

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**FETAL MERKEZİ SINIR SİSTEMİ ANOMALİLERİNDE
SUBMİKROSKOBİK KROMOZOM ANOMALİLERİNİN
MOLEKÜLER TEKNİKLERLE ARAŞTIRILMASI**

SELVİ ERGİN

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. BİRSEN KARAMAN**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

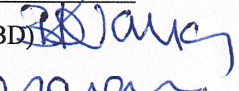
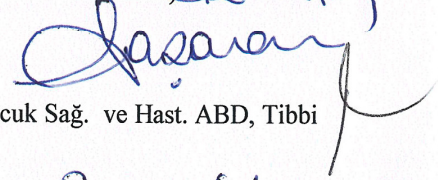
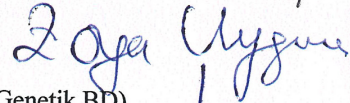

İSTANBUL-2012

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Selvi ERGİN tarafından hazırlanan "Fetal Merkezi Sinir Sistemi Anomalilerinde Submikroskopik Kromozom Anomalilerinin Moleküler Tekniklerle Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

20 / 07 / 2012

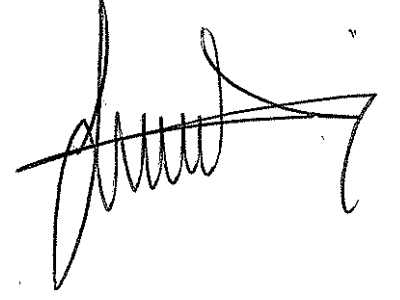
Tez Sınav Jürisi

- | <u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u> | <u>İmzası</u> |
|---|---|
| 1.Doç. Dr. Birsen KARAMAN (Tez Danışmanı) (İ.Ü., İ.T.F. Tıbbi Genetik ABD) |  |
| 2.Prof. Dr. Seher BAŞARAN (İ.Ü., İ.T.F., Tıbbi Genetik ABD) |  |
| 3.Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ (İ.Ü., Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağ. ve Hast. ABD, Tıbbi Genetik BD) |  |
| 4. Prof. .Dr. Z. Oya UYGUNER (İ.Ü., İ.T.F., Tıbbi Genetik ABD) |  |
| 5.Prof. Dr. Kıvanç ÇEFLE (İ.Ü., İ.T.F., İç Hastalıkları ABD, Tıbbi Genetik BD) | |

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 çalışmayla 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 haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

SELVİ ERGİN



İTHAF

Onur ATEŞER'e

TEŞEKKÜR

Hem öğrenim sürecimde hem de tez çalışmalarım sırasında bilgilerinden yararlandığım değerli hocam Prof.Dr. Seher Başaran'a

Tez çalışmamın her aşamasında çalışmalarımı büyük bir titizlikle yakından izleyen ve beni yönlendiren, bilimsel ve manevi desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Doç.Dr. Birsen Karaman'a,

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Z. Oya Uyguner'e,

Olguların klinik çalışmalarını gerçekleştiren, klinik genetik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Dr. Hülya Kayserili'ye,

Tezimin her aşamasında deneyim, yardım ve bilgisini benden hiç bir zaman esirgemeyen, manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili çalışma arkadaşım Uzm. Bio. Nihan Bilge Satkın'a

Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana hep destek olan çalışma arkadaşlarım Uzm. Bio. Kader Yılmaz, Bio. Nuray Kırmızı, Bio. Havva Öztürk, Zuhal Temur, Fatoş Dağ, Dr. Güven Toksoy, Lab. Alev Yalın, Bio. Volkan Karaman, Bio. Mutlu Avşar Dülger ve Kadir Abi'ye,

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda çalışan tüm arkadaşlarıma,

Desteklerini hiç bir zaman benden esirgemeyen canım aileme,

Tez yazım sürecimde moral ve motivasyon sağlamam için bana destek olan Ateşer ve Göktay ailesine,

teşekkür ederim

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 19666 ve Proje No: 17848

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	İİİ
İTHAF	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET.....	XV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. SİNİR SİSTEMİ	3
2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi.....	3
2.1.2. Merkezi Sinir Sistemi Embriyolojisine Genel Bakış	3
2.1.2.1. Medulla Spinalisin Gelişimi	6
2.1.2.2. Beyin Gelişimi	7
2.1.2.2.1. Prozenkefalon.....	8
2.1.2.2.2. Mezencefalon.....	9
2.1.2.2.3. Rombencefalon.....	10
2.2. MSS KONJENİTAL ANOMALİLERİ	10
2.2.1. Medulla Spinalisin Konjenital Anomalileri.....	10
2.2.2. Beynin Konjenital Anomalileri.....	13
2.2.2.1. Holoprozencefali (HPE)	13
2.2.2.2. Hidrosefali	16
2.2.2.3. Ventrikülomegali.....	17
2.2.2.4. Korpuz Kallozum Agenezisi (KKA)	17
2.2.2.5. Dandy-Walker Malformasyonu (DWM)	18
2.2.2.6. Mikrocefali.....	19
2.2.2.7. Koroid Pleksus Kisti (KPK)	19

2.2.2.8. Lizenfali.....	20
2.2.2.9. Şizenfali.....	21
2.3. MSS KONJENİTAL ANOMALİLERİNİN KROMOZOMAL DÜZENLİLİKLERLE İLİŞKİSİ	21
2.3.1. NTD'nin Kromozomal Düzensizlikler ve Genlerle Olan İlişkisi	22
2.3.2. Konjenital Beyin Anomalilerinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi	23
2.3.2.1. HPE Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi	23
2.3.2.2. Hidrosefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi	25
2.3.2.3. Ventrikülomegalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi	25
2.3.2.4. KKA'nın Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi	26
2.3.2.5. DWM'nun Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi.....	26
2.3.2.6. Mikrocefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi....	27
2.3.2.7. KPK'nın Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi.....	27
2.3.2.8. Lizenfalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi.....	28
2.3.2.9. Şizenfalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi.....	28
2.4. FETAL DOKU ELDESİ.....	29
2.5. KROMOZOM ANOMALİLERİNİN TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER	30
2.5.1. Sitogenetik Yöntemler.....	30
2.5.2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler.....	31
2.5.2.1. FISH	31
2.5.2.2. CGH.....	32
2.5.2.3. A-CGH.....	33
2.5.2.4. Dizin Teknikleri	35
2.5.2.4.1. Mikroarray	35
2.5.2.4.1.1. BAC Mikroarray.....	36
2.5.2.4.1.2. Oligonükleotid Mikroarray	36
2.5.2.4.1.2.1. SNP Array.....	36
2.5.2.4.1.2.2. CNV Array.....	37
2.5.3. Moleküler Yöntemler	38
2.5.3.1. QF-PCR	38

2.5.3.2. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (Çoğul ligasyon bağımlı arttırım) (MLPA)	38
2.6. ARRAY SONUÇLARININ YORUMLANMASI	39
3. GEREÇ-YÖNTEM.....	41
3.1. MATERYAL.....	41
3.2. YÖNTEMLER	41
3.2.1. Gereçler	41
3.2.1.1. Kullanılan Taşınabilir Cihazlar	41
3.2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	42
3.2.2. Kullanılan Teknikler	43
3.2.2.1. DNA eldesi	43
3.2.2.2. DNA' nın çöktürülmesi	43
3.2.3. A-CGH Çalışması	44
3.2.3.1. Test ve Referans DNA' sının işaretlenmesi.....	44
3.2.3.2. Hibridizasyon Aşaması.....	45
3.2.3.3. Hidridizasyon Sonrası Array Slayt Yıkama Aşaması	48
3.2.3.4. Slayt Tarama	49
3.2.3.5. Verilerin Analizi.....	50
4. BULGULAR.....	56
4.1. Olguların Toplu Sonuçları.....	56
4.2. 3 Olgunun Sunumu.	58
4.2.1. Olgu-1: N.A.G.	58
4.1.1. Olgu-2: N.K.	63
4.1.2. Olgu-3: Z.G.....	67
5. TARTIŞMA	72
KAYNAKLAR	86
FORMLAR	105
ETİK KURUL KARARI	109
ÖZGEÇMİŞ	111

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Holoprozensefalili olgulardaki yüz özellikleri	15
Tablo 2-2: USG’de saptanan MSS anomalileriyle ilişkili en sık görülen sayısal kromozom anomalileri.....	21
Tablo 2-3: HPE görülen Tek gen sendromları.....	25
Tablo 2-4: KPK’da kromozom anomalisi görülme riski.....	28
Tablo 2-5: Fetal girişim yöntemlerinin karşılaştırılması.....	30
Tablo 3-1: İşaretlemede kullanılan kimyasal miktarları.....	44
Tablo 3-2: Kullanılan Array setlerine göre örneklerin son konsantrasyon miktarları	45
Tablo 3-3: Kullanılan Array setleri için gerekli olan STC miktarları	46
Tablo 3-4: Master miks hibridizasyon solüsyonu miktarları.....	46
Tablo 3-5: Array setlerine göre hibridizasyon için kullanılan örnek miktarı	47
Tablo 4-1: Tüm olguların toplu döküm ve sonuçları	57

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Birinci haftada ovaryan siklus, fertilizasyon ve insan gelişiminin özeti.....	4
Şekil 2-2: Dorsal görünümde embriyonik diskin üçüncü hafta sırasında uzaması ve şekil değiştirmesi.....	5
Şekil 2-3: Nöral plağın görünümü.....	5
Şekil 2-4: Nöral tüp oluşumu.....	6
Şekil 2-5: Medulla spinalisin gelişimi.....	7
Şekil 2-6: Beyin gelişiminin anatomisi; primer ve sekonder beyin vezikülleri.....	8
Şekil 2-7: Beynin iki hemisferini birleştiren Korpus Kallozum.....	9
Şekil 2-8: En sık görülen NTD'leri.....	11
Şekil 2-9: Spina bifidanın ve normal omurganın görünümü.....	12
Şekil 2-10: Spina bifidanın tiplerinin şematik görünümü.....	12
Şekil 2-11: Normal ve HPE'ye yol açan beyin gelişimi.....	14
Şekil 2-12: HPE tipleri.....	15
Şekil 2-13: Normal ve hidrosefalide ventrikül yapısı.....	16
Şekil 2-14: Korpus kallozumun normal ve anormal görüntüsü.....	18
Şekil 2-15: Normal ve mikrosefalili baş görünümü.....	19
Şekil 2-16: Normal altı tabakalı kortikal yapı ve klasik lizensefalide organizasyonu bozulmuş dört tabakalı kortikal yapı.....	20
Şekil 2-17: HPE ile ilişkili tanımlanmış ve aday genlerin kromozomal lokalizasyonlar.....	24
Şekil 2-18: CGH yönteminin akış şeması.....	33
Şekil 2-19: A-CGH aşamaları.....	34
Şekil 2-20: Hibridizasyon sonrası prob görüntüsü.....	35
Şekil 2-21: Oligonükleotit array slayt görünümü.....	36
Şekil 2-22: Prob Dizaynı.....	38
Şekil 2-23: A-CGH çalışmalarında akış şeması.....	40
Şekil 3-1: PMAT ve kısımları.....	47
Şekil 3-2: a) CGX-3, b) CGX-6 ve c) CGX-12 için kullanılan mikserler.....	48
Şekil 3-3: Slayt yıkama düzeneği.....	48
Şekil 3-4: Mikser'in slaytdan ayrılması.....	49
Şekil 3-5: Slaytların 2µm rezolüsyonda tarandıktan sonraki elde edilen görüntüsü.....	49

Şekil 3-6: DEVA programı arayüzü.....	50
Şekil 3-7: NEXUS programı temelyüzü.....	51
Şekil 3-8: Örnekteki değişimler ve kalite hakkında bilgi veren NEXUS programı arayüzü.....	51
Şekil 3-9: NEXUS programında analiz sonrası karyogram görüntüsü	52
Şekil 3-10: NEXUS programında analiz sonrası tüm genom grafik görüntüsü	52
Şekil 3-11: NEXUS programında analiz sonrası tek bir kromozomun genel görüntüsü	53
Şekil 3-12: NEXUS programında saptanan genler ve CNV'leri gösteren pencere	53
Şekil 3-13: NEXUS programında analiz sonrası karyogram ve grafik görüntüsü.....	54
Şekil 3-14: a) Kromozom üzerindeki prob bağlanma oranı, b) Whole genome görüntüsü	55
Şekil 4-1: Olgu 1'in karyotip görüntüsü.....	59
Şekil 4-2: Olgu 1'in 9ptel ve 7qtel problemleri ile uygulanan I-FISH görüntüleri	59
Şekil 4-3: a) Olgu 1'in NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü, b) 7.kromozomundaki delesyon görüntüsü, c) 7.kromozomunun q35-q36.3 bölgelerinde oluşan 11,584Kb (%39 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü, d) 9.kromozomundaki duplikasyon görüntüsü, e) 9.kromozomunun p24.3-p21.3 bölgelerinde oluşan 20,242Kb (%57 CNV) büyüklüğündeki duplikasyonun yakın plan görüntüsü	62
Şekil 4-4: Olgu 2'nin USG görüntüsü.....	63
Şekil 4-5: Olgu 2'nin karyotip görüntüsü.....	64
Şekil 4-6: a) Olgu 2'nin NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü, b) 9.kromozomdaki delesyon görüntüsü, c) 9.kromozomunun q33.2-q33.3 bölgelerinde oluşan 1,411Kb (%19 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü.....	66
Şekil 4-7: Olgu 3'ün USG görüntüsü.....	67
Şekil 4-8: Olgu 3'ün karyotip görüntüsü;.....	68
Şekil 4-9: a) Olgu 3'ün NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü, b) 3.kromozomdaki delesyon görüntüsü, c) 3.kromozomunun p14.3 bölgesinde oluşan 561Kb (%1 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü, d) Paternal 3.kromozomunun delesyon görüntüsü, e) Paternal 3.kromozomunun p14.3 bölgesinde oluşan 561Kb (%0,24 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü.....	71

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

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

AS: Amniosentez

ASD: Autism spectrum disorders (Otizm spektrum hastalıkları)

AY: İleri Anne Yaşı

BAC: Bacterial Artificial Chromosome (bakteri kökenli yapay kromozom)

bç: baz çifti

BOS: Beyin omurilik sıvısı

cDNA: komplementer Deoksiribonükleik asit

CGH: Comparative Genomic Hybridization (Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon)

CMV: Cytomegalovirus

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

DWM: Dandy-Walker Malformasyonu

FISH: Floresan İn Situ Hibridizasyon

FKÖ: Fetal kan örnekleme

GH: Gebelik haftası

HPE: Holoprosensefali

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

ISCA: International Standards for Cytogenomic Arrays

IUGG: Intra Uterin Gelişme Geriliği

Kb: Kilobaz

KKA: Korpus Kallosum Agenezisi

KMA: Kromozomal Mikroarray

KOÖ: Kötü Obstetrik Öykü

KPK: Koroid Pleksus Kisti

KVÖ: Koryon Villus Örneklemesi

LHC: Labeling and Hybridization Control

LOH: Loss of Heterozygosity (Heterozigosite kaybı)

MIHV: Middle interhemispheric fusion variant

MKA/MR: Multipl Konjenital Anomali / Mental Retardasyon

MLPA: “Multiplex ligation-dependent probe amplification”

MRG: Manyetik rezonans görüntüleme

MSG: Basitleşmiş giral yapı ile oluşan mikrosefali

MSS: Merkezi sinir sistemi

NOR: Nuclear Organiser Region

NTD: Nöral tüp defekti

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)

SBH: Subkortikal Band Heterotopisi

SHH: Sonic Hedgehog

SIGU: Italian Society of Human Genetic

SMA: Spinal Muscular Atrophy

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

USG: Ultrasonografi

ÜT: Üçlü tarama testi

WGA: Whole genom array

ÖZET

Ergin, S. Fetal merkezi sinir sistemi anomalilerinde submikroskopik kromozom anomalilerinin moleküler tekniklerle araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik ABD. Yüksek Lisans. İstanbul. 2012.

MSS anomalileri, tüm konjenital anomaliler arasında en sık görülen ve en ağır seyreden anomalilerdir ve yaklaşık olarak 100 canlı doğumda bir görülmektedir. Çoğu MSS anomalisinin etiyojisi tam olarak bilinmese de çoğu bazı özgün kromozom anomalileri ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmaların sonucunda MSS malformasyonlarına bağlı kromozom anomalilerinin oranının %5 ile %50 arasında olduğu görülmüştür.

Klasik sitogenetik yöntemler ile sayısal ve 5-10Mb`a kadar yapısal kromozom anomalileri tanınabilmektedir. Son 10 yılda ise klasik sitogenetik yöntemler ile tespit edilemeyen 5Mb`dan küçük olan submikroskopik değişimlerin tanısında FISH, MLPA, CGH ve mikroarray teknikleri gibi yeni teknikler kullanılmaya başlanmıştır.

A-CGH, genomik düzensizlikleri DNA düzeyinde ve tüm genom boyunca saptayabilen yeni bir tekniktir. Bu yöntem 50-100Kb arasında değişen kopya sayısı değişikliklerini saptayabilmesi, metafaz plağına gerek duyulmaması, çalışma için az miktarda DNA örneğinin yeterli olması açısından klasik kromozom analiz tekniklerine göre avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada, fetal USG`de MSS anomalisi saptanan ancak klasik sitogenetik analizler ile herhangi bir kromozom anomalisi gösterilemeyen 20 olgudan invazif bir girişimle elde edilen doku örneklerinde (AS, FKÖ ve KVÖ) submikroskopik kromozom anomalilerinin A-CGH yöntemi ile araştırılması amaçlanmıştır.

20 olgunun 3`ünde submikroskopik kromozomal bir değişim saptanmıştır. Bu değişimlerden sadece biri olgunun (olgu 1) USG bulguları ile uyumlu bulunmuştur. Geri kalan 2 değişimden birinde parental orjin çalışması yapılamadığından klinik önemi açıklanamamıştır. Diğer olgudaki değişimin ise paternal kalıtmı ailesel bir varyant olduğu kanısına varılmıştır.

Literatürde farklı çalışma gruplarında seçilen olgu ve kullanılan array formatına göre saptanan anomali sıklığı %1.8`ten %13.3`e kadar farklılık göstermektedir. CNV sıklıkları ise %2-61 arasında değişmektedir. Bizim çalışmamızda da 20 olguluk serimizde klinik olarak anlamlı anomali oranı %5 olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Fetal merkezi sinir sistemi anomalileri, submikroskopik kromozom anomalileri, Array-CGH

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 19666 ve 17648

ABSTRACT

Ergin S. Investigation of submicroscopic chromosomal abnormalities in fetus with central nervous system anomalies by molecular techniques. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Genetics. Master Thesis. İstanbul. 2012.

Congenital malformations of central nervous system (CNS) are the most common birth defects with a prevalence of about 1%. Although the etiology of most CNS malformations remains unknown, some CNS malformations are associated to specific chromosome anomalies. Previous studies showed that the incidence of chromosome abnormalities related to CNS malformations is between 5 - 50%.

Conventional karyotyping enables to detect aneuploidies, large duplications, and deletions of at least 5-10Mb along with the structural rearrangements. In the last decade, FISH, MLPA, CGH and microarray techniques made it possible to detect the submicroscopic imbalances (<5 Mb).

A-CGH is a new technique which can detect the genomic imbalances in DNA level and from all genome. This technique have a lot of advantages compared to classical chromosome analysis techniques on handling and also on the achieved results since former can detect copy number changes between 50-100Kb.

In this study, it is aimed investigation of submicroscopic anomalies by microarray technique to the materials (amniocentesis (AC); Chorionic Villus Sampling (CVS); Fetal blood sampling (FBS) obtained by invasive technique from 20 cases, which shows normal chromosome in conventional cytogenetic analysis and which has CNS anomaly diagnosed by fetal USG.

In 3 of these 20 cases it was detected submicroscopic chromosome abnormalities. Just one of these abnormalities is concordant with USG findings. In one of the others cases the clinical significance could not be explained because the parental origin test could not be performed. In the other case it was concluded the heredity is a paternal variant.

In the litterature the abnormality rate, which is detected from chosen case or used array format in different study groups, is detected from 1.8% to 13,3%. In our study the clinically significant abnormality rate is detected 5%.

Key Words: Fetal central nervous system anomalies, submicroscopic chromosomal abnormalities, A-CGH

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 19666 and 17648

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Her yüz yeni doğanın 3'ünde görülen konjenital malformasyonlar yeni doğan mortalite ve morbiditesinin en önemli nedenlerinden biridir. Görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler bu malformasyonların önemli bir kısmının gebeliğin herhangi bir evresinde ultrasonografi ile tanınabilmesine olanak sağlamaktadır. Konjenital malformasyonların etiolojisinde genetik faktörler çok önemli bir yer tutmaktadır. Genetik faktörler içinde kromozom anomalileri, tanı testlerinin varlığı ve 60'lardan günümüze ilerleyen zamanla duyarlılığı artan testlerin geliştirilmesi uygulamaya konması ile özel bir konumdadır.

Kromozom anomalilerinin tanısına yönelik testlerin invaziv girişimler ile elde edilen fetal doku örneklerinde de yapılabilir olması tanının intra uterin dönemlerde hatta 1. trimesterde dahi konulabilmesine olanak sağlamaktadır. USG ile multipl konjenital anomali saptanan fetuslarda kromozom anomali sıklığı %18-29 olarak verilmektedir (Bremner ve ark., 2012).

Fetal ultrasonografide (USG) artan deneyimlerle bazı özgün USG bulguları ile özgün kromozom anomalileri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Örneğin, USG'de holoprozensefali, omfolosel ve polidaktili saptanması durumunda trizomi 13 ilk olarak düşünülmeli gereken kromozom anomalisidir. Ancak her bulgu için özgün bir kromozom anomali birlikteliğinden söz edilemez. Fetal evrede saptanan kromozom anomalilerinin önemli bir bölümünü anöplodiler oluşturmakla birlikte yapısal kromozom anomalileri de söz konusudur. Sayısal ve >5 Mb lık yapısal anomaliler mikroskop altında tanınabilirler. Ancak, submikroskobik kromozom anomalileri ya özgün bir bulgu ile özgün problemler kullanılarak ya da subtelomerik anomaliler gibi tarama yöntemleri gibi FISH teknikleri kullanılarak tanınabilirler. Herhangi bir anomali saptanmaması ve özgün bulguların olmaması durumunda ise özellikle kromozom anomalileri açısından yüksek riskli patolojik USG bulgusu saptanmış fetuslarda klasik teknikler ile gösterilemeyecek submikroskobik dengesiz değişimlerin araştırılmasında kullanılacak teknikler günümüzde önemli bir çalışma alanıdır.

Standart sitogenetik teknikler, 5mb'dan daha küçük olan kromozom anomalileri ile subtelomerik yeniden düzenlenmelerin tanısında yetersiz kalmaktadır. Son dekatta yüksek riskli grupta olası submikroskobik değişimlerin tanısında floresan in situ hibridizasyon (FISH), multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), comparative genomic hybridization (CGH) ve mikrodizin gibi tekniklerinin etkinliği araştırılmıştır. Özellikle

postnatal olgu gruplarında daha yoğun olarak kullanılan bu tekniklerin prenatal uygulama sonuçları konusunda henüz yeterli deneyim bulunmamaktadır. Mikrodizin tabanlı CGH (a-CGH), karşılaştırmalı genom hibridizasyon analizlerini mikroarray teknolojisiyle birleştiren ve genomik dengesizlikleri DNA düzeyinde tanımlayan yeni bir tekniktir. Bu yöntem birden fazla genomun birbirleri ile karşılaştırılabilmesine olanak sağlaması, metafaz plağına gerek duyulmaması, az miktarda DNA örneğinin yeterli olması ve DNA üzerindeki tek baz değişikliklerini bile saptayabilmesi açısından prenatal tanı çalışmalarında postnatal tanıda olduğu gibi avantaj sağlaması beklenen bir tekniktir.

MSS anomalileri, insidansı 100 canlı doğumdan 1'inde görülecek kadar yüksek olabilirken en az doğumda görülme sıklığı kadar spontan abortuslarda da karşımıza çıkmaktadır. Pek çok kromozom anomalisinin MSS anomalilerine yol açtığı bilinmektedir. Örneğin holoprozensefali trizomi 13 ve 18 ile, lizensefali 17p13.3 mikrodelyasyonu ile ilişkilidir. MSS anomalilerinde kromozom anomalisi görülme oranı %5 ile %50 arasındadır.

Prenatal dönemde izole MSS anomalisi olan olgu bazında yapılmış çalışmalar dışında, literatürde moleküler karyotipleme teknikleri kullanılarak, tüm MSS anomalilerini kapsayan bir seri çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışma, MSS anomalili olgularda moleküler karyotipleme yöntemiyle araştırılan ilk seri çalışmasıdır.

Bu çalışmada, fetal USG'de MSS anomalisi (Ventrikülomegali, Holoprozensefali, Dandy Walker Malformasyonu, Korpus Kallosum Agenezisi, Lizensefali, mikrosefali, hidrosefali, Spina Bifida, Koroid Pleksus Kisti gibi) saptanan ve invazif bir girişimle elde edilen dokularda yapılan kromozom analizinde 500-550 bant düzeyinde herhangi bir kromozom anomalisi gösterilemeyen olguların yedek materyallerinde (Amniosentez(AS); Korion Villus Örnekleme (KVÖ); Fetal Kan Örnekleme (FKÖ)) moleküler karyotipleme tekniği ile olası submikroskopik anomalilerin araştırılması ve tekniğin, bu tür olgulardaki etiyopatogenezin açıklanmasındaki etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SİNİR SİSTEMİ

Sinir Sistemi, nöron adı verilen özelleşmiş hücrelerin oluşturduğu yaygın ağ aracılığı ile organlar arası iletişimi sağlayan, sinyallerin vücutta farklı bölgelere iletimini düzenleyen bir sistemdir. Sinir sistemi, merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemi olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (News Medical).

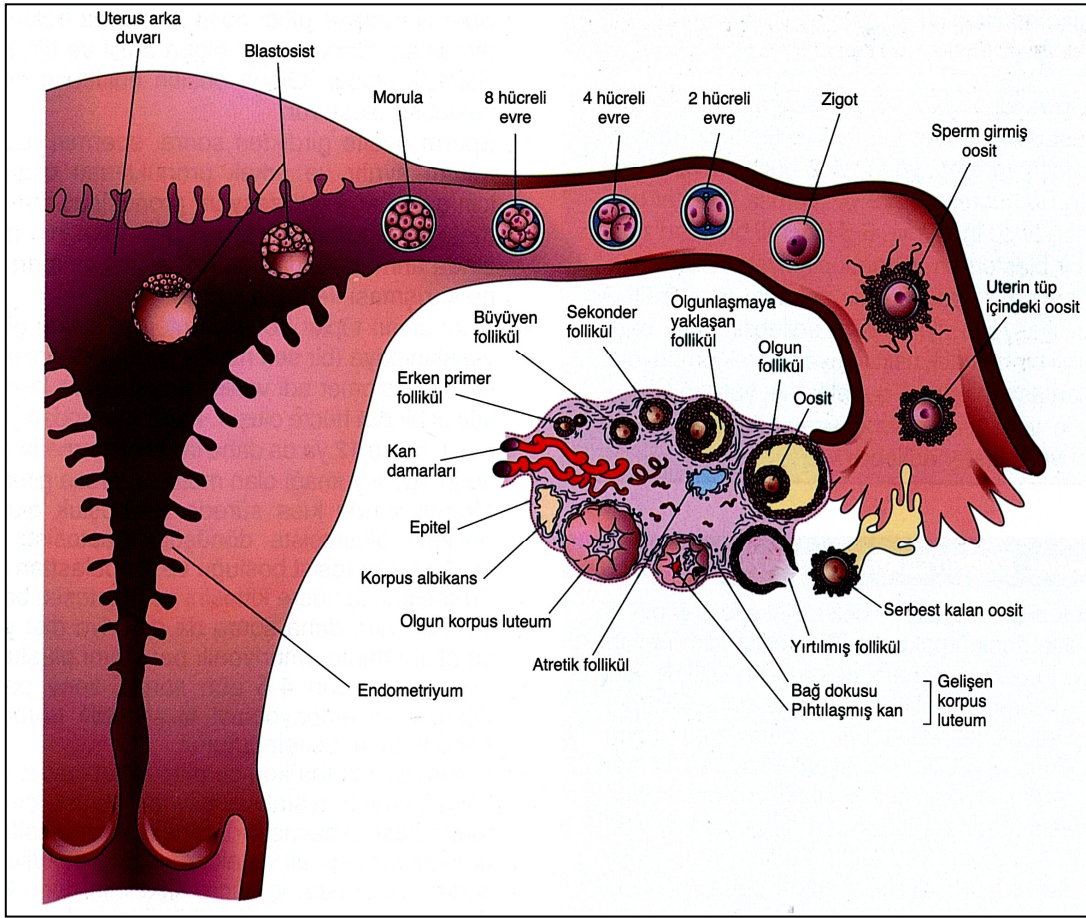
2.1.1. Merkezi Sinir Sistemi

Merkezi sinir sistemi (MSS), vücut içinden ya da dışından gelen uyarıları duyu nöronları ile algılayan, değerlendiren ve gerekli emirleri ilgili dokulara ya da organlara motor nöronları ile gönderen sinir sistemi bölümüdür (Cankur, 2001)

MSS, MSS'nin yönetim merkezi olan beyin ve vücut ile beyin arasındaki iletişimi sağlayan medulla spinalis olmak üzere 2 ana bölümden oluşmaktadır (Kimball's Biology Pages).

2.1.2. Merkezi Sinir Sistemi Embriyolojisine Genel Bakış

Embriyonik yaşam, uterin tüplerde sperm ile oositin bir araya gelerek zigotu oluşturması ile başlar (Moore ve Persaud, 2007). Zigot oluştuktan sonra hücrenin yüzeyinde sitoplazmayı ikiye ayıran derin bir yarık oluşur. Buna **2 hücreli evre** denir. Zigot bu evrede bir seri mitotik bölünme geçirerek blastomer evresini oluşturur. Fertilizasyonu takip eden 3. günde blastomer sayısı 16'ya ulaşır ve bu evre **morula** olarak adlandırılır (<http://en.wikipedia.org/wiki/Morula>). Morula döllenmeden yaklaşık 4 gün sonra yumurtalık kanalından geçerek uterusu ulaşır. Bu sırada blastomerlerin arasına uterustan zona pellisudayı geçerek gelen sıvı girer ve bunun sonucu iç tarafta sıvı dolu bir boşluk oluşur ve bu aşamaya **blastosist** adı verilir (şekil 2-1).

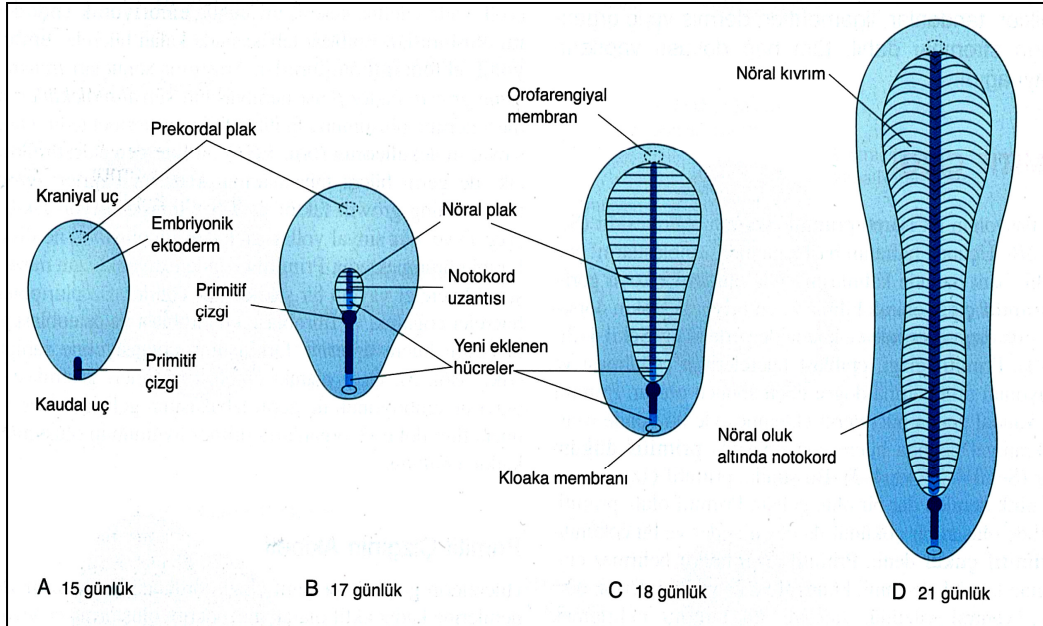


Şekil 2-1: Birinci haftada ovaryan siklus, fertilizasyon ve insan gelişiminin özeti
Moore ve Persaud, (2007)'den

İç hücre kitlesi **embriyoblast** dış hücre kitlesi de **trofoblast** olarak adlandırılan blastosist uterus mukozasına implante olur. İmplantasyondan sonra embriyoblast tabakasından **epiblast** ve **hipoblast** olmak üzere iki tabaka gelişir (Moore ve Persaud, 2007). Hipoblast tabakasından yolk kesesi gelişirken, etrafı amnion ile sarılı olan epiblast tabakası amnion boşluğunun tabanını oluşturur. Epiblast hücrelerinden tüm embriyonik dokuların kaynağı olan ve gastrulasyon olarak adlandırılan üç germ tabakası endoderm, mezoderm ve ektoderm gelişir (Sadler, 2009).

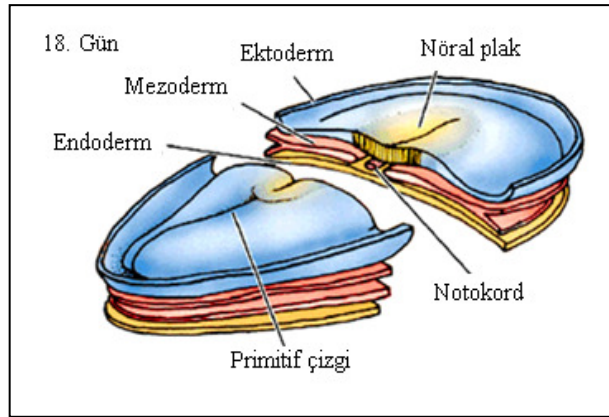
Üçüncü haftanın başlangıcında epiblast hücrelerinin çoğalması ve embriyonun orta hattına doğru göçü sonucu **primitif çizgi** oluşur. Hücre çoğalması ile primitif çizginin kranial ucunda **primitif düğüm** oluşurken, primitif çizgide **primitif oluk** denilen dar bir yapı oluşur. Primitif oluk, primitif düğümde oluşan ve **primitif çukur** denilen bir çöküntü ile devam eder. Epiblast hücreleri primitif çizgi boyunca ilerleyerek primitif düğüm ve çukurdan kraniale doğru göç ederek **notokord uzantısı** olarak bilinen hücresel bir kordon oluştururlar (Şekil 2-2). Notokord gelişerek üstünde uzanan embriyonik ektodermin

kalınlaşmasını ve merkezi sinir sisteminin primordiumu olan nöral plağın oluşumunu uyarır (Moore ve Persaud, 2007).



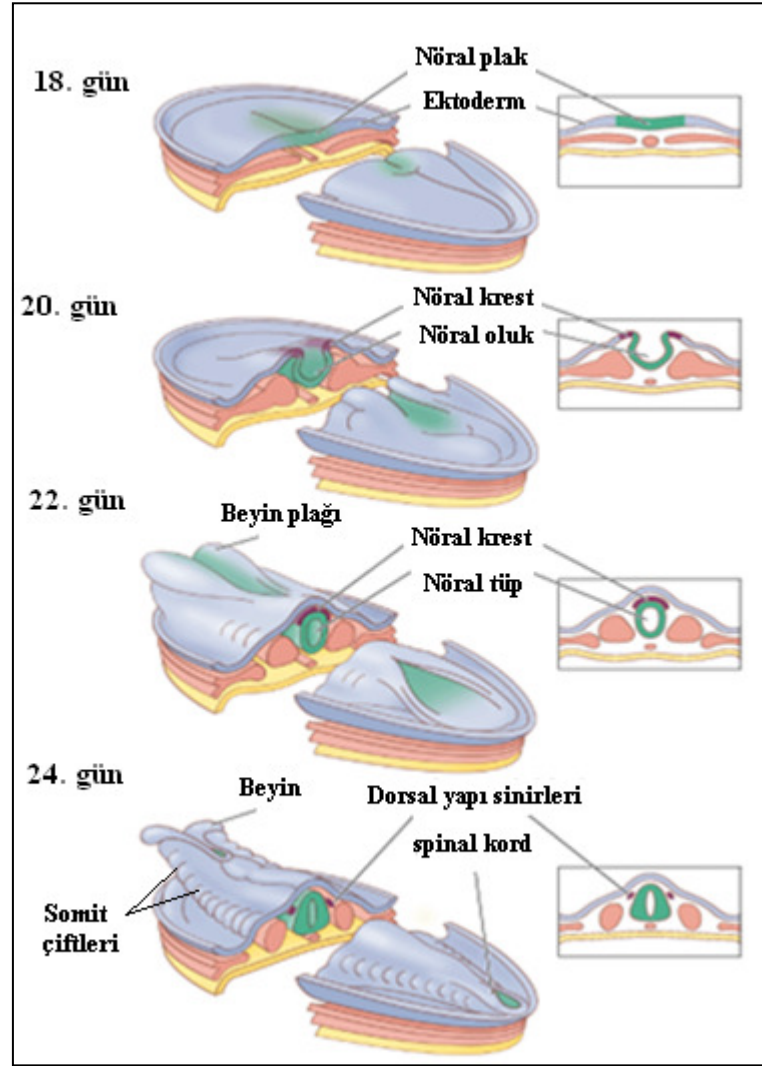
Şekil 2-2: Dorsal görünümde embriyonik diskin üçüncü hafta sırasında uzaması ve şekil değiştirmesi, Moore ve Persaud, (2007)'den

Sinir sistemi, embriyonik ektodermin kalınlaşmış terlik-biçimli nöral plak kısmından gelişir (şekil 2-3). Nöral plaktan köken alan nöral tüp MSS'ni oluşturan beyin ve medulla spinalise farklılaşır (Moore ve Persaud, 2007).



Şekil 2-3: Nöral plağın görünümü, Purves ve ark., (2001)'dan

Nörolasyon adı verilen nöral tüp oluşumu 22-23. günlerde, 4.-6. somit çiftlerinin bulunduğu bölgede başlar (Şekil 2-4).



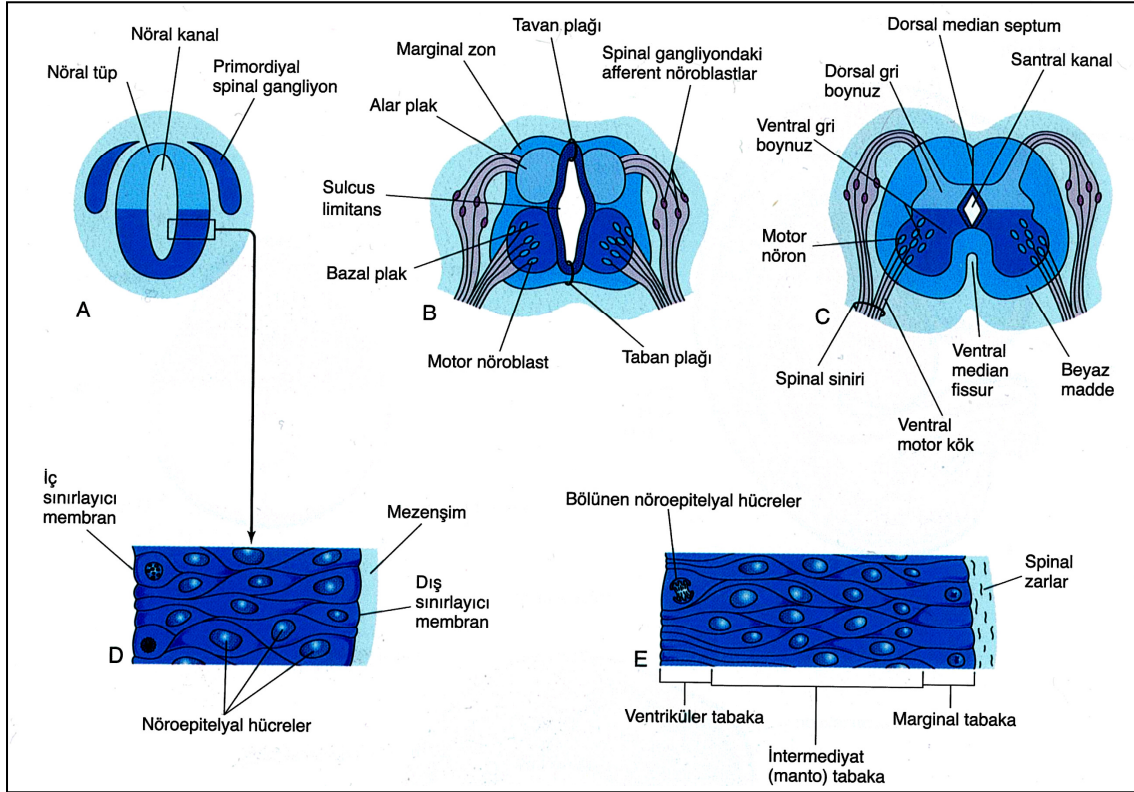
Şekil 2-4: Nöral tüp oluşumu, LeVay ve Baldwin, (2009)'den

Nörolasyon evresinde, nöral plağın ve nöral tüpün kranial kısmının 2/3'ü ve 4. somit çiftinin kaudaline kadar olan kısmı gelecekteki beyni, nöral plağın ve tübün kaudal kısmının 1/3'ü ise gelecekteki medulla spinalisi oluşturur. Nöral tübün duvarı, beyin ve medulla spinalisi oluşturmak üzere kalınlaşır, nöral tübün nöral kanalı ise, beynin ventriküler sistemine ve medulla spinalis'in santralına dönüşür (Moore ve Persaud, 2007).

2.1.2.1. Medulla Spinalisin Gelişimi

Dördüncü somit çiftinin kaudali medulla spinalis olarak gelişir. 9. ve 10. haftada nöral tüpün yan duvarları kalınlaşırken, diğer yandan medulla spinalisin santral kanalını oluşturacak olan nöral kanal yavaş yavaş küçülür. Nöral tüpün duvarlarını oluşturan kalın psödostratifye (yalancı çok katlı epitel doku) silindirik nöroepitel hücreleri ventriküler tabakayı oluştururlar. Buradan da medulla spinalisdeki tüm nöronlar ve makroglia hücreleri meydana gelir. Ventriküler tabakadaki bazı nöroepitel hücreleri, **nöroblast**

denilen primordiyal nöronlara farklılaşır. Bu hücreler ventriküler ve marginal tabakalar arasında kalan intermediyat tabakayı oluştururlar. Nöroblastlar uzantılarının gelişimi ile birlikte nöronlara dönüşürler (şekil 2-5).



Şekil 2-5: Medulla spinalisin gelişimi, Moore ve Persaud, (2007)'den

2.1.2.2. Beyin Gelişimi

Dördüncü somit çiftlerinin rostralinde kalan nöral tüp, beyni oluşturmak üzere gelişir. Nöral tüpün sefalik ucunda, nöral katlantıların birleşmesi ve rostral nöroporun kapanmasıyla beyinin gelişeceği, ön beyin vezikülü **prozensefalon**, orta beyin vezikülü **mezenfalon** ve arka beyin vezikülü **rombensefalon** olmak üzere üç primer beyin vezikülü oluşur. Beşinci hafta içinde ön beyin iki sekonder beyin vezikülü olan **telensefalon** ve **diyensefalon**'a ayrılır. Mezenfalon bölünmez, rombensefalon da iki sekonder vezikül olan **metensefalon** ve **miyelensefalona** ayrılır (Şekil 2-6) (rosswiki2008: Development of Nervous System).

Nöral tüp	Primer beyin vezikülleri	Sekonder beyin vezikülleri	Gelişmiş beyin yapıları	Gelişmiş nöral kanal bölgeleri
Anterior (rostral) Posterior (kaudal)	Prozensefalon ön beyin	Telensefalon	Serebrum: serebral hemisferler (korteks, ak madde)	lateral ventriküller
	Mezensefalon orta beyin	Diyensefalon	Diyensefalon (thalamus, hipotalamus epitalamus), retina	üçüncü ventrikül
	Rombensefalon arka beyin	Mezensefalon	orta beyin	akuaduktus serebri
		Metensefalon	pons	dördüncü ventrikül
		Miyelensefalon	serebellum medulla oblongata	
			spinal kord	santral kanal

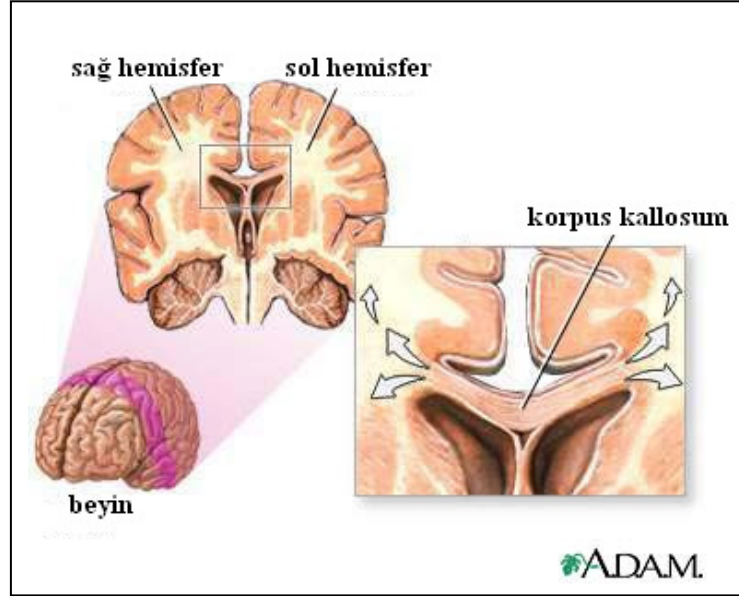
Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Şekil 2-6: Beyin gelişiminin anatomisi; primer ve sekonder beyin vezikülleri, rosswiki (2008)'den

2.1.2.2.1. Prozensefalon

Prozensefalon, **telensefalon** ve **diyensefalon** olmak üzere 2 sekonder beyin vezikülüne ayrılır.

Telensefalon, serebral hemisferlerin primer şekli olan, serebral vezikül olarak adlandırılan 2 lateral diventrikül ve bir orta bölüm yani lamina terminalisden oluşmaktadır (Sadler, 2009). Serebral hemisferler, yaklaşık 200 milyon akson içeriği ile beyindeki en büyük lif demetini oluşturan **korpus kallozum** denen yapı ile birleşirler (Şekil 2-7) (Schell-Apacik ve ark., 2008). Korpus kallozum gebeliğin yaklaşık 11-12. haftalarında hipokampus yapısının dorsal kesiminden oluşmaya başlar ve kaudale doğru serebral hemisferler boyunca gelişimini sürdürür ve 18. haftada gelişimini tamamlanmış olur.



Şekil 2-7: Beynin iki hemisferini birleştiren Korpus Kallozum, <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/8753.htm>'den

Korpus kallozum oluşumu sırasında; büyük oranda serebral korteksin üçüncü tabakasındaki piramidal hücrelerden kaynaklanan kallozal aksonların bir kısmı orta hattı geçebilirken bir kısmı da aynı tarafta kalarak medial hemisferik duvarda bulunan **Probst demeti** de denilen yapıyı oluşturur (Pirola ve ark., 1998). Probst demeti, hemisferler içinde longitudinal bağlantıyı sağlayan liflerdir ve lateral ventriküllerin ön boynuzlarını ayırır.

Hemisferlerde dışta korteks adı verilen **gri** madde, içte **medulla** adı verilen ak madde bulunur. Doğumdan sonra hemisferlerin yüzeylerinde **girus** adı verilen kırışıklıklar oluşmaya başlar. Hemisferlerin frontal, parietal, temporal ve oksipital lobları da telensefalonda yer almaktadır (http://en.wikipedia.org/wiki/Lobes_of_the_brain).

Diyensefalon, primitif 3. ventrikülün sınırları içerisinde, prozensefalonun kaudal kısmından gelişir. Diensefalonun yan duvarlarını oluşturan alar tabakadan talamus, hipotalamus ve epitalamus meydana gelirken; tavan plağının önünden 3. ventrikülün koroid pleksusu oluşur (Dudek ve Fix, 2011).

2.1.2.2.2. Mezensefalon

Mezensefalon en az değişime uğrayan beyin bölümüdür. Burada nöral kanal daralarak 3. ve 4. ventrikülleri birbirine bağlayan **akuaduktus serebri kanalını** oluşturur. Mezensefalonun arka kısmını nöral tüpün alar plakasından meydana gelen, görsel ve işitsel refleksi kontrol eden tektumu oluşturur (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Tektum>).

2.1.2.2.3. Rombensefalon

Rombensefalon, beynin en kaudal kısmında bulunan beyin vezikülüdür, miyelensefalon ile metensefalon olmak üzere 2 sekonder beyin vezikülüne ayrılır. Miyelensefalon, omurilik ve korteks arasında iletişim merkezi olarak görev yapan medulla oblongatayı oluşturur. Metensefalonda alar plakların dorsal bölümlerinin kalınlaşmasıyla hareket ve denge fonksiyonlarından sorumlu **serebellum**, ventralde ise sinir liflerine zemin oluşturan **pons** meydana gelir (Sadler, 2009).

2.2. MSS KONJENİTAL ANOMALİLERİ

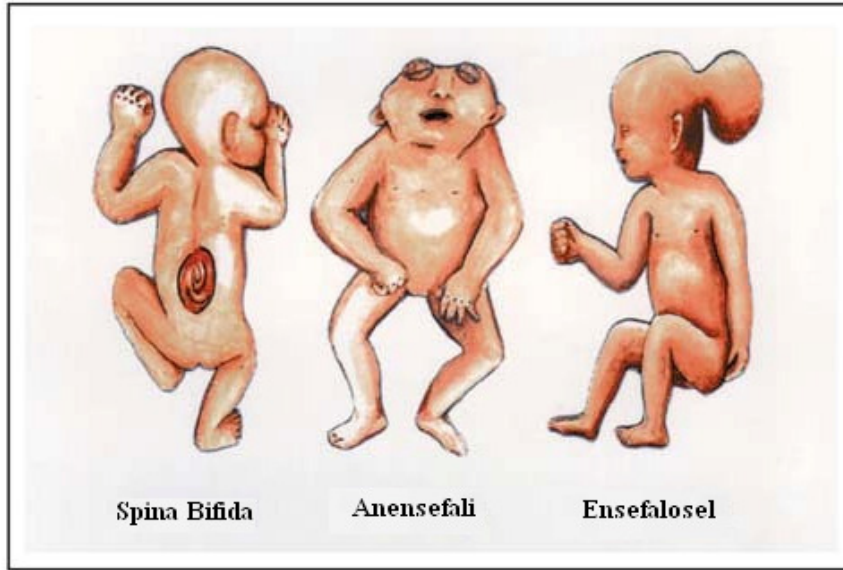
MSS anomalileri, insidansı 100 canlı doğumda bir olan, tüm konjenital anomaliler arasında en sık görülen ve en ağır seyreden anomalilerdir. Spontan abortuslarda da karşımıza en az canlı doğumlarda olduğu kadar oldukça sık çıkmaktadır (Singh ve Carr, 1967, Arvanitis, 1999; Nyberg ve ark., 2003).

MSS konjenital anomalileri, MSS'yi oluşturan Medulla spinalis ve beyin konjenital anomalileri olmak üzere iki kısımda incelenmektedir.

2.2.1. Medulla Spinalisin Konjenital Anomalileri

Medulla spinalisde meydana gelen konjenital anomalilerin kaynağını, gelişimin 4. haftasında nöral tüpün hatalı kapanması sonucu ortaya çıkan nöral tüp defektleri (NTD) oluşturmaktadır. NTD, medulla spinalisi örten meninks, vertebral arkus, kas ve deri gibi dokuları etkiler (Moore ve Persaud, 2007)

NTD, patolojinin seviyesine bağlı olarak sırasıyla; Anensefali, Ensefalosel ve Spina Bifida olmak üzere 3 kısımda incelenir (Şekil 2-8);



Şekil 2-8: En sık görülen NTD'leri, <http://www.healthline.com/galeimage?contentId>'den

Anensefali, kafa kubbesinin ve serebral hemisferlerin oluşmaması ile karakterize ağır bir MSS anomalisidir. 1972 yılında ultrasonografi ile tanısı konulabilen ilk fetal anomali olması nedeniyle de fetal görüntüleme tarihçesinde özel bir öneme sahiptir (Campbell ve ark., 1972; Kurjak ve ark., 2009).

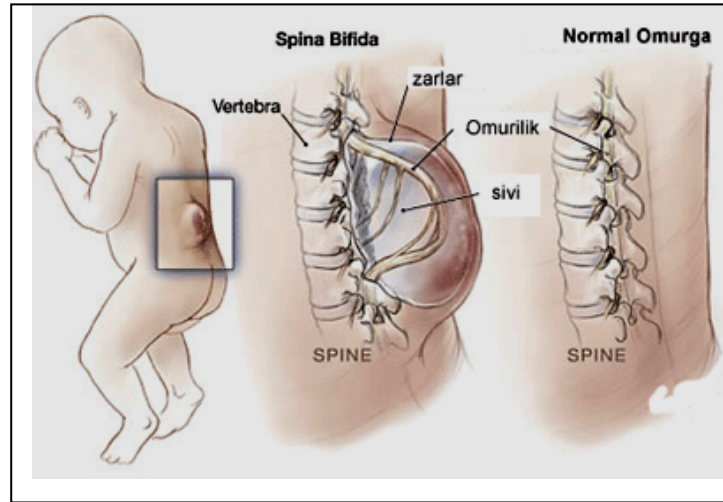
Sefalosele, bir kemik açıklığından yalnızca meninkslerin (meningosele) veya birlikte beyin dokusunun (ensefalosel) dışarı çıkması ile karakterize bir MSS malformasyonudur. (Kurjak ve ark., 2009).

Spina bifida, medulla spinalisi örten her iki taraftaki yarım vertebral arkusların birleşmemesinden kaynaklanan bir NTD anomalisidir (Şekil 2-9). Spina bifidanın tipleri şunlardır;

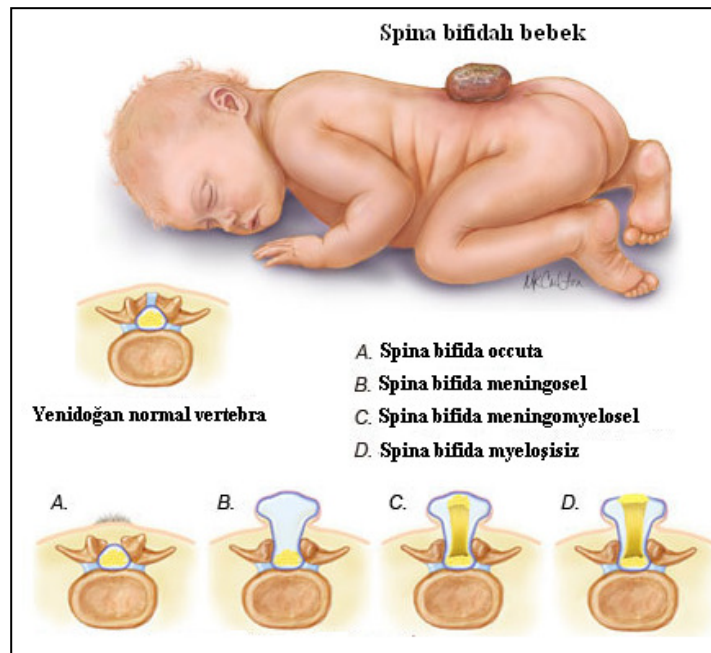
Spina Bifida Occulta (kapalı NTD); Birleşmemiş vertebral arkuslardan kaynaklanır ve normal populasyonun yaklaşık %10'unda görülür. Bu defekt bedeninin dış yüzeyinde bir kıl demeti ile küçük bir çukurun varlığı şeklinde gözlenir.

Spina Bifida Cystica (açık NTD); Defektli vertebral arkusdan medulla spinalis ve/veya meninkslerin dışarıya fıtıklaşarak kist benzeri bir kese görünümü oluşturmasıdır. Spina bifida cystica, yaklaşık 1000 doğumda 1 görülür. Dışarıya fıtıklaşan kese, meninks ve beyin omurilik sıvısı içerirse meningosele spina bifida; medulla spinalis ve/veya sinir kökleri kese içerisinde yer alırsa meningomyelosele spina bifida adını alır (Şekil 2-10). Spina bifida cysticanın en ağır tipi spina bifida myeloşisizdir. Açık olan omurilik yarı

saydam bir zar ile kaplı olduğundan enfeksiyonlara karşı oldukça hassastır (Jeelani ve McComb, 2011).



Şekil 2-9: Spina bifidanın ve normal omurganın görünümü, <http://mdf09jcmndf09jcmm.webnode.com/types-of-spina-bifida/> den



Şekil 2-10: Spina bifidanın tiplerinin şematik görünümü, <http://mdf09jcmndf09jcmm.webnode.com/types-of-spina-bifida/> den

Açık NTD görülme sıklığı dünyanın çeşitli yerlerinde coğrafi bölgeye, gebeliğin gerçekleştiği mevsime, etkilenmiş fetusun cinsiyetine, etnik kökene, ebeveynin sosyo-ekonomik durumuna, maternal yaşa bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (Padmanabhan, 2006). NTD etiyolojisinde, genetik nedenler, maternal alkolizm gibi çeşitli

teratojen ve çevresel faktörler ile çeşitli besin öğelerinin eksikliği önemli bir rol oynamaktadır. Özellikle B kompleks vitaminlerinden esansiyel bir besin maddesi olan Folik asit eksikliğinin NTD'ye neden olduğu ile ilgili görüşler ağırlıktadır (Özaras ve ark., 1999). NTD, ölü doğum ve abortuslarda normal popülasyona göre daha yüksek oranda görülmektedir. Büyük seri çalışmalarında dünyanın bazı bölgelerinde NTD sıklığının sabit kaldığı bildirilmektedir. Bunun nedeni tam olarak açıklanamamakla birlikte, prenatal tanı, genetik danışma verilerek NTD'li gebeliklerin isteğe bağlı sonlandırılması, gebelik öncesinde (prekonsepsiyonal tedavi) ve sırasında alınan tamamlayıcı besinlerin etkili olduğu düşünülmektedir (McDonnell ve ark., 1999, Chan ve ark., 2001, Busby ve ark., 2005). Türkiye'de bu konuda yapılmış az sayıdaki çalışma verilerine göre NTD görülme sıklığı canlı doğumlarda 3/1000 olarak verilmektedir (Tunçbilek, 2004).

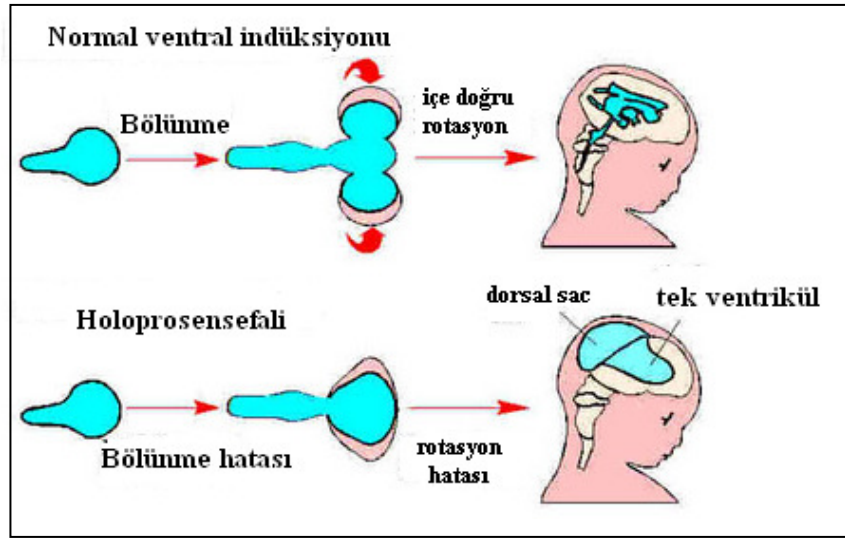
2.2.2. Beynin Konjenital Anomalileri

Embriyolojik gelişimin kompleks yapısı nedeniyle yaklaşık 1000 doğumun 3'ünde beynin anormal gelişimi görülür. Beynin en büyük konjenital anomalileri, 4. haftada anterior nöropurun kapanma hatasından kaynaklanır ve üzerinde bulunan zar ile kafatasını da etkiler. Beynin konjenital anomalileri, sinir dokusunun histogenezisi veya morfogenezisindeki değişimlerden meydana gelebilir veya notokord, somitler, mezenşim ve kraniyum gibi ilişkili yapılardaki gelişme yetersizliklerinden kaynaklanabilir (Moore ve Persaud, 2007).

2.2.2.1. Holoprozensefali (HPE)

HPE, embriyonel dönemin 35-42. günleri arasında prozensefalonun iki ayrı telensefalik veziküle tam veya kısmi bölünememesi sonucu oluşan konjenital bir MSS anomalisi olarak tanımlanır (Şekil 2-11) (Mercier ve ark., 2010).

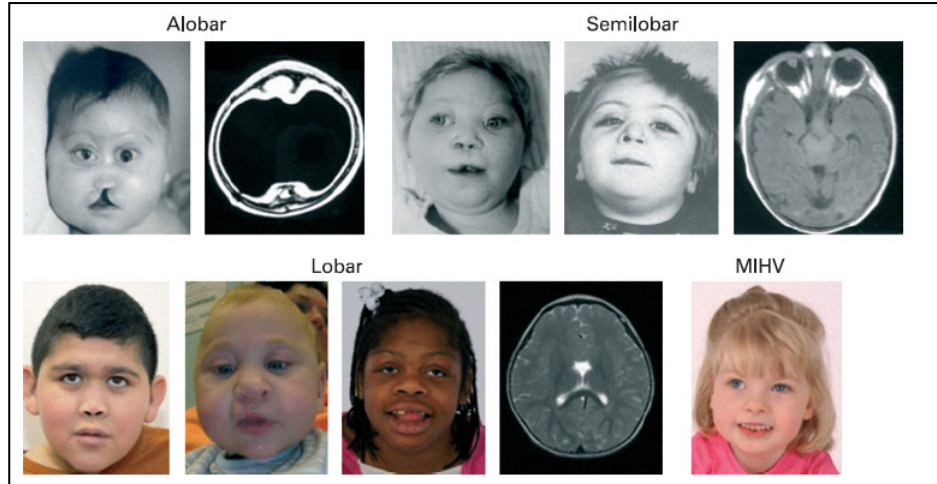
HPE, insidansı çeşitli kaynaklarda, embriyonel dönemde 1/250, canlı doğumlarda ise 1/10000 şeklinde rapor edilmiştir (Blass ve ark., 2002).



Şekil 2-11: Normal ve HPE'ye yol açan beyin gelişimi, Pooh ve ark. (2003)'den

Etiyolojisinde kromozomal bir defekt, tek gen mutasyonlarının yanı sıra radyasyona maruz kalma, salisilat ve alkol kullanımı, rubella, CMV, toksoplazma enfeksiyonlar ve diabetik anne gibi non-genetik faktörle de rol oynamaktadır (Tosun ve ark., 2006).

Anomalinin ağırlığına göre alobar, semilobar, lobar ve orta interhemisferik varyant (MIHV) olmak üzere 4 ayrı HPE tipi vardır (Solomon ve ark., 2011). Alobar tipi, tek bir ventriküler boşluk ile birlikte interhemisferik fissür yokluğu, talamusların birleşmesi ve üçüncü ventrikül yokluğu ile karakterizedir ve yaşamla bağdaşmaz. Semilobar tipte, serebral hemisferler önde tek bir ventriküler boşluk oluştururken arkada kısmen bölünmüştür ve ağır nörolojik bozukluklara neden olur. Lobar tipte ise normal interhemisferik fissür ile birlikte lateral ventriküllerin ön boynuzları ve girus singularis hizasında kısmi birleşme ve kavum septum pellucidum yokluğu izlenir ve çeşitli ağırlıkta zeka geriliğine yol açmaktadır (şekil 2-12) (Kurjak ve ark., 2008). MIHV'de bazal ön beyin ile ön frontal lob arasında interhemisferik bir ayırım vardır (Barkovich ve ark., 1993).



Şekil 2-12: HPE tipleri, Lacbawan ve ark., (2009)'dan

Ayrıca “**mikroform**” adı verilen ve orta derecede klinik bulgulara (düz burun, hipotelorizm, tek ön kesici diş, orta hat yarık dudak) sahip bireyler de HPE sekansı içinde değerlendirilir (Solomon ve ark., 2011).

HPE sıklıkla siklopi (birleşmiş orbitaller ile arinia ve frontal probosis), etmosefali (arinia ile birlikte hipertelorizm ve probosis), sebosefali (hipertelorizm ve tek bir burun varlığı) ve yarık damak dudak gibi yüz anomalileriyle birliktelik gösteririr (Tablo2-1).

Tablo 2-1: Holoprozensefalili olgulardaki yüz özellikleri, Gilbert-Berness ve Debich (2004)'den

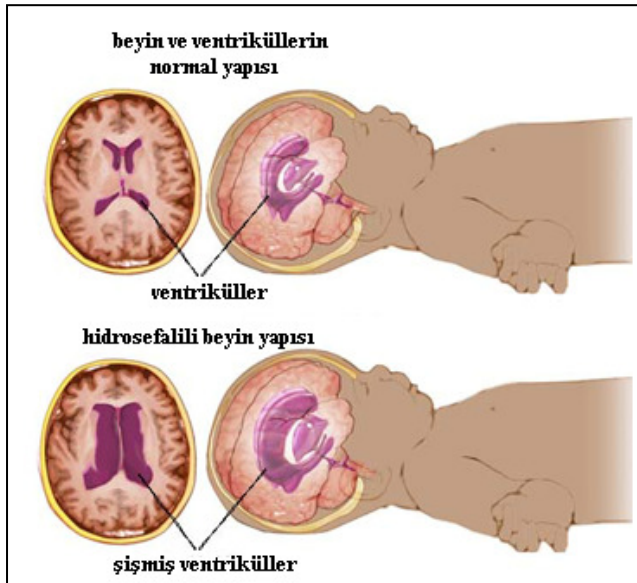
YÜZ TİPİ	YÜZ ÖZELLİKLERİ	BEYİN
Siklopi	Tek göz veya tek bir göz çukurunda parsiyel bölünmüş göz, tek probosis veya olmaması.	Mikrosefali Alobar HPE
Etmosefali	Probosis ile birlikte oküler hipotelorizm	Mikrosefali Alobar HPE
Sebosefali	Oküler hipotelorizm ve probosis sonlanan tek burun deliği	Genellikle alobar HPE
Median yarık dudak	Oküler hipotelorizm, basık burun	Genellikle alobar HPE
Hafif fasial dismorfizm	Oküler hipotelorizm veya hipertelorizm, basık burun, tek taraflı veya iki taraflı yarık dudak, Bazı olgularda hafif fasiyal dismorfizm	Semilobar veya lobar HPE

2.2.2.2. Hidrosefali

Hidrosefali, serebral ventriküller sistemin aşırı miktarda beyin omurilik sıvısı (BOS) içermesi ve artmış basınç nedeniyle dilate olması şeklinde tanımlanır. Hidrosefali olgularında BOS'un emilimi ve üretimi arasında bir denge bozukluğu bulunmaktadır (Moore ve Persaud, 2007) (Şekil 2-13). BOS, lateral ve üçüncü ventrikülden 4. ventriküle ve oradan geri emildiği subaraknoidal aralığa geçemez, lateral ventriküllerde birikir, beyin ile kafatası kemiklerine basınç yapar. Kranial sütürler henüz kaynaşmadığından kafa büyürken aralıklar genişler (Fleischer ve ark., 2012).

Hidrosefali, **kominikan** ve **nonkominikan** olarak ikiye ayrılmaktadır. Kominikan tip, ventrikül dışındaki bir patolojiye bağlı olarak gelişir; nonkominikan tip ise ventriküller arasındaki tıkanıklık nedeniyle gelişmektedir (http://physioforcare.com/blog/?page_id=180).

Konjenital hidrosefalinin insidansı % 0.5-3 iken, izole hidrosefali insidansı % 0.39 ile % 0.87 arasında değişmektedir. İzole hidrosefaliye sıklıkla konjenital darlık veya intrauterin enfeksiyon nedeniyle oluşan enflamasyon sonucu gelişen aquaduktal stenoz sebep olur ve tek başına hidrosefalilerin %10'unu oluşturur. Diğer sık karşılaşılan nedenler arasında perinatal kanama, travma, subaraknoid kanama, tümör, geçirilmiş enfeksiyonlar, Arnold-Chiari malformasyonu, KKA, serebellum hipoplazisi gibi kortikal malformasyonlar sayılabilir. Konjenital hidrosefaliye de sıklıkla meningomyelosele gibi çok sayıda malformasyon ve nörolojik sendrom eşlik edebilir (Physio for care- hydrocephalus; fetal anatomy, 2008).



Şekil 2-13: Normal ve hidrosefalide ventrikül yapısı, http://physioforcare.com/blog/?page_id=180'den

2.2.2.3. Ventrikülomegali

Ventrikülomegali, serebral ventrikül boyutlarının, transvers planda koroid pleksusun glomus seviyesinden 10 mm veya üzerinde olması ile tanımlanır (Fong ve ark., 2011).

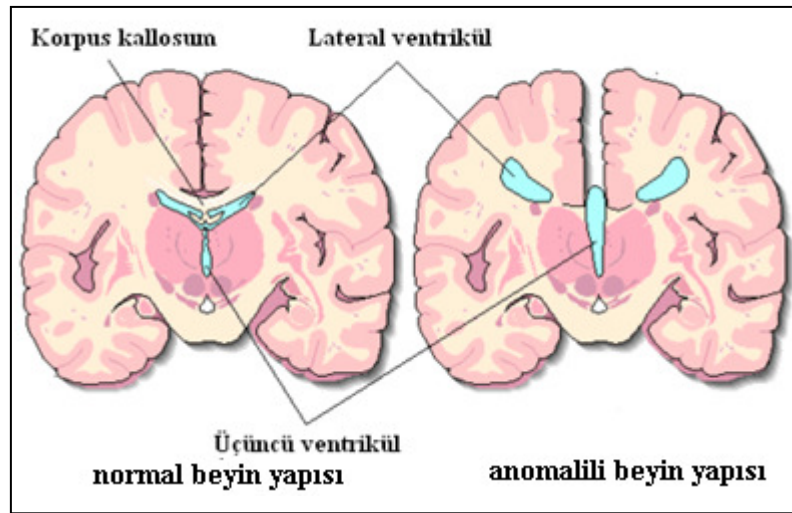
Ventrikülomegali hafif, orta ve ağır ventrikülomegali olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Sınırdaki ventrikülomegali olarak da isimlendirilen hafif ventrikülomegalide lateral ventrikül atrium genişleyerek boyutu 10 ila 15 mm arasında görülmektedir. Bu tip ventrikülomegali genellikle geçici olduğu için olguların %30'unda normale dönüş görülür. Ancak lateral ventriküllerde genişleme artabilir ve izole borderline ventrikülomegalisi olan olguların % 4'ünde ilerleyen dönemlerde hidrosefali veya kistik beyin lezyonu gibi beyin anomalileri gelişebilir. Olguların % 90'ında etyoloji belirsizdir. Kafa içi kanamalar, CMV gibi enfeksiyonlar ve akuaduktus tıkanıklığı, tip2 Chiari malformasyonu, Dandy-Walker kompleksi, KKA gibi beyin anomalilerinin ventrikülomegaliye neden olabileceği bildirilmektedir (Kurjak ve ark., 2008; Huisman, 2011). Lateral ventrikül atrium genişliği 15 mm'nin üstünde ise orta, lateral ventriküllerde ciddi bir artış ve korteks ince bir çizgi halinde görülüyorsa bu ağır ventrikülomegali adını almaktadır (Yıldız ve Kaya, 2011). KKA, serebral disgenezi, lizensefali ve ex vacuo fenomeni (iskemi ya da enfeksiyona sekonder atrofi) ile ilişkili ventrikülomegali olgularında hidrosefali gelişebilir.

İzole ventrikülomegali insidansı 10000 canlı doğumda 4 ile 9 arasında görülürken; ventrikülomegaliye eşlik eden bir anomali varlığında insidans 1000 canlı doğumda 3'e çıkmaktadır (Wladimiroff ve Cohen-Overbeek, 2010). Ventrikülomegalili olguların %75-80'inde NTD (spina bifida), DWM, KKA, lizensefali ve aquaduktal stenoz gibi MSS anomalilerinin birlikteliği görülür (Nicolaidis ve ark., 1990).

Ventrikülomegali genellikle çift taraflı olmakla birlikte tek taraflı da görülebilmektedir (Kurjak ve ark., 2009).

2.2.2.4. Korpus Kallozum Agenezisi (KKA)

Beynin iki hemisferini bağlayan yapı olan korpus kallosumum 18. gebelik haftasına kadar gelişimini tamamlayamaması sonucunda oluşur (Şekil 2-14).



Şekil 2-14: Korpus kallozumun normal ve anormal görüntüsü, <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/8753.htm>'den

KKA morfolojik olarak iki farklı şekilde görülür. Tip 1 agenezilerde probst demeti mevcuttur ve bu grupta genelde nörolojik anomali görülmez. Tip 2 de ise bu demet bulunmaz ve sıklıkla diğer serebral anomaliler ile birlikte görülür (Schell-Apacik ve ark., 2008)

KKA insidansı 0.5-70/10.000'dir ve insanlarda en sık görülen beyin malformasyonlarından birisidir (Myriantthopolous, 1977; Jeret ve ark.,1986, Schell-Apacik ve ark., 2008). Olguların yaklaşık % 50'sinde anomaliye ensefalosel, HPE, lizensefali ve DWM diğer MSS anomalileri eşlik eder (Moutard, 2003).

Etiyolojisinden kromozom anomalileri, doğuştan metabolizma hastalıkları, viral enfeksiyonlar (rubella, CMV), fetal alkol sorumlu tutulmuştur (Chaide ve ark., 2008).

Fetal ultrasonda saptanan ve herhangi bir anomalinin eşlik etmediği izole KKA olgularının %80-85'inde nöromotor gelişimin normal veya normale yakın olduğu bildirilmiştir (Gupta ve Lilford, 1995).

2.2.2.5. Dandy-Walker Malformasyonu (DWM)

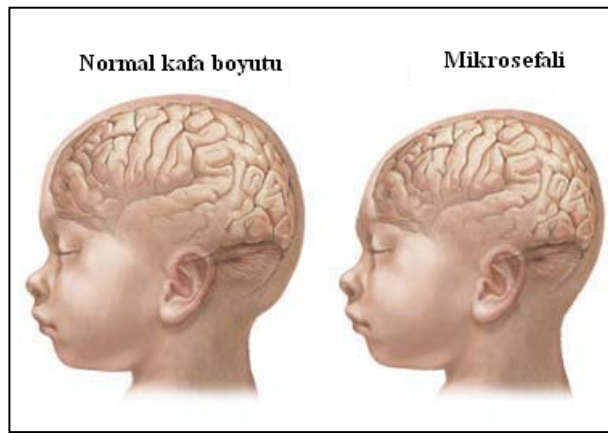
Embriyolojik dönemin 9. haftasında, rombensefalonda anterior-superior olarak başlayan serebellum ve vermis gelişiminin gebeliğin 16-17. haftasına kadar tamamlanamaması ile 4. ventrikülün aşırı genişlemesi sonucunda kafatasının arka kısmında meydana gelen kistik yapı ile karakterize olan non-spesifik konjenital beyin malformasyonudur ve sınıflandırmada posterior fossa anomalileri arasında yer almaktadır. DWM'nin canlı doğumdaki görülme sıklığı 25.000 ile 30.000'de 1dir. DMW'ye başta

KKA ve HPE gibi orta hat anomalileri olmak üzere, diğer MSS ait gelişimsel bozukluklar sıklıkla eşlik eder (Pilu ve ark., 2012).

2.2.2.6. Mikrosefali

Mikrosefali, gelişimin nörogenezis aşamasında nöral, glial ve mezenkimal proliferasyon, diferensiyasyon ve histogenez bozuklukları sonucu oluşur.

Mikrosefalide nöron sayısında azalma nedeniyle beyin küçük, alın geriye eğimli fakat yüz normal boyuttadır (Şekil 2-15). Mikrosefalili olgularda beyin az geliştiği için ileri derecede mental retardasyon görülür.



Şekil 2-15: Normal ve mikrosefalili baş görünümü, <http://www.bizarremedical.com/microcephaly-a-disorder-of-the-nervous-system/>'den

Mikrosefali etiolojisinde genetik faktörlerin yanısıra fetal dönemde aşırı dozda iyonize radyasyona maruz kalma (>1 mSv) (Valentine, 2000), CMV, rubella ve toxoplasma gibi enfeksiyöz ajanlar, ayrıca fenilketonüri gibi metabolik hastalıklar ve annenin alkol, ilaç kullanımı sonucu toksik nedenler de yer almaktadır (Peiffer ve ark., 1999; (Moore ve Persaud, 2007).

2.2.2.7. Koroid Pleksus Kisti (KPK)

Beyin lateral ventriküllerdeki koroid pleksusların arka kısmında tek ya da çift taraflı görülen kistlerdir (Pilu ve ark., 2012). KPK, normal gebeliklerin yaklaşık %1'inde görülür (Gupta ve ark., 1995).

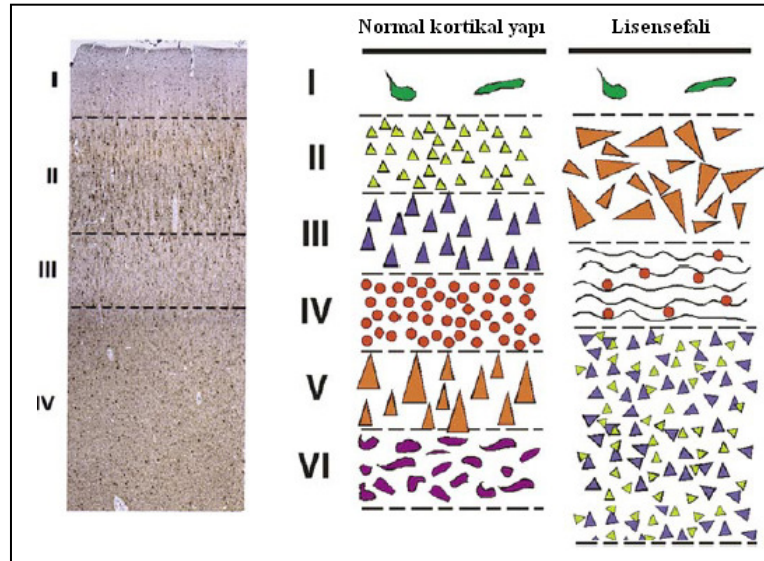
KPK'ya, hidrosefali, ventrikülomegali, konjenital kalp hastalığı, renal malformasyonlar eşlik edebilir

2.2.2.8. Lizenşefali

Kortikal nöron migrasyonunun kesintiye uğraması sonucu oluşan lizenşefali bir nöral migrasyon anomalisidir ve 12 ila 22. GH'larında meydana gelir. İnsidansı 100.000'de 1 olan Lizenşefali belirgin mental retardasyon ve epilektik nöbetlere neden olmaktadır (De Rijk-Van Andel ve ark., 1991).

Lizenşefalide beyin kıvrımlarının (giruslar) sayısında azalma ile birlikte kortikal kalınlık artmıştır. Normalde beyin kıvrımları denen giruslar ortalama 1,5 cm aralıklarla oluşmaktadır. Ancak, lizenşefalili olgularda giruslar ya tamamen yok olur (agiri) veya aralarındaki mesafe artarak kıvrım sayısında azalma görülür (pakigiri).

Korteks kalınlığı normalde yaklaşık olarak 2,5 ila 4 mm arasındadır. Lizenşefali de ise 5 mm'den 20 ila 40 mm arasında değişmektedir. Lizenşefalili olgularda altı tabakalı normal kortikal yapı yerine, multipolar ve farklı şekillerde görülen nöronların oluşturduğu dört tabakalı düzensiz bir yapının aldığı nöropatolojik çalışmalarda gösterilmiştir (Guerrini ve Parrini, 2010) (Şekil2-16). **Tip 2 Lizenşefali** olarak adlandırılan bu anomaliye, DWM, ventriküler dilatasyon, ensefalosel ve hidrosefali eşlik eder.



Şekil 2-16: Normal altı tabakalı kortikal yapı ve klasik lizenşefalide organizasyonu bozulmuş dört tabakalı kortikal yapı, http://webhome.idirect.com/~brainology/brainology/devpath_4_5_lisencephaly.html'den

Lizenşefali, Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizenşefali Sekansı (ILS), Subkortikal Band Heterotopisi (SBH), Serebellar hipoplazi ile birlikte lizenşefali (LCH) ve X'e bağlı kuşku genitalya ile birlikte lizenşefali (XLAG) hastalıkları ile ilişkilidir.

MDS'lu olgularda klasik dismorfik yüz bulguları ve ağır nöromotor gelişme geriliği görülür. ILS, klasik lizensefalinin izole olarak görüldüğü belirgin bir dismorfizmin eşlik etmediği durumdur. Klasik lizensefali; ağıri ve/veya pakigirinin olduğu çok ağır bir konjenital beyin malformasyonudur (Aslanger, 2010). SBH, korteks ile lateral ventrikül yüzeyi arasındaki ak maddenin içinde gri maddenin bilateral ve simetrik bir band oluşturmasıdır. Kortikal nöronların migrasyonundaki bir bozukluktan kaynaklanan “Ağiri-Pakigiri-SBH Spektrumu'nun” en hafif şeklidir (Barkovich ve ark., 1991). Belirgin serebellar hipoplazi serebrum, serebellum ve beyin sapının birlikte etkilendiği ağır bir hastalıktır.

2.2.2.9. Şizensefali

Şizensefali, serebral hemisfer boyunca uzanan bilateral, hemen hemen simetrik yarıklar olarak tanımlanmaktadır. Kortikal gelişim malformasyonları arasında yer almaktadır (Pang ve ark., 2008). Literatürde tip1 şizensefali (kapalı dudak) ve tip2 (yarık dudak) şizensefali olmak üzere iki tip şizensefali tarif edilmiştir. Şizensefaliye hidrosefali, ventrikülomegali, KKA, polimikrogiri, gecikmiş miyelinizasyon gibi MSS anomalileri eşlik edebilir (Mellado ve ark., 2010). Şizensefali ile EMX2 (MIM*600035) genindeki mutasyonlar ilişkilendirilmiştir (Kalia ve ark., 2009).

2.3. MSS KONJENİTAL ANOMALİLERİNİN KROMOZOMAL DÜZENSİZLİKLERLE İLİŞKİSİ

MSS anomalileri pek çok kromozomal düzensizlik ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda, MSS anomalilerinde kromozom anomalisi görülme oranını %5 ile %50 arasında bildirilmektedir. Dolayısıyla MSS anomalilerine neden olan etiyolojik faktörler içerisinde sayısal ve yapısal kromozomal düzensizlikleri önemli bir yer tutmaktadır. MSS anomalilerinde sık görülen sayısal kromozom anomalileri Tablo 2-2’de özetlenmiştir.

Tablo 2-2: USG’de saptanan MSS anomalileriyle ilişkili en sık görülen sayısal kromozom anomalileri, Nicolaidis (2004)’den

MSS ANOMALİSİ	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13	Triploidi
Ventrikülomegali	+	+	+	+
Holoprosensefali		+	+	+
KPK		+		
Hidrosefali		+	+	
DWM		+	+	
Spina bifida		+	+	+
KKA		+	+	

MSS anomalilerinde yapısal bir kromozom anomalisi saptanması, yapısal anomalinin kırık noktasının MSS defektlerine neden olan olası genlerin lokalizasyonlarını belirlemede bir ipucu sağlaması açısından büyük bir avantaj oluşturmaktadır (Tyshchenko ve ark., 2008).

2.3.1. NTD'nin Kromozomal Düzensizlikler ve Genlerle Olan İlişkisi

MSS anomalilerinden olan NTD'li fetuslarda kromozom anomalisi saptama olasılığı, maternal yaş, saptandığı gebelik haftası ve ailevi translokasyon taşıyıcılığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Otozomal anöploidilerle ilişkisi olduğu gibi parsiyel trizomi ve monozomiler de görülebilir. Chen'in 2007'de yayınladığı bir derleme çalışmasında NTD ile ilişkili en sık görülen yapısal kromozom anomalilerinin kromozom numarasına göre; del(1p), del(1q), dup(1q), dup(2p), del(2q), del(3p), dup(3p), del(3q), dup(3q), del(4p), dup(4p), del(4q), dup(4q), del(5p), del(6p), dup(6q), del(6q), dup(7p), del(7q), dup(8q), del(9p), del(10q), del(11q), dup(11q), dup(12p), del(13q), r(13), dup(14q), del(14q), del(15q), dup(16q), del(18q), r(18), dup(20p), +i(20p), del(22q), del(Xp) ve dup(Xq) olduğu bildirilmektedir (Chen, 2007).

Aynı çalışma, NTD defeklerinden spina bifida, ensefalosel, anensefali ve eksensefalide en sık görülen yapısal kromozom anomalilerinin del(13q) ve r(13) olduğunu ortaya çıkarmıştır (Chen, 2007).

Spina bifida ve ensefalosel 2. kromozomun q kolu delesyonu ve p kolu duplikasyonu ile de ilişkilendirilmiş ve 2p duplikasyonlu anensefali vakaları da bildirilmiştir (Chen, 2007).

1. kromozomda meydana gelen parsiyel delesyon ve duplikasyonlar spina bifida ve ensefalosel ile ilişkili olabilmektedir. 1q21.3'de *CRAB2*, 1p36.1'de *PRKACB*, 1p36.2–p36.12'de *PAX7*, 1p36.3'de *MTHFR* ve 1q43'de *MTR* veya *MS* genleri NTD ile ilişkili aday genler olarak bildirilmiştir .

3. kromozomda meydana gelen parsiyel delesyon ve duplikasyonlar da NTD'ne yol açmaktadırlar. 3q21-qter' kadar NTD ile ilişkili *ZIC1*, *TERC* ve *DVL3* genleri bulunurken; 3p25-p26'da *CNTN4*, *CNTN6*; 3p26.1'de *CHLI* hücre adezyon molekülleri yer alır ve ilişkili aday genler olarak kabul edilmektedir.

Yukarda anlatılanların dışında NTD ile ilişkisi olan kromozom bölgeleri ise;

- ❖ 5. kromozomun p15.1 bölgesinde yer alan *CDH18* (cadherin-18) geni ile p15.3'de bulunan *IRX1* geni nöral morfogenezde önemli rol oynamaktadırlar.
- ❖ 6p23-p24'de bulunan *JUMONJI* geni nöral tüpün kapanması için gereklidir. 6. kromozomda bulunan NTD için diğer aday gen bölgeleri 6q23.3'de *Cited 2*, 6q22.2'de *MACS* ve 6q27'de T box genleridir.
- ❖ 7p15.3de bulunan NTD ile ilişkili bir başka olası aday gen *HOXA1* genidir.
- ❖ 11. kromozomun q23.1 segmentinde *NAPIL2*, q13.3de *FOLR1*, q13.5de *FOLR2*, q13de *MKS2* ve q25de *Barx2* genleri NTD için aday gen bölgeleridir.
- ❖ 20p11.2de NTD ile ilişkili olan *PAX1* geni bulunmaktadır.

2.3.2. Konjenital Beyin Anomalilerinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

2.3.2.1. HPE'nin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

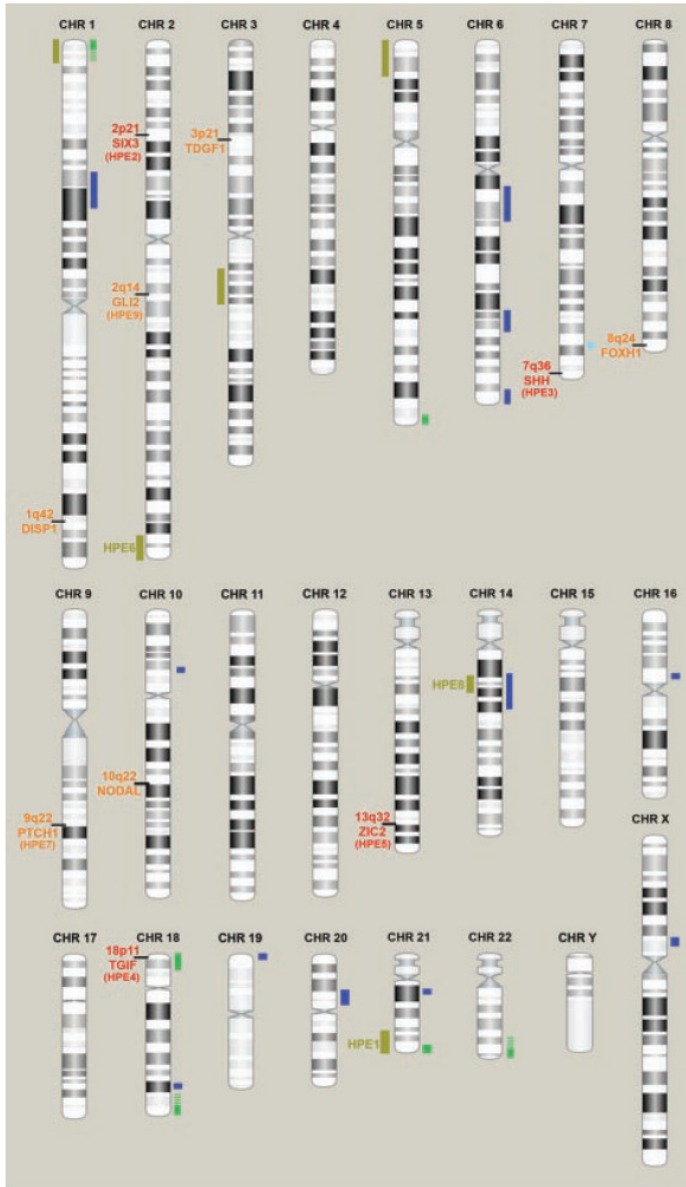
Kromozomal düzensizlikler;

HPE çeşitli sayısal ve yapısal kromozom anomalileriyle ilişkilendirilmektedir. Sayısal kromozom anomalilerinden anöploidi izole HPE olgularının %4'ünde saptanırken, eşlik eden anomali varlığında bu oran %39'a çıkmaktadır (Gilbert-Berness ve Debich 2004). Trizomi 13 en sık görülen kromozom anomalisi olup, gebeliğin 1.trimesterinde %26.5'inde (Papageorghiou ve ark., 2006), 2.trimesterinde ise %31.24'ünde görülmektedir (Picklesimer ve ark., 2005; Papp ve ark., 2006). HPE ile ilişkili yapısal kromozom anomalileri arasında 2p, 7q, 13q, 18p, 21q ve 14q13, 15q14, 15q22 intersiyal delesyonları ile 3p duplikasyonu sayılabilir (Chen, 2009; Chen ve ark., 2011).

Genlerle olan ilişkisi;

HPE, bugüne kadar bilinen insan mutasyonlarından en az 12 farklı gendeki mutasyonlar ile de ilişkilendirilmiştir. En sık görülen ve üzerinde en fazla çalışılanlar olguların %25'inde saptanan *SHH* (7q36.3), *ZIC2*(13q32), *SIX3*(2p21) ve *TGIF*(18p11.3) genlerindeki mutasyonlardır (Pineda-Alvarez ve ark., 2012). Bu dört genle ilgili 645 olguluk büyük bir seri çalışmasında, olguların %10,4'ünde *SHH* geninde, %8.2'sinde *ZIC2* geninde, %5.1'inde *SIX3* geninde ve %1.7'sinde *TGIF* geninde mutasyon saptanmıştır. Yapılan çalışmalar HPE tiplerinden alobar HPEde *SIX3*, semilobar HPEde *ZIC2* mutasyonu olduğunu gösterirken, lobar HPE hiçbir gen ile ilişkilendirilememiştir. Diğer

genler HPE'nin oluşumundan daha az sorumlu tutulmaktadır. Son zamanlarda HPE oluşumu ve ağırlığı ile ilgili "Multiple Hit Hipotezi" kabul edilmektedir. Bu hipoteze göre, HPE genlerindeki majör/minör mutasyonların kombinasyonları hastalığın değişken spektrumunu belirlemektedir (Mercier ve ark., 2011). Şekil 2-17'de HPE ile ilişkili tanımlanmış ve aday genlerin kromozomal lokalizasyonları gösterilmektedir.



Şekil 2-17: HPE ile ilişkili tanımlanmış ve aday genlerin kromozomal lokalizasyonları, Bendavid ve ark., (2010)'dan

HPE görülen tek gen sendromları görülme sıklıkları, kalıtım şekilleri ve klinik bulguları Tablo 2-3 de özetlenmektedir.

Tablo 2-3: HPE görülen Tek gen sendromları Gilbert-Berness ve Debich (2004)'den

Sendrom	Kalıtım şekli	Holoprozensefali sıklığı	Diğer özellikler
OR HPE	OR	Sık	Değişen şiddette yüz dismorfizmi
OD HPE	OD	Değişik varyasyonlarda görülür	Yüz anomalileri, inkomplet penetrans nedeniyle aile içi çeşitlilik
Meckel Sendromu	OR	Nadir	Orta/yan yarık dudak, oksipital ensefalosel birlikteliği, kistik displastik böbrek, hepatik duktal plate anomalisi, polidaktili. Konjenital kalp defekti sıklığı. Genital anomaliler.
Martin sendromu	OD	değişken	Orta yarık dudak, mikrocefali, mental gerilik, oküler hipotelorizm, büyük kulaklar, yumru ayak, spinal anomaliler
Velokardiofasial	OD	Nadir	Orta yarık dudak, uzun yüz, küçük kulaklar, kardiyak anomaliler
Grote sendromu	OR	Sık	Hidrocefali, oktodaktili, kaval kemiği yokluğu, kardiyak malformasyonlar
Steinfeld sendromu	OD?	Sık	Orta yarık dudak, kısa kollar, kardiyak defektler, renal anomaliler, safra kesesi yokluğu
HPE-fetal akinezi sendromu	X'e bağlı	Sık	Mikrocefali, eğimli alın, basık burun, mikrognatı, yumru ayak

2.3.2.2. Hidrosefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

Hidrocefalili olguların %25'inden bir kromozom anomalisi sorumludur. En sık görülen kromozom anomalileri trizomi 13, trizomi 18, trizomi 9 ve 9p trizomisi ile triploidilerdir (Stevenson ve ark., 1993).

Genlerle olan ilişkisi;

Konjenital hidrocefalide en sık görülen genetik form X'e bağlı ve OR geçiş gösteren hidrocefalidir (Schrander-Stumpel ve Fryns, 1998).

2.3.2.3. Ventrikülomegalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

Ventrikülomegali olgularının yaklaşık %15'inde sıklıkla trizomi 13, 18 ve 21 anöploidilerinin yanısıra triploidi saptanan olgular da literatürde bildirilmektedir (Pilu ve

ark., 2012). Ayrıca yapılan bir çalışmada 16. kromozomun p kolunun parsiyel trizomisi ile 22. kromozomun parsiyel monozomisinin ventrikülomegali ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Chen ve ark., 2010).

Genlerle olan ilişkisi;

Literatürde, ventrikülomegali ile ilişkisi olan herhangi bir gene rastlanmamıştır.

2.3.2.4. KKA'nın Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

KKA etyolojisinin %20'sinden kromozom anomalileri sorumludur (Pooh ve Pooh, 2003). Sırasıyla trizomi 8, 18 ve 13 en sık görülen sayısal kromozom anomalileridir. Yapısal kromozom anomalileri arasında 2q, 4p16, 6q25, 15q15 delesyonları ile 5p15, 3q13,1, 8p23-p21, 11q23qter duplikasyonları bildirilmektedir (Schinzel, 2001; Bedeschi ve ark., 2006; Tyshchenko ve ark., 2008).

Genlerle olan ilişkisi;

KKA ile birlikte görülen diğer bir kromozom anomalisi olan 1q43-44 delesyonudur. Bu delesyon bölgesinde yer alan *CEP170*, *ZNF238* genlerinin KKA ile olan ilişkisi bugüne kadar 35 olguda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Nagamani ve ark., 2012). KKA'un eşlik ettiği, Miller-Dieker sendromu (MIM#247200) (*LIS1* geni), akrokallosal sendromu (MIM#200990) (*GLI3* geni), Joubert sendromu (MIM#608629) (*AHII* geni) başta olmak üzere 20'den fazla otozomal malformasyonlar bildirilmektedir (Schell-Apacik CC ve ark., 2008).

2.3.2.5. DWM'nun Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

DWM'li olgularının yaklaşık %17,6'sında kromozom anomalisine rastlanmaktadır (Has ve ark., 2004). Sayısal kromozom anomalilerinden trizomi 18, 13 ve şimdiye kadar en az 20 olguda trizomi 9, mozaik trizomi 8 ve triploidi bildirilmiştir (Nizard ve ark., 2005).

Yapısal kromozom anomalilerinden intersisyel 3q24, 5p, 13q, subtelomerik 6p delesyonu; parsiyel monozomi 6q26, 11q, 12q; parsiyel trizomi 3p-q, 7q, 8q; distal trisomy 15q ve tetrazomi 9p görülmektedir (Grinberg ve ark., 2004, Hengstschläger ve ark., 2004; Imataka ve ark., 2007).

Genlerle olan ilişkisi;

2012 yılında yapılan bir çalışmada serebellar hastalıklarla ilişkili olan genlerden *NDUFA4* ve *PHF14* içeren 7p21.3 bölgesinin DWM ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Liao ve ark. 2012).

2.3.2.6. Mikrosefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

Mikrosefalinin etiyolojisinde çeşitli kromozom anomalileri rol oynamaktadır. Trizomi 21, trizomi 13, trizomi 18, 4p delesyonu (Wolf-hirschhorn sendromu), 7q11.23 delesyonu (Williams sendromu) ve 17p13.3 (MDS) en sık görülen kromozom anomalileridir (Abuelo, 2007).

Genlerle olan ilişkisi;

Mikrosefalinin etiyolojisinde kromozom anomalileri dışında otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı kalıtım modelleri de görülmektedir (Abuelo, 2007). Şimdiye kadar mikrosefali ile ilişkili otozomal resesif kalıtılan 5 aday gen tanımlanmıştır. Bunların arasında 8p22-pter'de yer alan *microcephalin* geni fetal beyin gelişiminin nörojenesis basamağında rol almaktadır. 1q31 de bulunan *ASPM* geni, 1p32'de *STIL* geni, 9q33.3'de *CDK5RAP2* geni ve 13q12.2'de *CENPJ* geni tanımlanan diğer genlerdir. İlişkisi henüz kesinleşmemiş diğer 2 aday gen ise 19q13.1-19q13.2'deki *MCPH2* ve 15q15-q21'deki *MCPH4*' dir (Verloes, 2004; Mahmood ve ark., 2011).

2.3.2.7. KPK'nın Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Kromozomal düzensizlikler;

KPK da sıklıkla trizomi 18 başta olmak üzere otozomal anöplidiler görülebilir (Nyberg ve ark., 2003). Yoder ve arkadaşları tarafından 1999 yılında yapılan bir çalışmada 1346 izole KPK'lı fetusun 7 sinde trizomi 18, 5'inde ise trizomi 21 saptanmıştır. Eger KPK'ya diğer anomaliler eşlik ederse kromozom anomalisi görülme olasılığı 20 kat artmaktadır (Tablo 2-4) (Jeanty ve ark., 2012).

Tablo 2-4: KPK'da kromozom anomalisi görülme riski, Nyberg ve ark., (2003)'dan

GH	RİSK	
	İzole KPK	Diğer anomaliler
20-24	1:2,950	1:275
25-29	1:2,300	1:175
30-34	1:1,300	1:100
35-39	1:470	1:35
40-44	1:100	1:10

2002 yılında Bird ve arkadaşları, KPK'ya eşlik eden diğer anomalili 54 olgudan 9'unda (%17) trizomi 18 saptamışlardır (Bird ve ark., 2002).

Genlerle olan ilişkisi;

Literatürde, KPK ile ilişkisi olan herhangi bir gene rastlanmamıştır.

2.3.2.8. Lizensefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Lizensefali ile ilişkili olan kromozomal bölgeler ve bu bölgelerde veralan genler birlikte anlatılmıştır;

MSS anomalilerinden Lizensefaliye neden olan 5 farklı gen bilinmektedir. Bunlar; *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *ARX* ve *TUBA1A*'dır. Lizensefalili olguların %60'ında, *LIS1* genini de içeren 17p13.3'de delesyonlar saptanmaktadır (Kim ve ark., 2011; Güngör ve ark., 2007). *LIS1* klonlanan ilk insan nöronal migrasyon genidir ve MDS ile ilişkilidir (Cardosa ve ark., 2003). Xq22.3-q23 üzerinde lokalize *DCX* geni, X'e bağlı lizensefali ve SBH'ye neden olan ilk gen olarak tanımlanmaktadır. *DCX* geninden sonra Xp22.13 üzerinde lokalize olan *ARX* geni de lizensefali ile ilişkilendirilmiştir (Friocourt ve Parnavelas, 2011). Lizensefali ile ilişkili diğer genlerden *TUBA1A* geni 12. kromozomun q kolunun 13.1 bölgesinde, *RELN* geni ise 7. kromozomun q kolunun 22 bölgesine lokalizedir (Keays ve ark., 2007; Hong ve ark., 2000).

2.3.2.9. Şizensefalinin Kromozomal Düzensizliklerle ve Genlerle Olan İlişkisi

Şizensefali ile ilişkili olan kromozomal bölgeler ve bu bölgelerde veralan genler birlikte anlatılmıştır;

Şizensefaliye neden olan 3 farklı gen bilinmektedir. Bu genlerden 10q26.11'de lokalize *EMX2* geni , 2p21'de lokalize *SIX3* geni ve 7q36.3'de lokalize olan *SHH* genleridir. (Hehr ve ark., 2010; Schell-Apacik et al. 2009).

2.4. FETAL DOKU ELDESİ

Prenatal tanı amaçlı invaziv girişim kararı için gebelikte kromozom anomalileri açısından artmış bir risk olup olmadığının belirlenmesi gerekmektedir. Bu risk eğer invaziv girişime bağlı olarak 1:200' lük gebelik kaybı riskinden daha büyük ise invaziv girişim önerilir. Fetal dokuda sitogenetik ve moleküler genetik çalışmaların yapılabilmesi için, koryon villus örnekleme(KVÖ), amniosentez(AS) ve fetal kan örnekleme(FKÖ) olan üç temel yöntem kullanılarak fetusa ait dokular elde edilir.

KVÖ, erken gebelik haftalarında uygulanması (10.GH'dan terme kadar) ve elde edilen hücrelerin spontan bölünme yeteneğine sahip olması nedeniyle (direkt preparasyon tekniği uygulanarak ilk 24 saat içerisinde kromozom elde edilebilir) erken tanı için avantaj sağlamış olur. Örneğin, gebeliğin 1. döneminde fetal ultrasonda holoprozensefali, omfalosel, kistik higroma, diafragmatik herni veya diğer genetik sendromlar ve anöplidiler için belirleyici olan anomaliler tespit edildiğinde, KVÖ fetal karyotiplleme ve moleküler çalışmalar için uygun bir dokudur.

KVÖ ile kromozom anomalisi saptama oranı yaklaşık %13,4'tür ve bu oran diğer invazif girişimlere kıyasla daha yüksektir. Bu oranın yüksek olmasının sebebi; gebeliğin 2. dönemine ulaşamayacak kadar letal kromozom anomalilerinin ve yüksek oranda (yaklaşık%1,5) mozaisizmin saptanmasıdır.

AS, gebeliğin 14.-22. haftalarında, fetusun içinde bulunduğu amnion sıvısından bir miktar sıvı alınmasıdır. Bu yöntem ile fetusun deri ve boşaltım organlarından amniotik sıvıya dökülen hücreler elde edilerek hücre kültüründe üretilirler (Aydınlı, 1992). AS ile tüm kromozom anomalilerinin yaklaşık %6,97'si saptanabilir (Bray ve ark 1998, Milunsky ve Milunsky 2010 p 197).

FKÖ, gebeliğin 20. haftasından terme kadar fetusa ait göbek kordonundan kan alınması işlemidir. Fetal kromozom anomalilerinin tanısı 3 gün içerisinde yapılabildiğinden diğer invazif yöntemlere göre avantaj sağlar. Bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları Tablo 2-5 karşılaştırılmıştır.

Tablo 2-5: Fetal girişim yöntemlerinin karşılaştırılması

	Korionik Villus	Amniotik Sıvı	Fetal kan
Girişime bağli düşük riski	%0.5-2	%0.5	%1-2
Girişim haftası	>10 GH	>14+ GH	>19 GH
Tam süresi	1 gün -2 hafta	9 gün – 2 hafta	3 – 5 gün
Kültürde üreme kaybı	Var	Var	Var
Kromozom kalitesi	Orta-Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
Sitogenetik zorluk derecesi ve deneyim deneyim gerekliliği	En zor	Zor	Kolay
Maternal hücre kontaminasyonu	Direkt çalışmada yok / Hücre kültüründe var	Çok az	Var
Yalancı negatif	Var	Yok	Yok
Yalancı pozitif	Var	Kültür efekti	Yok
Maliyet	Yüksek	Orta	Düşük
Yedek materyal	Mümkün	Mümkün	Yok

2.5. KROMOZOM ANOMALİLERİNİN TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

2.5.1. Sitogenetik Yöntemler

Kromozom analizi amacıyla metafaz eldesi için, periferik kan lenfositleri, kordon kanı, aminositler, plasental hücreler, deri fibroblastları, gonad dokusu, abort materyali ve tümör hücreleri kullanılmaktadır.

Kromozomların elde edilebilmesi için hücrenin mitoz bölünme geçirmesi ve bölünmenin metafaz evresinde inhibe edici bir ajanla (kolşisin) durdurulması gerekir. Hücre süspansiyonu, hipotonik bir solüsyonla muamele edilerek hücrelerin şişmesi ve kromozomların birbirlerinden ayrılması sağlanır. Ardından hücreler fikse edilerek temiz lamalar üzerine yayıldıktan sonra rutinde kullanılan G-bantlama uygulanarak kromozomların analiz için ışık mikroskobu altında görüntülenebilir hale gelmesi sağlanır. Mitoz bölünmenin metafaz evresinde 400-500 bant seviyesindeki kromozomal değişimler saptanabilirken HRBT ile >550bant seviyesine sahip prometafaz kromozomları analiz edilerek >3-5mb büyüklüğündeki yapısal anomaliler ve bilinen mikrodelesyon sendromları saptanabilmektedir. Özellikle sitogenetik laboratuvarlarında HRBT'nin rutin kullanılması ile birlikte mikrodelesyonlar ile bazı genetik sendromların ilişkisi ortaya çıkarılmıştır. G-bantlama dışında kromozomların belirli bölgelerine has seçici bantlama teknikleri kullanılarak kromozom anomalilerinin aydınlatılması sağlanır. Bunlardan C-

bantlama ile tüm kromozomların sentromerleri, 1. 3. 9. 16. ve Y kromozomlarının heterokromatin bölgeleri, NOR bantlama ile akrosentrik kromozomların satellit bölgeleri koyu boyanır. Q-bantlama ile 1, 9, 16. kromozomların perisentromerik bölgeleri ile Yqh bölgesi, tüm sentromerler, akrosentrik kromozomların satellit bölgeleri parlak boyanır. Bu üç teknik polimorfizm çalışmalarında kullanılmaktadır.

Konvansiyonel sitogenetik, tüm genom üzerinde, mikroskobik düzeyde saptanabilecek tüm anomaliler hakkında bilgi verdiği için halen prenatal ve postnatal tanıda “altın standart” olarak kabul edilir.

Klasik sitogenetik yöntemlerle HRBT dahil ancak 550-700 bant seviyesindeki kromozomlar analiz edilebilir. Daha küçük düzeydeki kromozomal değişimlerin tanısında ileri moleküler tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır (Chen ve ark., 2010). Bu tekniklerin direkt uygulanabilmesi için ya klinik bulguların yönlendirici olması ya da kromozom analizinde mikroskobik bir değişimden kuşulanılması gerekmektedir.

2.5.2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler

Standart sitogenetik teknikler, 3-5 mb'dan daha küçük olan kromozom anomalileri ile subtelomerik yeniden düzenlenmelerin tanısında yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden sitogenetik ve moleküler yöntemlerin birarada kullanılmasını sağlayan yeni teknikler geliştirilmiştir.

2.5.2.1. FISH

FISH, kromozomların belli bölgelerine özgün DNA/RNA dizilerinin enzimatik yolla floresan ışık veren ve prob adı verilen maddelerle işaretlenmesi, hedef DNA/bölge ile hibrid oluşturması ve bu hibrid sinyallerin uygun filtreler aracılığıyla mikroskopta analiz edilmesi aşamalarını içeren bir yöntemdir.

Problar, kromozom üzerindeki hedef bölgelerine göre lokusa özgü problar, tekrarlayan dizi probları ve kromozomun tümünü veya belirli bir kolunu işaretleyen problar olmak üzere üç sınıfa ayrılırlar.

Lokusa özgü problar; 15-500 Kb büyüklüğünde olup bir gene veya genin içindeki bir bölgeye ait özgün DNA dizileridir. İnterfaz nukleusunda ve metafaz kromozomları üzerinde, bilinen mikrolezyon/duplikasyon sendromlarının tanısında ve kırık noktalarının belirlenmesinde kullanılır (van Zelder-Bhola ve ark., 1997).

Tekrarlayan dizi problemleri;

- **Alfa satelit problemleri;** kromozomların sentromerlerine özgün tekrarlayan monomer dizileridir. Bunlar 1-170kb büyüklüğündedirler.
- **Beta satelit problemleri;** perisentrik heterokromatin bölgelere, akrosentrik kromozomlara ve 9. kromozoma lokalize olup kişiden kişiye farklılık gösterir.
- **Klasik satelit problemleri;** AATGG tekrar dizileri ile bağlantı olarak 1, 9, 15 ve 16. kromozomların perisentrik heterokromatin bölgelerine ve Y kromozomunun uzun koluna özgün DNA dizileridir.
- **Telomerik problemler;** 2-15kb büyüklüğündeki 5'-TTAGGG-3' tekrarlarından oluşan problemlerdir. Bunlara Pan telomerik FISH problemleri de denir.

Kromozomun tümünü veya bir kolunu işaretleyen problemler;

Bir kromozomun p terminalinden q terminaline kadar tümünü boyayan **whole chromosome painting (WCP)** ya da kromozomların her bir kolunu ayrı renklerde boyayabilen **arm spesifik** problemlerdir.

Ayrıca kromozomların telomerik uçlarına yakın olan özgün gen bölgelerindeki lokusları hedef alan ve her bir kromozoma özgün dizi içeren **subtelomerik** problemler bulunmaktadır.

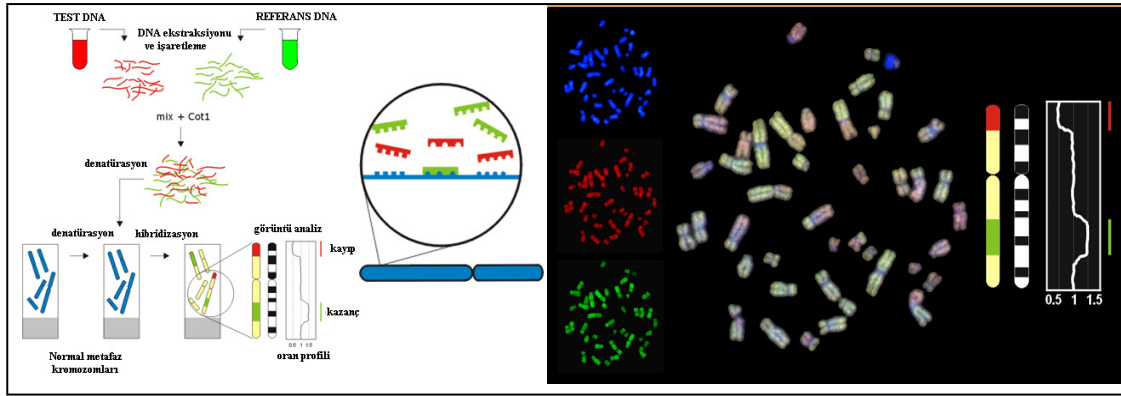
Sık görülen anomalilere özgün problemler ticari olarak üretilip kullanıma sunulmaktadır. Ancak, nadir görülen özgün anomalilerin aydınlatılmasında kullanılmak üzere genomda istenen bölgeler için prob tasarımı yapılarak, çeşitli işaretleme (örn: Nick translyasyon) ve klonlama metodları ile üretilebilir.

FISH'in metafaz kromozomlarının yanı sıra interfaz hücrelerinin de uygulanması büyük bir avantaj sağlar. Örneğin sık görülen 13, 21, 18, X ve Y kromozomu anöploidilerinin tanısı için yüksek risk taşıyan gebelere interfaz FISH ile için yaklaşık 6 saat içerisinde hızlı sonuç verilebilmektedir (Yılmaz ve ark., 2007). FISH yönteminin avantajları yanında klinik ya da sitogenetik yönlendirme gerekliliği ve ancak bilinen bölgelere özgün çalışılabilmesi tekniğin dezavantajlarındandır.

2.5.2.2. CGH

CGH, değerlendirme yapılacak olan DNA ile Referans DNA'sının farklı floresan boya ile (kırmızı ve yeşil) işaretlenerek normal metafaz kromozomları üzerinde

hibridizasyonu sonucunda oluşan hibrid sinyallerin floresan mikroskopta değerlendirilmesi esasına dayanır (Kallioniemi ve ark., 1992). Analiz için ilk olarak metafaz plakları görüntü analiz sistemiyle kaydedilir ve kromozomlar özel CGH yazılımları ile sıraya dizilir. Her bir kromozomda aynı renkte olması gereken florokromlardan birisi lehine olan sapmalar bu yazılım tarafından değerlendirilerek o kromozom üzerindeki bölgeye ait test DNA'sındaki artışı veya kaybı göstermektedir (şekil: 2-18) CGH, tüm genom DNA'sında meydana gelen delesyon ve duplikasyonların taranmasında kullanılan ilk etkili tekniktir (Pinkel ve Albertson, 2005).

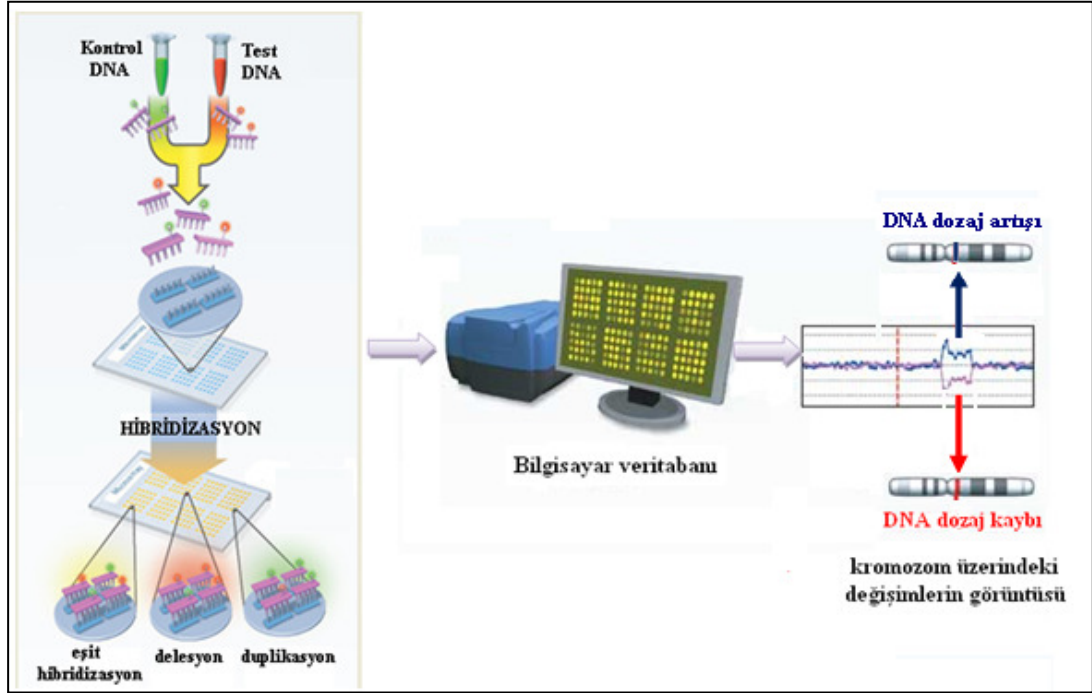


Şekil 2-18: CGH yönteminin akış şeması

2.5.2.3. A-CGH

A-CGH'in temeli, ilk kez 1997 yılında Solinas-Toldo ve ark. ları tarafından, hedef diziyi cam matrix üzerine immobilize ederek oluşturulmuştur (Solinos-Toldo ve ark., 1997). Ardından 1999 yılında Pollack ve ark. ları tarafından, array seti üzerinde cDNA dizileri immobilize edilerek genom boyu DNA daki kopya sayısı değişimleri incelenmiştir (Pollack ve ark., 1999). Bu tarihten itibaren, klinik tanı için, kromozomal dengesizliklerin belirlenmesinde bir çok laboratuvarında araştırma ve tanı amaçlı A-CGH teknikleri uygulanmaya başlanmıştır (Shaffer ve ark., 2007)

A-CGH'de, izole edilen test DNA Cy3 (pembe renk), referans DNA Cy5 (mavi renk) olmak üzere farklı renklerdeki florokrom boyalarla işaretlenir ve ikisi beraber aynı anda cam matriks üzerindeki problemlerle hibridize edilir (Fiorentino ve ark., 2011). Tarayıcıda hibridize-slayt taratıldıktan sonra çeşitli software'lar kullanılarak kromozomların analizleri yapılır (Şekil 2-19).



Şekil 2-19: A-CGH aşamaları, Theisen (2008)'den

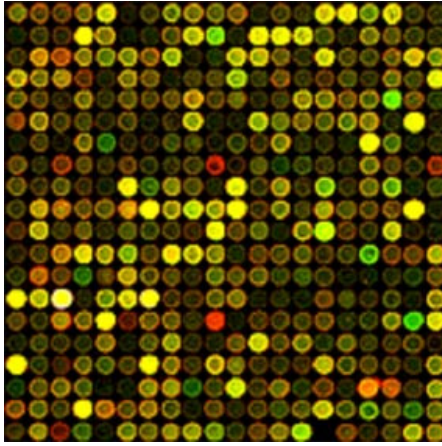
A-CGH'de hibridize-slayt taraması için, ışık mikroskopunun yerini yüksek çözünürlüklü tarayıcılar almıştır. Bu tarayıcıların otomatik filtre seçenekleri, netleştirme ve 2µm çapında duyarlılıkta okuyabilme özellikleri bulunmaktadır.

A-CGH çözünürlüğüne göre adlandırılmaktadır. Örneğin 300 K bir array genoma 300 kilo baz da 1 prob yerleştirilerek oluşturulur. Çözünürlüğün artması beraberinde kullanılan prob sayısını arttırmakta ve prob boyutunu azaltmaktadır. 1Mb'dan küçük değerlerdeki değişimleri saptayabilen arrayler yüksek çözünürlüklü array olarak tanımlanırlar. A-CGH tekniği sayesinde ilgili gen bölgesinin kromozom üzerindeki kesin lokasyonunun da tespiti olanaklı hale gelmiştir.

A-CGH'in, düşük oranlı (<10%) mozaisizmleri gösterememesi, dengeli anomalileri ve poliploidileri tanıyamaması gibi bazı dezavantajlarına karşın birden fazla genomun birbirleri ile karşılaştırabilmelerine olanak sağlaması, metafaz plağına gerek duyulmaması, az miktarda DNA örneğinin çalışma için yeterli olması ve 50-100 Kb boyutundaki kopya sayısı değişikliklerini saptayabilmesi açısından klasik kromozom analiz tekniklerine göre avantaj sağlar (Stankiewicz ve Bautet 2007; Friedman ve ark., 2009; Fiorentino ve ark., 2011).

2.5.2.4. Dizin Teknikleri

Bu teknik de hedef DNA'nın pikomol düzeyinde onbinlerce küçük noktada yerleştirilmiş prob adı verilen özgün DNA dizileri ile hibridize olması, işaretli test örneklerinin (DNA, cDNA) sinyal yoğunluğunun karşılaştırmalı olarak ölçülmesi esasına dayanır. Bu veriler karmaşık istatistiksel hesaplamalar yapan özgün bilgisayar programlarında değerlendirilmekte ve taranan bu noktalardaki kopya sayısı değişimleri tesbit edilerek tanıya gidilmektedir.



Şekil 2-20: Hibridizasyon sonrası prob görüntüsü, <http://bio.cse.ohio-state.edu/MicroarrayDesigner/>' den

Dizin teknikleri, kopya sayısı değişiklikleri, genotipleme (örneğin; virüs), ekspresyon ve metilasyon analizleri, Heterozigosite kaybı tespiti, SNP analizleri, özgün protein veya füzyon genlerinin araştırılması gibi birçok amaçla kullanılabilir (Shaikh, 2007; Li MM ve Andersson, 2009).

Dizin teknikleri içerisinde bulundurduğu DNA molekülünün mikron çapına ve prob sayısına göre Makroarray ve Mikroarray olmak üzere 2'ye ayrılmaktadır. Ancak makroarrayler kromozom anomalilerinin tanısında kullanılmamaktadır.

2.5.2.4.1. Mikroarray

Mikroarray teknolojisinin diğer standart tekniklere göre çözünürlüğü oldukça yüksektir. Bu sayede genomda oluşan dengesiz değişimleri kb düzeyinde saptaması açısından avantaj sağlamaktadır (Srebniak ve ark., 2011).

Mikroarray tüm genomdaki (WGA, Whole Genom Array) genomik kopya sayısı değişimleri (CNV) ve/veya SNP farklılıklarını belirleyerek genomdaki dengesizlikleri saptayabilmektedir. (Miller ve ark., 2010; Dale ve ark., 2012).

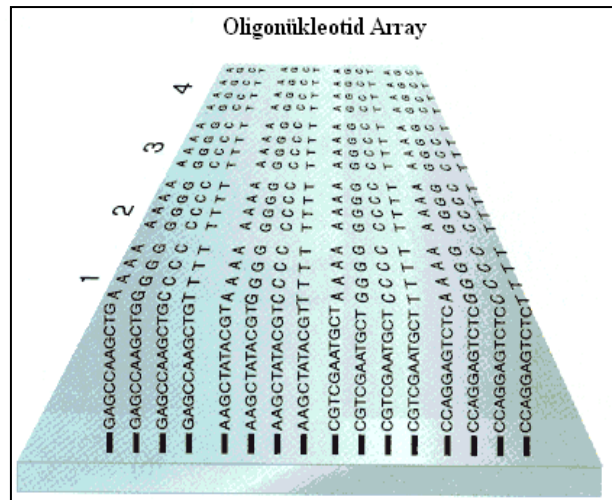
Mikroarray tekniğinde kullanılan problemlerin elde edilmesine göre BAC ve oligonükleotid mikroarray olarak iki tip array setinden söz edilir;

2.5.2.4.1.1. BAC Mikroarray

Anomaliye özel dizayn edilmiş genomik klonların bakteride üretilip (Bacterial Artificial Chromosomes= BAC), prob olarak mikroarray tekniğinde kullanılır. 100-150 Kb büyüklüğünde olan bu problemlerin hibridizasyon başarısı oligonükleotidlere göre daha yüksektir. Özellikle tanımlanmış ve lokalizasyonu bilinen mikro düzeydeki dengesizlikleri araştırmada (targeted array) pratik bir yöntem oluşu avantaj sağlarken, maliyetinin yüksek olması ve klonların zor elde edilmesi, klon boyutunun küçültülememesi gibi nedenlerden dolayı cam yüzeye immobilizasyonundaki zorluk BAC array'in dezavantajlarıdır (Yıstra ve ark., 2006).

2.5.2.4.1.2. Oligonükleotid Mikroarray

Oligo arrayler, 25-80 bp uzunluğundaki oligonükleotidlerin binlerce kopyasının önce sentezlenip sonra cam slayt yüzeyine immobilize edilmesi veya doğrudan slayt üzerinde sentezlenmesi ile elde edilirler. Oligo arraylerde kullanılan prob büyüklüğü azaldıkça nonspesifik ve istenmeyen bağlanmalar artmaktadır (Feuk ve ark., 2006).



Şekil 2-21: Oligonükleotid array slayt görünümü, http://www.mun.ca/biology/scarr/Oligonucleotide_Array.html'den

2.5.2.4.1.2.1. SNP Array

SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi), tek bir nükleotidde meydana gelen baz polimorfizmleridir. İnsan genomunda bugüne kadar yaklaşık 12 milyon SNP bildirilmiştir (LaFramboise, 2009). SNP Array bireylerde ve popülasyonda genetik varyasyonu belirlemek için kullanılan bir mikroarray tipidir. Genetik hastalığa yatkınlığa ve genetik

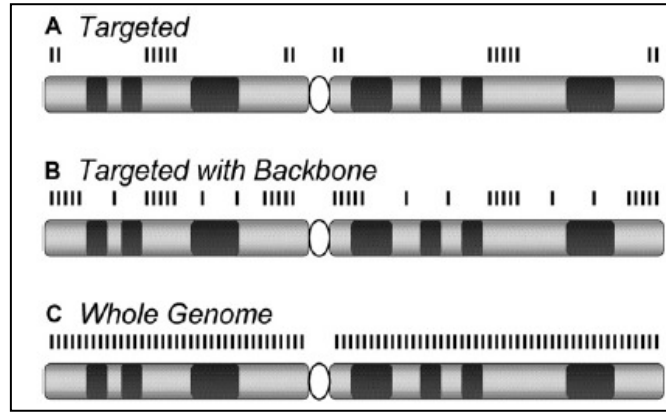
çeşitliliğe neden olduğu düşünülen tek nükleotid polimorfizmlerini saptamak için bu teknolojiye yararlanılır. Ayrıca kansere neden olan heterozigosite kaybının ya da DNA seviyesinde meydana gelen duplikasyon veya delesyonların belirlenmesinde de SNP Array kullanılmaktadır (Ganal ve ark., 2011).

SNP Array 10.000 ile 2.700.000 arasında değişen sayıda SNP'yi aynı anda kısa sürede analiz ederek, diğer mikroarraylere oranla daha yüksek rezülosyona (2Kb) ulaşır (Kennedy ve ark., 2003).

2.5.2.4.1.2.2. CNV Array

CNV'ler referans genom ile kıyaslandığında, farklı sayıda bulunan, 1 kb dan birkaç megabaz boyutunda genomda delesyon, duplikasyon ve insersiyonlar şeklinde yerleşmiş olan DNA segmentleridir. İlk olarak, *Drosophila melanogaster*'in bar geninde yaklaşık 70 yıl önce tanımlanmıştır. CNV, kişiden kişiye veya dokudan dokuya farklılık gösterebilir. Ailevi olarak kalıtılabildiği gibi *de novo* olarak post zigotik dönemde de oluşabilirler. Ailedeki etkilenmemiş bireylerde gösterilen veya gen ürününde herhangi bir değişime yol açmayan CNV ler zararsız, etkilenmiş bireylerde gözlenen, gen ve/veya regülatör bölgelere olan etkisi ile genin ekspresyonunda değişime yol açarak hastalığa neden olan CNV'ler ise patolojik olarak adlandırılır (Itsara ve ark., 2009). Saptanan yeni bir CNV nin zararsız mı ya da patolojik mi olduğunu belirlemek amacıyla uluslararası büyük seri çalışmalarının sonuçları ile CNV dataları oluşturulmaktadır.

Hastalıkların fenotip genotip korelasyonunun açıklanması ile tanıya yönelik kullanılan arraylerde dizayn edilen prob sayısı da paralel olarak artmıştır. BAC klonları ile hazırlanan ve "**targeted array**" olarak adlandırılan ilk arrayler sadece bilinen mikrodelesyon/duplikasyon, perisentromerik, subtelomerik bölgeler ve tüm genomu yaklaşık 1Mb aralıklarla kapsayan problardan oluşmaktaydı. Daha sonra geliştirilen ve "**targeted with Backbone**" adı verilen diğer bir array ise iyi bilinen mikrodelesyon/duplikasyon bölgelerine ilaveten patojenik genomik dengesizliklerin olduğu genomdaki hot spot bölgeler için de problemler içermektedir. Çözünürlüğü en yüksek olan versiyon ise "**Whole genome**" adı verilen ve tüm genom boyunca platforma göre değişmekle birlikte daha sık aralıklarla (100-300 bç) ve eşit olarak yerleştirilmiş prob dizaynı ile hem araştırma hem de klinik tanıya yönelik setler üretilmiştir (Şekil 2-21) (Miller ve ark., 2010).



Şekil 2-22: Prob Dizayını, Miller ve ark., (2010)'dan

2.5.3. Moleküler Yöntemler

Kromozom anomalilerinin tanısında moleküler genetik yöntemlerden de faydalanılmaktadır. Bu yöntemler arasında, anöploidide tanısında prenatal tanıda kullanılan QF-PCR tekniği ya da bilinen submikroskopik delesyon/duplikasyonların tanısında kullanılan MLPA teknikleri sayılabilir.

2.5.3.1. QF-PCR

Kromozoma özgü spesifik kısa tekrar DNA dizilerinin (STR) amplifikasyonuna dayalı bir yöntemdir. Daha çok anöploidilerin (13, 18, 21, X ve Y) hızlı tanısında FISH tekniğine alternatif olarak kullanılmaktadır (Ogilvie ve ark., 2005). Örnek DNA'da seçilen STR dizileri floresan işaretli primerler kullanılarak PCR yöntemiyle çoğaltılır. Floresan sinyali PCR ürün miktarıyla doğru orantılı olarak artar. Floresan işaretli bu ürünler (amplikonlar), kapiller elektroforezde yürütülürler ve sonra bu ürünlerin uzunlukları ve sayılarına göre oluşturdukları pikler bilgisayar ortamında analiz edilir. Yalnızca, sık görülen anöploidiler dışında diğer sayısal anomaliler ile yapısal anomalileri tanıyamaması ve düşük oranlı mozaizimleri gösterememesi gibi dezavantajları bulunmaktadır (Levett ve ark., 2001).

2.5.3.2. Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (Çoğul ligasyon bağımlı arttırım) (MLPA)

MLPA tekniği, DNA dizisindeki tek bir nükleotidlik değişikliği dahi ayırt edebilecek etkinlikte olup, genomik DNA veya RNA dizisindeki 50 den fazla bölge için kopya sayısı değişikliklerinin tespitini sağlayan bir multipleks PCR tekniğidir (Eijk-Van Os ve Schouten, 2011). MLPA, kullanımı kolay ve bir çok laboratuarda uygulanması mümkün olan bir tekniktir ve yöntemin çalışılması için termal döngü cihazı ve kapiller elektroforez

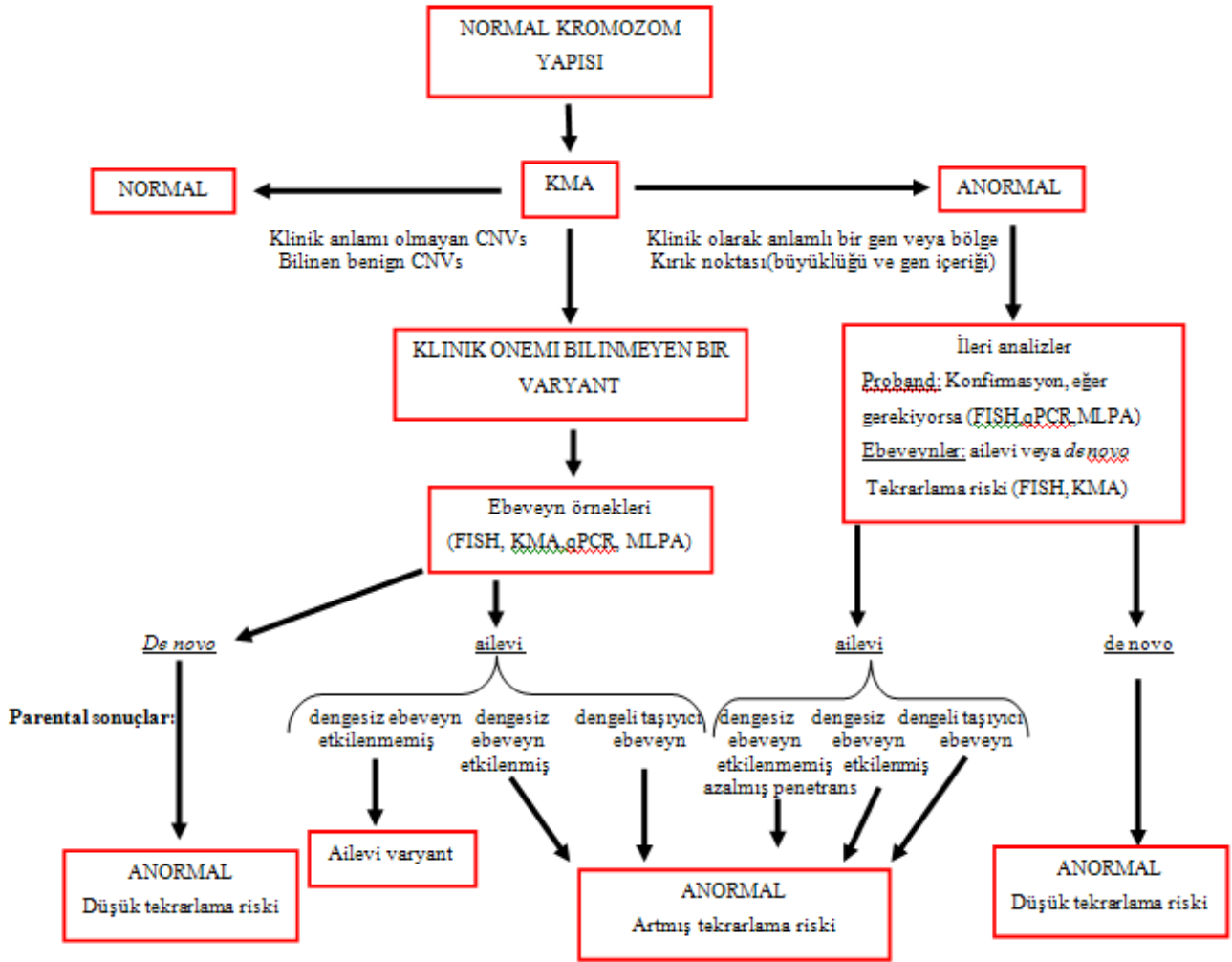
cihazına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu teknik ile aynı çalışmada 96 örnek birlikte çalışılabilen ve 24 saat içinde sonuç alınmasına olanak vermektedir (Toksoy, 2011). MLPA tekniği sayesinde, en sık görülen 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarının anöploidileri ve mikrodelyasyon ve duplikasyonlar belirlenebilir (örn; DiGeorge sendromu, Williams sendromu, CMT1 / HNPP, Pelizaeus-Merzbacher hastalığı, Spinal Muscular Atrophy (SMA), subtelomerik bölgeler v.b.) ve kanser dokusundaki gen kazanç/kayıplarının araştırılmasında (örn; Her2-neu (ERBB2), TP53, MYC v.b), tümör süpresör genlerin promotor bölgesindeki CpG adacıklarının metilasyonunun incelemesinde de MLPA teknolojilerinden yararlanır (Park ve ark., 2011; Kirchhoff ve ark., 2007). MLPA tekniğinin hedefe yönelik olup daha az çözünürlükle tarama yapabilmesi bir dezavantajdır.

2.6. ARRAY SONUÇLARININ YORUMLANMASI

Array sonuçlarının yorumlanması için belli bir algoritma izlenir. Öncelikle elde edilen veriler internet ortamında bulunan ve veritabanı adı verilen bilgi depolarındaki (data bank) verilerle karşılaştırılır. Bu veriler zaman içinde çeşitli merkezlerde yapılan çalışmaların sonuçlarının kaydedilerek birikmesi sonucu oluşur ve saptanan değişimlerin patojenik olup olmadığını tespit etmek için yapılan tüm aile çalışmalarını, fenotip genotip korelasyonu gibi bilgileri de içerir.

Bu amaca yönelik en sık kullanılan veritabanlarına UCSC Genome Browser, ENSEMBL, DECIPHER, ISCA ve OMIM örnek olarak verilebilir.

De novo ve/veya fenotipik etkisi henüz açıklanamamış değişiklikler için ise delesyon/duplikasyon bölgesinin içerdiği genler, bu genlerin kalıtım biçimleri ve fonksiyonlarına yönelik yapılan araştırmaların sonuçları ile fenotip arasında ilişki kurulmaya çalışılır.



Şekil 2-23: A-CGH çalışmalarında akış şeması, Miller ve ark., (2010)'dan

3. GEREÇ-YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Bu çalışma İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı' nda prospektif olarak yürütüldü.

Çalışmada, Şubat 2011 ile Şubat 2012 tarihleri arasında anabilim dalına fetal USG de multipl MSS anomali saptanan, fetal kromozom analizi yapılmak üzere kabul edilen, fetal doku örneklerinden kromozom analizi ve klinik yönlendirme varsa uygun FISH çalışmaları yapılmış, ve herhangi bir anomali saptanmamış 20 olguya ait taze fetal doku veya kültür edilmiş hücrelerinden elde edilen DNA örnekleri kullanıldı.

Fetal kromozom analizleri ve FISH çalışmaları İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Sitogenetik ve Moleküler Sitogenetik laboratuvarında, tıbbi tahliye veya doğum sonrası olgu muayeneleri Anabilim dalı polikliniğinde yapıldı.

Çalışma materyalini oluşturan 20 olgunun invaziv girişimleri İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalı' nda gerçekleştirildi.

Seriye dahil edilen 20 olguya ait fetal materyallerden biri korion villus, dördü amniotik sıvı ve 15 i 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 (*SBH130D 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-3, CGX-6, CGX-12(*Roche*)
- b) NimbleGen Çift renk DNA işaretleme kiti (*Roche*)
- c) NimbleGen Hibridizasyon kiti (*Roche*)
- d) NimbleGen Wash Buffer Kiti (*Roche*)
- e) Vacuum Concentrator (Savant DNA 120 Speed Vac Concentrator) (*Thermo Scientific*)
- f) DNA Isolation Kit for Mammalian Blood (*Roche*)
- g) High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti (*Roche*)
- h) Etanol-(*Merck*)

- i) β -Mercaptoethanol
- j) Proteinaz K-(*Roche*)
- k) 1xPBS tamponu
- l) 2xSSC çözeltisi
- m) 0.4xSSC+0,05 tween 20 çözeltisi
- n) TE tamponu

3.2.2. Kullanılan Teknikler

3.2.2.1. DNA eldesi

Fetal doku örneklerinden 12 sinde DNA izolasyonu Roche firmasının High Pure PCR Template Preparation izolasyon kiti ile yapıldı. Fetal kan örneği az olan 6 olguda daha yüksek verim almak için izolasyon tam otomatik DNA izolasyon cihazında (*Magna Pure Compact -Roche*) yapıldı. İki olguya ait bir ml den az fetal kan örneğinde daha yüksek verim alabilmek amacıyla DNA Isolation Kit for Mammalian Blood (*Roche*) kullanıldı. Tüm izolasyonlar üretici firma protokolüne uygun olarak yapıldı.

3.2.2.2. DNA' nın çöktürülmesi

Elde edilen DNA' ların kirli olması durumunda etanol çöktürmesi ile pürifikasyon yapıldı.

Protokol basamakları şöyleydi;

- Saflaştırılacak DNA örneği mikrosantrifüj tüpüne alındı,
- DNA örneğine son konsantrasyonu 0.3M olacak hacimde 3M sodyum asetat eklendi.
- Üzerine 2,5 hacim %100 etanol eklendi,
- Altüst edilerek karışması sağlandı ve 1saat +4°C' de bekletildi,
- 14.000xg' de 30 dakika santrifüjle çöktürüldü,
- Süpernatant atılarak, çökeltiye %70' lik etanol eklenip, karıştırıldı,
- 14.000 xg' de 15 dakika santrifüjle çöktürüldü,
- Süpernatant atılıp, çökelti oda ısısında kurumaya bırakıldı,

- Kuruma gerçekleştiğinde istenen konsantrasyon miktarında olacak şekilde TE tamponunda çözüldü.

3.2.3. A-CGH Çalışması

Array analizleri, NimbleGen MS 200 (Roche NimbleGen Inc, USA) platformunda, özgün kromozom anomalilerinin tanısı için dizayn edilen “targeted with backbone” olarak adlandırılan; 720.000. prob içeren CGX-3 (n=4), 315.000 prob içeren CGX-6 (n=3) ve 135.000 prob içeren CGX-12 (n=13) array çipleri kullanılarak yapıldı.

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

3.2.3.1. Test ve Referans DNA’sının işaretlenmesi

Test DNA Cyanine3 (Cy3) (pembe), Referans DNA Cyanine5 (Cy5) (mavi) boyasıyla işaretlendi. İşaretlemede ilk aşamada kullanılan kimyasallar ve kullanım miktarları tabloda verildi.

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 ;

- Hazırlanan örnekler PCR cihazında +98°C’de 10dk boyunca denatüre edildi.
- Ardından kuru buz üzerinde 2 dk karanlıkta bekletildi,
- İşaretleme (labelling mix) solüsyonu hazırlandı. Solüsyon içerisinde bir örnek için 10µl dNTP mix, 8µl dH₂O ve 2µl Klenow fragment bulunur,
- 2dk süre sonunda örneklere 20µl işaretleme solüsyonundan eklendi,
- Tüpler hızlıca santrifüjlendi,
- Örnekler PCR cihazında +37°C de 2 saat bekletildi,

- g) Süre sonunda örneklere stop solüsyonundan 21,5µl eklenip vortekslenip santrifüj edilerek reaksiyon durduruldu,
- h) Örnekler (toplam örnek miktarı 121,5µl), içinde 110µl isopropanol içeren 1,5ml'lik tüpe aktarıldı (toplam örnek miktarı 231,5µl) ve tekrar vortekslendi,
- i) Örnekler karanlıkta +15-+25 °C (oda sıcaklığında) arasında 10dk inkübe edildi,
- j) Mikrosantrifüjde 12,000 rcf'de 10dk santrifüj edildi ve mikro pipet ile süpernatant atıldı.
- k) Pelletler 500µl %80'lik -20°C'de bulunan soğuk etanol ile yıkandı. Tüp diplerine vurularak pelletler kaldırıldı,
- l) Mikrosantrifüjde 12.000 rcf'de 2dk santrifüj edildi ve mikro pipetle süpernatant atıldı,
- m) Tüpler DNA Vacuum Concentrator cihazına ağızları açık bir şekilde dengeli olarak yerleştirilip orta ısıda yaklaşık 3dk karanlıkta pelletler kurutuldu,
- n) Pelletler 25µl PCR dH₂O ile sulandırıldı,
- o) Vortekslenip kısa santrifüj edilip tekrar vortekslendi,
- p) Konsantrasyonlara dayanarak, son miktarları eşit olacak şekilde (31 ng/µl) hibridizasyon için gerekli test örneği ve referans örneğinin hacimleri hesaplandı.
- q) Test (örneğin;31/4.7=6,6µl) ve referans (örneğin;31/4.2=7,4µl) örnekleri CGX-3 CGX-6 ve CGX-12 array setinde gerekli olan son konsantrasyonları eşit olacak şekilde hesaplanarak 1,5 ml ependorf tüpünde birleştirildi,

Tablo 3-2: Kullanılan Array setlerine göre örneklerin son konsantrasyon miktarları

CGX-3	CGX-6	CGX-12
31µg	20µg	20µg

- r) Speedvocte high beat (Vacuum Concentrator)'de 5-10dk gerekirse daha fazla sürede kurutuldu. Burada mor bir görüntü elde edilmelisine dikkat edildi.

3.2.3.2. Hibridizasyon Aşaması

3.2.3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

- a) Hibridizasyon cihazı, +42°C ayarlanarak sıcaklığın stabil olması için çalışmaya başlanmadan en az 3 saat öncesinden açıldı,
- b) Kullanılan Array setlerine göre gerekli olan miktarlarda STC örneklere eklenerek süspansiyon haline getirilip vortekslendi,

Tablo 3-3: Kullanılan Array setleri için gerekli olan STC miktarları

CGX-3	CGX-6	CGX-12
5,6µl STC	3,3µl STC	3,3µl STC

- c) Kullanılan array setine göre Master miks hibridizasyon solüsyonu hazırlandı. Her örneğe kullanılan Array setlerine göre gerekli olan miktarlarda hibridizasyon solüsyonu eklendi,

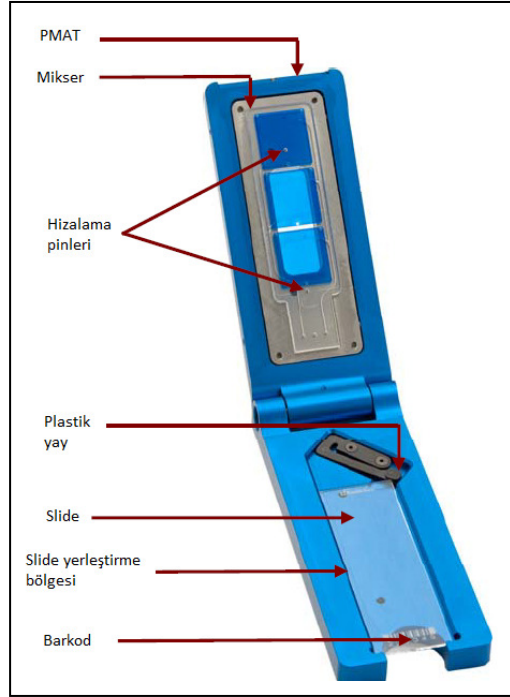
Tablo 3-4: Master Miks Hibridizasyon Solüsyonu Miktarları

	CGX-3	CGX-6	CGX-12
2X hybridization buffer	35µl	44,3µl	88,5µl
Hybridization component A	14µl	17,7µl	35,4µl
Aligment oligo	1,4µl	1,8µl	3,6µl
Bir örnek için kullanılan miktar	14.4µl	8,7µl	8,7µl

- d) Tüpler yaklaşık 15 sn vortekslenip ve santrifüjlendi,
- e) Yeni 0,5µl'lik PCR tüplerine örnekler konulup daha önceden hazırlanan programda PCR cihazında +95°C' de 5 dakika boyunca inkübe edildi,
- f) Vortekslenip kısa süreli santrifüj edildi,
- g) Tüpler PCR cihazında 42° de örnek yükleme hazır oluncaya kadar bekletildi.

3.2.3.2.2. Mikser Hazırlama

- a) Mikser ile array slaytı bir araya getirmek için PMAT kullanıldı. PMAT altına array slayt, barkod ve nimblegen yazısı okunacak şekilde ve barkod sağ tarafa gelecek şekilde slayt'ın kenarlarından tutularak yerleştirildi,



Şekil 3-1: PMAT ve kısımları

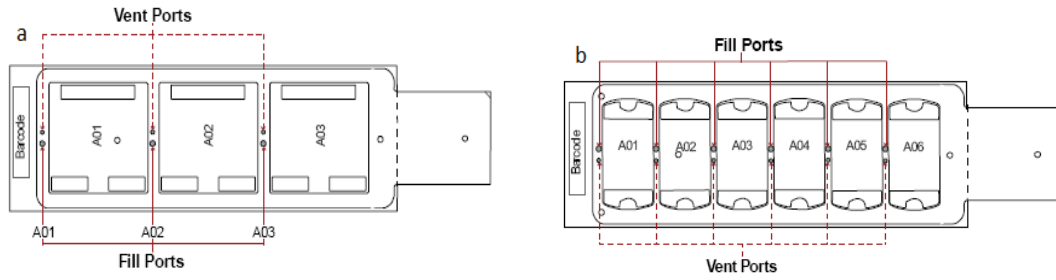
b) Mikser-array slayt birleşimi kolay yapışması için 2dk 42°C de bekletildi.

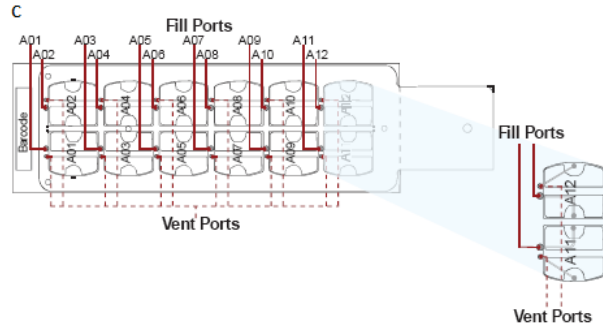
3.2.3.2.3. Örneklerin Miksere Yüklenmesi

a) Array için özel mikropipet ve uçlarla kullanılan array setine göre istenen miktarda örnek çekilip ve mikserin örnek yükleme haznesine örnek dikkatlice kabarcık olmayacak şekilde konuldu.

Tablo 3-5: Array setlerine göre hibridizasyon için kullanılan örnek miktarı

CGX-3	CGX-6	CGX-12
18µl örnek	10µl örnek	6µl örnek





Şekil 3-2: a) CGX-3, b) CGX-6 ve c) CGX-12 için kullanılan mikserler

- b) Hibridizasyon sisteminde B modu seçildi,
- c) 40 saat (yaklaşık 2 gece) hibridizasyona bırakıldı.

3.2.3.3. Hibridizasyon Sonrası Array Slayt Yıkama Aşaması

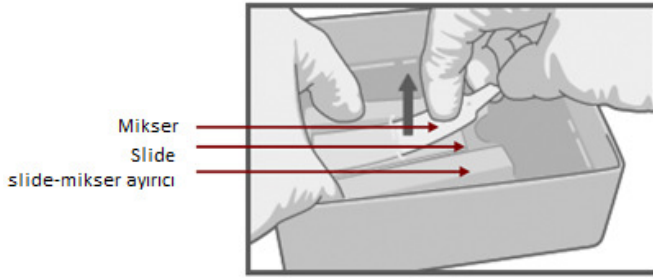
Yıkama Kiti içerisinde toz halinde çıkan DDT içine yine yıkama kitinin içinden çıkan nuklease-free water'dan 1200µl konularak sulandırıldı.

Yıkamalar için aşağıdaki düzenek hazırlanır

1. küvet	2. küvet	3. küvet	4. küvet
270ml 42°C dH ₂ O	270ml dH ₂ O	270ml dH ₂ O	270ml dH ₂ O
30ml 42°C Wash1	30ml Wash1	30ml Wash2	30ml Wash3
30µl -20°C DDT	30µl -20°C DDT	30µl -20°C DDT	30µl -20°C DDT
	300ml TOTAL	300ml TOTAL	300ml TOTAL

Şekil 3-3: Slayt yıkama düzeneği

- a) Array slaytdan mikserin ayrılmasını kolaylaştırmak için, Wash-I içeren 1. küvet 42°C ye getirildi,
- b) Mikser Diassambly Tool, Wash-I içeren 1. küvete konuldu,
- c) Mikser-slayt birleşimi, hibridizasyon sisteminden çıkarılıp, 42°C sıcaklıkta Wash-I içeren 1. küvet içerisine batırılmış olan Mikser diassambly Tool'a yüklendi ve 10-15 çalkalanıp mikser slayttan dikkatlice sıyrıldı,

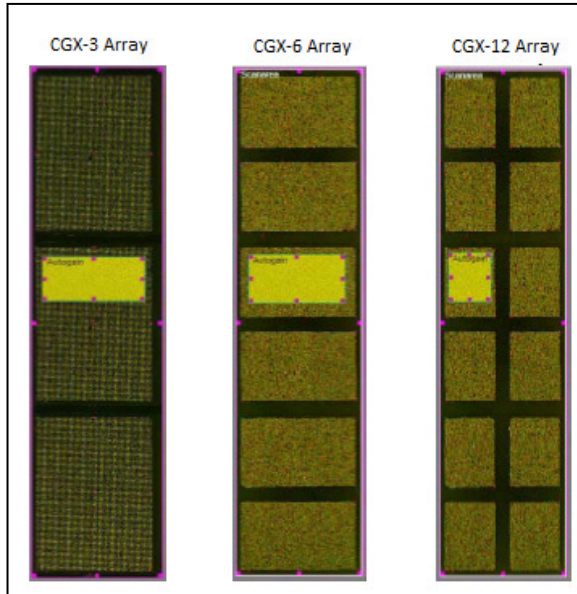


Şekil 3-4: Mikser'in slaytdan ayrılması

- d) 2. wash-I solüsyon küvetinde 2dk kuvvetlice çalkalandı,
- e) Slayt wash-II solüsyonu içeren 3. küvet içerisine transfer edilerek 1dk kuvvetlice ve sabit bir hızda aynen Wash-I solüsyon küvetinde olduğu gibi dikkatlice çalkalandı,
- f) Slayt wash-III solüsyonu içeren 4. küvet içerisine transfer edilerek 15 sn kuvvetli ve sabit bir hızda diğer wash solüsyon küvetlerin de olduğu gibi çalkalandı,
- g) Slayt mikroarray kurutucusuna yerleştirilip 3dk boyunca döndürülerek kurutuldu,

3.2.3.4. Slayt Tarama

- a) Slayt scanner magazin içerisine yerleştirilerek taratıldı,
- b) Mikroarray tarayıcı bilgisayarında NimbleGen MS 200 V1.2 programı açıldı. Öncelikle 40 μ M rezolüsyonda taranarak bir ön görüntüsü elde edilen slayt ikinci aşamada 2 μ M rezolüsyonda taranarak final görüntüsü oluşturuldu,



Şekil 3-5: Slaytların 2 μ m rezolüsyonda tarandıktan sonraki elde edilen görüntüsü

3.2.3.5. Verilerin Analizi

3.2.3.5.1. DEVA Analiz Software

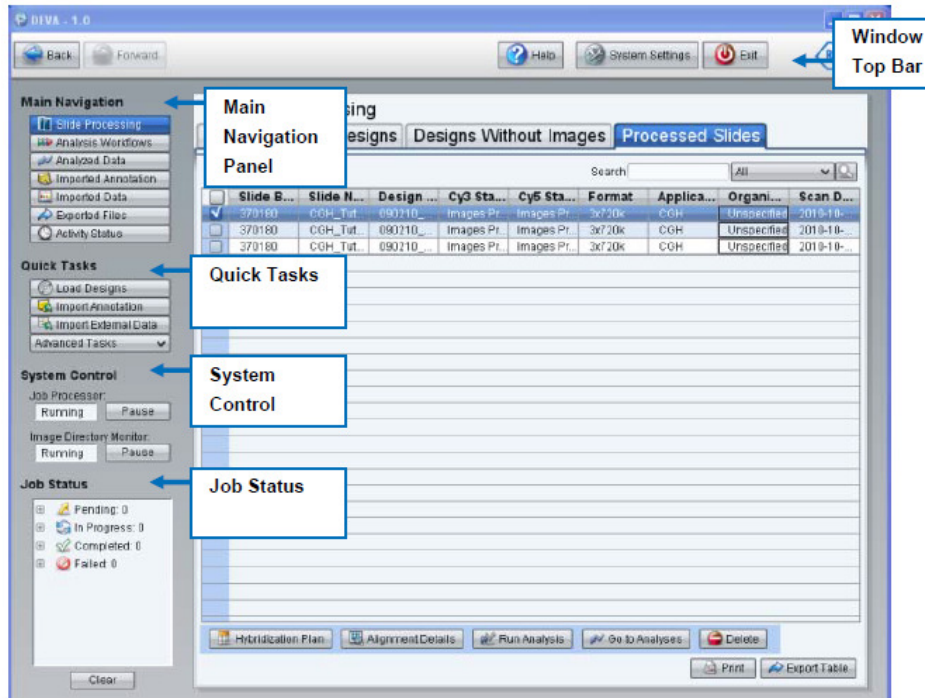
Sistemin DEVA software’i kullanılarak verilerin NEXUS analiz programında analizlerinin yapılması için “data-summary” adı verilen dosya oluşturuldu.

Bunun için;

a) Analiz yapılacak bilgisayarda bir ana dosya (örn; DEVA), bu dosya içine de 3 adet alt dosya oluşturuldu. Bu dosyalara aşağıda ki isimler verildi;

- Design: Array kutusunun kapağında buluna CD içindeki datalar buraya kopyalandı,
- Images: Mikroarray tarayıcı bilgisayarından alınan fotoğraflar buraya kopyalandı,
- Analysis: Analiz yapıldıkça otomatik olarak veriler buraya atıldı,

b) DEVA programı açıldı. Programın arayüzü aşağıdaki gibidir.

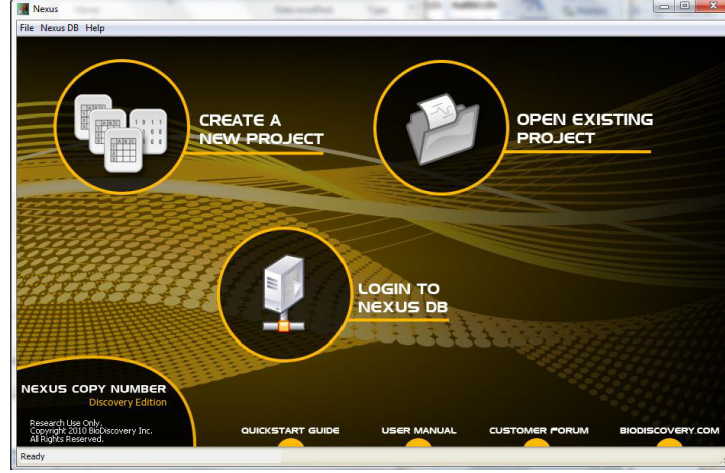


Şekil 3-6: DEVA programı arayüzü

c) DEVA programının oluşturduğu Export dosyasından “data summary” dosyaları NEXUS analiz programına yüklendi.

3.2.3.5.2. NEXUS Analiz Programı

Olguların DEVA programında data summary'leri oluşturulduktan sonra analiz işlemleri için NEXUS programı kullanıldı. NEXUS programının ilk açılışında ki temelyüzü aşağıdaki gibidir.



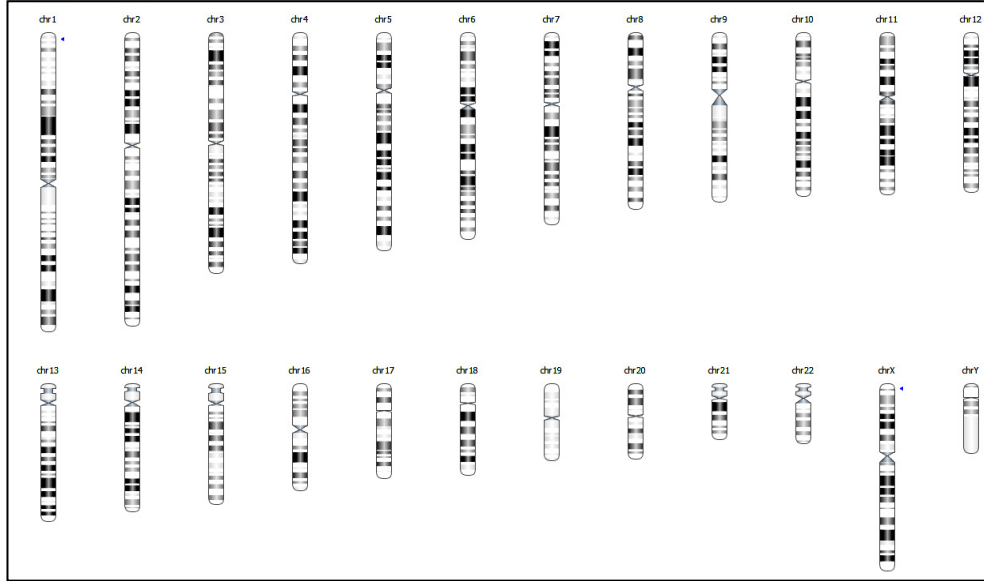
Şekil 3-7: NEXUS programı temelyüzü

- Yeni hasta dosyası oluşturmak için Create a New Project sekmesi, önceden analizi yapılmış hastalara geri dönmek için ise Open existing project sekmesi kullanıldı,
- Yükleme yaptıktan sonra karşımıza örneği kalitesi ve meydana gelen duplikasyon/delesyonlar hakkında bilgi veren bir pencere açıldı,

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

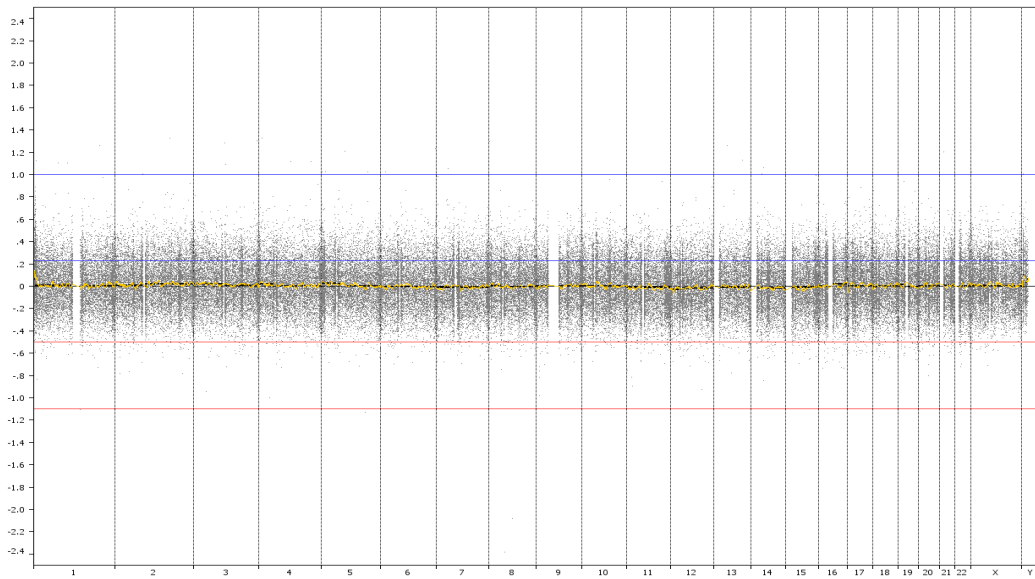
Şekil 3-8: Örnekteki değişimler ve kalite hakkında bilgi veren NEXUS programı arayüzü

- Overview imlecinden tüm kromozomlar görüntülendi,



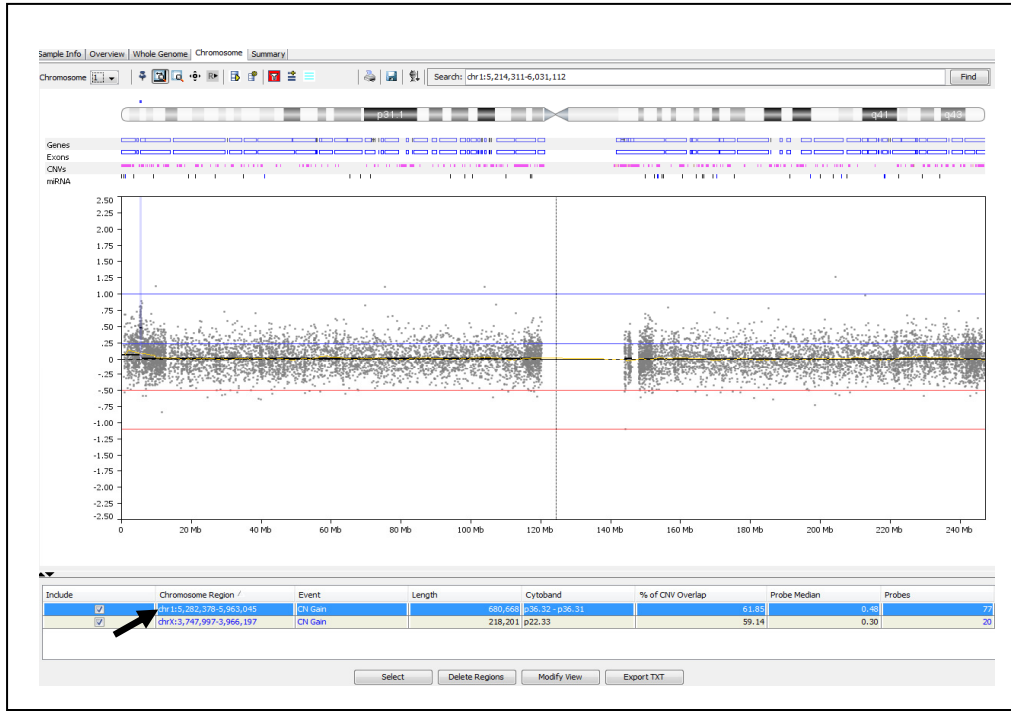
Şekil 3-9: NEXUS programında analiz sonrası karyogram görüntüsü

- d) Whole Genome imlecinden bir grafik olarak tüm genomda problemlerin bağlanma düzey ve kalitesi görülebilir,



Şekil 3-10: NEXUS programında analiz sonrası tüm genom grafik görüntüsü

- e) Chromosome imlecinden hangi kromozomu analiz edilmek isteniyorsa o kromozomu seçip, o kromozoma ait değişimler incelendi. Ayrıca değişim saptanan kromozom bölgesinde bulunan gen bölgelerinin üzerine gelerek açılan imleçden çeşitli veritabanlarına bağlanılarak olası yapısal gen değişimleri için karşılaştırma yapıldı,



Şekil 3-11: NEXUS programında analiz sonrası tek bir kromozomun genel görüntüsü

Yukarıdaki 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.

Gene	Chrom...	Start	End	Length	Name	Descri...	Biologi...	Cellula...	Molecu...	OMIM...	Other...	Sanger...	Loc
MIR-4117	chr1	5,546,717	5,546,790	74	microRN...	microRN...							1006
AK125078	chr1	5,544,355	5,650,902	106,548									
MIR-4689	chr1	5,845,318	5,845,388	71	microRN...	microRN...							1006
NPHP4	chr1	5,845,456	5,975,120	129,665	nephron...	This gen...	actin cyt...	cell-cell j...	protein b...	2	POC10, ...	n	2617
KIAA0673	chr1	5,858,600	5,975,118	116,519	KIAA067...						NPHP4, ...		2312

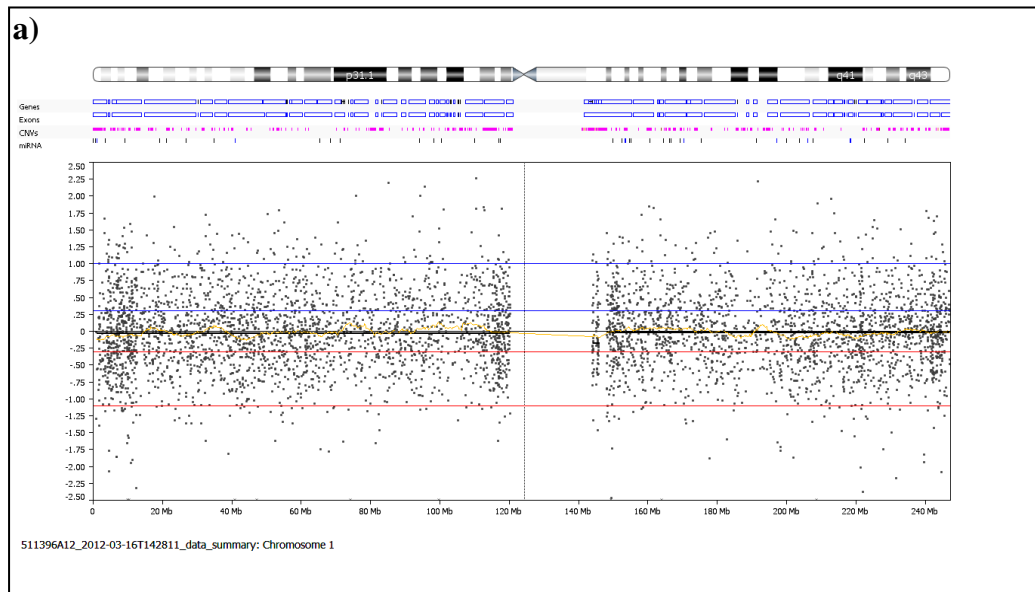
Şekil 3-12: NEXUS programında saptanan genler ve CNV'leri gösteren pencere

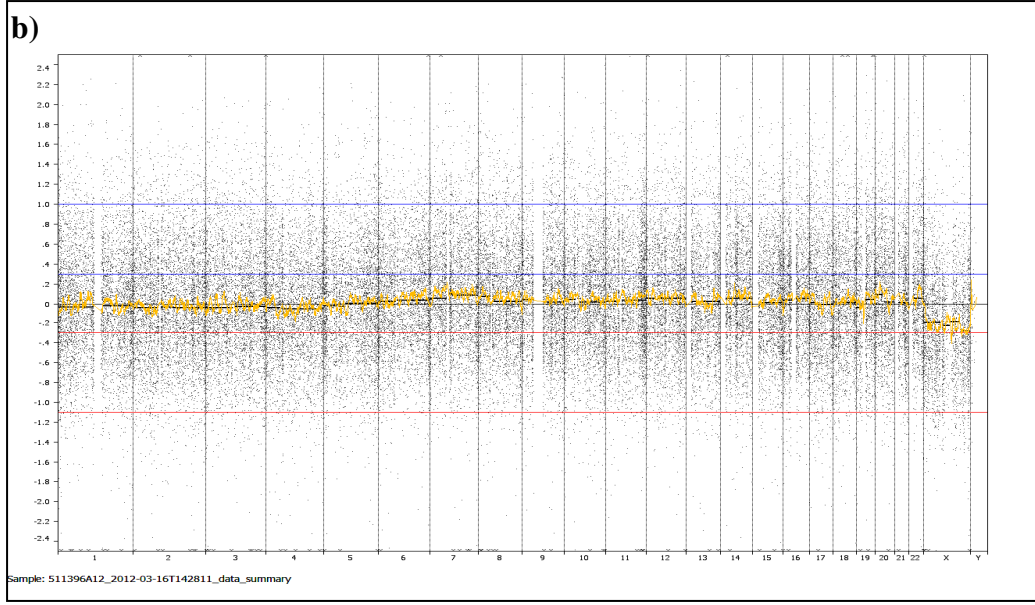
f) Summary imlecinden tüm kromozomları ve prob bağlanma düzeyleri görüntüledi,



Şekil 3-13: NEXUS programında analiz sonrası karyogram ve grafik görüntüsü

DNA kalitesinin iyi olması array çalışmalarında, hibridizasyon başarısı için oldukça önemlidir. Array çalışması sırasında DNA kalitesinin sonuçları nasıl etkilediği, DNA kalitesi kötü olan bir olgunun çalışılmasında prob bağlanma oranının düşük olduğunun görülmesiyle de test edilmiş oldu. Olguda alkol çöktürmesi yapılarak array tekrar edilmesine rağmen prob bağlanma oranında herhangi bir artış görülmedi. DNA kalitesi kötü olan bir olgunun NEXUS analiz programındaki görüntüsü aşağıdaki şekilde gösterilmektedir.





Şekil 3-14: a) Kromozom üzerindeki prob bağlanma oranı, b) Whole genome görüntüsü

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında array-CGH tekniği ile değerlendirilen 20 olguya ait demografik, klinik, sitogenetik, moleküler sitogenetik ve array sonuçları Tablo 4-1'de gösterildi ve array sonuçlarında patolojik değişim saptanan 3 olgu ayrıca anlatıldı.

4.1. Olguların Toplu Sonuçları

Tablo 4-1: Tüm ölçümlerin toplu döküm ve sonuçları

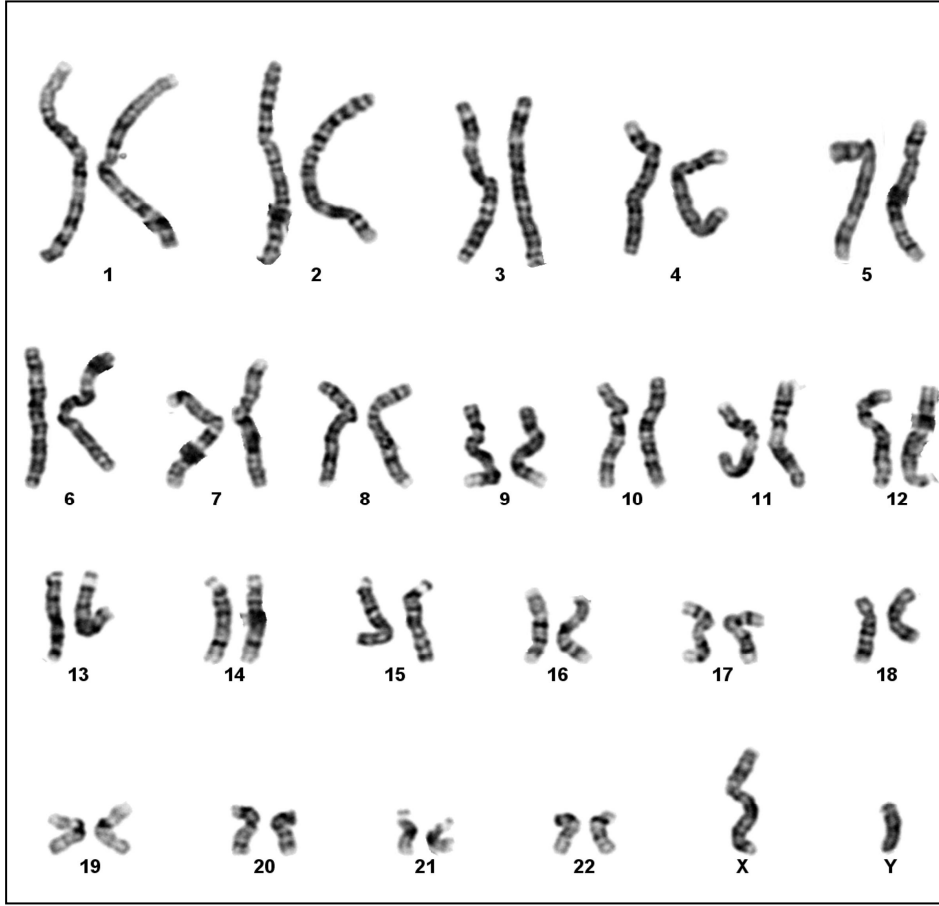
Olgu	İnvaziv yöntem	GH	Girişim endikasyonu	USG bulguları	Karyotip	FISH	Ayrı ayrı sonuçları			
							Benign	Klinik önemi açıklanmayan	Patolojik	Parental sonuçlar
Olgu 1	KS	36	PATUSG	YD, HPE, mikrosefali, bit hidronefroz	46,XY	7q tel-N	----	--	7q35q36.3 11.384Mb 9p24.3p21.3 20.242Mb	--
Olgu 2	CVS	14	PATUSG, 11-14, TT (>1:50)	bit ventrikülomegali, oligohidramnios, kısa femur (<3 p), plasenta kalın	46,XY	YOK	7q35.27Kb %100 14q11.2.369Kb %100	9q33.2q33.3 1.411Mb	--	--
Olgu 3	KS	27	PATUSG	TUA, hidrosefali, batında yaygın asit, yüzde yaygın ödem, sağ kaliteksi ve lateral geal atrezi	46,XX	YOK	3p14.3.561Kb 17q21.31.334Kb %100	--	--	Pat. 3p14.3 566Kb Mat. 17q21.31 334Kb %100
Olgu 4	KS	23	PATUSG	EIF, ventrikülomegali, serbellar hipoplazi, bit hidronefroz	46,XY	YOK	2q37.3.444Kb %55	--	--	Pat. 2q37.3 444Kb %55
Olgu 5	AS	20	PATUSG, TG (GLUT1 defakti)	ventrikülomegali, prenatal ödem	46,XY	YOK	2q37.3.444Kb %55 15q11.2.590Kb %100	--	--	Mat. 15q11.2 490Kb %100
Olgu 6	KS	30	PATUSG, İAY	çenede hafif migronati, TUA, borderline ventrikülomegali, kalp aksı sola devriye	46,XY	YOK	5q23.1.629Kb %12.23	--	--	Pat. 5q23.1 629Kb %12.23
Olgu 7	KS	30	PATUSG, UT	izole hidrosefali, lateral ventrikülomegali	46,XY	YOK	21q22.11-q22.12.201Kb %89.86 6p25.3.30Kb %100	--	--	--
Olgu 8	KS	21	PATUSG, İAY, UT	KK.A, kolposefali, gözyaşı damlası bulgusu	46,XX	YOK	5p26.3.362Kb %59 Xp11.22'de 256Kb 6p25.3.30Kb %100	--	--	--
Olgu 9	KS	24	PATUSG	alobar HPE, mikrosefali, bit hidronefroz, IUGG	46,XX	7q tel-N	8q24.23.208Kb %100 10q11.21-q11.22.631Kb %100	--	--	--
Olgu 10	KS	28	PATUSG	beyin, yüz ve toraks anomalileri	46,XY	YOK	Xp22.33.463Kb %80 10q26.3.288Kb %100 17q21.31.394Kb %100	--	--	--
Olgu 11	AS	19	PATUSG	bit KPK, EIF, kolposefali, sağ pelvis renalis, sağ ventrikülomegali, hidrosefali?	46,XY	YOK	16p11.2.1.023Kb %100 18q11.2-q12.1.203Kb %0.64 Xp11.1'de 211Kb %82CNV Xq28'de 117Kb 14q11.2.335Kb %100	--	--	--
Olgu 12	AS	19	PATUSG, KOO	limon.- banana sign, ensefalosel, alın basık ve gari, diyafragma hernisi	46,XX	YOK	5q35.3.213Kb %100 14q11.2.559Kb %100	--	--	--
Olgu 13	AS	20	PATUSG	bit ventrikülomegali, hidrosefali	46,XY	YOK	17q21.31.334Kb %100	--	--	--
Olgu 14	KS	28	PATUSG, UT	hidrosefali, sipina-bifida, sol PEV, sağ fıtık topuk	46,XY	YOK	17q21.31.334Kb %100	--	--	--
Olgu 15	KS	22	PATUSG	KK.A, EIF, HI, infantil tip polikistik böbrek	46,XY	YOK	19q13.33.327Kb %100 17q21.31.334Kb %100	--	--	--
Olgu 16	KS	24	PATUSG, KOO	DWM, VSD, ata binaer aorta, çift topuk sistem, bit PEV	46,XY	DGS-N	4q35.2.1.688Kb %100 16p12.1.2.000Kb %100	--	--	--
Olgu 17	KS	24	PATUSG, KOO	bit ventrikülomegali, korpus kallorum hipoplazisi, elde baş parmaklar içe dönmek	46,XY	YOK	--	--	--	--
Olgu 18	KS	31	PATUSG	IUGG, hidrosefali, polihidramnios	46,XY	YOK	--	--	--	--
Olgu 19	KS	31	PATUSG	hidrosefali, spina-bifida, ağır polihidramnios	46,XX	YOK	--	--	--	--
Olgu 20	KS	24	PATUSG, AY, UT	DWM, omfalosel, dar torax	46,XX	YOK	----	--	--	--

GH: Gebelik haftası; KS: Kordosentez; CVS: Chorionic villus sampling (koryonik villus örneği); AS: Amniosentez PATUSG: Patolojik ultrasonografi, TT: Tarama testi; İAY: İleri anne yaşı; UT: Üçlü tarama testinde yüksek risk; KOO: Kötu obstetrik öykü; YD:Yarık damak;HPE: Holoprosensefali; bit: bilateral; p:persantil; TUA: Tek umbilikal arter; EIF: Echogenic Intracardiac Focus (Ekojenik intrakardiyak fokus);KK.A: Korpus kallorum agenezisi; IUGG: İntra uterin gelişme geriliği; PEV: pes ekinovarus; HI: Hiperekojen intesit; DWM: Dandy walker malformasyonu; VSD: Ventral septal defekt; tel: Telomer; DGS-N: Di George Sendromu NormalPat: paternal; Mat: maternal; ■ :Delesyon; ■ :Duplikasyon, ■ Gen dışı bölge

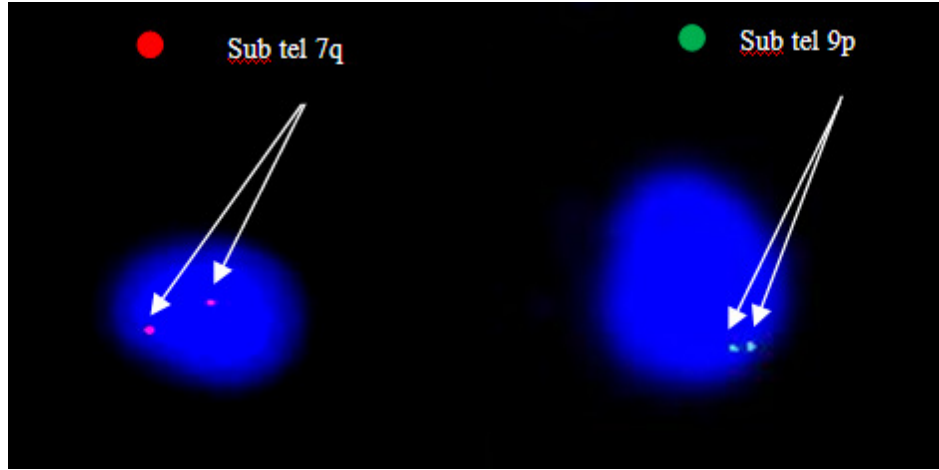
4.2. 3 Olgunun Sunumu

4.2.1. Olgu-1: N.A.G.

Aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 28 yaşındaki sağlıklı anne ve 35 yaşındaki sağlıklı babanın (G4P3), 4. gebeliğinde 36+ GH 'da fetal USG'de alobar HPE (talamik füzyon, monoventrikül), mikrosefali, arini, bilateral yarık dudak ve bilateral hidronefroz saptanması nedeniyle kordosentez uygulandı. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde normal kromozom yapısı saptandı (Şekil 4-1). Fetal kandan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 7. kromozomun q35→q36.3 bölgeleri arasında 11.584 Mb büyüklüğünde bir delesyon ve 9. kromozomun p24.3→p21.3 kırık noktalarında 20.242 Mb büyüklüğünde bir duplikasyon saptandı (Şekil 4-3). Bu değişimin konfirmasyonu amacıyla FISH çalışması planlandı. Ancak olguya ait kültür edilmiş fiksatifte hücre süspansiyonu olmadığından, kromozomlarda 7. ve 9. kromozomların subtelomerik bölgelerine özgün FISH çalışması yapılamadı. Kalan fetal kan hücrelerinde yapılan I-FISH çalışmasında ise bu problemlerle ikişer sinyal alındı (Şekil 4-2). Bu bulgu, delesyon ve duplikasyonun intersiyel olabileceğini düşündürmektedir. Anne ve babaya ait daha önceden alınan periferik kandan izole edilen DNA örneklerinde a-CGH analizleri ile herhangi bir değişim saptanmadı. Olgunun eski metafazları bu sonuç ile tekrar değerlendirildiğinde bant kalitesinin düşük olmasına rağmen 7q daki değişim gözlenebileceği düşünüldü. Olguda a-CGH ile saptanan parsiyel monozomi ve trizomi, ailevi bir dengeli translokasyonun dengesiz ürünü olabileceğinden parental kromozom analizi planlandı. Ancak aile yurtdışında yaşadığından çalışma henüz gerçekleştirilemedi.

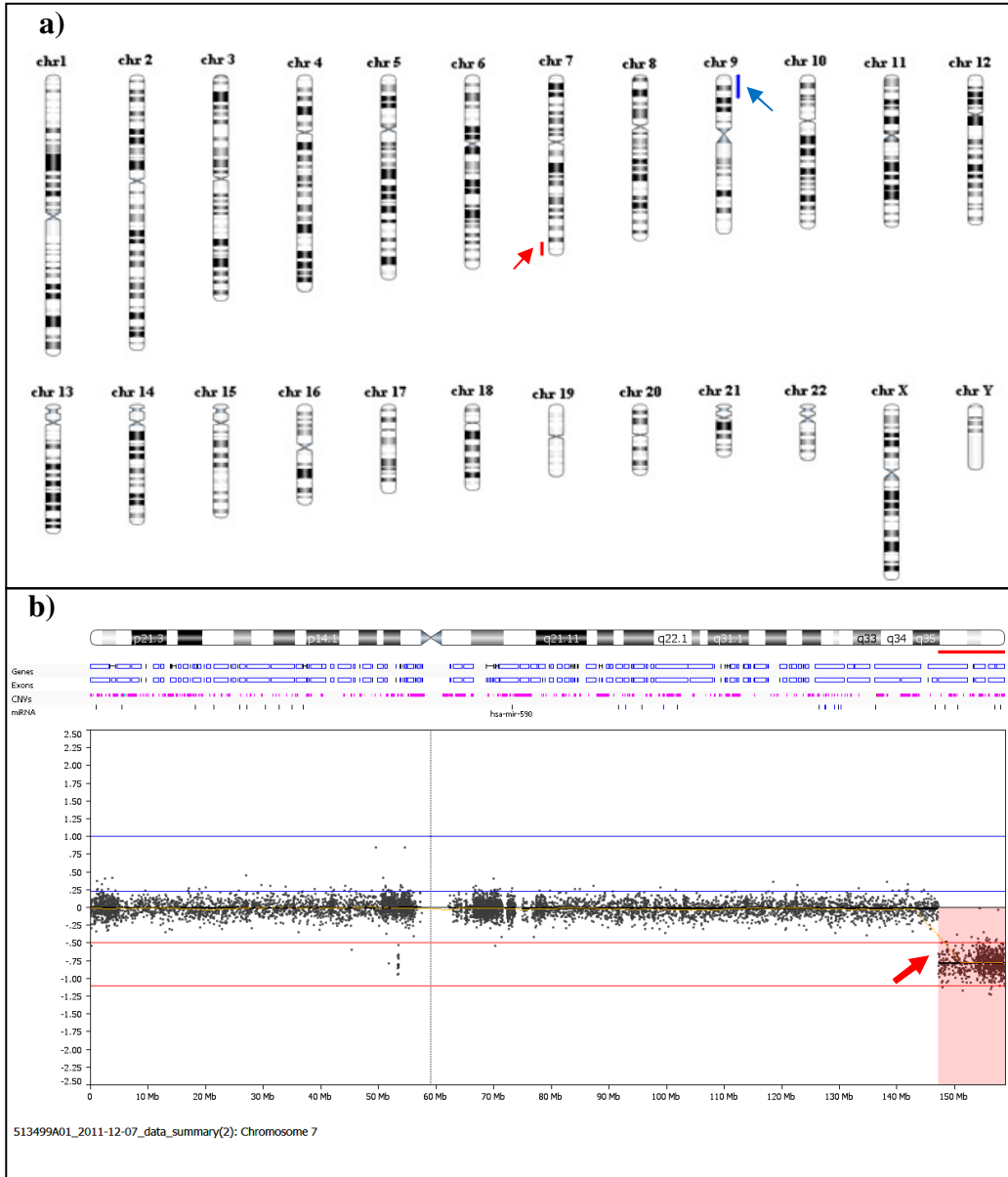


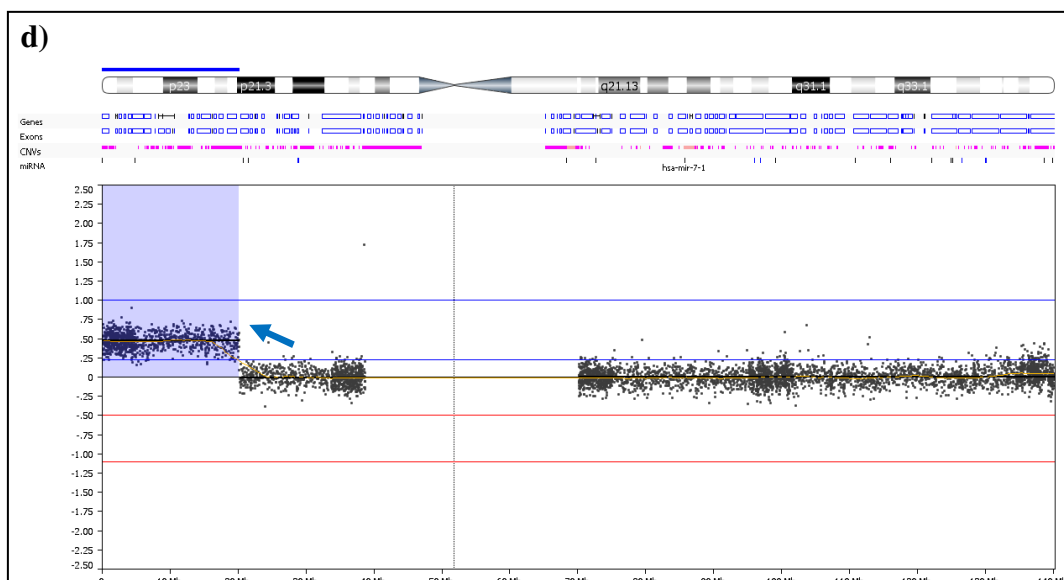
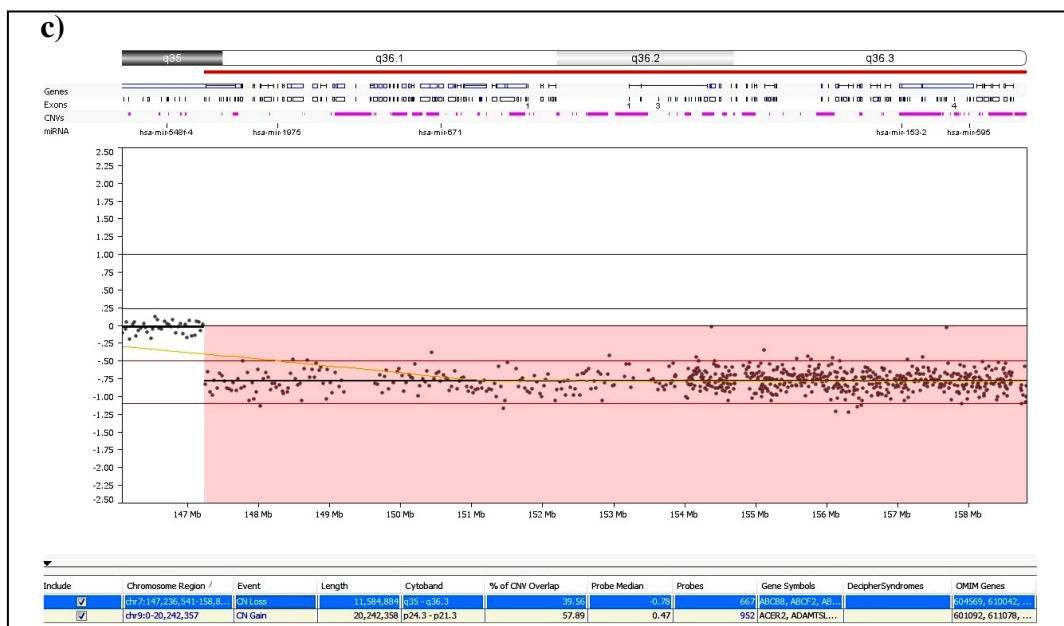
Şekil 4-1: Olgu 1'in karyotip görüntüsü

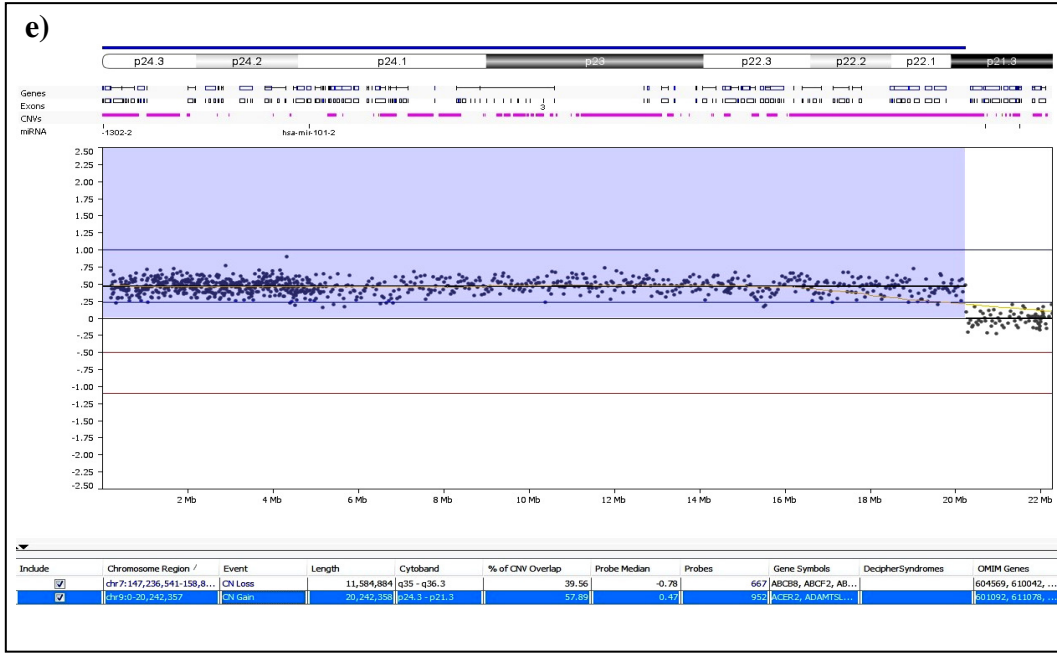


Şekil 4-2: Olgu 1'de 9ptel ve 7qtel problemleri ile uygulanan I-FISH görüntüleri

Olgunun a-CGH Sonucu: $arr\ 7q35q36.3(147,250,584-158,816,094)\times 1,$
 $9p24.3p21.3(199,254-20,231,750)\times 3$







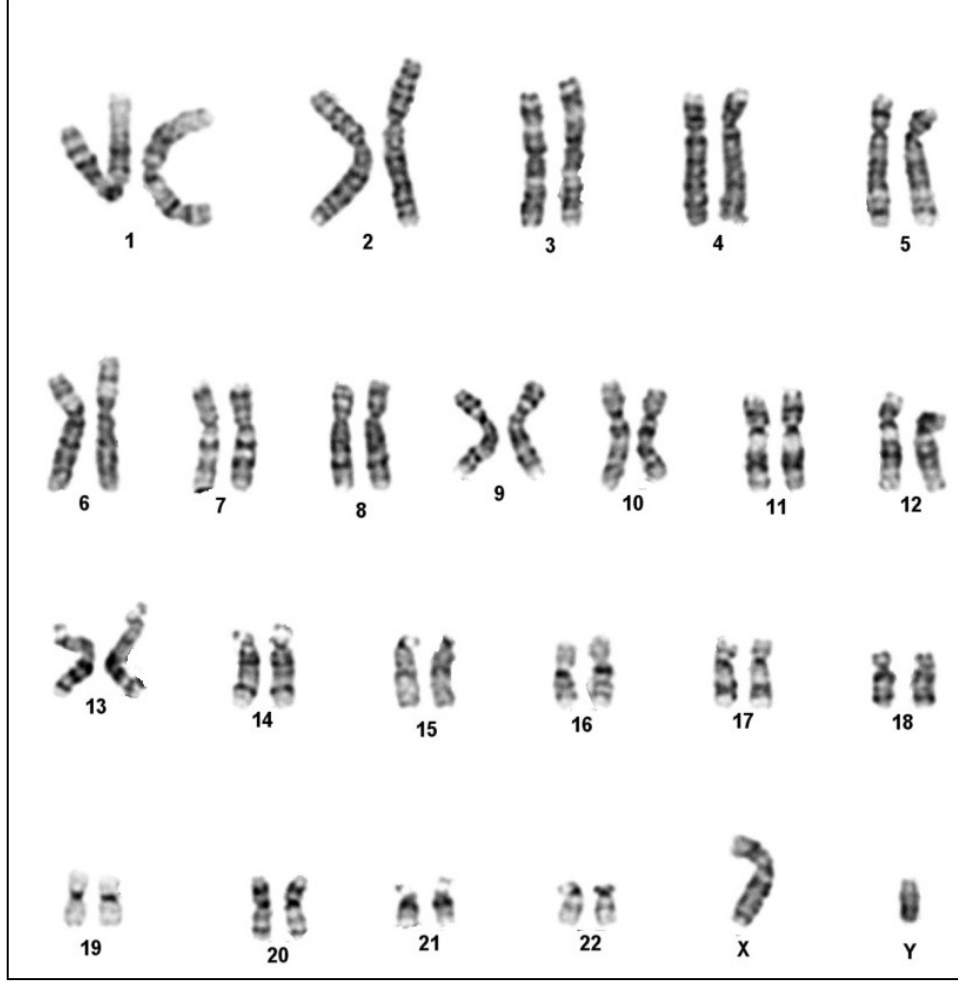
Şekil 4-3: a) Olgu 1'in NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü, b) 7.kromozomundaki delesyon görüntüsü, c) 7.kromozomunun q35-q36.3 bölgelerinde oluşan 11,584Kb (%39 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü, d) 9.kromozomundaki duplikasyon görüntüsü, e) 9.kromozomunun p24.3-p21.3 bölgelerinde oluşan 20,242Kb (%57 CNV) büyüklüğündeki duplikasyonun yakın plan görüntüsü

4.1.1. Olgu-2: N.K.

Aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 28 yaşındaki sağlıklı anne ve babanın (G1P0), ilk gebeliğinin 14(+) GH 'da fetal USG de (Şekil 4-4) saptanan bilateral ventrikülomegali, oligohidramnios, kısa femur boyu (3. persantilin altında), plasentanın kalın olması ve 11-14. hafta tarama testinde artmış trizomi 21 riski (1:50) saptanması nedeniyle CVS uygulandı. Elde edilen doku kültüründe karyotip analizinde normal sonuç saptandı (Şekil 4-5). A-CGH çalışması, CVS kültüründen kazanılan doku örneğinden izole edilen DNA materyalinde yapıldı. 9. kromozomun q33.2→q33.3bölgeleri arasında 1.411Mb büyüklüğünde bir delesyon saptandı (Şekil 4-6). Bu değişimin ailevi olup olmadığının araştırılması amacıyla olguda parental a-CGH çalışması plandı. Aile ile yapılan görüşmede gebeliğin başka bir hastanede sonlandırıldığı ve fetusun postmortem muayene için kliniğimize getirilmediği öğrenildi. Parental konfirmasyon için aile kan örneği vermek istemediğini belirtti.

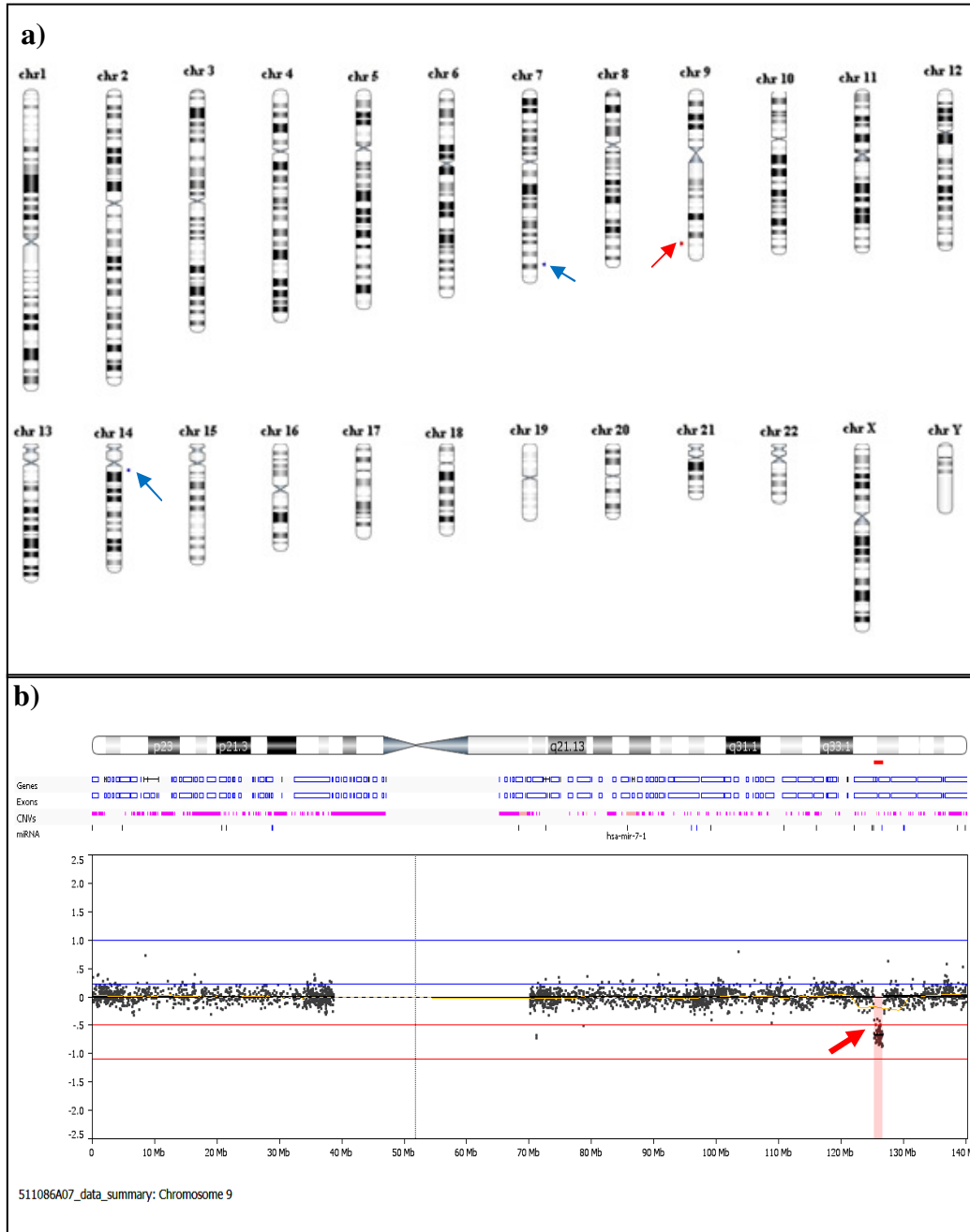


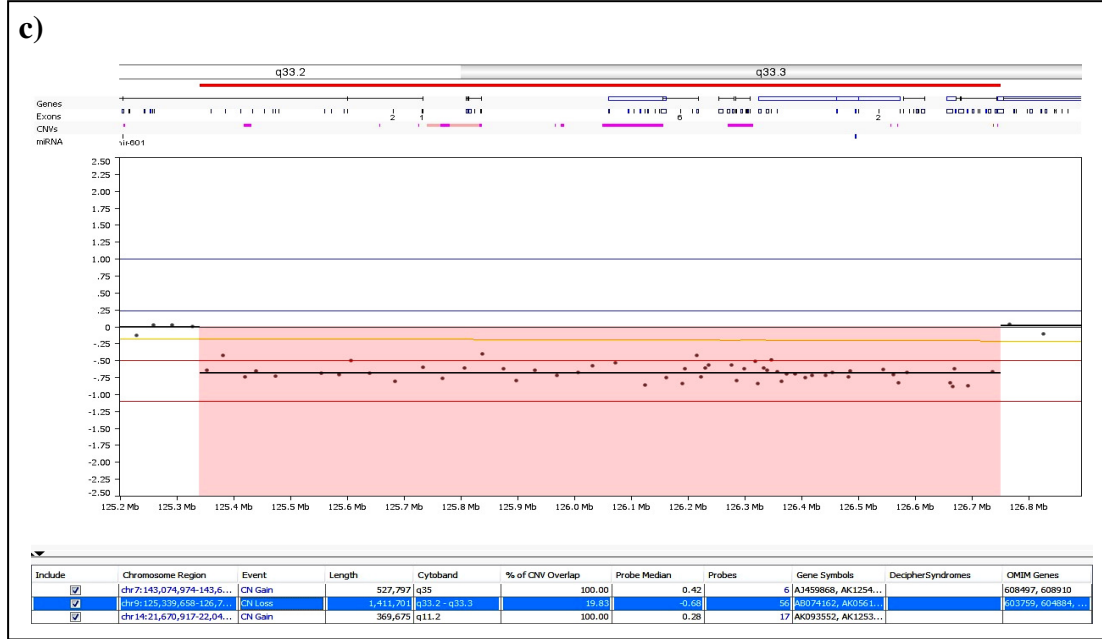
Şekil 4-4: Olgu 2'nin USG görüntüsü



Şekil 4-5: Olgu 2'nin karyotip görüntüsü

Olgunun a-CGH Sonucu; arr 9q33.2q33.3(125,352,242-126,736,566)x1





Şekil 4-6: a) Olgu 2'nin NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü. 7q35'de 527Kb (%100 CNV), 14q11.2'de 369Kb (% 100 CNV) büyüklüğünde bir duplikasyon ve 9q33.2-33.3'de %19 oranında CNV'ye denk gelen 1,411Kb büyüklüğünde bir delesyon görülmektedir, b) 9.kromozomdaki delesyon görüntüsü, c) 9.kromozomunun q33.2-q33.3 bölgelerinde oluşan 1,411Kb (%19 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü.

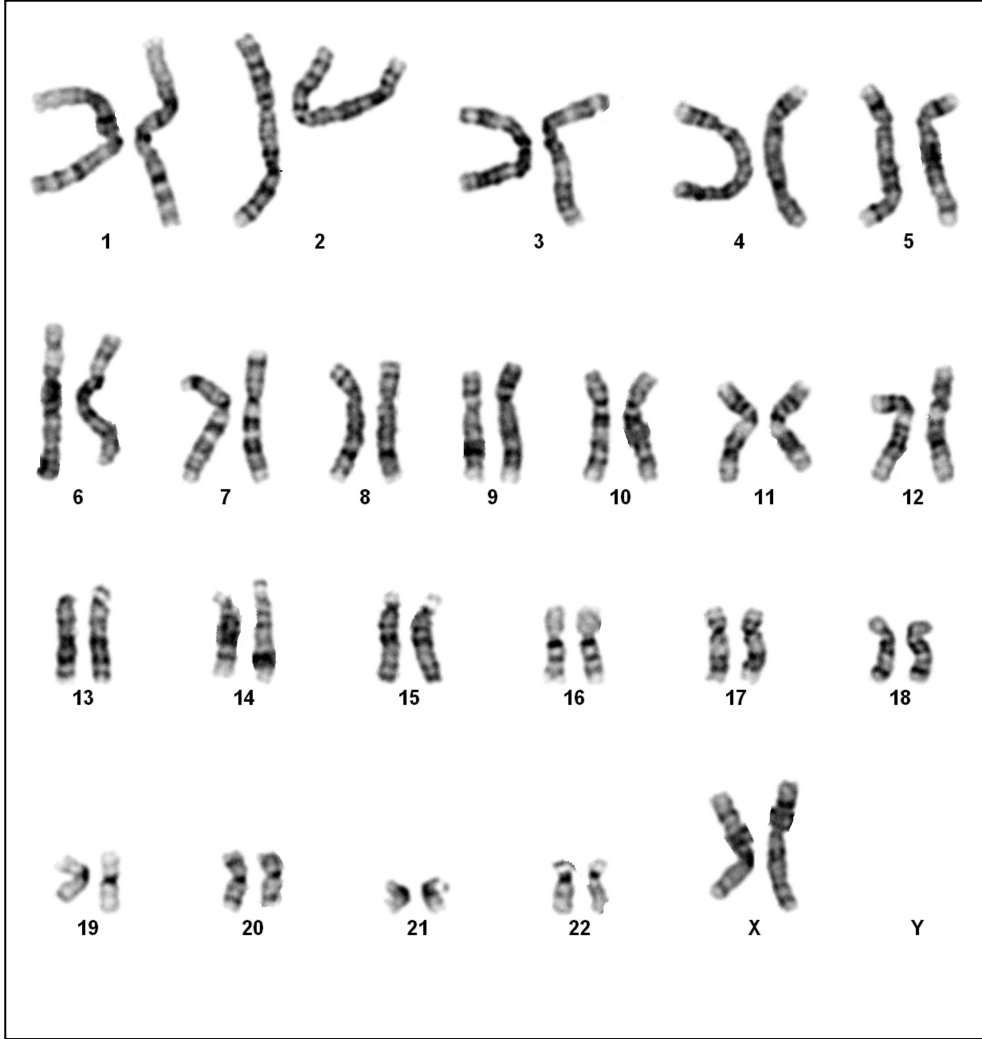
4.1.2. Olgu-3: Z.G.

Aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 22 yaşındaki sağlıklı anne ve 29 yaşındaki sağlıklı babanın (G2P1TT1), ikinci gebeliğinin 27 (+) GH 'da fetal USG'de (Şekil 4-7) saptanan hidrosefali, TUA, batında yaygın asit, yüzde yaygın ödem, sağ kaliektazi ve larengeal atrezi nedeniyle kardiosentez ile kazanılan kandan kısa süreli hücre kültürü ile elde edilen metafazlarda normal kromozom yapısı (Karyotip: 46,XX) saptandı (Şekil 4-8). Ağır patolojik USG bulguları nedeniyle termine edilen gebelikte fetusun postmortem fizik muayenesinde; boy: 36 cm, tartı: 1900gr, OFC: 30 cm olarak ölçüldü. Masere olan fetusun klinik bulguları ise yaygın cilt ödemi, tüm kranial sütürlerde açıklık, aşağı çekik palpebral fissürler, basık burun kökü, antevort burun delikleri, düz filtrum, ağız kommissürlerinde sağda daha belirgin olan lateral cleft, ileri derecede gingival hiperplazi, dar damak, sol el 5. parmakta klinodaktili ve TUA idi. Grafisinde ise iskelet sistemine ait herhangi bir anomali saptanmadı.

Olguda direkt kandan elde edilen DNA'da yapılan A-CGH çalışmasında 3. kromozomun p14.3 bölgesinde 561Kb büyüklüğünde bir delesyon saptandı (Şekil 4-9). Bu değişimin ailevi olup olmadığının araştırılması amacıyla yapılan parental A-CGH çalışmasında fenotipik olarak sağlıklı babada da aynı delesyonun varlığı gösterildi (Şekil 4-9d).

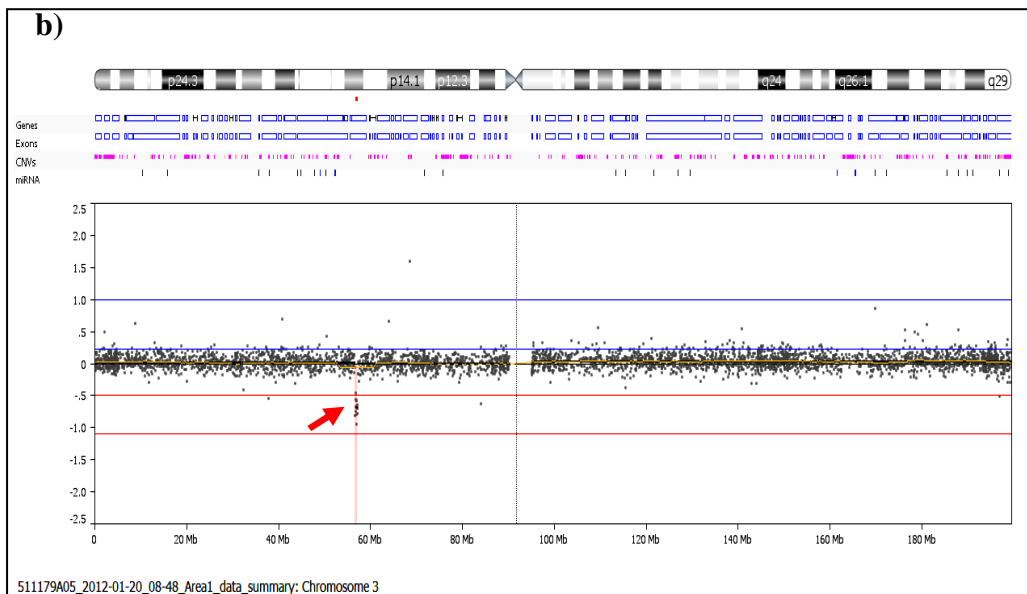
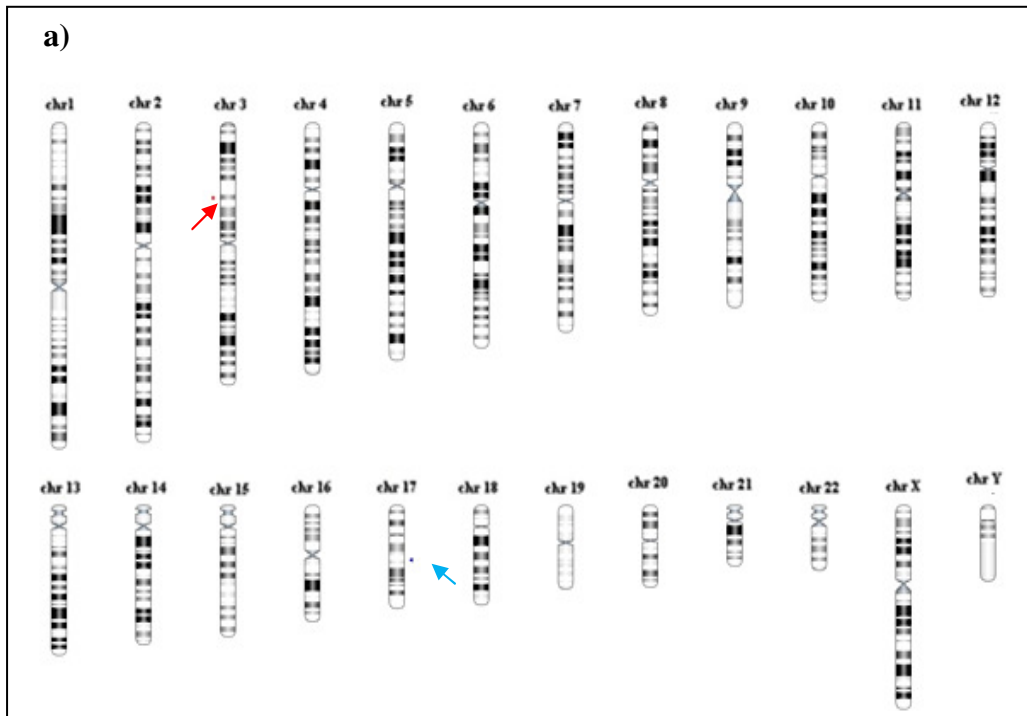


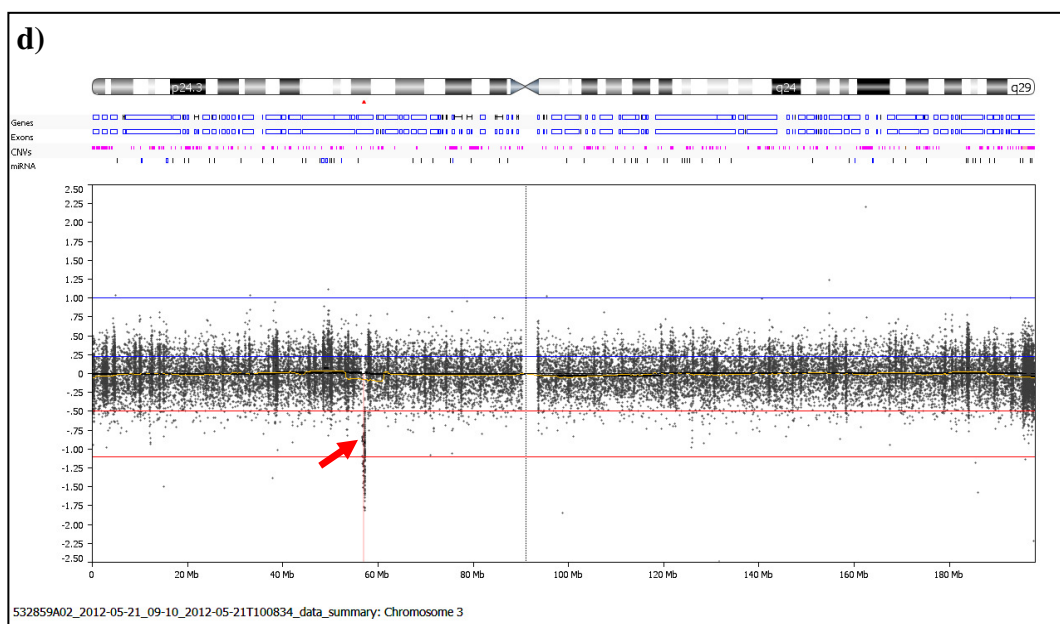
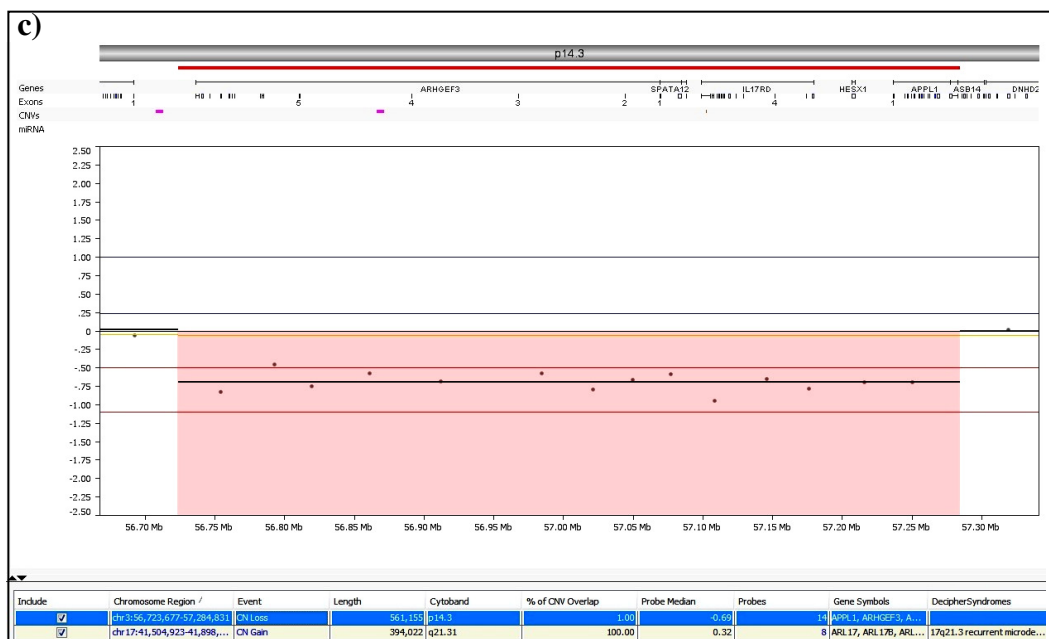
Şekil 4-7: Olgu 3'ün USG görüntüsü

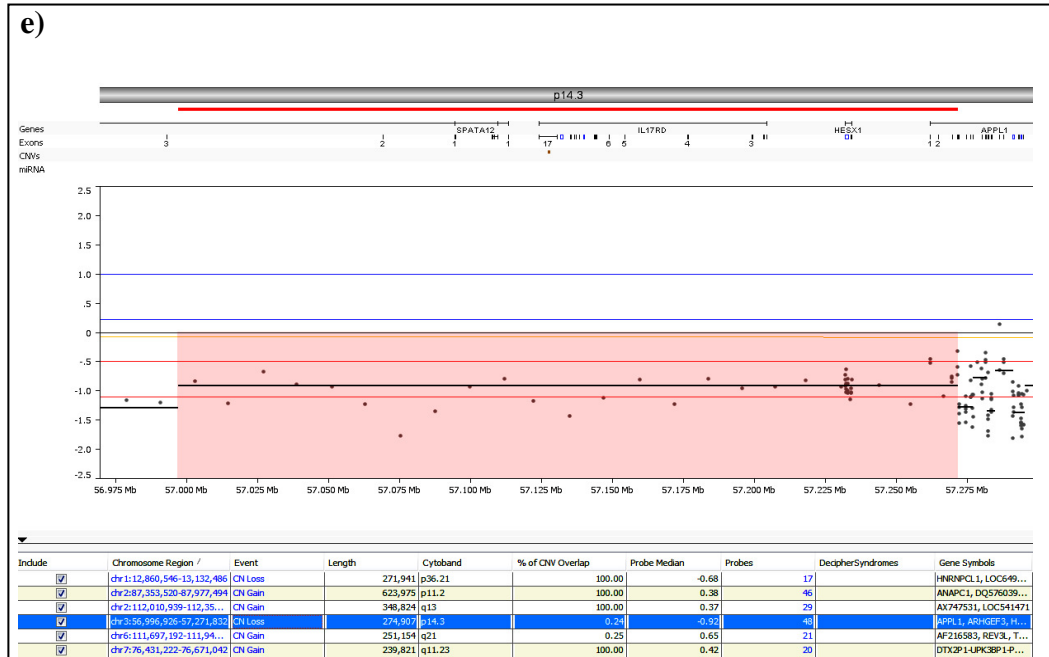


Şekil 4-8: Olgu 3'ün karyotip görüntüsü

Olgunun a-CGH Sonuçları; arr 3p14.3(56,667,562-57,340,946)x1







Şekil 4-9: a) Olgu 3'ün NEXUS analiz programındaki karyogram görüntüsü. 3p14.3'de 561Kb (%1 CNV) büyüklüğünde bir delesyon, 17q21.31'de 394Kb (%100 CNV) büyüklüğünde bir duplikasyon görülmektedir, b) 3.kromozomdaki delesyon görüntüsü, c) 3.kromozomunun p14.3 bölgesinde oluşan 561Kb (%1 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü, d) Paternal 3.kromozomunun delesyon görüntüsü, e) Paternal 3.kromozomunun p14.3 bölgesinde oluşan 561Kb (%0,24 CNV) büyüklüğündeki delesyonun yakın plan görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Kromozom anomalileri, multipl konjenital anomali ve mental retardasyonlu (MKA/MR) olguların etiyolojisinde önemli bir yer tutmaktadır. MKA/MR'lu olgularda, klasik sitogenetik analizler kullanılarak yapılan çalışmalarda %4-28 oranında kromozom anomalisi saptandığı bildirilmektedir (Curry ve ark., 1997; Rauch ve ark., 2006). Ancak klasik sitogenetik yöntemler hatta HRBT dahi < 5Mb küçük olan kromozom anomalilerinin ve özgün bir bant yapısına sahip olmayan oysa yoğun genlerin bulunduğu kromozomların subtelomerik bölgeleri için yetersiz kalmaktadır. Ayrıca rutin testlerin uygulandığı laboratuvarlarda, kromozom ve bant kalitesinin istendiği düzeyde tutulmadığı, zaman zaman her laboratuvarında sorun yaşandığı da bir gerçektir. Son 20 yılda <5 Mb ve nonspesifik bant alanlarında oluşan bu anomalilerin tanısında FISH tekniği önemli bir yer tutmaktadır. Postnatal olgularda klinik bulguların bilinen bir mikrolelesyon/duplikasyon sendromu ile uyumlu olması durumunda, bu sendroma özgün FISH problemlerinin kullanımıyla tanı hızlı ve oldukça kolaydır (Ravnan ve ark., 2006). Bazı subtelomerik bölge delesyonları özgün klinik bulguları ile sendrom olarak tanımlanmış (1p-, 13q-, 14q- vs) olmasına karşın diğer subtelomerik bölge delesyon ve duplikasyonlarının yol açtığı sendromların klinik tanısı henüz mümkün olmadığından, nonspesifik MKA/MR'lu olgularda karyotip ve spesifik sendromik FISH uygulamaları ile sonuca ulaşılamayan olgularda tüm kromozomların subtelomerik bölgelerinin incelenmesi önerilmektedir (Ravnan ve ark., 2006).MR ve Dismorfik bulguları olan olgularda subtelomerik bölgelerin FISH ve diğer moleküler tekniklerle yapılan analizinde %5-6 oranında ek anomali saptanmıştır. Böylece hem karyotip hem de subtelomerik bölge analizlerinde saptanan kromozom anomalilerinin oranı ~ %8-10 olarak verilmektedir (Schaeffer ve ark., 2005). Klasik sitogenetik analizler ve FISH tekniği ile MKA/MR olguların ancak yarısında kromozomal etiyoloji açıklanabilmektedir (Edelmann ve Hirschhorn, 2009).

Ancak var olan FISH tekniği uygulamalarının da tüm genomun yüksek rezülosyon ile taranmasına imkan sağlamaması yeni teknik arayışlarına yol açmıştır. CGH bu çabaların sonucu olarak 90 larda geliştirilmiştir. Bu teknik, kontrol DNA sı ile incelenen olgu DNA sının farklı renkte floresanlı boyalar ile işaretlenerek kromozomlar üzerinde hibridizasyonu sonucu oluşan renk farklarının değerlendirilmesi esasına dayanmaktaydı

(Kallioniemi ve ark., 1992). Bu teknik ile tüm genomun incelenmesi mümkün olabilmektedir. Daha sonra, aynı tekniğin kromozomlar yerine spotlar halinde preparata yayılmış tüm genomu hibridizasyonu ile a-CGH tekniği geliştirilmiştir (Fiorentino ve ark., 2011). Bu teknik, uygulaması daha kolay ve anomalilerin tanısında hassasiyeti daha yüksek olduğundan (Kb düzeyinde) hızla kullanım alanı buldu ve son 10 yılda birçok seri çalışmasına dayanan sonuçlar yayınlanmıştır.

Klinik olarak etkilenmiş normal karyotip saptanmış postnatal olgularda a-CGH ile yapılan seri çalışmalarında saptanan anomali oranı % 4,3 ile 17 arasında değişmektedir. Lu ve ark. (2007) tarafından rezolüsyonu birbirinden farklı iki ayrı array seti kullanılarak toplam 2513 olgulu bir serinin sonuçları yayınlanmıştır. Bu olgulardan 680'i rezolüsyonu daha düşük olan array seti ile ve 1192'si rezolüsyonu daha yüksek olan array seti ile çalışılmış ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Daha düşük rezolüsyonlu array seti ile % 4.1 (28/680) olan anomali oranı , diğer set ile %5.9 (70/1192) olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile, a-CGH çözünürlüğünün artışının klinik öneme sahip değişim saptama oranını arttırdığı ve bunun da klinik korelasyonun açıklanabilmesi nedeniyle genetik danışmayı güçlendirdiği ön görülmüştür (Lu ve ark., 2007).

Yapılan bütün seri çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde MKA/MR'li olgularda genomik düzensizlik oranının %12-18 arasında değiştiği görülmektedir. Bütün teknikler birbirleri ile kıyaslandığında; klasik kromozom analizleri ile saptanan anomali oranı %3-5 arasında, normal karyotip analizlerinde saptanamayan ancak subtelomerik FISH ile saptanan anomali oranı %5-6 ve sadece a-CGH ile saptanan anomali oranının ise % 9-13 olduğu görülmektedir. Ayrıca, a-CGH problemlerinin daha fazla bölgeye bağlanabilmesi ve rezolüyonunun FISH problemlerine göre daha yüksek olması nedeniyle subtelomerik anomalileri saptamada daha hassas olmasından dolayı, klasik sitogenetik analizler ile gösterilemeyen % 9-13 oranında mikro anomalilerin a-CGH ile saptanabildiği bildirilmektedir (Stankiewicz ve Beaudet, 2007) Bu teknik, dengeli yapısal kromozom anomalileri, poliploidiler ve düşük oranlı mozisizmler dışındaki tüm delesyon, duplikasyon gibi submikroskobik değişimleri saptayabilme özelliğine sahiptir (Lichtenbelt ve ark., 2011a). Yapılan birçok çalışmada klasik sitogenetik ve diğer tekniklerin yakalayamadığı submikroskobik kromozom anomalilerini yüksek duyarlılıkta tanıyabilmesi nedeniyle ISCA tarafından 2010 yılında yapılan bir konsorsiyumda bu

tekniklerin MKA/MR grubunda rutin test olarak kullanılması önerilmiştir (Miller ve ark 2010).

Prenatal tanı amaçlı yapılan fetal kromozom analizlerinde, çoğu zaman klinik yönlendirmenin olmaması, metafaz ve bant kalitesinin postnatal çalışmalar kadar yüksek olamaması, inceleme materyalinin sınırlı miktarda olması ve her şeyden önemlisi tanının zamana karşı yürütülmesi nedeniyle zorluklar yaşanmaktadır. Özellikle ultrason incelemesinde bilinen bir sendrom için özgün bir ultrason bulgusu yoksa uygulanabilecek tek test karyotip analizi olacaktır. Son yıllarda bu populasyonlarda subtelomerik FISH ve MLPA çalışmaları ile yapılmış bir dizi çalışma yayınlanmıştır. Chen ve ark.'nın (2006), IUGG ve major ultrason bulgusu saptanmış karyotipi normal 27 fetustan oluşan seri çalışmasında DiGeorge sendromu (DGS) ve subtelomerik bölge anomalilerini saptamak amacıyla yapılan FISH incelemeleri ile 3 olguda (% 11) 22q11.2 mikrolelesyonu saptanmıştır. Dikkat çekici olan bu 3 olgunun da DGS na özgün kalp anomalilerinin olmasıdır. 2 olguda ise subtelomerik bölge delesyonu (1p36.3 ve 21q22.3) (% 7.4) saptadıkları bildirilmiştir (Chen ve ark., 2006). Multiple USG patolojileri olan 62 olguluk bir başka seride ise subtelomerik problemlerle yapılan FISH incelemesinde % 4 oranında klinik anlamlı mikrolelesyon saptanmıştır (Gignac ve ark. 2006). Modemont- Soler ve ark.'nın (2010) 229 olguluk PATUS bulgusu olan ve normal kromozom kuruluşuna sahip olgularda MLPA tekniği ile yaptıkları çalışmada % 1.3 subtelomerik kriptomik anomali saptanmıştır. Prenatal tanıda farklı kitler ile yapılan MLPA çalışmalarında %0-6,5 oranında anomali saptandığı bildirilmekle birlikte olgu sayısı yüksek serilerdeki oran %1,3-1,7 arasındadır (Modemont-Soler ve ark., 2010). Kendi hasta popülasyonumuzda yapılan bir çalışmada da 66 olgudan 2 sinde (%3) patoloji saptanmıştır (Toksoy, 2011).

Tüm bu deneyimler sonucunda FISH ve MLPA tekniklerinin sınırlı bilgi sağlaması nedeniyle moleküler karyotipleme adı da verilen array çalışmalarına hız verilmiş ve bu çalışmalarla ilgili sonuçlar 2005 yılından beri uygulanan moleküler karyotipleme çalışmalarının sonuçları arka arkaya yayınlanmaya başlanmıştır. İlk başlarda bu teknik prenatal olgularda mikroskobik dengesiz kromozom anomalilerinin konfirmasyonu amacıyla uygulanmış ve standart kromozom analizleri ile saptanan dengesiz anomalilerin a-CGH ile de saptanabileceği gösterilmiştir (Sahoo ve ark., 2006; Park ve ark., 2011). Rickman ve ark. (2006) tarafından bilinen 30 kromozom anomalili olguya ait amniyotik sıvıdan elde edilen DNA örneğinin 29'unda hem özel tasarlanmış array platformu hem de

1Mb çözünürlüğe sahip tüm genomu kapsayan bir platform kullanılarak yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada triploidi hariç tüm anomaliler konfirme edilmiştir. Ancak daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda dengeli translokasyonları, düşük oranlı mozaizimleri ve triploidleri tanımada yetersiz kalması nedeniyle USG’de patoloji saptanması gibi yüksek dengesiz kromozom anomalisi sıklığı beklenen olgularda uygulamanın daha doğru olacağı görüşü ağırlık kazanmaya başlamıştır (Lichtenbelt ve ark., 2011b; Novelli ve ark., 2012; Breman ve ark 2012).

Sitogenetik olarak görünürde dengeli *de novo* translokasyon taşıyıcılarının %6’sında ciddi mental gerilik ve multiple konjenital anomaliler görülmektedir. Mikroskobik dengeli *de novo* kromozom anomalisi saptanmış olgularda yapılan a-CGH çalışmalarında %40 oranında submikroskobik genomik dengesizlikler saptanması bu gruptaki array çalışmalarının gerekliliğini net bir şekilde ortaya koymaktadır ve prenatal tanıda saptanan bu anomalilerin a-CGH tekniği ile araştırılmasını zorunlu kılmaktadır (De Gregori ve ark., 2007; Schluth- Bolard ve ark., 2009).

Breman ve ark. nın (2012) 1115 prenatal olguyu kapsayan çalışmasında 85 (%7.6) olguda klinik öneme sahip CNV saptanmıştır. Bilinen kromozom anomalili 40 olgu bu seri dışında tutulursa oran % 4.2’ye (45/1075) düşmektedir. 1115 olgunun 18’inde (%1.6) klinik önemi açıklanamayan değişimler saptanmıştır. Çalışmaya dahil edilen tüm olguların endikasyonları ve a-CGH ile saptanan anomaliler sırasıyla, FISH analizleri ile saptananlar 26/61 (%42.6), kromozom anomalili aile öyküsü (13/137, %9.5), fetal USG bulgusu (38/410, %9.3), biyokimyasal testlerde artmış risk taşıyanlar (2/37, %5.4), ileri anne yaşı (5/394, %1.3)’dır. Normal kromozom yapısına sahip olan 1075 olgunun 18’inde (%1.7) ise a-CGH ile klinik öneme sahip genomik düzensizlikler saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda prenatal tanıda a-CGH ile kromozom anomalili saptama oranı klasik sitogenetik yöntemlerin saptadığı orandan yüksek olduğu ve yüksek çözünürlüklü dizin teknikleri ile bu oranın giderek daha da arttığı aynı zamanda kliniği açıklanamayan olguların etyolojisinin ortaya çıktığı savunulmuştur (Breman ve ark., 2012).

İtalyan Human Genetik Derneği’nin çalışma grubu, tüm bilgi ve deneyimler sonucunda a-CGH in; 1) konvensiyonel karyotipin yerini kesinlikle almaması gerektiği 2) tüm gebeliklerde genel tarama için değil seçilmiş gebeliklerde özel tanı amacıyla kullanılması gerektiğini 3) prenatal tanıda özel endikasyonlarda spesifik bir endikasyona sahip gebeliklerde; i) izole veya multiple USG anomalisi saptanan gebelikler ii) karyotip

analizinde dengeli bile görünse *de novo* yapısal kromozom anomalilerinde iii) marker kromozomların karakterizasyonunda tamamlayıcı ikinci bir test olarak kullanılmasını önermektedir (Novelli ve ark., 2012).

Farklı çalışma gruplarında seçilen olgu ve kullanılan array yöntemine bağlı olarak saptanan anomali sıklığı farklılık göstermektedir. Shaffer ve ark.(2008) tarafından yapılan bir çalışmada PATUSG bulgusuna sahip olan 110 olgudan 2'sinde (%1,8) a-CGH ile klinik anlamlı anomali saptanırken, 12 olguda (% 7,9) benign CNV saptandığı bildirilmiştir. Tyreman ve ark. (2009) tarafından yapılan 106 olguluk normal kromozom kuruluşuna sahip, fetal USG'de patoloji saptanmış başka bir çalışmada ise a-CGH ile 7 olguda delesyon, 3 olguda ise duplikasyon (% 9,4) saptanırken, 12 olguda (% 11.3) benign CNV saptandığı bildirilmiştir. Evangelidou ve ark. (2010) PATUSG bulgusu olan normal kromozom yapısına sahip 15 olguda yaptıkları a-CGH çalışması ile 2 (% 13.3) olguda anomali, 1 (% 6.7) olguda benign CNV saptamışlardır. D'Amours ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada fetal USG'de patoloji saptanmış normal kromozom yapısına sahip 49 olguluk bir seri çalışmasında, fetal USG'de alobar HPE gözlenen ve 2p21'de SIX3 genini de içeren delesyonla birlikte toplam 4 olguda klinik anlamlı değişim saptamışlardır (% 8.2). Bu çalışmada 30 olguda ise benign CNV saptanmıştır (% 61.2) (Shaffer ve ark., 2008; Tyreman ve ark., 2009; Evangelidou ve ark. 2010; D'Amours ve ark., 2012).

MSS anomalileri ile sayısal ve yapısal kromozom anomalileri arasındaki ilişkiye değinen literatürlere bakıldığında Goetzinger ve ark. (2008) 1990-2006 yılları arasında, prenatal ve postnatal 62,111 olguluk oldukça büyük bir seri çalışmasında major MSS anomalisine sahip 587 (%0,9) olgunun sonuçları sunulmuştur. İzole spina-bifida, HPE ve KKA'nin özellikle trizomi 13, anensefalinin trizomi 18 ve KPK ile ventrikülomegalinin ise trizomi 21 ile yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilmiş, ve MSS anomalisi varlığında saptanan anöploidi oranının %2-20 arasında değiştiği sonucuna varılmıştır. Sadece MSS anomallerini içeren ve bunların yapısal anomaliler ile ilişkisi gösteren, derleme çalışmaları dışında herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Tyshchenko ve ark. (2008) tarafından otozomal kromozomal düzensizliklerin, genellikle MSS anomalisi ile ilişkili olmasından yararlanılarak yeni gen lokalizasyonlarının tanımlanmasını hedefleyerek bir derleme çalışması yapılmıştır. Oldukça büyük bir seriyi içeren bu çalışmada (3000 olgu) 14 beyin malformasyonu seçilmiş ve toplamda 541 delesyon, 290 duplikasyon taşıyıcısının

bilgileri derlenerek 55 farklı kromozom bölgesinde 67 delesyon, 36 farklı kromozom bölgesinde ise 88 duplikasyon olduğuna değinilmiştir. Bu değışimlerden 31 delesyon ve 8 duplikasyon klinik bulgularla uyumlu bulunmuştur.

Günümüzde kromozom anomalilerinin tanısında artık vazgeçilmez bir teknik olan a-CGH tekniğinin laboratuvarımızda uygulanabilir duruma getirilebilmesi, gerekli alt yapının oluşturulması ve deneyimlerin arttırılması amacıyla ilk aşamada, çok sık görülmesi nedeniyle USG'de MSS anomalisi saptanmış, normal kromozom yapısına sahip olgulardaki olası submikroskopik genomik dengesizliklerin bu teknikle araştırılması planlandı.

Literatürde prenatal dönemde izole MSS anomalisi olan olgu bazında yapılmış çalışmalar dışında tüm MSS anomalilerini kapsayan ve array teknikleri kullanılarak yapılan bir seri çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışma, MSS anomalili olgularda moleküler karyotipleme yöntemiyle araştırılan ilk seri çalışması olacak ve elde edilen veriler literatüre katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızda, fetal USG ile MSS anomalisi saptanan 20 olgudan 3'ünde (olgu 1, olgu 2 ve olgu 3) patolojik olabileceği düşünölen 200 Kb'ın üzerinde 4 değışim saptanmıştır. Bu değışimler olgu sırasına göre; 7q35q36.3 (11.584Mb) delesyonu ve 9p24.3-p21.3 (20.242Mb) duplikasyonu (olgu 1), 9q33.2q33.3 (1.411Mb) delesyonu (olgu 2) ve 3p14.3 561Kb delesyonudur (olgu 3). Bu seride klinik olarak anlamlı anomali oranı %5 olarak saptanmıştır.

İlk olgumuz fetal USG'de Alobar HPE (talamik füzyon, monovenriköl), mikrosefali, arini, bilateral yarık dudak, bilateral hidronefroz saptanması nedeniyle yapılan fetal kromozom analizinde normal karyotip saptanan olgu idi. CGX-3 kiti ile yapılan moleküler karyotiplemede olgunun 7q35-q36.3 bölgesinde 11.584Mb büyüklüğünde bir delesyon ve 9p24.3-p21.3'de 20.242Mb büyüklüğünde bir duplikasyon saptanmıştır. Olguda saptanan anomalinin konfirmasyonu amacıyla kültür edilmemiş fetal kanda 7q ve 9p subtelomer bölgesine özgü prob (cytocell) kullanılarak interfaz FISH çalışması yapıldı. 7. ve 9. kromozomun her iki subtelomer bölgesi için ikişer sinyal alındı. Ancak, a-CGH analizinde saptanan delesyonun kırık noktaları 147,250,584-158,816,094 iken kullanılan ve klon numarası G31340 olan 7q subtelomer FISH probunun kırık noktalarının 158,803,232-159,003,800 olması bu probun delesyon bölgesi ile tam örtüşmediğini ve bu da delesyonun intersiyel olabileceğini göstermektedir. Olguya ait metafaz kromozomlarına tekrar

değerlendirildiğinde, 7. kromozomda görünürde herhangi bir değişim olmadığı, ancak kromozom kalitesinin düşük olması nedeniyle bu anomalinin varlığının kesin olarak değerlendirilemeyeceği söylenebilir. Olguda aynı anda hem delesyon hem de duplikasyonun bulunması ailevi bir dengeli translokasyonun dengesiz ürünü olabileceğini düşündürdüğünden parental kromozom analizleri yapılması planlanmış ancak aile Libya'da yaşadığı için kromozom analizi yapılamamıştır. Ebeveynlerden daha önce alınan EDTA'lı kan örneklerinden yapılan a-CGH çalışmasında ise herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Ancak a-CGH dengeli kromozom anomalilerini saptayamadığından bu sonuç parental karyotipin normal olduğunu göstermediği düşünülmüştür.

Olguda 7. kromozomun q terminal bölgesinde saptanan delesyon bölgesinde toplam 161 gen bulunmaktadır. Bu 161 gen içerisinde yer alan Sonic hedgehog (*SHH*) geninin mutasyon ve delesyonları, HPE ile ilişkili olduğundan ve literatürde buna benzer pek çok çalışma bulunduğundan bu sonuç olgunun klinik bulguları ile uyumlu bulunmuştur.

SHH geni (MIM*600725); embriyonun erken döneminde önbeyin, spinal kord, ekstremiteler, diş ve orta hat yapılarının gelişiminde önemli bir rol oynar. Yapılan birçok hayvan modeli çalışmasında *SHH* geninde oluşturulan mutasyonların, ventral orta hat defekti sonucunda HPE'ye neden olduğu gösterilmiştir (Scholpp ve ark., 2006, Taniguchi ve ark., 2012, Ishida ve ark., 2011).

Literatürde *SHH* geninin fonksiyon kaybının HPE ile ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Gurrieri et al. 1993). Şimdiye kadar 50'den fazla olguda *SHH* geni de içeren 7q36.3'de *de novo* delesyon bildirilmiştir (Bisgaard ve ark., 2006).

Chen ve ark tarafından yapılan bir çalışmada, alobar HPE, siklops ve mikrosefalili fetusda 46,XX,der(7)t(3;7)(p23;q36)(parsiyal trizomi 3p(3p23-->pter) ve monozomi 7q(7q36-->qter)) karyotipi saptanmış. Anne-babada yapılan karyotip analizinde, fetustaki der(7)'nin paternal kaynaklı olduğu tespit edilmiştir (Chen ve ark. 1999).

Frints ve ark. tarafından 7q terminal delesyonu bulunan 3 olguda yapılan başka bir çalışmada HPE mikroformuna sahip 2 olgudan birinde FISH analizleri ile paternal t(5;7)(q35.2;q36.1) karyotipi saptanırken iken diğer olgunun *de novo* olduğu gösterilmiştir (Frints ve ark. 1998).

Olgunun 9. kromozomun p24.3-p21.3 bölgesinde saptanan duplikasyon bölgesinde 117 gen bulunmaktadır. Bu genler arasında yer alan *VLDLR* (MIM*192977) geni; serebral

ve serebellar gelişimde rol oynarken, migrasyonda da görev almaktadır. Bu gende meydana gelen mutasyon ve delesyonlar Serebellar hipoplazi, lizensefali, Alzheimer hastalığı, otizm ve böbrek anomalileri ile ilişkilendirilmektedir (genecard, OMIM). Bu bölgede yer alan bir diğer gen olan *GLIS3* (MIM*610192) geni; embriyonun erken döneminde akciğer, böbrek, treka ve genital dokularda eksprese olmaktadır. Yapılan bir çok hayvan modeli çalışmaları ile özellikle böbrek dokularında aşırı eksprese olduğu gösterilmiştir. *GLIS3* genindeki mutasyonlar şeker hastalığı, konjenital hipotiroidizm, yüz anomalileri, konjenital glokom, karaciğer fibrosizi ve polikistik böbrek hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir. Bu iki gen incelendiğinde delesyon ve mutasyonları belirtildiği gibi çeşitli bulgulara yol açabilir. Olgumuzun ultrason bulguları arasında yer alan bilateral hidronefrozun bu iki genin duplikasyonlarıyla ilişkili olup olamayacağı sorusu da akla gelmektedir. Bu bölgede yer alan *SLC24A2* (MIM*609838) geni retinada eksprese olmaktadır ve retina göz reseptörlerinde karanlık aydınlık geçişini sağlayan Na^+ - Ca^{2+} - K^+ dengesini sağlamaktadır. Ancak bununla ilgili yapılan bir çalışmada bu genin defektinin fotoreseptörlerde ciddi bir kayba neden olmadığı belirtilmiştir. 9. kromozomda yer alan duplikasyon bölgesine ilişkin olarak literatürde bilateral hidronefroz dışında olgunun diğer klinik bulgularını açıklayacak herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Fetal USG bulguları bilateral ventrikülomegali, oligohidramnios, FL 3. persantilin altında, plasenta kalın olan olgu-2'de 9q33.2-q33.3 bölgesinde 1.411Mb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır. Delesyon bölgesindeki 20 gen içerisinde yer alan *LHX2* geni ile ilgili olarak yapılan birçok hayvan modeli çalışmasında bu gende meydana gelen mutasyonların ön beyin gelişiminde defekt oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Bu değişimin ailevi olup olmadığını araştırmak amacıyla anne ve babada A-CGH çalışması planlandı.

LHX2 geni (MIM*603759) önbeyin gelişimi sırasında kortikal nöroepitelyum hücrelerinde ekspere olmaktadır ve hipokampus ile neokorteksin kortikal kimliğinin belirlenmesinde rol oynamaktadır (Hebert ve Fishell, 2008). 2008'de Mangale ve ark. tarafından yapılan fare modelleri çalışmalarında *LHX2* genini moleküler, hücresel ve fonksiyonel bir kanıt olarak kortikal kimliğin temel yapısal belirleyicisi olarak tanımlamışlardır(Mangale ve ark., 2008). 2010 yılında Mellado ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada *LHX2* geninin şizensefali için aday gen olabileceğini öne sürmüşlerdir. Bizim olgumuzda da bu gen de delesyon bulunması bu genin beyin anomalilerinin oluşumunda rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Mellado ve ark., 2010).

Fetal USG bulguları ağır hidrosefali, TUA, yüzde yaygın ödem, sağ kaliektazi, larengeal atrez olan olgu-3'de 3p14.3 bölgesinde 561Kb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır. Yapılan bir çok hayvan modeli çalışmasında, delesyon bölgesinde yer alan 6 gen içerisindeki *HESX1* geninde oluşan mutasyonların da *LHX2* geni gibi önbeyin gelişiminden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. *HESX1* geni (MIM*601802) normal önbeyin gelişimi, göz ve hipofiz bezi gibi diğer ön yapıların gelişimi için gereklidir. Bu gendeki mutasyonlar, septooptik displazi, *HESX1* ile ilgili büyüme hormonu eksikliği ve kombine hormon eksikliği ile ilişkilidir (genecard, Cruz ve ark. 2010). Bu değişimin ailevi olup olmadığını araştırmak amacıyla anne ve babada a-CGH çalışması yapıldı. Sağlıklı babada aynı bölgede (3p14.3) delesyonun gösterilmesi, değişimin yeni bir polimorfik varyant olduğunu gösterdi.

Fetal USG bulguları; alobar HPE, mikrosefali, ekojenik kardiyak odak, blt hidronefroz, IUGG olan olgu 9'da 6q12'de 194.26Kb büyüklüğünde saptanan delesyonda yer alan *EYS* (MIM*612424) genindeki mutasyonlar retinitis pigmentosa tip 25 ile ilişkilidir. Mutasyonlar retinal fotoreseptör hücrelerinin dejenerasyonuna yol açar ve hastalarda çoğunlukla 25 yaşında sonra başlayan gece körlüğü şikayeti vardır. Etkilenen kişilerin çoğu 55-60 yaşlarından ışığı neredeyse hiç algılamazlar. *EYS* genindeki mutasyonlar OR kalıtılmaktadır (Barragan ve ark. 2010). Bu nedenle olgunun tek alleldeki delesyondan dolayı etkilenmesi beklenmemektedir (genecard, OMIM). Ayrıca 8q24.23'de 208Kb büyüklüğünde tanımlanmış yapısal bir gen içermeyen bir delesyon ve 10q11.21-q11.22'de 631Kb büyüklüğünde herhangi bir klinik anlamı olmayan duplikasyon saptanmıştır.

Fetal USG'de; hidrosefali, lateral ventrikül atriyal bölge genişliği olan olgu 7 ve KKA, kolposefali, gözyaşı damlası bulgusu olan olgu 8'de 6p25.3'de 80Kb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır. Her ne kadar delesyonlarda alt sınırimız 100 Kb olsa da, delesyonlu bölgede yapısal bir gen olması nedeniyle bu iki olgu özel olarak değerlendirilmiştir. Bu bölgede yer alan *DUSP22* geninde meydana gelen mutasyon ve delesyonlar Duane retraksiyon sendromu, multipl epifizyal displazi, miyop ve göğüs kanseri hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir (genecard). Olgu 7'de ayrıca 21q22.11-q22.12'de 201Kb büyüklüğünde bir duplikasyon saptanmıştır. Bu bölgede yer alan genlerden *RCANI(DSCR1)* (MIM*602917) geni MSS gelişiminde rol oynarken özellikle Down sendromlu fetusların beyininde aşırı eksprese olmaktadır. *KCNE1* (MIM*176261)

ve *KCNE2* (MIM*603796) genlerinde meydana gelen mutasyon kalp kası hücresi aksiyon potansiyelinin repolarizasyon fazını etkileyen iyon kanallarının fonksiyon bozukluğu olan uzun QT sendromuna neden olmaktadır. Bu bölgede yer alan diğer genler (*FAM165B*, *C21ORF51*, *BC049386*) olgunun klinik bulguları ile uyuşmamaktadır (Yüksel ve ark., 2002, genecard, OMIM). Ağır PATUSG bulguları yanında endikasyonları arasında AY ve ÜT artmış risk (1:210) bulunan Olgu 8'de ise Xp11.22'de 256kb büyüklüğünde bir duplikasyonun saptanmıştır. Bu bölgede yer alan *CCNB3* ve *DGKK* genleri ile ilgili olarak literatürde olgunun klinik bulgularını açıklayacak herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. *CCNB3* geni hücre bölünmesi sırasında hücre siklusunun kontrolünde önemli bir rol oynarken, *DGKK* geninin varyasyonları hipospadiyas ile ilişkili bulunmaktadır (genecard). Ayrıca 3p26.3'de 262Kb'lik tanımlanmış yapısal bir gen içermeyen bir delesyon saptanmıştır.

Fetal USG bulgularında ortak olarak ventrikülomegali olan olgu 4 ve 5'de 2q37.3'de 444Kb büyüklüğünde daha önceki çalışmalarda sağlıklı bireylerde de olduğu bilinen polimorfik bölgede bir delesyon saptanmıştır. Saptanan bu delesyonun konfirmasyonu için dip materyali olan 5. olguda 2. kromozomun q kolunun polimorfik ve nonpolimorfik subtelomer bölgelerine özgü probler (cytocell) kullanılarak FISH çalışması yapıldı. Olgu 5'de 2. kromozomun q kolunun polimorfik subtelomer bölgesinde delesyon saptanırken, nonpolimorfik bölge için ikişer sinyal alındı. Bu sonuç ile 2q37.3 deki delesyon konfirme edilmiş ve saptanan delesyonun polimorfik bir değişim olduğu gösterilmiştir. Yaygın telomerik polimorfizmler popülasyonun yaklaşık %'1inde görülmekte ve bunların boyutu 100Kb'den daha büyük olabilmektedir. Bunların içinde en yaygın olarak görüleni de 2q subtelomerik bölgesidir. Özellikle subtelomerik tarama yapan grupların sık sık klinik anlamı olup olmadığı konusunda şüpheye düştüğü ve parental analizler gibi ek çalışmalar yapmak zorunda kaldığı bir durumdur (Wilkie ve ark., 1991, Macina ve ark., 1994, Ledbetter ve Martin, 2007). Olgu 5'de ayrıca 15q11.2'de 590Kb'lik bir delesyon saptanmıştır. Bu değişimlerin ailevi olup olmadığını araştırmak amacıyla her iki olguda parental a-CGH çalışması yapılmıştır. Olgu-4'de saptanan değişimin paternal, olgu-5 de ise sadece 15q11.2 değişiminin maternal kalıtıldığı gösterilmiştir.

Literatürde 2q37.3 nonpolimorfik bölge delesyonlarının brakidaktili-mental retardasyon sendromu (BDMRS)(MIM#600430) ile ilişkilendirildiği birçok çalışma bulunmaktadır. Ayrıca bu bölgenin otizm ile ilgili olabileceğini gösteren çalışmalar da

mevcuttur. Mazzone ve ark. tarafından 2012 yılında yapılan bir çalışmada 2q37'de delesyon bulunan, 4 yaşına kadar BDMR ve otizm septomlarını gösteren 2 olguda 5 yıllık süreç içerisinde septomların etkilerinde azalmalar gözlemlenmiştir (Mazzone ve ark., 2012). Galasso ve ark. tarafından 2008 yılında yapılan bir başka çalışmada otizm ve mental retardasyona sahip 8 yaşındaki bir olguda 2q subtelomer probu (Vysis) kullanılarak yapılan FISH çalışmasında 2q37.1'de *de novo* delesyonu saptanmıştır. Literatür ile yapılan karşılaştırmalar sonucu otizme neden olabilecek birçok aday gen olmasına karşılık 2q37 delesyon bölgesinde yer alan genlerin yüksek oranda otizme neden olduğu bu çalışmada belirtilmiştir (Galasso ve ark., 2008).

Herhangi bir ortak ultrason bulgusu olmayan 3 olguda (olgu-2, olgu-11 ve olgu-13) 14q11.2'de 559Kb büyüklüğünde duplikasyon saptanmıştır. Bu sonuçlar da bu bölgede yer alan duplikasyonların polimorfik özellik olduğunu desteklemektedir.

Olgu-11'de Xq28'de 117Kb büyüklüğünde saptanan delesyonda yer alan *OPN1LW* (MIM*300824) geninde meydana gelen mutasyon ve delesyonlar renk körlüğüne neden olmakta ve ilerleyen yaşlarda ortaya çıkmaktadır (Deeb ve Motulsky, 2011). Olgunun prenatal bir olgu olması nedeniyle hastalığın prognozu hakkında bilgi verilemez ancak aile çalışması yapılarak parental orijin araştırılabilir.

Olgu-16'da 4q35.2'de 1.068Mb büyüklüğünde bir duplikasyon ve 16p12.1'de 200Kb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır. Bu değişim bölgelerinde bulunan genlerle ilgili incelenen veritabanlarında herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Ancak parental çalışmalar yapılarak bu değişimlerin ailevi olup olmadıklarının araştırılması planlanmıştır.

Ortak bulguları hidrosefali olan 3 (olgu-3, olgu-13 ve 14) ve ortak USG bulgusu olmayan 2 olguda (olgu-10 ve olgu-15) 17q21.31'de 334Kb büyüklüğünde bir duplikasyon saptanmıştır. Bu duplikasyon bölgesinde bulunan genlerle ilgili incelenen veritabanlarında herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Olgu-3'de yapılan parental analizlerde değişimin maternal kalıtıldığı gösterilmiştir. ISCA veri tabanında yer alan ve fenotipi belirtilmeyen bir olguda büyüklüğü 477Kb, kırık noktaları chr17:41464491-41942451 olan paternal kalıtılan bir duplikasyon bildirilmiştir. Diğer olgularda da parental çalışmalar yapılarak bu değişimlerin ailevi olup olmadıklarının araştırılması planlandı. Eğer bu çalışmalarda da ailevi bir kalıtım saptanacak olursa bu bölgenin polimorfik bir özelliğe sahip olduğu kanıtlanacaktır.

Olgu 5’de 5q23.1’de 629Kb büyüklüğünde bir delesyon saptandı. Bu değişimin ailevi olup olmadığını araştırmak amacıyla anne ve babada a-CGH çalışması yapıldı. Saptanan değişimin paternal kalıtıldığı gösterildi.

Olgu-17, olgu-18, olgu-19 ve olgu-20’de ise herhangi bir değişim saptanmamıştır.

Çalışma grubunu oluşturan olguların 13’inde (%65) en az bir tane %100 CNV saptanmıştır. %100 CNV olarak değerlendirilen bölgeler, Human Genome Mutation Database(DGV)’de en az iki çalışmada sağlıklı bireylerde de görülen değişim bölgeleri ile tamamen uyum gösteren varyasyon yerlerini ifade etmektedir. Bizim çalışmamızda da bazı olgularda ortak CNV değişimleri saptanmıştır (tablo4-1). Literatür çalışmaları saptanan CNV’lerin bening yada patolojik olduğunun belirlenmesi için olgularda parental orijin çalışmasının yapılması gerekliliğini vurgulamaktadır. Örneğin çalışma grubumuzdan 5 olguda 17q21.31’de %100 CNV değişimi saptanmıştır. 5 olgudan 3’ünde ortak hidrosefali endikasyonu vardır. 3 olgudan biri olan olgu 3’de yapılan anne-baba a-CGH çalışmasında anne’de aynı bölgede duplikasyon saptandığından bu değişimin bening olduğu gösterilmiştir. Bu değişimin diğer olgular için de bening olduğu düşüncesi gündeme geldiğinden diğer olgularda da aynı şekilde aile çalışması ilerleyen zamanlarda planlanmıştır. Ayrıca KMA yapılarak, aynı CNV saptanan ortak endikasyonlara sahip olgu sayısı zamanla arttıkça o endikasyona özgü olası bir aday gen bulunması söz konusu olabilir.

SIGU’nun son yıllarda yapılan çalışmalar ışığında prenatal tanı için a-CGH tekniğinin; tüm gebelikler yerine sadece spesifik endikasyona sahip (örn; izole ya da multiple PATUSG bulgusu olan, konvansiyonel kromozom analizleri ile saptanan *de novo* dengeli yapısal kromozom anomalileri) prenatal olgulara uygulanması gerektiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada klasik karyotip analizlerine ek olarak % 5 anomali oranı saptanması a-CGH yönteminin 2. ek tanı testi olarak kullanılması önerisi desteklemektedir.

A-CGH çalışması yapılan merkezlerde, a-CGH ile değişim saptanan olgularda sonucun doğrulanması için varsa ticari, yoksa BAC FISH, STR analizleri, QF-PCR, MLPA gibi birden fazla tekniğin kısa sürede uygulanabileceği bir altyapısının olması gerekir. Ayrıca prenatal olgularda FISH’in konfirmasyon için kullanılacağı durumlarda olguya ait yedek metafaz hücrelerinin olmaması durumunda çalışma yapılamamaktadır. Bu nedenle, çalışma planlanırken çalışmaya dahil edilecek olgulardan her türlü yedek materyalin depolanması gerekmektedir.

Bu tez çalışması sonrasında a-CGH tekniğinin, kültür edilen amniotik sıvıdan, kültür edilmemiş korion villus örneği ve fetal kordon kan örneği hücrelerinden izole edilen DNA materyallerinde başarı ile uygulanabildiği görülmüştür. Örneklerden elde edilen DNA'ların nicelik ve nitelik olarak tekniğin başarısını önemli ölçüde etkilediği sonucuna varıldı. Uygulaması kolay, hızlı olan bu teknik aynı zamanda kullanılan kite göre tek seferde en az üç prenatal örneğin aynı anda çalışılması ile avantaj sağlamaktadır.

A-CGH'in her olguda uygulanmasının ise, klinik etkisi henüz tam olarak bilinmeyen değişimlerin de saptanmasının genetik danışmayı zorlaştırabilceği ve aileye ek psikolojik sorunlar getirebileceği göz önünde bulundurularak henüz uygun olmadığı, deneyim ve bilgi birikiminin artması gerektiği kanısına varılmıştır. Ayrıca, a-CGH test fiyatının, tekrarlar ve saptanan değişimlerin ailevi varyant olma olasılığını dışlamak amacıyla yapılan parental çalışmalar nedeni ile ~% 60 oranında arttığı anlaşılmıştır.

Bu çalışma dizin teknikleri konusunda bölümümüzde yapılan ilk çalışma olmakla birlikte, ülkemizde de öncü çalışmalar arasında yer almaktadır. Dolayısıyla dizin çalışmalarında kullanılan yabancı terimlerin Türkçe karşılıklarında ortak bir terim bulunmadığından ifade karmaşıklığı yaşanmaktadır. Bu yüzden bu tez çalışmasının bundan sonra yapılacak olan tez ve rutin laboratuvar çalışmalarına yol göstermesi bakımından önemli bir kaynak olacağını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, a-CGH çalışmaları yüksek çözünürlüklü olması nedeniyle karşımıza pek çok bilgi çıkarmaktadır ancak bu bilgilerin yorumlanması ve klinik öneminin belirlenmesi oldukça zordur. A-CGH'in yüksek çözünürlükteki tüm genom boyunca CNV belirleme hassasiyetine karşılık, bu yeni terminoloji klinisyenler ve laboratuvar çalışanlarına yeni bir sorumluluk yüklemiştir. Henüz a-CGH için rezolüsyon ve problemlerin kapsama alanı (tüm genom yada lokus spesifik) için bir standardizasyon yapılamamıştır. Dolayısıyla farklı laboratuvarlarda farklı teknoloji platformlarında farklı array dizaynları ile çalışmalar yapılmaktadır. Sonuçların ortak olarak yorumlanamaması standardizasyon için zorluk meydana getirmektedir. Çoğu laboratuvar patojenik ve patojenik olmayan varyasyonlar için internet ortamında oluşmuş veritabanlarının yorumlanmasında karmaşa yaşamaktadır. Laboratuvar çalışanlarına, klinisyenlere ve en önemlisi hastalara büyük yarar sağlaması açısından laboratuvarlar arası bilgi paylaşımı ve a-CGH sonuçlarının yorumlanabilmesinde standart belirlemek için büyük çalışma grupları kurulmuştur. Bu sayede a-CGH sonuçları arasındaki farklılıklar bulunup çözülecek ve güncel olarak

kullanılan genomik veritabanlarına (örn; UCSC Genome Browser, ENSEMBL, DECIPHER) eklenecektir. Bunun sonucunda yüksek kromozom anomali riski taşıyan prenatal olgularda da bu teknikler postnatal olgularda olduğu gibi klasik sitogenetik testlere ek olarak tanı amaçlı kullanılabilir duruma gelecektir.

KAYNAKLAR

- Abuelo D. (2007). Microcephaly syndrome. *Semin Pediatr Neurol*. 2007 Sep;14(3):118-27.
- Arvanitis D. (1999). Congenital malformations of the nervous system. In: Panteliadis C, Darras B (eds) *Encyclopaedia of paediatric neurology*, Thessaloniki.
- Aslanger AD. (2010). Nöronal migrasyon anomalilerinde genotip-fenotip ilişkisi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Tıpta uzmanlık tezi. İstanbul.
- Aydınlı K. (1992). Prenatal Tanı ve Tedavi. 52:65.
- Barkovich AJ, Koch TK, Carrol CL. (1991). The spectrum of lissencephaly: report of ten patients analyzed by magnetic resonance imaging. *Ann Neurol*;30:139–146.
- Barkovich AJ, Quint DJ. (1993). Middle interhemispheric fusion: an unusual variant of holoprosencephaly. *AJNR Am J Neuroradiol* Mar-Apr;14(2):431-40.
- Başaran S. (2008). Gebelikte tarama testleri ve fetal kromozom analiz sonuçları (Sözlü sunum) .Uluslararası katılımlı VII. *Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. Program ve bildiri özet kitabı* 06-09 Mayıs.
- Bedeschi MF, Bonaglia MC, Grasso R, Pellegrini A, Garghentino RR, Battaglia MA, Panarisi AM, Di Rocco M, Balottin U, Bresolin N, Bassi MT, Borgatti R. (2006). Agenesis of the Corpus Callosum: Clinical and Genetic Study in 63 Young Patient. *Pediatr Neurol*. Mar;34(3):186-93.
- Bendavid C, Dupé V, Rochard L, Gicquel I, Dubourg C, David V. (2010). Holoprosencephaly: An update on cytogenetic abnormalities. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. Feb 15;154C(1):86-92.
- Bioinformatics Research Group. Erişim 12.03.2012. <http://bio.cse.ohio-state.edu/MicroarrayDesigner/>
- Bird LM, Dixon B, Masser-Frye D, Mestre L, Ribas L, Mullen L, Kalla K, Carder K, Huslig M, Catanzarite VA, Jones MC. (2002). Choroid plexus cysts in the mid-trimester fetus--practical application suggests superiority of an individualized risk method of counseling for trisomy 18. *Prenat Diagn*. Sep;22(9):792-7.

- Blass HG, Eriksson AG, Salvesen KA, Isaksen CV, Christensen B, Møllerløkken G, Eik-Nes SH. (2002). Brains and faces in holoprosencephaly: pre-and postnatal description of 30cases. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 19: 24–38.
- Bray IC, Wright DE. (1998). Estimating the spontaneous loss of Down syndrome fetuses between the times of chorionic villus sampling, amniocentesis and livebirth. *Prenat Diagn. Oct*;18(10):1045-54.
- Breman A, Pursley AN, Hixson P, Bil W, Ward P, Bacino CA, Shaw C, Lupski JR, Beaudet A, Patel A, Cheung SW and Van den Veyver I. (2012). Prenatal chromosomal microarray analysis in a diagnostic laboratory; experience with >1000 cases and review of the literature. *Prenatal Diagnosis*, 32, 351–361.
- Busby A, Abramsky L, Dolk H, Armstrong B. Eurocat Folic Acid Working Group. Preventing neural tube defects in Europe: Population based study. *BMJ* 2005 Mar; 330: 574–575.
- Campbell S, Johnstone FD, Holt EM, May P. (1972). Anencephaly: early ultrasonic diagnosis and active management. *Lancet. Dec 9*; 2 (7789):1226–1227.
- Cankur Ş. Merkezi Sinir Sistemine Giriş ve Medulla Spinalis. (2001). Uludağ Üniversitesi. Erişim 08.01.2012. <http://anatomi.uludag.edu.tr/mss2.htm>.
- Cardoso C, Leventer RJ, Ward HL, Toyo-Oka K, Chung J, Gross A. (2003). Refinement of a 400-kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller-Dieker syndrome, and other phenotypes secondary to deletions of 17p13.3. *Am J Hum Genet*;72(4):918-30.
- Chadie A, Radi S, Trestard L, Charollais A, Eurin D, Verspyck E, Marret S; Haute-Normandie Perinatal Network. (2008). Neurodevelopmental outcome in prenatally diagnosed isolated agenesis of the corpus callosum. *Acta Paediatr. Apr*; 97(4):420-4. Epub 2008 Feb 27.
- Chan A, Pickering J, Haan E et al. (2001). ‘Folate before pregnancy’: The impact on women and health professionals of a population-based health promotion campaign in South Australia. *Med J Aust Jan*; 174: 631–636.

- Chen CP, Su YN, Chern SR, Tsai FJ, Hsu CY, Lee CC, Wang W. (2010). Prenatal diagnosis of a 4.9-Mb deletion of 10q11.21 --> q11.23 by array comparative genomic hybridization. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Mar;49(1):117-9.
- Chen CP, Devriendt K, Lee CC, Chen WL, Wang W, Wang TY. (1999) Prenatal diagnosis of partial trisomy 3p(3p23-->pter) and monosomy 7q(7q36-->qter) in a fetus with microcephaly alobar holoprosencephaly and cyclopia. *Prenat Diagn.* Oct;19(10):986-9).
- Chen CP, Kuo YK, Su YN, Chern SR, Tsai FJ, Wu PC, Chen YT, Town DD, Wang W. (2011). Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a derivative chromosome der(18;18)(q10;q10) del(18)(q11.1q12.1)del(18)(q22.1q22.3) presenting as apparent isochromosome 18q in a fetus with holoprosencephaly. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Jun;50(2):182-7.
- Chen CP, Su YN, Young RS, Tsai FJ, Wu PC, Chern SR, Town DD, Pan CW, Wang W. (2010). Partial trisomy 16p (16p12.2→pter) and partial monosomy 22q (22q13.31→qter) presenting with fetal ascites and ventriculomegaly. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Dec; 49(4):506-12.
- Chen CP. (2007). Chromosomal abnormalities associated with neural tube defects (II): partial aneuploidy. *Taiwan J Obstet Gynecol.* Dec;46(4):336-51.
- Chen CP.(2009) Prenatal sonographic features of fetuses in trisomy 13 pregnancies (III). *Taiwan J Obstet Gynecol.* Dec;48(4):342-9.
- Chen M, Hwu WL, Kuo SJ, Chen CP, Yin PL, Chang SP, Lee DJ, Chen TH, Wang BT, Lin CC. (2006). Subtelomeric rearrangements and 22q11.2 deletion syndrome in anomalous growth-restricted fetuses with normal or balanced Gbanded karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol.* Dec;28(7):939-43.
- Cruz JB, Nunes VS, Clara SA, Perone D, Kopp P, Nogueira CR. (2010). Molecular analysis of the PROP1 and HESX1 genes in patients with septo-optic dysplasia and/or pituitary hormone deficiency. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*;54(5):482-7.
- Curry CJ, Stevenson RE, Aughton D, Byrne J, Carey JC, Cassidy S, Cunniff C, Graham JM Jr, Jones MC, Kaback MM, Moeschler J, Schaefer GB, Schwartz S, Tarleton J, Opitz J. (1997). Evaluation of mental retardation: recommendations of a Consensus Conference: American College of Medical Genetics. *Am J Med Genet.* Nov 12;72(4):468-77.

- D'Amours G, Kibar Z, Mathonnet G, et al. (2011). Whole-genome array CGH identifies pathogenic copy number variations in fetuses with major malformations and a normal karyotype. *Clin Genet* Apr 15. [Epub ahead of print]
- Dale JW, Schantz MV, Plant N. Analysis of Genetic Variation. In: Dale JW, Schantz MV, Plant N (ed) *From Genes to Genomes Concepts and Applications of DNA Technology*. (2012). Wiley-Blackwell. 3th ed. pp. 275-292.
- 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. (2007). Cryptic deletions are a common finding in "balanced" reciprocal and complex chromosome rearrangements: a study of 59 patients. *J Med Genet*, 44(12):750-762.
- De Rijk-Van Andel JF, Arts WF, Hofman A, Staal A, Niermeijer MF. (1991). Epidemiology of lissencephaly type I. *Neuroepidemiology*;10: 200-204.
- Decipher. <http://decipher.sanger.ac.uk/>.
- Deeb SS ve Motulsky AG. (2011). Red-green colour vision defect. Includes: Red-Green Color Blindness. Seattle (WA): University of Washington, Seattle.
- Dudek R, Fix JD. *Nervous System*. In: Dudek R, Fix JD (ed): *Embryology* (2011). 5th ed., LippincottWilliams&Wilkins, pp. 70-92.
- Edelmann L ve Hirschhorn K. (2009). Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N Y Acad Sci*. Jan;1151:157-66. Review.
- Eijk-Van Os PG, Schouten JP. (2011). Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA[®]) for the Detection of Copy Number Variation in Genomic Sequences. *Methods Mol Biol*.;688:97-126.
- ENSEMBL. <http://www.ensembl.org/index.html>.
- Evangelidou P, Sismani C, Ioannides M, et al. (2010). 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*;3:24.

Fetal Anatomy: Intracranial Anomalies; Hydrocephalus. (2008). Internette ulaşım; 15.03.2012. http://prosono.ieasysite.com/obg-notes_fetal_anatomy_intracranial.pdf.

Feuk L, Carson AR, Scherer SW. (2006). Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. Feb;7(2):85-97.

Fiorentino F, Caiazzo F, Napolitano S, Spizzichino L, Bono S, Sessa M, Nuccitelli A, Biricik A, Gordon A, Rizzo G, Baldi M. (2011). 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. doi: 10.1002/pd.2884. Epub 2011 Oct 28.

Fong K, Chong K, Toi A, Uster T, Blaser S, Chitayat D. (2011). Fetal ventriculomegaly secondary to isolated large choroid plexus cysts: prenatal findings and postnatal outcome. *Prenat Diagn*; 31: 395–400.

Friedman J, Adam S, Arbour L, Armstrong L, Baross A, Birch P, Boerkoel C, Chan S, Chai D, Delaney AD, Flibotte S, Gibson WT, Langlois S, Lemyre E, Li HI, MacLeod P, Mathers J, Michaud JL, McGillivray BC, Patel MS, Qian H, Rouleau GA, Van Allen MI, Yong SL, Zahir FR, Eydoux P, Marra MA. (2009). Detection of pathogenic copy number variants in children with idiopathic intellectual disability using 500 K SNP array genomic hybridization. *BMC Genomics*. Nov 16;10:526.

Frints SG, Schrandt-Stumpel CT, Schoenmakers EF, Engelen JJ, Reekers AB, Van den Neucker AM, Smeets E, Devlieger H, Fryns JP. (1998). Strong variable clinical presentation in 3 patients with 7q terminal deletion. *Genet Couns*.;9(1):5-14.

Friocourt G ve Parnavelas JG. (2011). Identification of Arx targets unveils new candidates for controlling cortical interneuron migration and differentiation. *Front Cell Neurosci*.;5:28. Epub 2011 Dec 27.

Galasso C, Lo-Castro A, Lalli C, Nardone AM, Gullotta F, Curatolo P. (2008). Deletion 2q37: an identifiable clinical syndrome with mental retardation and autism. *J Child Neurol*. Jul;23(7):802-6.

Ganal MW, Durstewitz G, Polley A, Bérard A, Buckler ES, Charcosset A, Clarke JD, Graner EM, Hansen M, Joets J, Le Paslier MC, McMullen MD, Montalent P, Rose M, Schön CC, Sun Q, Walter H, Martin OC, Falque M. (2011). A large maize (*Zea mays* L.) SNP genotyping array: development and germplasm genotyping, and genetic mapping to compare with the B73 reference genome. *PLoS One*. ;6(12):e28334. Epub 2011 Dec 8.

GeneCards V3 Human Genes | Gene Database | Gene Search, <http://www.genecards.org>

Gignac J, Danis K, Tihy F, Lemyre E. (2006). Prenatal detection of subtelomeric rearrangements by multi-subtelomere FISH in a cohort of fetuses with major malformations. *Am J Med Genet A*. Dec 15;140(24):2768-75.

Gilbert-Berness E, Debich-Spicer D. Chromosomal Abnormalities in the Embryo and Fetus. In: Gilbert-Berness E, Debich-Spicer (ed): *Embryo and Fetal Pathology* (2004). 1th ed. Cambridge University Press.

Goetzinger KR, Stamilio DM, Dicke JM, Macones GA, Odibo AO. (2008). Evaluating the incidence and likelihood ratios for chromosomal abnormalities in fetuses with common central nervous system malformations. *Am J Obstet Gynecol*. Sep;199(3):285.e1-6.

Grinberg I, Northrup H, Ardinger H, Prasad C, Dobyns WB, Millen KJ. (2004). Heterozygous deletion of the linked genes *ZIC1* and *ZIC4* is involved in Dandy-Walker malformation. *Nat Genet*. Oct;36(10):1053-5. Epub 2004 Aug 29.

Guerrini E, Parrini E. (2010). Neuronal migration disorders *Neurobiol Dis*;38(2):154-66.

Güngör S, Yalınzoğlu D, Topçu M. (2007). Kortikal gelişimsel malformasyonlar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*; 50: 210-225.

Gupta JK, Cave M, Lilford RJ, Farrell TA, Irving HC, Mason G, Hau CM. (1995). Clinical significance of fetal choroid plexus cysts. *Lancet*. Sep 16;346(8977):724-9.

Gupta JK, Lilford RJ. Assessment and management of fetal agenesis of the corpus callosum. *Prenat Diagn*. 1995 Apr;15(4):301-12.

Gurrieri F, Trask BJ, van den Engh G, Krauss CM, Schinzel A, Pettenati MJ, Schindler D, Dietz-Band J, Vergnaud G, Scherer SW et al. (1993). Physical mapping of the holoprosencephaly critical region on chromosome 7q36. *Nat Genet*. Mar;3(3):247-51.

- Has R, Ermiş H, Yüksel A, Ibrahimoglu L, Yildirim A, Sezer HD, Başaran S. (2004). Dandy-walker malformation: a review of 78 cases diagnosis by prenatal sonography. *Fetal Diagn Ther.* Jul-Aug; 19(4):342-7.
- Hebert JM and Fishell G. (2008). The genetics of early telencephalon patterning: some assembly required. *Nat Rev Neurosci.* Sep;9(9):678-85.
- Hehr U, Pineda-Alvarez DE, Uyanik G, Hu P, Zhou N, Hehr A, Schell-Apacik C, Altus C, Daumer-Haas C, Meiner A, Steuernagel P, Roessler E, Winkler J, Muenke M. (2010). Heterozygous mutations in *SIX3* and *SHH* are associated with schizencephaly and further expand the clinical spectrum of holoprosencephaly. *Hum. Genet.* 127: 555-561.
- Hengstschläger M, Bettelheim D, Drahonsky R, Repa C, Deutinger J, Bernaschek G. (2004). Prenatal diagnosis of tetrasomy 9p with Dandy-Walker malformation. *Prenat Diagn.* Aug;24(8):623-6.
- Hillman SC, Pretlove S, Coomarasamy A, McMullan DJ, Davison EV, Maher ER, Kilby MD (2011). Additional information from array comparative genomic hybridization technology over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: a systematic review and meta-analysis, *Ultrasound Obstet. Gynecol.*37 (1) 6e14.
- Hong SE, Shugart YY, Huang DT, Shahwan SA, Grant PE, Hourihane JO. (2000). Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human *RELN* mutations. *Nat. Genet;* 26: 93–96.
- Huisman TA. (2011). Fetal magnetic resonance imaging of the brain: is ventriculomegaly the tip of the syndromal iceberg?. *Elsevier Inc;* 32:491-509.
- Imataka G, Yamanouchi H, Arisaka O. (2007). Dandy-Walker syndrome and chromosomal abnormalities. *Congenit Anom (Kyoto).* Dec; 47(4):113-8.
- Ishida K, Murofushi M, Nakao K, Morita R, Ogawa M, Tsuji T. (2011). The regulation of tooth morphogenesis is associated with epithelial cell proliferation and the expression of sonic hedgehog through epithelial-mesenchymal interactions. *Biochem Biophys Res Commun.* Feb 18;405(3):455-61. Epub 2011 Jan 19.
- Itsara A, Cooper GM, Baker C, Girirajan S, Li J, Absher D, Krauss RM, Myers RM, Ridker PM, Chasman DI, Mefford H, Ying P, Nickerson DA, Eichler EE. (2009).

Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease. *Am J Hum Genet.* Feb;84(2):148-61. Epub 2009 Jan 22.

Jeanty P, Clavelli WA, Romaris SS. The ultrasound detection of chromosomal anomalies. In: Fleischer AC, Toy EC, Lee W, Manning FA, Romero R (ed): *Sonography in Obstetrics and Gynecology: Principles and Practice* (2012). 7th ed., McGraw Hill, pp 413-439.

Jeelani Y ve McComb JG. (2011). Congenital hydrocephalus associated with myeloschisis. *Child's nervous system* Oct; 27(10):1585-8.

Jeret JS, Serur D, Wisniewski KE, Fisch C. (1986). Frequency of agenesis of the corpus callosum in the developmentally disabled population as determined by computerized tomography. *Pediatr Neurosci*; 12:101–103.

Kalia V, Saggar K, Vibhuti. (2009). Schizencephaly. Vol. 11 No. 2.

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. (1992). Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science.* Oct 30;258(5083):818-21.

Keays DA, Tian G, Poirier K, Huang GJ, Siebold C, Cleak. ve ark. (2007). Mutations in alpha-tubulin cause abnormal neuronal migration in mice and lissencephaly in humans. *Cell*;128:45–57.

Kennedy GC, Matsuzaki H, Dong S, Liu WM, Huang J, Liu G, Su X, Cao M, Chen W, Zhang J, Liu W, Yang G, Di X, Ryder T, He Z, Surti U, Phillips MS, Boyce-Jacino MT, Fodor SP, Jones KW. (2003). Large-scale genotyping of complex DNA. *Nat Biotechnol.* Oct;21(10):1233-7. Epub 2003 Sep 7.

Kim YJ, Byun SY, Jo SA, Shin YB, Cho EH, Lee EY, Hwang SH. (2011). Miller-Dieker Syndrome with der(17)t(12;17)(q24.33;p13.3)pat Presenting with a Potential Risk of Mis-identification as a *de novo* Submicroscopic Deletion of 17p13.3, *Korean J Lab Med.* Jan;31(1):49-53.

Kimball's Biology Pages. Erişim 10.01.2012.

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/C/CNS.html>

Kirchhoff M, Bisgaard AM, Bryndorf T, Gerdes T. (2007). MLPA analysis for a panel of syndromes with mental retardation reveals imbalances in 5.8 of patients with mental

retardation and dysmorphic features, including duplications of the Sotos syndrome and Williams-Beuren syndrome regions. *Eur J Med Genet.* Jan-Feb;50(1):33-42. Epub 2006 Oct 10.

Kurjak A, FA Chervanek, and JM Carrerani. *Atlas of Fetal Anomalies.* (2008). McGraw-Hill Companies.

Lacbawan F, Solomon BD, Roessler E, et al. Clinical spectrum of SIX3-associated mutations in holoprosencephaly: correlation between genotype, phenotype and function. *J Med Genet.* 2009 Jun;46(6):389-98. Epub 2009 Apr 2.

LaFramboise T. (2009). Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Res.* Jul;37(13):4181-93. Epub 2009 Jul 1.

Ledbetter DH ve Martin CL. (2007). Cryptic telomere imbalance: a 15-year update. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* Nov 15;145C(4):327-34.

LeVay S, Baldwin J, *Human sexuality*, 3rd ed. Sinauer Associates, 2009.

Levett LJ, Liddle S, Meredith R. (2001). A large-scale evaluation of amnio-PCR for the rapid prenatal diagnosis of fetal trisomy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* Feb;17(2):115-8.

Li MM ve Andersson HC. (2009). Clinical application of microarray-based molecular cytogenetics: an emerging new era of genomic medicine. *J Pediatr.* Sep;155(3):311-7.

Liao C, Fu F, Li R, Yang X, Xu Q, Li DZ. (2012). Prenatal diagnosis and molecular characterization of a novel locus for Dandy-Walker malformation on chromosome 7p21.3. *Eur J Med Genet.* May 19. [Epub ahead of print].

Lichtenbelt KD, Alizadeh BZ, Scheffer PG, Stoutenbeek P, Schielen PC, Page-Christiaens LC, Schuring-Blom GH. (2011b). Trends in the utilization of invasive prenatal diagnosis in The Netherlands during 2000-2009. *Prenat Diagn.* Aug;31(8):765-72. doi: 10.1002/pd.2764. Epub 2011 Jun 21.

Lichtenbelt KD, Knoers NV, Schuring-Blom GH. (2011a). From karyotyping to array-CGH in prenatal diagnosis. *Cytogenet Genome Res.*;135(3-4):241-50.

Lissencephaly. *Developmental Neuropathology.* Erişim: 03.03.2012. http://webhome.idirect.com/~brainology/brainology/devpath_4_5_lissencephaly.html.

Lobes of the brain. Wikipedia, The Free Encyclopedia World Wide. Erişim 08.02.2012, http://en.wikipedia.org/wiki/Lobes_of_the_brain.

Lu X, Shaw CA, Patel A, Li J, Cooper ML, Wells WR, Sullivan CM, Sahoo T, Yatsenko SA, Bacino CA, Stankiewicz P, Ou Z, Chinault AC, Beaudet AL, Lupski JR, Cheung SW, Ward PA. (2007). Clinical implementation of chromosomal microarray analysis: summary of 2513 postnatal cases. *PLoS One*. Mar 28;2(3):e327.

Macina RA, Negorev DG, Spais C, Ruthig LA, Hu XL, Riethman HC. (1994). Sequence organization of the human chromosome 2q telomere. *Hum Mol Genet*. Oct;3(10):1847-53.

Mademont-Soler I, Morales C, Bruguera J, Madrigal I, Clusellas N, Margarit E, Sánchez A, Soler A. (2010). Subtelomeric MLPA: is it really useful in prenatal diagnosis?. *Prenat Diagn*. Dec;30(12-13):1165-9.

Mahmood S, Ahmad W, Hassan MJ. (2011). Autosomal recessive primary microcephaly(MHCP): clinical manifestations, genetic heterogeneity and mutation continuum. *Orphanet J Rare Dis*. Jun 13;6:39.

Mangale VS, Hirokawa KE, Satyaki PR, Gokulchandran N, Chikbire S, Subramanian L, Shetty AS, Martynoga B, Paul J, Mai MV, Li Y, Flanagan LA, Tole S, Monuki ES. (2008). Lhx2 selector activity specifies cortical identity and suppresses hippocampal organiser fate. *Science*. Jan 18;319(5861):304-9.

Mazzone L, Vassena L, Ruta L, Mugno D, Galesi O, Fichera M. (2012). Brief Report: Peculiar Evolution of Autistic Behaviors in Two Unrelated Children with Brachidactyly-Mental Retardation Syndrome. *J Autism Dev Disord*. Jan 6. [Epub ahead of print].

McDonnell RJ, Johnson Z, Delaney V, Dack P. East Ireland 1980– 94: Epidemiology of neural tube defects. *J Epidemiol Community Health* 1999 Dec; 53(12): 782–788.

MedlinePlus. Erişim 8.02.2012, <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/8753.htm>.

Mellado C, Poduri A, Gleason D, Elhosary PC, Barry BJ, Partlow JN, Chang BS, Shaw GM, Barkovich AJ, Walsh CA. (2010). Candidate gene sequencing of LHX2, HESX1,

and SOX2 in a large schizencephaly cohort. *Am J Med Genet A*. Nov;152A(11):2736-42.

Mellado C, Poduri A, Gleason D, Elhosary PC, Barry BJ, Partlow JN, Chang BS, Shaw GM, Barkovich AJ, Walsh CA. (2010). Candidate gene sequencing of LHX2, HESX1, and SOX2 in a large schizencephaly cohort. *Am J Med Genet A*. Nov;152A(11):2736-42.

Mercier S, Dubourg C, Belleguic M, Pasquier L, Loget P, Lucas J, Bendavid C, Odent S. (2010). Genetic counseling and "molecular" prenatal diagnosis of holoprosencephaly (HPE). *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. Feb 15;154C(1):191-6.

Mercier S, Dubourg C, Garcelon N, Campillo-Gimenez B, Gicquel I, Belleguic M, Ratié L, Pasquier L, Loget P, Bendavid C, Jaillard S, Rochard L, Quélin C, Dupé V, David V, Odent S. (2011). New finding for phenotype-genotype correlations in a large European series of holoprosencephaly cases. *J Med Genet*. Nov;48(11):752-60. Epub 2011 Sep 22.

Microcephaly. Bizarre Medical. Erişim 19.02.2012.
<http://www.bizarremedical.com/microcephaly-a-disorder-of-the-nervous-system/>.

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. (2010). 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.

Milunsky A, Milunsky JM. (2010). *Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment*. 6th ed. John Wiley&Sons Ltd. West Sussex.

Moore KL, Persaud TVN. *The Developing Human: Clinically Oriented Embryology*

Morula. Wikipedia, The Free Encyclopedia World Wide. Erişim 03.02.2012.
<http://en.wikipedia.org/wiki/Morula>.

Moutard M-L. Isolated Corpus callosum agenesis. Orphanet Encyclopedia. Sept. 2003.

Erişim 15.02.2012.

<http://www.orpha.net/data/patho/Pro/en/IsolatedCorpusCallosumAgenesis-FRenPro447.pdf>.

Myrianthopolous, NC. Epidemiology of central nervous system malformations. In: Vinken, PJ.; Bruyn, GW.; Myrianthopolous, NC. (ed). *Congenital malformations of the brain and skull*. (1977). NorthHolland; Amsterdam pp. 139-179.Part I.

Nagamani SC, Erez A, Bay C, Pettigrew A, Lalani SR, Herman K, Graham BH, Nowaczyk MJ, Proud M, Craigen WJ, Hopkins B, Kozel B, Plunkett K, Hixson P, Stankiewicz P, Patel A, Cheung SW. (2012). Delineation of a deletion region critical for corpus callosal abnormalities in chromosome 1q43–q44. *Eur J Hum Genet*. Feb;20(2):176-9. doi: 10.1038/ejhg.2011.171. Epub 2011 Sep 21.

Neural Tube Defect. Greenwood Genetic Center. HealthLine. Erişim 08.02.2012.

http://www.healthline.com/galeimage?contentId=gecd_02_00267&id=gecd_02_img0152.

News Medical. Erişim 07.01.2012. <http://www.news-medical.net/health/What-is-the-Nervous-System.aspx>.

Neyberg, DA, JP McGahan, DH Pretorius, and G Pilu. Cerebral Malformation. In: Neyberg, DA, JP McGahan, DH Pretorius, and G Pilu (ed). *Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies* (2003). LippincottWilliams&Wilkins, pp.221-281..

Neyberg, DA, JP McGahan, DH Pretorius, and G Pilu. Chromosomal Abnormalities. In: Neyberg, DA, JP McGahan, DH Pretorius, and G Pilu (ed). *Diagnostic Imaging of Fetal Anomalies*, (2003). LippincottWilliams&Wilkins, pp.881.

Nicolaides KH, Berry S, Snijders RJ, Thorpe-Beeston JG, Gosden C. (1990). Fetal lateral cerebral ventriculomegaly: associated malformations and chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther.* ; 5(1):5-14.

Nizard J, Bernard JP, Ville Y. (2005). Fetal cystic malformations of the posterior fossa in the first trimester of pregnancy. *Fetal Diagn Ther.* Mar-Apr; 20(2):146-51.

Novelli A, Grati F R, Ballarati L, Bernardini L, Bizzoco D., Camurri L, Casalone R., Cardarelli L., Cavalli P, Ciccone R., Clementi M., Dalpr`a L., Gentile M., Gelli G.,

- Grammatico P, Malacarne M, Nardone AM, Pecile V, Simon G, Zuffard O and Giardino D. (2012). Microarray application in prenatal diagnosis: a position statement from the cytogenetics working group of the Italian Society of Human Genetics (SIGU), November 2011. *Ultrasound Obstet Gynecol*; **39**: 384–388.
- Ogilvie CM, Donaghue C, Fox SP, Docherty Z, Mann K. (2005). Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy using quantitative fluorescence-PCR (QF-PCR). *J Histochem Cytochem*. Mar;53(3):285-8.
- Oligonucleotide Array. İnternette erişim 14.03.2012.
http://www.mun.ca/biology/scarr/Oligonucleotide_Array.html.
- Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
- Özaras N, Yalçın S. Spina Bifida Tedavi ve Rehabilitasyon, 1th ed., Global Help Organisation pp. 3. 1999.
- Padmanabhan R. (2006). Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Japanese Teratology Society Jun*;46(2):55-67.
- Pang T, Atefy R, Sheen V. (2008). Malformations of cortical development. *Neurologist*. May;14(3):181-91.
- Papageorghiou AT, Avgidou K, Spencer K, Nix B, Nicolaides KH. (2006). Sonographic screening for trisomy 13 at 11 to 13(+6) weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol*. Feb;194(2):397-401.
- Papp C, Beke A, Ban Z, Szigeti Z, Toth-Pal E, Papp Z. (2006). Prenatal diagnosis of trisomy 13: analysis of 28 cases. *J Ultrasound Med*. Apr; 25(4):429-35.
- Park CK, Kim J, Yim SY, Lee AR, Han JH, Kim CY, Park SH, Kim TM, Lee SH, Choi SH, Kim SK, Kim DG, Jung HW. (2011). Usefulness of MS-MLPA for detection of MGMT promoter methylation in the evaluation of pseudoprogression in glioblastoma patients. *Neuro Oncol*. Feb;13(2):195-202. Epub 2010 Nov 12.
- Park SJ, Jung EH, Ryu RS, Kang HW, Ko JM, Kim HJ, Cheon CK, Hwang SH, Kang HY. (2011). Clinical implementation of whole-genome array CGH as a first-tier test in 5080 pre and postnatal cases. *Park et al. Molecular Cytogenetics*, 4:12.
- Peiffer A, Singh N, Leppert M, Dobyns WB, Carey JC. (1999). Microcephaly with simplified gyral pattern in six related children. *Am J Med Genet May* 21;84(2):137-44.

- Physioforcare. Hydrocephalus. Erişim 13.02.2012
http://physioforcare.com/blog/?page_id=180.
- Pilu G. Prenatal diagnosis of central nervous system abnormalities. In: Fleischer AC, Toy EC, Lee W, Manning FA, Romero R (ed): *Sonography in Obstetrics and Gynecology: Principles and Practice* (2012). 7th ed., McGraw Hill, pp 413-439.
- Pineda-Alvarez DE, Roessler E, Hu P, Srivastava K, Solomon BD, Siple CE, Fan CM, Muenke M. (2012). Missense substitutions in the GAS1 protein present in holoprosencephaly patients reduce the affinity for its ligand, *SHH*. *Hum Genet.* Feb;131(2):301-10. doi: 10.1007/s00439-011-1078-6. Epub 2011 Aug 13.
- Pinkel D, Albertson DG. (2005). Comparative Genomic Hybridization. *Annual Review of Genomics and Human Genetics.* 6: 331-354.
- Pirola B, Bortotto L, Giglio S, Piovan E, Janes A, Guerrini R, Zuffardi O. (1998). Agenesis of the corpus callosum with Probst bundles owing to haploinsufficiency for a gene in an 8 cM region of 6q25. *J Med Genet.* Dec;35(12):1031-3.
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, Jeffrey SS, Botstein D, Brown PO. (1999). Genom-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat. Genet.* 23(1): 41-46.
- Pooh RK, Pooh KH. Congenital Brain Anomalies. In: Pooh RK, Maeda K, Pooh KH (ed): *An Atlas of Fetal Central Nervous System Disease* (2003). 1th ed., Parthenon Publishing, pp. 96-190.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, and LaMantia AS. The Initial Formation of the Nervous System: Gastrulation and Neurulation (2001). In: Purves D., Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, and LaMantia AS (ed): "Neuroscience." Sinauer Associates, Inc. Erişim 03.02.2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10993/>.
- 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. (2006). 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.
- Ravnan JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, Ledbetter DH, Martin CL. (2006). 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. Epub 2005 Sep 30.

Rickman L, Fiegler H, Shaw-Smith C, Nash R, Cirigliano V, Voglino G, Ng BL, Scott C, Whittaker J, Adinolfi M, Carter NP, Bobrow M. (2006). Prenatal detection of unbalanced chromosomal rearrangements by array CGH. *J Med Genet.* Apr;43(4):353-61. Epub 2005 Sep 30.

rosswiki2008. Erişim 05.02.2012.

<http://rosswikijan2008.pbworks.com/w/page/14975568/Development%20of%20Nervous%20System>.

Sadler TW. (2009). *Langman's Medical Embryology*. 11th ed., Williams&Wilkins, Maryland.

Sahoo T, Cheung SW, Ward P, Darilek S, Patel A, del Gaudio D, Kang SH, Lalani SR, Li J, McAdoo S, Burke A, Shaw CA, Stankiewicz P, Chinault AC, Van den Veyver IB, Roa BB, Beudet AL, Eng CM. (2006). Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using array-based comparative genomic hybridization. *Genet Med.* Nov;8(11):719-27.

Schell-Apacik CC, Wagner K, Bihler M, Ertl-Wagner B, Heinrich U, Klopocki E, Kalscheuer VM, Muenke M, von Voss H. (2008). Agenesis and Dysgenesis of the Corpus Callosum: Clinical, Genetic and Neuroimaging Findings in a Series of 41 Patients. *Am J Med Genet A.* Oct 1; 146A(19): 2501–251.

Schell-Apacik CC, Ertl-Wagner B, Panzel A, Klausener K, Rausch G, Muenke M, von Voss H, Hehr U. (2009). Maternally inherited heterozygous sequence change in the sonic hedgehog gene in a male patient with bilateral closed-lip schizencephaly and partial absence of the corpus callosum. *Am. J. Med. Genet.* 149A: 1592-1594.

Schinzel A. *Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man*. 2th ed. de Gruyter, 2001.

Schluth-Bolard C, Delobelc B, Sanlaville D, Bouted O, Cuissete JM, Suknof S, Labalmea A, Duban-Beduc B, Plessisg G, Jaillard S, Dubourg C, Henrih C, Lucash J, Odent S, Pasquier L, Copin H, Latourm P, Cordiern MP, Nadeau G, Tilla M, Edery P, Andrieuxp J. (2009). Cryptic genomic imbalances in *de novo* and inherited apparently

- balanced chromosomal rearrangements: array CGH study of 47 unrelated cases. *Eur J Med Genet*. Sep-Oct;52(5):291-6. Epub 2009 Jun 6.
- Scholpp S, Wolf O, Brand M, Lumsden A. (2006). Hedgehog signalling from the zona limitans intrathalamica orchestrates patterning of the zebrafish diencephalon. *Development*. Mar;133(5):855-64. Epub 2006 Feb 1
- Schrander-Stumpel C, Fryns JP. (1998). Congenital hydrocephalus: Nosology and guidelines for clinical approach and genetic counseling. *Eur J Pediatr*. May;157(5):355-62.
- Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. (2007). The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. Nov 15;145C(4):335-45.
- Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. (2007). The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: Cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 145C: 335–345.
- Shaffer LG, Coppinger J, Alliman S, et al. (2008). Comparison of microarraybased detection rates for cytogenetic abnormalities in prenatal and neonatal specimens. *Prenat Diagn*;28:789–95.
- Shaikh TH. (2007). Oligonucleotide arrays for high-resolution analysis of copy number alteration in mental retardation/multiple congenital anomalies. *Genet Med*. Sep;9(9):617-25.
- Singh RP, Carr DH. Anatomic findings in human abortions of known chromosome constitution. *Obstet Gynecol*. 1967 Jun; 29(6):806-18.
- Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, Cremer T, Lichter P. (1997). Matrix-based comparative genomic hybridisation: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 20(4):399-407.
- Solomon BD, Gropman A, Muenke M. Holoprosencephaly Overview. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP (ed): *GeneReviews™* (internet). Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2000 Dec 27 (updated 2011 Nov 03).

- Spina Bifida-Degrees of Severity and Treatment. Erişim 10.02.201210.
<http://mdf09jcmdf09jcmm.webnode.com/types-of-spina-bifida/>.
- Srebniak M, Boter M, Oudesluijs G, Joosten M, Govaerts L, Van Opstal D, Galjaard RJ. (2011). Application of SNP array for rapid prenatal diagnosis: implementation, genetic counselling and diagnostic flow. *Eur J Hum Genet*. Dec;19(12):1230-7.
- Stankiewicz P. and Beaudet A. (2007) Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Current Opinion in Genetics & Development*, 17:1–11.
- Stevenson RE, Hall JG, Goodman RM. (1993). *Human Malformations and Related Anomalies*. Oxford University Press, New York.
- Taniguchi K, Anderson AE, Sutherland AE, Wotton D. (2012). Loss of *tgif* function causes Holoprosencephaly by disrupting the *SHH* signaling pathway. *PLoS Genet*.Feb;8(2):e1002524. Epub 2012 Feb 23.
- Tektum. Wikipedia, The Free Encyclopedia World Wide. Erişim 08.02.2012,
<http://tr.wikipedia.org/wiki/Tektum>.
- The International Standards For Cytogenomic Arrays Consortium (ISCA).
www.iscaconsortium.org.
- Theisen A. (2008). Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education*.
- Toksoy G. Fetal kromozom anomalilerinin tanısında multiplex lıgation-dependent probe amplification tekniğinin etkinliğinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Doktora tezi. İstanbul. 2011.
- Tosun M, Torumtay Alıç B, Malatyaloęlu E, Çetinkaya M, Alper T, Kıkçü A. Semilobar Holoprozensefali: Olgu Sunumu. *Omu tıp dergisi* 2006 Nov-Dec; 23(4): 138–140.
- Tunçbilek E. Türkiye'deki yüksek nöral tüp defekti sıklığı ve önlemek için yapılabilecekler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004 Apr-Jun; 47: 79-84.
- Tyreman M, Abbott KM, Willatt LR, et al. (2009). High resolution array analysis: diagnosing pregnancies with abnormal ultrasound findings. *J Med Genet*;46:531–41.

Tyshchenko N, Lurie I, Schinzel A. (2008). Chromosomal map of human brain malformations. *Hum Genet.* Aug;124(1):73-80. Epub 2008 Jun 18.

UCSC Genome Browser. <http://genome.ucsc.edu/>.

Valentine J. (2000). International commission on radiological protection pregnancy and medical radiation. ICRP Publication 84. *Ann ICRP*;30:1-43.

van Zelderen-Bhola SL, Breslau-Siderius EJ, Beverstock GC, Stolte-Dijkstra I, de Vries LS, Stoutenbeek P, de Pater JM. (1997). Prenatal and postnatal investigation of a case with Miller-Dieker syndrome due to a familial cryptic translocation t(17;20)(p13.3;q13.3) detected by fluorescence in situ hybridization. *Prenat Diagn.* Feb;17(2):173-9.

Verloes A. (2004). Microcephalia vera and microcephaly with simplified gyral pattern. Orphanet. Erişim: 03.03.2012. <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-MVMSG.pdf>.

Wilkie AO, Higgs DR, Rack KA, Buckle VJ, Spurr NK, Fischel-Ghodsian N, Ceccherini I, Brown WR, Harris PC. (1991). Stable length polymorphism of up to 260 kb at the tip of the short arm of human chromosome 16. *Cell.* Feb 8;64(3):595-606.

Wladimiroff JW, Cohen-Overbeek TE. Prenatal Diagnosis and Management of Abnormal Fetal Development with Emphasis on the Third Trimester of Pregnancy. In: Milunsky J, Milunsky A (ed): *Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment* (2010). 6th ed. Wiley-Blackwell, pp. 893.

Yıldız ST, Kaya A. (2001). Fetal baş ve boyun anomalilerinin prenatal MRG ile değerlendirilmesi. *Tanısal ve Giriřimsel Radyoloji* 7:497-502.

Yılmaz Z, Özalp Ö, Tarım E, Üçkuyu A. (2007). Comparison of Conventional Cytogenetic and Fluorescence In Situ Hybridization Results of Prenatal Aneuploidy Screening. *Turk J Med Sci* 2007; 37 (2): 69-74.

Yıstra B, van den Ijssel P, Carvalho B, Brakenhoff RH, Meijer GA. (2006). BAC to the future! or oligonucleotides: a perspective for micro array comparative genomic hybridization (array CGH). *Nucleic Acids Res.* Jan 26;34(2):445-50.

Yıstra B, van den Ijssel P, Carvalho B, Brakenhoff RH, Meijer GA. (2006). BAC to the future! or oligonucleotides: a perspective for micro array comparative genomic hybridization (array CGH). *Nucleic Acids Res.* Jan 26;34(2):445-50.

Yüksel H, Başkurt M, Çeliker C, Türkođlu C, Yazıcıoğlu N. (2002). Bir Olgu Nedeniyle Konjenital Uzun QT Sendromu. *Türk Kardiyol Dern Arş*; 30:49-53.

Zhang L, Zhang XH, Liang MY, Ren MH. (2010). Prenatal cytogenetic diagnosis study of 2782 cases of high-risk pregnant women. *Chin Med J (Engl)*. Feb 20;123(4):423-30.

FORMLAR**MOLEKÜLER SİTOGENETİK VE MOLEKÜLER İNCELEMELER İÇİN
BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU****İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ, İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ****TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI****Proje Adı****“FETAL MERKEZİ SİNİR SİSTEMİ ANOMALİLERİNDE SUBMİKROSKOBİK
KROMOZOM ANOMALİLERİNİN MOLEKÜLER TEKNİKLERLE
ARAŞTIRILMASI”****Tarih:**

Bu inceleme, Kadın Doğum Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Perinatoloji Bilim Dalında yapılan Ultrasonografik incelemelerde özellikle Merkezi Sinir Sistemi anomalilerinden birisinin saptanması durumunda Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine fetal kromozom analizi amacı ile gönderilen ve tanı amaçlı yapılan kromozom analizlerinde normal kromozom yapısına sahip olguların olası submikroskopik anomaliler açısından daha detaylı incelenmesi amacı ile yapılacak ek incelemelerden oluşmaktadır. Bu ek incelemelerin yapılmasına izin vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz.

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

1.Yapılacak işlemin tanımı: İnceleme gebeliğinizde yapılan II. Düzey ultrasonografide MSS anomalisi saptandığı halde normal kromozom yapısı saptanması durumunda kromozom anomalilerinin 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-comparative genomic hybridization (Array-CGH) ve bir değişim saptanması durumunda doğrulama amaçlı FISH (Floresan in situ hibridizasyon yöntemleri ile çalışılacaktır.

Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda yeni doku örnekleri almamız gerekebilir. Bu durumda aile tekrar bilgilendirilecek ve izni alınacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Bu incelemeler için sizden alınan örneklerden elde edilecek DNA 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:

Kordon Kanı alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) İğne-batmasına bağlı olarak az bir acı duyulması. (2) İğne batması sonrasında çok nadiren enfeksiyon gelişebilir. (3) düşük riski olabilir (%1).

Koryon Biyopsisi alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) Biyopsi alınan bölgede çok hafif bir acı hissi duyulabilir (2) biyopsi bölgesinde çok nadiren enfeksiyon gelişebilir (3) düşük riski olabilir(%1).

Amniyotik sıvı alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) Biyopsi alınan bölgede çok hafif bir acı hissi duyulabilir (2) biyopsi bölgesinde çok nadiren enfeksiyon gelişebilir (3) düşük riski olabilir (1/200).

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 bağlı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne yada babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı 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.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik 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 Kişi)

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: Doç. Dr. Birsen Karaman

Doç. Dr. Zehra Oya Uyguner

Uzman Bio. Nihan Bilge Satkın

Bio. Selvi ergin

Ulaşılabilir Tel. No.'ları: Direk hat: (0 212) 534 84 40

Dahili hat: (0 212) 414 20 00 – 32564

Ulaşım Adresi:

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

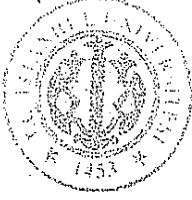
Millet Cad. 34390 Çapa – İSTANBUL

Elektronik Posta Adresi: bkaraman@istanbul.edu.tr
selviergin@gmail.com

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>
(Ebeveyn)			
Aile üyesi	-----		

Aile üyesi	-----		

ETİK KURUL KARARI

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1358


Tarih : 27.07.2011

Konu : Doç.Dr. Birsen KARAMAN hk,

Sayın Doç.Dr. Birsen KARAMAN
Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
Genetik Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi
İlgili :03.06.2011 tarihli 157 sayılı yazınız

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz 2011/1275-642 dosya numaralı "Fetal Merkezi Sinir Sistemi Anomalilerinde Submikroskopik Kromozom Anomalilerinin Moleküler Tekniklerle Araştırılması" başlıklı tez çalışması kurumumuzun 27.07.2011 tarihli 10 sayılı toplantısında etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinize saygılarımla rica ederim.


Prof.Dr. A. Yağız ÜRESİN
İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Eki: Tutanak

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X	
	SİGORTA		
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ		
	ILAN		
	YILLIK BİLDİRİM		
	SONUÇ RAPORU		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ		
	DİĞER		Anabilim Dalı Başkanlığından Üst Yazı ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Rapor Formu, İlgili Elemanların Bilgitendirildiğine Dair Belge, CV, CD, Taahhütname

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 10	Tarih: 27.07.2011
	İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, Öğretim Üyesi Doç.Dr. Birsen KARAMAN'ın ve Öğrenimine devam eden Selvi ERGİN'in koordinatörlüğü ve sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen tez başvuru dosyası ve araştırma ile ilgili belgeler gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	İstanbul Üniversitesi İnsan Denekler Üzerinde Yürütülecek Bilimsel Araştırmalar ve Etik Değerlendirme Kurulları Yönergesi, 10 Aralık 2010 tarihli, T.C. Sağlık Bakanlığı İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
---------------	---

ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		İlişki *		Katılım **		İmza
			E	K	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. A. Yağız ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkanı)	E X	K	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etik Kurul Başkan Yardımcısı)	E	K X	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E X	K	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Rukiye EKER ÖMEROĞLU	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İstanbul Tıp Fakültesi	E	K X	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E X	K	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Pınar SAİP	Onkoloji	İ.Ü. Onkoloji Enstitüsü	E	K X	E	H X	E X	H	
Uzm. Dr. Ahmet Rıza URAS	Biyokimya	Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araş.Hast.Biyokimya	E X	K	E	H X	E X	H	
Prof.Dr. Ayşen BULUT	Halk Sağlığı	Emekli	E	K X	E	H X	E X	H	
Doç.Dr. Tufan TÜKEK	İç Hastalıkları	Okmeydanı Eğitim ve Araş.Hast.İç Hast.1.Dahiliye Kliniği	E X	K	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Ünal KUZGUN	Ortopedi	Şişli Etfal E. ve Arş. Hst	E X	K	E	H X	E	H X	Katılmadı.
Prof. Dr. Ahmet O. ARAMAN	Eczacılık	İ.Ü. Eczacılık Fakültesi	E X	K	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.
Av. Dilek TEMİZ ÖZBEK	Hukukçu	İstanbul Üniversitesi	E	K X	E	H X	E X	H	
Prof. Dr. Demir TIRYAKI	Biyofizik	Emekli	E X	K	E	H X	E X	H	
M. Kerim AKMAN	İİBF İktisat bölümü	Özel (Ekonomist)	E X	K	E	H X	E	H X	T.Katılmadı.

* :Araştırma ile ilişki

** :Toplantıda Bulunma

ZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Selvi	Soyadı	ERGİN
Doğ.Yeri	Diyarbakır	Doğ.Tar.	16.12.1986
Uyruğu	TC	TC Kim No	33517653520
Email	selvergin@gmail.com	Tel	0505 528 5986

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Ens, Genetik	2012
Lisans	Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2009
Lise	Ankara Etimesgut Mehmetçik Lisesi	2004

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	orta	orta	orta	63	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	Çok iyi
NEXUS6.1 Mikroarray Analiz programı	Çok iyi
DEVA Mikroarray Analiz programı	Çok iyi

Uluslararası katıldığı akademik faaliyetler

1. **Ergin S**, Karaman B, Satkın NB, Kalelioglu I, Kayserili H, Yuksel A, Basaran S. Array-CGH results in fetuses with central nervous system abnormalities. European Human Genetics Conference (ESHG) 2012. 23 - 26 Haziran 2012, Nürnberg/Almanya (Poster)
2. Karaman B, Satkın BN, Kalelioglu IH, Has R, **Ergin S**, Kayserili H, Ermiş H, Yüksel A, Basaran S. Chromosomal Imbalances in Holoprosencephaly Sequence; Results of 87 Cases Diagnosed Prenatally. European Human Genetics Conference (ESHG) 2012. 23 - 26 Haziran 2012, Nürnberg/Almanya (Poster)

Ulusal katıldığı akademik faaliyetler

1. **Ergin S**, Darcan C. Büyük tehlike; bakterilerdeki dormansi. 14.Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 03-06 Eylül 2007 Selçuk Üniversitesi,Konya (Poster)
2. 8. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 06-09 Mayıs 2008; Çanakkale (dinleyici)
3. **Ergin S**, Darcan C. Farklı su kaynaklarında fotooksidatif stresin *enterobacter aerogenes*'in yaşamına etkisinin araştırılması. 15.Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 27-30 Ağustos 2008, Gaziantep
4. 1.Ulusal Genetiği Değiştirilmiş Organizmalar Sempozyumu, 20 Aralık 2008 ODTÜ, Ankara (Dinleyici)
5. 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 01-05 Aralık 2010, İstanbul (dinleyici)
6. Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) IV. Kök Hücre Sempozyumu, 25 Haziran 2011 Ankara (dinleyici)

Kurs ve sertifikalar

1. 3rd Course in Integration of Cytogenetics, Microarrays and Massive Sequencing in Biomedical and Clinical Research Hibrid Kursu. 16-20 Ekim 2010, İstanbul.
2. 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, Kalıtım Modelleri, Klinik Tanı ve Genetik Danışma, Mikroarray çeşitleri, Array CGH ve CNVs taramaları ve Moleküler Genetik Tanıda İnteraktif Yaklaşımlar ,01-05 Aralık 2010, İstanbul
3. Türkiye Bilimler Akademisi (TÜBA) II. Kök Hücre Kursu, 24 Haziran 2011 Ankara

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Dağcılık, Kaya tırmanışı, Yüzme, Sinema, Tiyatro