmaktadır. İnsan kromozomlarının analizleri sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler yöntemlerle yapılabilmektedir. Sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemlerle metafazlar incelendiğinde çalışma hassasiyetine bağlı olarak sayısal ve yapısal anomaliler hem dengeli hem de dengesiz olarak araştırılabilirken, moleküler yöntemlerle dengeli yapısal anomaliler gösterilememektedir ancak artan çözünürlük oranı submikroskobik anomalilerin saptanma oranını bir hayli arttırmıştır .

2.3.1 Kromozom anomalilerinin tanısında klasik sitogenetik yöntemler

G bantlama, kromozom analizlerinde en yaygın kullanılan bantlama yöntemidir. Tekniğin temeli, kromozom üzerindeki yapısal histon ve non-histon proteinlerin bir proteaz (tripsin, pankreatin vb.) yardımı ile denatürasyonunun ardından Giemsa (GTG) veya Leishman (GTL) ile DNA'nın Adenin ve Timin bazlarından zengin heterokromatin bölgelerinin koyu boyanması esasına dayanır. Guanin ve Sitozin bazlarından zengin ökromatin bölgeler ise açık boyanır. GTG bantlama ile haploid genomda metafaz evresinde yaklaşık 400- 500 bant görülebilmekte ve bu da yaklaşık 5-10 Mb'lık (bant başına yaklaşık 50 gen) kromozomal değişimlerin tanınabilmesini sağlamaktadır. HRBT tekniği ile, izlenebilen bant sayısı daha da artmaktadır.

Q bantlama, DNA'nın AT bazlarınca zengin bölgelerinin seçici olarak quinacrine veya atebrin gibi AT-özgün floresanlı boya maddeleri ile boyanarak floresan mikroskobu altında parlak bantların elde edilmesidir. Q bant adı verilen bu teknik ile, tüm sentromerler, 1, 9, 16. kromozomların perisentromerik bölgeleri, akrosentrik kromozomların sentromer ve satellit bölgeleri ile Yqh bölgeleri parlak boyanır ve bu nedenle heteromorfizm çalışmalarında kullanılır (Gardner RJM, Sutherland R ve Shaffer LG, 2011).

C bantlamada, kromozomların asit ve baryum hidroksit gibi bir alkali ile muamelesi ile ökromatik bölgelerin yapısının bozulması sağlanır ve bunu takiben Giemsa ile boyanması ile kromozomların sentromerik bölgeleri ile başta 1, 9, ve 16 nolu kromozomlar olmak üzere perisentromerik bölgeler ve Y'nin q kolunun terminal bölgesi koyu boyanır. Gen içermeyen ve transkribe olmayan konstitütif heterokromatini pozitif boyayan bu teknik polimorfizm çalışmaları, sentromere yakın kromozom anomalilerinin ve marker kromozomlarında ökromatin varlığının araştırılmasında kullanılır.

R bantlama (Reverse banding), GTG ile koyu boyanan kromozom bölgelerinin açık, açık boyanan kromozom bölgelerinin ise koyu boyanmasını sağlar. Boyama için floresanlı bir boya olan akridin turuncusu veya Giemsa kullanılır. Ökromatin bölgelerinin koyu boyanmasını sağlayan bu teknik, G bantlama ile açık boyanan ve saptanması zor olan terminal değişimleri belirlemek için kullanılır. İnaktif olan X kromozomunun daha soluk boyanmasını sağlayan bu teknik, translokasyon tipi yapısal X anomalilerinde bu kromozomun inaktif olup olmadığı gösterir.

NOR boyama (Nuclear Organizer Region), akrosentrik kromozomların satellit bölgelerini boyar. Bu bölgeler nukleolus organizasyonundan sorumlu (Nucleolar Organizer Region), rRNA kodlayan genlerin çok sayıda kopyasını içerir. Bu bölgeler gümüş nitrat ile koyu boyanır. Kişiden kişiye farklı boyanma özellikleri gösterebilen bu bölgelerin boyanmasında kullanılan NOR boyama tekniği, polimorfizmlerin gösterilmesi ve marker kromozomların satellit içerip içermediğinin anlaşılmasında kullanılır (Thompson MW, 2001).

HRBT, >550 bant içeren prometafaz hatta profaz kromozomlarının incelenmesini mümkün kılmaktadır ve bu da daha yüksek bant seviyesinde analiz yapılabilmesini sağlamaktadır. İlk olarak 1976'da Yunis, tarafından geliştirilen bu yöntem, lenfosit hücre kültürünün metotraksat ile senkronize edilerek kromozomların daha az kondanse oldukları prometafaz evresinde elde edilmesi temeline dayanır (Yunis JJ, 1976). Senkronizasyon için, hücre döngüsü erken bir evrede, kimyasal bir madde (MTX ve BrdU) ile bloke edilir. Daha sonra bu blok kaldırılarak tüm hücrelerin eş zamanlı bölünmeye uyarılması sağlanmaktadır. Sitogenetik laboratuvarlarında HRBT'nin daha sık kullanılmaya başlanması ile birlikte kromozomların bazı yapısal yeniden düzenlenmeleri alt bantlar düzeyinde tanımlanabilmiş ve bazı genetik sendromların kromozomlardaki mikrolelesyonlarla ilişkisi ortaya çıkarılmıştır.

Floresan *In Situ* Hibridizasyon (FISH), kromozomların belli bölgelerine özgün DNA dizilerinin (prob) enzimatik yolla floresan veren maddelerle işaretlenerek DNA ile hibridizasyonu sonrasında mikroskopta görüntülenmesi esasına dayanan bir tekniktir. Sitogenetik ile moleküler genetik arasında bir köprü oluşturan FISH tekniği 90 lı yıllarda sitogenetik tanıda önemli bir tamamlayıcı olarak hızla kullanım alanı bulmuştur. Moleküler genetikteki ilerlemeler çok sayıda özgün DNA dizilerinin klonlanmasına olanak sağlamış ve bu sayede belirli bölgelere özgün tek iplikli DNA oligonükleotidleri (prob) elde edilmiştir. Bu problemlerin, metafaz kromozomlarında ya da interfaz nükleus DNA'sına hibridizasyonu sayesinde özgün bölgeler görüntülenebilir. FISH, standart bantlama teknikleri ile tanımlanamayan 5mb dan küçük kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyonlar, duplikasyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar ve marker kromozomlar) aydınlatılmasında vazgeçilmez bir teknik olmuştur. Klasik yöntemler ile rutin analizlerde (550 bantlık) 5Mb' dan daha küçük kromozomal değişimlerin tanınması mümkün olmadığından özellikle bilinen mikrolelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarının tanısında en pratik, hızlı ve maliyet açısından uygun olan yöntem bu sendromlara özgün problemlerin kullanımı ile gerçekleştirilen FISH tekniğidir. Kanser olgularında da, klasik yöntemlerle birlikte kullanılan FISH tekniği tanıda çok önemli katkılar sağlamaktadır. Kromozomların subtelomerik bölgeleri genler açısından çok zengin olmakla birlikte bant kalıpları özgün değildir ve anomalilerinin tanısı klasik bantlama teknikleri ile hemen hemen imkansızdır. Bu bölgelerin önemi anlaşıldıktan sonra geliştirilen subtelomerik bölgelere özgün FISH problemleri, klasik yöntemlerle kromozom anomalisi gösterilemeyen non-spesifik MKA/MR olgularında anomalinin araştırılmasında önemli katkılar sağlamıştır. Ravnan ve ark. (2006) 11.688 olguda yaptıkları subtelomerik FISH çalışmasında %3 oranında subtelomerik yeniden düzenlenme saptamıştı (Ravnan JB ve ark., 2006). Literatürde MKA/MR olgularında bu oran %0-23 arasında verilmektedir (Joyce CA ve ark. 2001; Viot G ve ark. 1998). Bildirilen anomali oranlarındaki farklılıklar, olgu gruplarının oluşturulmasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır.

CGH (Comperative Genomic Hybridisation), mikrodizin çalışmalarının öncüsü sayılan bu yöntem, incelenen DNA ile kontrol DNA'nın farklı floresanlı boyalar ile işaretlenerek metafaz kromozomlarında hibridizasyonu ve floresan sinyallerinin mikroskopta görüntülenerek sinyallerin birbirine oranının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Her iki floresan renginin kromozom üzerinde oluşturduğu dengenin

bozulması ile delesyon/duplikasyon tanısına gidilmektedir. Bu teknik, ilk olarak tüm genomun incelenmesine olanak sağlaması bakımından çok önemli olmasına karşın kromozomların perisentromerik ve terminal bölgelerinde hassasiyetin düşük olması, rezolusyonunun kısıtlı olması, uygulama ve analiz zorluğu, yaygın kullanımına engel olmaktadır (Nacheva EP ve ark. 1998; Jacobsen A ve ark. 2000).

2.3.2 Mikroarray analizleri

CGH çalışmalarına paralel olarak, Solinas-Toldo ve ark. (1996) hedeflenen bir diziyi cam slaytlar üzerine immobilize ederek "array comparative genomic hybridization" a-CGH'in temelini attılar. Daha sonra 1999 yılında Pollack ve ark. array slaytları üzerine hedeflenen bölgenin cDNA dizisini immobilize ederek genom düzeyinde DNA daki kopya sayısındaki değişimleri incelediler. 2004 yılının başlarında a-CGH yönteminin MKA/MR olgularında kullanımın ilk sonuçları bildirilmeye başladı. Başlangıçta bu yöntem bacterial artificial chromosomes (BACs)'dan elde edilen problemlerin cam bir slayt üzerine yerleştirilmesi ile uygulanırken, sonrasında SNP'leri içeren veya içermeyen oligonükleotid problemlerin kullanıldığı slaytlar üretildi. 2004'ten bu yana kromozomal mikroarray'ler (CMA) tüm genom boyunca kb düzeyinde delesyon ve duplikasyonların saptanmasına olanak tanımıştır (Stankiewicz P, Beaudet AL, 2007)

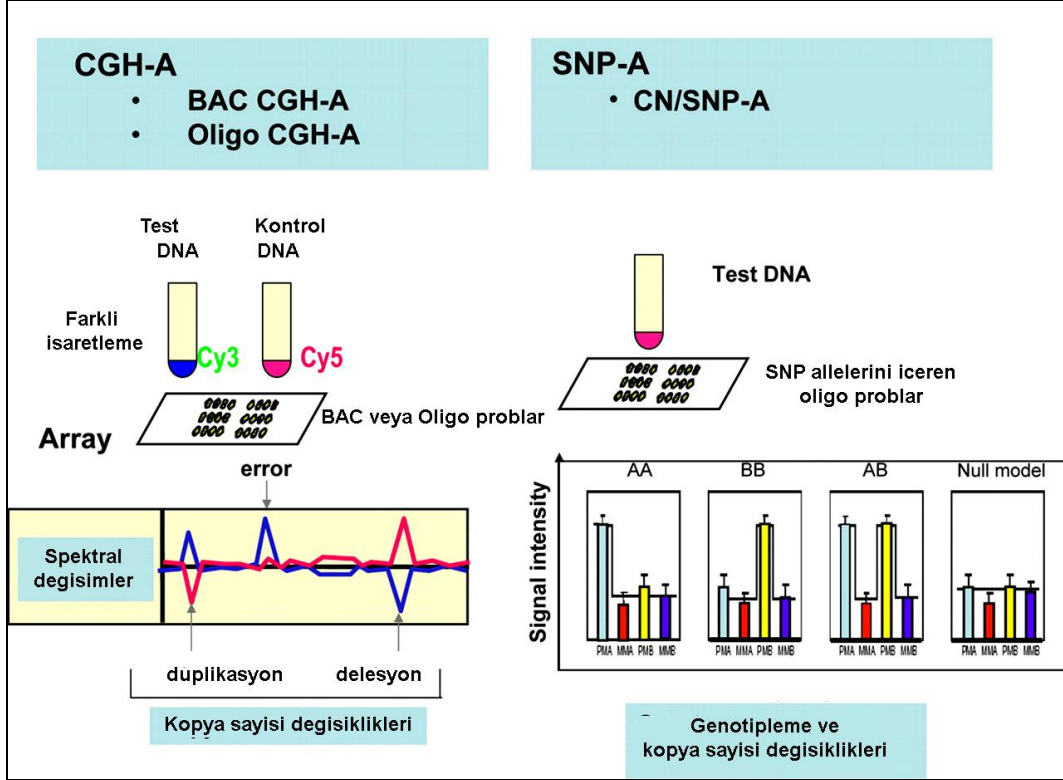
2.3.2.1. Mikroarray'lerin dizaynı ve karşılaştırılması

Mikroarray'ler a-CGH veya SNP genotipleme yöntemlerinin kullanılmasıyla genomik kopya sayısı değişikliklerini saptamak amacıyla dizayn edildiler. BAC problemleri genellikle 80-200 kb büyüklüğünde olduğundan klinik açıdan anlamsız daha az veri göstermesine rağmen, küçük değişimleri saptama olasılığı daha düşüktü ve bu nedenle artık kullanılmamaktadır.

a-CGH yöntemi ile, 50-70 kb büyüklüğünde oligonükleotid problemler kullanarak genomik kopya sayısı değişikliklerini saptamaya yönelik dizayn edilmiş iki platform (Agilent ve Nimblegen) bulunmaktadır. Diğer iki platform ise (Illumina ve Affymetrix) SNP genotiplemeye odaklanmıştır ancak genomik kopya sayısı değişikliklerini de saptamaya olanak tanımaktadırlar (Hantash FM ve ark., 2006).

a-CGH iki farklı floresan boya ile işaretlenmiş DNA'nın tek bir slaytta birlikte hibridizasyonuna dayanan bir yöntemdir. SNP array'lerde ise sadece test DNA

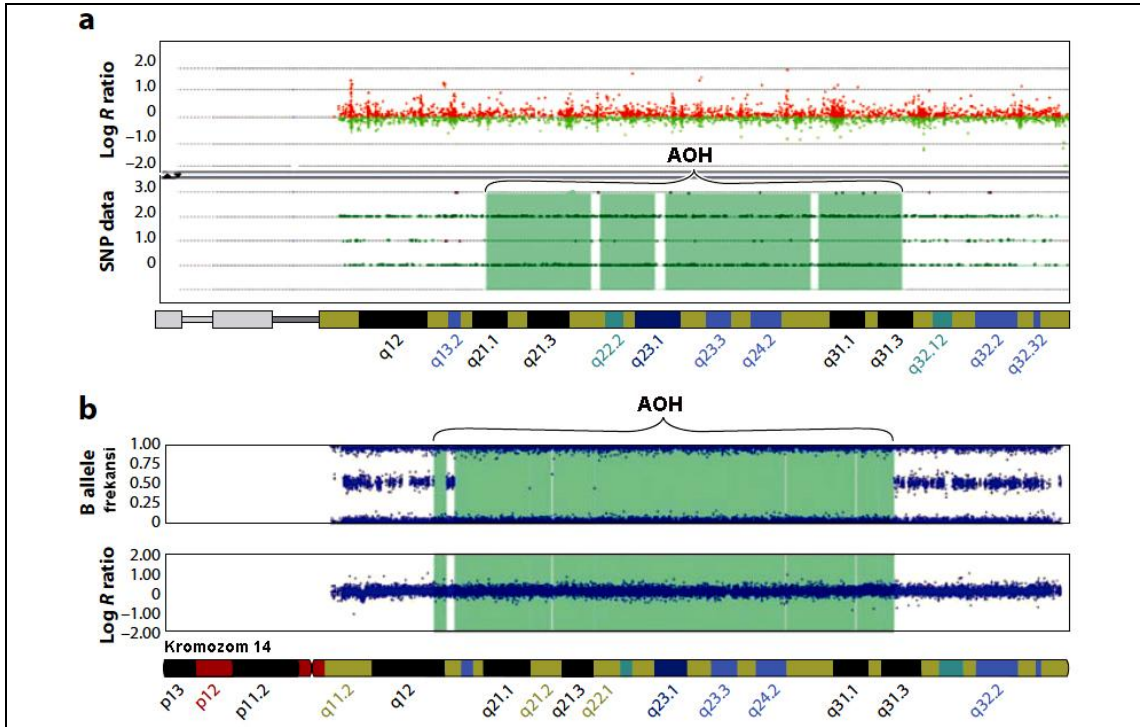
işaretlenir ve hibridizasyonu yapılır, sonrasında kontrol DNA ile biyoinformatik analiz sırasında karşılaştırma yapılır (Şekil 2.18).



Şekil 2.18: CGH array'ler ile SNP array'lerin karşılaştırılması

a-CGH tekniği, genom boyunca serbest bir şekilde konumlandırılmış oligonükleotidlerle, tek bir slaytta internal bir kontrol ile karşılaştırma yaparak kopya sayılarının belirlenmesi için optimal bir yöntemdir. SNP array'ler ise tek nükleotid polimorfizmlerinin genomdaki dağılımı ile sınırlanmıştır ve daha kısa oligonükleotidler kullanıldığı için yanlış hibridizasyon sonuçları doğurabilmektedir. Tüm array'ler genomdaki "low copy repeatleri" (LCRs), long interspersed repetitive elements (LINEs) gibi yüksek tekrarlayan dizileri ve short interspersed repetitive elements (SINEs) gibi yapıları kapsayacak şekilde dizayn edilmiştir. Kopya sayısı saptamaya yönelik array'ler bu konuda bazı avantajlara sahip olsa da özellikle kanserli olgularda saptanan somatik heterozigote kaybı (Lost of Heterozygosity = LOH), akrabalık ve UPD gibi durumlarda ortaya çıkan yapısal heterozigote yokluğu (absence of heterozygosity = AOH) gibi olayları saptayamaz. SNP array'ler ise özellikle LOH ve AOH saptamaya yönelik dizayn edilmişlerdir. Son yıllarda polimorfik olmayan propların SNP array'lere, tek nükleotid polimorfizmlerinin de CGH array'lere eklenmesi ile bu iki yöntemin dezavantajları ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. Ancak her iki modifikasyon da

tamamen bu amaçları karşılayamaz (Christian PS ve ark., 2011). Nimblegen, Agilent gibi platformların SNP problemleri eklenmiş slaytları LOH ve AOH gibi blokları sınırlı bir şekilde gösterebilir fakat olgunun SNP genotiplemesini gerçekleştiremez (Şekil 2.19). Şekil 2.19-a 'da Agilent 180K (180000 prob içeren slayt) CGH+SNP array'in 14. kromozomun parsiyel UPD'si durumunda ortaya çıkan görüntüsüdür. Bu bölge için kullanılan sınırlı sayıda SNP'nin bağlanma oranları (\log_2 ratio) yeşil ile gösterilen alanda belirtilmiştir. Şekil 2.19-b ise Illumina'nın 1M (1 milyon prob içeren slayt) SNP probu içeren array görüntüsüdür. 14. kromozomun parsiyel heterozigozite kaybı SNP array'de son derece yüksek çözünürlükte ve çok sayıda prob ile gösterilirken, CGH+SNP array'de bu alan az sayıda SNP probu ile düşük çözünürlükte gösterilebilmiştir (Şekil 2.19).



Şekil 2.19: Agilent SNP+CGH(a) array ile Illumina SNP array(b)'in 14. kromozomdaki UPD'yi gösteren karşılaştırmalı görüntüsü (Christian PS ve ark., 2011).

CGH array'lerin önemli avantajlarından birisi de genomdaki belirli bir genin tek tek ekzonlarına kadar (ekzon-ekzon) gösterilebilmesidir. Bu durum 4-6 oligonükleotidin genin ekzonlarının içinde veya hemen komşu bölgesinde konumlandırılması ile başarılmıştır. Böylece gen spesifik Sanger sekanslama tekniği ile gösterilemeyen ekzonik bir delesyonun varlığı da saptanabilir. Pek çok laboratuvar gen dizileme ile a-CGH tekniğini bir arada kullanmaktadır ancak bu strateji olgu başına düşen maliyeti

arttırmaktadır. Bir veya iki bilinen gen söz konusu ise MLPA veya qPCR teknikleri daha az maliyetle uygulanabilir (Volicos E ve ark., 2006).

Günümüzde a-CGH ile ekzon-ekzon kopya sayısı analizleri bilinen ekzonik delesyon/duplikasyon sendromlarının tanısında rutin olarak kullanılmaktadır. Bu yaklaşım ile yaklaşık 1,700 gen rapor edilmiş ve çok sayıda klinik olarak önemli olan delesyon belirlenmiştir (Boone PM ve ark., 2010). İleriki günlerde ekzom sekanslama tekniği dizi varyasyonlarının yanı sıra ekzonik kopya sayılarını da saptayarak bu amaçla a-CGH kullanımının yerini alabilir.

2.3.2.2 Mikroarray analizlerinin tanıya katkısı

2.3.2.2.1. Gelişim geriliği ve MKA/MR olguları

Mental retardasyon, genel popülasyonun %2-3'ünde görülen ve hayat boyu morbidite'ye sebep olan gelişimsel bozukluklardan biridir (Leonard H ve Wen X., 2002). MR, tek gen ve kromozomal hastalıklar, teratojenik maruziyet, perinatal asfiksi, enfeksiyonlar gibi pek çok durumda ortaya çıkabilir.

IQ düzeylerindeki değişkenliklerin en az %50'sinin genlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. "Online Mendelian Inheritance in Man" (OMIM) bilgi bankasında MR ile birliktelik gösteren 1200'den fazla genetik hastalık ve 250'den fazla mental retardasyon ile ilişkili gen kayıtlıdır.

Klasik karyotiplemede MR olgularının yaklaşık %5'inde kromozom anomalisi gösterilmektedir (Van Karnebeek CD ve ark., 2005). A-CGH ve yüksek çözünürlüklü SNP array'lerin kullanımıyla birlikte normal karyotip saptanmış idiyopatik gelişim bozukluğu veya MKA/MR olgularında %10-20 oranında ek anomali saptandığı ortaya çıkmıştır (Stefansson H ve ark., 2008).

44K oligonükleotid a-CGH kullanılarak normal karyotipli 1499 MR olgusunun araştırıldığı ve 5 merkezin katılımıyla gerçekleştirilen bir çalışmada %7-14 oranında anomali saptanmıştır. Ayrıca araştırmacılar bu olgularda 300 kb'lık bir cut-off değerinin kullanılmasını önermişlerdir (Xiang B ve ark., 2010).

19 çalışmanın sonuçlarını kapsayan, 13,926 MKA/MR olgusunun değerlendirildiği bir meta-analiz'de ise a-CGH'in %10 oranında tanıya katkısı olduğu vurgulanmıştır (Sagoo GS ve ark., 2009). Yakın dönemde International Standards for Cytogenomic Arrays (ISCA) konsorsiyumununun 32 farklı merkezden 21,698 olgusunun test edildiği meta-

analizinde MKA/MR olguları için a-CGH tekniğinin kromozom analizine oranla (%3 - T21'ler dışlandığında-) %15-20 oranında katkı sağladığı belirtilmiştir. Bu çalışmada a-CGH'in MKA/MR olgularında ilk test olarak uygulanması önerilmiştir. Ek olarak a-CGH'te normal sonuç saptanması durumunda *de novo* veya ailevi bir dengeli yapısal anomalinin kromozom analizi ile araştırılması gerektiği belirtilmiştir. MR'li olgularda sitogenetik olarak saptanabilen anomalilerin %10'unu dengeli yeniden düzenlenmeler oluşturmaktadır. Bunun anlamı, MR'li olgularda sadece karyotip analizi ile gösterilebilecek anomalilerin oranı %0,3 dür (Miller DT ve ark., 2010). Bu yeniden düzenlenmelerin mikroskopik düzeyde dengeli olmasına rağmen, mikroarray'ler gibi yüksek çözünürlüklü teknolojiler kullanılarak %30-40'ının submikroskopik değişimler taşıdığı gösterilmiştir.

2.3.2.2.2. Psikiyatrik hastalıklar

Multipl psikiyatrik hastalıkların, özellikle otizm, şizofreni, bipolar hastalık ve Tourette Sendromu gibi, kalıtsal özellikte olduğu düşünülmektedir (McGuffin P ve ark, 1984; State MW, 2010). Ancak psikiyatri pratiğinde mental hastalıkların biyolojik temelleri ve genetik özellikleri üzerine çok az bilgi vardır (Avramopoulos D, 2010).

2.3.2.2.2.1. Otizm

Sebat ve ark.'nın 2007'de yayımladıkları ve *de novo* CNV'lerin otizm ile güçlü ilişkisi olduğunu vurguladıkları çalışmaları bu alandaki bilgilerin dönüm noktası olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada oligonükleotid array kullanılarak sporadik otizm olgularının %10'unda *de novo* CNV'ler bildirilmiştir. İlginç olan CNV saptanma oranı basit ailelerde kompleks ailelere oranla daha fazladır (Sebat J ve ark., 2007). Kısa bir süre içinde bunu izleyen pek çok çalışma da bu bulguyu desteklemiştir. Marshall ve ark. (2008), 500K genom boyu SNP array kullanarak yaptığı çalışmada basit otizm ailelerinde %7, kompleks ailelerde ise %2 oranında CNV saptamıştır.

Otizm ile ilişkili olduğu düşünülen CNV'lerin çoğu, pek çok geni kapsamaktadır. Bu durum, hangi genin otistik davranışlarla ilişkili olduğunu açıklamakta zorluk yaratmaktadır (örneğin, 16p11.2 delesyon/duplikasyonu). İstisna bir duruma örnek vermek gerekirse, 15q13.3 bölgesinin 1.5 MB büyüklüğündeki delesyon /duplikasyonlarında kırık noktaları arasında sadece 6 gen mevcuttur. Daha küçük delesyonların saptanması ile daraltılan bu bölgede *CHRNA7* ve *OTUD7A* genleri kapsamaktadır. *CHRNA7* geni, nöronal asetilkolin reseptörünün alt ünitesini kodlaması nedeniyle nöropsikiyatrik fenotiplerle ilişkisi olabilecek en olası gendir (Shinawi M ve ark., 2010).

Otizm spektrumu hastalıklarının %10-25'inin genetik nedenleri mevcut array teknolojilerinin kullanımıyla ortaya konabilmektedir (Boone PM ve ark., 2010).

2.3.2.2.2. Şizofreni

Pek çok geniş kapsamlı çalışmada şizofreni ile ilişkili birbirinden farklı nadir CNV'ler gösterilmiştir. Bu nadir CNV'lerin saptanma oranı, şizofren olgularda, normal popülasyona göre artmıştır. Aynı zamanda şizofren olgularda saptanan pek çok tekrarlayıcı CNV, diğer nörogelişimsel ve nöropsikiyatrik hastalıklarla da ilişkilidir.

Sebat J ve ark. (2009), şizofreni ile ilişkili mutasyonların genetik ve olguların fenotipik heterojenitesini tartıştığı bir derlemede genom boyunca yayılmış pek çok nadir CNV'nin şizofreni oluşumuna yatkınlığı arttırdığını öne sürmüştür.

Array tekniklerinin kullanımıyla ortaya çıkan tüm bu bilgiler ile şizofreni, otizm ve diğer nöropsikiyatrik hastalıkların, genomun pek çok farklı bölgesinde, farklı mutasyonların veya tek bir mutasyonun (veya CNV) etkisiyle ortaya çıkabileceği söylenebilir. Aynı ailede bile penetransı yüksek bir mutasyon için, etkilenmiş bireyler arasında farklılıklar görülebilir. Örneğin 16p11.2 mikroduplikasyonunda, proband şizofrenken aynı ailedeki diğer taşıyıcı bireylerde bipolar hastalık, major depresyon gibi fenotipler görülebilir. 22q11.2 delesyonu saptanan Di George sendromlu olgularda, yetişkin dönemde şizofreni ortaya çıkabilmektedir (Ramelli GP ve ark., 2008).

2.3.2.2.3. Mozaisizm, kimerizm ve UPD

Genom boyu SNP array'ler CNV'lerin yanı sıra, heterozigozite kaybı, UPD ve düşük oranlı mozaisizmleri saptayabilir. Trizomi, monozomi, triploidi, delesyon/duplikasyon, ring ve diğer yapısal kromozom anomalileri gibi çeşitli değişimlerin mozaik durumları görülebilir. Kromozomal mozaisizmler sitogenetik olarak saptanabilir ve hassasiyeti analiz edilen dokudaki mozaik hücrelerin miktarı ile doğru orantılıdır. Düşük oranlı mozaisizmleri saptamak zordur. 20 hücrenin incelendiği standart kromozom analizlerinde, %95 güvenilirlikle %14 ve üstü mozaisizmler saptanabilmektedir. Daha düşük oranlı mozaisizmler, sadece daha fazla hücre ve farklı dokuların değerlendirilmesi ile saptanabilir. Rutin kromozom analizleri kültür edilmiş lenfositler ya da amniyositlerden yapılır. Bu durumda, kromozomal anomalili hücreler bölünmeyerek kültürdeki oranların az olmasına sebep olabilir. Bu nedenle düşük oranlı mozaisizmler gözden kaçabilir. Bazı mozaisizimler ise Pallister-Killian sendromunda olduğu gibi, lenfositler normal olduğu halde fibroblastlarda gösterilebilir. a-CGH tekniğinde kültür edilmemiş periferik kandan izole edilen DNA kullanılmaktadır. Bu

sebeple kültür edilmemiş lenfositlerde yapılan inceleme daha doğru bir mozaisizm oranı verecektir (Ballif BC ve ark., 2006).

Mozaisizmin değerlendirmesinde, mikroarray tekniklerinin konvensiyonel kromozom analizine oranla daha avantajlı olduğu ileri sürülmüştür. Array çalışmasında DNA'nın çok sayıda hücre içeren bir havuzdan izole edilmesi ile hem interfaz hem de metafaz hücrelerini içeren daha fazla sayıda hücrenin değerlendirildiği, oysa rutin karyotiplemede sadece uyarılmış hücrelerin kullanıldığı metafaz hücrelerinin incelendiğine dikkat çekilmiştir (Conlin LK ve ark., 2010). İlk yıllarda, SNP veya CGH array platformlarında bilinen kromozom anomalilerinde sadece %10-20 oranındaki mozaisizmler saptanabiliyordu. Conlin ve ark. (2010), SNP array tekniği ile %5 oranındaki mozaisizimleri de saptanabildiği ileri sürdüler. Ancak CVS örneklerinin %1,2'si, AS örneklerinin ise %0,2'sinde saptanan çok düşük oranlı mozaisizmlerin array teknikleri ile saptanabilmesi halen mümkün değildir.

Kimerizm, gerçek hermafrodizm olgularında rastlanan bir durumdur. Etkilenmiş bireyler 46,XX ve 46,XY hücre dizilerini taşımaktadır. Bu olgular kromozom analizleri ile kolayca saptanabilir. Ancak, seks kromozomlarında bir farklılık olmadığında kimerizm saptanamaz. Oysa SNP array'ler kullanılarak mozaisizm ve olası kimerizm birbirinden ayırteedilebilir.

Uniparental dizomi 3 farklı mekanizma ile oluşur;

- 1) Trizomiden kaçış
- 2) Monozomiden kaçış
- 3) Gamet komplementasyonu

Bu üç mekanizmadan herhangi biri ile ortaya çıkan bir UPD, kromozom analizlerinde gösterilemez. Ancak allelik kalıtım analizi veya ilgilenilen bölgenin metilasyon analizi ile genomik imprinting varlığının araştırılması gibi yöntemlere gereksinim duyulur.

SNP array'lerde monozomiden kaçış mekanizmasıyla gerçekleşen izodizomik kromozomun UPD'si gösterilebilirken, trizomiden kaçış veya gamet komplementasyonu ile oluşan heterodizomik kromozom saptanamaz ki bu da en sık rastlanan UPD tipidir (Jinawath N ve ark., 2010).

2.3.2.2.4. Prenatal tanıya katkısı

1970'lerden bu yana fetal kromozom anomalilerinin tanısında en geçerli teknik kromozom analizleridir. Fetal kromozom anomali oranları çalışılan hasta popülasyonuna/endikasyona göre değişmektedir. Fetal anomali oranı gebelik haftası ilerledikçe azalmaktadır. Kromozom analizlerinde, en yüksek fetal kromozom anomali riski patolojik ultrason bulgusu endikasyonunda saptanmakta ve kromozom anomalileri içinde anöplodiler öne çıkmaktadır. Sık görülen anöplodilerin (21, 18, 13, X ve Y kromozomları) hızlı tanısında FISH ve qF-PCR yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu tekniklerin hiç biri invaziv girişim gerektiren olgularda, kromozom analizlerinin yerini alamaz. Kromozom analizlerinde patolojik ultrason bulgularıyla seyreden gebeliklerde normal karyotip ya da görünürde dengeli bir yeniden düzenlenme saptanmış ise mikroarray gibi yüksek çözünürlükteki ek bir testin uygulanmasına ihtiyaç vardır.

Pek çok çalışma grubu prenatal tanıda array tekniklerinin uygulanma sonuçlarını yayımlamıştır. Bu çalışma sonuçlarına göre karşılaşılan en önemli sorun saptanan genomik dengesizliğin klinik olarak anlamlı olup olmadığıdır. Wapner ve ark. (2012) normal karyotip saptanmış, anne yaşı, artmış biyokimyasal risk veya patolojik ultrason bulguları olan 3822 gebelikte Agilent 44K ve Affymetrix Genom boyu 6.0 SNP array platformlarını kullanmış ve bu gebeliklerin 1399'unda (%36,6) genomik değişimler saptamıştır. Ancak bu değişimlerin sadece %2,5'i patojenik veya patojenik olma olasılığı taşımakta, %32,2'si zararsız CNV, %3,4'ü ise klinik olarak anlamı bilinmeyen değişimler olarak değerlendirilmiştir.

Fiorentino ve ark. (2010), anne yaşı, patolojik ultrason bulguları ve aile öyküsü olan 1037 gebeliğin 34'ünde değişim saptamıştır. Bu değişimlerin %3,3'ü klinik olarak anlamlı, %13'ü ise zararsız varyasyonlardır. Tyreman ve ark. (2009) sadece patolojik ultrason bulgusu olan 106 gebeliğin 36'sında değişim saptamıştır. Bu değişimlerin ise %9'u patojenik, %12'si zararsız, %13'ü ise klinik anlamı bilinmeyen değişimlerdir. Patolojik değişim saptama oranları literatürde, olgu seçim kriterlerine bağlı olarak %2-%13 arasında değişmektedir (Wapner RJ ve ark., 2012; Fiorentino F ve ark., 2011; Tyreman ve ark., 2009).

2.3.3. Mikroarray verilerinin değerlendirilmesi

A-CGH veya SNP array verilerinin değerlendirilmesinde en önemli sorun bulunan değişimin klinik etkisidir. Özellikle prenatal tanıda klinik olarak anlamı bilinmeyen bir değişimin raporlandırılması ailelerdeki korkuyu arttırmakta, süregelen gebelik ile ilgili kararlarını etkilemekte veya sonraki gebelikler için bir belirsizlik yaratmaktadır.

ISCA konsorsiyomunun 2010'da yayımladığı kriterler, saptanan değişimin patojenitesinin nasıl değerlendirilmesi gerektiğini belirtmektedir.

Bu kriterler; olası bir patojenik CNV saptanması durumunda;

- a) Etkilenmiş bir ebeveynde gösterilirse,
- b) Ebeveynlerin herhangi birinde olup indekste değişime uğramış bir formda saptanmışsa,
- c) Etkilenmiş aile bireylerinden herhangi birinde saptanmışsa,
- d) CNV veritabanlarında (ISCA, DECIPHER vb) MKA/MR, gelişim geriliği olan olgularda bildirilmiş bir değişimle örtüşüyorsa,
- e) Bilinen bir mikrodelesyon/duplikasyon sendromuyla örtüşüyorsa,
- f) CNV çok sayıda gen içeriyorsa ve OMIM ilişkili genlerin sayısı fazla ise patolojik olarak rapor edilebilir.

Olası bir zararsız CNV saptanması durumunda ise;

- a) sağlıklı ebeveynden kalıtılmış ise,
- b) sağlıklı bir akrabada da gösterilmiş ise,
- c) Veritabanlarında tamamen sağlıklı bireylerde saptandığı gösterilmiş ise,
- d) CNV patolojik özelliği olmayan genler içeriyor ise, zararsız olarak rapor edilebilir.

Ayrıca bir CNV genel olarak;

- a) delesyon ise,
- b) homozigot bir delesyon ise,
- c) bir amplifikasyon ise (tek bir kopya sayısı artışından fazla) klinik olarak anlamlı (patojenik) olma olasılığı yüksektir.

Eğer CNV;

- a) duplikasyon ise ve dozaja hassas bir gen içermiyorsa,
- b) regülatör elementler içermiyorsa zararsız olma olasılığı yüksektir (Miller DT ve ark., 2010).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bu çalışma, görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi saptanmış MKA/MR'li postnatal ve patolojik ultrason bulgusu/ları olan prenatal olgularda, bu değişimlerin kırık noktalarında ve/veya kırık noktalarından bağımsız bölgelerde moleküler düzeyde dengesizlik olup olmadığını araştırmak amacıyla a-CGH yönteminin uygulanmasını kapsamaktadır. Bu amaçla, kromozom analizleri için İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı' na başvurmuş ve görünürde dengeli kromozom anomalisi saptanmış fenotipik olarak etkilenmiş 34 olgunun tanı amacı ile önceden alınmış olan mevcut periferik kan ve fetal doku örnekleri kullanıldı. A-CGH yöntemi ile elde edilen sonuçların biyoinformatik analizleri sonrasında, değişim saptanmış olguların anne ve babasında da aynı yöntem uygulanarak ailevi bir taşıyıcılık olup olmadığı araştırıldı.

Kromozom analizleri İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik laboratuvarında, klinik muayeneleri aynı bilim dalının polikliniğinde yapıldı.

Çalışmada yer alan 13 prenatal olgunun invaziv girişimleri İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalı' nda gerçekleştirildi. Bu dokulardan 2'si koryonik villus örneği (CVS) , 7'si amniyotik sıvı hücreleri, 4'ü fetal kan örneği idi.

Çalışmanın etik açıdan uygunluğu, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı. Çalışmaya katılan tüm aile üyeleri ve sağlıklı bireylerden bilgilendirilmiş onam alındı.

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Gereçler

3.2.1.1. Kullanılan Taşınabilir Cihazlar

- a) NimbleGen MS 200 Mikroarray Tarayıcı (*Roche*)
- b) NimbleGen Mikroarray Kurutucu (*Roche*)

- c) NimbleGen Mikroarray Hibridizasyon cihazı (*Roche*)
- d) Tam otomatik DNA izolasyon cihazı- Magna Pure Compact (*Roche*)
- e) Termal Döngü Cihazı (*TechGene*)
- f) Santrifüj- Allegra X22R (*Beckman*)
- g) Mikrosantrifüj- 5415R (*Eppendorf*)
- h) Spektrofotometre- Nanodrop 2000 (*Thermo Scientific*)
- i) Mikropipet Seti- (*Gilson, Finpette*)
- j) PCR tüpleri- (*Axygen*)
- k) Buzdolabı- SR-L629EV(*Samsung*)
- l) Derin dondurucu- (*Real*)
- m) Distile su cihazı- (*Nüve*)
- n) Su banyosu- 1083 (*GFL*)
- o) İnkübatör- Shake n stack (*Hybide*)
- p) Masaüstü ısıtıcı blok- Accublock (*SBHI30D Stuart*)
- q) Vorteks (*V-1 plus BioSan*)
- r) Bilgisayar (*Samsung*)
- s) DNA Bankalama programı- Özel yapım veritabanı (*File Maker Pro V 8*)
- t) Array-CGH Analizi (*NEXUS6.1*)

3.2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

- a) NimbleGen Array Kitleri; CGX 3X WG-T v1.0 1,4M, CGX ISCA 3X 1,4M (*Roche*)
- b) Agilent array kiti; ISCA 8x60K
- c) NimbleGen Çift renk DNA işaretleme kiti (*Roche*)
- d) NimbleGen Hibridizasyon kiti (*Roche*)
- e) NimbleGen Wash Buffer Kiti (*Roche*)

- f) DNA Vacuum Concentrator (Savant DNA 120 Speed Vac Concentrator) (*Thermo Scientific*)
- g) DNA Isolation Kit for Mammalian Blood (*Roche*)
- h) High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti (*Roche*)
- i) Etanol-(*Merck*)
- j) β -Mercaptoethanol
- k) Proteinaz K-(*Roche*)
- l) 1xPBS tamponu
- m) 2xSSC çözeltisi
- n) 0.4xSSC+0,05 tween 20 çözeltisi
- o) TE tamponu

3.2.2. Kullanılan Teknikler

3.2.2.1. DNA eldesi

34 olgunun DNA izolasyonunda Roche firmasının High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti kullanılmıştır. Tüm izolasyonlar üretici firmanın protokolüne uygun olarak yapılmıştır.

3.2.2.2. A-CGH Çalışması

A-CGH, test ve referans DNA'sının işaretlenmesi, hibridizasyon, yıkama, tarama ve analiz aşamalarından oluşan yaklaşık 3 gün süren bir çalışmadır.

Agilent array platformu sadece anne- baba taşıyıcılıklarını araştırmak amacıyla kullanılmıştır. Üretici firmanın protokolüne uygun bir şekilde 2 gün süren çalışma ile tamamlanmıştır. Aşağıdaki bölümlerde Nimblegen array kitlerinin protokolü mevcuttur.

3.2.2.2.1. Test ve Referans DNA'sının işaretlenmesi

Test DNA Cyanine3 (Cy3) (pembe), Referans DNA Cyanine5 (Cy5) (mavi) boyasıyla işaretlenir. İşaretlemede ilk aşamada kullanılan kimyasallar ve kullanım miktarları tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3-1: İşaretlemede kullanılan kimyasal miktarları

Test DNA (pembe)		Referans DNA(kırmızı)	
Cy3 solüsyonu	40µl	Cy5 solüsyonu	40µl
Test DNA	500ng(örn;7,1µl)	Referans DNA	500ng(örn;2,07µl)
LHC-1	2µl	LHC-2	2µl
dH ² O	30,9µl	dH ² O	35,93
Toplam	80µl	Toplam	80µl

Sonrasında uygulanan aşamalar ;

- İlk aşamada gösterildiği gibi hazırlanan örnekler PCR cihazında +98°C’de 10dk boyunca denatüre edilir.
- Ardından kuru buz üzerinde 2 dk karanlıkta bekletilir.
- İşaretleme (labelling mix) solüsyonu hazırlanır. Solüsyon içerisinde bir örnek için 10µl dNTP mix, 8µl dH₂O ve 2µl Klenow fragment bulunur.
- 2dk süre sonunda örnekler 20µl işaretleme solüsyonundan eklenir.
- Tüpler hızlıca santrifüjlenir.
- Örnekler PCR cihazında +37°C de 2 saat bekletilir.
- Süre sonunda örnekler stop solüsyonundan 21,5µl eklenir, vortekslenip santrifüj edilerek reaksiyon durdurulur.
- Örnekler (toplam örnek miktarı 121,5µl), içinde 110µl isopropanol içeren 1,5ml’lik tüpe aktarılır. (Toplam örnek miktarı 231,5µl) tekrar vortekslenir.
- Örnekler karanlıkta +15-+25 °C(oda sıcaklığında) arasında 10dk inkübe edilir.
- 12.000rcf’de 10dk santrifüj edilir ve mikro pipet ile süpernatant atılır. Elde edilen pelletlerin rengi, test DNA’sı(Cy3) için pembe, referans DNA’sı(Cy5) için mavi olmalıdır.
- Pelletler 500µl %80’lik -20°C’de bulunan soğuk etanol ile yıkanır.
- 12.000rcf’de 2dk santrifüj edilir ve süpernatant atılır.

- m) Tüpler DNA Vacuum Concentrator cihazına ağızları açık bir şekilde dengeli olarak yerleştirilir. Orta ısıda yaklaşık 3dk karanlıkta pelletler kurutulur.
- n) Pelletler 25µl dH₂O ile sulandırılır.
- o) Konsantrasyonlara dayanarak, son miktarları eşit olacak şekilde hibridizasyon için gerekli test örneği ve referans örneğinin hacimleri hesaplanır. Bunun için nanodropta ölçüm yapılır. Test DNA'sının(örn;4,7ng/µl) ve referans DNA'sının (4,2ng/µl) konsantrasyonu ölçülür. İdeal konsantrasyon miktarı 3000-6000ng/µl arasında olmalıdır. 1,5µg/µl altında ise degrade veya kontaminasyon olabilir.
- p) Test(örneğin;31/4.7=6,6µl) ve referans(örneğin;31/4.2=7,4µl) örnekleri 1,5 ml ependorf tüpünde birleştirilir.

3.2.2.2.2. Hibridizasyon Aşamaları

3.2.2.2.2.1. Örneklerin Hazırlanması

- a) Master miks hibridizasyon solüsyonu hazırlanır. Her örneğe hibridizasyon solüsyonu eklenir.
- b) Yeni 0,5µl'lik PCR tüplerine örnekler konulup daha önceden PCR cihazında +95°C' de 5 dakika boyunca inkübe edilir.
- c) Tüpler PCR cihazında 42° de slaytlara yükleninceye kadar bekletilir.

3.2.2.2.2.2. Hibridizasyon

- a) Hibridizasyon fırını 42 dereceye ayarlanır
- b) Master mix hibridizasyon solüsyonu hazırlanır. Her örneğe eklenir.

2X hybridization buffer 35 µl

Hybridization component A 14µl

Alignment oligo 1,4µl

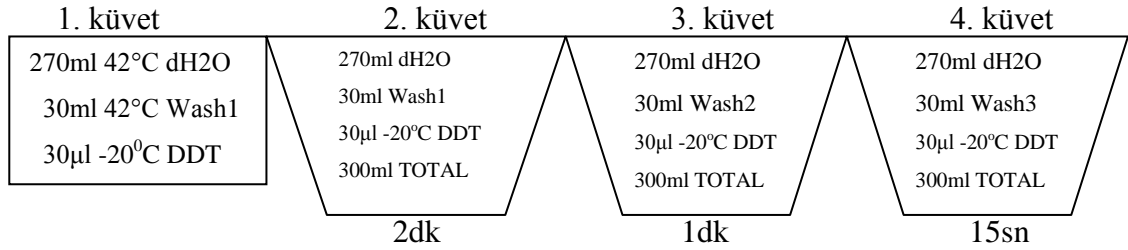
Bir örnek için kullanılan miktar 14.4µl

- c) Tüpler yaklaşık 15sn vortekslenir ve santrifüjlenir.
- d) Yeni 0,5µl'lik PCR tüplerine örnekler konulur. Daha önceden hazırlanan programda PCR cihazında +95°C' de 5 dakika boyunca inkübe edilir.
- e) Vortekslenir ve kısa santrifüj edilir.

- f) Tüpler PCR cihazında 42° de örnek yükleme hazır oluncaya kadar bekletilir.
ve örnekler slaytlara yüklenir.
- g) 40 saat (yaklaşık 2 gece) hibridizasyona bırakılır.

3.2.2.2.3. Hidridizasyon Sonrası Yıkama

Yıkamalar için aşağıdaki düzenek hazırlanır. Uygun biçimde hazırlanan küvetlerde daldırıp çıkarma yöntemiyle slaytlar yıkanır.



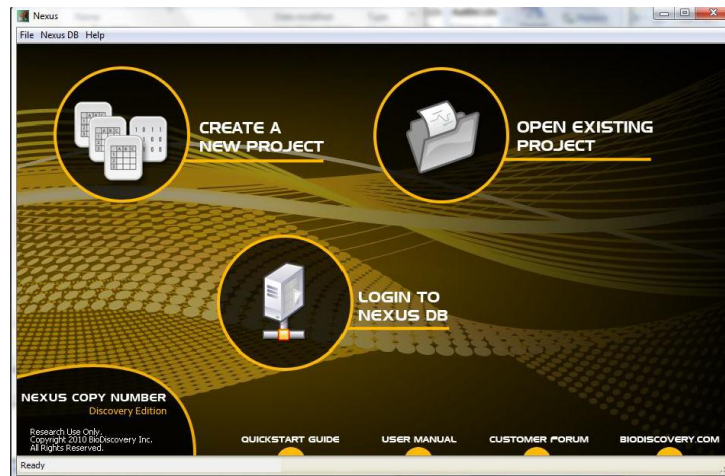
3.2.2.2.3. Slayt Tarama

- a) Öncelikle 40µM rezolüsyonda taranarak bir ön görüntüsü elde edilen slayt ikinci aşamada 2 µM rezolüsyonda taranarak final görüntü oluşturulur.

3.2.2.2.4. Verilerin analizi

Çalışma ve tarama sonrasında elde edilen görüntü DEVA adlı bir yazılım kullanılarak analizlerin yapılacağı ana yazılım olan NEXUS programının kullanabileceği dosya formatına çevirilir.

NEXUS programının ilk açılışındaki arayüzü aşağıdaki gibidir.



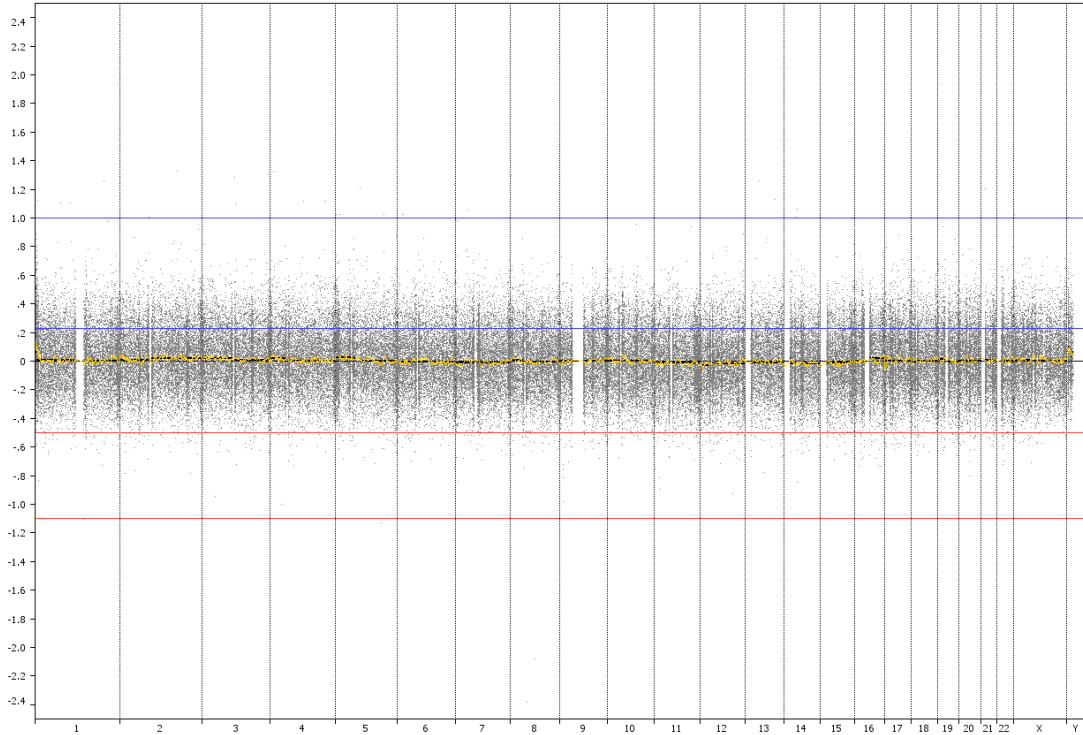
Şekil 3.1: NEXUS programı arayüzü

- a) Yükleme yaptıktan sonra karşımıza örneğin kalitesi ve meydana gelen duplikasyon/delesyonlar hakkında bilgi veren bir pencere açılır.

Sample Name	24_2012-04-06T121718_data_summary
Status	Processed
Quality	0.06
One copy gain*	2
Two or more copy gain*	0
One copy loss*	0
Two copy loss*	0
Total CN aberrations*	2
Manually Altered	
Discarded %	0.11

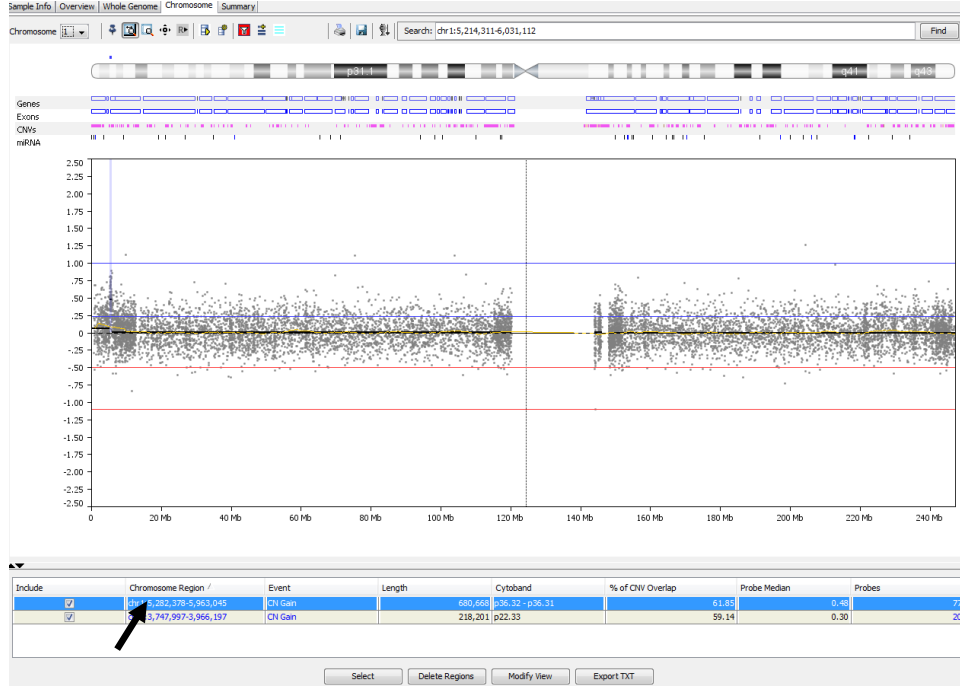
Şekil 3.2: Örnekteki değişimler ve kalite hakkında bilgi veren NEXUS programı arayüzü

- b) Whole Genome imlecinden bir grafik olarak tüm genomda problemlerin bağlanma düzey ve kalitesini görebiliriz.



Şekil 3.3: NEXUS programında analiz sonrası tüm genom grafik görüntüsü

- c) "Chromosome" imlecinden hangi kromozomu analiz etmek istiyorsak onu seçip, o kromozoma ait değişimleri görebiliriz. Ayrıca bölgelerin üzerine gelerek açılan imleçten çeşitli veritabanlarına bağlanabiliriz.



Şekil 3.4: NEXUS programında analiz sonrası tek bir kromozomun genel görüntüsü

Yukardaki şekilde görüldüğü gibi mavi ile işaretli satırda, kromozom bölgesini gösteren sütuna tıklandığında aşağıdaki gibi genleri ve CNV bölgelerini gösteren bir pencere açılmaktadır. Buradan genler hakkında bilgi edinilirken, aynı zamanda genler ve saptanan CNV'ler için yapılan çalışmaların yayın listesi çıkmaktadır.

4. BULGULAR

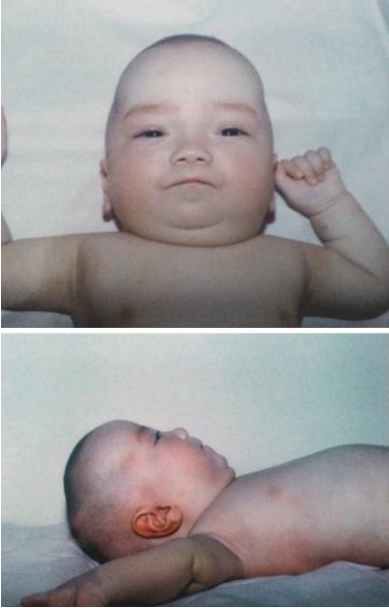
Postnatal 21 olgu ve prenatal 13 olguya ait klinik, sitogenetik, FISH ve a-CGH sonuçları ayrı ayrı sunuldu. Bu olgu sunumları aşağıdaki bilgi ve sonuçları içermektedir;

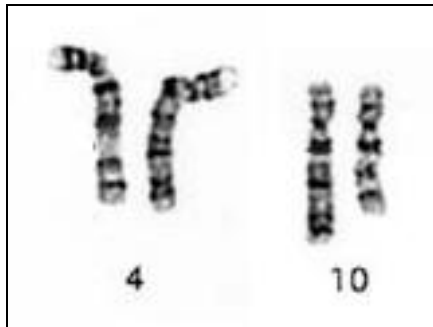
- **Olguya ait Demografik Bilgiler;** Doğum tarihi (D.T.), doğumda anne ve babanın yaşı, akrabalık olup olmadığı (+/-)
- **Olgunun Pozitif bulguları;** Aile ve gebelik öyküsü, fizik muayene ve laboratuvar sonuçları
- **Kromozom analiz endikasyonu**
- **Kromozom analiz sonucu**
- **FISH sonucu**
- **A-CGH sonucu***
 - **Gen listesi****
- **Ek moleküler testler**

* Saptanan değişimin ISCN'e göre sonucu delesyon ise **kırmızı**, duplikasyon ise **mavi**, kırık noktalarından bağımsız bir anomali ise **pembe** renkte yazıldı.

4.1. POSTNATAL OLGU SUNUMLARI

Olgu 1;

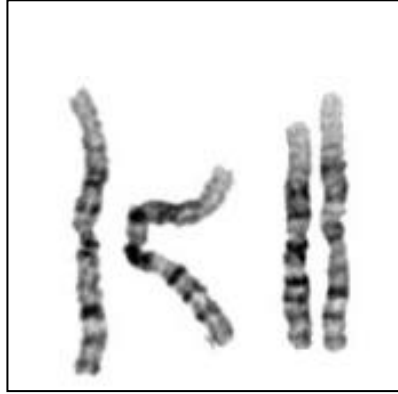
Demografik Bilgiler	Olgu 1	Pozitif bulgular
D.T.: 19.02.2001 Anne yaşı: 28 Baba yaşı: 25 G3P2Ab1 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Neonatal dönemde vücutta ödem (15. günden sonra kaybolmuş) • Hipoglisemi • Kriptorşidizm • Dismorfizm (ileri derecede belirgin frontal, belirgin hipertelorizm, basık burun kökü, düz filtrum, yüksek ve dar damak, mikroretrognati, düşük ense saç çizgisi) • Sakral bölgede mongol lekesi • Kısa- yele boyun • Bol deri varlığı • Annede plagiosefali (BÇ: 61 cm) • Kranyal BT'de hipomiyelinizasyon, subaraknoid genişleme saptanması • Minimal nonspesifik MR
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR A/T:Kraniyosinoztoz		
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu
46,XY,t(4;10)(q25;q22.1)dn		.arr(1-22)x2,(XY)x1 (normal)



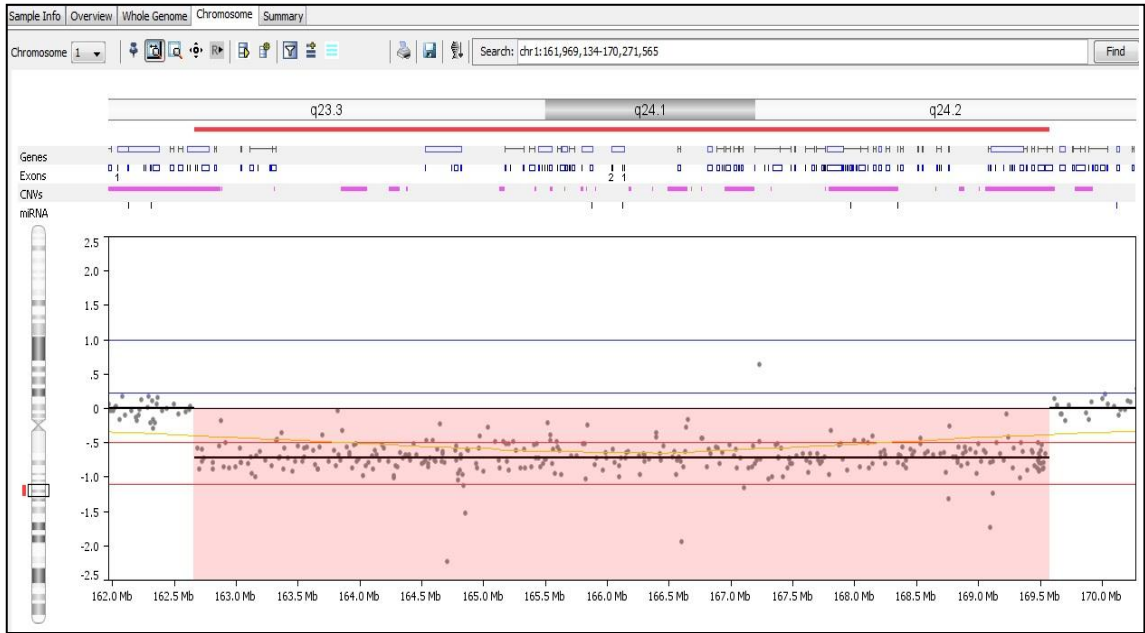
Şekil 4.1.: Olgu 1'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 2 ;

Demografik Bilgiler	Olgu 2	Pozitif bulgular
D.T.: 02.02.1999 Anne yaşı: 43 Baba yaşı: 46 G5P5 Akrabalık: -	<ul style="list-style-type: none"> • İleri anne yaşı • Takipsiz gebelik, doğumda oksijensiz kalma öyküsü, 9 aylıkken ateşli bir hastalık nedeniyle hastaneye yatırılma • Nöromotor retardasyon • 3 yıl antiepileptik kullanma öyküsü • Büyüme gelişme geriliği (BGG) 	
Kromozom Analiz Endikasyonu	<ul style="list-style-type: none"> • Mikrosefali • Fasial dismorfizm (bilateral epikantus, hipertelorizm, hafif yukarı çekik palpebral fissürler, belirgin burun kökü, tubuler burun yapısı, küçük ağız, ince üst dudak, belirgin antiheliks, artmış heliks kıvrımı, kare kulak yapısı, dişlerde yerleşim anomalisi) • Kas iskelet sistemi bulguları (hafif pektus ekskavatum, bilateral kubitus valgus, her iki elde beşinci parmak klinodaktilisi, sol el içi çizgilerinde düzensizlik, sol ayakta pes kavus) • Yumuşak deri • Kraniyal MR'da supratentoryal ventriküler sistemlerde hafif-orta dereceli hidrosefalik dilatasyon 	
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik	FISH	
46,XX,inv(1)(q25.1q32.2?)dn	.ish22q11.2(DGCRx2), (wcp1+,IEB108+,160H23+) Kullanılan problr: DG sendromuna özgün prob, 1. kromozomun p ve q kollarına özgü subtelomerik problr	
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü/ Gen sayısı	Genler
.arr1q23.3q24.2 (161.969.134-169,579,696)x1	7,610 kb delesyon/ 53 gen	<i>DDR2, HSD17B7, RGS4, RGS5, NUF2, PBX1, LMX1A, RXRG, LRRC52, MGST3, ALDH9A1, TMC01, UCK2, FAM78B, FMO9P, POGK, TADA1, ILDR2, MAEL, GPA33, DUSP27, POU2F1, CD247, CREG1, RCSD1, MPZL1, ADCY10, MPC2, DCAF6, GPR161, TIPRL, SFT2D2, TBX19, XCL2, XCL1, DPT, NME7, BLZF1, SELP</i> miRNA genleri: <i>MIR3658, MIR921, MIR557</i>
Anne-baba a-CGH normal		




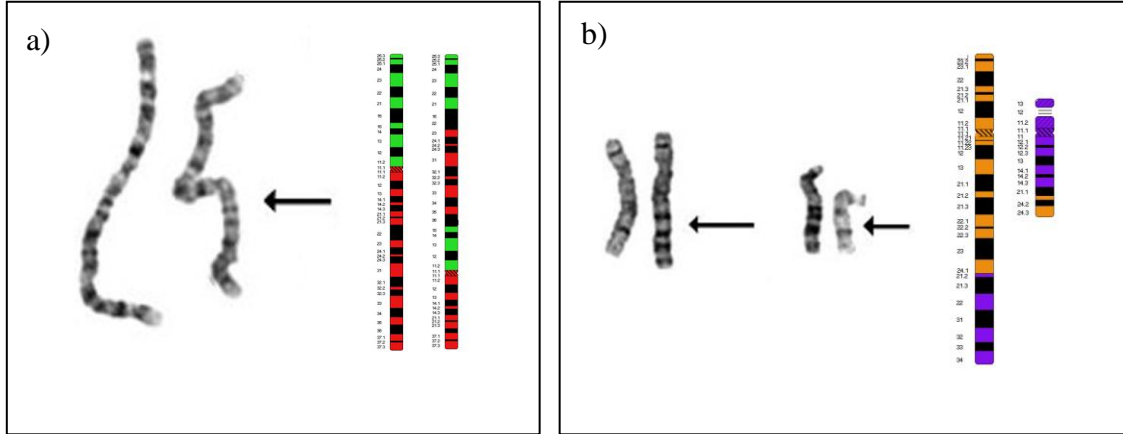
Şekil 4.2: Olgu 2'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü



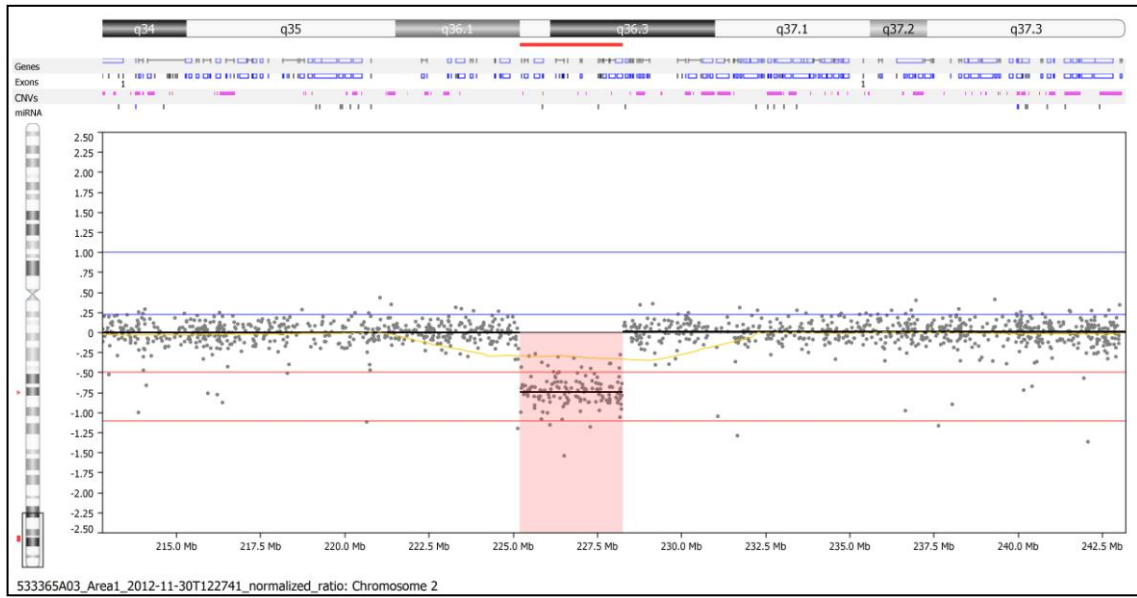
Şekil 4.3: Olgu 2'ye ait saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü

Olgu 3;

Demografik Bilgiler	Olgu 3	Pozitif bulgular
D.T.: 24.04.2004 Anne yaşı: 24 Baba yaşı: 34 G1P1 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Makat geliş nedeniyle seksio ile doğum • Sınırdan SGA • Doğduğunda 3-4. parmak sindaktilisi ve aralarında mezoaksiyel yerleşimli aksesuar parmak yapısı. Sağda ikinci parmak duplike ve aksesuar parmak ile parsiyel kutanöz sindaktili, sağ elde hiperekstansiyon • Hipotoni • PSMG • İki kez febril konvülsiyon öyküsü, • Mikrosefali • Minimal dismorfik bulgular (bilateral epikantus, mavi sklera, aşağı çekik palpebral fissürler, belirgin kirpikler, hafif düzleşmiş filtrum, sınırdan düşük kulaklar, ellerde bilateral hokey çizgisi, sol elde 3-4 fleksiyon çizgileri silik) • Nörolojik muayenede göz kontağı ve takibinin olmaması
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik	FISH	
46,XY,t(8;13)(q24.13;q21.2), ins(2)(p16.2q33.2q22.2)dn	.(wcp2+, wcp8+, wcp13+, DJ892G20+, DJ1011O17+) Kullanılan proplar: 2, 13 ve 18. kromozomlar için arm spesifik boyama propları, 2. kromozomun p ve q kollarına özgü subtelomerik proplar	
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü /Gen sayısı	Genler
.arr2q22.3(146,786,756- 147,305,733)x1,	519 kb delesyon	Tanımlanmış gen yok
2q36.1q36.3(225,194,194,399-228,263,782)x1	3069 kb delesyon/ 11 gen	FAM124B, CUL3, DOCK10, NYAP2, MIR5702, IRS1, RHBDD1, COL4A4, COL4A3 MFF, TM4SF20 miRNA genleri: MIR4439, MIR548AR, MIR5702
Anne-baba A-CGH normal		




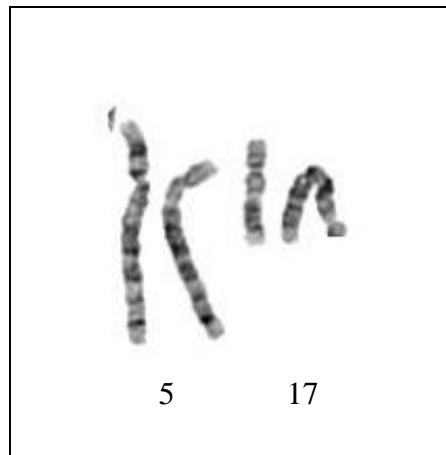
Şekil 4.4: Olgu 3'e ait parsiyel karyotip sonuçları a) 2. kromozomdaki insersiyon, b) 8q ve 13q arasında resiprokal translokasyon



Şekil 4.5: Olgu 3'e ait ait saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü


Olgu 4 ;

Olgu 4	Demografik Bilgiler	Pozitif bulgular	
D.T.: 10.09.2008 Anne yaşı: 24 Baba yaşı: 32 G3P2C1 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Anal stenoz (iki kez dilatasyon) • Bilateral inguinal herni (opere) • Dismorfik bulgular (frontal bossing, kaşlar seyrek, uzun filtrum (2cm), mikrognati, dolgun yanaklar, antevort burun delikleri, yüksek damak, hipertelorizm, gözler belirgin ve parlak) • Makrosefali • Derin el çizgileri, belirgin parmak yarıkları • Kısa parmaklar, ve 5. parmakta klinodaktili • PSMG 	
Kromozom Analiz Endikasyonu			
MKA/MR			
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,t(5;17)(q12.2;q21.33)dn		.arr (1-22)x2, (XY)x1	



Şekil 4.6: Olgu 4'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

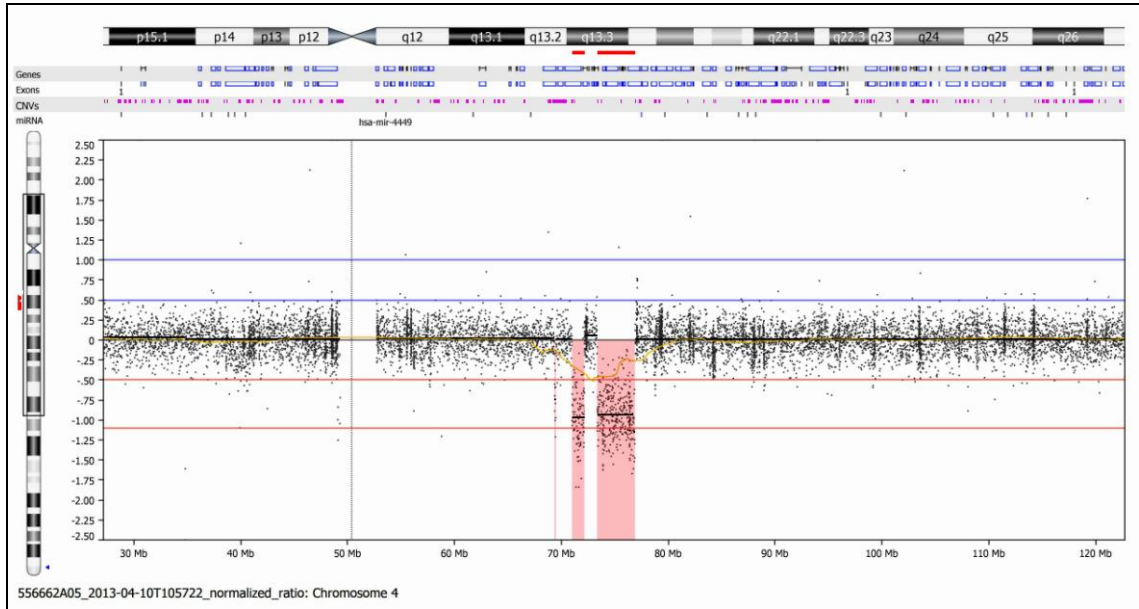
Olgu 5;

Demografik Bilgiler	Olgu 5	Pozitif bulgular
<p>D.T.: 05.02.1998 Anne yaşı: 39 Baba yaşı: 46 G9P6A3C4 Akrabalık: -</p>		<ul style="list-style-type: none"> • PSMG • Alopesi • Hiperpigmentasyon • Dismorfik bulgular (hipertelorizm, gözler derin yerleşimli, malar hipoplazi, belirgin kulaklar, bitemporal basıklık, uzun yüz, alın kısa, kısa filtrum, belirgin çene, yüksek damak, eksik dişler, sağ göz hafif küçük) • Parmak yastıkcıkları belirgin, bilateral palenter çizgi • Bilateral kubitus valgus • Bilateral meme çizgisi üzerinde aksesuar meme başı • Sternum üzerinde hiperpigmente vertikal-linear lezyon • Trakeostomi
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,XY,inv(3)(p13p25),t(11;18)(p13.5;q12.2)dn		
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü /Gen sayısı	Genler
. arr 4q13.3 (71,013,108-72,174,576) x1,	1161 kb delesyon/ 19 gen	UGT2B17, ODAM, FDCSP, CSN3, CABS1, SMR3A, SMR3B, PROLI, MUC7, AMTN, AMBN, ENAM, IGJ, UTP3, RUFY3, GRSF1, MOB1B, DCK, SLC4A4

4q13.3q21.2(73,373,677-76,306,815)x1	2933 kb delesyon/ 32 gen	<i>ADAMTS3, COX18, ANKRD17, ALB, AFP, AFM, RASSF6, IL8, CXCL6, PF4V1, CXCL1, PF4, PPBP, CXCL5, CXCL3, PPBPP2, CXCL2, MTHFD2L, EPGN, EREG, AREG, BTC, PARM1, RCHY1, THAP6, CDKL2, G3BP2, USO1, PPEF2, NAAA, SDAD1, MTNR1A</i>
Anne baba A-CGH normal		




Şekil 4.7.: Olgu 5'e ait parsiyel karyotip görüntüsü





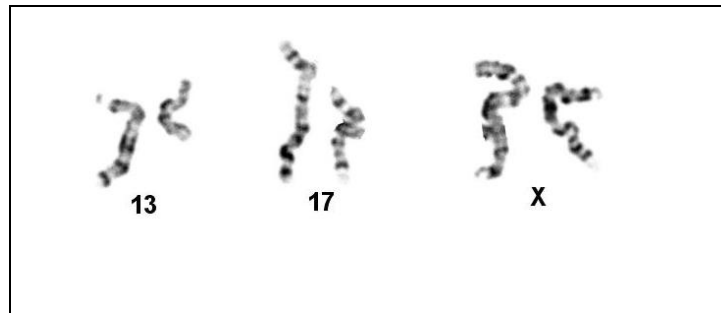
Şekil 4.8: Olgu 5'e ait saptanan delesyonların a-CGH görüntüsü

Olgu 6;



Demografik Bilgiler	Olgu 6	Pozitif bulgular
<p>D.T.: 18.05.2008 Anne yaşı: 22 Baba yaşı: 26 G2P2 Akrabalık: -</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Bilateral aniridi • Mikropenis ve kriptorşidi • Kalpte üfürüm • Alt ekstremitelerde hipertoni
Kromozom Analiz Endikasyonu		
<p>MKA/MR A/T:WAGR Sendromu</p>		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,XY,t(3;15;21)(p13;q21.2;q22.3),t(4;16)(q31;p31.1)dn		
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü/ Gen sayısı	Genler
.arr 11p14.13(30,031,595-33,045,209)x1	2511 kb delesyon/ 15 gen	<ul style="list-style-type: none"> • <i>ARL14EP, MPPED2, DCDC5, DCDC1, DNAJC24, IMMP1L, ELP4, PAX6, DKFZp686K1684, RCN1, U3, WT1, WT1-AS, EIF3M, CCDC73</i> • <i>mi RNA: Mir_633</i>

Olgu 7;

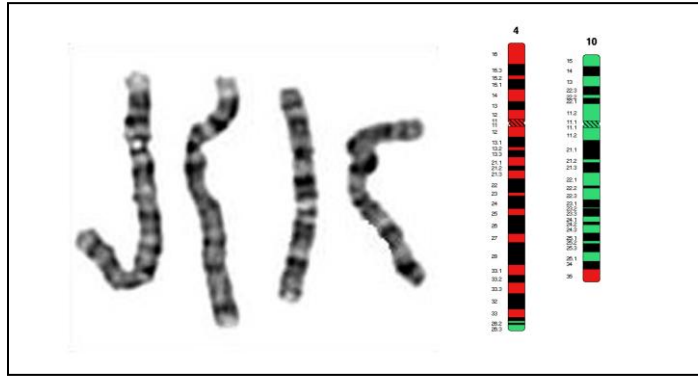
Demografik Bilgiler	Olgu 7	Pozitif bulgular
D.T.: 17.01.2011 Anne yaşı: 24 Baba yaşı: 28 G2P2 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Mikrosefali • Distrofinopati ile uyumlu kas biyopsi bulguları • EMG'de yaygın miyojen tutulum • EEG'de santral- frontal bölgede belirgin keskin dalga aktivitesi • 1,5 yaşında başlayan yürümede sık sık düşme ve oturunca kalkamama, merdiven çıkamama öyküsü • PSMG
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR (DMD, mikrosefali, PSMG)		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,X,t(X;13;17)(p21;q13;q22)dn		
A-CGH	Moleküler test	
.arr (1-22,X)x2,	DMD için MLPA ile del/dup çalışması normal	

**Şekil 4.11: Olgu 7'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü**

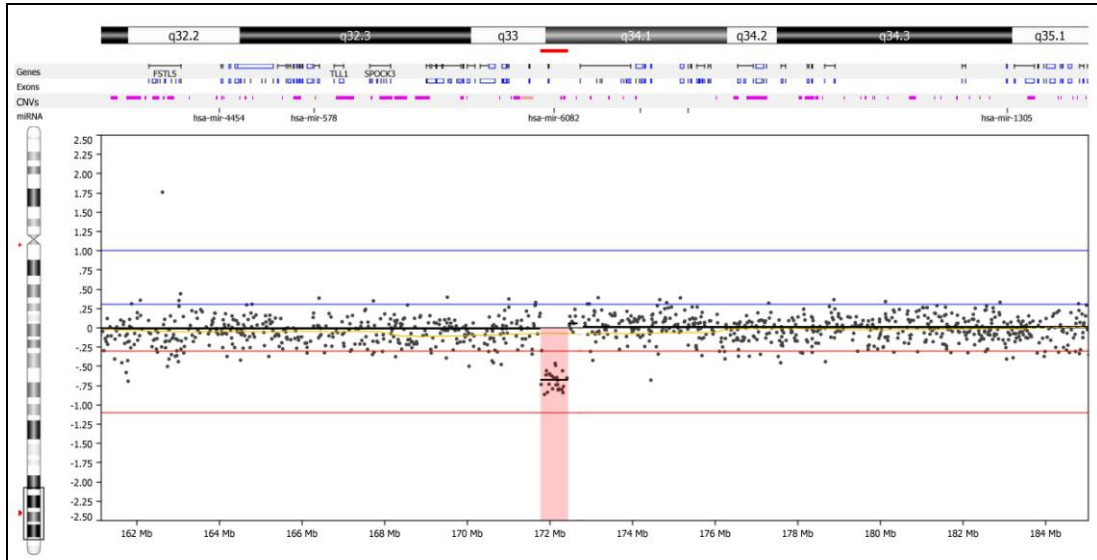
Olgu 8;

Demografik Bilgiler	Olgu 8	Pozitif bulgular
D.T.: 27.09.2004 Anne yaşı: 36 Baba yaşı: 40 G2P2 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 derece kuzen evliliği • İdiyopatik infertilite • IVF gebelik • SGA • PSMG • Stereotipik el hareketleri ve kısa süreli göz kontağı • Bilateral hokey çizgisi
Kromozom Analiz Endikasyonu		<ul style="list-style-type: none"> • Patolojik MR bulguları (periferik BOS mesafesinde benign eksternal hidrosefali ile uyumlu genişleme, korpuz kallozum korpus ve genu kesiminde, internal kapsülün posterior limbinde, optik radiatio'da myelinizasyon yaşa göre geri (4 aylık)) • EKG'de atrial septumda foramen ovale ile uyumlu 5 mmlik bir defekt ve sol-sağ şant
Non-spesifik MR		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,XY,t(4;10)(q34.2;q26.2)dn		
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü /Gen sayısı	Genler
4q34 q34.1 (171.782.657-172.798.553)x1	1016 kb delesyon/ 2 gen	<i>LOC100506122, GALNTL6</i>
10q26.3 (130.669.231-132.067.023)x3,	1398 kb duplikasyon/ 5 gen	<i>MGMT, EBF3, LOC387723, CTAGE7P, GLRX3</i> miRNA geni: MIR4297

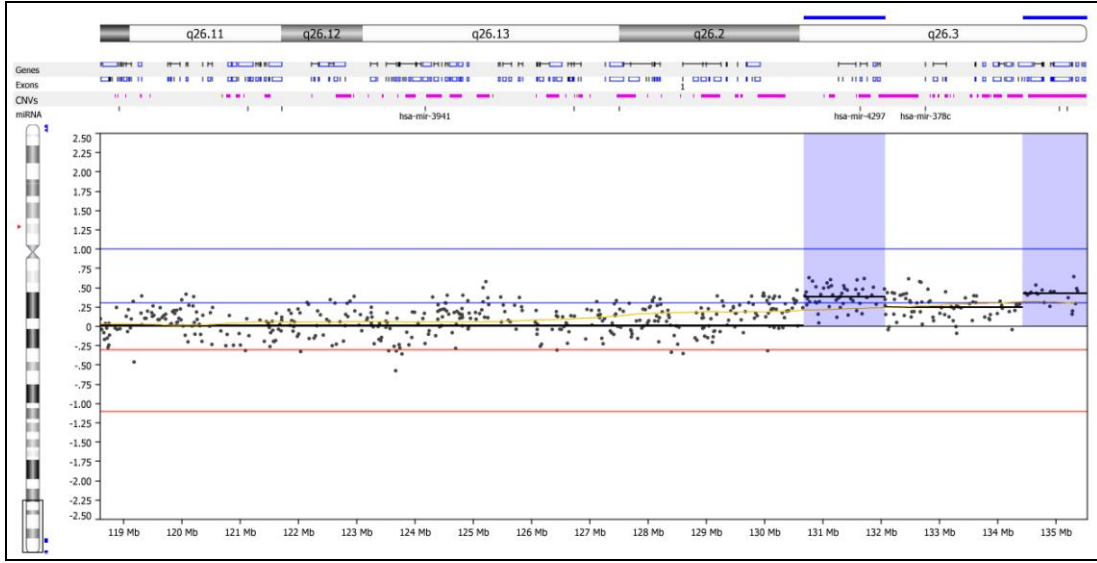
10q26.3 (134.424.882-135.534.747)x3	1110 kb duplikasyon/ 28 gen	<i>INPP5A, NKX6-2, TTC40, GPR123, KNDC1, UTF1, VENTX, ADAM8, TUBGCP2, ZNF511, CALY, PRAP1, FUOM, ECHS1, PAOX, MTG1, SPRN, CYP2E1, SYCE1</i>
Anne- baba A-CGH normal		<i>SPRNP1, FRG2B, DUX4, DUX2, DUX4L7, DUX4L2, DUX4L3, DUX4L5, DUX4L6</i>



Şekil 4.12.: Olgu 8'e ait parsiyel karyotip görüntüsü ve idiogramı



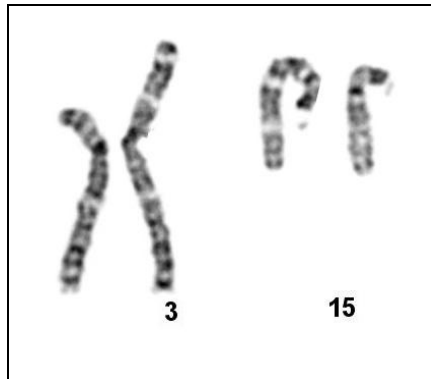
Şekil 4.13.: Olgu 8'e ait delesyonun a-CGH görüntüsü



Şekil 4.14: Olgu 8'e ait duplikasyonun a-CGH görüntüsü


Olgu 9 ;

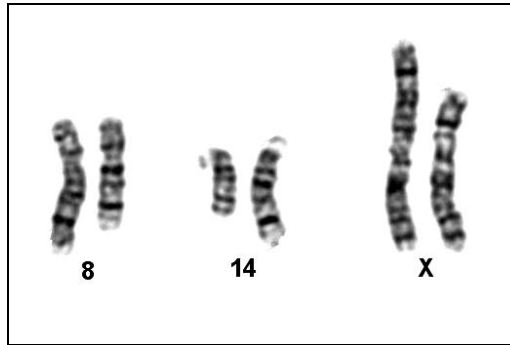
Demografik Bilgiler	Olgu 9	Pozitif bulgular
D.T.: 04.11.2011 Anne yaşı: 34 Baba yaşı: 34 G2P2Ab1 Akrabalık: -	Kalp anomalileri; <ul style="list-style-type: none"> • pulmoner kapak displazik, • pulmoner arterde türbülans, • pulmoner kapakta darlık (çapı 3mm), • post sitenotik dilatasyon, • triküspit regürjitasyon, • sol ventrikül yetersizliği, • sağ ventrikül kontraktilitesi, • sağ ventrikül cidarı hiperekojen, • sağ atrium sol atriumun iki katı. 	
Kromozom Endikasyonu		Analiz
KKH		
Konvensiyonel sitogenetik		FISH
46,XY,der(3)(15qter->15q22.3::3p11.2->3qter), der(15)(15pter->15q22.3::3p26->3p11.2::3p26->3pter)dn		.ish 22q11.2(D22S75x2/N85A3x2), 15q11.2 (SNRPNx2) Kullanılan proplar : DG ve Prader Willi sendromlarına özgün proplar
A-CGH		
.arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.15: Olgu 9'a ait parsiyel karyotip görüntüsü



Olgu 10 ;

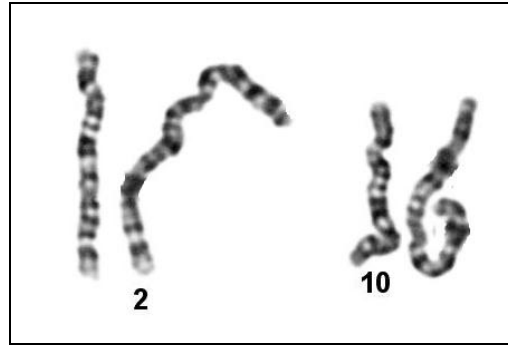
Demografik Bilgiler	Olgu 10	Pozitif bulgular
D.T.: 23.07.2003 Anne yaşı: 38 Baba yaşı: 42 G1P2 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • ICSI gebelik, ikiz eşi • Postnatal dönemde 10 gün yoğun bakım, 45 gün küvezde kalma öyküsü • Baş kontrolünde gecikme (4,5 ay), • Minimal fasial dismorfizm (belirgin frontal ve midfasial hipoplazi) • Yürürken düşme, merdiven çıkarken zorlanma, Gowers bulgusu ve ördekvari yürüyüş, üst ekstremitede kas gücü : 4/5, alt ekstremitede kas gücü 4/5, kas biyopsi sonucu distrofinopati ile uyumlu kas bulguları) • İnferiorda pektus ekskavatum • Hafif orta MR
Kromozom Analiz Endikasyonu		DMD/Female A/T : Turner sendromu A/T: UPD (DMD mutasyonu taşıyan X kromozomu)
Konvensiyonel sitogenetik		
46,X,t(X;8;14)(8qter->8q11::Xp21->Xqter)(Xpter->Xp21::8p21.1->8q11::14q13)dn		
A-CGH	Moleküler test	
.arr (1-22,X)x2	DMD için MLPA ile del/dup çalışması normal	



Şekil 4.16.: Olgu 10'a ait parsiyel karyotip görüntüsü


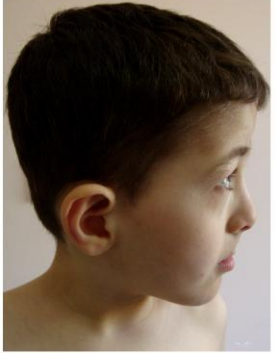
Olgu 11 ;

Demografik Bilgiler	Olgu 11	Pozitif bulgular
D.T.: 01.02.2010 Anne yaşı: 23 Baba yaşı: 25 G1P1 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • ICSI gebelik • Hiperbilirunemi nedeniyle 2 gün fototerapi • PSMG • Konvülsiyon nedeniyle ilaç tedavisi • Dismorfizm (hafif seyrek saçlar, temporal bölgede açıklık, belirgin metopik sutur, bifrontal hafif darlık, hafif aşağı çekik palpebral fissürler, epikantus inversus, kısa filtrum, hafif belirgin vermillion çizgisi, dar ve yüksek damak, strabismus, bilateral ptozis, mavi sklera) • DIR ve indirekt ışık refleksi pozitif • Pes planus
Kromozom Endikasyonu	Analiz	
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH
46,XY,t(2;10)(q33.2;p12.32)dn		.arr(1-22)x2, (XY)x1

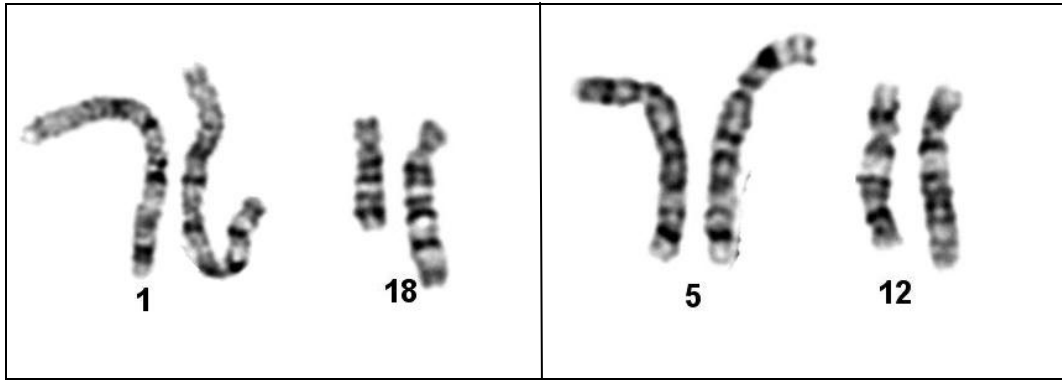


Şekil 4.17.: Olgu 11'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

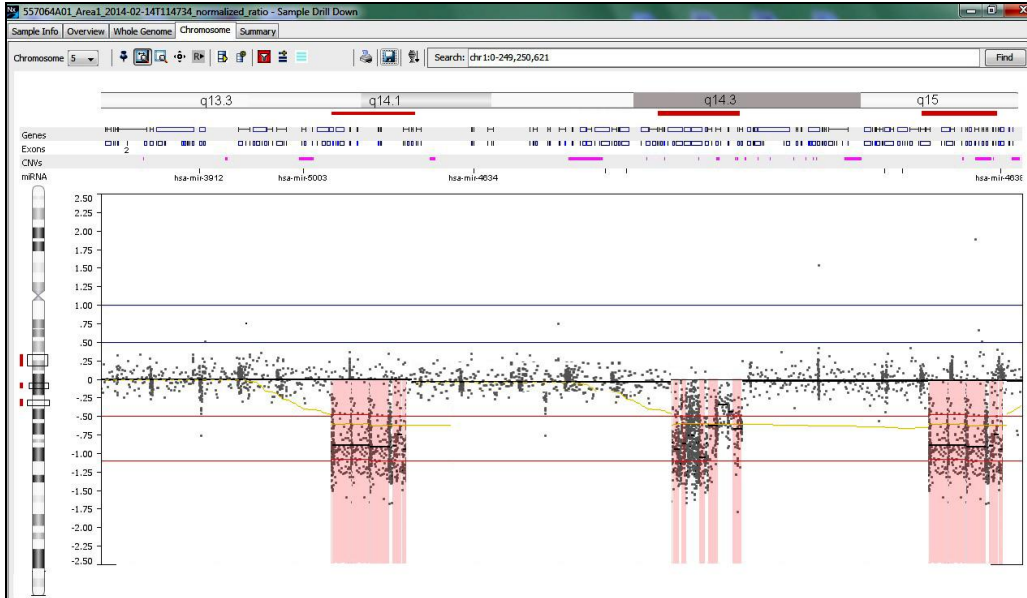
Olgu 12 ;

Demografik Bilgiler	Olgu 12	Pozitif bulgular
D.T.: 09.12.2005 Anne yaşı: 27 Baba yaşı: 30 G2P2 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • Uzak akraba evliliği • Dayıda el-ayak parmaklarının yokluğu • Yeni doğan döneminde hipotonisite • Bilateral strabismus ve kalın lakrimal kanal • Nöromotor gelişme geriliği ve hafif MR • Dismorfizm (kare şeklinde ve dar alın, bir adet frontal saç düğümü, hipertelorizm, epikantus, belirgin burun kökü, belirgin maksiler hipoplazisi, küçük burun, antevort burun delikleri, prognatizm, ince üst dudak, kalın ve öne çıkık alt dudak, hipoplastik uvula, bilateral hafif düşük kulak) • Minör anomaliler: kalkan göğüs, minimal pektus ekskavatum, silik ve düzensiz el içi çizgileri, fetal parmak yastıkçıkları • Brakisefali • Hipoplazik skrotum
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,XY,t(1;18)(q32.1;q23),t(5;12)(p14.2;q21.2)dn		
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü/ Gen sayısı	Genler
5q13.3-q14.1(74,571,645-77,654,540)x1	2412 kb delesyon/ 24 gen	HMGCR, IQGAP2, TBCA, F2R, COL4A3BP, POLK, ZBED3, AGGF1, OTP, AP3B1, WDR41, PDE8B,.....,HM358977, Mir_584, SNORA47,NCRUPAR, LOC728723
5q14.3 (90,604,937-92,259,476)x1,	1604 kb delesyon/ 4 gen	ARRDC3,AK056485, LOC100129716, AK091866

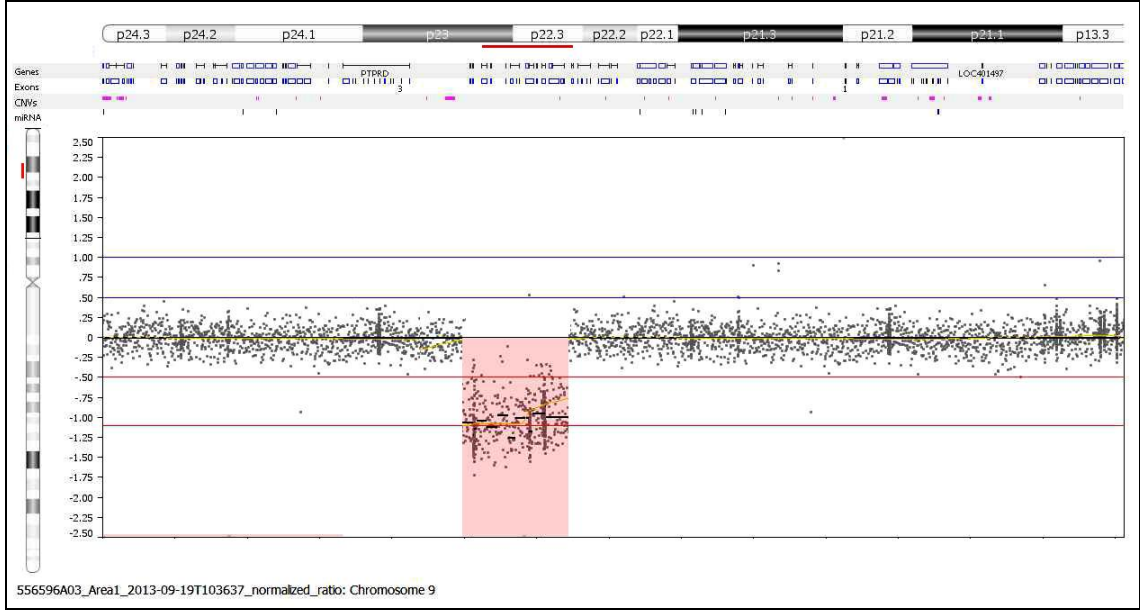
5q15 (93,668,778-95,921,236)x1,	1944 kb delesyon/ 16 gen	<i>ELL2, GLRX, RFESD, SPATA9, RHOBTB3, ..., ARSK, MCTP1, FAM81B, TTC37, DQ590013, MIR583, C5orf27</i>
9p23p22.3(14,030,668-16,317,401)x1	2286 kb delesyon/ 11 gen	<i>PSIP1, C9orf93, NFIB, FREM1, TTC39B, CER1, SNAPC3, ZDHHC21, BX648501, BC042022, AK127963</i>



Şekil 4.18: Olgu 12'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü


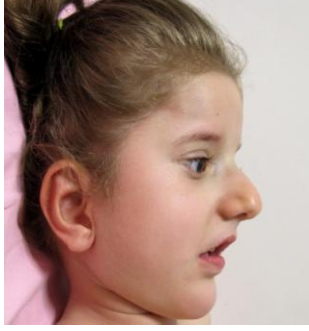


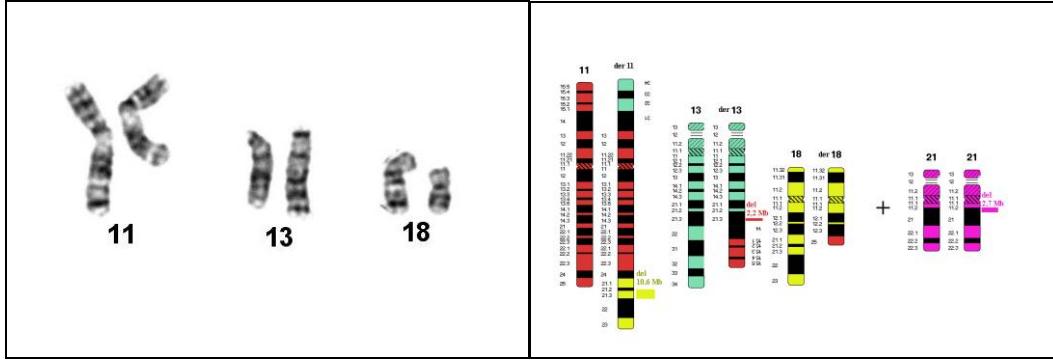
Şekil 4.19: Olgu 12'ye ait delesyon görüntüsü



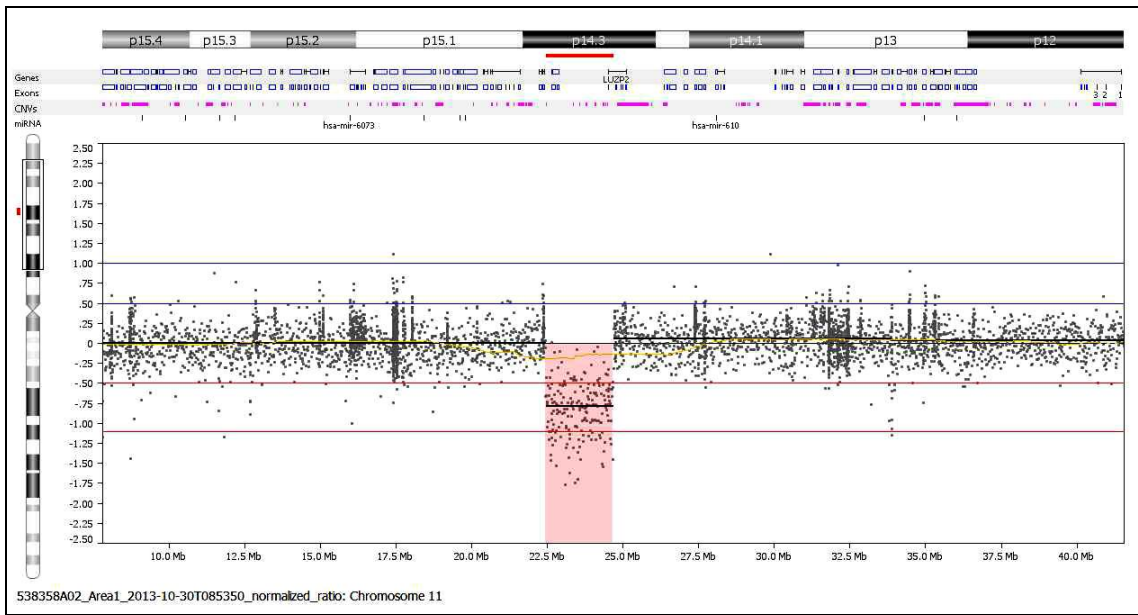
Şekil 4.20: Olgu 12'ye ait delesyon görüntüsü

Olgu 13 ;

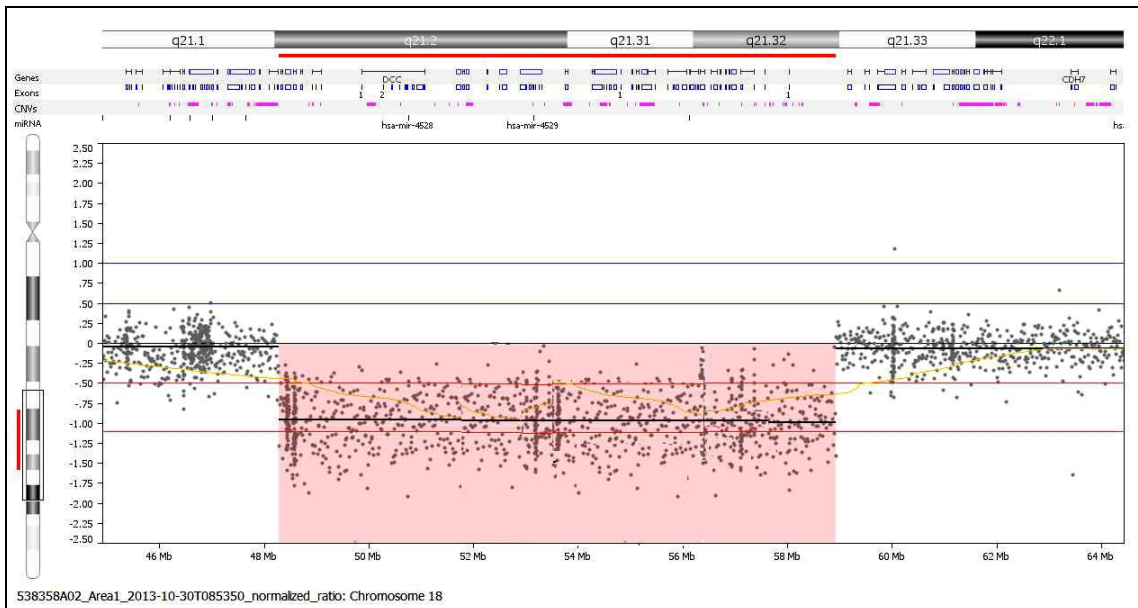
Demografik Bilgiler	Olgu 13	Pozitif bulgular
D.T.: 08.03.2010 Anne yaşı: 24 Baba yaşı: 25 G3P2Ab2 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Fasiyal dismorfizm (sol yarısı hipoplazik asimetric yüz, maksiller hipoplazi, aşağı çekik palpebral fissürler, tringuler ve uzun yüz, hipertelorizm, strabismus, kısa kaşlar, retrognati, kısa filtrum, belirgin burun kemeri, hafif basık burun ucu, ağız komissürleri aşağı çekik, dar ve yüksek damak, mikrodonti, sınırda düşük ve geriye yerleşimli kulaklar, belirgin antiheliks) • Kısa boyun • Yumuşak ve kuru cilt • Ellerde klinodaktili, ince parmaklar • Bilateral PEV, talipes ekinovarus • Hipoplazik klitoris • Ssakral gamze • Diş gıcırdatma ve el ısırma hareketleri • Multiple renal taşlar • Kranial MR'da parsiyel CCA
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		
46,XX,t(11;13;18)(13pter->13q22::11p13->11pter;13qter->13q22::11p13->11q24::18q21->18qter;18pter->18q21::11q24->11qter)dn		
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü /Gen sayısı	OMIM ilişkili genler
11p14.3(22,454,510-24,688,718)x1,	2200 kb delesyon/ 15 gen	<i>FANCF, LUZP2, LOC100500938, SVIP, GAS2</i>
18q21.2q21.32(48,286,848-58,934,492)x1,	10,6 Mb delesyon 35 gen	<i>TCF4, FECH, NEDD4L, POLI, TXNLI, MALT1,.... LMAN1, MBD2, MC4R, , U2, SNORA37, U6, SNORA73, U3, BODIP</i>
21q11.2q21.1(15,598,880-18,332,856)x1	2700 kb delesyon/ 12 gen	<i>NRIP1, RBM11, SAMSNI, USP25, HSPA13, DM119543, MIR125B2, LINC00478, MIRLET7C, MIR99A, ABCC13, SNORD74</i>
Anne baba A-CGH normal		



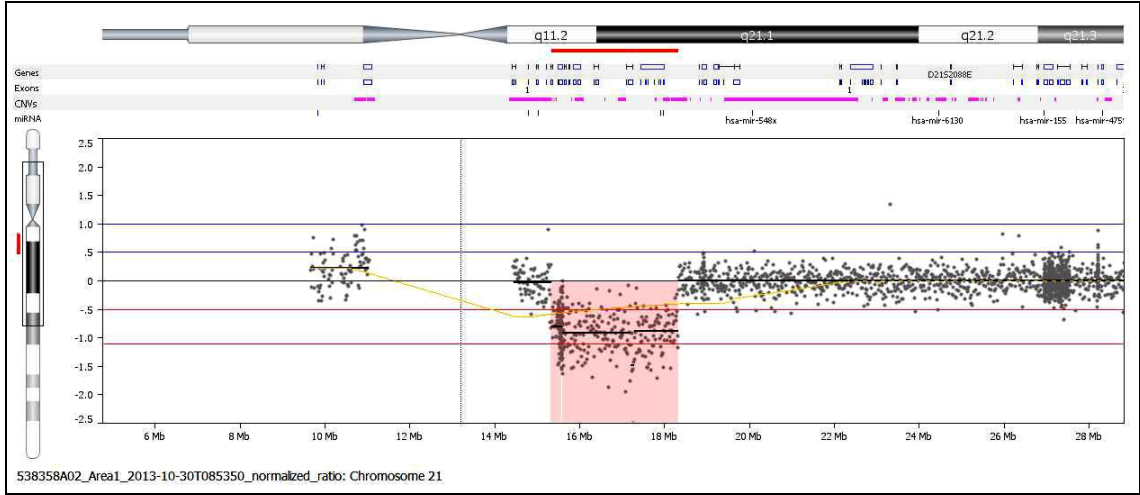
Şekil 4.21: Olgu 13'e ait parsiyel karyotip görüntüsü ve idiyogram



Şekil 4.22: Olgu 13'e ait 11.kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü




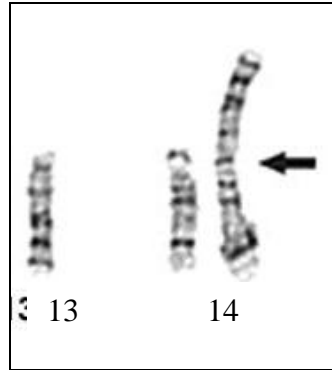
Şekil 4.23: Olgu 13'e ait 18.kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü



Şekil 4.24: Olgu 13'e ait 21. kromozomda saptanan delesyonun A-CGH görüntüsü


Olgu 14;

Demografik Bilgiler	Olgu 14	Pozitif bulgular
D.T.: 07.12.1992 Anne yaşı: 33 Baba yaşı: 34 G3P3 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 derece kuzen evliliği • Ailevi translokasyon taşıyıcılığı (Fenotipik olarak normal aynı translokasyon için taşıyıcı kardeş ve baba) • MR • Hiperaktivite • Belirgin kulaklar • Zayıf göz kontağı, ara ara tekrarlayıcı konuşma • Ailede MR öyküsü (baba tarafında)
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MR		
Konvensiyonel sitogenetik		Moleküler test
45,XY,der(13q;14q)pat		Frajil - X testinde FMR1 geninin üçlü tekrar dizi sayıları normal sınırlarda
A-CGH		
.arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.25: Olgu 14'e ait parsiyel karyotip görüntüsü


Olgu 15;

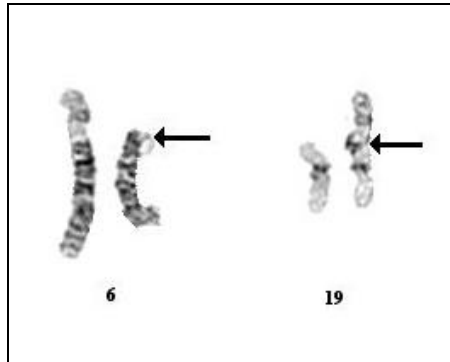
Demografik Bilgiler	Olgu 15	Pozitif bulgular
D.T.: 22.02.1993 Anne yaşı: 38 Baba yaşı: 37 G5P3AB2 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • İleri anne yaşı • Ailevi inversiyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal baba) • Seksio ile doğum, doğum tartısı 5000 gr • Boy – tartı ve BÇ > 97. persantil, belirgin makrosefali • Büyük kulak • Bilateral kriptorşidi • Kemik yaşı ileri • Belirgin obezite • Ajitasyon • MR
Kromozom Analiz	Endikasyonu	
MKA/MR		
A/T: PWS		
A/T: Sotos Sendromu		
Konvensiyonel sitogenetik		Moleküler test
46,XY,parinv(12)(p13.3q13.1)pat		Frajil - X testinde FMR1 geninin üçlü tekrar dizi sayıları normal sınırlarda
A-CGH		
.arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.26: Olgu 15'e ait parsiyel karyotip görüntüsü


Olgu 16;

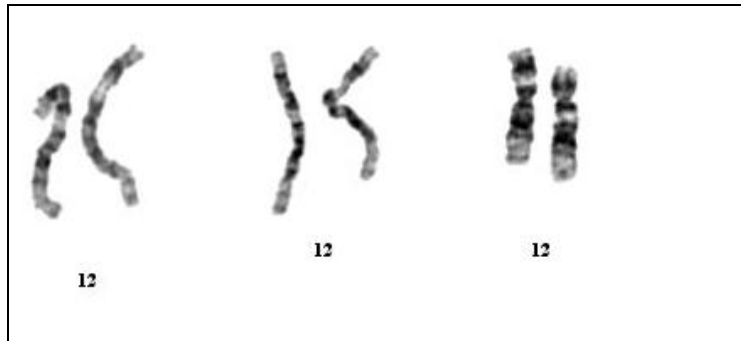
Demografik Bilgiler	Olgu 16	Pozitif bulgular
D.T.: 10.12.1982 M.T: 11.04.1998 Anne yaşı: 17 Baba yaşı: 22 G5P4AB1 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • 3. derece kuzen evliliği • Aynı klinik bulgulara sahip etkilenmiş erkek kardeş ve teyze kızı • Kornea bulanıklığı, mikroftalmi • Ağır motor gerilik • Hafif mental gerilik • Kaslarda atrofi • Mikrosefali • Bilateral hidronefroz • Fasiyel dismorfizm (hipotelorizm, malar hipoplazi, ince üst dudak, belirgin ve büyük kulaklar) • Kriptorşi, düşük testis volümü, geç puberte
Kromozom Endikasyonu	Analiz	
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		Moleküler test
46,XY,t(6;19)(p11;p13.2)mat		Olgu'da etkilenmiş erkek kardeşi ve 1. derece kuzeninde Osteoporozis-psödo glikom sendromu (OPPG) ile ilişkili <i>LRP5</i> geninin dizi analizinde; birleşik heterozigot c.43_60del/ Ex14_16del mutasyonu , olgunun annesinde, heterozigot c.43_60del , babasında, heterozigot Ex14_16del mutasyonları saptandı.
A-CGH		
arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.27: Olgu 16'ya ait parsiyel karyotip görüntüsü


Olgu 17;

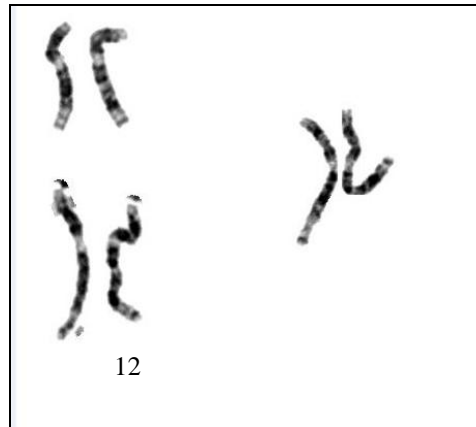
Demografik Bilgiler	Olgu 17	Pozitif bulgular
D.T.: 04.04.1996 Anne yaşı: 32 Baba yaşı: 42 G1P1 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 derece kuzen evliliği • Ailevi inversiyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal taşıyıcı anne) • BGG (tüm ölçümler 3p) • Mikrosefali • Dismorfizm (geniş burun kökü, büyük kulaklar) • Ellerde klinodaktili • El bileği grafisinde 1-5 metakarpda displazi • Eklemlerde hiperekstansibilite • PSMG
Kromozom Endikasyonu	Analiz	
MKA/MR		
Konvensiyonel sitogenetik		Moleküler test
46,XY , inv(12)(p11q14)mat		Frajil - testinde FMR1 geninin üçlü tekrar dizi sayıları normal sınırlarda
A-CGH		
.arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.28: Olgu 17'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 18;

Demografik Bilgiler	Olgu 18	Pozitif bulgular
D.T.: 06.03.1989 Anne yaşı: 33 Baba yaşı: 30 G8P7A1 Akrabalık: +		<ul style="list-style-type: none"> • 2. derece kuzen evliliği • Ailevi inversiyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal taşıyıcı anne) • Pektus ekskavatus • Lomber lordoz • Pulmoner stenoz ve yetmezlik • Sağ kriptorşidi • Sol ektopik testis • Mikropenis • Artmış cilt elastikiyeti • Sol proksimal femurda kortekse yerleşimli, korteksi ekspanse eden litik lezyon
Kromozom Endikasyonu	Analiz	
MKA Tanı: Noonan sendromu		
Konvensiyonel sitogenetik		Moleküler test
46,XY , parinv(12)(q21.2q24.1)mat		RAF1, KRAS, SHOC2, SOS1 dizi analizleri SOS1 c.1656G>A heterozigot mutasyon
A-CGH		
.arr (1-22)x2, (XY)x1		



Şekil 4.29: Olgu 18'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 19;

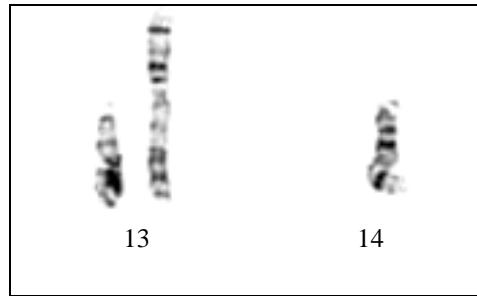
Demografik Bilgiler	Olgu 19	Pozitif bulgular
D.T.: 26.06.2001 Anne yaşı: 31 Baba yaşı: 36 G2P2AO Akrabalık: +	<ul style="list-style-type: none"> • 1. derece kuzen evliliği • ailevi translokasyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal taşıyıcı anne) • doğumdan 5 gün sonra eks olan MKA'lı kardeş öyküsü • mikrosefali • düşük kulak • dar alın • klinodaktili • lizensefali 1 ile uyumlu kranial BT 	
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MKA/MR A/T: Lizensefali 1		
Konvensiyonel sitogenetik	FISH	
46,XX,t(3;4)(p22;q26)mat	MD/SMS Normal Kullanılan proplar: Miller Dicker ve Smith Magenis sendromlarına özgün prob	
A-CGH		
.arr (1-22,X)x2		



Şekil 4.30: Olgu 19'a ait parsiyel karyotip görüntüsü


Olgu 20;

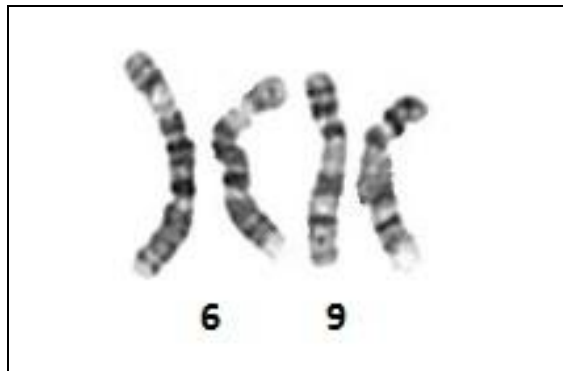
Demografik Bilgiler	Olgu 20	Pozitif bulgular
D.T.: 16.01.2014 Anne yaşı: 23 Baba yaşı: 30 G1P1 Akrabalık: + (1,5 ⁰ kuzen)	<ul style="list-style-type: none"> • 1,5 derece kuzen evliliği • Ailevi translokasyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal taşıyıcı anne) • Dismorfizm (düzleşmiş kulak heliskleri, dolgun yanaklar) • KKH • sağ böbrek agenezi, sol böbrek boyutunda artış • sağda inmemiş testis, sol testis inguinal kanalda • anal atrezi 	
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MR A/T: PWS/ AS		
Konvensiyonel sitogenetik	A-CGH sonucu	
45,XY,der (13;14)(q10;q10)mat	.arr(1-22)x2,(XY)x1	



Şekil 4.31: Olgu 20'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 21;

Demografik Bilgiler	Olgu 21	Pozitif bulgular
D.T.: 01.04.1998 Anne yaşı: 32 Baba yaşı: 33 G2P2 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Ailevi kalıtım? (Anne, kardeş ve babanın iki kardeşi normal, baba ex) • Öyküde hipotoni ve beslenme sorunu • PSMG • Santral obezite, aşırı yemek yeme isteği • Yürüme bozukluğu (ayakları dışarı açarak ataksik yürüme, yürürken dengesini sağlamakta zorluk)
Kromozom Analiz Endikasyonu		
MR A/T: PWS/ AS		
Konvensiyonel sitogenetik	A-CGH sonucu	
46,XX,t(6;9)(q25.1;q32)dn	.arr (1-22,X)x2	

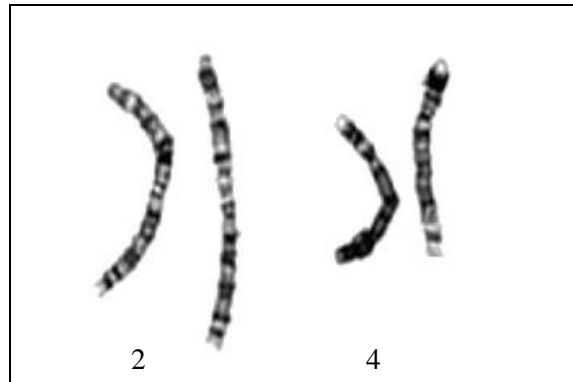


Şekil 4.32: Olgu 21' ait parsiyel karyotip görüntüsü

4.2. PRENATAL OLGU SUNUMLARI

Olgu 22;

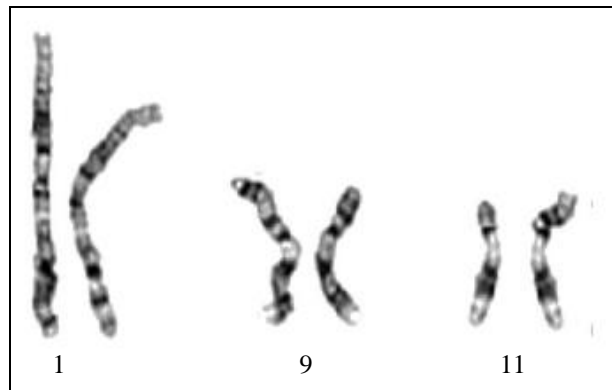
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı:38 Baba yaşı: 42 G2P2 Gebelik haftası:24 Akrabalık: -		NT : 5 mm	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG (artmış NT) AY(38) 2'li testte artmış risk(1/145) ICSI gebelik		CVS	Trofoblast dokusundan izole edilen DNA örneği
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
t(2;4)(p23;q31.1)dn		arr (1-22,X)x2	



Şekil 4.33: Olgu 22'ye ait parsiyel karyotip

Olgu 23

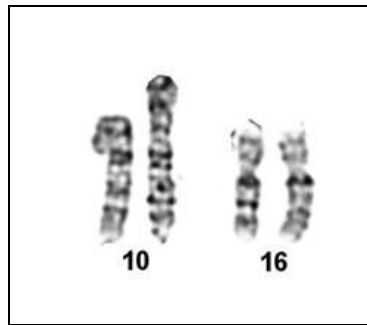
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 30 Baba yaşı: 41 G5P1 Gebelik haftası: 33 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • IUGR • Şüpheli genitalya • mikropenis • el ve ayak deformitesi (club hand, club foot) • burun kökü basık • konjenital katarakt • kalpte sol atrial genişleme • büyük damar çıkışlarında transpozisyonu 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG		KS	Fetal kandan izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,t(1;9;11)(1pter->1q43::9p22.2->9pter;11pter->11p11.22::9p21->9qter)dn		arr(1-22)x2,(XY)x1	



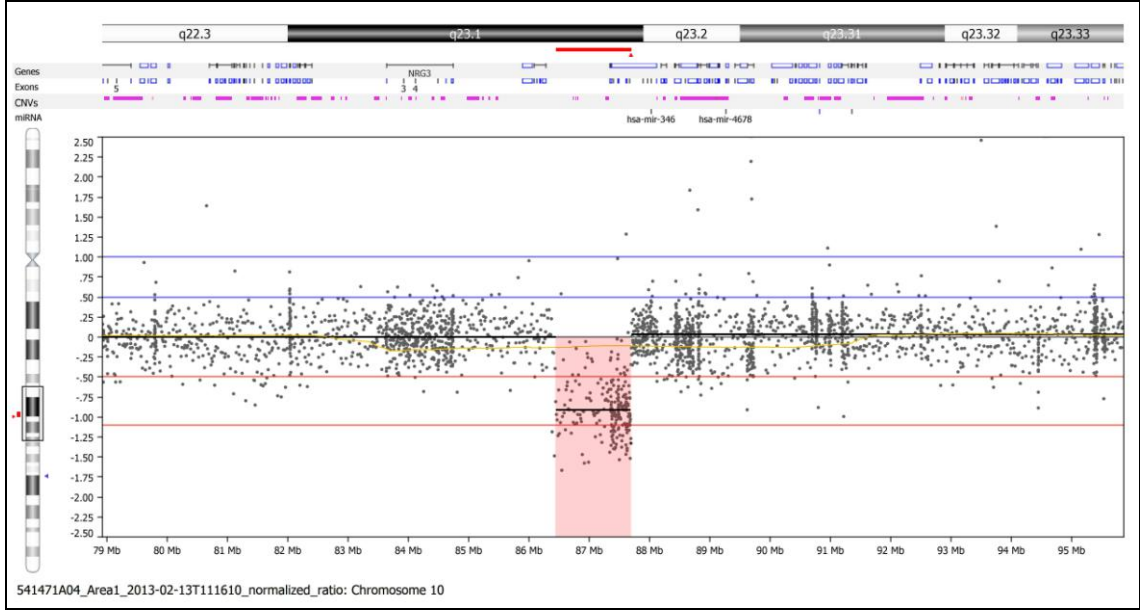
Şekil 4.34: Olgu 23'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 24;

Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 28 Baba yaşı: 29 G1 Gebelik haftası: 21 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Batında kist (mezenter kisti) • polihidroamniyos 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG	AS		Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik			
46,XY,t(10;16)(q23.2;q13)dn			
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü (Gen sayısı)	OMIM ilişkili genler	
10q23.1 (86.441.275-87.680.071)x1	1269 kb delesyon (6 gen)	<i>GRID1, 7SK, AX746544, LOC100507470, AK097624, Mir_544</i>	



Şekil 4.35: Olgu 24'e ait parsiyel karyotip görüntüsü



Şekil 4.36: Olgu 24'e ait 10. kromozomda saptanan delesyonun a-CGH görüntüsü

Olgu 25;

Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 32 Baba yaşı: 35 G5P1 Gebelik haftası: 24 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • dilate intestin • EIF 	
Kromozom Analiz Endikasyonu	Uygulanan girişim	Materyal	
PAT-USG	AS	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA	
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XX,t(7;12)(q36;q15)dn		arr(1-22,X)x2	



Şekil 4.37: Olgu 25'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 26;

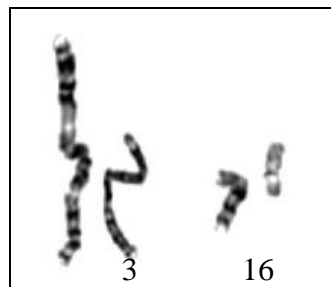
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 42 Baba yaşı: 45 G2Ab1C1 Gebelik haftası: 17 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Koroid pleksus kisti • Talamus üzerinde interhemisferik kist 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
AY (42 ^{3/12}) PAT-USG		AS	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,t(2;3)(q31.2;q27.32)dn		arr(1-22)x2,(XY)x1	



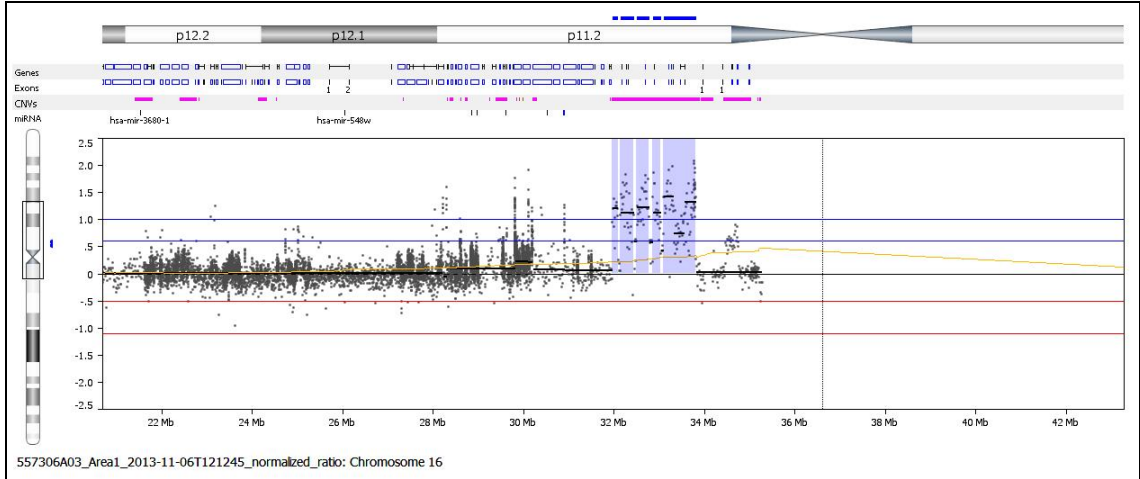
Şekil 4.38: Olgu 26'ya ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 27;

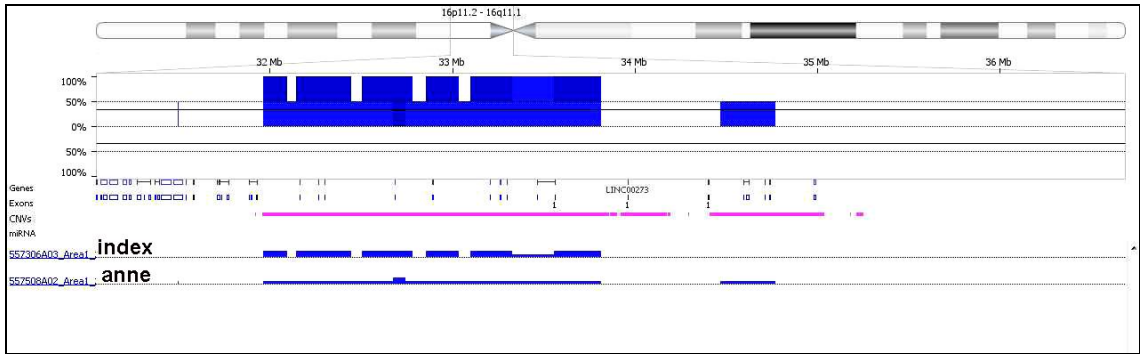
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 40 Baba yaşı: 42 G3P1Ab1C1 Gebelik haftası: 19 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Koroid pleksus kisti İzlem: Fetus, 38.GH'da seksio ile sağlıklı bir kız çocuğu olarak doğmuştur.	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG	AS	AS	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik			
46,XX,t(3;16)(p21.3q11)dn			
A-CGH sonucu	Değişimin büyüklüğü /Gen sayısı	Genler	
16p11.2(28,220,816-33,816,801)x3 mat	5596 kb duplikasyon/ 126 gen	KIF22,PYCARD, PHKG2,ITGAM, MAPK3, NFATC2IP,ZG16, CD2BP2,SULT1A3, ITGAL, TRIM72, PYDC1, ,..... APOBR,SLX1B, AK097453, AK097527, LOC440356, BC039500	



Şekil 4.39: Olgu 27'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü



Şekil 4.40: Olgu 27'ye ait duplikasyonun a-CGH görüntüsü



Şekil 4.41: Olgu 27'nin annenin a-CGH sonucu ile karşılaştırılması

Olgu 28;

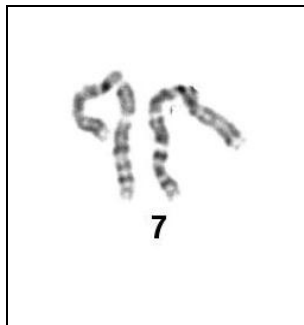
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 37 Baba yaşı: 44 G1C1 Gebelik haftası:23 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Situs inversus totalis • KKH 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG AY(36 ^{11/12})		KS	Fetal kandan izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,inv(12)(p11.23q15)mat		.arr(1-22)x2,(XY)x1	



Şekil 4.42: Olgu 28'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

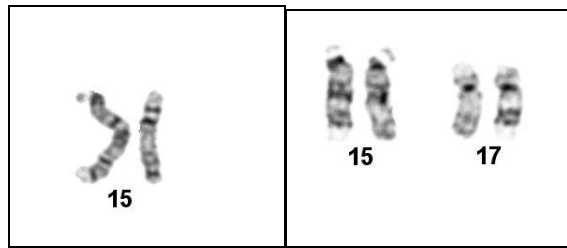
Olgu 29;

Demografik Bilgiler	Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 26 Baba yaşı: 29 G1C2 Gebelik haftası:22 Akrabalık: -	<p>Monokoryonik diamniyotik ikiz eşlerinden birinde</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anhidroamniyos • Larinks atrezisi • Bilateral renal agenezi • Batında asit • TUA • Alt ekstremite yokluğu/hipoplazisi • Şüpheli genitalya <p>İzlem: Gebelik, 35. gebelik haftasında IUMF ile sonuçlandı. Fetus değerlendirilmesinde; Laringeal atrezi, ağır displastik pelvis, alt ekstremitelerde ağır-asimetrik redüksiyon defekti, dış genital yokluğu ve sakral agenezi saptandı. A/T: Alt mezodermal defektler A/T: WNT sinyal yolağı ile ilişkili fenotipler</p>	
Kromozom Analiz Endikasyonu	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG	AS	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik	A-CGH sonucu	
46,XX,inv(7)(q11.2q32?)mat	.arr(1-22,X)x2	

**Şekil 4.43: Olgu 29'a ait parsiyel karyotip görüntüsü**

Olgu 30;

Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 26 Baba yaşı: 29 G2P1C1 Gebelik haftası:24 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> Asimetrik ventrikülomegali İzlem: Olgu 39. GH'da seksio ile sağlıklı doğdu.	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG		AS	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,t(15;17)(q24.1;q21.3)pat		.arr(1-22,X)x1, (XY)x1	



Şekil 4.44: Olgu 30'a ait parsiyel karyotip görüntüleri

Olgu 31;

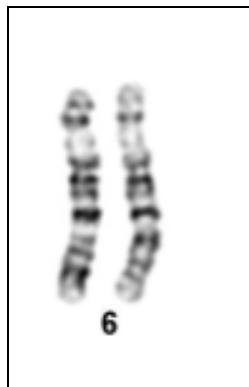
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 27 Baba yaşı: 28 G1C1 Gebelik haftası:22 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Bilateral PEV • Amniyotik band sekansı 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG		KS	Fetal kandan izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XY,t(11;15)(q13.3;q25)pat		.arr(1-22)x2,(XY)x1	



Şekil 4.45: Olgu 31'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 32;

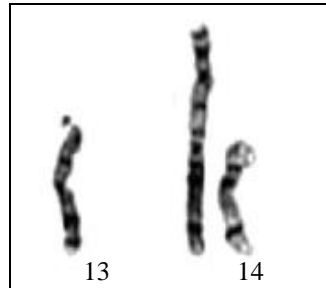
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 25 Baba yaşı: 29 G6P5Ab0 Gebelik haftası:22 Akrabalık: -		<ul style="list-style-type: none"> • Ailevi inversiyon taşıyıcılığı (fenotipik olarak normal taşıyıcı baba) • asit • polihidroamniyos • IUMF • artmış kardiyotorasik indeks • kalın plasenta 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG		KS	Fetal kandan izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XX,inv(6)(q21.2q26)pat		.arr(1-22,X)x2	



Şekil 4.46: Olgu 32'ye ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 33;

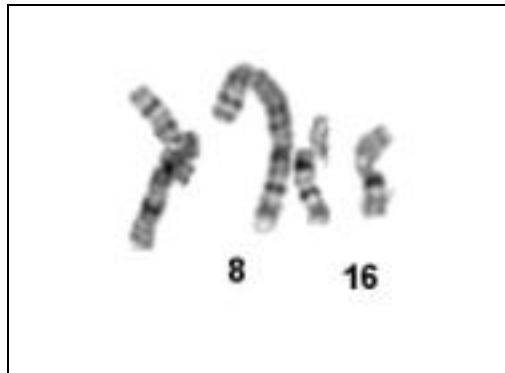
Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 30 Baba yaşı: 39 G1 Gebelik haftası:25 Akrabalık: + (3 ⁰ kuzen)		<ul style="list-style-type: none"> • TUA • HEİ (Grade I) • Artmış kardiyotorasik indeks 	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG ICSI gebelik		CVS	Koryonik villus dokusundan izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
45,XY,der(13;14)(q10;q10)?		.arr(1-22,X)x1, (XY)x1	



Şekil 4.47: Olgu 33'e ait parsiyel karyotip görüntüsü

Olgu 34;

Demografik Bilgiler		Patolojik ultrason bulguları	
Anne yaşı: 34 Baba yaşı: 43 G5P2Ab2 Gebelik haftası: 20 Akrabalık: -		• Bilateral ventrikülomegali, hidrocefali	
Kromozom Endikasyonu	Analiz	Uygulanan girişim	Materyal
PAT-USG		Amniosentez	Amniyotik sıvı kültüründen izole edilen DNA
Konvensiyonel sitogenetik		A-CGH sonucu	
46,XX,t(8;16)(q24.1;q12.1)?		arr (1-22,X)x2 (normal)	



Şekil 4.48: Olgu 34'e ait karyotip görüntüsü

TARTIŞMA

MKA/MR etiyojisinde kromozom anomalileri çok önemli bir yer tutar (% 15). Konjenital anomaliler nedeniyle erken neonatal ölümlerin %18'inden kromozomal anomaliler sorumludur. En sık görülen kromozom anomalileri T21, T13, T18 ve seks kromozom anöploidileridir. Ender görülen kromozom anomalilerinin prevalansı ile ilgili yapılan bir Avrupa kollaboratif çalışmasında bu oran %17 olarak belirlenmiştir (Wellesley D ve ark., 2012). Merkezimizde T21, Turner, Klinefelter ve Frajil X Sendromları dışlandıktan sonra, 1099 MKA/MR'li olguda yapılan retrospektif çalışmada saptanan kromozom anomali oranı %17,97 idi. Saptanan anomalilerin %15,9'u sayısal, %84,1'i ise yapısal kromozom anomalileriydi.

Yapısal anomalilerin 5-10 Mb dan büyük olanları prometafaz kromozomları ile yapılan mikroskobik incelemelerde saptanabilirler. 1980'li yıllardan beri kullanılmakta olan FISH tekniği daha küçük anomalilerin de saptanabilmesine olanak sağlamış ancak bu uygulamalar klinik yönlendirmenin varlığında bilinen mikrodelesyon/duplikasyon sendromları ile subtelomerik bölgelerin incelenmesi ile sınırlı kalmıştır. Ancak, son yıllarda geliştirilen a-CGH ve mikroarray teknikleri tek bir test ile **tüm genomu** 1 kb lık dengesizlikleri dahi inceleyebilme olanağı sağlamıştır. Bu test ile delesyon/duplikasyon gibi genomik dengesizliklerin saptanmasının yanı sıra dengesizliğin büyüklüğü, kırık noktaları ve içerdiği genler gibi ayrıntılı bilgilere de ulaşılabilir.

Dengeli kromozomal yeniden düzenlenmelerde fenotipin etkilenmesi normal koşullarda beklenmezse de bu tür değişimler klinik olarak etkilenmiş olgularda saptanabilmektedir. Bu olgularda, mikroskobik olarak dengeli görünen yeniden düzenlenmelerde, submikroskobik yani moleküler düzeyde genomik dengesizlik/ler olabileceği ve bu nedenle de fenotipin etkileneceği kabul edilmektedir. Mikroskobik düzeyde “dengeli” görünen yeniden düzenlenmelerin moleküler düzeyde “dengesiz” olması birkaç mekanizma ile açıklanmaktadır; 1) DNA düzeyindeki dengesizlikler (kayıp ve/veya artış), 2) genom “dengeli” olmakla birlikte kırık noktasının işlevsel bir genin yapısını bozarak fonksiyon kaybına yol açması 3) kırık noktalarında yeni bir genin fonksiyon kazanması (pozisyon etkisi) 4) parental imprinting kalıbının bozulması, 5) basit resiprokal translokasyonlar gibi görünen olayların aslında submikroskopik

kompleks kromozom yeniden düzenlemeleri (CCR) olmasıdır (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

Yapılan ampirik çalışmalarda, *de novo* görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi taşıyan olgularda fenotipik olarak etkilenme oranları; resiprokal translokasyonlar için % 6,1, Robertsonian translokasyonlar için % 3,7, inversiyon ve insersiyonlar için % 9,4, CCR'lar için ise % 23 olarak verilmekteydi (Warburton D, 1991; Madan K, 1997). Dengeli taşıyıcı normal fenotipik ebeveynlerin, kromozomal olarak kendileri gibi mikroskobik olarak dengeli taşıyıcı olmasına rağmen fenotipik olarak etkilenmiş çocukları olabildiği bilinmektedir. Bu durum da submikroskobik dengesizliklerin varlığı, dengeli/dengesiz mozaiklik olması, pozisyon efekti ve uniparental dizomi gibi mekanizmalarla açıklanmaya çalışılmıştır. Bu olgularda, array tekniklerinin uygulanması sadece kırık noktalarının değil tüm genomun kilobaz düzeyinde incelenmesine olanak sağlayarak mekanizmanın açıklanabilmesine çok önemli katkılar sağladı (Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

Fenotipik olarak etkilenmiş, görünürde mikroskobik olarak dengeli *de novo* kromozom anomali olgularında yapılan tüm genom a-CGH/Mikroarray çalışmalarında resiprokal translokasyon taşıyanlarda % 33-62, inversiyon taşıyıcılarında % 40-57, , CCR taşıyıcılarında ise % 55-90 oranında genomik dengesizlikler saptandığı bildirilmektedir (Gribble SM ve ark., 2005; Gregori M ve ark., 2007; Higgins AW ve ark., 2008; ve ark., 2009; Sismani C ve ark., 2008; Gijbers AC ve ark., 2010; Feenstra I ve ark., 2011). Ailevi resiprokal translokasyon taşıyıcılarında ise genomik dengesizlik oranı farklı çalışmalarda %16,6 - 28 arasında değişmektedir (Schluth-Bolard C ve ark., 2008; Sismani C ve ark., 2008). a-CGH/Mikroarray tekniği ile saptanan genomik dengesizliklerin yaklaşık % 25- 60'ı genomun kromozom anomalisinden bağımsız bölgelerinde saptanması tüm genomun incelenmesinin önemini göstermektedir (Gribble, De Gregori, Baptista, Bolard). Edinilen bu deneyimlerin ışığında, ACOG (The American Congress of Obstetricians and Gynecologists) ve SIGU (Societa Italiana Italiana di Genetica Umana) gibi meslek kuruluşları yalnızca etkilenmiş postnatal olgularda değil patolojik ultrason bulguları saptanan gebeliklerde ve ultrason bulguları normal olsa bile *de novo* kromozom anomalisi saptanan gebeliklerde a-CGH/Mikroarray tekniğinin uygulanmasını önermişlerdir.

Bu çalışmada, kendi olgu serimizde fenotipik olarak etkilenmiş ve görünürde dengeli kromozom anomalisi taşıyan 21 postnatal (8 resiprokal ve 2 Robertsonian translokasyon, 7 CCR, 4 inversiyon) ve prenatal tanıda dengeli kromozom anomalisi saptanan 13 olguda (9 translokasyon, 1 CCR, 3 inversiyon) a-CGH/Mikroarray tekniği ile elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Fenotipik olarak etkilenmiş bireylerde postnatal çalışmalarda saptanan, 21 görünürde dengeli kromozom anomalisinden 7'sinde (%33,3) bir veya daha fazla anlamlı genomik değişim saptandı. Bu 21 dengeli kromozom anomali olgusundan yedisi ailevi (ikisi paternal, 5'i maternal) ve 14'ü ise *de novo* kalıtım gösteriyordu. Ailevi olgularımızın hiçbirinde ne kırık noktalarında ne de genomun bir başka noktasında anlamlı bir değişim saptanmadı. Literatürde ailevi olgularda anomali saptandığını bildiren iki çalışma bulunmaktadır (Schluth-Bolard C ve ark., 2008; Sismani C ve ark., 2008). Schluth-Bolard ve ark. (2008) 'nin çalışmasında 14 ailevi olgunun dördünde (%28,6), Sismani ve ark. çalışmasında ise 6 ailevi olgunun birinde anomali (%16,6) bildirilmektedir. Schluth-Bolard ve ark. çalışmasında bildirilen 4 anomalinin ikisinde ailevi kromozom anomalisinin kırık noktalarında, büyüklükleri 1.23 ve 4,03 Mb olan iki yeni delesyon saptanmıştır. Her iki olguda da maternal kalıtım (biri inversiyon 1 ve diğeri insersiyon 7q;4q) söz konusudur. Diğer, biri kırık noktasında diğeri ise farklı bir kromozomda iki submikroskopik değişimin (1.21 ve 0.08 Mb) fenotipik olarak normal taşıyıcı babalarda da olduğu gösterilmiştir. Bu değişimlerin zararsız olup olmadığı çalışmanın yayınlandığı yılda henüz veri tabanlarında bulunmaması nedeniyle yazarlar fenotip ile ilişkisini tartışmamışlar ancak bu durumun ekspresyon farklılıkları, diğer alleldeki maskelenmiş resesif mutasyon, parental imprinting bozulması ya da çoklu genetik defektlerin biraraya gelişi ile ortaya çıkabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca *de novo* oluşan iki anomaliden birinin kırık noktalarında diğeri ise kırık noktasından bağımsız genomun farklı bir yerinde olması dikkat çekicidir ve tüm genomun incelenmesinin önemini desteklemektedir.

Bugüne kadar, fenotipik etkilenmiş bireylerde saptanan *de novo* dengeli kromozom anomalilerinde yapılmış a-CGH/mikroarray sonuçlarının sunulduğu çalışmaların sonuçlarına göre kırık noktalarında veya bunlardan bağımsız bölgelerde submikroskopik anomali saptanma oranı %25 ile %60 arasında değişmektedir (Gribble SM ve ark., 2005; Gregori M ve ark., 2007; Higgins AW ve ark., 2008; Sismani C ve

ark., 2008). Serimizde de %50 (7/14) olarak saptanan bu oran yayınlanmış serilerle uyumludur.

a-CGH ile saptanan submikroskopik anomalinin yeri açısından sonuçlar karşılaştırıldığında, serimizde kırık noktalarından bağımsız yerlerde saptanan anomalilerin oranı %42,8 (3/7), literatürdeki diğer seri sonuçları (%25, %41,6, %56,2, %60) ile uyumlu bulunmuştur. Kırık noktalarından bağımsız yerlerde saptanan submikroskopik anomaliler, çoğunlukla CCR olgularında gözlenmektedir. CCR olgu sonuçlarının verildiği 5 çalışmada (Schluth-Bolard C ve ark., 2008; Gijbers AC ve ark., 2010; Gribble SM ve ark., 2005; Gregori M ve ark., 2007; Higgins AW ve ark., 2008) toplam 29 anomali, kırık noktalarından bağımsız yerlerde saptanmıştır ve bunların 13 ü CCR olgularında gözlenmiştir. Serimizde de kırık noktalarından bağımsız yerlerde saptanan üç anomalinin üçü de CCR olgularındadır. Üç anomalinin de büyüklüğü yaklaşık 2-3 Mb arasındadır ve kromozom analizlerinde saptanmamış olması beklenen bir durumdur. Literatürdeki serilerden sadece birisinde (Gribble SM ve ark., 2005) saptanan anomalinin büyüklüğü 8 Mb olup diğer anomalilerin büyükleri olgularımızda olduğu gibi 0,06-3,57 arasında değişmekteydi. Kısacası, kırık noktalarından bağımsız yerlerde anomalilerin sıklıkla CCR olgularında saptanması, CCR oluşumuna yol açan mekanizmanın mikroskopik ve submikroskopik anomalilere yol açtığıdır (bakınız 2.2.5).

Kırık noktalarında submikroskopik anomali saptama oranları ise resiprokal translokasyon için %10 (1/10), inversiyon için %25 (1/4) ve CCR için %28,5 (2/7) idi. Resiprokal translokasyonlarda yapılmış kollaboratif çalışmalarda (Baptista ve ark., 2005, Gregori M ve ark., 2007; Gribble SM ve ark., 2005; Schluth-Bolard C ve ark., 2008) kırık noktalarındaki submikroskopik anomali oranları serimize göre daha yüksektir (%28,6 ve %32,1, %40, %48). Bu fark, bizim tek merkezli çalışmamızdaki olgu sayımızın daha az olması ile açıklanabilir.

a-CGH ile submikroskopik anomali saptanan 7 olguda toplam 16 bağımsız anomali, 5 olguda ise birden fazla anomali gözlemlendi. A-CGH ile saptanan toplam 16 değişimin 12'si CCR'larda, 3'ü resiprokal translokasyonda, biri ise inversiyon olgusunda saptanmıştır. Bu anomalilerin 8'i kırık noktalarında, 8'i ise kırık noktalarından bağımsız bölgelerde saptanmıştır. (Tablo 5.1 ve Tablo 5.2)

Tablo 5.1: a-CGH tekniği ile postnatal olgularda saptanan submikroskopik anomalilerin sitogenetik anomalinin tipi ve saptandığı yere (kırık noktası ya da bağımsız bir bölge) göre dağılımı

Sitogenetik anomali	N:21				
	Kırık noktalarında saptanan anomali oranları		Kırık noktalarından bağımsız bölgelerde saptanan anomali oranları		Toplam
Translokasyon	1/10	%10			
İnversiyon	1/4	%25	-		1/4 %25
CCR	2/7	%29	3/7	%42	5/7 %71

Tablo 5.2: Saptanan submikroskopik anomalilerin olgu bazında dökümü

	Kırık noktalarında	Kırık noktalarından bağımsız
Translokasyon	Olgu 8; 1 delesyon 2 duplikasyon	
İnversiyon	Olgu 2; 1 delesyon	
CCR	Olgu 3; 2 delesyon Olgu 13; 2 delesyon	Olgu 5; 2 delesyon Olgu 6; 1 delesyon Olgu 12; 3 delesyon 1 duplikasyon Olgu 13; 1 delesyon
Toplam	4 olgu 8 anomali	4 olgu 8 anomali

5.1. Postnatal Olgulardaki Bulgular

Olgu 1; Karyotip analizinde kırık noktaları 4q25 ve 10q22.1 olan görünürde dengeli resiprokal *de novo* bir translokasyon saptanan, klinik bulguları ile ayırıcı tanıda kraniosinnoztoz düşünülen Olgu 1'de a-CGH tekniği ile herhangi bir delesyon/duplikasyon saptanmadı. Ancak, sendromik kraniosinnoztozlu olguların %90'ında *FGFR3*, *FGFR2*, *FGFR1* ve *TWIST* genlerinde mutasyonlar gösterilmektedir (Barik M ve ark., 2014). *FGFR2* geni 10q26.13 de yer almaktadır. Karyotip analizlerinde belirlenen kırık noktalarının moleküler düzeyde farklı olabileceği bilinen bir durumdur (Schluth-Bolard C ve ark., 2008). Olgumuzdaki kırık noktasının da mikroskopik olarak belirlenen 10q22.1 bandı, moleküler düzeyde 10q26.13 olabileceği ve *FGFR2* geninin işlevini bozan bir mutasyona yol açmış olabileceği hala güçlü bir olasılıktır. Bu nedenle olguda *FGFR2* gen dizi analizi yapılması, mutasyon gösterilememesi durumunda ise gen ekspresyon analizlerinin yapılması planlanabilir.

Olgu 2; Karyotip analizinde 1. kromozomda kırık noktaları q25.1 ve q32.2? olan görünürde dengeli *de novo* bir inversiyon saptanan olguda, a-CGH tekniği ile 1. kromozomun q23.3q24.2 bölgesinde 161,969,134-169,579,696 baz çiftleri arasında 7,610 kb büyüklüğünde ve 53 gen içeren *de novo* bir delesyon saptandı. Literatürde 1. kromozomun q kolundaki delesyonlar, delesyonun lokasyonuna göre 3 grupta sınıflandırılmaktadır; i) 1q21-22->q25 (proksimal 1q delesyon sendromu), ii) 1q24-25->q32 (intermediate 1q delesyon sendromu), iii) 1q42-43->qter (distal 1q delesyon sendromu). Bugüne kadar, sadece 18 olguda *de novo* proksimal 1q delesyonu bildirilmiştir (Della Monica M ve ark., 2007). Bu olgulardan biri, olgumuz ile hem a-CGH sonuçları hem de klinik bulgular açısından benzerlik göstermektedir. İki olgunun delesyonları 4970 kb lık bir bölgede örtüşmekte ve bu bölgede yer alan 30 ortak gen bulunmaktadır. İki olgu arasında örtüşmeyen 9 gen bulunmaktadır. Bu olgunun nöromotor retardasyon, BGG, minör fasiyal bulguların bir kısmı (ince üst dudak, belirgin ve kıvrımı artmış antiheliks), bazı iskelet sistemi bulguları (pektus ekskavatum, her iki elde beşinci parmak klinodaktilisi) hipotoni ve kranial MR'da ventriküler genişleme gibi klinik bulguları olgumuzla örtüşmekte ancak böbrek anomalileri ve otistik bulguları olgumuzda bulunmamaktadır. 1q23-q24 bölgesinde lokalize olan bazı genler (*ALDH9A1* geni, G-Protein sinyal regülatörü olan *RGS4* ve *RGS5* genleri) otizm

spektrumu ile ilişkilendirilmiştir. Delesyona uğrayan genlerden biri olan otozomal resesif kalıtım gösteren *TMCO1* geni, kraniofasial dismorfizm, iskelet anomalileri ve mental retardasyon sendromu olarak bilinen ve sensörinöral işitme kaybı, davranış bozuklukları, anksiyete, depresyon, öfori ile ilişkilendirilmiştir (#213980). İşitme kaybı ve psikiyatrik sorunlar dışında sendromun diğer karakteristik özelliklerini taşıyan olgumuzda *TMCO1* geni dizi analizi ile diğer allelde mutasyon olup olmadığının araştırılmasının tanıya yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

Olgu 3; Karyotip analizinde 8q24.13 ile 13q21.2 bantları arasında resiprokal bir translokasyon ve 2. kromozomun p16.3 bölgesine q22.2->q33.2 bölgesinin insersiyonu saptanan olguda a-CGH ile 2. kromozomun q22.3 bölgesinde 146,786,756- 147,305,733 baz çiftleri arasında 519 kb büyüklüğünde tanımlanmış gen içermeyen *de novo* bir delesyon ile 2q36.1q36.3 bölgesinde 225,194,399-228,263,782 baz çiftleri arasında 3069 kb büyüklüğünde 11 gen içeren *de novo* başka bir delesyon saptanmıştır. Literatürde bu bölgenin delesyonları sitogenetik ve moleküler düzeyde bildirilmiştir (Freitas ÉLve ark., 2012; Goumy C ve ark., 2014). İlginç olan DNA düzeyinde gösterilen delesyonların tamamında delesyon yaklaşık olarak 222,290,000. baz çiftinden başlamakta ve nöral tüp defektleri ile ilişkili olduğu gösterilmiş *PAX6* ve *EPHA4* genlerini de kapsamaktadır. Olgumuzda ise literatürde bildirilen olgulardan farklı olarak delesyon 225,194,399 da başlamakta ve *PAX6* ve *EPHA4* genlerini kapsamamaktadır ki olgumuzda nöral tüp defekti bulunmaması bu sonuç ile uyumludur. Literatürdeki delesyonlara göre yaklaşık 3000kb daha küçük olan olgumuzdaki delesyonla ilişkili genlerden yalnızca otizm ile ilişkili *TM4SF20* geni olgumuzun klinik bulguları ile ilişkili görünmekte, diğer genler ile ilişkili fenotipik bulgular ise olgumuzda bulunmamaktadır. Bu olgu, Karaman B. ve ark.'ı (2009) tarafından yayınlanmış ve sitogenetik olarak saptanmış kırık noktalarına göre, OMIM'de bildirilmiş yaklaşık 100 gen olduğu, 8q24 bölgesindeki *PTK2* ve *ENPP2* genlerinin beyin dokusunda yüksek oranda eksprese olduğu, ayrıca 13q21.1 bölgesinde lokalize olan *POU4F1* geninin yine merkezi sinir sistemi ve retinada yüksek ekspresyonunun görüldüğünü dolayısıyla olgudaki psikomotor mental retardasyonun, 2q32 bölgesindeki sinpolidaktiliye neden olan *HOXD13* genindeki bir mutasyonun olgudaki el bulguları ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştü. Ancak a-CGH sonuçları bu olasılıkları desteklememiştir.

Olgu 5; Kromozom analizinde 3p13p25 inversiyonu ve 11p13.5 ile 18q12.2. arasında resiprokal bir translokasyon saptanan olguda a-CGH tekniği ile kırık noktalarından farklı olarak 4q13.3 bölgesinde 71,013,108-72,174,576 baz çiftleri arasında 1161 kb büyüklüğünde 19 gen içeren bir delesyon ve 4q13.3q21.2 bölgesinde ise 73,373,677-76,306,815 baz çiftleri arasında 2933 kb büyüklüğünde 32 gen içeren başka bir delesyon saptandı. Karyotip analizinde saptanamayan 4. kromozomdaki bu değişimin parental interstisyel bir translokasyon ürünü olup olmadığını araştırmak amacıyla yapılan parental kromozom analizi ve FISH çalışmasında herhangi bir değişim gösterilemedi. Ayrıca ebeveynlerde yapılan a-CGH çalışması ile bu değişimlerin *de novo* olduğu gösterildi. Delesyonun içerdiği genlerden hedefi astrosit ve Schwann hücreleri olan EGF reseptör/EGFR genlerinin regülatörü olarak görev yapan *AREG* geni PSMG bulgusu, melatonin reseptör geni olan *MTNRIA* geni ise hiperpigmente lezyonlarla ilişkili olabilir.

Olgu 6; Ayırıcı tanısı WAGR Sendromu olan olguda kromozom analizlerinde 3, 15 ve 21. kromozomlar arasında kompleks, ayrıca 4. ve 16. kromozomlar arasında resiprokal görünürde dengeli *de novo* bir translokasyon saptanmıştı. A-CGH çalışmasında, kırık noktalarında bir değişime rastlanmadı ancak 11. kromozomun p14.1p13 bandında 30,031,595 ile 33,045,209 baz çiftleri arasında 2,511 kb'lık submikroskopik bir delesyon saptandı. Bu delesyonun kapsadığı 15 genden ikisi *WT1* ve *PAX6* genleri WAGR Sendromu (#194072) ile ilişkilidir ve olgunun klinik tanısı (WAGR Sendromu) ile uyumludur.

Olgu 7 ve 10; Kromozom analizinde Xp21, 13q13 ve 17q22 arasında görünürde dengeli *de novo* kompleks bir translokasyon saptanan olguda a-CGH çalışmasında herhangi bir değişim saptanmamasına rağmen, olgunun klinik olarak DMD hastası olması, X kromozomu üzerindeki kırık noktasının distrofin (DMD) geni içinde olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde klinik olarak DMD tanısı alan Xp21, 8q11 ve 14q13 arasında görünürde dengeli *de novo* kompleks translokasyon saptanan bir diğer olguda da (Olgu 10) a-CGH ile herhangi bir değişim gösterilemedi. Her iki olguda da MLPA teknikleri ile herhangi bir anomali saptanmamasına rağmen kırık noktasının distrofin geni içinde olduğu klinik bulgularla söylenebilir.

X'e bağlı resesif kalıtılan DMD klasik olarak erkek çocuklarda görülür. DMD geninin tamamını veya bir/birden fazla exonunun delesyonları olguların %50-65'inde,

duplikasyonları %5-10'unda, dizi analizleri ile saptanabilen mutasyon oranı ise erkeklerde %20-35 dir. Ender olarak dişi olgularda da DMD fenotipi görülmektedir. Bu durum, dişinin tek X kromozomu taşıdığı Turner Sendromu (45,X), DMD mutasyonu taşıyan X kromozomunun UPD'si veya dengeli X-otozom translokasyonu taşıyıcılığında ortaya çıkabilir. Dengeli X-otozom translokasyonu taşıyan dişilerde, X/otozom translokasyonlu kromozom seçici olarak aktif kalır ve normal X kromozomu inaktive olur (Thompson MW ve ark., 2001). Bu durumda translokasyonun kırık noktası genin içinde olması nedeniyle işlevi bozulmuş olan DMD genini kompanse edecek normal X kromozomu dolayısıyla normal Distrofin geni inaktif olduğundan, dişi olgu DMD klinik bulgularını gösterir. Olgu 7 ve 10'un DMD fenotipi göstermesi X/otozom translokasyonu mekanizması ile ilişkilidir.

Olgu 8; Kromozom analizinde 4q34.2 ve 10q26.2 bölgeleri arasında görünürde dengeli *de novo* bir resiprokal translokasyon saptanmıştı. A-CGH tekniğiyle ise 4q34q34.1 bölgesinde 171,782,657-172,798,553 baz çiftleri arasında 1016 kb büyüklüğünde ve 2 gen içeren bir delesyon, 10q26.3 bölgesinde 130,669,231-132,067,032 ile 134,424,882-135,534,747 baz çiftleri arasında ilki 1398 kb büyüklüğünde 5 gen içeren ve diğeri 1110 kb büyüklüğünde 28 gen içeren iki ayrı duplikasyon saptandı. Ebeveynlerde yapılan a-CGH çalışması ile bu değişimlerin *de novo* olduğu gösterildi. Bu bölgedeki genlerden olan *EBF3* geni B hücre proliferasyonu, kemik gelişimi ve nörogenezisten sorumludur. Bu gen olgunun klinik bulgularından biri olan psikomotor gerilik bulgusu ile ilişkili olabilecek en yakın gen olabilir. Ancak, ISCA veritabanında *CYP2E1* ve *SYCE1* genlerini içeren ve gelişim geriliği olduğu belirtilen 3 olguda (nssv578657, nssv673695, nssv637341) yaklaşık 200 kb büyüklüğünde ve olgumuzla DNA daki baz çiftleri açısından örtüşen (134,536-134,742) duplikasyon bildirilmiştir. ISCA veritabanında bu duplikasyonların "benign" olarak tanımlanması bu değişimlerin klinik olarak anlamlı olmayabileceğini göstermektedir. Ancak ailedeki akraba evliliği, otozomal resesif bir hastalık olasılığının da göz ardı edilmemesini gerektirmektedir.

Olgu 12; Kromozom analizinde 1q32.1, 18q23 bölgeleri arasında ve 5p14.2, 12q21.2 bölgeleri arasında görünürde dengeli resiprokal translokasyonlardan oluşan CCR saptanmıştı. A-CGH çalışmasında mikroskobik kırık noktasına yakın olan 5q13.3q14.1 bölgesinde 74,571,645-77,654,540 baz çiftleri arasında 2412 kb

büyükliğünde 24 gen içeren bir delesyon saptandı. Parental a-CGH çalışması ile değişimlerin *de novo* olduğu gösterildi. OMIM ile ilişkili *PDE8B* geni, Otozomal Dominant Striatal Dejenerasyon (ADSD, #609161) sendromu ile ilişkilidir ancak olgumuzun klinik bulgularının bu sendrom ile uyumlu olmaması, otozomal dominant kalıtımın penetrans yokluğu ve ekspresivite değişkenliği ile açıklanabilir. Bu bölgede yer alan *OTP* geni ile *SV2C* genleri beyin gelişiminden sorumlu iki gen olmakla birlikte henüz bir sendrom ile ilişkilendirilmemiştir. Ancak, olgudaki hafif MR ile nöromotor gelişme geriliğinden sorumlu olabileceği göz ardı edilmemelidir. Ayrıca ISCA veritabanında bu bölgeyi içeren yaklaşık 1171 kb'lık bir delesyon (nssv578054), makrosefali bulgusu olan bir olgu için patolojik bir varyant olarak değerlendirilmiştir.

Bu olguda a-CGH ile saptanan diğer iki değişim ise yine mikroskobik olarak saptanan banda yakın bir bölge olan 5q14.3'te 90,604,937-92,259,476 baz çiftleri arasında 4 gen içeren 1604 kb büyüklüğünde duplikasyon ve kırık noktasından uzak bir bölge olan 5q15'te 93,668,778-95,921,236 baz çiftleri arasında 1944 kb büyüklüğünde 16 gen içeren bir delesyondur. Bu bölgelerdeki genler ile ilişkili fenotipler (yüksek tansiyon, uyku apnesi gibi) olgumuzda -henüz- bulunmamaktadır. Ayrıca ISCA veritabanında bu bölgeler için tanımlanmış herhangi bir patolojik varyant bildirilmemiştir.

Son olarak olguda kırık noktalarından tamamen bağımsız olan 9p23p22.3 bölgesinde 14,030,668-16,317,401 baz çiftleri arasında 2286 kb büyüklüğünde 11 gen içeren bir delesyon saptandı. Literatürde bu bölgenin delesyonları 9p monozomi sendromu olarak tanımlanmıştır. 1999 yılında Christ ve ark., 24 olgulu bir çalışmada, 9p delesyonu için kritik bölgeyi 9p23-p22 bantları ile D9S286 ile D9S285 STR'ları arasında 4-6 Mb büyüklüğünde bir bölge olarak belirtmişlerdir. 2007 yılında kritik bölge en az 7 geni (*TYRP1*, *c9orf15*, *MPDZ*, *NFIB1*, *ZDHHC2*, *CER1*, *FREMI1*) kapsayan ve yaklaşık 3,5 Mb büyüklüğünde bir bölge olarak tanımlanmıştır (Faas BH ve ark., 2007). 2008 yılında, 13 olgulu bir çalışmada 9p monozomi sendromunun kritik bölgesi 300 kb'lık (RP11-392B2 ile RP11-271D19 arasında) bir bölgeye kadar daraltılmıştır (Swinkels ve ark., 2008). Bu çalışmada olgular iki grupta değerlendirilmiş ve ilk grupta yer alan 8 olgu trigonosefali, uzun filtrum, antevort burun delikleri ve mikrognati gibi 9p monozomi sendromuna özgün bulguları gösterirken, diğer 5 olguda ise trigonosefali bulgusu bulunmamaktadır. Trigonosefali ile ilişkili olduğu ileri sürülen *CER1* geni, bu 7 olgudan sadece birinde delesyona uğramış olmasına rağmen trigonosefali bulgusu

göstermemekteydi. Bu makalede ayrıca olgularda *CER1* geni dizi analizi de yapılmış ve gende herhangi bir mutasyon saptanmadığı belirtilmiştir. 2006 yılında Jehee FS ve ark., (2005) 70 sendromik ve sendromik olmayan trigonosefali olgusunda *CER1* geni kodlayan bölgelerini dizi analizi ile incelemişler ve mutasyon saptamamışlardır. Ancak, bu genin promotor bölgesindeki olası mutasyonlarının hala trigonosefaliden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Olgumuzun *CER1* geni delesyonu taşımasına rağmen trigonosefali bulgusu göstermemesi Swinkels ve ark. nın çalışmasını destekler gözükmektedir.

Olgu 13; Kromozom analizinde 13, 11 ve 18. kromozomlar arasında *de novo* CCR saptanmıştı. A-CGH tekniği ile 11. kromozomun kırık noktalarına yakın 11p14.3 bölgesinde 22,454,510-24,688,718 baz çiftleri arasında 5 geni kapsayan 2200 kb büyüklüğünde bir delesyon saptandı. Bu bölgede yer alan genlerden *LUZP2* geni OMIM'de WAGR sendromu ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen olgumuzun klinik bulguları, bu sendrom ile uyumlu değildi.

Olguda 18. kromozomun mikroskobik olarak saptanan kırık bölgesinde a-CGH tekniği ile 18q21.2-q21.32 bölgesinde 48,286,848-58,934,492 baz çiftleri arasında 35 geni kapsayan 10,6 Mb büyüklüğünde bir delesyon daha saptandı. ISCA veritabanında bu bölgeyi kapsayan delesyon olgularında musküler hipotoni (nssv577648), gelişme geriliği ve hidrosefali (nssv577646), davranış bozukluğu (nssv577650), gelişme geriliği (nssv580431), belirgin burun kemeri, gelişme geriliği, mikrosefali (nssv58234), otizm (nssv584441) gibi fenotipler tanımlanmıştır. Bu bölgede yer alan genlerden biri olan *TCF4* nöronal farklılaşmadan sorumludur. *MECP2* geni ile aynı gen ailesinde yer alan *MBD2* geni, DNA metillenmesi için bağlanma alanı oluşturan genlerden biridir ve metilasyon sinyallerinin biyolojik sonuçlarından sorumludur. Rett sendromu'yla ilişkili *MECP2* geni ile aynı işleve sahip bu gen olgunun diş gıcırdatma ve el ısırma hareketleri gibi bulguları ile ilişkili olabilir. *SMAD4* geni ise otozomal dominant kalıtım modeli gösteren Myhre Sendromu (#139210) ile ilişkilendirilmiştir. Olgunun dismorfik yüz bulgularından bir kısmı (maksiller hipoplazi, hipertelorizm, strabismus, kısa filtrum, yumuşak ve kuru cilt, ellerde klinodaktili, hipoplazik klitoris gibi birkaç bulgusu bu sendrom ile uyumlu gözükmektedir, ancak bu sendroma özgün konjenital kalp bulguları, kısa boy, vertebral fizyonlar, kas hipertrofisi, mental retardasyon, normal olmayan ses gibi bulguları taşımamaktadır. Bu sendromun klinik varyasyon gösterdiği

bildirilmektedir (OMIM). Ayrıca olgudaki diğer genomik dengesizliklerin etkisiyle daha farklı bir fenotipin ortaya çıkması beklenen bir durumdur.

Olguda a-CGH tekniği ile kırık noktalarından bağımsız 21. kromozomun q11.2-q21.1 bölgesinde 15,598,880-18,332,856 baz çiftleri arasında 12 geni kapsayan 2700 kb büyüklüğünde bir delesyon daha saptandı. ISCA veritabanında bu bölge bir olguda, klinik bulguları gelişme geriliği ve dismorfik yüz bulguları başlığı adı altında (nssv577818) patolojik olarak değerlendirilmiştir. Bu bölgedeki genlerden nöronal ve germ hücrelerinin farklılaşmasını regüle eden *RBM11* geni fenotip ile ilişkili en olası gen olarak görülebilir. Olgunun klinik bulguları delesyona uğramış tüm bu genlerin kümülatif etkisi ile açıklanabilir.

Olgu 16; Kromozom analizinde maternal kalıtılan 6p11 ve 19p13.2 bölgeleri arasında görünürde dengeli resiprokal bir translokasyon saptanmıştı. A-CGH tekniği ile herhangi bir değişim saptanmadı. Olgu, klinik bulguları ile osteoporozis-psödo glikom sendromu ön tanısı aldığından *LRP5* geni dizi analizi yapıldı ve birleşik heterozigot c.43_60del/Ex14_16del mutasyonu saptandı. Olgunun annesi c.43_60del mutasyonu için heterozigot, babası da Ex14_16del mutasyonu için heterozigot bulundu. Ayrıca olgunun etkilenmiş ancak translokasyon taşımayan erkek kardeşinde de aynı birleşik heterozigot mutasyonun saptanması, olgumuzun klinik bulgularının translokasyon ile ilişkili olmadığını, translokasyon ile *LRP5* gen mutasyonlarının tesadüfi birlikteliği olduğunu desteklemektedir.

Olgu 18; Kromozom analizinde 12q21.2 ve q24.1 bantları arasında görünürde dengeli ve klinik olarak normal anneden kalıtılan bir inversiyon saptanmıştı. Fenotipik olarak etkilenmiş olguda a-CGH tekniği ile klinik olarak anlamlı herhangi bir değişim saptanmamıştı. Olguda klinik olarak Noonan Sendromu düşünüldüğünden *RAF1*, *KRAS*, *SHOC2*, *SOS1* dizi analizleri yapıldı ve *SOS1* geninde c.1656G>A heterozigot yanlış anlamlı mutasyonu saptandı. Bu olgu, a-CGH ile herhangi bir değişim saptanmadığında klinik bulgular belli bir sendrom ile uyumlu ise bu sendrom ile ilişkili genlerin incelenmesinin önemine dikkat çekmektedir.

5.2. Prenatal olgulardaki bulgular

Çalışmaya dahil edilen 13 prenatal olgunun 6'sı *de novo*, 2'si maternal, 3'ü paternal kalıtım gösterirken 2 olgunun ise kalıtım şekli bilinmemektedir. İki olguda CVS, 4 olguda KS, 7 olguda ise AS materyali incelenmiştir. Ailevi olgularda herhangi bir değişim saptanmazken, 9 translokasyon taşıyıcısından 2'sinde (%22,2) anlamlı bir değişim saptanmıştır. CCR taşıyıcısı olan 1 olgu ve 3 inversiyon taşıyıcısında ise hiçbir değişim saptanmamıştır. Değişim saptanan 2 *de novo* görünürde dengeli resiprokal translokasyon taşıyan olgudan birinde a-CGH tekniği ile kırık noktalarından bağımsız bir bölgede saptanan anomalinin anneden kalıtıldığı gösterilmiştir.

Literatürde bugüne kadar yayınlanmış 25 olguluk tek bir prenatal seri çalışması vardır (Evangelidou P ve ark., 2010). Bu seriyi oluşturan olgulardan 15'i patolojik ultrason bulgusu olan ancak normal karyotip saptanan olgular olduğundan bizim serimiz ile karşılaştırılmaz. Bu serideki 10 olgu ise görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi taşımakta, biri maternal, ikisi paternal kökenli olmak üzere üçü ailevi ve 7'si *de novo* olgulardır. Bu olgulardan beşi patolojik ultrasonografi bulguları göstermektedir. Bu çalışmada, *de novo* translokasyonlu, normal fetal USG olan olguda translokasyonun kırık noktasında 1.35 Mb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır (Evangelidou ve ark., 2010). Bu seride patolojik USG bulgusu olan olgularda hiç bir anlamlı değişim saptanmamıştır. Ayrıca Gregori M ve ark.'nın (2007) 59 olguluk serisinde 14 fetus görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi gösteriyordu ve bunlardan 12'sinde patolojik ultrason bulguları vardı. Bu çalışmada fetuslarda herhangi bir anomali saptanmamıştı.

Olgu 24; Fetal kromozom analizinde 10q23.2 ile 16q23 bölgeleri arasında görünürde dengeli resiprokal bir *de novo* translokasyon saptanmıştı. A-CGH tekniği ile 10q23.1 kırık noktasında 86,441,275-87,680,071 baz çiftleri arasında 6 geni kapsayan 1269 Kb büyüklüğünde bir delesyon gösterildi. Kapsanan genlerden biri olan *GRID1* merkezi sinir sisteminde uyarıcı bir nörotransmitter olarak görev almaktadır. Diğer 5 genin (*7SK*, *AX746544*, *LOC100507470*, *AK097624*, *Mir_544*) ise işlevi henüz bilinmemektedir. Ancak merkezi sinir sisteminde görev alan *GRID1* geni ile olgunun patolojik ultrasonografi bulguları (batında kist, polihidroamniyos) ilişkili görünmemektedir.

Olgu 27; Fetal kromozom analizinde, 3p21 ve 16q11 bölgeleri arasında görünürde dengeli *de novo* resiprokal bir translokasyon saptanmıştı. A-CGH ile kırık noktasından bağımsız olarak 16p11.2 bölgesinde 28,220,816-33,816,801 baz çiftleri arasında 126 geni kapsayan 5596 Kb büyüklüğünde daha sonra annenin de taşıdığı gösterilen bir duplikasyon saptandı. Literatürde sıklığı 1/10000 olarak verilen bu bölge delesyon/duplikasyonlarının kritik bölgesi, yaklaşık 3,5 Mb büyüklüğünde 29,670,000-30,200,000 baz çiftleri arasındadır. Bu bölge duplikasyonları klinik olarak konuşma geriliği ve davranış bozuklukları ile ilişkilidir. Bu bölgenin delesyon ve duplikasyonlarını gösteren 27 olgulu bir seride 10 duplikasyon olgusunun 6'sında mikrosefali bulgusu tanımlanmıştır. Delesyon gösteren 17 olguda ise motor gerilik (%50), epilepsi (%40), davranış problemleri (%40), konjenital anomaliler (%30) ve otizm (%20) bulguları saptanmıştır (Shinawi M ve ark., 2010). Bu bölge delesyon/duplikasyonlarının bir kısmında -olgumuzda olduğu gibi- ailevi kalıtım da bildirilmiş ve olgular arasındaki klinik farklılıklar penetrans yokluğu ve ekspresivite değişkenliği ile açıklanmıştır (Shinawi ve ark., 2010). Fetus 38.GH'da seksio ile sağlıklı olarak dünyaya gelmiş olmasına rağmen konuşma ve davranış bozuklukları açısından değerlendirilmemiştir.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlar, görünürde dengeli yapısal kromozom anomali olgularında mikroarray gibi yüksek çözünürlüklü bir teknik ile ileri incelemelerin önemini bir kez daha vurgulamaktadır. A-CGH tekniği ile serimizde genomik dengesizlik saptanan gerek postnatal gerekse prenatal olgulardaki dengeli yapısal kromozom anomalilerin tümünün *de novo* olgular olması, ailevi olgularda patolojik olan genomik dengesizlik saptanmamış olması, ailevi olgulardaki a-CGH uygulamalarının önemini azaltmamalıdır. Özellikle patolojik USG bulguları olan fetuslarla MKA/MR li postnatal olgularda saptanan dengeli yapısal kromozom anomalisi ailevi dahi olsa a-CGH incelemeleri tüm genomu da inceleme olanağı verdiği için son derece etkin bilgiler verir. Prenatal karyotip analizlerinde saptanan *de novo* dengeli yapısal kromozom anomalilerinde fetal USG bulguları normal dahi olsa genel topluma oranla artmış bir risk (%2-3) olduğu göz önünde bulundurularak array teknikleri ile tüm genom, kopya sayısı değişiklikleri açısından incelenmelidir. Bu sayede sadece kırık noktalarındaki submikroskobik dengesizlikler değil genomdaki herhangi bir olası dengesizlik de dışlanabilmektedir.

A-CGH/mikroarray incelemelerinde saptanan değişimlerin değerlendirilmesinde belli bir algoritmanın uygulanması son derece önemlidir. Saptanan değişimin zararsız da olabileceği göz önünde bulundurularak, öncelikle anne ve babada aynı teknik ile araştırılması gerekmektedir. *De novo* olduğu belirlenen bir değişimin klinik etkileri, büyüklüğüne, içerdieği gen sayısına, genlerin patojenitesine, daha önce herhangi bir fenotiple ilişkilendirilmiş olup olmadığı ya da sadece polimorfizm olarak veritabanlarında bildirilmiş CNV'ler ile örtüşüp örtüşmediği veri bankalarında araştırılarak yorumlanmalıdır. Klinik ile ilişkili olma olasılığı yani patolojik olma olasılığı taşıyan değişimler (her ne kadar CNV+SNP arraylerin kendi kendilerini doğrulama özelliği varsa da) hibridizasyon hataları, yanlış eşleşmeler, bölgenin CG bazları açısından zengin olması ve bu nedenle denatürasyon-hibridizasyon sorunların yaşanması gibi durumlar dışlanamadığından, FISH, qRT-PCR, MLPA gibi bir başka yöntem ile doğrulanmalıdır.

Array tekniği ile herhangi bir genomik dengesizlik saptanmaması durumunda ise özellikle *de novo* prenatal olguların genetik danışmasında gen içi kırıklar, pozisyon efekti gibi etkilerin dışlanamadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu olgularda "next-generation paired-end sequencing" veya "mate-pair sequencing" teknikleri ile kırık noktalarındaki genlerin yapısı, herhangi bir füzyon genin oluşup oluşmadığı araştırılabilmektedir (Kalscheuer VM ve ark, 2008; Vergult S ve ark., 2014). Bu nedenle çalışmanın devamında, klinik olarak etkilenmiş olgulardaki *de novo* değişimlerin yeni nesil dizileme teknikleri ile kırık noktasındaki değişimlerin moleküler düzeyde araştırılması planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Albers, C. A. et al. *Compound inheritance of a lowfrequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit RBM8A causes TAR syndrome.* Nature Genet. 44, 435–439 2012.
- 2- Angell RR, Xian J, Keith J, Ledger W, Baird DT. *First meiotic division abnormalities in human oocytes: mechanism of trisomy formation.* Cytogenet Cell Genet. 65:194–202. 1994.
- 3- Avramopoulos D. *Genetics of psychiatric disorders methods:molecular approaches.* Psychiatr. Clin. North Am. 33:1–13.2010.
- 4- Badano, J L et al. *Dissection of epistasis in oligogenic Bardet-Biedl syndrome.* Nature 439, 326–330 2006.
- 5- Ballarati L, Recalcatti MP, Bedeschi MF, Lalatta F, Valtorta C, Bellini M, Finelli P, Larizza L, Giardino D. *Cytogenetic, FISH and array-CGH characterization of a complex chromosomal rearrangement carried by a mentally and language impaired patient.* Eur J Med Genet. Jul-Aug;52(4):218-23. 2009.
- 6- Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, Lincicum M, Gaskin S, et al. *Detection of low-level mosaicism by array CGH in routine diagnostic specimens.* Am. J. Med. Genet. A 140:2757–67. 2006.
- 7- Baptista J, Prigmore E, Gribble SM, Jacobs PA, Carter NP, Crolla JA. *Molecular cytogenetic analyses of breakpoints in apparently balanced reciprocal translocations carried by phenotypically normal individuals.* Eur J Hum Genet. Nov;13(11):1205-12. 2005.
- 8- Barbero JL. *Cohesins: chromatin architects in chromosome segregation, control of gene expression and much more.* Cell Mol Life Sci. Jul;66(13):2025-35.2009.

- 9- Barik M, Bajpai M, Panda SS, Malhotra A, Samantaray JC, Dwivedi SN. *Strengthening molecular genetics and training in craniosynostosis: The need of the hour* . J Neurosci Rural Pract. Oct;5(4):428-32. 2014.
- 10- Boone PM, Bacino CA, Shaw CA, Eng PA, Hixson PM, et al. *Detection of clinically relevant exonic copy-number changes by array CGH*. Hum. Mutat. 31:1326–42. 2010.
- 11- Bonnet C, Andrieux J, Béri-Dexheimer M, Leheup B, Boute O, Manouvrier S, Delobel B, Copin H, Receveur A, Mathieu M, Thiriez G, Le Caignec C, David A, de Blois MC, Malan V, Philippe A, Cormier-Daire V, Colleaux L, Flori E, Dollfus H, Pelletier V, Thauvin-Robinet C, Masurel-Paulet A, Faivre L, Tardieu M, Bahi-Buisson N, Callier P, Mugneret F, Edery P, Jonveaux P, Sanlaville D. *Microdeletion at chromosome 4q21 defines a new emerging syndrome with marked growth restriction, mental retardation and absent or severely delayed speech*. J Med Genet. Jun;47(6):377-84. 2010.
- 12- Bugge M, Collins A, Hertz JM, Eiberg H, Lundsteen C, Brandt CA, Bak M, Hansen C, Delozier CD, Lespinasse J, Tranebjaerg L, Hahnemann JM, Rasmussen K, Bruun-Petersen G, Duprez L, Tommerup N, Petersen MB. *Non-disjunction of chromosome 13*. Hum Mol Genet. 15:2004–10. 2007.
- 13- Callier P, Faivre L, Pigeonnat S, Quilichini B, Marle N, Thauvin-Robinet C, Mosca AL, Masurel-Paulet A, Rousseau T, Sagot P, Laurent N, Mugneret F. *Contribution of array CGH in prognosis and genetic counselling of prenatally diagnosed supernumerary ring chromosome 20*. Prenat Diagn. Oct;29(10):1002-5. 2009.
- 14- Chen JM, Fere, C. ve Cooper, DN. *Transient hypermutability, chromothripsis and replication-based mechanisms in the generation of concurrent clustered mutations*. Mutat. Res. 750, 52–59 . 2012.

- 15- Cheng EY, Chen YJ, Gartler SM. *A cytological evaluation of the production line hypothesis in human oögenesis using chromosome painting*. *Am J Hum Genet.* 57:A51.1995.
- 16- Christian PS, Joanna Wiszniewska, ve Arthur L. *Copy Number and SNP Arrays in Clinical Diagnostics*. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 12:25–51. 2011.
- 17- Ciccone R, Giorda R, Gregato G, Guerrini R, Giglio S, Carrozzo R, Bonaglia MC, Priolo E, Laganà C, Tenconi R, Rocchi M, Pramparo T, Zuffardi O, Rossi E. *Reciprocal translocations: a trap for cytogenetists?* *Hum Genet.* Oct;117(6):571-82. Epub 2005.
- 18- Conlin LK, Thiel BD, Bonnemann CG, Medne L, Ernst LM, et al. *Mechanisms of mosaicism, chimerism and uniparental disomy identified by single nucleotide polymorphism array analysis*. *Hum. Mol. Genet.* 19:1263–75.2010.
- 19- Daniel A, Hook EB, Wulf G. *Risks of unbalanced progeny at amniocentesis to carriers of chromosome rearrangements: data from United States and Canadian laboratories*. *Am J Med Genet.* May;33(1):14-53. 1989.
- 20- Daniel A, Wu Z, Bennetts B, Slater H, Osborn R, Jackson J, Pupko V, Nelson J, Watson G, Cooke-Yarborough C, Loo C. *Karyotype, phenotype and parental origin in 19 cases of triploidy*. *Prenat Diagn.* Dec;21(12):1034-48. 2001.
- 21- DECIPHER database. <http://decipher.sanger.ac.uk/>
- 22- De Gregori M, Ciccone R, Magini P, Pramparo T, Gimelli S, Messa J, Novara F, Vetro A, Rossi E, Maraschio P, Bonaglia MC, Anichini C, Ferrero GB, Silengo M, Fazzi E, Zatterale A, Fischetto R, Previderé C, Belli S, Turci A, Calabrese G, Bernardi F, Meneghelli E, Riegel M, Rocchi M, Gueneri S, Lalatta F, Zelante L, Romano C, Fichera M, Mattina T, Arrigo G, Zollino M, Giglio S, Lonardo F, Bonfante A, Ferlini A, Cifuentes F, Van Esch H, Backx L, Schinzel A, Vermeesch JR, Zuffardi O. *Cryptic deletions are a common finding in "balanced" reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients*. *J Med Genet.* Dec;44(12):750-62. 2007

23- Deininger PL, Batzer MA. *Alu repeats in human disease*. Mol Genet Metabol. 67:183–93.1999.

24- Della Monica M, Lonardo F, Faravelli F, Pierluigi M, Luquetti DV, De Gregori M, Zuffardi O, Scarano G. *A case of autism with an interstitial 1q deletion (1q23.3-24.2) and a de novo translocation of chromosomes 1q and 5q*. Am J Med Genet A. Nov 15;143A(22):2733-7. 2007.

25- Evangelidou P, Sismani C, Ioannides M, Christodoulou C, Koumbaris G, Kallikas I, Georgiou I, Velissariou V, Patsalis PC. *Clinical application of whole-genome array CGH during prenatal diagnosis: Study of 25 selected pregnancies with abnormal ultrasound findings or apparently balanced structural aberrations*. Mol Cytogenet. Nov 26;3:24. 2010.

26- Faas BH, de Leeuw N, Mieloo H, Bruinenberg J, de Vries BB. *Further refinement of the candidate region for monosomy 9p syndrome*. Am J Med Genet A. Oct 1;143A(19):2353-6. 2007.

27- Feenstra I, Hanemaaijer N, Sikkema-Raddatz B, Yntema H, Dijkhuizen T, Lugtenberg D, Verheij J, Green A, Hordijk R, Reardon W, Vries Bd, Brunner H, Bongers E, Leeuw Nd, van Ravenswaaij-Arts C. *Balanced into array: genome-wide array analysis in 54 patients with an apparently balanced de novo chromosome rearrangement and a meta-analysis*. Eur J Hum Genet. Nov;19(11):1152-60.2011.

28- Ferraretti AP, Magli MC, Kopcow L, Gianaroli L. *Prognostic role of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in assisted reproductive technology outcome*. Hum Reprod; 19: 694- 9. 2004.

29- Fiorentino F, Caiazzo F, Napolitano S, Spizzichino L, Bono S, Sessa M, Nuccitelli A, Biricik A, Gordon A, Rizzo G, Baldi M. *Introducing array comparative genomic*

hybridization into routine prenatal diagnosis practice: a prospective study on over 1000 consecutive clinical cases. Prenat Diagn. Dec;31(13):1270-82. 2011.

30- Fisher JM, Harvey JF, Morton NE, Jacobs PA. *Trisomy 18: studies of the parent and cell division of origin and the effect of aberrant recombination on nondisjunction.* Am J Hum Genet. 56:669–75. 1995.

31- Freitas ÉL, Gribble SM, Simioni M, Vieira TP, Prigmore E, Krepischi AC, Rosenberg C, Pearson PL, Melo DG, Gil-da-Silva-Lopes VL. *A familial case with interstitial 2q36 deletion: variable phenotypic expression in full and mosaic state.* Eur J Med Genet. Nov;55(11):660-5. 2012.

32- Fryns JP, Kleczkowska A, Kubiś E, Van Den Berghe H. *On the excess of mental retardation and/or congenital malformations in apparently balanced reciprocal translocations. A critical review of the Leuven data 1966-1991.* Genet Couns.2(4):185-94.1991.

33- Garcia-Cruz R, Casanovas A, Briño-Enríquez M, Robles P, Roig I, Pujol A, Cabero L, Durban M, Garcia CM. *Cytogenetic analyses of human oocytes provide new data on non-disjunction mechanisms and the origin of trisomy 16.* Hum Reprod. 25:179–91. 2010.

34- Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling.* Oxford University Press .UK.2011.

35- Gersen S , Keagle MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics.* Humana Press, New York. 3rd ed. 2013

36- Ghazalpour A, Bennett B, Petyuk VA, Orozco L, Hagopian R, Mungrue IN, Farber CR, Sinsheimer J, Kang HM, Furlotte N, Park CC, Wen PZ, Brewer H, Weitz K, Camp DG 2nd, Pan C, Yordanova R, Neuhaus I, Tilford C, Siemers N, Gargalovic P, Eskin E, Kirchgessner T, Smith DJ, Smith RD, Lusk AJ. *Comparative analysis of proteome and transcriptome variation in mouse.* PLoS Genet. Jun;7(6):e1001393.2011.

37- Giardino D, Corti C, Ballarati L, Colombo D, Sala E, Villa N, Piombo G, Pierluigi M, Faravelli F, Gueneri S, Coviello D, Lalatta F, Cavallari U, Bellotti D, Barlati S, Croci G, Franchi F, Savin E, Nocera G, Amico FP, Granata P, Casalone R, Nutini L, Lisi E, Torricelli F, Giussani U, Facchinetti B, Guanti G, Di Giacomo M, Susca FP, Pecile V, Romitti L, Cardarelli L, Racalbutto E, Police MA, Chiodo F, Rodeschini O, Falcone P, Donti E, Grimoldi MG, Martinoli E, Stioui S, Caufin D, Lauricella SA, Tanzariello SA, Voglino G, Lenzini E, Besozzi M, Larizza L, Dalprà L. *De novo balanced chromosome rearrangements in prenatal diagnosis*. Prenat Diagn. Mar;29(3):257-65. 2009.

38- Giglio S, Broman KW, Matsumoto N, Calvari V, Gimelli G, et al. *Olfactory receptor-gene clusters, genomic-inversion polymorphisms, and common chromosome rearrangements*. Am J Hum Genet. 68:874–83.2001.

39- Gijsbers AC, Bosch CA, Dauwerse JG, Giromus O, Hansson K, Hilhorst-Hofstee Y, Kriek M, van Haeringen A, Bijlsma EK, Bakker E, Breuning MH, Ruivenkamp CA. *Additional cryptic CNVs in mentally retarded patients with apparently balanced karyotypes*. Eur J Med Genet. Sep-Oct;53(5):227-33.2010.

40- Gribble SM, Prigmore E, Burford DC, Porter KM, Ng BL, Douglas EJ, Fiegler H, Carr P, Kalaitzopoulos D, Clegg S, Sandstrom R, Temple IK, Youings SA, Thomas NS, Dennis NR, Jacobs PA, Crolla JA, Carter NP. *The complex nature of constitutional de novo apparently balanced translocations in patients presenting with abnormal phenotypes*. J Med Genet. Jan;42(1):8-16. 2005.

42- Gorski JL , Kistenmacher ML, Punnett HH, Zackai EH, Emanuel BS. *Reproductive risks for carriers of CCR: Analysis of 25 families*. Am. J. Med. Genet.29:247-261. 1988.

41- Goumy C, Gay-Bellile M, Eymard-Pierre E, Kemeny S, Gouas L, Déchelotte P, Gallot D, Véronèse L, Tchirkov A, Pebrel-Richard C, Vago P. *De novo 2q36.1q36.3 interstitial deletion involving the PAX3 and EPHA4 genes in a fetus with spina bifida and cleft palate*. Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. Jun;100(6):507-11. 2014.

- 42- Gotter AL, Shaikh TH, Budarf ML, Rhodes CH, Emanuel BS. *A palindrome-mediated mechanism distinguishes translocations involving LCR-B of chromosome 22q11.2*. Hum Mol Genet. 13:103–15. 2004.
- 43- Gu W, Zhang F, Lupski JR. *Mechanisms for human genomic rearrangements*. PathoGenetics. 1:4. doi: 10.1186/1755-8417-1-1-4.2008.
- 44- Hantash FM, Redman JB, Starn K, Anderson B, Buller A, et al. *Novel and recurrent rearrangements in the CFTR gene: clinical and laboratory implications for cystic fibrosis screening*. Hum. Genet. 119:126–36. 2006.
- 45- Harper PS. *The discovery of the human chromosome number in Lund, 1955-1956*. Human Genet 119:226-232,2006.
- 46- Hassold TJ, Takaesu N. *Analysis of non-disjunction in human trisomic spontaneous abortions*. In: Hassold TJ, Epstein CJ, editors. Molecular and cytogenetic studies of non-disjunction. New York: Alan R. Liss Inc.p. 115–34. 1989.
- 47- Hawley RS, Frazier JA, Rasooly R. *Separation anxiety: the etiology of nondisjunction in flies and people*. Hum Mol Genet. 3:1521–8. 1994.
01.011.
- 48- Higgins AW, Alkuraya FS, Bosco AF, Brown KK, Bruns GA, Donovan DJ, Eisenman R, Fan Y, Farra CG, Ferguson HL, Gusella JF, Harris DJ, Herrick SR, Kelly C, Kim HG, Kishikawa S, Korf BR, Kulkarni S, Lally E, Leach NT, Lemyre E, Lewis J, Ligon AH, Lu W, Maas RL, MacDonald ME, Moore SD, Peters RE, Quade BJ, Quintero-Rivera F, Saadi I, Shen Y, Shendure J, Williamson RE, Morton CC. *Characterization of apparently balanced chromosomal rearrangements from the developmental genome anatomy project*. Am J Hum Genet. Mar;82(3):712-22. 2008.
- 49- Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, Ruivenkamp C, Sikkema-Raddatz B, Smeets D, Poot M. *Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325*

patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. Eur J Med Genet. Jul-Aug;52(4):161-9. 2009.

50- Holland AJ, Cleveland DW. *Chromoanagenesis and cancer: mechanisms and consequences of localized, complex chromosomal rearrangements.* Nat Med. Nov;18(11):1630-8.2012.

51- ISCA database <https://www.iscaconsortium.org/>

52- Jacobs PA, Browne C, Gregson N, Joyce C, White H. *Estimates of the frequency of chromosome abnormalities detectable in unselected newborns using moderate levels of banding.* J Med Genet. Feb;29(2):103-8. 1992.

53- Jacobsen A, Arnold N, Weimer J, Kiechle M. *Comparison of comparative genomic hybridization and interphase fluorescence in situ hybridization in ovarian carcinomas: possibilities and limitations of both techniques.* Cancer Genet Cytogenet. Oct 1;122(1):7-12. 2000.

54- Jehee FS, Johnson D, Alonso LG, Cavalcanti DP, de Sá Moreira E, Alberto FL, Kok F, Kim C, Wall SA, Jabs EW, Boyadjiev SA, Wilkie AO, Passos-Bueno MR. *Molecular screening for microdeletions at 9p22-p24 and 11q23-q24 in a large cohort of patients with trigonocephaly.* Clin Genet. Jun;67(6):503-10. 2005.

55- Jinawath N, Zambrano R, Wohler E, Palmquist MK, Hoover-Fong J, et al. *Mosaic trisomy 13: understanding origin using SNP array.* J. Med. Genet. 48:323–26.2010.

56- Joyce CA, Dennis NR, Cooper S, Browne CE. *Subtelomeric rearrangements: results from a study of selected and unselected probands with 226 idiopathic mental retardation and control individuals by using high-resolution Gbanding and FISH.* Hum Genet. Oct;109(4):440-51. 2001.

- 57- Karaman B, Aytan M, Yilmaz K, Toksoy G, Onal EP, Ghanbari A, Engur A, Kayserili H, Yuksel-Apak M, Basaran S. *The identification of small supernumerary marker chromosomes; the experiences of 15,792 fetal karyotyping from Turkey*. Eur J Med Genet. May-Jun;49(3):207-14. 2006.
- 58- Karaman B, Rosti R Ö, Yılmaz K, Öztürk H, Kayserili H, Başaran S. *A de novo complex chromosomal rearrangement involving chromosomes 2, 8 and 13 in a dysmorphic case with polysyndactyly*. The Turkish Journal of Pediatrics. 51: 613-616 .2009.
- 59- Kaiser P. Pericentric inversions. *Problems and significance for clinical genetics*. Hum Genet. 68(1):1-47. 1984.
- 60- Kalscheuer VM, Feenstra I, Van Ravenswaaij-Arts CM, Smeets DF, Menzel C, Ullmann R, Musante L, Ropers HH. *Disruption of the TCF4 gene in a girl with mental retardation but without the classical Pitt-Hopkins syndrome*. Am J Med Genet A. Aug 15;146A(16):2053-9. 2008.
- 61- Kehrer-Sawatzki H, Haussler J, Drone W, Bode H, Jenne DE, Mehnert KU, Tmmers U, Assum G. *The second case of a t(17;22) in a family with neuro fi bromatosis type 1: sequence analysis of the breakpoint regions*. Hum Genet. 99:237–47. 1997.
- 62- Kim JW, Chang EM, Song SH, Park SH, Yoon TK, Shim SH. *Complex chromosomal rearrangements in infertile males: complexity of rearrangement affects spermatogenesis*. Fertil Steril. Jan;95(1):349-352.e5. 2010.
- 63- Kleczkowska A, Fryns JP, Van den Berghe H. *Complex chromosomal rearrangements (CCR) and their genetic consequences*. J Ge'ne't Hum 30(3):199–214.1982.
- 64- Kline J, Kinney A, Reuss ML, Kelly A, Levin B, Ferin M, Warburton D. *Trisomic pregnancy and the oöcyte pool*. Hum Reprod.19:1633–43. 2004.

- 65- Kousseff BG, Papenhausen P, Essig Y-P, Torres MP. *Complex chromosome rearrangement with ankyloblepharon filiforme adnatum*. J Med Genet. 30: 167–170. 1993.
- 66- Kumar RM, Khuranna A. *The chromosome complement of human uncleaved oocytes*. J Obstet Gynaecol. 21:601–7. 1995.
- 67- Kumar D. *Disorders of the genome architecture: a review*. Genomic Med. 2:69–76. 2008.
- 68- Kurahashi H, Shaikh T, Takata M, Toda T, Emanuel BS. *The constitutional t(17;22): another translocation mediated by palindromic AT-rich repeats*. Am J Hum Genet. 72:733–8. 2003.
- 69- Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A, Pettay D, Taft L, Hersey J, Gu Y, Shen J, Saker D, May KM, Avramopoulos D, Petersen MB, Hallberg A, Mikkelsen M, Hassold TJ, Sherman SL. *Susceptible chiasmata configurations of chromosome 21 predispose to nondisjunction in both maternal meiosis I and meiosis II*. Nat Genet. 14:400–5. 1996.
- 70- Lamb NE, Feingold E, Savage A, Avramopoulos D, Freeman S, Gu Y, Hallberg A, Hersey J, Karadima G, Pettay D, Saker D, Shen J, Taft L, Mikkelsen M, Petersen MB, Hassold T, Sherman SL. *Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21*. Hum Mol Genet. 6:1391–9. 1997.
- 71- Lee Sg, Park Ts, Lim G, Lee Ka, Song J, Choi Jr. *Constitutional pericentric inversion 9 and hematological disorders: a korean tertiary institution's experience over eight years*. Ann Clin Lab Sci. Summer;40(3):273-7. 2010.
- 72- Leonard H, Wen X. *The epidemiology of mental retardation: challenges and opportunities in the new millennium*. Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev. 8:117–34. 2002.

- 73- Lieber MR. *The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway*. Annu Rev Biochem. 79:181–211. 2010.
- 74- Lopez-Valdes JA, Nieto K, Najera N, Cervantes A, Kofman-Alfaro S, Queipo G. *Mix gonadal dysgenesis associated with ring Y chromosome mosaics in a phenotypic male*. Sex Dev.;3(4):177-82. 2009.
- 75- Madan K, Nieuwint AW, van Bever Y. *Recombination in a balanced complex translocation of a mother leading to a balanced reciprocal translocation in the child. Review of 60 cases of balanced complex translocations*. Hum Genet. Jun;99(6):806-15. 1997.
- 76- Madan K. *Balanced complex chromosome rearrangements: reproductive aspects. A review*. Am J Med Genet A.,Apr;158A(4):947-63. 2012.
- 77- Marand GA. *De novo yapısal kromozom anomalilerinde mikrosatellit analizleri ile parental kökenin belirlenmesi*. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi. İstanbul; 2005.
- 78- McGuffin P, Farmer AE, Gottesman, II, Murray RM, Reveley AM. *Twin concordance for operationally defined schizophrenia. Confirmation of familiarity and heritability*. Arch. Gen. Psychiatry 41:541– 45.1984.
- 79- McFadden DE, Kalousek DK. *Two different phenotypes of fetuses with chromosomal triploidy: correlation with parental origin of the extra haploid set*. Am J Med Genet38:535–538.1991.
- 80- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. *Consensus*

statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet. May 14;86(5):749-64.2010.

81- Miller OJ., Therman E. *Human Chromosomes* . 4th.Edition. Springer, Verlag - Newyork.2001.

82- Milunsky A. *Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention, and Treatment.* John Wiley&Sons Ltd. West Sussex. 1998.

83- Milunsky A.,Milunsky J.M. *Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment.*6th ed. John Wiley&Sons Ltd. West Sussex.2010.

84- Mueller RF, Young ID. *Emery's Elements of Medical Genetics.* 9th ed. London: Churchill Livingstone; 1995.

85- Nacheva EP, Grace CD, Bittner M, Ledbetter DH, Jenkins RB, Green AR. *Comparative genomic hybridization: a comparison with molecular and cytogenetic analysis.* Cancer Genet Cytogenet. Jan 15;100 (2):93-105.1998.

86- Nielsen J, Wohlert M. *Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark.* Hum Genet. 1. 87(1): 81–3. 1991.

87- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. *Thompson & Thompson Genetics in Medicine,* 6th Edition.Saunders.Philadelphia.2004.

88- OMIM Database <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>

89- Pagon RA, Hall JG, Davenport SLH, Aase J, Norwood TH, Hoehn HW. *Abnormal skin fibroblast cytogenetics in four dysmorphic patients with normal lymphocyte chromosomes.* Am. J. Med Genet . 31: 54–61. 1979.

- 90- Penrose L. *The relative effects of paternal and maternal age in mongolism.* J Genet. 27:219–24. 1933
- 91- Phelan MC, Crawford EC, Bealer DM. *Mental retardation in South Carolina III: Chromosome aberrations.* Proc Greenwood Genet Ctr 15: 45–60. 1996.
- 92- Portnoï MF, Lebas F, Gruchy N, Ardalan A, Biran-Mucignat V, Malan V, Finkel L, Roger G, Ducrocq S, Gold F, Taillemite JL, Marlin S. *22q11.2 duplication syndrome: two new familial cases with some overlapping features with DiGeorge/velocardiofacial syndromes.* Am J Med Genet A. Aug 15;137(1):47-51.2005.
- 93- Ramelli GP, Silacci C, Ferrarini A, Cattaneo C, Visconti P, Pescia G.. *Microduplication 22q11.2 in a child with autism spectrum disorder: clinical and genetic study.* Dev. Med. Child Neurol. 50:953–55.2008.
- 94- Rauch A, Hoyer J, Guth S, Zweier C, Kraus C, Becker C, Zenker M, Hüffmeier U, Thiel C, Rüschemdorf F, Nürnberg P, Reis A, Trautmann U. *Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation.* Am J Med Genet A. Oct 1;140(19):2063-74. 2006.
- 95- Ravnan JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, Ledbetter DH, Martin CL. *Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities.* J Med Genet. Jun;43(6):478-89. 2006.
- 96- Robinson WP, Bernasconi F, Mutirangura A, Ledbetter DH, Langlois S, Malcolm S, Morris MA, Schinzel AA. *Nondisjunction of chromosome 15: origin and recombination.* Am J Hum Genet. 53:740–51. 1993.
- 97- Rouyer F, Simmler MC, Page DC, Weissenbach J. *A sex chromosome rearrangement in a human XX male caused by Alu-Alu recombination.* Cell. 51:417–25. 1987.

- 98- Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. *Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects*. *Genet. Med.* 11:139–46.2009.
- 99- Samonte RV, Conte RA, Ramesh KH, Verma RS. *Molecular cytogenetic characterization of breakpoints involving pericentric inversions of chromosome 9*. *Hum Genet.* 98:576–80.1996.
- 100- Savage MS, Mourad MJ, Wapner RJ. *Evolving applications of microarray analysis in prenatal diagnosis*. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 23:103–8. 2011.
- 101- Schlattl A, Anders S, Waszak SM, Huber W, Korbel JO. *Relating CNVs to transcriptome data at fine resolution: assessment of the effect of variant size, type, and overlap with functional regions*. *Genome Res.* 21, 2004–2013. 2011.
- 102- Schrimpf SP, Weiss M, Reiter L, Ahrens CH, Jovanovic M, Malmström J, Brunner E, Mohanty S, Lercher MJ, Hunziker PE, Aebersold R, von Mering C, Hengartner MO. *Comparative functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster* proteomes*. *PLoS Biol.* Mar 3;7(3):e48. 2009.
- 103- Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, et al. *Strong association of de novo copy number mutations with autism*. *Science* 316:445–49.2007.
- 104- Sebat J, Levy DL,McCarthy SE. *Rare structural variants in schizophrenia: one disorder, multiple mutations; one mutation, multiple disorders*. *Trends Genet.* 25:528–35.2009.
- 105-Schinzel A. *Tetrasomy 12p (Pallister-Killian syndrome)*. *JMed Genet.*Feb;28(2):122-5. (1991).
- 106- Schluth-Bolard C, Delobel B, Sanlaville D, Boute O, Cuisset JM, Sukno S, Labalme A, Duban-Bedu B, Plessis G, Jaillard S, Dubourg C, Henry C, Lucas J, Odent

S, Pasquier L, Copin H, Latour P, Cordier MP, Nadeau G, Till M, Edery P, Andrieux J. *Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases*. Eur J Med Genet. 2009 Sep-Oct;52(5):291-6. 2009.

107- Shaffer LG, Lupski JR. *Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans*. Annu Rev Genet.34:297-329. 2000.

108- Sheridan MB, Kato T, Haldeman-Englert C, et al. *A palindromemediated recurrent translocation with 3:1 meiotic nondisjunction: the t(8;22)(q24.13;q11.21)*. Am J Hum Genet. 87(2):209–18. 2010.

109- Sherman SL, Freeman SB, Allen EG, Lamb NE. *Risk factors for nondisjunction of trisomy 21*. Cytogenet Genome Res. 111:273–80. 2005.

110- Shi Q, King RW. *Chromosome nondisjunction yields tetraploid rather than aneuploid cells in human cell lines*. Nature. Oct 13;437(7061):1038-42. 2005.

111- Shinawi M, Liu P, Kang SH, Shen J, Belmont JW, et al. *Recurrent reciprocal 16p11.2 rearrangements associated with global developmental delay, behavioral problems, dysmorphism, epilepsy, and abnormal head size*. J. Med. Genet. 47:332–41. 2010.

112- Sismani C, Kitsiou-Tzeli S, Ioannides M, Christodoulou C, Anastasiadou V, Stylianidou G, Papadopoulou E, Kanavakis E, Kosmaidou-Aravidou Z, Patsalis PC. *Cryptic genomic imbalances in patients with de novo or familial apparently balanced translocations and abnormal phenotype*. Mol Cytogenet. Jul 21;1:15. 2008.

113- Staessen, C. and Van Steirteghem, A.C. *The chromosomal constitution of embryos developing from abnormally fertilized oocytes after intracytoplasmic sperm inject on and conventional in vitro fertilization*.Hum. Reprod., 12, 321–327. 1997.

- 114- Stankiewicz P, Lupski JR. *Genome architecture, rearrangements and genomic disorders*. Trends Genet.;18(2):74–82. 2002.
- 115- Stankiewicz P, Beaudet AL. *Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation*. Curr. Opin. Genet. Dev. 17:182–92. 2007.
- 116- State MW. *The genetics of child psychiatric disorders: focus on autism and Tourette syndrome*. Neuron 68:254–69. 2010.
- 117- Stefansson H, Rujescu D, Cichon S, Pietilainen OP, Ingason A, et al. *Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia*. Nature 455:232–36. 2008.
- 118- Swinkels ME, Simons A, Smeets DF, Vissers LE, Veltman JA, Pfundt R, de Vries BB, Faas BH, Schrandt-Stumpel CT, McCann E, Sweeney E, May P, Draaisma JM, Knoers NV, van Kessel AG, van Ravenswaaij-Arts CM. *Clinical and cytogenetic characterization of 13 Dutch patients with deletion 9p syndrome: Delineation of the critical region for a consensus phenotype*. Am J Med Genet A. Jun 1;146A(11):1430–8. 2008.
- 119- Thompson MW, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson: *Genetics in Medicine*. 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania: W.B. Saunders Company; 2001.
- 120- Turleau C, Taillard F, Doussau de Bazignan M, Delepine N, Desbois JC, de Grouchy J. *Hypomelanosis of Ito (incontinentia pigmenti achromians) and mosaicism for a microdeletion of 15q*. Hum Genet . 74: 185–87. 1986.
- 121- Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, Nash R, Lees C, Whittaker J, Simoncic I. *High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings*. J Med Genet. Aug;46(8):531–41. 2009.
- 122- Van Hemel JO, Eussen HJ. *Interchromosomal insertions. Identification of five cases and a review*. Hum Genet. Nov;107(5):415–32. 2000.

123- Van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. *Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness*. Eur. J. Hum. Genet. 13:6–25. 2005.

124- Vaz N. and Shyama SK. *Numerical Chromosomal Abnormalities in the Malformed Newborns of Goa*. Int J Hum Genet. 5(4): 237–240.2005.

125- Veltman JA, Brunner HG. *Understanding variable expressivity in microdeletion syndromes*. Nat Genet. Mar;42(3):192-3. 2010.

126- Vergult S, Ellen Van Binsbergen, Tom Sante, Silke Nowak, Olivier Vanakker, Kathleen Claes, Bruce Poppe, Nathalie Van der Aa, Markus J van Roosmalen, Karen Duran, Masoumeh Tavakoli-Yaraki, Marielle Swinkels, Marie-José van den Boogaard, Mieke van Haelst, Filip Roelens, Frank Speleman, Edwin Cuppen, Geert Mortier, Wigard P Kloosterman and Björn Menten. *Mate pair sequencing for the detection of chromosomal aberrations in patients with intellectual disability and congenital malformations*. European Journal of Human Genetics 22, 652-65. 2014.

127- Verlinsky Y, Kuliev A. *Preimplantation diagnosis for aneuploidies in assisted reproduction*. Minerva Ginecol. Jun;56(3):197-203. 2004.

128- Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, Szuhai K, Schoumans J, Ciccone R, Speleman F, Rauch A, Clayton-Smith J, Van Ravenswaaij C, Sanlaville D, Patsalis PC, Firth H, Devriendt K, Zuffardi O. *Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis*. Eur J Hum Genet. 2007 Nov;15(11):1105-14. Epub 2007.

129- Viot G, Gosset P, Fert S. *Cryptic subtelomeric rearrangements detected by FISH in mentally retarded and dysmorphic patients*. Am J Hum Genet 63(Suppl):A10. 1998.

130- Vogel C, Abreu Rde S, Ko D, Le SY, Shapiro BA, Burns SC, Sandhu D, Boutz DR, Marcotte EM, Penalva LO. *Sequence signatures and mRNA concentration can explain two-thirds of protein abundance variation in a human cell line*. Mol Syst Biol. Aug 24;6:400.2010.

131- Volikos E, Robinson J, Aittomaki K, Mecklin JP, Jarvinen H, et al. *LKB1 exonic and whole gene deletions are a common cause of Peutz-Jeghers syndrome*. J. Med. Genet. 43:e18.2006.

132- Wang H, Mclaughlin M, Thompson C, Hunter AG: *Use of FISH to confirm the interpretation of balanced CCR ascertained through prenatal diagnosis*. Am. J. Med. Genet. 46:559562. 1993.

133- Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, Savage M, Platt LD, Saltzman D, Grobman WA, Klugman S, Scholl T, Simpson JL, McCall K, Aggarwal VS, Bunke B, Nahum O, Patel A, Lamb AN, Thom EA, Beaudet AL, Ledbetter DH, Shaffer LG, Jackson L. *Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis*. N Engl J Med. Dec 6;367(23):2175-84.2012.

134- Warburton D. *De novo balanced chromosome rearrangements and extra marker chromosomes identified at prenatal diagnosis: clinical significance and distribution of breakpoints*. Am J Hum Genet. Nov;49(5):995-1013.1991.

135- Warburton D, Dallaire L, Thangavelu M, Ross L, Levin G, Kline J. *Trisomy recurrence: a reconsideration based on North American data*. Am J Hum Genet. 75:376–85. 2004.

136- Warburton D. *Biological aging and the etiology of aneuploidy*. Cytogenet Genome Res. 111:266–72. 2005.

137- Wenger SL, Steele MW, Boone LY, Lenkey SG, Cummins JH, Chen XQ . *“Balanced” karyotypes in six abnormal offspring of balanced reciprocal translocation normal carrier parents*. Am J Med Genet, 55: 47–52.1995.

138- Wellesley D, Dolk H, Boyd PA, Greenlees R, Haeusler M, Nelen V, Garne E, Khoshnood B, Doray B, Rissmann A, Mullaney C, Calzolari E, Bakker M, Salvador J, Addor MC, Draper E, Rankin J, Tucker D. *Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe*. Eur J Hum Genet. May;20(5):521-6.. 2012.

139- Xiang B, Li A, Valentin D, Nowak NJ, Zhao H, Li P. *Analytical and clinical validity of wholegenome oligonucleotide array comparative genomic hybridization for pediatric patients with mental retardation and developmental delay*. Am. J. Med. Genet. A 146A:1942–54.2008.

140- Yunis JJ. *High resolution of human chromosomes*. Science. 191: 1268– 1270. 1976.

141- Zhang F, Khajavil M, Connolly AM, Towne CF, Batish SD, Lupski JR. *The DNA replication FoSTeS/MMBIR mechanism can generate genomic, genic and exonic complex rearrangements in humans*. Nat Genet. 2009;41:849–53.

142- <http://sonoworld.com/fetus/page.aspx?id=1040> Erişim: 16.09.2014

**SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER İNCELEMELER İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU**

Proje Adı

**GÖRÜNÜRDE DENGELİ YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİNDE
SUBMİKROSKOBİK DENGESİZLİKLERİN A-CGH YÖNTEMİ İLE
ARAŞTIRILMASI**

Tarih:

Bu çalışmada postnatal (doğum sonrası) veya prenatal (doğum öncesi) kromozom analizlerinde mikroskobik olarak dengeli görünen, *de novo* (ailede ilk kez saptanmış) veya ailevi yapısal kromozom anomalisi saptanmış 30 olguda, kırık noktalarında ve/veya kırık noktalarından bağımsız bölgelerde submikroskobik (mikroskobik olarak görülemeyen) dengesizliklerin olup olmadığının a-CGH (array- Comparative Genomic Hybridisation) yöntemi ile araştırılması planlanmıştır. Kırık bölgelerinde veya genomun diğer bölgelerinde saptanacak dengesizliklerin etkilediği genlerin fenotip (olgunun klinik bulguları) ile ilişkisinin kurulması ve bunların fonksiyonlarına yönelik hipotezlerin ortaya atılması amaçlanmıştır. Ayrıca olguların bu anomalinin varlığından etkilenip etkilenmeyeceğinin araştırılması , eğer olgu zaten etkilenmişse bu anomali nedeniyle olup olmadığının belirlenmesi ile de genetik danışma sürecine katkıda bulunulacaktır. Bu ek incelemelerin yapılmasına izin vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz.

Aşağıdaki **Sitogenetik ve Moleküler İncelemeler için Bilgilendirilmiş Onay Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı verirseniz formu lütfen imzalayınız.

1.Yapılacak işlemin tanımı : İnceleme, sizlere rutin olarak uygulanmış olan kromozom analizlerinde görünürde dengeli yapısal kromozom anomalisi saptanması durumunda bu anomalinin ileri düzeyde aydınlatılmasını amaçlamaktadır. Bu çalışmalar İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından yürütülecektir.

İleri moleküler sitogenetik ve moleküler analizlerin yapılması için hastaların tanı amacı ile önceden alınmış olan mevcut doku örnekleri kullanılacaktır. Örnekler üzerinde Array-CGH yöntemi ile çalışılacaktır. Bu yöntemin esası DNA'nın komplementerini oluşturabilme özelliğine dayanmaktadır. İşlemden öncelikle örnekler mikroskop lamaları üzerine yayılarak preparat hazırlanacaktır. Anomaliye özgün laboratuvarımızda hazırlanmış ve işaretlenmiş problemlerle bu preparatlar hibridizasyona sokulacaktır. Ertesi gün hibrit sinyaller floresan mikroskoplarda uygun filtreler yardımı ile görüntülenecek ve bu sinyallerin yardımı ile daha önce ailenizde saptanmış olan kompleks kromozom anomalisinin kırık noktaları aydınlatılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Bu incelemeler için sizden alınan kanlardan ve/veya deri biyopsisinden elde edilecek örneklerinizin saklanması konusunda lütfen aşağıdaki seçeneklerden birini seçiniz:

Bu durumda hasta ve aile bilgilendirilecek ve izni alınacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Bu incelemeler için sizden alınan kanlardan elde edilecek örneklerinizin saklanması konusunda lütfen aşağıdaki seçeneklerden birini seçiniz:

a. Elde edilen doku örneğimin çalışma bittikten sonra bölümünüz örnek bankasında saklanmasına izin veriyorum.

b. Elde edilen doku örneğimin çalışma bittikten sonra imha edilmesini istiyorum.

Doku örneğiniz saklandığı takdirde size sorulmadan, izniniz alınmadan hiçbir şekilde başka bir çalışma için kullanılmayacaktır.

2. Olası riskler ve faydalar :

Olgunun anne babasından ek incelemeler için kan alınmasının gerektiği durumlarda,

Periferi Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) İğne-batmasına bağlı olarak az bir acı duyulması. (2) İğne batması sonrasında çok nadiren enfeksiyon gelişebilir.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir.

İnceleme sonunda elde edilecek sonuçlar istediğiniz takdirde size bildirilecektir. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi

ile paylaşmamız sadece sizin iznimize bağılı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne yada babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağılı kalınacaktır.

Olası yararlar: Bu incelemelerin esas amacı gebeliğinizde normal saptanan kromozom yapısına ilave anomaliler saptanabilmesi ve daha detaylı araştırmak ve genotip-fenotip ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olacak bilgilere ulaşmaktır.

Eğer doğum sonrası, bebeğinizde herhangi bir fiziksel ve zihinsel anomali/anomaliler var ise kromozom yapısına ilave ek anomalilerin varlığının araştırılması ile bu anormalliklerin genetik kökeni araştırılmış olacaktır.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağılıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değışiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan ,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Aile Adı)

(Tanık Kişisi)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Kontakt kurulabilecek kişiler: Prof. Dr. Seher Başaran
Uzm.Bio. Nihan Bilge Satkın

Ulaşılabilir Tel. No.'ları: Direk hat: (0 212) 534 84 40
Dahili hat: (0 212) 414 20 00 – 32327

Ulaşım Adresi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
Millet Cad. 34390 Çapa – İSTANBUL

Elektronik Posta Adresi: basarans@istanbul.edu.tr

İzin : Yukarıda tanımlanan ileri düzey incelemenin uygulanması, riskleri ve yararları ile ilgili yeterince bilgi aldım. Bu çalışmaya kendimin (çocuğumun) katılmasına izin veriyorum. Çalışmanın herhangi bir aşamasında şayet vazgeçersem onayımı çekmek hakkında özgür olduğumu biliyorum. Bu nedenle kendimin/çocuğumun bir zarar görmeyeceğini anladım. Araştırma bulguları, ailemdeki genetik hastalığın klinik ve moleküler tanısına ve tedavisine faydalı sonuçlar vermesi durumunda bana rapor edileceğini kabul ettiğimi bildirmek istiyorum.

<u>Adı Soyadı</u>	<u>Doğum tarih</u>	<u>İmza</u>	<u>(Ebeveyn)</u>
Aile üyesi	-----	-----	-----

Aile üyesi	-----	-----	-----

Aile üyesi	-----	-----	-----

Aile üyesi	-----	-----	-----

Aile üyesi -----

Aile üyesi -----

Aile üyesi -----

Aile üyesi -----

Aile üyesi -----

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	28/03/2013	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>		Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>		Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	<input type="checkbox"/>		
	ŞİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
KARAR BİLGELERİ	Karar No:08	Tarih: 19/04/2013		
	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında görevli Prof.Dr.Seher BAŞARAN'ın sorumluluğunda ve Doktora Öğrencisi Nihan BİLGE SATKIN'ın yürüteceği yukarıda bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU								
ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28030 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkındaki Yönetmelik						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki *		Katılım **	İmza
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	İZİNLİ
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr. Sevdâ ÖZEL	Biyoistatistik	İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Biyoistatistik	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile ilişki
** :Toplantıda Bulunma

Bu karar araştırma projesinin etik açıdan değerlendirme sonucunu bildirmektedir. Klinik ilaç araştırması projeleri için, etik kurulu onayı sonrasında, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmeliğin 5/a .maddesi gereğince, Sağlık Bakanlığına da başvurulması ve gerekli iznin alınması gerekmektedir.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Nihan Bilge	Soyadı	Satkın
Doğ.Yeri	Elazığ	Doğ.Tar.	01.06.1980
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	11822638630
Mail	bilgenihan@gmail.com	Tel	0536 561 03 13

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Tıp Fak., Sağlık bilimleri Enstitüsü, Genetik programı	2009
Lisans	İstanbul Üni. Fen Fak. Biyoloji	2006
Lise	Şehremini Lisesi	1998

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi	ÜDS	73,75

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi
Adobe Photoshop	İyi