



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ANORMAL ULTRASON BULGUSU OLAN GEBELİKLERDE
A-CGH UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESİN SABUNCU

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİLHAN ARTAN**

2018



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**ANORMAL ULTRASON BULGUSU OLAN GEBELİKLERDE
A-CGH UYGULAMALARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ESİN SABUNCU

**DANIŞMAN
PROF. DR. SEVİLHAN ARTAN**

KABUL VE ONAY SAYFASI

Esin SABUNCU'nun Yüksek Lisans olarak hazırladığı “**Anormal Ultrason Bulgusu Olan Gebeliklerde A-CGH Uygulamaları**” başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek “**KABUL**” edilmiştir.

08.01.2018

Üye : Prof. Dr. Sevilhan ARTAN (Danışman)



Üye : Doç. Dr. Beyhan DURAK ARAS



Üye : Doç. Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN



Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11.01/2018 tarih ve 1155/5663 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veysi GÜNEŞ
Enstitü Müdürü



Özet

Sabuncu, E. Anormal ultrason bulgusu olan gebeliklerde aCGH uygulamaları. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik AD. Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir. 2018.

Canlı doğumların yaklaşık %2-5'inde, şiddeti değişken olmakla birlikte tanımlanabilen bir konjenital anomali söz konusudur. Konjenital malformasyonlar; perinatal hastalık ve ölümlerin büyük bir kısmını oluşturmakta olup toplum sağlığı açısından önem taşımaktadır. Prenatal takipte ultrason kullanımının etkinliğinin artması, konjenital malformasyonların tanımlanmasını olanaklı hale getirmiştir. Ultrason ile saptanan tüm anomalilerin etyolojisi henüz tam olarak tanımlanamasa da günümüzde bazı sayısal/yapısal kromozom düzensizlikleri ile ultrason anomalilerinin ilişkileri bilinmektedir.

Prenatal/postnatal süreçlerde kromozomal anomalilerin saptanmasında konvansiyonel sitogenetik analiz (karyotipleme) halen altın standart özelliğini korumaktadır. Sitogenetik analiz; kromozomlardaki sayısal ve yapısal anomalileri saptama olanağı sunmakla birlikte, rezolüsyonu düşük olması nedeniyle 5-10 Mb'dan daha küçük anomalilerin belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle 5 Mb'dan küçük değişimlerin saptanmasında *Floresan In Situ Hibridizasyon* (FISH), *Multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA) ve *Comparative Genomic Hybridization* (=Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon CGH) gibi moleküler temelli teknikler kullanılmaya başlanmıştır.

Tüm genomdaki genomik kopya sayısı değişimlerinin analizini sağlayan array CGH (aCGH) yöntemi, günümüzde genomik dengesizliklerin incelenmesini sağlayan, altın standart olan sitogenetik analizlere göre rezolüsyonu çok daha yüksek olan yöntemdir. aCGH, karyotipleme ile saptanamayan mikrodelyasyon ve mikroduplicasyonları tek hibridizasyon ile tüm genom boyunca saptayabilmektedir. Ayrıca az miktarda DNA örneğinin çalışma için yeterli olması, fetal hücrelerin kültüre edilmesi ve metafaz plağında inceleme zorunluluğunun ortadan kalkması diğer tekniklere göre avantaj sağlamaktadır.

Bu çalışmada; Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında perinatolog tarafından anormal ultrason bulgusu nedeniyle Anabilim Dalımıza yönlendirilen, konvansiyonel kromozom analizi ve ultrason bulgularına yönelik sendromlarla ilişkilendirilebilecek bölgelere özgü FISH analizleri yapılan ve herhangi bir anomali saptanmayan 30 olgudan elde edilen fetal örneklerin aCGH tekniği ile incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda toplam 30 olgunun 11'inde (%36,6) kopya sayısı değişimleri (CNV'ler) saptanmıştır. On bir örnekte farklı bölgelerde toplam on CNV gözlenmiştir.

Literatürde, farklı grupların yaptığı çalışmalar göz önüne alındığında anomali saptama oranının önemli ölçüde arttığı (%9.3-39) ve ultrason anomalisi olan gebeliklerin a-CGH ile incelenmesi gerektiği görülmektedir.

Anahtar kelimeler ; Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon, fetal ultrason, kromozom anomalileri, prenatal tanı.

Summary

Sabuncu, E. aCGH implementation in pregnancies with abnormal ultrasound findings. Eskişehir Osmangazi University, Institute of Health Science, Department of Medical Genetics. Master Thesis, Eskişehir 2018.

About 2% to 5% of live births have at least one identifiable congenital anomaly at birth, ranging from mild to severe abnormalities. Congenital malformations have been showing importance as health of the population, accounting for a large percentage of perinatal morbidity and mortality. The effectiveness of ultrasonography in prenatal care allowed the identification of the congenital malformations. Although the etiology of ultrasound abnormalities has not been clearly identified yet, it is known that most of the ultrasound abnormalities are related to the chromosomal abnormalities.

The most common diagnostic test for chromosomal abnormalities is G banding-karyotyping. Karyotyping enables to detect numerical and structural abnormalities, but since its low resolution, karyotyping can not be able to detect the abnormalities smaller than 5-10 Mb. Therefore, for detecting the abnormalities smaller than 5 Mb, molecular-based techniques such as *Fluorescent In Situ Hybridization* (FISH), *Multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA) and *Comparative Genomic Hybridization* (CGH) have been used.

Array CGH has emerged as a molecular test for chromosomal analysis and as the method of choice for fast and advanced detection of genomic unbalances. Array CGH is enable to detect microdeletions and microduplications that can not detected by karyotyping. Furthermore, aCGH also has the added advantages; minimal required amount of DNA, avoidance of culturing fetal cells and metaphase spread, and enables to analyze whole genome at once.

In this study, it was aimed to perform aCGH technique in order to investigate 30 samples obtained from fetuses diagnosed by a perinatologist that have ultrasound abnormalities but not have any chromosomal abnormalities detected by karyotyping or FISH.

In our study, CNVs were found in 11 samples of total 30 fetal samples, and 10 CNVs were found on distinct regions.

In the literature, when considered the different study groups, abnormality detection rate is significantly higher (9.3-39%) with a-CGH, and our study also supported the view that the pregnancies with abnormal ultrasound findings must be evaluated by aCGH.

Key words ; Array based comparative genomic hybridization, fetal ultrasound, chromosomal abnormalities, prenatal diagnosis.

İçindekiler

| | Sayfa |
|---|-------|
| KABUL VE ONAY SAYFASI | ii |
| Özet | iii |
| Summary | v |
| İçindekiler | vii |
| Tablo Dizini | xii |
| Şekil Dizini | xiii |
| Simge ve Kısaltmalar Dizini | xv |
| 1 GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2 GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1 Prenatal Tanı | 3 |
| 2.1.1 Prenatal tanının tarihçesi | 3 |
| 2.1.2 Prenatal tanı endikasyonları | 4 |
| 2.2 Prenatal Tanı Testleri | 5 |
| 2.2.1 Non-invaziv prenatal tanı testleri | 6 |
| 2.2.1.1 Ultrasonografi | 6 |
| 2.2.1.1.1 Fetal ense | 6 |
| 2.2.1.1.1.1 NT (Ense saydamlığı) | 6 |
| 2.2.1.1.1.2 Kistik higroma | 7 |
| 2.2.1.1.2 Merkezi sinir sistemi anomalileri | 7 |
| 2.2.1.1.2.1 Medulla spinalis anomalileri | 7 |
| 2.2.1.1.2.2 Beyin anomalileri | 8 |

| | |
|--|----|
| 2.2.1.1.2.2.1 Holoprosensefali | 8 |
| 2.2.1.1.2.2.2 Hidrosefali | 8 |
| 2.2.1.1.2.2.3 Ventrikülomegali | 9 |
| 2.2.1.1.2.2.4 Korpus kallozum agenezisi | 9 |
| 2.2.1.1.2.2.5 Dandy-Walker malformasyonu | 10 |
| 2.2.1.1.2.2.6 Koroid pleksus kisti | 10 |
| 2.2.1.1.3 İntratorasik anomaliler | 10 |
| 2.2.1.1.3.1 Ventriküler septal defekt | 10 |
| 2.2.1.1.3.2 Atrial septal defekt | 11 |
| 2.2.1.1.3.3 Atrioventriküler septal defekt | 11 |
| 2.2.1.1.3.4 Aort koarktasyonu | 11 |
| 2.2.1.1.3.5 Aort stenozu | 12 |
| 2.2.1.1.3.6 Fallot tetralojisi | 12 |
| 2.2.1.1.3.7 Pulmoner stenoz | 12 |
| 2.2.1.1.3.8 Trunkus arteriozus | 12 |
| 2.2.1.1.3.9 Sağ aortik ark | 12 |
| 2.2.1.1.3.10 İntrakardiyak hiperekojenik odak | 13 |
| 2.2.1.1.3.11 Plevral efüzyon | 13 |
| 2.2.1.1.4 Abdominal defektler ve gastrointestinal sistem anomalileri | 13 |
| 2.2.1.1.4.1 Hiperekojenik barsak | 13 |
| 2.2.1.1.4.2 Duedonal atrezi | 14 |
| 2.2.1.1.4.3 Omfalosel | 14 |

| | |
|--|----|
| 2.2.1.1.4.4 Diafragmatik herni | 14 |
| 2.2.1.1.4.5 Persistan sağ umbilikal ven | 14 |
| 2.2.1.1.5 Ürogenital sistem anomalileri | 15 |
| 2.2.1.1.5.1 Pyelektazi | 15 |
| 2.2.1.1.5.2 Megasistit | 15 |
| 2.2.1.1.5.3 Hidronefroz | 15 |
| 2.2.1.1.5.4 Renal agenezi | 15 |
| 2.2.1.1.6 İskelet anomalileri | 16 |
| 2.2.1.1.6.1 Nazal kemik hipoplazisi | 16 |
| 2.2.1.1.6.2 Parmak deformiteleri | 16 |
| 2.2.1.1.6.3 Femur ve humerus uzunluğu | 16 |
| 2.2.1.2 İkili tarama testi | 16 |
| 2.2.1.3 Üçlü ve dörtlü tarama testi | 17 |
| 2.2.1.4 NIPT | 18 |
| 2.2.2 İnvaziv prenatal tanı testleri | 19 |
| 2.2.2.1 Amniyosentez | 20 |
| 2.2.2.2 Koryonik villüs örneklemesi | 21 |
| 2.2.2.3 Kordosentez | 22 |
| 2.3 Kromozom Anomalilerinin Tanısında Kullanılan Yöntemler | 22 |
| 2.3.1 Sitogenetik yöntemler | 22 |
| 2.3.1.1 Konvansiyonel kromozom analizi | 22 |
| 2.3.2 Moleküler sitogenetik yöntemler | 24 |
| 2.3.2.1 FISH | 24 |

| | |
|--|----|
| 2.3.2.2 CGH | 25 |
| 2.3.3 Moleküler yöntemler | 28 |
| 2.3.3.1 QF-PCR | 28 |
| 2.3.3.2 MLPA | 29 |
| 2.4 Kopya Sayısı Değişiklikleri | 29 |
| 3 GEREÇ VE YÖNTEMLER | 30 |
| 3.1 Hasta Grubu | 30 |
| 3.2 Gereçler | 30 |
| 3.2.1 Kullanılan aletler | 30 |
| 3.2.2 Kullanılan kimyasal maddeler | 31 |
| 3.3 Yöntemler | 33 |
| 3.3.1 Genomik DNA eldesi | 33 |
| 3.3.1.1 AS ve CVS örneklerinden DNA eldesi | 33 |
| 3.3.1.2 Fetal kan örneklerinden DNA eldesi | 34 |
| 3.3.2 Genomik DNA'nın niceliksel ve niteliksel analizi | 34 |
| 3.3.3 Genomik DNA enzimatik etiketleme kiti ile restriksiyon kesimi | 35 |
| 3.3.4 Genomik DNA'nın floresan işaretlenmesi | 37 |
| 3.3.5 Etiketlenmiş gDNA'nın temizlenmesi | 37 |
| 3.3.6 Ürün miktarı ve spesifik aktivite hesaplanması | 38 |
| 3.3.7 Hibridizasyon öncesi hazırlık | 39 |
| 3.3.8 Mikroarray hibridizasyonu | 40 |
| 3.3.9 Hibridizasyon sonrası yıkamaya hazırlık | 41 |

| | |
|---|----|
| 3.3.10 Hibridizasyon sonrası yıkama | 42 |
| 3.3.11 Mikroarray taratılması | 43 |
| 3.3.12 İmaj dosyalarının analizi | 44 |
| 3.3.13 Array sonuçlarının yorumlanması | 47 |
| 4 BULGULAR | 49 |
| 4.1 Olguların Toplu Sonuçları | 49 |
| 4.2 Klinik Olarak İlişkilendirilebilen CNV'lerin Saptandığı Olguların Sunumları | 52 |
| 4.2.1 Olgu 1 | 52 |
| 4.2.2 Olgu 4 | 53 |
| 4.2.3 Olgu 8 | 54 |
| 4.2.4 Olgu 14 | 55 |
| 4.2.5 Olgu 19 | 56 |
| 4.3 Saptanan Kopya Sayısı Değişimlerinin Dağılımı | 57 |
| 4.3.1 Saptanan kopya sayısı değişimlerinin kromozomlara göre dağılımları | 57 |
| 5 TARTIŞMA | 58 |
| 6 SONUÇ VE ÖNERİLER | 70 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ | 72 |
| Ekler Dizini | 91 |
| Özgeçmiş | 95 |

Tablo Dizini

| | Sayfa |
|---|-------|
| 2.1. Anöploidide durumunda PAPP-A ve hCG düzeylerindeki değişimler | 17 |
| 2.2. Trizomi 21, Trizomi 18 ve NTD durumlarında AFP, uE3 ve hCG düzeylerindeki değişimler | 18 |
| 3.1. Mikroarray başına gerekli başlangıç gDNA miktarı | 35 |
| 3.2. Restriksiyon kesim karışımı | 36 |
| 3.3. Restriksiyon kesimi için ısı döngüleyicisi programı | 36 |
| 3.4. DNA denatürasyonu ve fragmantasyonu için ısı döngüleyicisi programı | 36 |
| 3.5. Floresan etiketleme karışımı | 37 |
| 3.6. DNA etiketlemesi için ısı döngüleyicisi programı | 37 |
| 3.7. Beklenen spesifik aktivite ve ürün miktar değerleri | 39 |
| 3.8. Hibridizasyon karışımı | 39 |
| 3.9. Isı döngüleyicisi programı | 40 |
| 4.1. 30 olguya ait toplu sonuçlar | 50 |
| 4.2. Kopya sayısı değişimlerinin kromozomlara göre dağılımı | 57 |

Şekil Dizini

| | Sayfa |
|--|-------|
| 2.1. Amniyosentez uygulaması | 20 |
| 2.2. CVS uygulaması | 21 |
| 2.3. Kordosentez uygulaması | 22 |
| 2.4. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle analiz edilen erkek olguya ilişkin karyotip | 23 |
| 2.5. a-CGH işlemlerinin genel özeti | 27 |
| 3.1. a-CGH çalışmasının şematik özeti | 33 |
| 3.2. 8x60K mikroarray slaytı için örneklerin yayıldığı contalı lam | 40 |
| 3.3. Mikroarray slaytın contalı lam üzerine yerleştirilmesi | 41 |
| 3.4. Hibridizasyon fırınına (rotatora) yerleştirilmeden önce hibridizasyon haznesinin sıkıştırılması | 41 |
| 3.5. Hibridizasyon sonrası yıkama | 42 |
| 3.6. Slaytı lam tutucusuna yerleştirme | 43 |
| 3.7. Feature Extraction yazılım ayarları | 44 |
| 3.8. a-CGH kalite rapor örneği (1) | 45 |
| 3.9. a-CGH kalite rapor örneği (2) | 46 |
| 3.10. Enzimatik etiketleme için kalite kontrol metrik eşik değerleri | 47 |
| 4.1 Olgu 1'e ait 17p13.3 amplifikasyonu (195 kb) a-CGH görüntüsü | 52 |
| 4.2. Olgu 4'e ait 7p21.3-p21.2 amplifikasyonu (1,929 kb) a-CGH görüntüsü | 53 |
| 4.3. Olgu 8'e ait 6q22.31-q22.32 amplifikasyonu (3,530 Kb) a-CGH görüntüsü | 54 |

| | |
|--|----|
| 4.4. Olgu 8'e ait 8q21.11 bölgesi amplifikasyonu (1,451 Kb) a-CGH görüntüsü | 54 |
| 4.5. Olgu 14'e ait 1q4.1 amplifikasyonu (2,727 Kb) a-CGH görüntüsü | 55 |
| 4.6. Olgu 19'a ait 4p16.1 delesyonu (93 Kb) a-CGH görüntüsü | 56 |

Simge ve Kısaltmalar Dizini

| | |
|----------|--|
| aCGH | Array Comparative Genomic Hybridization (Dizin Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon) |
| AFP | Alfa fetoprotein |
| Amp | Amplifikasyon |
| AS | Amniyosentez |
| ASD | Atrial septal defekt |
| AVSD | Atrioventriküler septal defekt |
| BAC | Bacterial Artificial Chromosomes (Bakteriyel yapay kromozom) |
| cfDNA | Cell-free DNA |
| cDNA | Complementary DNA (Komplementer DNA) |
| CNV | Copy Number Variation (Kopya sayısı değişiklikleri) |
| CRL | Crown-rump Length (Baş-popo mesafesi) |
| CVS | Chorionic Villus Sampling (Koryonik villüs örnekleme) |
| Cy3 | Cyanine3 (Siyanin3) |
| Cy5 | Cyanine5 (Siyanin5) |
| DECIPHER | Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (database) |
| Del | Delesyon |
| DGV | Database of Genomic Variants (database) |
| DILV | Double Inlet Left Ventricle (Çift inlet sol ventrikül) |
| DNA | Deoxyribonucleic acid (Deoksiribonükleik asit) |

| | |
|--------|--|
| DORV | Double Outlet Right Ventricle (Çift çıkımlı sağ ventrikül) |
| DWM | Dandy-Walker Malformasyonu |
| EDTA | Etilen Diamin Tetra Asetik asit |
| FEK | Floresan Etiketleme Karışımı |
| FISH | Fluorescent In-Situ Hybridization (Floresan In-Situ Hibridizasyon) |
| gDNA | Genomic DNA (Genomik DNA) |
| ISCA | International Standards for Cytogenomic Arrays |
| Kb | Kilobaz |
| KS | Kordosentez |
| LDS | Loeys-Dietz Sendromu |
| Mb | Megabaz |
| MLPA | Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification |
| MDS | Miller-Dieker Sendromu |
| NIPT | Non-invaziv Prenatal Test |
| NOR | Nucleolar Organizer Region |
| NT | Nuchal Translucency (Ense Saydamlığı) |
| NTD | Nöral Tüp Defekti |
| OMIM | Online Mendelian Inheritance in Man (database) |
| PAPP-A | Pregnancy associated plasma protein A (Gebelik ilişkili plasental protein A) |
| PBS | Phosphate Buffer Solution (Fosfat tampon solüsyonu) |
| PCR | Polimerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) |

| | |
|--------------|---|
| QF-PCR | Quantitative Fluorescent – PCR |
| RKK | Restriksiyon Kesim Karışımı |
| RNA | Ribonucleic Acid (Ribonükleik Asit) |
| SNP | Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi) |
| STR | Short Tandem Repeat |
| TE | Tris-EDTA |
| UCSC | University of California Santa Cruz (database) |
| uE3 | Unconjugated Estriol 3 |
| UPD | Uniparental Disomy |
| USG | Ultrasonography (Ultrasonografi/Ultrason) |
| VSD | Ventriküler Septal Defekt |
| β -hCG | β -human chorionic gonadotropin |

1- GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelik öncesi ve/veya gebelik sırasında ortaya çıkan endikasyonlar nedeniyle prenatal tanı 1970'lerden itibaren dünyada ve ülkemizde rutin olarak uygulanmaktadır (Hsu, 1986; Nussbaum, McInnes & Willard, 2005). Önceki gebeliklerde pozitif öykünün olması, anne veya babanın bir kromozom düzensizliği açısından taşıyıcı olması, ileri maternal yaş endikasyonlarının yanı sıra gebelik sırasında tarama tekniklerinde yüksek riskin olması ve/veya ultrasonografi (USG) değerlendirmesinde sayısal/yapısal kromozom düzensizlikleri ile ilişkili malformasyonların saptanması, uygun invaziv yöntem uygulanarak fetal örneğin alınması ve karyotip analizlerinin yapılmasını gerektirmektedir (Aydınlı, 1992; Kemal & Cemil, 2002).

Fetal örneklerde (koryon biyopsisi, amniyosentez veya kordosentez ile elde edilen) gerçekleştirilecek karyotip analizlerinde hedef; en kısa zamanda en doğru sonuca ulaşmaktır. Bu nedenle, alınan fetal örnekler, öncelikle sık gözlenen sayısal kromozom düzensizlikleri (Trizomi 21, Trizomi 13, Trizomi 18 ve cinsiyet kromozomu anöplidileri) açısından Fluorescent In-Situ Hybridization (FISH), Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) veya Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction (QF-PCR) yöntemleriyle değerlendirilmektedir (Lazier vd., 2016). Ancak diğer kromozomlara ilişkin sayısal anomaliler ile tüm kromozomlardaki yapısal kromozom düzensizlikleri için altın standart olan kromozom analizinin yapılması gerekmektedir (Kemal & Cemil, 2002).

Konvensiyonel kromozom analizi, kültüre edilen fetal örneklerden hazırlanan metafaz kromozomlarının sayısal ve yapısal olarak analizidir (Lazier vd., 2016). Kromozom analizi, sayısal kromozom anomalileri ile 5-10 megabaz (Mb) büyüklüğündeki yapısal anomalileri belirlememizi sağlamaktadır. Ancak 5 Mb'dan daha küçük yapısal anomalilerin (delesyon, duplikasyon, inversiyon gibi) belirlenmesinde, konvensiyonel kromozom analizinin rezolüsyon gücü yetersiz kalmaktadır (Chen vd., 2013; Lazier vd., 2016). Fetal USG anomalilerinin belirli delesyon sendromları ile ilişkili olması durumunda, rezolüsyonu daha yüksek olan, sadece ilgili delesyon bölgesinin analizini sağlayan lokus spesifik FISH veya MLPA yöntemlerinden rutin olarak yararlanılmaktadır (Saldarriaga, Garcia-Perdomo, Arango-Pineda & Fonseca, 2015).

Fetal USG anomalisi saptanan ve bu nedenle konvensiyonel karyotip yapılan gebeliklerin yaklaşık %35 kadarında kromozom anomalileri belirlenebilmektedir. Ancak belirli sendromlarla ilişkili olmayan fetal USG anomalisi saptanan ve/veya fetal gelişme geriliği olan fetusların genomlarının yüksek rezolüsyonlu yaklaşımlarla değerlendirilmesi gerekmektedir ki bu, son on yıllık süreç içerisinde yaygın uygulama alanı

bulan mikrodizin (microarray) teknolojisi sayesinde rutin olarak uygulanabilir hale gelmiştir (Fiorentino vd., 2011; Evangelidou vd., 2013). Mikrodizin teknolojisinin bir tipi olan yüksek rezolüsyonlu array-based CGH (Comparative Genomic Hybridization) (a-CGH), tek bir hibridizasyon aşamasında tüm genomdaki dengesiz yapısal ve sayısal kromozom düzensizlik bölgelerinin tanılarının konmasını olanaklı hale getirmiştir (Fiorentino vd., 2011; Jansen vd., 2015).

Array-CGH, tüm insan genomundaki gen bölgelerinin normal dizilerinin olduğu mikroçiplerin hasta DNA'sı ile karşılaştırılması temeline dayanan bir teknolojidir. Farklı gen bölgelerine ilişkin DNA fragmentlerini içeren mikroçipler sayesinde mikredelesyon, mikroduplikasyon gibi dengesiz anomaliler belirlenmektedir (Evangelidou vd., 2010). Kullanılan mikroçipin rezolüsyonu arttıkça olgularda bulunan ve fenotipik anomalilere neden olan submikroskopik mutasyonları saptama oranı da artmaktadır (Evangelidou vd., 2013).

Fetal anomaliler açısından a-CGH ile saptama oranının önemli ölçüde arttığı (%9.3-39), kültür defekti ve/veya uzun süreli kültür süresi gibi dezavantajları nedeniyle konvansiyonel karyotipleme yerine fetal USG anomalisi olan olguların a-CGH ile analizi önerilmektedir (Brock, Rodeck & Ferguson-Smith, 1992; Fiorentino vd., 2011).

Çalışmalar USG anomalisi olan ya da görünürde *de novo* dengeli yeniden düzenlenmelere sahip gebeliklerde a-CGH ile tanı konması gerektiğini göstermektedir (Jansen vd., 2015). Giardino ve ark. prenatal tanıda *de novo* dengeli kromozomal yeniden düzenlenme oranlarını amniyotik sıvıda (AS) %0.09, koryon villus örnekleme (CVS) %0.08 ve kordosentezde (KS) %0.05 olarak bildirmiştir. Bununla birlikte karyotipleme ile dengeli translokasyon olarak tanımlanan hastaların yaklaşık %40'ında, genetik materyal kaybı veya dengesizlik olduğu belirlenmiş ve bu yüzden ancak a-CGH ile saptanabileceği sonucuna varılmıştır. Bu bilgilerin ışığında, kromozom analizinde dengeli translokasyon olduğu saptanan vakalarda a-CGH'in önemli bilgi sağlayabileceği (Fiorentino vd., 2011), çok sayıda saptanamayan anomalilerin ancak USG incelemesi ve a-CGH analizi kombinasyonu ile saptanabileceği bildirilmektedir (Jansen vd., 2015).

Bu çalışmada perinatolog tarafından anormal USG bulgusu olduğu belirlenen, konvansiyonel kromozom analizi ve USG bulgularına yönelik sendromlarla ilişkilendirilebilecek bölgelere spesifik FISH çalışması yapılan ve herhangi bir anomali saptanamayan 30 olgudan elde edilen örneklerin a-CGH tekniği ile incelenmesi amaçlanmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1-Prenatal Tanı

Prenatal tanı fetal kromozomal anomalilerin, malformasyon veya hastalıkların in utero olarak saptanmasıdır (Beksaç, 1996). Prenatal tanıda amaç, risk altındaki fetusta gebeliğin etik açıdan terminasyona uygun olduğu dönem süresince, endikasyon doğrultusunda bir genetik hastalığın var olup olmadığını ortaya koymaktır (Beksaç, 1996; Aydın, 1992). Prenatal tanı, tedavisi olmayan, yaşam süresi kısıtlı, ağır bedensel veya zihinsel sekellere yol açan hastalıklar için yüksek risk taşıyan ailelere sağlıklı bir çocuk sahibi olabilmeleri için olanak sağlamaktadır (Aydın, 1992). Günümüzde yapılan gebelik takibinde öncelikli olarak fetal anatomi ve fetal genetik yapı değerlendirilmektedir. Fetusa ait genetik yapı incelenerek varsa hastalığın tanısı en kısa sürede aileye bildirilmeli (Nussbaum vd., 2005), söz konusu hastalık için danışmanlık verilmeli, gebeliğin devam etmesi ya da sonlandırılması yönünde seçenek sunularak ebeveynlerin karar vermeleri için zaman tanınmalıdır. Gebeliğin devam etmesi yönünde alınan kararda prenatal tanı değerlendirmesi ile söz konusu gebeliğin sağlıklı devam etmesi sağlanır. Gebeliğin sonlandırılmasının gerekli olduğu durumlarda ise hem bedensel hem de psikolojik sorunların en aza indirilmesinde erken tanının önemi oldukça büyüktür.

2.1.1-Prenatal tanının tarihçesi

Amniyosentez ilk defa polihidroamnioslu hastaların semptomatik tedavisi için kullanıldığı 1882 yılında tanımlanmıştır. Bu uygulamanın tanısal özellikleri 1950 yılına kadar gündeme gelmemiştir. Bevis tarafından 1952 yılında, amniyotik sıvının analizinin Rh uyuşmazlığı olan çiftlerde bebeğin etkilenme derecesinin saptanmasında kullanılabileceği gösterilmiştir (Valenti, Schutta & Kehaty, 1968; Wald vd., 1992; Bui, Vetro, Zuffardi & Shaffer, 2011). Fuchs ve Riis 1956 yılının sonunda fetal cinsiyetin; amniyotik sıvı kültürü gerçekleştirilerek elde edilen hücrelerde Barr cisimciklerinin varlığının incelenmesi ile saptanabileceğini göstermiştir. Amniyotik sıvıdaki hücrelerle cinsiyet tayinin yapılması ile hemofili ve musküler distrofi gibi X kromozomal resesif geçişli hastalıkların antenatal dönemde saptanması mümkün olmuştur (Brock vd., 1992). Steele ve Breg 1966 yılında amniyotik sıvı hücrelerinin kültüre edilmesi ile fetal karyotipin analiz edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Amniyotik sıvı örneklerinde fetal kromozom kuruluşunun belirlenmesi prenatal tanının başlangıcı olarak değerlendirilmektedir (Steele & Breg, 1966; Brock vd., 1992; Nussbaum vd., 2005). Valenti ve ark. tarafından ilk defa 1968 yılında amniyosentezde trizomi 21 tespit edilmiştir (Valenti vd., 1968).

Amniyosentezin genetik hastalıklar bakımından risk taşıyan gebeliklerin antenatal takip ve yönetiminde uygun bir prosedür olduğu 1970 yılından günümüze kadar kabul görmektedir (Hsu, 1986; Bui vd., 2011;). Araştırmacılar bundan sonraki dönemlerde, teknik, güvenilirlik ve doğruluk bakımından prenatal tanı prosedürleri ile ilgili ortaya çıkan problemleri aydınlatmak için araştırmalar yapmışlardır.

2.1.2-Prenatal tanı: Amaç ve endikasyonlar

Prenatal tanı, fetustaki anomalilerin belirlenmesi ve gebeliğin sonlandırılması gibi bir basit amaca hizmet etmemektedir. Aksine prenatal tanının hedefleri aşağıda verilen maddeler doğrultusunda geniş kapsamlıdır:

- Anomalili çocuğa sahip olma riski olan ebeveynlerin bilgilendirilmesi ve onlara seçim hakkının sağlanması
- Özellikle yüksek risk grubundaki gebeliklerde güvencenin sağlanması ve anksiyetenin azaltılması
- İlgili düzensizliğe özgü test olanaklarının sunulması fetusta anomalinin olup olmadığı konusunda yüksek riske sahip çiftlerin bilgi sahibi olmalarının sağlanması
- Ebeveynlerin gebelik, doğum, postnatal süreç vb. konularda bilgilendirilmeleri ve gerektiğinde psikolojik destek almalarının sağlanması
- Tedavi edilebilecek etkilenmiş fetuslara tedavi olanaklarının sunulması

Prenatal tanı endikasyonları; gebelik öncesi ve gebelik sırasında ortaya çıkan endikasyonlar olarak iki ana grupta toplanabilir:

Gebelik öncesi ortaya çıkan endikasyonlar:

- İleri maternal yaş
- Ebeveynlerde (maternal ve/veya paternal) dengeli yapısal kromozom düzensizliğinin bulunması
- Önceki çocukta kromozom anomalisi öyküsünün olması
- Kindredde kromozom anomalisi öyküsünün bulunması

- X-kromozomal hastalık hikayesi
- Artmış nöral tüp defekti (NTD) riski
- Anamnezinde ikiden fazla nedeni bilinmeyen ölü doğum ve/veya anomalili bebek öyküsünün olması

Gebelik sırasında ortaya çıkan endikasyonlar:

- Biyokimyasal tarama testlerinde yüksek risk
- Fetusta anormal USG bulgusu
- Anne kanında fetal hücre analizinde yüksek risk
- Anne anksiyetesi
- Gebelik sırasında teratojenik ajanlara maruziyet (Aydınlı, 1992; Nussbaum vd., 2005,).

2.2-Prenatal Tanı Testleri

Prenatal tanı testlerinden en ideal olanı, anomalili bebeğin mümkün olan en erken dönemde saptanarak ebeveynlerin karar vermeleri için yeterli sürenin sağlanmasıdır. Çünkü, fetusta anomalinin saptanması durumunda ailenin kararının gebelik terminasyonu olması durumunda, ilerleyen haftalarda fetüsün tahliyesi tıbbi olarak daha zor bir hal almakta ve ayrıca anne psikolojik olarak daha yoğun etkilenmektedir. Bu nedenle mümkün olduğu kadar erken dönemde güvenilir sonuçlar veren tarama ve tanı testlerine ihtiyaç vardır (Diribaş, Kaya & Koç, 2002). Günümüzde pek çok tarama ve tanı testleri olmakla birlikte halen en erken gebelik döneminde, en çok gebeye ulaşmayı ve fetusla ilgili en doğru-güvenilir sonucu vermeyi hedefleyen yöntem arayışı devam etmektedir.

Fetal genetik materyalin örneklenmesi hem anneyi hem de çocuğu riske atan invaziv prosedürlerin kullanımını gerektirmektedir. Bu nedenle, invaziv girişimden önce bir kromozomal anomalinin var olma olasılığı, non-invaziv tanı testleri olarak adlandırılan bir takım görüntüleme teknikleri ve serum biyobelirteçleri olan AFP, hCG, uE3, inhibin, PAPP-A değerlendirilmesi ile gerçekleştirilir. Yıllar içinde USG'nin yaygınlaşması ve duyarlılığının artması, USG tekniklerindeki ilerleme ve serum biyobelirteçlerinin çeşitlenmesi daha hassas değer aralıklarının tespit edilmesine olanak sağlamıştır. Yakın tarihte yaygınlaşan maternal kanda cell-free DNA analizlerinin kullanıma girmesi invaziv tanı testleri

uygulanmadan önce, riskli grubun daha hassas bir şekilde tanımlanmasını ve buna bağlı olarak invaziv girişim yapılacak hastaların daha doğru şekilde seçilmesine yardımcı olmuştur.

2.2.1-Non-invaziv prenatal tanı testleri

2.2.1.1-Ultrasonografi

USG'nin temel prensibi; yüksek frekanstaki ses dalgalarının hasta üzerine uygulanan prob aracılığı ile doku ve organlara gönderilmesiyle, bu dokulardan yansıyan dalgaların yine aynı prob ile alınarak bir ekran üzerine yansıtılmasıdır.

USG yardımı ile gestasyonel yaş tespiti, tekil/çoğul gebelik ayrımı, fetusun canlı olduğunun saptanması ve ikinci trimesterden itibaren fetal cinsiyetin saptanması, çoğul gebeliklerde koryon ve amniyon yapısının tespiti sağlanabilir. USG, fetusun morfolojik yapısında ve gebeliğin prognozunda, ilerleyen dönemde ortaya çıkabilecek bulgular ve sonraki gebeliklerin durumu hakkında bilgi verebilmektedir. USG yardımı ile majör yapısal fetal anomalilerin tespiti ve minör anöploidi belirteçlerinin tanımlanması rahatlıkla yapılabilir.

USG'nin anneye ya da bebeğe zararlı olduğu gösterilmemiştir. USG'nin fetal tıpta yoğun şekilde kullanımı belirli malformasyonlarla kromozomal anomalilerin ilişkilendirilmesine olanak sağlamıştır. USG'de anomaliye rastlanması durumunda kromozom analizi yapılarak bir bölümünde kesin tanıya ulaşılabilmektedir (Nussbaum vd., 2005; Dashe, 2016).

Gebelikte USG görüntülemesi gebeliğin her trimesteri için bir kere olmak üzere en az üç taramayı içermektedir. Fetal anatomi incelemesi için en önemli dönem ikinci trimesterdir. Bu dönemde, farklı sistem anomalileri için USG'nin sensitivitesi oldukça değişkendir.

2.2.1.1.1-Fetal ense

2.2.1.1.1.1-NT (Nuchal Translucency, Ense Saydamlığı)

NT ölçümü kavum septum pellucidum, talamus, serebral pedinküller ve serebellumun görünür olduğu zaman gerçekleştirilir. NT ile trizomi 21 arasındaki ilişki ilk kez 1985'te Benacerraff ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Sonek & Croom, 2014).

Bununla birlikte artmış NT ($NT \geq 3$), trizomi 21'in yanı sıra Turner sendromu ve diğer kromozomal defektlerini işaret edebilir. Artmış NT ile

ilişkili durumların heterojen olması altta yatan birçok mekanizma olduğunu düşündürmektedir. Olası nedenler arasında kardiyak malformasyonlar sonucu gelişen hemodinamik bozukluklar, ekstraselüler matriks kompozisyonundaki anomaliler ve lenfatik sistemin anormal gelişimi sayılabilir (Rosen & D'Alton, 2005). Fetal NT ölçümü %5 yanlış pozitiflik oranı ile trizomi 21'li ve diğer majör anöploidili fetusların %75-80'ini tanımlayabilmektedir (Nicolaidis, 2011; Pala, Balci & Demir, 2012).

2.2.1.1.1.2-Kistik higroma

Kistik higroma, fetal ensede lokalize olmuş içi sıvı dolu septalı yapılardır. Genellikle yaygın cilt altı ödem ile ilişkilidir ve karında su toplanması veya plevral efüzyon nonimmün hidrops fetalis tanısına götürür. Kistik higroma ile ilişkili olarak en sık görülen anöploidi monozomi X'tir. Bununla birlikte diğer otozomal anöploidiler de görülebilir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.2-Merkezi sinir sistemi anomalileri

Merkezi sinir sistemi (MSS) anomalileri, MSS'yi oluşturan medulla spinalis ve beyin anomalileri olmak üzere iki kısımda incelenmektedir.

2.2.1.1.2.1-Medulla spinalis anomalileri

Medulla spinalisde meydana gelen konjenital anomalilerin kaynağını, gelişimin 4. haftasında nöral tüpün hatalı kapanması sonucu ortaya çıkan nöral tüp defektleri (NTD) oluşturmaktadır. NTD'nin üç major tipi ; anensefali, ensefalosel ve spina bifidadır. Daha az görülen iki tipi ise eksensefali ve iniensefalidir.

Anensefali : Yaklaşık olarak 1/1000 oranında görülmektedir. Nöral tüpün sefalik kısmının 6. haftaya kadar kapanmamasıyla oluşmaktadır (Yılmaz, Efetürk & Nas, 2007). Anensefali için risk faktörleri NTD'li aile öyküsü ve ikiz gebeliklerdir (Nyberg, 1990).

Ensefalosel : Sefalosel terimi beyin ve meninkslerin (ensefalosel) veya meninksler ve serebrospinal sıvının (meningosel) bir kranial defekt sonucu fitiklaşmasıdır. Fakat genel olarak her iki durum için de ensefalosel terimi kullanılmaktadır (Nyberg, 1990). Yaklaşık olarak 1/4000 oranında görülmektedir. Sefalosel çeşitli sendromlarla ilişkilendirilmektedir. Bunlardan en bilineni Meckel-Gruber sendromudur.

Spina Bifida: Spinal aksisin herhangi bir bölgesinde görülen fakat en sık lumbosakral bölgeyi içeren defektir. Açık (%80) ve kapalı (%20)

olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 1/1000 oranında görülmektedir.

Nöral tüp defektleri hem genetik hem de çevresel faktörler nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Genetik temeli tam olarak anlaşılammış olsa da maternal folik asit desteği ile önüne geçilebilecek bir çok genetik olmayan risk faktörü tanımlanmıştır (Greene & Copp, 2015).

2.2.1.1.2.2-Beyin anomalileri

2.2.1.1.2.2.1-Holoprosensefali

Ön beyinin (prosensefalonun) yokluğu veya prosensefalonun serebral hemisferler ve lateral ventriküllere bölünmesinin sekteye uğraması ile ortaya çıkar. Alobar, semilobar ve lobar olmak üzere üç tipi bulunmaktadır (Nyberg, 1990).

Alobar tipte, ön beyin sağ ve sol hemisferlere, arabeyin ve telensefalona, olfaktör ve optik bulba bölünmemiştir. bunun sonucu olarak tek, biçimsiz bir ventrikül vardır, talamuslar kaynaşmıştır ve korpus kallozum, falks serebri, optik sistem ve olfaktör bulb yoktur.

Semilobar tipte, beyin hemisferleri az da olsa ayrılmıştır. Alobar holoprosensefali ile büyük benzerlik göstermekle beraber ventriküllerin parsiyel segmentasyonu vardır ve talamuslar tam olarak kaynaşmamıştır.

Lobar tip holoprosensefalının en az şiddete sahip formudur ve beyin hemisferleri oldukça ayrılmıştır.

Holoprosensefalının etyolojisi heterojendir. Bir çok vakada sporadik olarak ortaya çıkar ve normal karyotip görülür. (Bagul, Tripathi & Mishra, 2016). Bununla birlikte, trizomi 13, trizomi 18, ring kromozomlar, ve delesyonlar gibi çeşitli kromozomal anomalilerle ilişkilendirilmektedir (Sonek & Croom, 2014; Bagul vd., 2016).

2.2.1.1.2.2.2-Hidrosetali

Serebrospinal sıvının ventriküllerde ve beyindeki subaraknoid bölgede anormal birikimi sonucu kafatasının genişlemesidir (Kousi & Katsanis, 2016).

Konjenital hidrosetalinin etyolojisi oldukça heterojendir. Hidrosetalinin nedenleri arasında intrauterin enfeksiyonlar, intrakraniyal kanamalar, travma, teratojenler ve tümörler vardır. Aynı zamanda akuaduktal stenoz gibi NTD ve Chiari veya Dandy-Walker gibi merkezi sinir sistemi

malformasyonları sonucu da hidrosefali ortaya çıkabilmektedir (Kousi & Katsanis, 2016; Verhagen vd., 2011). Konjenital hidrosefali 1000 canlı doğumda 0.2-0.8 oranında görülmektedir. Hastaların %40'ında genetik etyoloji bulunmaktadır. Bunlar; sitogenetik anomaliler, monogenik veya kompleks kalıtmıli hastalıklar ve multifaktöriyel hastalıklardır. Şimdiye kadar tanımlanan, konjenital hidrosefalinin en yaygın genetik nedeni L1 sendromudur. L1 sendromu Xq28'deki nöral hücre adhezyon molekülü L1 (L1CAM) genindeki mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. En yaygın sitogenetik anomaliler 6p delesyonu, (mozaik) trizomi 9, 9p, 13, 18 ve (mozaik) triploididir (Verhagen vd., 2011).

2.2.1.1.2.2.3-Ventrikülomegali

Fetal serebral ventrikülomegali, gelişmekte olan fetal beyindeki lateral ventriküllerin genişlemesi olarak tanımlanmaktadır (Scola & Triulzi, 2016). İkinci trimesterde standart lateral ventriküler ölçüm 10 mm'dir. Sınırdaki ventrikülomegali olarak tanımlanan hafif ventrikülomegalide bu değer 15 mm düzeyindedir. Eğer değer bu sınırı aşar ise ciddi ventrikülomegali söz konusudur (Sonek & Croom, 2014). Ventrikülomegalilerde ek anomali olarak hem serebral hem de ekstraserebral malformasyonlar izlenebilir. Ciddi ventrikülomegalilere en sık korpus kallozum agenezisi ve spina bifida eşlik eder (Kalaycı vd., 2015).

Ventrikülomegali olgularında kromozomal anomali insidansı %0-14 arasındadır (Gaglioti, Danelon, Bontempo, Mombro, Cardaropoli & Todros, 2005; Kalaycı vd., 2015). En sık görülen anöploid trizomi 21'dir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.2.2.4-Korpus kallozum agenezisi

Korpus kallozum agenezisi (KKA) serebral hemisferleri birbirine bağlayan lif demetinin gelişmemesi olarak tanımlanmaktadır. Görülme sıklığı 1:4000'dir (Paul vd., 2007). KKA izole olarak görülebilir ya da konjenital sendromların belirtici olabilir (Romaniello vd., 2016).

Günümüze kadar KKA ile ilişkili 200 farklı konjenital sendrom tanımlanmıştır. Bunların arasında, spesifik kromozomal yeniden düzenlemeler sonucu ortaya çıkan sendromlar, otozomal dominant/resesif hastalıklar, X'e bağlı kompleks genetik sendromlar bulunmaktadır (Romaniello vd., 2016; Kidron vd., 2015). CGH ile yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, korpus kallozum agenezisi olan hastalarda kromozomal delesyon ve duplikasyonların konvensiyonel karyotipleme ile saptanamayacak kadar küçük olduğunu ortaya koymuştur. Genetik nedenlerin yanı sıra çevresel faktörler de KKA'nın gelişiminde rol

oynamaktadır. Bunlardan en çok bilineni viral enfeksiyonlar ve gebelik sırasında alkol maruziyetidir (Paul vd., 2007).

2.2.1.1.2.2.5-Dandy-Walker malformasyonu

Dandy-Walker malformasyonu (DWM), serebellar vermisin tam veya parsiyel agenezisi, posterior fossanın genişlemesi ve 4. ventrikülün kistik dilatasyonu olarak tanımlanmaktadır. Canlı doğumda görülme oranı 1/5000'dir. (Dyment, Sawyer, Chardon & Boycott, 2013).

Hastaların yaklaşık yarısında kromozomal anomaliler görülmektedir. Bununla birlikte en az üç genin (FOXC1, ZIC1, ZIC4) DWM'ye katkısı olduğu bilinmektedir (Dyment vd., 2013). Son zamanlarda CCDC22, LAMC1, NID1 mutasyonlarının DWM'ye neden olabileceği öne sürülmüştür (Aldinger & Doherty, 2016). DWM, izole olarak gözlenebildiği gibi vakaların %70'inde KKA ve diğer beyin malformasyonları ile ilişkilidir. Vakaların %20-30'unda ise kalp, böbrek, karaciğer, yüz ve vertebral defektlerle ilişkilidir (Albu vd., 2015; Aldinger & Doherty, 2016).

2.2.1.1.2.2.6-Koroid pleksus kisti

Koroid pleksuslar serebral ventriküler sisteme lokalize olan ve serebrospinal sıvı üreten organlardır. Koroid pleksus kistleri, koroid pleksus içinde serebrospinal sıvının sıkışması ile ortaya çıkarlar ve ikinci trimester USG'de yaygın olarak gözlenirler (%1-2). Koroid pleksus kistleri tüm fetusların %1-3.6'sında gözlenir ve bunların %90'ı 26-28. gebelik haftasında geriler (Irani, Ahmadi, Javam, Taghi & Niknejad, 2015).

Koroid pleksus kistleri genellikle trizomi 21'de sık değildir fakat trizomi 18'li fetuslarda prevalansı artmıştır. Bununla birlikte koroid pleksus kisti zayıf bir belirteçtir ve izole durumda anöploidi riskini artırmaz (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.3-İntratorasik anomaliler

2.2.1.1.3.1-Ventriküler septal defekt

Ventriküler septal defekt (VSD) en sık görülen konjenital kalp anomalisidir. Prevalansı 1000 canlı doğumda 2,5'tur. Tek başına veya diğer doğuştan kalp hastalıklarıyla birlikte görülebilir. Fallot tetralojisi, çift çıkışlı ventrikül, trunkus arteriyozus gibi doğuştan kalp malformasyonlarında kompleksin bir parçası olarak; büyük damarların transpozisyonu gibi bazı hastalıklarda ise eşlik eden anomali olarak bulunur. Defekt sağ ve sol ventriküller arasındaki septumda bulunan bir deliktir. VSD çeşitli büyüklükte, septumun herhangi bir yerinde yer alabilir,

nadiren de septumun tamamen yokluğu biçiminde olabilir (Ulusoy, 2008). VSD, trizomi 13 ile trizomi 18'de ve 22q11 delesyonunda sıklıkla görülmektedir (Sonek & Croom, 2014; Fahed, Gelb, Seidman & Seidman, 2013). Bununla birlikte GATA4, GATA6, TBX5 ve NKX2-5 transkripsiyon faktörlerindeki mutasyonlarının VSD oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Li vd., 2014; Yang vd., 2012; Penny & Vick, 2011; Wessels & Willems, 2010).

2.2.1.1.3.2-Atrial septal defekt

Atrial septal defekt (ASD), kalbin sağ ve sol atriumu arasındaki atrial septum üzerinde açıklık bulunmasıdır. Atrial septum defektleri kalp hastalıkları arasında üçüncü en yaygın tiptir ve tahmini insidansı 100000 canlı doğumda 56'dır (Geva, Martins & Wald, 2014). Sekundum ASD, primum ASD, sinüs venozus tipi ASD, patent foramen ovale, koroner sinüs tipi ASD şeklinde olabilir (Ulusoy, 2008). Sekundum ve primum ASD trizomi 21'de yaygındır. Bununla birlikte ALK2, NKX2-5, GATA4, TBX5 ve MYH6 transkripsiyon faktörlerindeki mutasyonların ASD'ye neden olduğu gösterilmiştir (Geva vd., 2014; Joziase vd., 2008).

2.2.1.1.3.3-Atrioventriküler septal defekt

Atrioventriküler septal defekt aynı zamanda atrioventriküler kanal defekti veya endokardial yastık defekti, atrioventriküler kapakçık ve septaları etkileyen ve sık görülen bir konjenital kalp malformasyonudur. AVSD'nin komplet AVSD'den mitral kapakçıkta yarık oluşumuna kadar geniş bir spektrumu vardır (Maslen, 2004). Atrioventriküler septal defekt doğuştan kalp hastalıklarının %3-4'ünü oluşturur ve 10.000 canlı doğumda yaklaşık iki oranında görülür (Saltık, 2011). AVSD, trizomi 21 başta olmak üzere trizomi 18 ile trizomi 13 ve 22q11 delesyonunun önemli bir belirtecidir (Pierpont, Markwald & Lin, 2000).

2.2.1.1.3.4-Aort koarktasyonu

Aort koarktasyonları, 1000 canlı doğumda 0.2-0.6 oranında görülür. Tüm konjenital kalp hastalıklarının %6-8'inde aort koarktasyonu saptanmıştır. Birden çok anatomik varyasyonu olmasına rağmen koarktasyon genellikle sol subklavian arterin arkus aortadan çıkış yerinin hemen distalinde ve duktus arteriyozusun aortaya girdiği yerin tam karşısındadır (Beauchesne, Connolly, Ammash & Warnes, 2001; Ulusoy, 2008). Aort koarktasyonu monozomi X'in önemli bir belirtecidir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.3.5-Aort stenozu

Konjenital aort darlığı (AD) valvüler, subvalvüler veya supravavüler seviyelerde görülebilir (Ulusoy, 2008). Supravavüler AD, Williams-Bauren sendromunda görülmektedir (Fahed vd., 2013). Bu sendromun %90'ında 7q11.23 bölgesindeki ELN geni delesyonu saptanmıştır (Pierpont vd., 2000).

2.2.1.1.3.6-Fallot tetralojisi

Fallot tetralojisi, canlı doğumlarda yaklaşık 3500'de 1 görülür ve tüm konjenital kalp malformasyonlarının %7-10'unu oluşturur (Villafañe vd., 2013). Fallot tetralojisi dört ayrı kalp anomalisini birden içerir. Bu anomaliler; pulmoner stenoz, sağ ventrikül hipertrofisi, VSD, aortun dekstra pozisyonudur (Pedram, Bayındır, Kalın & Alper, 2014). Fallot tetralojisi trizomi 21, 22q11 delesyonu, trizomi 18, ve trizomi 13 ile ilişkilendirilmektedir (Villafañe vd., 2013).

2.2.1.1.3.7-Pulmoner stenoz

Pulmoner stenoz sağ ventrikül ile pulmoner arterler arasında oluşan bir darlık olup 3 tipi vardır; valvüler, subvalvüler ve supravavüler veya periferik tip (Çil, 2007). Yaklaşık 2000 canlı doğumda 1 görülür ve tüm konjenital kalp defektlerinin %8'ini oluşturur (Cuypers, Witsenburg, van der Linde & Roos-Hesselink, 2013). Supravavüler pulmoner stenoz Allagile ve Williams sendromlarında, valvüler stenoz ise Noonan sendromunda sıklıkla görülmektedir (Çil, 2007).

2.2.1.1.3.8-Trunkus arteriozus

Semilunar bir kapak yoluyla her iki ventrikülden çıkan tek bir arteryel trunkus, subtrunkal ventriküler septal defekt (VSD) ve trunkustan köken alan pulmoner arterler ile karakterize nadir bir konjenital kalp anomalisidir (Uğurlu vd., 2004). Tüm konjenital kalp hastalıklarının yaklaşık %0.7'sini oluşturur (Konstantinov vd., 2006). Hastaların % 30'unda sağ aortik ark, %15'inde ise kesintili aortik ark görülür (Ulusoy, 2008; Konstantinov vd., 2006). Trunkus arteriozus vakalarının yaklaşık %35-40'unda 22q11.2 delesyonu saptanmıştır (Cifarelli & Ballerini, 2005).

2.2.1.1.3.9-Sağ aortik ark

Sağ aortik ark anomalisi nadir bir anomali olup yaklaşık 2.500 kişide bir görülmektedir. Sağ aortik ark, embriyonel dönemde sol 4. aortik arkın ve sol dorsal aortanın tamamen oblitere olması ve bunların yerine sağ 4. aortik ark ve sağ dorsal aortanın gelişmesiyle oluşur. Sağ aortik ark

anomalisi tek başına olabildiği gibi beraberinde başka intrakardiyak veya ekstrakardiyak anomaliler görülebilmektedir (Okutan, Kartaloğlu, Çalışkan, Kunter, Mutlu & İlvan, 2005). Sağ aortik ark ile ilişkilendirilen en bilinen mikrodelesyon 22q11.2 mikrodelesyonudur.

2.2.1.1.3.10-İntrakardiyak hiperekojenik odak

İntrakardiyak hiperekojenik odak, gebeliklerde %0.5-12 arasında saptanmaktadır. Bu odaklar kardiyak ventrikülün lümeninde parlak bir nokta olarak görünürler. İntrakardiyak odakların %88'i sol ventrikülde, %5'i sağ ventrikülde görülmektedir, %7'si ise biventrikülerdir (Van den Hof, Halifax & Wilson, 2005). İntrakardiyak ekojenik odak, trizomi 21 için zayıf bir belirteçtir ve izole olarak bulunması anöploidi riskini artırmaz (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.3.11-Plevral efüzyon

Plevral efüzyon, USG'de akciğerin etrafını saran hipoekoik sıvı katmanı olarak gözlenir (Sonek & Croom, 2014). Prenatal efüzyon izole bir bulgu olabilir (primer plevral efüzyon) ya da diğer durumlarla da ilişkili olabilir. Plevral efüzyonu olan bazı fetuslarda aynı zamanda diafragmatik herni ve akciğer ile mediastinumu sıkıştıran diğer lezyonlar, mediastinal tümörler ve kardiyak malformasyonlar da görülebilmektedir (Rustico, Lanna, Coviello, Smoleniec & Nicolini, 2007). Efüzyona trizomi 21, Turner sendromu, Noonan sendromu gibi sendromlar neden olabileceği gibi, bronkopulmoner sekestrasyon gibi yapısal anomaliler veya viral enfeksiyonlar neden olabilir (Gajewska-Knapik & Impey, 2015). Unilateral veya bilateral olarak gözlenebilir ve nadir bir bulgudur. Plevral efüzyonun varlığı anöploidi riskini yükseltmektedir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.4-Abdominal defektler ve gastrointestinal sistem anomalileri

2.2.1.1.4.1-Hiperekojenik barsak

Hiperekojenik barsak tanısını koyabilmek için gerekli olan kriter, barsağın kemikle benzer ekojeniteye sahip olmasıdır. Hiperekojenik barsak bulgusu trizomi 21 riskini artırmaktadır (Sonek & Croom, 2014). Bununla birlikte hiperekojenik barsak, maternal kanama, konjenital enfeksiyonlar, plasental yetersizlik, fetal gelişme geriliği ve kistik fibrozis ile ilişkilendirilmektedir (Saha, Mullins, Paramasivam, Kumar & Lakasing, 2012).

2.2.1.1.4.2-Duedonal atrezi

Duedonal atrezi proksimal duedonumun atrezisi sonucu ortaya çıkar. Bu durumun USG bulguları, genişlemiş duedonum ile genişlemiş mide (double bubble) ve polihidroamniosdur. Duedonal atrezi ile trizomi 21 arasında güçlü bir ilişki vardır. In utero olarak duedonal atrezi tanısı konulan fetusların yaklaşık %40'ı trizomi 21'lidir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.4.3-Omfalysel

Omfalysel, abdominal kord yerleşimi sırasında ortaya çıkan membranla kaplı bir abdominal duvar defektidir. Karın duvarında, umbilikal kordonun fetusa giriş yerinde oluşan genişlemeye bağlı olarak karın içi organların fitiklaşmasıdır. Genellikle sadece barsaklar bu membran içinde bulunmaktadır fakat bazen buna karaciğer gibi diğer abdominal organlar dahil olabilmektedir. Bu defektin trizomi 18 ile güçlü bir ilişkisi vardır ve trizomi 13 ile triploidi için de artmış risk göstermektedir (Sonek & Croom, 2014; Günel, 2012).

2.2.1.1.4.4-Diafragmatik herni

Diafragmatik herni abdominal organların anormal bir açıklık ya da defekt sonucu toraksa fitiklaşması sonucu oluşmaktadır (Holder, Klaassens, Tibboel, Klein, Lee, & Scott, 2007). Diafragmatik herninin görülme sıklığı 2000-3000 canlı doğumda 1'dir. Diafragmatik herni izole bir defekt olarak ortaya çıkabilir ya da diğer anomaliler ile ilişkili olabilir (Wynn, Yu & Chung, 2014). Diafragmatik herni ile ilişkili yaygın bulgular kardiyovasküler anomaliler, merkezi sinir sistemi anomalileri ve genitoüriner ve/veya renal anomalilerdir. Yaşamla bağdaşan anöploidiler (trizomi 13, 18, 21 ve 45,X) ve neredeyse tüm kromozomlarda görülen delesyonlar, duplikasyonlar, inversiyonlar ve translokasyonlar diafragmatik herni ile ilişkilendirilmiştir (Holder vd., 2007).

2.2.1.1.4.5-Persistan sağ umbilikal ven

Normal embriyonik süreçte sağ umbilikal ven oklüze olur ve sol umbilikal ven devamlılık gösterir, bu durumun tersinin oluşması persistan sağ umbilikal ven olarak tanımlanır (Yüksel, Büyükkurt, & Savaş, 2003). Persistan sağ umbilikal ven prenatal olarak en sık saptanan venöz anomalidir ve tahmini prevalansı 1/250 ile 1/1250 arasındadır (Martinez vd., 2013). Persistan sağ umbilikal ven ile kromozom anomalileri arasında belirgin bir ilişki gözlenmemiştir (Yüksel vd., 2003).

2.2.1.1.5-Ürogenital sistem anomalileri

2.2.1.1.5.1-Pyelektazi

Fetal pyelektazi, renal kaliks dilatasyonunun eşlik etmediği izole renal pelvis dilatasyonu olarak tanımlanır. Pyelektazi antenatal ultrasonografi değerlendirmelerinde en sık rastlanan anormalliklerden biridir ve tüm gebeliklerin yaklaşık %1-5'inde saptanmaktadır (Karşıdağ, Subaş, Giray & Büyükbayrak, 2016). Pyelektazinin prevalansı trizomi 21'li fetuslerde öploid fetüslere göre daha yüksektir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.5.2-Megasistit

Fetal megasistit, gebeliğin herhangi bir haftasında fetal mesanenin anormal genişlemesi olarak tanımlanır. İnsidansının 10-14. gebelik haftalarında normal popülasyonda yaklaşık 1/1600 gebelik olduğu rapor edilmiştir. Megasistit, ilk trimesterde çoğu zaman geçici bir durum olup herhangi bir klinik öneme sahip değilken ilerleyen bulgularla seyreden küçük bir hasta grubunda ciddi alt üriner sistem anomalilerinin erken belirtisi olabilir (Hacıvelioğlu, Güngör, Gencer & Coşar, 2012). Megasistit çoğunlukla trizomi 13 ve trizomi 18 ile, daha nadir olarak trizomi 21 ile ilişkilendirilmektedir (Liao, Sebire, Geerts, Cicero & Nicolaidis, 2003).

2.2.1.1.5.3-Hidronefroz

Hidronefroz, kalikslerin birbirinden ayrılması ve renal pelvisin genişlemesi olarak tarif edilir (Gürgöze & Karaca, 2012). Hidronefroz tüm konjenital anomalilerin %50'sini teşkil etmektedir. Antenatal hidronefrozların yaklaşık %60'ı geçici ve fizyolojiktir (Ağras, 2011; Gürgöze & Karaca, 2012). Hidronefroz, trizomi 21, 18 ve 13 ile ilişkilendirilmektedir (Snijders, Sebire, Faria, Patel & Nicolaidis, 1995).

2.2.1.1.5.4-Renal agenezi

Renal agenezi böbreklerin tek veya çift taraflı yokluğu olarak tanımlanmaktadır. Renal agenezinin görülme sıklığı tek taraflı böbrek yokluğunda 1/1000 canlı doğum, çift taraflı böbrek yokluğu için 1/5000 canlı doğum olarak bildirilmiştir (Yıldırım, 2013). Renal agenezi durumunda fetal USG'de oligohidroamnios söz konusudur (Oğuz & Akbulut, 2015). Renal agenezinin eşlik ettiği kromozom anomalileri arasında en sık görülenler, 22q11 delesyonu ve Klinefelter (47,XXY) sendromudur (Yıldırım, 2013).

2.2.1.1.6-İskelet anomalileri

2.2.1.1.6.1-Nazal kemik hipoplazisi

Nazal kemik hipoplazisi veya yokluğunun trizomi 21 ile ilişkili olduğu gösterilmiş, radyolojik olarak ortaya konmuştur. Nazal kemiğin olmamasının trizomi 21 tanısında yanlış pozitiflik oranı 0 ile %20 arasında, sensitivitesi %28 ile %60 arasında değişmektedir (Dizen vd., 2013).

2.2.1.1.6.2-Parmak deformiteleri

Farklı derecelerdeki anormal parmak duruşları anöploidili fetuslerde sıklıkla görülmektedir. Trizomi 21 fetuslerinde sıklıkla beşinci parmağın orta falanksında hipoplazi görülmektedir. Bu durum parmakların üst üste kıvrılmasına neden olmaktadır (klinodaktili). Klinodaktili ayrıca trizomi 13 ve 18'de de görülmektedir (Sonek & Croom, 2014).

2.2.1.1.6.3-Femur ve humerus uzunluğu

Kısa statür trizomi 21'in fenotipik özelliğidir (Sonek & Croom, 2014). Kısa femur ve humerus uzunluğunun trizomi 21 tanısı için yanlış pozitiflik oranı %3-4, sensitivitesi %9-16'dır (Van den Hof vd., 2005).

2.2.1.2-İkili tarama testi

İlk trimester tarama testi (ikili tarama testi), 10-14. gebelik haftaları arasında USG ile fetus baş-popo mesafesi (CRL) ölçüsü 45-80 mm arasında iken yapılmaktadır. Eş zamanlı olarak anneden alınan kan örneğinde gebelik ilişkili plasental protein A (pregnancy associated plasma protein A - PAPP-A) ve β -human chorionic gonadotropin (β -hCG) değerlerine bakılmaktadır.

USG ile gebelik haftası belirlenmekte ve fetal ense saydamlığı (Nuchal Translucency-NT) ölçümleri yapılmaktadır (Diribaş vd., 2002; Gardner & Sutherland, 2004).

PAPP-A plasental kaynaklı bir glikoproteindir. Sinsityotroblastlardan salgılanmakta ve ovulasyondan 33 gün sonra maternal kanda tespit edilebilmektedir. PAPP-A miktarı miyada kadar artış göstermekte ve 72 saatte bir, değeri iki katına çıkmaktadır.

hCG gebeliğin temel hormonudur. Gebeliğin erken dönemlerinde uterusun desidualize olmuş endometriyumuna blastokist implantasyonundan sonra sinsisyotroblastlardan salgılanan glikoprotein yapısında bir hormondur (Diribaş vd., 2002). hCG, gebeliğin 14-16.

haftalar arasında en yüksek değerine ulaştıktan sonra yavaş yavaş azalmaktadır (Morssink, Kornman, Hallahan, Beekhuis, de Wolf & Mantingh, 1998). Anne yaşı, gebelik haftası ve annenin daha önce kromozom anomalili çocuk doğurup doğurmadığı bilgileri, NT ölçümü, β -hCG ve PAPP-A kan düzeyi sonuçları ile birlikte değerlendirilir. Bu değerlendirmeye trizomi 21, trizomi 18 ve trizomi 13 gibi sık gözlenen trizomi sendromları için görülme riskleri hesaplanmaktadır. Trizomi 21'de NT ve β -hCG artmakta, PAPP-A ise azalmaktadır. Trizomi 18 ve 13'de NT artmakta, β -hCG ve PAPP-A düzeyleri ise azalmaktadır. Turner sendromunda NT artarken, β -hCG normal düzeylerde, PAPP-A düzeyleri ise azalmış olarak bulunmaktadır. Triploidili fetüslerde genel olarak β -hCG düzeyleri yüksek, PAPP-A düzeyleri ise azalmıştır (Cucke & van Lith, 1999; Spencer, Souter, Tul, Snijders & Nicolaidis, 1999; Diribaş vd., 2002; Gardner & Sutherland, 2004) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Anöploidi durumunda PAPP-A ve hCG düzeylerindeki değişimler

| | PAPP-A | hCG |
|------------|--------|-----|
| Trizomi 21 | ↓ | ↑ |
| Trizomi 18 | ↓ | ↓ |
| Trizomi 13 | ↓ | ↓ |
| 45,X | ↓ | - |

2.2.1.3-Üçlü ve dördü tarama testi

İkinci trimester tarama testi (üçlü ve dördü tarama testi), gebeliğin 15. ve 20. haftaları arasında yapılmaktadır (Nussbaum vd., 2005; Erdemoğlu & Kale, 2007). Üçlü tarama testi; alfa fetoprotein (AFP), unkonjuge estriol (uE3) ve hCG'nin anne serum seviyelerinin ölçülmesi ile yapılmaktadır.

AFP fetal karaciğerden salgılanan bir proteindir. Erişkindeki albumin isimli proteinin fetal yaşamdaki karşılığıdır. Gebelik süresince maternal kanda düzeyi yavaş ama düzenli bir artış gösterir.

uE3, plasentadan salgılanan bir çeşit östrojen hormonudur. Dördü tarama testinde, üçlü tarama testine ilaveten (AFP, uE3 ve hCG) dimerik inhibin A hormonu düzeyi ölçülmektedir (Wald vd., 2003). İnhibin A glikoprotein yapısında bir hormondur. Tek başına yeterince duyarlı olmadığı için üçlü teste ilave edilerek kullanılmaktadır.

Bu testler, Trizomi 21, Trizomi 18 ve NTD bulunma riskini belirlemektedirler (Nussbaum vd., 2005). Trizomi 21'de AFP, uE3 düşük ve

hCG yüksektir. Trizomi 18'de AFP, uE3 ve hCG düşük olarak bulunur. NTD'de ise AFP yüksek, uE3 ve hCG değerleri normal sınırlardadır (Özgünen, Evrüke, Kadayıfçı & Arıdoğan, 1994; Wald vd., 2003; ACOG Committee, 2007) (Tablo 2.2). İnhibin A düzeyi, Trizomi 21'de yükselmektedir (Gardner & Sutherland, 2004).

Tablo 2.2. Trizomi 21, Trizomi 18 ve NTD durumlarında AFP, uE3 ve hCG düzeylerindeki değişimler

| | AFP | uE3 | hCG |
|------------|-----|-----|-----|
| Trizomi 21 | ↓ | ↓ | ↑ |
| Trizomi 18 | ↓ | ↓ | ↓ |
| NTD | ↑ | - | - |

Biyokimyasal belirteçlerle ilgili en önemli sorunlardan biri bu belirteçlerin sahip olduğu sensitivite, yanlış pozitiflik oranları ve pozitif prediktif değeridir. Tek başına AFP değerlendirilmesinde trizomi 21 için sensitivite %25 oranında iken AFP'nin yanına hCG ve uE3 eklenmesiyle bu oran %70 olmakta, bu üçlüye inhibinin eklenmesiyle oluşan dördü tarama testinde ise oran %80'e yükselmektedir. Birinci trimester görüntülemesinde ölçülen NT, hCG ve PAPP-A'nın kombine edilmesi ile sensitivite %85 oranında iken kombine görüntülemeye bu oran %94-96'ya yükselmektedir. Tarama testleri hastalık tanısı koymaktan ziyade riskli gebeliklerin tespiti ve invaziv tanıya yönlendirilecek hastaların seçiminde değer taşımaktadır (Dashe, 2016).

2.2.1.4-Non-invaziv prenatal test (NIPT)

NIPT, annenin periferik kanındaki hücre dışı fetal DNA (cfDNA)'yı kullanarak fetusteki trizomileri test eden bir metoddur (Taylor-Phillips vd., 2016). Lo ve ark. 1997'de hamile kadınların plazmasında plasental orijinli olduğu düşünülen "fetal" fraksiyonları belirlemiş ve raporlamışlardır (Norton vd., 2015). İlk çalışmalar fetal fraksiyonların %3-6 oranında olduğunu öne sürmüştür fakat son çalışmalar bu oranın %10-20'ye yakın olduğunu ortaya koymuştur (Taylor-Phillips vd., 2016).

Fetal cfDNA dördüncü gebelik haftasından itibaren saptanabilmekte ve onuncu haftadan itibaren hemen hemen bütün kadınlarda total cfDNA'nın %4'ünü geçmektedir. Bu durum da, analizin onuncu hafta gibi erken gebelik dönemde yapılabilmesine olanak vermektedir. Ayrıca test sonuçlanma süresinin yedi ila on gün sürmesi de testin başka bir avantajıdır.

Fetal cfDNA fargmentleri tipik olarak yaklaşık 150 baz çifti büyüklüğündedir ve en önemlisi bütün fetal genomu temsil etmektedirler. Fetal cfDNA'nın yarı ömrünün çok kısa olduğu gösterilmiştir; fetal fragmentler doğumdan çok kısa bir süre sonra saptanamaz (Taylor-Phillips vd., 2016). Bu yüzden çok doğum yapmış kadınlarda önceki gebelikle karışıklığa neden olabilecek ciddi bir endişe bulunmamaktadır (Benn, Cuckle & Pergament, 2013).

NIPT, 2011 yılında fetal anöploidi taramalarında kullanıma girmiş, henüz çok yeni bir non-invaziv tarama yöntemidir. Trizomi 21 ve 18 için mükemmel yakın sonuçlar vermekle birlikte Trizomi 13 ve cinsiyet kromozom anöploidileri için henüz istenen düzeyde değildir. Yapılan çalışmalar, maternal plazmada cfDNA sekanslaması ile gerçekleştirilen non-invaziv prenatal testin trizomi 21 için çok düşük yanlış pozitif oranı olduğunu ortaya koymuştur (Cuckle & Ben, 2010; Syngelaki, Chelemen, Dagklis, Alan & Nicolaidis, 2011; Benn vd., 2013). Trizomi 21'in saptanmasında %99.2 sensitivite ve %99.9 spesifite ile yalnızca %0.1 yanlış pozitiflik oranının gözlenmesi bu testin ilerleyen yıllarda bir tanı testi olarak kullanımı sorunsalını doğurmuştur. NIPT testinin yıllar içinde geliştirilmesiyle Trizomi 18 ve 13'te sensitivite %91 ila %96'lara yükselmiştir (Dashe, 2016).

NIPT'in bazı dezavantajları da bulunmaktadır. NIPT'te kullanılan cfDNA'nın plasenta kaynaklı olması, fetus ve plasentanın her zaman aynı kromozomal yapıya sahip olmaması (plasenta ile sınırlı mozaizm) nedeniyle yanlış pozitif sonuçlara yol açabilmektedir. Ayrıca çoğul gebeliklerde ve annenin bir maligniteye sahip olması durumunda maternal kanda tespit edilen cfDNA'nın ayırımının yapılması zorlaşmaktadır. Testin diğer bir önemli sorunu %4-8 oranında gözlenen "no-call" olarak adlandırılan sonuç verememe durumudur (Dashe, 2016).

Çalışmalar, non-invaziv prenatal testin, gereksiz invaziv prosedürleri ve buna bağlı fetal kayıp sıklığını azaltabileceğini göstermiştir. Bundan sonra NIPT, fetal trizomi 21 ve diğer sık anöploidilerde erken ve güvenilir saptama sağlaması için cfDNA'nın shot-gun sekanslama, targeted (hedef gen) sekanslama ve SNP (tek nükleotid polimorfizm) tabanlı sekanslama kullanılarak geliştirilmiştir (Zhang vd., 2015).

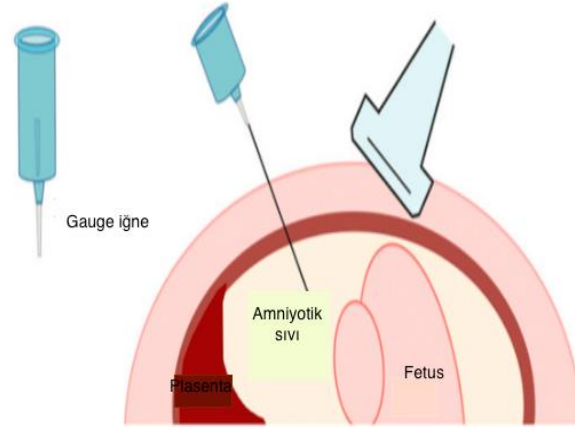
2.2.2-İnvaziv prenatal tanı testleri

İleri anne yaşı, riskin söz konusu olduğu biyokimyasal test sonuçları ve fetal anomali defektleri gibi USG belirteçleri, invaziv prosedürün gerçekleştirilmesi gerektiğini doğrulamaktadır (Filges vd., 2012; Saldarriaga vd., 2015).

İnvaziv tanı tekniklerinin hepsi (AS, CVS, KS) USG rehberliği ile yapılmaktadır, böylece istenmeden oluşabilecek fetal hasar veya yaralanma minimuma indirilir. Proflaktik antibiyotikler prosedür için gerekli değildir. Hastalara 12-24 saat fiziksel aktivitelerini azaltmaları tavsiye edilebilir (Wilson vd., 2015).

2.2.2.1-Amniyosentez

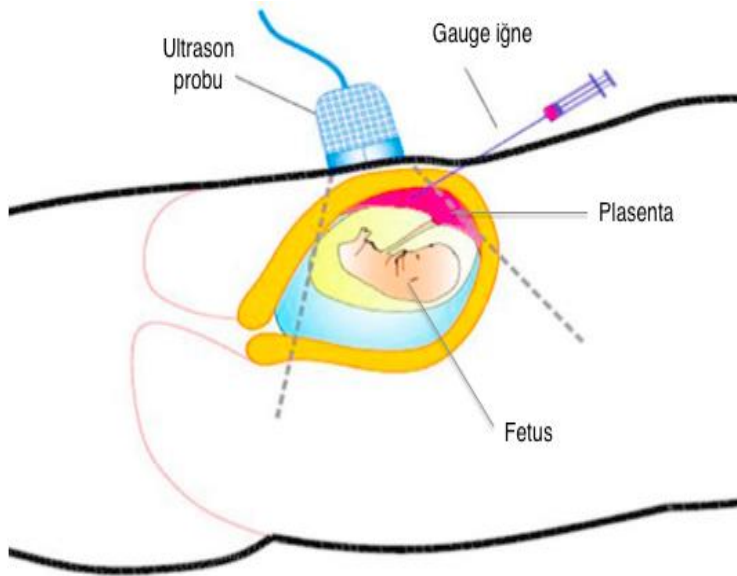
AS, en yaygın invaziv prenatal test tekniğidir. Amniyon sıvısındaki fetustan dökülen hücrelerin kültür edilmesinden sonra karyotiplemenin yapılması esasına dayanmaktadır (Aydınlı, 1992). Amniyotik sıvı volümü ve içindeki hücre yoğunluğu gebelik haftasına göre önemli değişiklikler gösterdiği için 15. gebelik haftasından sonra uygulanması tavsiye edilir (Aydınlı, 1992; Nussbaum vd., 2005; Wilson vd., 2015). AS, steril koşullarda 20-22-gauge spinal iğne aracılığı ile trans-abdominal olarak uterin kaviteden amniyotik sıvı örneği alma tekniğidir (Cruz-Lemini vd., 2014; Wilson vd., 2015)(Şekil 2.1). Tek iğne ile giriş yapıldıktan sonra gerekli olan fetal test tekniğine göre 15-20 cc amniyotik sıvı alınır (Wilson vd., 2015). En ideali amniyotik sıvının yaklaşık 20 cc olması ve maternal kan hücreleri ile kontamine olmamasıdır (Cruz-Lemini vd., 2014). AS sırasında, plasental ponksiyondan sakınılmalıdır. Genellikle amniyositler kromozom analizi için kullanılırken, supernatanttaki protein biyokimyasal veya enzimatik analizler için kullanılır. Standart amniyosentezin en belirgin dezavantajı yöntemin sitogenetik sonuçlarının geç (1-3 hafta) elde edilmesidir (Wilson vd., 2015).



Şekil 2.1. Amniyosentez uygulaması (M. Cruz-Lemini ve ark., 2014'den uyarlamadır.)

2.2.2.2-Koryonik villus örneklemesi

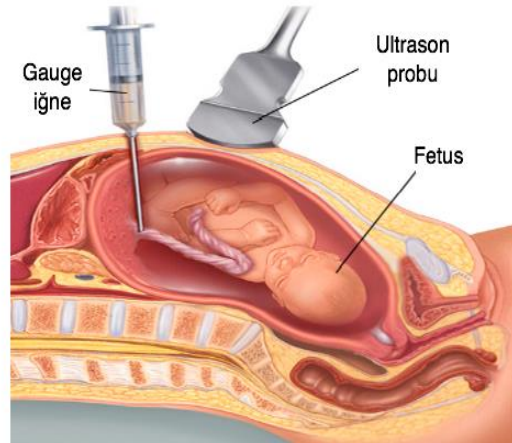
CVS, birinci trimesterde tavsiye edilen invaziv tekniktir. Bu uygulamada koryon villuslarından trans-servikal veya trans-abdominal (Şekil 2.2) yolla biyopsi alınmaktadır. Onuncu haftadan önce CVS'in embriyoda deformitelere sebep olması, vajinal kanama, enfeksiyon ve maternal hücre kontaminasyon riskinin yüksek olması nedeni ile, 10. gebelik haftasından önce tavsiye edilmemektedir (Şen, 2002). Trans-servikal CVS (10-13+6 gebelik haftalarında) esnek bir katater ve şırınga veya metal biyopsi pensi aracılığı ile gerçekleştirilirken, trans-abdominal CVS (10-36 gebelik haftalarında) 18-20 gauge iğne ve şırınga ile plasental dokunun alındığı tekniktir. Trans-servikal CVS'in vajinal lekelenme veya kanama riski bulunurken, trans-abdominal CVS'in kramp ve uterin rahatsızlık riski daha yüksektir (Wilson vd., 2015; Monni, Pagani, Stagnati, Iuculano & Ibba, 2015). CVS'in en önemli avantajı, sonuçların gebeliğin erken döneminde elde edilebilmesidir. Bununla birlikte, CVS'te direkt preperasyon tekniği uygulanabilmektedir. Fakat direkt preperasyon tekniği üzerinde pek çok değişiklik yapılmış olmasına rağmen elde edilen kromozomların bant kalitesi, kültürden elde edilenlere oranla daha kötüdür, bu nedenle analiz problemleri yaşanabilmektedir. Buna karşılık hızlı sonuç vermesi ve maternal hücre kontaminasyon tehlikesinin olmaması nedeniyle direkt preperasyon tekniği büyük merkezlerde hücre kültürü ile paralel olarak yürütülmektedir (Aydınlı, 1992). Koryon villus örneklemesinde göz önünde bulundurulması gereken bir konu da plasentaya sınırlı mozaizmdir. Koryonik villus örneklemesinde kromozomal mozaizm görülme sıklığı ortalama % 1 olarak bildirilmektedir. Bu durumda tanı amniyosentez ya da fetal kan örneklemesi ile doğrulanmalıdır (Şen, 2002).



Şekil 2.2. CVS uygulaması (G. Monni ve ark., 2015'den uyarlamadır)

2.2.2.3-Kordosentez

KS veya perkütan umbilikal kord örnekleme, kordon damarlarının genişlemesinden dolayı genellikle 18. gebelik haftasından sonra gerçekleştirilir ve hem fetal tanı hem de inrtauterin transfüzyon için kullanılır. Örnek alınmak üzere 20-22 gauge iğne fetal dolaşıma yerleştirilir (Berry, Stone, Norton, Johnson & Berghella, 2013; Wilson vd., 2015). Ponksiyon bölgesi, işlemi gerçekleştirecek kişinin tercihine bağlıdır (Wilson vd., 2015). (a) direkt olarak umbilikal korda giriş (plasental kord veya abdominal kord veya umbilikal kord serbest döngü bölgesi), (b) umbilikal venin intrahepatik kısmına giriş (intrahepatik ven), (c) fetal kalbe giriş (kardiosentez)(Berry vd., 2013)(Şekil 2.3). Umbilikal arterden ponksiyon, olası fetal kardiyak disfonksiyonu ile sonuçlanabilecek umbilikal arteriyal kasılmaya neden olabilir (Wilson vd., 2015). Amniyosentez sonucu kültür başarısının olmadığı veya çelişkili sonuçlar alındığı durumlarda ve ileri gebelik haftalarında kordosentez yapılır.



Şekil 2.3. Kordosentez uygulaması (<http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/percutaneous-umbilical-blood-sampling/multimedia/cordocentesis/img-20006443>'den uyarlamadır)

2.3-Kromozom Anomalilerinin Tanısında Kullanılan Yöntemler

2.3.1-Sitogenetik yöntemler

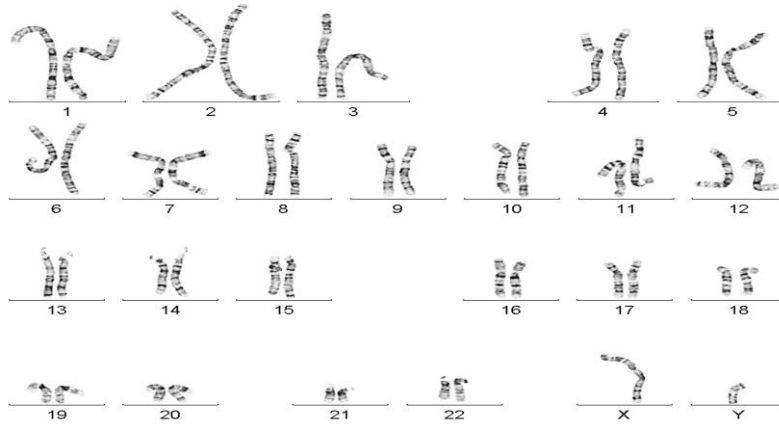
2.3.1.1-Kromozom analizi

Konvansiyonel kromozom analizi 23 çift kromozomun sayısal ve yapısal olarak incelenmesi anlamına gelir. Bunun için kromozomların

uygun şekilde kondanse oldukları metafaz safhasındaki hücrelere G-bantlama uygulanarak yapılmaktadır.

Amniyotik sıvıda bölünme aşamasında fetal hücre bulunmadığından metafaz safhasında hücreler elde etmek için kültüre edilmelidir. CVS materyalindeki bazı fetal hücreler spontan olarak bölünmektedirler ve bunlardan metafaz safhasındakiler analiz için kullanılabilirler. Spontan bölünen bu hücrelerdeki kromozomlardan, kültüre edilen hücrelerdekine göre daha fazla kondanse olduklarından daha düşük rezolüsyonda bantlar elde edilir (Hulten, Dhanjal & Pertl, 2003). Amniyon sıvısı veya koryon villus hücrelerinin kültüre edilmesi ve kromozom analizi için 1-3 haftalık süre gereklidir.

Konvansiyonel kromozom analizi yaklaşık 450-550 band çözünürlüğüne sahiptir ve bir çok kromozomal hastalık için tanı sağlamaktadır. Yapısal kromozomal anomalilerin; duplikasyonlar, delesyonlar, translokasyonlar, interstisyel ya da terminal delesyonları gösterebilecek çözünürlüktedir (Yunis, 1981). Daha duyarlı bir test olan yüksek çözünürlüklü bantlama tekniği, daha çok sayıda bandı (550-850 band) gösterebilmektedir. Çözünürlük seviyesi özellikle yapısal anomalilerin saptanmasında önemlidir. Fakat yüksek çözünürlüğe rağmen G-bantlama ile 5 Mb'dan daha küçük delesyon ya da duplikasyonlar bu yöntemle tespit edilemeyeceklerdir (Hulten vd., 2003) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle analiz edilen erkek olguya ilişkin karyotip (<http://www.microopticsl.com/products/metaclass-karyotyping/>'den uyarlamadır)

G-bantlama dışında kromozomların belirli bölgelerine özel seçici bantlama teknikleri kullanılarak kromozom anomalileri saptanabilir. Bunlardan C-bantlama ile tüm kromozomların sentromerleri, 1. 9. 16. ve Y kromozomlarının heterokromatin bölgeleri, nucleolar organizasyon region

(NOR) bantlama ile akrosentrik kromozomların satellit bölgeleri koyu boyanır. R bantlama kromozomların telomerlerindeki anomalilerin değerlendirilmesinde kullanılır (Bickmore, 2001). Q-bantlama ile 1, 9, 16. kromozomların perisentromerik bölgeleri ile Y kromozomunun heterokromatin bölgesi, tüm sentromerler, akrosentrik kromozomların satellit bölgeleri parlak boyanır (Hayes, Dutrillaux, Popescu & Bourgeois, 2000).

Konvansiyonel sitogenetik, tüm genom üzerinde, mikroskopik düzeyde saptanabilecek tüm anomaliler hakkında bilgi verdiği için dezavantajlarına rağmen prenatal tanıda "altın standart" olarak kabul edilir. (Grimshaw vd., 2003; Slater vd., 2003).

2.3.2-Moleküler sitogenetik yöntemler

Konvansiyonel sitogenetik yöntemler 3-5 Mb'dan daha küçük olan kromozomal anomaliler ile subtelomerik yeniden düzenlenmelerin saptanmasında yetersiz kalmaktadır. Bu yüzden sitogenetik ve moleküler yöntemlerin bir arada kullanılmasını sağlayan moleküler sitogenetik teknikler geliştirilmiştir.

2.3.2.1-FISH (Fluorescent in-situ hybridization)

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 (Connor & Ferguson-Smith, 1993; Verma & Babu, 1995; Hulten vd., 2003). Önce prob ve hedef bölge çift iplikli DNA'ları ısıtma işlemi ile tek zincir haline getirilir. Ardından hibridizasyon gerçekleşir, proplar ve hedef bölgenin tamamlayıcı tek iplikli dizileri bağlanır. Hibridizasyon sonrası yıkamanın ardından proplar floresan mikroskopu ile görüntülenirler (Hulten vd., 2003; Dudarewicz, Holzgreve, Jeziorowska, Jakubowski & Zimmermann, 2005).

Sitogenetik çalışmalarda kromozomlar metafazda değerlendirilirken kültür edilmemiş amniyositlerdeki (interfazda) kromozomlar konvansiyonel karyotiplemede görüntülenemezler. FISH tekniği, bölünmeyen interfaz hücrelerinde belirli nükleik asit dizilerinin tanımlanmasını sağlar. Böylece hücre kültürü gereksinimini ortadan kaldırarak daha hızlı bir tanı sağlar (Morris vd., 1999; Thein, Abdel-Fattah, Kyle & Soothill, 2000). Bu özelliği nedeniyle prenatal ve postnatal tanı ile kanser genetiğinde çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Translokasyon taşıyıcısı ebeveynlerin fetuslarının anöploidi açısından taranması hızlı şekilde yapılabilmektedir. X kromozomal hastalık riski halinde fetal cinsiyetin hızlı bir şekilde

belirlenmesi, DNA ve biyokimyasal analiz endikasyonu olup olmadığının saptanması açısından önemlidir. Lokus spesifik problemler ile prenatal ve postnatal dönemlerde anöploidiler, delesyon sendromları, XX erkeklerde sex determining region Y (SRY) geni, X inactive specific transcript (XIST) geninin varlığı ve benzeri durumlar yine interfaz nükleuslarında incelenebilirler (Verma & Babu, 1995; Artan & Başaran, 1996; Durak, 1998).

FISH metodu ile üç farklı sonuç saptanma olasılığı vardır; normal, delesyon ve duplikasyon. Anöploidiler için fetal hücreler floresan mikroskopu ile incelendiğinde, normal olgularda analiz edilen kromozomların her biri için iki sinyal görüntülenirken, trizomiler ekstra bir sinyal varlığı ve monozomiler bir sinyalin yokluğu ile belirlenir (Nicolini, Lalatta, Natacci, Curcio & Bui, 2004).

FISH yönteminin avantajları yanında bir takım dezavantajları da bulunmaktadır. Teknik nispeten yoğun emek ve teknik uzmanlık gerektirmektedir. Ayrıca kullanılan prob setine karşılık gelen tamamlayıcı dizilerden başka kromozomal segmentleri içeren dengesiz bozuklukları tespit edemez. Prenatal tanıda rutin olarak incelenen anöploidiler; 13, 18, 21 ile X ve Y kromozomlarını içermekte, ancak diğer anöploidiler ve yapısal anomaliler, klinik ya da sitogenetik yönlendirme olmadan FISH ile tanımlanamamaktadır (Pertl vd., 1999; Dudarewicz vd., 2005). İleri gebelik haftalarındaki örneklerde ölü hücre yoğunluğu ve hücre artıklarının fazla olması sebebi ile zayıf hibridizasyon; 15. haftadan daha erken gebeliklerde ise hücre sayısı yetersiz olabilmektedir. Kan ile kontaminasyon düşük hibridizasyona neden olabilmekte ve maternal hücrelerin hibridizasyonuna bağlı olarak yanlış sonuç ihtimali ortaya çıkabilmektedir (Rooney, 2001). Bunun dışında, klinik ya da sitogenetik yönlendirme gerekliliği ve ancak bilinen bölgelere özgün çalışılabilmesi tekniğin dezavantajlarından biridir.

2.3.2.2- CGH (*Comparative genomic hybridization*)

Moleküler karyotipleme olarak da adlandırılan CGH, genomik kopya sayısı değişikliklerinin yüksek çözünürlükte tüm genomda taranabilmesi için geliştirilmiş bir metodur (Solinas-Toldo vd., 1997). Yüzlerce farklı genomik lokusun DNA kopya sayısı kazanımları ve kayıpları için karşılaştırmalı olarak incelenmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Kanserdeki genomik dengesizlikler için araştırma amaçlı geliştirildiği günden bu yana CGH gerekli ve rutin bir tanı aracı haline dönüşmüştür ve giderek sitogenetik metodların yerini almaktadır (Vissers vd., 2003).

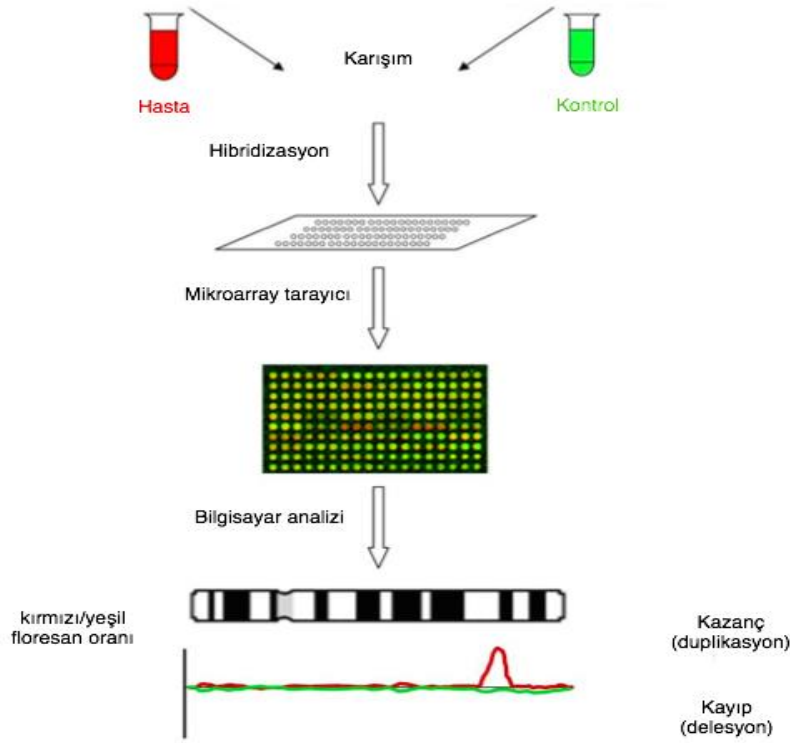
Metafaz CGH ilk olarak tümör sitogenetiğinde moleküler araç olarak geliştirilmiştir (Kallioniemi vd., 1992). CGH, tüm genomdaki DNA'da

meydana gelen delesyon ve duplikasyonların taranmasında kullanılan ilk tekniktir (Pinkel & Albertson, 2005). Bu teknikte, hastaya ve referansa ait tüm genomik DNA farklı şekilde etiketlenir ve cam lamlara yayılmış normal metafaz üzerinde bir arada hibridizasyona bırakılır. Dengesiz kromozom yeniden düzenlenmeleri farklı hibridizasyon sinyalleri ile 3-10 Mb çözünürlükte tespit edilebilmektedir (Kirchhoff vd., 1999). Metafaz kromozomlarının düşük çözünürlüğü ve teknik güçlükler bu uygulamanın kullanımını sınırlandırmıştır (Kirchhoff, Rose & Lundsteen, 2001). Metafaz CGH'in yerini daha yüksek çözünürlük sağlayan Array CGH metodu almıştır.

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

Mikroarray (mikrodizin/a-CGH) teknolojisinin diğer standart tekniklere göre çözünürlüğü oldukça yüksektir. Bu sayede genomda oluşan dengesiz değişimleri Kb düzeyinde saptaması açısından avantaj sağlamaktadır (Srebniak vd., 2011).

Array CGH metodunda, eşit miktarda etiketli genomik DNA ve referans örneği DNA hedeflerini içeren cam matriks üzerindeki problemlerle hibridize edilir (Fiorentino vd., 2011). Hastalara ve kontrole ait genomik DNA'lar Cyanine 3 (Cy3) ve Cyanine 5 (Cy5) ile farklı floresan boya ile etiketlenir (Kallioniemi vd., 1992; Fiorentino vd., 2011). Floresan yoğunluk oranı, test ve referans genomlarında DNA dizilerinin kopya sayısı ile orantılıdır. Floresan boya yoğunlukları bir probta eşit ise, hasta genomunun söz konusu bölgesi "normal" olarak yorumlanmaktadır; eğer değişmiş Cy3: Cy5 oranı var ise bu hasta DNA'sında bir kayıp veya kazanç işaret etmektedir. Lamlar mikroarray tarayıcısı kullanılarak imaj dosyalarına çevrilir. Spot yoğunlukları ölçülür, imaj dosyalarının logaritmik oranları metin dosyaları (.txt) şeklinde elde edilir ve kopya sayısı analizi için yazılımın içine aktarılır (Fiorentino vd., 2011). Veriler karmaşık istatistiksel hesaplamalar yapan özgün bilgisayar programlarında değerlendirilir ve taranan bu noktalardaki kopya sayısı değişimleri tespit edilir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. a-CGH işlemlerinin genel özeti (Rare Chromosome Disorder Support Group Charity Number 1110661'den uyarlamadır)

Farklı a-CGH platformlarının genomik çözünürlüğü DNA problemlerinin yerleşimi ve uzunluğu ile belirlenmektedir. Çözünürlüğün artması beraberinde kullanılan prob sayısını arttırmakta ve prob boyutunu azaltmaktadır. 1 Mb'dan küçük değerlerdeki değişimleri saptayabilen arrayler yüksek çözünürlüklü array olarak tanımlanırlar. Mevcut aCGH platformlarının çoğu anöploidileri, iyi tanımlanmış mikrodelesyon veya mikroduplikasyon sendromlarını ve subtelomerik veya diğer dengesiz kromozomal yeniden düzenlenmeleri tespit edebilecek şekilde tasarlanmıştır.

BAC (Bacterial Artificial Chromosomes) Mikroarray: Anomaliye özel dizayn edilmiş genomik klonlar bakteride üretilip prob olarak kullanılır. 100-150 Kb büyüklüğünde olan bu problemlerin hibridizasyon başarısı oligonukleotidlere göre daha yüksektir. Özellikle tanımlanmış ve lokalizasyonu bilinen mikro düzeydeki dengesizlikleri araştırmada (targeted array) avantaj sağlar, fakat maliyetinin yüksek olması, klonların eldesinin zor olması ve klon boyutunun küçültülememesi BAC array'in dezavantajlarıdır (Yıstra, van den Issel, Carvalho, Brakenhoff & Meljer, 2006).

Oligonükleotid Mikroarray : 25-80 bp uzunluğundaki oligonükleotidlerin binlerce kopyasının sentezlenip cam slayt yüzeyine immobilize edilmesi veya doğrudan slayt üzerinde sentezlenmesi ile elde edilirler. Oligonükleotid arraylerde kullanılan prob büyüklüğü azaldıkça non-spesifik ve istenmeyen bağlanmalar artmaktadır (Feuk, Carson & Scherer, 2006).

SNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) Mikroarray : Tek bir nükleotidde meydana gelen baz polimorfizmleridir. SNP array bireylerde ve populasyonda genetik varyasyonu belirlemek için kullanılan bir mikroarray tipidir. Kansere neden olan heterozigosite kaybının ya da DNA seviyesinde meydana gelen duplikasyon veya delesyonların belirlenmesinde de SNP Array kullanılmaktadır (La Framboise, 2009).

Array CGH'nin sitogenetik metodlara en belirgin üstünlüğü yüksek çözünürlüğüdür. Bunun yanında hücre kültürüne ihtiyaç duymaması, sitogenetik metodlardan daha kısa sürede sonuca ulaştırmaktadır. Bir çok a-CGH platformu sadece bir kaç mikrogram genomik DNA'ya ihtiyaç duymaktadır (Fiorentino vd., 2011; Stankiewicz & Beaudet, 2007). Ayrıca aCGH klinik olarak beklenmedik genomik dengesizlikleri ortaya koymaktadır. Bu da sadece ilgili lokusa dair bilgi sağlayabilen, lokusa özel yöntemlere göre a-CGH'in avantajını ortaya koymaktadır.

a-CGH'in avantajlarının yanında bir takım dezavantajları da vardır. Bu teknoloji sadece aynı örnek içinde diğer DNA'lara görece kopya sayısı dengesizliklerini tespit edebildiği için dengeli yeniden düzenlenmeler ve poliploidi saptanamamaktadır. Bunun yanında a-CGH'in, düşük oranlı (<%10) mozaizizmleri gösterememesi aCGH'in bir başka dezavantajıdır.

2.3.3-Moleküler yöntemler

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

2.3.3.1-QF-PCR (*Quantitative fluorescence polymerase chain reaction*)

Kromozoma özgü spesifik kısa tekrar DNA dizilerinin (Short Tandem Repeat) (STR) amplifikasyonuna dayalı bir yöntemdir. Anöploidilerin (13, 18, 21, X ve Y) hızlı tanısında FISH tekniğine alternatif olarak kullanılmaktadır (Ogilvie, Donaghue, Fox, Docherty & Mann, 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

elektrofezde yürütülürler ve sonra bu ürünlerin uzunlukları ve sayılarına göre oluşturdukları pikler bilgisayar ortamında analiz edilir (Elles, Mountford & Mann, 2002). Bu teknik ile sık görülen anöploidiler dışındaki sayısal anomaliler ve yapısal anomaliler tanımlanamaz ve düşük oranlı mozaisizmler saptanamaz (Levett, Liddle & Meredith, 2001).

2.3.3.2-MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*)

MLPA tekniği, DNA dizisindeki tek bir nükleotidlik değişikliği dahi ayırt edebilecek etkinlikte olup, genomik DNA veya RNA dizisindeki kopya sayısı değişikliklerinin tespitini sağlayan bir multipleks PCR tekniğidir (Eijk-Van & Schouten, 2011). MLPA tekniği sayesinde, en sık görülen 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarının anöploidileri ve hedefe yönelik delesyon/duplikasyonlar belirlenebilir (Gerdes vd., 2005). MLPA tekniğinin hedefe yönelik olması bir dezavantajdır.

2.4-Kopya Sayısı Değişiklikleri (Copy Number Variations)

CNVler referans genom ile kıyaslandığında, farklı sayıda bulunan, 1 Kb'dan birkaç Mb boyutunda genomda delesyon, duplikasyon ve insersiyonlar şeklinde yerleşmiş olan DNA segmentleridir. CNV'ler, ailevi olarak kalıtılabildiği gibi *de novo* olarak post-zigotik dönemde de oluşabilirler. Ailedeki etkilenmemiş bireylerde görülen veya gen ürününde herhangi bir değişime yol açmayan CNVler benign, etkilenmiş bireylerde gözlenen, gen ve/veya regülatör bölgelere olan etkisi ile genin ekspresyonunda değişime yol açarak hastalığa neden olan CNVler ise patolojik olarak adlandırılır (Itsara vd., 2009). Saptanan yeni bir CNV'nin benign ya da patolojik olduğunu belirlemek için uluslararası büyük seri çalışmalarının sonuçları ile CNV veritabanları oluşturulmaktadır.

3- GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1-Hasta Grubu

Çalışmamıza Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Polikliniği'ne Kasım 2015 ile Nisan 2016 tarihleri arasında başvuran, anormal fetal ultrason bulgusuna sahip olduğu saptanan, Tıbbi Genetik Polikliniği'nde değerlendirilen, karyotip analizi ve endikasyona özgü FISH çalışmaları yapılan, analiz sonuçları normal olarak değerlendirilen 30 fetal örnek dahil edilmiştir.

Çalışmamız Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 30 Haziran 2016 tarih ve 80558721/G-210 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Çalışmaya katılan tüm bireylerden bilgilendirilmiş onam formu alınmıştır.

Hastalardan alınan amniyosentez örnekleri 10 cc'lik pistonsuz enjektörlerde, CVS örnekleri transport medium bulunan falkon tüplerde, kordosentez örnekleri de EDTA'lı tüp içersinde laboratuvarımıza ulaştırılmıştır.

3.2-Gereçler

3.2.1-Kullanılan aletler

- Mikroarray Tarayıcısı (Agilent)
- Hibridizasyon Haznesi (Agilent)
- Hibridizasyon Haznesi Contalı Lamı (Agilent)
- Hibridizasyon Fırını (Agilent)
- Hibridizasyon Fırını Rotatoru (Agilent)
- Ozon Bariyer Lam Kapağı (Agilent)
- Manyetik Karıştırıcı Çubuk (Corning)
- Isıtma Özellikli Manyetik Karıştırıcı Plaka (Corning)
- Cam Tabak (1.5 L) (Borcam)
- Lam Yıkama Plakaları (250 ml) (Wheaton)

- Lam Tutucusu (Agilent)
- Pipet Takımı (Gilson)
- Mikrosantrifüj (Sigma)
- Isı döngüleyicisi (PE GenAmp PCR System 9700)
- Vorteks (Heidolph)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Mikrofüj Tüpleri (1.5 ml) (Ambion)
- PCR Tüpleri (strip) (Perkin Elmer)
- Toplama Tüpü (Qiagen)
- Spin Kolonu (Qiagen)
- Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)
- Amicon Ultra-0.5, Ultracel-30 Membran, 30kDa Filtresi (Milipore)
- Tam Otomatik DNA İzolasyon Cihazı Magna Pure Compact (Roche)
- Su Banyosu (Nüve)

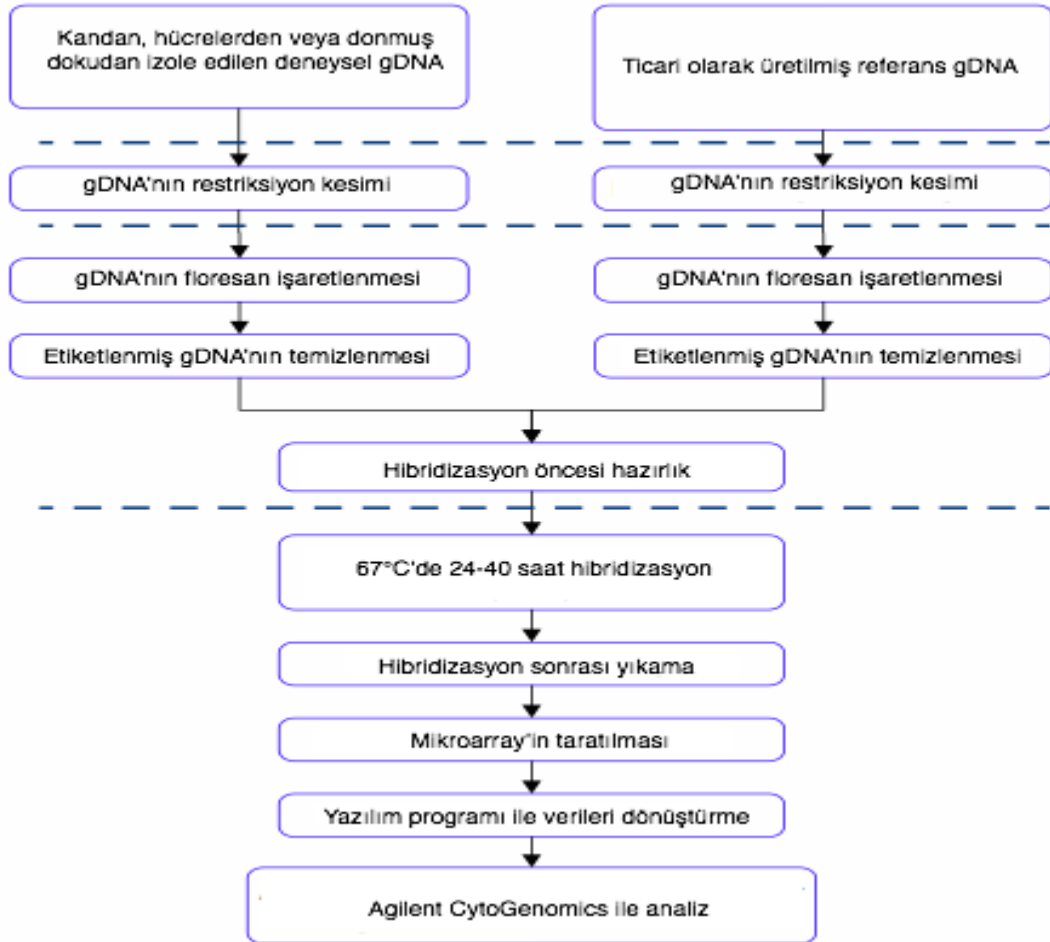
3.2.2-Kullanılan kimyasal maddeler

- DNA Ekstraksiyon Kiti Magna Pure Compact (Roche)
- Proteinaz K Solüsyonu (Qiagen)
- İnsan gDNA'sı (Agilent dişi/erkek)
- İnsan CGH Mikroarray Kiti 8x60K (Agilent G4450A SurePrint G3)
- Alu I (10 U/μL) (Agilent)

- Rsa I (10 U/ μ L) (Agilent)
- Genomik DNA Enzimatik Etiketleme Kiti (Agilent) [Nükleazdan arındırılmış su, Exo (-) Klenow, 5X Reaksiyon tamponu, Cyanine 5-dUTP, Cyanine 3-dUTP, 10X dNTP, Random Primer içermektedir.]
- Oligo aCGH Yıkama Tamponu 1 ve 2 (Agilent)
- Oligo aCGH Hibridizasyon Kiti (Agilent)
- 1xTE (Tris EDTA, pH 8.0) (Agilent)
- Asetonitril (%100, 1L) (Sigma)
- PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu)
- Distile Su

3.3-Yöntemler

Çalışmamızda aCGH analizleri için uyguladığımız algoritma Şekil 3.1'de özetlenmiştir.



Şekil 3.1. aCGH çalışmasının şematik özeti

3.3.1-Genomik DNA eldesi

Amniyosentez, fetal kan ve CVS örneklerinden DNA eldesinde Magna Pure Compact (Roche) DNA Ekstraksiyon Kiti kullanılmıştır. DNA izolasyonu için üretici firmanın önerdiği protokol uygulanmıştır.

3.3.1.1- AS ve CVS örneklerinden DNA eldesi

- AS ve CVS örnekleri kültürde üremeye bırakılmıştır.
- Yeterli miktarda üreme sağlandıktan sonra flasklar tripsinle muamele edilmiştir.

- Flaskların içeriği falkon tüpüne alınmıştır.
- 1 cc tripsin ile flasklar besiyerinden arındırılmıştır.
- Flasklara yine 1cc tripsin ilave edilmiş ve hücrelerin flasktan ayrılması için yaklaşık 3 dakika beklendikten sonra hafifçe vurarak bütün hücrelerin flasktan ayrılması sağlanmıştır.
- Ayrılan hücreler falkon tüpüne alınmıştır. 1300 rpm'de 8 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmış ve pellet ependorfa alınmıştır.
- Ependorfa alınan pellet PBS ile yıkanmıştır. Yıkama için 200 µL PBS ependorfa eklenmiş, vortekslenen ependorf 5 dakika 1000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatant atılmıştır. Bu işlem iki kez tekrarlanmıştır.

Bu işlemler sonucunda kültürden elde edilen amniyon ve CVS rnekleri DNA izolasyonuna hazır hale gelmiştir.

3.3.1.2-Fetal kan örneklerinden DNA eldesi

Fetal kan örneklerinin laboratuvara EDTA'lı tüpler içerisinde transportu sağlanmıştır. DNA izolasyonu öncesinde fetal kan örnekleri herhangi bir muameleye tabi tutulmamıştır.

DNA izolasyonu için hazırlanan CVS ve amniyosentez örnekleri ile fetal kan örneklerinden 200 µL alınarak kit ile birlikte Magna Pure Compact (Roche) DNA Ekstraksiyon Cihazına yüklenmiştir.

3.3.2-Genomik DNA'nın niceliksel ve niteliksel analizi

Array CGH metodunun başarısı için kullanılacak materyalin genomik DNA'sının niceliksel ve niteliksel değerleri önemlidir.

Yüksek kalitede gDNA atıklardan arınmış olmalı ve minimal değerasyona uğramış olmalıdır.

Genomik DNA (gDNA) konsantrasyonunun ve saflığının değerlendirilmesinde NanoDrop ND-1000 UV-VIS Spektrofotometresi kullanılmıştır:

- ✓ NanoDrop Program menüsünden "Nükleik Asit lm" seğildikten sonra örnek tipi DNA-50 olarak ayarlanmıştır.

- ✓Cihazın ölçüm ayarlarını sıfırlamak için öncelikle 1.5 µL distile su, daha sonra 1.5 µL elüsyon tamponu kullanılmıştır.
- ✓Örneklerin her birinden 1.5 µL kullanılarak konsantrasyonları ölçülmüştür.
- ✓260 nm DNA'nın, 280 proteinin ve 230 ise fenolün maksimum absorbans verdiği dalga boyudur. DNA'nın saflığı değerlendirilirken A260/A280 ve A260/A230 oranlarına bakılmaktadır. 260/280 oranının ~1,8 ve A260/ A230 oranının ise 1,8-2,2 olması DNA'nın saf olduğunu göstermektedir. Protein, fenol veya diğer kontaminantların varlığı durumunda oranlar farklı çıkmaktadır.
- ✓Ürün miktarları aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Ürün } (\mu\text{g}) = \frac{\text{DNA konsantrasyonu (ng}/\mu\text{L}) \times \text{Örnek Hacmi } (\mu\text{L})}{1000 \text{ ng}/\mu\text{g}}$$

3.3.3-Genomik DNA enzimatik etiketleme kiti ile restriksiyon kesimi

Her reaksiyon için PCR tüpüne Tablo 3.1'deki uygun gDNA miktarı eklenmiş ve distile su belirtilen hacme tamamlanmıştır.

Tablo 3.1. Mikroarray başına gerekli başlangıç gDNA miktarı

| Mikroarray Formatı | Başlangıç GDNA miktarı (µg) | Restriksiyon Kesimli gDNA hacmi (µL) |
|---------------------------|------------------------------------|---|
| 8x mikroarray | 0.2 - 0.5 | 10.1 |

Restriksiyon Kesim Karışımı (RKK) Tablo 3.2'deki miktarlara göre hazırlanmıştır.

Tablo 3.2. Restriksiyon Kesim Karışımı

| Bileşen | Reaksiyon başına (µL) | 16 reaksiyonluk (fazlası dahil) (µL) |
|---------------------------------|------------------------------|---|
| Distile Su | 1 | 17 |
| 10 x Restriksiyon Enzim Tamponu | 1.3 | 22.1 |
| BSA | 0.1 | 1.7 |
| Alu I | 0.25 | 4.25 |
| Rsa I | 0.25 | 4.25 |
| Son Hacim | 2.9 | 49.3 |

Sekiz olgu ve sekiz referans gDNA'sının olduğu her bir PCR tüpüne 2.9 (µL) RKK eklenmiştir.

10.1 µL hacminde olan PCR tüplerinde 2.9 µL RKK'nın eklenmesi ile toplam hacim 13 µL'ye ulaşmıştır.

Tüplere Tablo 3.3'teki sıcaklıklar ve sürelerde ısı döngüleyicisi programı uygulanmıştır.

Tablo 3.3. Restriksiyon kesimi için ısı döngüleyicisi programı

| Basamak | Sıcaklık | Zaman |
|----------------|-----------------|--------------|
| 1 | 37°C | 2 saat |
| 2 | 65°C | 20 dakika |
| 3 | 4°C | Beklet |

Isı döngüleyicisi programı bittikten sonra her bir PCR tüpüne 2.5 µL Random Primer eklenmiştir.

Toplam hacmi 15.5 µL'ye ulaşan karışıma DNA denatürasyonu ve fragmentasyonu için Tablo 3.4'te verilen ısı döngüleyicisi programı uygulanmıştır.

Tablo 3.4. DNA denatürasyonu ve fragmentasyonu için ısı döngüleyicisi programı

| Basamak | Sıcaklık | Zaman |
|----------------|-----------------|--------------|
| 1 | 95°C | 3 dakika |
| 2 | 4°C | Beklet |

3.3.4-Genomik DNA'nın floresan işaretlenmesi

Floresan Etiketleme Karışımı (FEK) Tablo 3.5'teki sıra ile hazırlanmıştır.

Tablo 3.5. Floresan Etiketleme Karışımı

| Bileşen | Reaksiyon başına (µL) | 8 reaksiyonluk (fazlası dahil) (µL) |
|---------------------------------------|------------------------------|--|
| 5 x Reaksiyon Tamponu | 5 | 42.5 |
| 10 X dNTP | 2.5 | 21.25 |
| Cyanine 3-dUTP veya Cyanine 5-dUTP | 1.5 | 12.75 |
| Exo (-) Klenow | 0.5 | 4.25 |
| Son Hacim | 9.5 | 80.75 |

Referans gDNA'larının bulunduğu PCR tüplerinin her birine Cyanine 3-dUTP içeren floresan etiketleme karışımından 9.5 µL eklenmiştir.

Olgu gDNA'larının bulunduğu PCR tüplerinin her birine Cyanine 5-dUTP içeren floresan etiketleme karışımından eklenmiştir.

Toplam hacmin 25 µL'ye ulaştığı PCR tüplerine DNA etiketlemesi için Tablo 3.6'daki ısı döngüleyici programı uygulanmıştır.

Tablo 3.6. DNA etiketlemesi için ısı döngüleyicisi programı

| Basamak | Sıcaklık | Zaman |
|----------------|-----------------|--------------|
| 1 | 37°C | 2 saat |
| 2 | 65°C | 10 dakika |
| 3 | 4°C | Beklet |

3.3.5-Etiketlenmiş gDNA'nın temizlenmesi

Etiketlenmiş gDNA Amicon Ultra-0.5, Ultracel-30 Membran, 30kDa Filtresi kullanılarak temizlenmiştir.

- ✓ Her bir hasta ve referans için 1.5 µL'lik mikrofüj tüpü numaralandırılmış ve içlerine filtre yerleştirilmiştir.

- ✓ Her bir gDNA örneği 430 µL 1 x TE (pH 8.0) ile pipetej yapılarak filtrelili tüpe alınmıştır.
- ✓ Tüpler 10 dakika boyunca 14,000 x g'de santrifüj edilmiştir. Altta kalan kısım atılmıştır.
- ✓ Her bir tüpe 480 µL 1 x TE (pH 8.0) eklenmiştir.
- ✓ Tüpler 10 dakika boyunca 14,000 x g'de santrifüj edilmiştir.
- ✓ Filtreler numaralandırılmış yeni 1.5 µL'lik mikrofüj tüplerinin içine ters çevrilerek yerleştirilmiştir.
- ✓ 1 dakika boyunca 1,000 x g'de santrifüj edilmiştir.

3.3.6-Ürün miktarı ve spesifik aktivite hesaplanması

Ürün miktarı ve spesifik aktivitenin hesaplanmasında NanoDrop ND-1000 UV-VIS Spektrofotometre kullanılmıştır.

- ✓ NanoDrop Program menüsünden MikroArray Ölçümü seçilmiş, örnek tipi DNA-50 olarak ayarlanmıştır.
- ✓ Cihazın ölçüm ayarlarını sıfırlamak için öncelikle 1.5 µL distile su, daha sonra 1.5 µL 1 x TE (pH 8.0) kullanılmıştır.
- ✓ Örneklerin her birinden 1.5 µL kullanılarak, A_{260nm} (DNA), A_{550nm} (Cy3), A_{650nm} (Cy5) absorbanı ile gDNA konsantrasyonu ve hacmi ölçülmüştür.
- ✓ Spesifik aktivite ölçümü aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\frac{\text{Spesifik Aktivite}}{(\mu\text{g gDNA başma pmol boya})} = \frac{\mu\text{L boya başma pmol}}{\mu\text{L gDNA başma } \mu\text{g}}$$

- Ürün miktarı ölçümü aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Ürün miktarı } (\mu\text{L}) = \frac{\text{DNA konsantrasyonu (ng/}\mu\text{L)} \times \text{Örnek Hacmi } (\mu\text{L})}{1000 \text{ ng/}\mu\text{g}}$$

- Spesifik aktivite ve ürün miktarı ile ilgili beklenen değerler Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.7. Beklenen spesifik aktivite ve ürün miktar değerleri

| Giriş DNA | Ürün miktarı | Cy-3 referansların spesifik aktivitesi | Cy-5 örneklerin spesifik aktivitesi |
|------------------|---------------------|---|--|
| 0.2-0.5 | 2.5 - 3.0 | 15-25 | 15-20 |

- Etiketleme sonrası Cy3 ve Cy5 ürün miktarlarının eşit olması gerekmektedir.
- Cy3 ile etiketlenmiş referansların olduğu tüpler ile Cy5 ile etiketlenmiş örneklerin olduğu tüpler tek bir PCR tüpünde birleştirilmiştir.

3.3.7-Hibridizasyon öncesi hazırlık

Hibridizasyon karışımında kullanmak üzere Oligo aCGH Hibridizasyon Kiti içinde liyofilize haldeki 10 x bloke edici ajana 1.350 µL distile su eklenmiş ve oda sıcaklığında 60 dakika bekletilmiştir.

Hibridizasyon karışımı Tablo 3.8'deki şekilde hazırlanmıştır.

Tablo 3.8. Hibridizasyon karışımı

| Bileşen | Hibridizasyon başına hacim (µL) | 8 reaksiyonluk (fazlası dahil) (µL) |
|----------------------------------|--|--|
| Cot-1 DNA (1.0 mg/mL) | 2 | 20 |
| 10 x aCGH bloke edici ajan | 4.5 | 45 |
| 2 x HI-RPM hibridizasyon tamponu | 22.5 | 225 |
| Son hacim | 29 | 290 |

Hibridizasyon için referans ve olgu örneklerinin her birinden 16 µL yeni PCR tüplerine alınmıştır.

Hibridizasyon karışımından her bir referans ve olgu örneği için 29 µL alınarak yeni hazırlanan referans ve olgu örneklerinin olduğu tüplere eklenmiştir.

Toplam 45 µL olan karışıma pipetaj yapılmıştır.

Tablo 3.9'daki ısı döngüleyicisi programı uygulanmıştır.

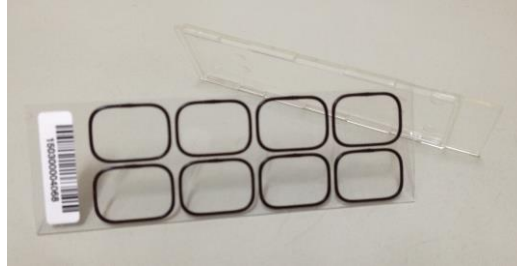
Tablo 3.9. Isı döngüleyicisi programı

| Basamak | Sıcaklık | Zaman |
|---------|----------|-----------|
| 1 | 95°C | 3 dakika |
| 2 | 37°C | 30 dakika |

3.3.8-Mikroarray hibridizasyonu

Hibridizasyon haznesine açıklıkları üste gelecek şekilde bir contalı lam haznenin tabanına tam olarak yerleştirilmiştir.

Her bir örnekten 40 µL, conta ile çevrelenen sekiz adet örnek koyma bölümlerine "sürükle ve dağıt" metodu ile yayılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. 8x60K mikroarray slaytı için örneklerin yayıldığı contalı lam

Problar, cam lamın "Agilent" etiketli yüzüne basılmıştır. Bu yüz "aktif yüz" olarak adlandırılmaktadır.

Aktif yüz aşağı bakacak şekilde contalı lamın üzerine yerleştirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Mikroarray slaytın contalı lam üzerine yerleştirilmesi

Mikroarray slaytları kenarlarından tutulmuş ve lamların yüzeyine dokunulmamıştır.

Hibridizasyon haznesi kapağı kapatılmış, mandal kaydırılmış ve döndürülerek sıkılmıştır. Hazne döndürülerek lamın tamamen karışım ile temas etmesi sağlanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Hibridizasyon fırınına (rotatora) yerleştirilmeden önce hibridizasyon haznesinin sıkıştırılması

Lam haznesi 65°C'ye ayarlanmış hibridizasyon fırınındaki rotator yuvaya yerleştirilmiştir.

Denge için yuvanın karşısına boş bir hibridizasyon haznesi yerleştirilmiştir.

Rotator hızı 20 devir / dakika'ya ayarlanmıştır. 65°C'de 16-24 saat hibridizasyona bırakılmıştır.

3.3.9-Hibridizasyon sonrası yıkamaya hazırlık

Yıkamada kullanılacak tüm malzemeler %100 asetonitril ile yıkanmış ve distile su ile durulanmıştır.

Yıkama tamponu 2, optimum performans sağlaması için bir gece önceden 37°C'ye ayarlanmış etüvde bekletilmiştir.

Yıkama tamponu 1 ve 2'nin bulunduğu cam tabaklar manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir.

Yıkama tamponu 2'nin bulunduğu manyetik karıştırıcı 37°C'ye ayarlanmıştır.

Yıkama tamponu 1 oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir.

Ayrı bir cam tabakta yıkama tamponu 1, 8x60K slaytı contalı lamdan ayırmak üzere hazırlanmıştır.

3.3.10-Hibridizasyon sonrası yıkama

16-24 saatlik hibridizasyon süresinin sonunda hibridizasyon haznesi yıkama tamponu 1'in bulunduğu cam tabak içinde birbirinden ayrılmıştır.

Lam hemen sonrasında yıkama tamponu 1'in bulunduğu manyetik karıştırıcı üzerinde bulunan cam tabaktaki lam yıkama plağına yerleştirilmiş ve 5 dakika boyunca bekletilmiştir.

Sonrasında lam yıkama plağı, yıkama tamponu 2'nin bulunduğu cam tabağa alınmış ve 1 dakika bekletilmiştir.

1 dakika sonunda lam yıkama plağı kurutma kağıdı üzerine alınmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Hibridizasyon sonrası yıkama

Mikroarray lamı, lam tutucusuna "Agilent" etiketi dış ve üst tarafa bakacak şekilde yerleştirilmiştir.

Ozon bariyer lam kapağı lamın üzerine yerleştirilerek lam tutucusunun tırnağı yardımı ile kapatılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Slaytı lam tutucusuna yerleştirme

3.3.11-Mikroarray taratılması

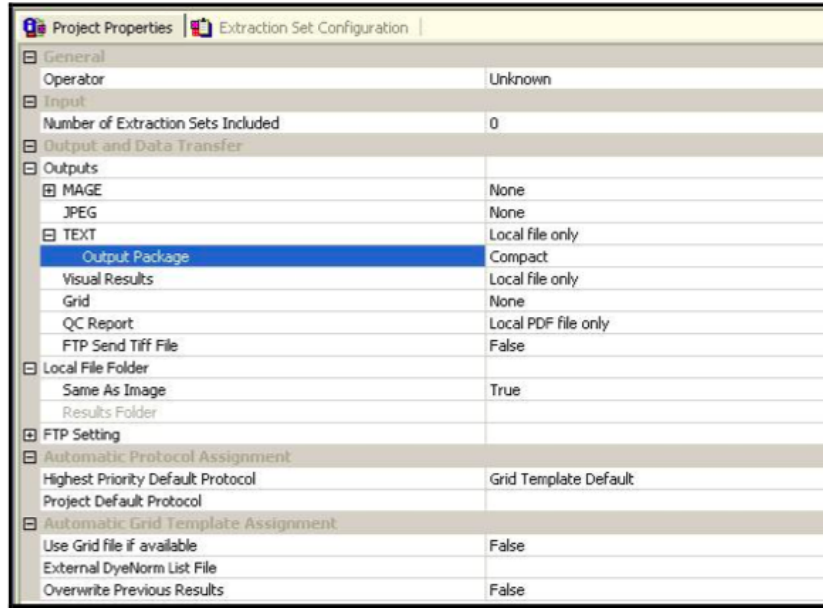
Lam tutucu tarayıcı cihaz karuseline yerleştirilmiştir. Bilgisayardan "Scan Control" programı açılmış ve aşağıdaki ayarlar yapılmıştır.

- 8x60K mikroarray için Profile AgilentG3_CGH seçilmiştir.
- Slide ID<Auto Detect> olarak seçilmiştir.
- Channels R+G olarak seçilmiştir.
- Scan Region Agilent HD (61x21.6mm) olarak ayarlanmıştır.
- Resolution 3 μ m'ye ayarlanmıştır.
- Tiff 16 bit olarak seçilmiştir.
- R PMT ve G PMT %100'e ayarlanmıştır.
- İmaj dosyasının çıkartılacağı klasör seçilmiştir.
- Tarayıcı durum menüsünde "tarayıcı hazır" uyarısı görüldükten sonra mikroarrayin karusele yerleştirildiği yuva "Slot m-n"(m ilk, n son yuva) olarak belirtilip taramaya başlanmıştır.

3.3.12-İmaj dosyalarının analizi

Tarama işlemi bittikten sonra aberasyonları analiz etmek için imaj dosyasından (.tiff) veri çıkartma ve log oranlarına dönüştürme işlemi için Feature Extraction 3.0.2.11 ve Agilent CytoGenomics 3.0.2.11 yazılımları kullanılmıştır.

Feature Extraction yazılımının ayarları şekil 3.7'deki gibi yapılmıştır.

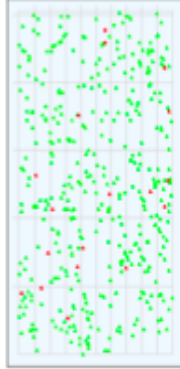


Şekil 3.7. Feature Extraction yazılım ayarları

Feature Extraction yazılımı deneyin kalitesi ile ilgili kontrol raporu vermektedir (Şekil 3.8 ve Şekil 3.9).

Enzimatik etiketleme için kalite kontrol metrik eşik değerleri Şekil 3.10'da verilmiştir.

Spatial Distribution of the Positive and Negative LogRatios

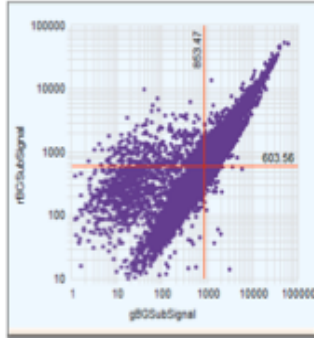


#Positive:1711 (Red) ; #Negative:8333 (Green)

•Positive*Negative

Positive: 1.51% of NonCtrl Features : Random (Value 1.06)
Negative: 7.37% of NonCtrl Features : Random (Value 1.03)

Red and Green Background Corrected Signals (Non-Control Inliers)



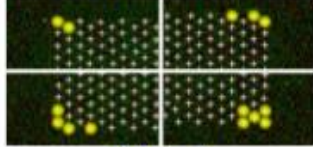
Features (NonCtrl) with BCSubSignal < 0: 0 (Red), 41 (Green)

Şekil 3.8. a-CGH kalite rapor örneği (1)

QC Report - Agilent Technologies : 2 Color CGH

Date: Wednesday, December 18, 2013 - 13:13
 User Name: pauloos
 Image: US1104PP06_254457710708_3001 [1_3]
 Protocol: CytoCGH_QC07_Feb13 (Read Only)
 Grid: 044577_20121029
 Saturation Value: 65526 (r), 65526 (g)
 DyeNorm List: NA
 No of Probes in DyeNorm List: NA
 Sample(red/green): Agilent Euro Male/Agilent Euro Female
 FE Version: 2.7.1.0
 BG Method: Detrend on (NegC)
 Dye Norm: True
 Linear

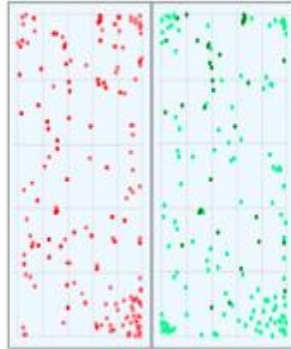
Spot Finding of the Four Corners of the Array



Grid Normal

Outlier Numbers with Spatial Distribution

1064 rows x 170 columns



*Red FeaturePopulation
*Green FeaturePopulation

*Red Feature NonUniform
*Green Feature NonUniform

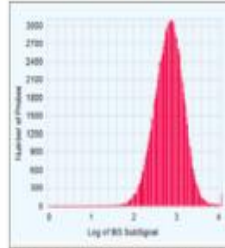
| Feature | Red | Green | Any | %Outlier |
|-------------|-----|-------|-----|----------|
| Non Uniform | 71 | 46 | 82 | 0.05 |
| Population | 112 | 130 | 208 | 0.11 |

Evaluation Metrics for CytoCGH_QCMT_Feb13

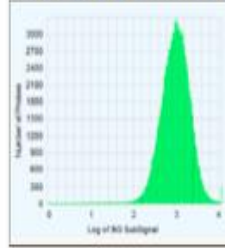
| Metric Name | Value | Excellent | Good | Evaluate |
|-----------------------|--------|-----------|--------------|-------------|
| lgGoodGrid | 1.00 | >1 | NA | <1 |
| AnyColorPrintHeadNotL | 0.05 | <1 | 1 to 5 | >5 |
| DerivativeLR_Spread | 0.12 | <0.20 | 0.20 to 0.30 | >0.30 |
| gRapro | 0.05 | 0 to 0.05 | 0.05 to 0.20 | <0 or >0.20 |
| g_BGNoise | 6.54 | <5 | 5 to 20 | >20 |
| g_Signal2Noise | 130.44 | >100 | 30 to 100 | <30 |
| g_SignalIntensity | 853.47 | >150 | 50 to 150 | <50 |
| rRapro | 0.05 | 0 to 0.05 | 0.05 to 0.20 | <0 or >0.20 |
| r_BGNoise | 4.55 | <5 | 5 to 20 | >20 |
| r_Signal2Noise | 132.52 | >100 | 30 to 100 | <30 |
| r_SignalIntensity | 803.56 | >150 | 50 to 150 | <50 |
| RestrictionControl | 0.95 | | 0.80 to 1 | <0.80 or >1 |

* Excellent * Good * Evaluate

Histogram of Signals Plot (Red)



Histogram of Signals Plot (Green)



Şekil 3.9. a-CGH kalite rapor örneği (2)

| Metrik Değer | Ölçülen Değer | Mükemmel | İyi | Değerlendirilebilir |
|--------------------------|---------------|-----------|--------------|---------------------|
| IsGoodGrid | 1.00 | >1 | NA | <1 |
| AnyColorPrcntFeatNonU... | 0.05 | <1 | 1 to 5 | >5 |
| DerivativeLR_Spread | 0.12 | <0.20 | 0.20 to 0.30 | >0.30 |
| gRepro | 0.06 | 0 to 0.05 | 0.05 to 0.20 | <0 or >0.20 |
| g_BGNoise | 6.54 | <5 | 5 to 20 | >20 |
| g_Signal2Noise | 130.44 | >100 | 30 to 100 | <30 |
| g_SignalIntensity | 853.47 | >150 | 50 to 150 | <50 |
| rRepro | 0.06 | 0 to 0.05 | 0.05 to 0.20 | <0 or >0.20 |
| r_BGNoise | 4.55 | <5 | 5 to 20 | >20 |
| r_Signal2Noise | 132.52 | >100 | 30 to 100 | <30 |
| r_SignalIntensity | 603.56 | >150 | 50 to 150 | <50 |
| RestrictionControl | 0.95 | | 0.80 to 1 | <0.80 or >1 |

● Mükemmel ● İyi ● Değerlendirilebilir

Şekil 3.10. Enzimatik etiketleme için kalite kontrol metrik eşik değerleri

3.3.13-Array sonuçlarının yorumlanması

Array sonuçlarının yorumlanmasında öncelikle elde edilen verilerin yalancı pozitiflik olasılıkları ekarte edilir.

Yalancı pozitif veriler elendikten sonra değişimlerin saptandığı kromozom bölgelerine yönelik taramalar yapılır. Bunun için çeşitli merkezlerde gerçekleştirilen a-CGH çalışmalarının sonuçlarının depolandığı veritabanları kullanılır. Veritabanları, değişimlerin patolojik/benign olup olmadığını belirlemek için yapılan tüm çalışmalara (aile çalışmaları, fenotip fenotip korelasyonu) yönelik bilgileri içerir.

İnternet ortamında bulunan bu veritabanlarıyla elde edilen veriler karşılaştırılır.

Bu veritabanlarından en sık kullanılanları; UCSC Genome Browser, ENSEMBL, DECIPHER, DGV, ISCA, PubMed ve OMIM'dir.

De novo kalıtım gösteren ve/veya fenotipik etkisi bilinmeyen değişiklikler için değişim bölgesinin içerdiği genlerle ilgili yapılan araştırmaların sonuçları ile fenotip veya endikasyon arasında ilişki kurulmaya çalışılır.

Bu çalışmada saptanan tüm değişimlerin analizlerinde;

- DGV (Database of Genomic Variants) (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>),

- DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) (<http://decipher.sanger.ac.uk/>),
- UCSC (University of California, Santa Cruz) (<http://genome.ucsc.edu/>),
- PubMed kapsayan NCBI (National Center for Biotechnology Information)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),
- OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<http://omim.org/>),
veritabanları kullanılmıştır.

4- BULGULAR

Çalışmamıza, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'na başvuran, ultrasonografik incelemeler sonrasında anomali tespit edilen ve Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda karyotip analizleri ve gerekli FISH çalışmaları yapılarak sonucu normal olarak belirlenen 30 olgu dahil edilmiştir. Olguların tanıları ile ilgili bilgiler, invaziv girişim öncesi gerçekleştirilen genetik danışma sırasında alınan bilgiler doğrultusunda hazırlanan hasta dosyalarından temin edilmiştir.

4.1-Olguların Toplu Sonuçları

30 olguya ait klinik, sitogenetik, moleküler sitogenetik ve array sonuçları Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. 30 Olguya ait toplu sonuçlar

| Olgu | İnvaziv Yöntem | GH | USG Bulguları | Karyotip | FISH | Array Sonuçları | | | |
|------|----------------|----|---|----------|--------|--|----------------------------------|----------------------|----------------------|
| | | | | | | Kromozom | Büyüklik | Kayıp/Kazanç | Gen |
| 1 | AS | 16 | KPK, IEF | 46,XY | DGS(N) | 6p22.2-22.1 17p13.3 | 2,383 kb 195 kb | Amp. Amp. | - SMYD4* |
| 2 | AS | 16 | NT artışı, kistik higroma | 46,XX | - | - | - | - | - |
| 3 | AS | 21 | KKA | 46,XY | MDS(N) | - | - | - | - |
| 4 | AS | 17 | AVSD, plevral effüzyon | 46,XY | DGS(N) | 7p21.3-21.2 15q21.3 | 1,929 kb 71 kb | Amp. Amp. | ETV1* ALDH1A2 |
| 5 | AS | 20 | Ekstremité kusallığı, polidaktili, ventrikulomegali | 46,XY | - | 6p22.2-22.1 | 2,133 kb | Amp. | - |
| 6 | AS | 21 | NT artışı, bilateral pyelektazi | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 7 | AS | 21 | Dandy-Walker malformasyonu | 46,XX | MDS(N) | 15q21.3 | 377 kb | Amp. | ALDH1A2 |
| 8 | AS | 20 | PSUV, hemimegalensefali, anormal falks | 46,XY | MDS(N) | 6p22.2-22.1 6q22.31-q22.32 8q21.11 | 1,757 kb 3,530 kb 1,451 kb | Amp. Amp. Amp. | - HEY2* ZFHX4* |
| 9 | AS | 16 | NT artışı | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 10 | CVS | 14 | NT artışı | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 11 | AS | 20 | Tek umbilikal arter, hiperekojen barsak | 46,XY | - | 6p22.2-22.1 | 1,847 kb | Amp. | - |
| 12 | AS | 20 | KPK, trunkus arteriosus | 46,XY | DGS(N) | - | - | - | - |
| 13 | AS | 20 | PSUV | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 14 | AS | 21 | Sağ aortik ark | 46,XX | DGS(N) | 1q41 | 2,727 kb | Amp. | TGFB2* |
| 15 | KS | 22 | Double-bubble | 46,XY | - | - | - | - | - |

Tablo 4.1. 30 Olguya ait toplu sonuçlar (Devam)

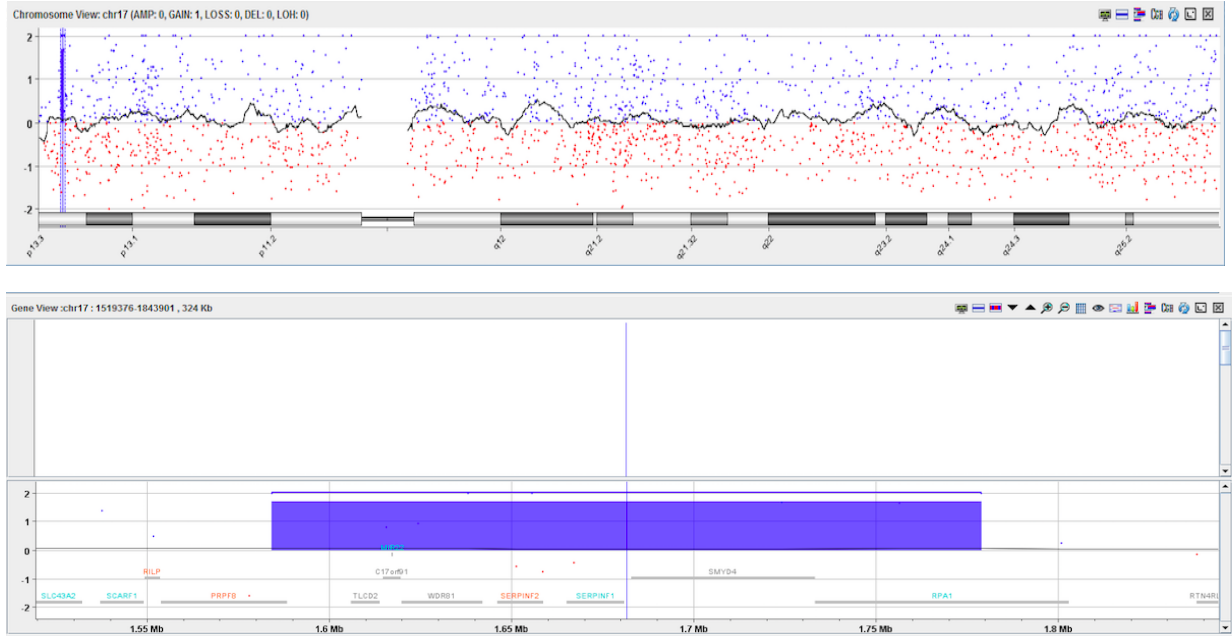
| Olgu | İnvaziv Yöntem | GH | USG Bulguları | Karyotip | FISH | Array Sonuçları | | | |
|------|----------------|----|---|----------|--------|-----------------|----------|--------------|-------------------------------|
| | | | | | | Kromozom | Büyüklik | Kayıp/Kazanç | Gen |
| 16 | AS | 19 | Ventrikülomegali | 46,XY | MDS(N) | - | - | - | - |
| 17 | AS | 20 | Bilateral pyelektazi, IEF | 46,XY | DGS(N) | 6p22.2-p22.1 | 1,847 kb | Amp. | - |
| 18 | AS | 21 | VSD | 46,XX | DGS(N) | 15q21.3 | 377 kb | Amp. | ALDH1A2 |
| 19 | AS | 21 | NT artışı, Oligohidroamnios | 46,XX | - | 4p16.1 | 93 kb | Del. | SORCS2* |
| 20 | KS | 22 | Bilateral yank üst dudak | 46,XX | DGS(N) | - | - | - | - |
| 21 | AS | 20 | Umbilikal ven varisi | 46,XX | - | - | - | - | - |
| 22 | AS | 16 | NT artışı | 46,XX | - | - | - | - | - |
| 23 | AS | 19 | Kistik fibrozis, VSD | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 24 | AS | 20 | Sağ aortik ark | 46,XY | DGS(N) | - | - | - | - |
| 25 | AS | 21 | NT artışı | 46,XY | - | - | - | - | - |
| 26 | AS | 18 | Ventrikülomegali | 46,XX | MDS(N) | - | - | - | - |
| 27 | AS | 21 | PSUV | 46,XX | - | 11p14.1 | 1,583 kb | Amp. | KIF18A, MIR610, METTL15 |
| 28 | AS | 21 | IEF | 46,XY | DGS(N) | - | - | - | - |
| 29 | AS | 20 | VSD, interventriküler septum boyunca hiperekojenite | 46,XX | DGS(N) | - | - | - | - |
| 30 | CVS | 13 | NT artışı | 46,XY | - | 4q28.3 | 213 kb | Amp. | - |

GH:Gebelik haftası, AS:Amniyosentez, KS:Kordosentez, CVS:Koryonik villüs örnekleme, DGS:Di-George sendromu, MDS:Miller-Dieker sendromu, KPK:Koroid pleksus kisti, IEF:Intrakardiyak ekojenik odak, KKA:Korpus kollozum agenezisi, PSUV:Persistan sağ umbilikal ven, AVSD:Atrioventriküler septal defekt, VSD:Ventriküler septal defekt, NT:Ense kalınlığı, Amp.:Amplifikasyon, Del.:Delesyon, (N): Normal

4.2-Klinik Olarak İlişkilendirilen CNV'lerin Saptandığı Olgu Sunumları

4.2.1-Olgu 1

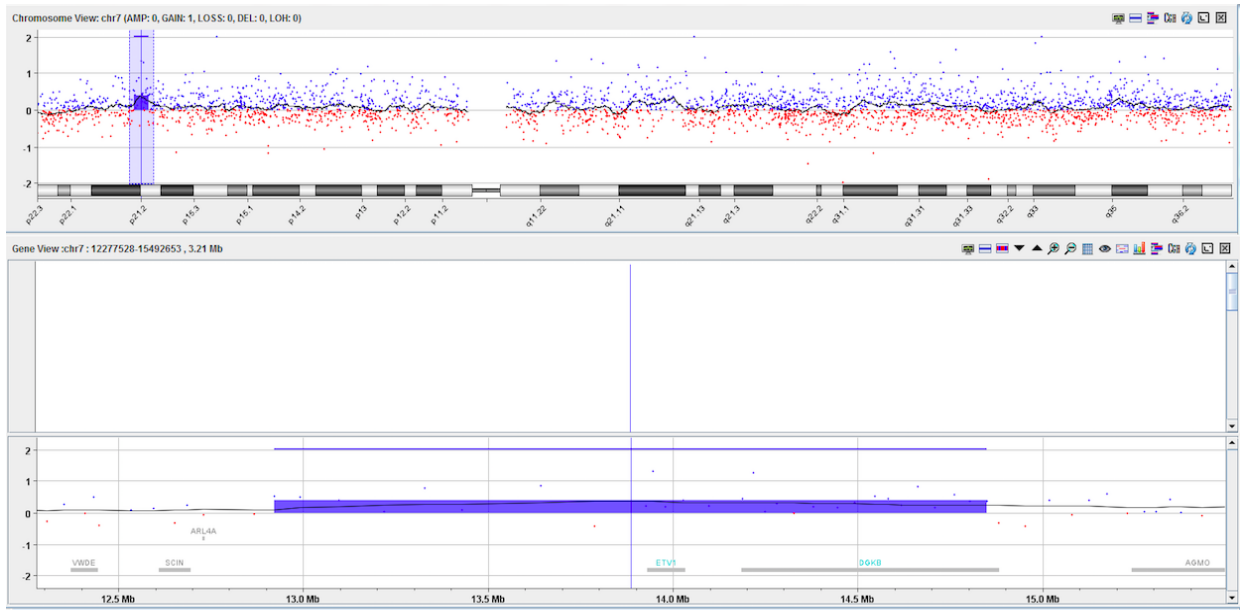
Eşi ile aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 32 yaşındaki sağlıklı annenin 1. gebeliğinde, 16. gebelik haftasında fetal USG'de koroid pleksus kisti ve sol ventrikülde intrakardiyak hiperekojenik odak saptanması nedeniyle amniyosentez uygulanmıştır. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde ve Di-George Sendromuna yönelik FISH çalışmasında normal sonuçlar saptanmıştır. Amniyotik sıvıdan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 17. kromozomun p13.3 bölgesinde 195 Kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Olgu 1'e ait 17p13.3 amplifikasyonu (195 kb) a-CGH görüntüsü

4.2.2-Olgu 4

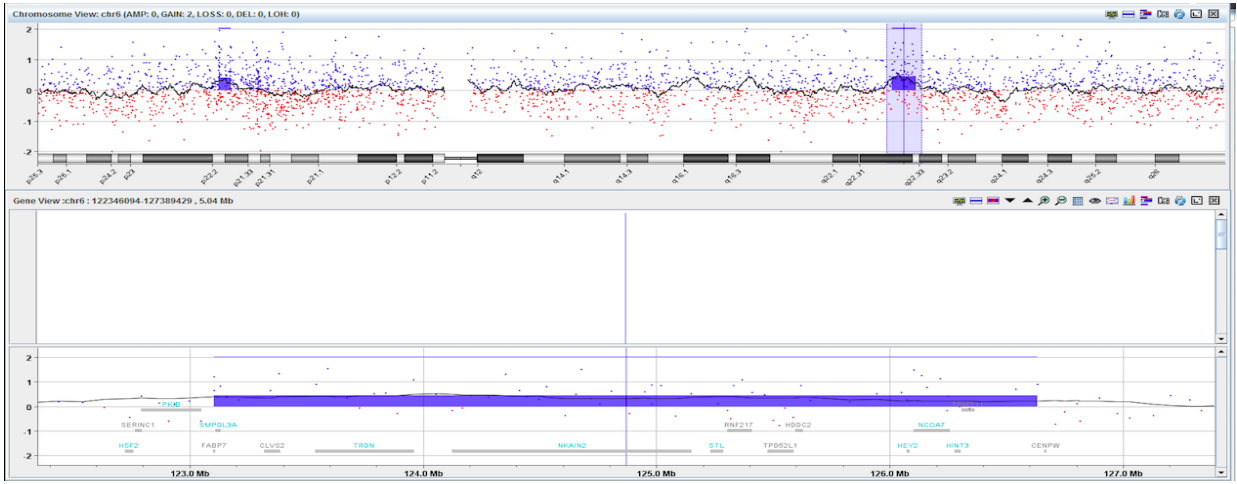
Eşi ile aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 24 yaşındaki sağlıklı annenin 2. gebeliğinde, 17. gebelik haftasında fetal USG'de atrioventriküler septal defekt ve plevral efüzyon saptanması nedeniyle amniyosentez uygulanmıştır. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde ve Di-George Sendromuna yönelik FISH çalışmasında normal sonuçlar saptanmıştır. Amniyotik sıvıdan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 7. kromozomun p21.3→p21.2 bölgeleri arasında 1,929 Kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır (Şekil 4.2).



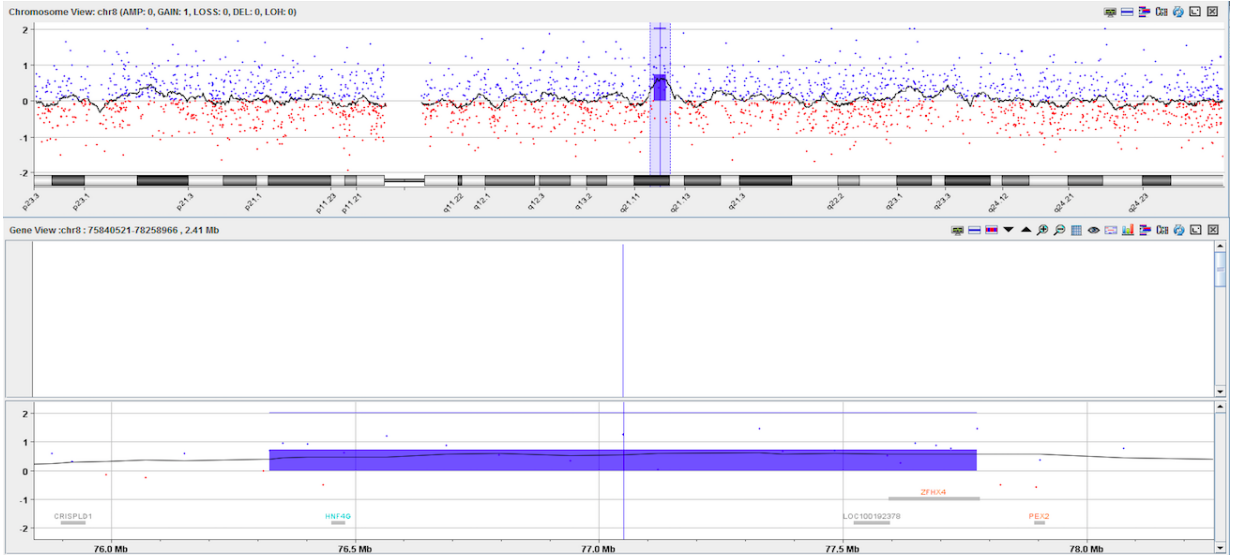
Şekil 4.2. Olgu 4'e ait 7p21.3-p21.2 amplifikasyonu (1,929 kb) a-CGH görüntüsü

4.2.3-Olgu 8

Eşi ile aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 21 yaşındaki sağlıklı annenin 2. gebeliğinde, 20. gebelik haftasında fetal USG'de persistan sağ umbilikal ven, hemimegalensefali ve anormal falks saptanması nedeniyle amniyosentez uygulanmıştır. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde ve Miller-Dieker Sendromuna yönelik FISH çalışmasında normal sonuçlar saptanmıştır. Amniyotik sıvıdan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 6. kromozomun q22.31→q22.32 bölgeleri arasında 3,530 Kb amplifikasyon (Şekil 4.3) ve 8. kromozomun q21.11 bölgesinde 1,451 Kb amplifikasyon saptanmıştır (Şekil 4.4).



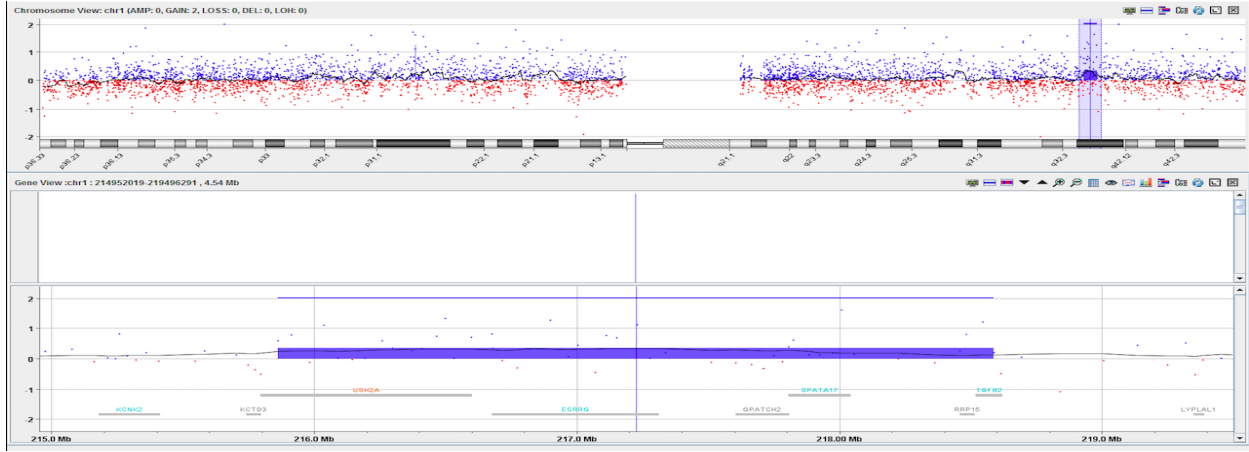
Şekil 4.3. Olgu 8'e ait 6q22.31-q22.32 amplifikasyonu (3,530 Kb) a-CGH görüntüsü



Şekil 4.4. Olgu 8'e ait 8q21.11 bölgesi amplifikasyonu (1,451 Kb) a-CGH görüntüsü

4.2.4-Olgu 14

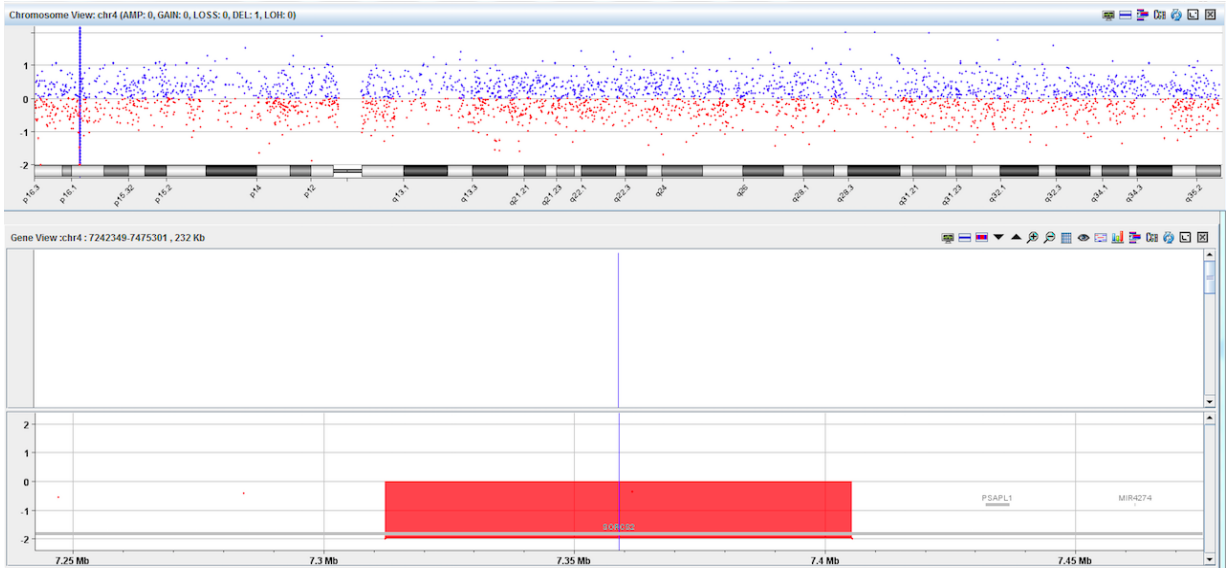
Eşi ile aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 25 yaşındaki sağlıklı annenin 1. gebeliğinde, 21. gebelik haftasında fetal USG'de sağ aortik ark saptanması nedeniyle amniyosentez uygulanmıştır. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde ve Di-George Sendromuna yönelik FISH çalışmasında normal sonuçlar saptanmıştır. Amniyotik sıvıdan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 1. kromozomun q4.1 bölgesinde 2,727 Kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Olgu 14'e ait 1q4.1 amplifikasyonu (2,727 Kb) a-CGH görüntüsü

4.2.5-Olgu 19

Eşi ile aralarında akrabalık ilişkisi olmayan 22 yaşındaki sağlıklı annenin 1. gebeliğinde, 21. gebelik haftasında fetal USG'de oligohidroamnios ve NT artışı saptanması nedeniyle amniyotenz uygulanmıştır. Elde edilen fetal dokuda yapılan karyotip analizinde normal kromozom yapısı saptanmıştır. Amniyotik sıvıdan izole edilen DNA örneğinde yapılan a-CGH çalışmasında 4. kromozomun p16.1 bölgesinde 93 Kb büyüklüğünde bir delesyon saptanmıştır (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Olgu 19'a ait 4p16.1 delesyonu (93 Kb) a-CGH görüntüsü

4.3-Saptanan Kopya Sayısı Değişimlerinin Dağılımı

Çalışmamızda toplam 30 olgunun 11'inde (%36,6) kopya sayısı değişimleri saptanmıştır. 11 örnekte farklı bölgelerdeki toplam CNV sayısı 10'dur.

Saptanan kopya sayısı değişimlerinin 6'sı (%54,5) klinik olarak ilişkili, 2'si (%18,1) klinik önemi bilinmeyen varyant, 1'i (%9,1) polimorfik olarak değerlendirilmiştir. Saptanan kopya sayısı değişimlerinden 1'i (%9,1) kullanılan referans DNA'nın hatalı üretiminden kaynaklanmaktadır.

4.3.1-Saptanan kopya sayısı değişimlerinin kromozomlara göre dağılımları

Çalışmamızda saptanan kopya sayısı değişimlerinin kromozomlara göre dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo. 4.2. Kopya sayısı değişimlerinin kromozomlara göre dağılımı

| Kromozom | Kromozom Bölgesi | Kayıp/Kazanç | Gözlenen Olgu Sayısı |
|----------|------------------|--------------|----------------------|
| 1 | q41 | Amp. | 1 |
| 4 | p16.1 | Del. | 1 |
| | q28.3 | Amp. | 1 |
| 6 | p22.2-22.1 | Amp. | 5 |
| | q22.31-22.32 | Amp. | 1 |
| 7 | p21.3-21.2 | Amp. | 1 |
| 8 | q21.11 | Amp. | 1 |
| 11 | p14.1 | Amp. | 1 |
| 15 | q21.3 | Amp. | 3 |
| 17 | p13.3 | Amp. | 1 |

5- TARTIŞMA

Çalışmamızda anormal fetal ultrason bulgusu olan 30 olguyu aCGH metodu ile değerlendirmeyi amaçladık. Bu çalışmadaki toplam 30 olgunun 11'inde (%36,6) kopya sayısı değişimleri saptanmış ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

Array CGH metodunun postnatal tanıda kullanımı son yıllarda oldukça yoğun ve etkilidir (Evangelidou vd., 2013). Bir çok çalışma bu yöntemin yüksek duyarlılık ve özgüllükle, büyük ve küçük boyutlardaki dengesizlikleri saptadığını göstermiştir. Array CGH'in postnatal tanıda kullanımı, kesin tanı, sendromların karakterizasyonu, fenotip-genotip korelasyonu, prognoz ve daha iyi klinik yönetime imkan sağlamıştır. Mental retardasyon/Multipl konjenital anomalilerde, nörolojik problemleri olan hastalarda, otizmde, kognitif eksikliği olan hastalarda ve normal karyotipli ya da karyotip elde edilemeyen durumlarda a-CGH'in postnatal tanı başarısının %7-11 arasında olduğu tahmin edilmektedir (Evangelidou vd., 2010; Filges vd., 2012; Saldarriaga vd., 2015).

Prenatal tanıda yüksek riskli hastalarda, karyotipleme ile tanı koyma oranı %2.5-4.2 iken, a-CGH ile tanı oranı %5.3-15 olarak bildirilmiştir. Fetal anomali defektleri belirtildiğinde a-CGH'de anomali saptama oranı önemli ölçüde artış göstermiştir (%9.3-39) (Saldarriaga vd., 2015). Günümüze kadar yapılan çalışmaların sonuçları göz önüne alınarak, a-CGH'in uygulandığı prenatal tanıda saptanan kopya sayısı değişimlerinin %12'sinden fazlasının tanımlanması beklenmektedir. Array CGH ile anomali saptama oranının anlamlı olduğuna ve prenatal genetik danışma ile risk değerlendirilmesinde önemli tanı bilgileri sağladığına dair literatürde fikir birliği vardır (Evangelidou vd., 2010).

Array CGH'in bir çok avantajının olmasının yanında, prenatal tanıda kullanımı sınırlıdır. Bunun temel sebebi hastalarda saptanan CNV'lerin arasında henüz karakterize edilemeyen ve klinik öneminden, fonksiyonundan, anormal fenotiplerle ilişkisinden ve tanıdaki değerinden habersiz olunan, kesin olarak benign ya da patolojik olarak sınıflandırılmayan CNV'lerin bulunmasıdır (Evangelidou vd., 2010; Yan vd., 2014). Postnatal hastalardan elde edilen fenotipik detaylarla karşılaştırıldığında prenatal tanıda fenotipik verilere ulaşmak daha zordur. Bu tip kısıtlamalara ek olarak, gebelik terminasyonu için verilerin daha yüksek doğrulukta yorumlanması ve neden-sonuç ilişkisinin kurulması gerekmektedir (Filges vd., 2012). Sınıflandırılmayan bulgular a-CGH sonuçlarının yorumlanması ve raporlanmasında sorunlar ortaya çıkarabilmektedir. Sonuç olarak klinisyen, sonuçların ve tekrarlama riskinin tahmininde, uygun genetik danışma vermekte ve klinik yönetimde zorluklarla karşılaşabilmektedir (Evangelidou vd., 2010; Saldarriaga vd.,

2015). Çok sayıda verinin ortaya çıktığı a-CGH sonuçlarının değerlendirilmesi sürecinde ebeveynlerin anksiyetesinin artması da kaçınılmazdır. Array CGH'de moleküler tekniklerin gelişimi, genomik sonuçların ve fenotiplerin karşılaştırılması için oluşturulan veritabanlarının geliştirilmesi ile bilinmeyen özellikteki varyantların sayısının azalması beklenmektedir (Saldarriaga vd., 2015).

Array CGH; poliploidilerin tanısındaki yetersizliğe ek olarak dengeli translokasyonlar, insersiyonlar ve inversiyonlar gibi dengeli yeniden düzenlenmeleri saptamakta başarısız olmaktadır (Evangelidou vd., 2010; Evangelidou vd., 2013; Saldarriaga vd., 2015). Bu durum, özellikle uniparental dizomi (UPD) için yüksek risk taşıyan ve UPD riski altında olan Robertsonian translokasyonlarda önemlidir. Dolayısıyla anormal fenotipe yol açabilen Robertsonian translokasyonların, özellikle *de novo* resiprokal translokasyonların ve insersiyonların saptanması önemlidir (Evangelidou vd., 2013; Saldarriaga vd., 2015). Bu tip durumlarda SNP array kullanılsa bile izodizomi saptanabilir fakat UPD'nin en sık formu olan heterodizomi saptanamaz. Giardino ve ark. prenatal tanıda *de novo* dengeli kromozomal yeniden düzenlenme oranlarını amniyotik sıvıda %0.09, CVS'de %0.08 ve kordosentezde %0.05 olarak bildirmiştir. Bununla birlikte karyotipleme ile dengeli translokasyon olarak tanımlanan hastaların yaklaşık %40'ında, genetik materyal kaybı veya dengesizlik olduğu belirlenmiş ve bu yüzden a-CGH ile saptanabileceğine karar verilmiştir. Bu bilgiler ışığında, görünürde dengeli translokasyon vakalarında a-CGH'in önemli bilgi sağlayabileceği görülmektedir ancak, karyotipleme kromozomal yapının tanımlanmasında anahtar rol oynamaktadır ve a-CGH kullanımı karyotiplemeden sonra doğrulama yapmaktadır (Saldarriaga vd., 2015).

Prenatal a-CGH'de diğer bir önemli sınırlandırma, sık karşılaşılan düşük düzey mozaisizmin saptanamamasıdır. Mozaisizm CVS örneklerinin %1-2'sinde, amniyotik sıvı örneklerinin %0.2'sinde saptanmaktadır. Mozaik CVS vakalarının %84'ü sınırlı plasental mozaisizme bağlı olsa da a-CGH'in uygulanan tek metod olması durumunda geriye kalan kısmı saptanmamış olacaktır (Evangelidou vd., 2010; Evangelidou vd., 2013).

Array CGH non-mozaik durumda bile her zaman marker kromozomu saptayamayabilir. Marker kromozoma prenatal tanıda %0.1 oranında ve sıklıkla mozaik formda rastlanmaktadır. Hangi kromozomdan derive olduğuna, büyüklüğüne, kalıtım moduna ve ökromatik veya heterokromatik oluşuna bağlı olarak fenotipik risk belirlenebilir. Marker kromozomlu 55 vakanın incelendiği bir çalışmada, 26 non-mozaik markerlı vakadan yalnızca 14 tanesi a-CGH ile saptanmış, array testlerinin %46'sı normal sonuçlanmıştır. Bu oran markerların temelde heterokromatik olduğunu yansıtsa da, saptamadaki eksiklik olası fenotipik etkiyi tam olarak ortadan kaldırmamaktadır (Evangelidou vd., 2013).

Prenatal tanıda a-CGH'in saptama oranını değerlendirmek için, kullanılan arrayin dizaynı ve çözünürlüğü, vakanın yönlendirilme nedeni, G-bant karyotipin normal olup olmadığı ve son olarak saptama oranına patojenik olmayan (benign) varyantların dahil edilip edilmediği göz önüne alınmalıdır (Evangelidou vd., 2010; Evangelidou vd., 2013). Buna göre seçilen olgu ve kullanılan array yöntemine bağlı olarak belirlenen anomali sıklığı değişkenlik göstermektedir.

Bir çok grup, karyotipin normal olduğu vakalarda a-CGH uygulanmasıyla yaklaşık %3.6 oranında klinik olarak anlamlı dengesizliklerin saptandığını göstermiştir. Bu saptama oranı USG'de yapısal bir malformasyon bulunduğu durumlarda %5.2'ye yükselmektedir. Bu çalışmalarda a-CGH'in kromozomal analize göre anomali saptama oranının %12 daha fazla olduğu görülmüştür. Benign CNV'ler gözardı edildiğinde ise bu saptama oranı %3.6'ya düşmektedir. Bu oran patojenik CNV'leri ve patojenik olma potansiyeli taşıyan klinik önemi belirsiz varyantları içermektedir (Evangelidou vd., 2013).

USG anomali olan vakaların çoğunda fetusun karyotipi normaldir, bu nedenle daha yüksek tanı kapasitesine sahip olan a-CGH yönteminin bu tür vakalarda kullanılmasına gereksinim vardır (Evangelidou vd., 2010; Filges vd., 2012; Evangelidou vd., 2013).

Çalışmamızda kopya sayısı değişikliklerinin klinik öneme sahip olup olmadığını değerlendirmek için, saptanan kopya sayısı değişiklikleri DGV ve DECIPHER veritabanları ile karşılaştırılmıştır. DGV veritabanı sağlıklı bireyleri ve polimorfik varyantları içermektedir. DECIPHER ise hastalarda saptanan CNV'lerin depolandığı veritabanıdır.

Kopya sayısı değişikliklerinin patojenik olup olmadığını değerlendirmek için;

- ✓ Bölge gen içermeli ve/veya bilinen bir sendromla ya da bir DECIPHER girdisi ile örtüşmeli,
- ✓ Bölge DGV'de polimorfik olarak kayıtlı olmamalı, kriterleri sağlanmıştır.

DGV ve DECIPHER veritabanlarında, saptanan CNV'lere rastlanmaması durumunda, değişimin olduğu kromozomal bölgenin içinde kalan genler için PubMed ve OMIM veritabanlarından literatür taraması yapılmıştır.

Çalışmamızda USG ile fetal anomali saptanan 30 olgudan 5'inde (olgu 1, olgu 4, olgu 8, olgu 14, olgu 19) literatür taraması sonucunda söz konusu USG anomalileri ile potansiyel olarak ilişkilendirilebilecek değişimler olduğu belirlenmiştir. Bu değişimler olgu sırasına göre;

- 17p13.3 (195 kb) amplifikasyonu (olgu 1),
- 7p21.3-p21.2 (1,929 kb) amplifikasyonu (olgu 4),
- 6q22.31-q22.32 (3,530 kb) ile 8q21.11 (1,451 kb) amplifikasyonu (olgu 8),
- 1q41 (2,727 kb) amplifikasyonu (olgu 14) ve
- 4p16.1 (93 kb) delesyonudur (olgu 19).

Bu çalışmada 5 olguda (olgu 1, olgu 5, olgu 8, olgu 11, olgu 17), belirtilen USG anomalileri ile ilişkilendirilemeyen ve tekrar eden 6p22.2-p22.1 bölgesinde (2,383 kb) 65 gen içeren bir amplifikasyon saptanmıştır. Bu bölgede amplifikasyon saptanmasının nedeninin kullanılan referans DNA'daki hatalı üretim olduğu düşünülmektedir.

Her hangi bir ortak USG bulgusu olmayan 3 olguda (olgu-4, olgu-7 ve olgu-17), 15q21.3'de 377 kb büyüklüğünde polimorfik olduğu bilinen bir amplifikasyon saptanmıştır. Olguların ortak bir klinik ve USG bulgusu olmaması bu bölgede yer alan duplikasyonların polimorfik özellikte olduğunu desteklemektedir.

Olgu-1

Fetal USG bulguları koroid pleksus kisti ve sol ventrikülde intrakardiyak hiperekojenik odak olan olgu-1'de 17p13.3 bölgesinde 195 kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır.

Bradley ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, USG önerilen hastaların %1,6'sında intrakardiyak ekojenik odağın görüldüğü ve ek bir risk faktörü olmadığı durumlarda (ileri anne yaşı, biyokimyasal tarama testlerinde yüksek risk veya ilave USG anomalileri gibi) anöploidi riskini artırmayla ilişkisi olmayan benign bir varyant olduğu gösterilmiştir (Ouzounian, Ludington & Chan, 2007).

Koroid pleksus kistleri, trizomi 18'li fetusların %30-50'sinde görülmesine rağmen, ikinci trimester gebeliklerin %0.3-3.6'sında da saptanmaktadır. Dolayısıyla diğer risk faktörlerinin yokluğunda koroid pleksus kistleri hastanın anöploidi riskini artırmamaktadır (Temming & Macones, 2015). Coco ve Jeanty çalışmalarında, izole koroid pleksus kistlerinde amniyosentezin gerekli olmadığını belirtmişlerdir (Ouzounian vd., 2007).

Yapılan bir çalışmada koroid pleksus kisti ve intrakardiyak hiperekomenik odak bulgularına sahip 515 hasta değerlendirilmiş, 429'unda anöploidi saptanmamış, ilave risk faktörü olan 86 hastanın ise yalnızca 2 tanesinde anöploidi olduğu bildirilmiştir (Ouzounian vd., 2007).

Çalışmamızdaki olguda (Olgu-1) saptanan amplifikasyon bölgesindeki 9 gen içerisinde yer alan SMYD4 (SET And MYND Domain Containing 4) geninin iskelet ve kalp kası gelişimi ve fonksiyonunda rol aldığı bildirilmiştir. Çalışmalar, Smyd proteinlerinin, erken gelişim sırasında myogenez ve kardiyomyosit farklılaşmasında epigenetik bir düzenleyici olduğunu ve iskelet ve kalp kasında myofibril demetlerinin oluşmasında kritik bir role sahip olduğunu göstermektedir (Spellmon, Holcomb, Trescott, Sirinupong & Yang, 2015). SMYD ailesinin, SMYD1, SMYD2, SMYD3, SMYD4 ve SMYD5 olmak üzere beş üyesi bulunmaktadır (Jun Du, Tan & Zhang, 2014).

Kas lifleri myofibrillerden oluşmaktadır. Her bir myofibril, iskelet ve kalp kaslarının temel kasılma ünitesi olan ve sarkomer adı verilen tekrarlayan yapıların organizasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Sarkomer demetlerinin oluşum süreci (myofibrilogenез) kas hücresi farklılaşmasında ve kasılmasında kritik öneme sahiptir. Myofibrilogenез, yüzlerce sarkomerik proteinin demetler halinde organize olması ile gerçekleşir. Çoklu protein komplekslerinin oluşumu transkripsiyonel, translasyonel ve post-translasyonel seviyede düzenlenen yollarla gerçekleşir. Bu yolların aksaması defektif myofibril organizasyonuna, iskelet ve kalp kası hastalıklarına yol açar. Çalışmalar özellikle SMYD1 ve SMYD2 olmak üzere SMYD ailesi üyelerinin kardiyomyogenezde hayati öneme sahip olduğunu göstermektedir. (Jun Du vd., 2014).

Drosophila Smyd4 (dSmyd4) homoloğu, yetişkin kas fonksiyonu veya gelişiminde kas spesifik transkripsiyonel düzenleyici olarak görev yapmaktadır. dSmyd4 ekspresyonu visseral, kardiyak ve somatik kas prekürsörlerinde ve geç embriyogenezde somatik kas oluşumunda yüksek oranda gerçekleşmektedir (Thompson & Travers, 2008).

Olgu-1'de SMYD gen ailesinin bir üyesinde amplifikasyon bulunması ilgili genin ekspresyonun artışına veya oluşan protein ürününde hatalara sebep olabileceği göz önüne alındığında kalpte gözlenen hiperekomenik odağın bu nedenle oluşabileceği düşünülmektedir. Fetusun prenatal dönemde fetal ekokardiyografi değerlendirmesi ve postnatal dönemde eko ve çeşitli kardiyolojik değerlendirilmelerinin yapılması oluşmuş olan patolojinin kaynağına dair net fikirler verebilir ve değerlendirilmenin yapılmasını kolaylaştırabilir. Postnatal dönemde gözlenebilecek olan ek kas gelişim sorunlarının hastalığın patogenezeine dair detaylı fikir verebileceği unutulmamalıdır.

Olgu-4

Fetal USG bulguları AVSD ve plevral efüzyon olan olgu-4'te 7p21.3-p21.2 bölgesinde 1,929 kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır.

AVSD trizomi 21'de en sık görülen kalp defektidir ve AVSD'lerin yaklaşık %65'i trizomi 21 ile ilişkilidir (Ackerman, vd., 2012).

AVSD için özellikle COL6A1, COL6A2, CRELD1, FBLN2, FRZB ve GATA5 genlerinin önemi belirtilmektedir. Bu genler VEGF-A sinyal yolağında AVSD morfogenezinde rol almaktadır (Gelb & Chung, 2017) .

Bununla birlikte , günümüze kadar AVSD ile ilişkilendirilen genler; GATA4, GATA6, TBX5, ACVR1/ALK2, CFC1/CRYPTIC, LEFTY2, NODAL, NKX2.5 genleridir (Fahed vd., 2013; Ackerman, vd., 2012; Li vd., 2014).

Fahed ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada AVSD ile ilişkili 3 CNV tanımlamışlardır. Bunlar;

-3q22.1–3q26.1 (FOXL2, NPHP3, FAM62C, CEP70, FAIM, PIK3CB, FOXL2, BPESC1)

-8p23.1 (GATA4, NEIL2, FDFT1, CSTB, SOX7)

-Xp22.2 (MID1) (Fahed vd., 2013)'dir.

Prenatal tanıda plevral efüzyon ile anöploidi arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. İkinci ve üçüncü trimesterde plevral efüzyonlu fetuslerde anöploidi oranı %3.2-5.8 oranındadır. Birinci trimesterde görülen plevral efüzyonda ise anöploidi riski artmaktadır. Birinci trimester plevral efüzyon olgularında anormal karyotip riski %82 ve spontan abortus oranı %86 olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, birinci trimester efüzyon sebebinin fetal hidropsun erken bir belirtisi olduğu ve nihayetinde ölüme neden olacağı sonucuna varmışlardır. Fetal hidrops nedeniyle bu ölümlerin büyük çoğunluğu başta 45,X olmak üzere kromozomal anomaliler ile açıklanmaktadır (Waller, Chaithongwongwatthana, Yamasmit, & Donnenfeld, 2005).

Efüzyona neden olan sendromlar trizomi 21 başta olmak üzere Turner sendromu, Noonan sendromu, Opitz–Frias hypertelorism hypospadias sendromu ve Sialidosis sendromudur (Rustico vd., 2007; Yinon, Kelly & Ryan, 2008)

Olgu-4'te saptanan amplifikasyon bölgesindeki 2 genden biri olan ETV1 geninin embriyonik dönemde kardiyak gelişim ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur.

Embriyonik kardiyovasküler sistem oluşumu farelerde gastrulasyondan sonra ortalama 7. embriyonik günde başlar. Anterior lateral mezodermdaki bilateral simetrik mezodermal progenitörler orta hatta birleşir ve endokardium olarak bilinen iç tabaka (endotelial hücreler) ve dış tabakadan (myokardiyal hücreler) oluşan lineer kalp tüpünü oluşturur. Lineer kalp tüpünün şekillenmesinden sonra, lateral mezodermdaki anjioblastlar endotelial hücrelere farklılaşır ve embriyodaki ilk damarı şekillendirir. Gelişim devam ederken kalp, sağ ve sol atrium ve ventriküller ile in-flow ve out-flow bölümlerini ayıran geniş çaplı bir morfogenez geçirir. Buna paralel olarak damarlanma gerçekleşir, kan ve besinlerin taşınımı için kompleks damar ağı şekillenir.

Endokardiyum, vasküler sistem ile birlikte gelişir fakat özelleşmiş endotelial hücrelerden oluşur. Endokardiyal hücrelerin diğer endotelial hücrelerle karşılaştırıldığında daha farklı bir hücre iskeleti ve konnektif karakterleri vardır. Embriyonik gelişim sırasında endokardiyal hücreler kalbin gelişmesinde özel bir takım roller üstlenirler: bazı myokardiyal hücreleri temel trabeküllere indüklerler, ventriküllerle myokardium sırtının oluşmasını sağlarlar ve endokardiyumda özelleşmiş olan hücrelerin endokardiyal-mezenşimal transformasyonunu sağlar. Böylece intraventriküler ve atrial septanın kardiyak kapakları ve bölmeleri oluşur.

ETS (E-twenty-six) faktörleri endotelial gen ekspresyonunun düzenlenmesi için temel regülatörlerdir ve endokardiyumda özelleşmiş endotelial hücrelerinin oluşmasında rol oynarlar. Schachterle ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada erken embriyonik kalpte ETV1 (ETS variant gene 1) transkriptinin yüksek oranda eksprese edildiği gösterilmiştir. (Schachterle, Rojas, Xu & Black, 2012).

Rosati ve ark. yaptığı bir başka çalışmada ventriküler duvarlardaki gen ekspresyonu varyasyonunu değerlendirmek için yetişkin farelerin epikardiyal ve endokardiyal dokularında mikroarray analizi gerçekleştirilmiştir. Buna göre ventriküler duvarın çeperlerinde ETV1'in ekspresyonu gözlenmiştir. Bununla birlikte ETV1'in endokardiyumda yüksek oranda eksprese edildiği ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçların diğer memeli türleri için uygulanabilirliğini ölçmek için benzer deneyler köpek kalbinde de gerçekleştirilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (Rosati, Grau & McKinnon, 2006).

Olgu-4'te bu gende amplifikasyon gözlenmesi, genin intraventriküler ve intraatriyal septanın gelişiminde rol alması ve iç hücre tabakasının oluşumunda regülatör olması nedeniyle, kalbin lineer hattı boyunca gözlenen bir orta hat defekti olan AVSD oluşumuna katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda genin, kalbin ilk damar varyasyonlarının

şekillenmesinde aldığı rol nedeniyle, ilk şekillenen aort ve pulmoner damar defektlerine bağlı olarak plevral effüzyona yol açabileceği değerlendirilmektedir.

Olgu-8

Fetal USG bulguları persistan sağ umbilikal ven, hemimegalensefali ve anormal falks olan olgu-8'de 6q22.31-q22.32 bölgesinde 3,530 kb ve 8q21.11 bölgesinde 1,451 kb büyüklüklerinde amplifikasyonlar saptanmıştır.

Hemimegalensefali, bir serebral hemisferin tamamının veya bir kısmının aşırı büyümesi ve genişlemesi olarak karakterize edilen konjenital bir beyin malformasyonudur (Lang vd., 2014). Hemimegalensefalinin patogenezi farklılaşma, proliferasyon ve nöral migrasyondaki hataları içeren çeşitli mekanizmalarla ilişkilendirilmektedir. (Alvarez vd., 2011). İzole hemimegalensefali PIK3-AKT-mTOR yolağında protein kodlayan genlerdeki somatik mozaikizim nedeni ile ortaya çıkan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Dyment vd., 2013).

Olgu-8'deki 6q22.31-q22.32 bölgesinde 13 gen içerisinde yer alan HEY2 geninin memelilerde kalp ve beyin gelişiminde önemli bir rolü olduğu bilinmektedir (Wat & Wat, 2014; Jordan, Rosenfeld, Lalani & Scott, 2014).

HEY2 kardiyak defektler ve kognitif bozulma ile ilişkilendirilmiştir. Gelişmekte olan kalpte, HEY2'nin aşırı ekspresyonunun kardiyak transkripsiyon faktörü olan GATA4 ekspresyonunda düşüşe neden olduğu düşünülmektedir. Farelerde HEY2'nin hatalı ekspresyonu gelişen beyinde nörogenezin ve gliogenezin inhibe edilmesine neden olmaktadır.

Hey2 knock-out farelerde atrial ve ventriküler septal defektler, trikuspid ve pulmoner kapak stenozu, anormal mitral kapak morfolojisi ve Fallot tetralojisi dahil çeşitli konjenital kalp defektleri gelişmektedir (Jordan vd., 2014; Li vd., 2014). İnsanlarda atrioventriküler septal defekt ve diğer kardiyak spesifik transkripsiyon faktörlerinin mutasyonlarının da olduğu iki hastada missense mutasyonlar tanımlanmış ve bu mutasyonların HEY2'nin sarmal yapısını etkilediği görülmüştür. Thorsson ve ark. HEY2 genini içeren delesyonların %15'inde konjenital kalp defektleri olduğunu göstermiştir (Jordan vd., 2014).

HEY2'nin aynı zamanda sinir sistemi gelişiminde de rol oynadığı düşünülmektedir (Sakamoto, Hirata, Ohtsuka, Bessho & Kageyama, 2003; Jordan vd., 2014). Farelerde Hey2, serebral korteksin matriksinde ve ventriküler bölgesinde, spinal sinirlerde ve çeşitli kranial gangliyonlarda, sempatik gövdelerle bunların ilişkili olduğu gangliyonlarda eksprese

olmaktadır. Henüz Hey2 knock-out farelerde nörolojik eksikliler tanımlanmamıştır fakat Hey2'nin hatalı ekspresyonu nörogenez ve gliogenezin inhibisyonuna yol açmaktadır. Bu durum, HEY2'nin aşırı ekspresyonunun beyin gelişimine zararlı etkileri olabileceğini düşündürmektedir (Jordan vd., 2014).

8q21.11 bölgesindeki 3 gen içerisinde ZFHX4 geninin geç nöral ve mezensefal hücre farklılaşmasını düzenlediği düşünülmektedir. Hemmi ve ark. ZFHX4'ün yetişkin insan beyni, kası ve karaciğerinde, farelerde ise Zfhx4'ün embriyogenez sırasında beyinde ve gelişen kasta eksprese edildiğini göstermiştir (Hemmi vd., 2006). ZFHX4'ün faredeki Zfhx4 ile %90 oranında homoloji göstermesi ZFHX4'ün insanlarda nöron ve kas farklılaşmasında önemli bir rolü olduğunu göstermektedir (Palomares vd., 2011; Osoegawa vd., 2014;). Doğumdan sonra ZFHX4 düzeyinin düşmesine rağmen, proteinin olgun nöronlarda saptanmış olması nedeniyle ZFHX4'ün nöral hücre olgunlaşması veya beyinde bölgeye spesifik hücre farklılaşmasında rolü olduğu kabul edilmektedir (Palomares vd., 2011).

Olgu-8'de, gözlemlenen HEY2 amplifikasyonunun, ilgili genin beyin gelişiminde gliogenez ve nörogenez yollarında rol alması nedeniyle olgumuzda gözlenen yapısal ve nörogelişimsel anomaliler olan hemimegalensefali ve anormal falks serebri patofizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündük.

Olgu-8'de gözlenen ZFHX4 gen amplifikasyonunun, ZFHX4'ün rol aldığı bölgeye spesifik nörogelişimsel süreçte önemli rol oynaması nedeniyle hemimegalensefali etyolojisinde etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

Olgu-14

Fetal USG'de sağ aortik ark bulgusu nedeniyle array çalışması planlanan olgu-14'te 1. kromozomun q4.1 bölgesinde 2,727 Kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır.

İzole sağ aortik ark anomalisi olan fetuslarda 22q11.2 mikrodelsiyonu görülme prevalansı %5.1 olarak bildirilmiştir (Peng, Xie, Zheng, Zhou & Lin, 2016). Bununla birlikte kardiyak ve ekstrakardiyak anomali varlığında mikrodelsiyon sıklığı artmaktadır. Prenatal dönemde tespit edilen sağ aortik ark, özellikle trakeal veya özefageal kompresyon, kardiyak ve/veya ekstra kardiyak malformasyonlarla izlenebilmektedir (Babacan, vd., 2015).

Liao ve arkadaşları yaptıkları çalışmada izole sağ aortik ark bulgusu olan bir fetüste Xp22.31 bölgesinde 1,677 kb büyüklüğünde, ve 1. kromozomun p12 bölgesinde 304 kb büyüklüğünde duplikasyonlar saptamıştır. 1p12 bölgesinin Alagille sendromu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Liao vd, 2014).

Olgu-14'te amplifikasyon saptanan bölgedeki 6 gen içerisinde TGFB2 geninin farelerde aortik ark gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir (Gittenberger-de Groot, Azhar & Molin, 2006). TGFB sinyali, proliferasyon, migrasyon ve apoptoz dahil olmak üzere temel hücre yanıtlarının düzenlenmesi için gereklidir ve fare modellerinde embriyonik gelişimdeki önemi gösterilmiştir (Johnson & Bamforth, 2016).

Embriyoda, TGFB genlerinin endokardiyal yastık formasyonu sırasındaki epitelyal-mezenşimal transformasyonda rolü vardır ve epikardiyal yastık epitelyal-mezenşimal transformasyonunda ise koroner damarlanma ve ventriküler miyokardiyal gelişiminde etkilidir (Azhar vd., 2003).

TGFB2 eksikliği olan fetüslerdeki çıkış yolu malformasyonları; çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), persistan trunkus arteriosus (PTA), aortik ve/veya pulmoner kapakların kalınlaşması ve anormal morfolojisi, aortik ark arter malformasyonları, çift inlet sol ventrikül (DILV) ve/veya perimembranöz inlet VSD yoluyla triküspid kapaklarının kapanması, triküspid ve mitral kapakların kalınlaşması ve anormal morfolojisidir (Azhar & Ware, 2016). Transgenik farelerde TGFB2 ligand yokluğunda kardiyovasküler defektler nedeniyle perinatal ölüm gerçekleşmektedir (Johnson & Bamforth, 2016). Bununla birlikte TGFB2 mutasyonu sonucu nadir bir sendrom olan Loey-Dietz sendromu tip-IV (LDS) ortaya çıkmaktadır. LDS'nin vasküler özellikleri aort genişlemesi veya disseksiyonu, aortik eğrilme ve diğer arteriyel damarlarda eğrilme ve anevrizmalardır.

Olgu-14'te gözlemlediğimiz sağ aortik ark anomalisi ilk bakışta kardiyovasküler sorunların sıklıkla gözlemlendiği Di-George (22q11.2 delesyonu) Sendromu'nu düşündürmektedir. Olgumuza yapılan FISH analizinde 22q11.2 bölgesine ait delesyon gözlenmemiştir. Di-George Sendromu'nda gözlenen fiziksel özelliklerin bir çoğundan sorumlu olan TBX1 geninden şüphelenilmiş, yapılan analizde herhangi bir anomaliye rastlanmamıştır. Bunun üzerine yapılan array çalışmasında saptanan 1q41 bölgesindeki TGFB2 genine ait amplifikasyonun özellikle kalp çıkımında görülen migrasyon anomalileri ile ilişkili olduğu literatür değerlendirilmesinde gözlenmiştir. Olgumuzda saptanan sağ aortik arkın bir kalp çıkımı migrasyon defekti olması nedeniyle TGFB2 gen amplifikasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Olgu-19

Fetal USG bulguları NT artışı ve oligohidroamnios olan olgu-19'da 4p16.1 bölgesinde 93 Kb delesyon saptanmıştır.

Artmış NT bulgusuna sahip fetuslerin büyük bir kısmında karyotip normaldir fakat küçük bir kısmı postnatal incelemelerde yapısal veya nörogelişimsel anomaliler göstermekte ve çeşitli genetik sendromlar tanımlanmaktadır. Bunların bir çoğu konvensiyonel karyotipleme ile gözden kaçırılabilir submikroskobik anomalilerdir (Leung vd., 2011).

Çeşitli çalışmalarda NT artışı ile ilişkilendirilen sendromlar; 22q11 mikrodelesyon sendromu, Wolf-Hirschhorn sendromu, 22q11 mikroduplikasyon sendromu, Angleman/Prader-Willi sendromu, 1p36 mikrodelesyon sendromu, Miller-Dieker sendromu ve Lowe sendromudur (Yang, Li, Fu, Zhang, Li & Liao, 2016).

Olgu-19'da 4p16.1 bölgesinde bulunan SORCS2 geninin delesyonu saptanmıştır. Boggild ve ark. yaptığı bir çalışmada, farelerde gelişmekte olan böbreğin periferinde mezensefimal/kortikal interstiyumla ilişkili olarak SORCS2 ekspresyonunun ılımlı düzeyde olduğu bildirilmiştir.

Gelişmekte olan kalpte atrium ve ventriküllerde SORCS2 düzeyinin düşük olduğu fakat sistemik ve pulmoner dolaşımındaki küçük arteriyollerde ve orta büyüklükte-büyük arterlerde SORCS2 ekspresyonunun öne çıktığı görülmüştür. Adipoz doku, düz kas dokusu ve kemik doku gibi mezodermden köken alan yapılarda ise yine SORCS2'nin yüksek oranda eksprese edildiği bildirilmiştir (Boggild, Molgaard, Glerup & Nyengaard, 2016).

Yapılan bir çalışmada SORCS2 gen lokusundaki bir SNP'nin sirküle IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein 3) ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. IGFBP-3, IGF-1'e (insulin growth factor 1) bağlanır ve IGF-1'in plazmada biyoyararlanımını düzenler, IGFBP-3'ün aşırı ekspresyonunun fare modelinde gelişim geriliğine neden olduğu görülmüştür. IGF-1 büyüme hormonunun birincil efektörüdür ve kas, adipoz ve kemik dokusu gibi bir çok dokuda gelişmeyi uyarır. Rezgaoui ve ark. fare embriyosunda SorCS2 ekspresyonunu araştırmışlardır. Buna göre SorCS2 transkriptlerinin mezensefimal, iskelet ve kas, kıkırdak doku ve akciğer epitel dokusunda lokalize olduğunu görmüşlerdir (Boggild vd., 2016).

Olgu-19'da gözlemlenen SORCS2 geni böbrekte interstisyum gelişimi, metanefrik kanalların oluşumu, tübüler kanal oluşumu ve nefron fonksiyonu ile ilişkilidir. Gende gözlenen delesyonun böbrek fonksiyonları

üzerinde gelişimsel ve işlevsel etkileri olması nedeniyle oligohidroamnios ile sonlanabileceği literatür verileri ışığında söylenebilir. SORCS2 geninin üriner sistem dışında dolaşım sisteminde yer alan büyük venlerin yapısında da rol alması nedeniyle gende oluşan fonksiyon bozukluğu büyük kan damarlarının yapısında defekte yol açabilir ve bu defekt NT artışında etkili olabilir ve dolaylı olarak oligohidroamniosa yol açabilir.

Olgu-27

Fetal USG'de persistan sağ umbilikal ven saptanan olgu-27'de 11p14.1 bölgesinde 1,583 kb büyüklüğünde bir amplifikasyon görülmüştür. Bu bölge içerisinde yer alan genlerle ilgili incelenen veritabanlarında, belirtilen USG anomalisi ile ilişkilendirilebilecek herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır.

Olgu-30

NT artışı nedeniyle array analizine yönlendirilen olgu-30'da 4q28.3 bölgesinde tanımlanmış bir gen içermeyen ve herhangi bir klinik anlamı olmayan 213 kb büyüklüğünde bir amplifikasyon saptanmıştır.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada fetal USG anomalisi olan gebeliklerde a-CGH tekniği kullanılarak mikroduplikasyon ve mikrodelesyonların saptanması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda ESOGÜ Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı tarafından tanı konulan 30 olgu değerlendirilmiştir. Çalışmamız Anabilim Dalımızda aCGH'in prenatal tanıda uygulandığı ilk verileri içermektedir.

Çalışmamızda toplam 30 olgunun 11'inde (%36,6) CNV'ler (kopya sayısı değişimleri) saptanmıştır. 11 örnekte farklı bölgelerdeki toplam CNV sayısı 10'dur.

Saptanan kopya sayısı değişimlerinin %10'u (1/10) delesyon, %90'ı (9/10) amplifikasyondur.

Bu tez çalışmasının sonucunda, prenatal tanı için a-CGH metodunun kullanılmasında amniyotik sıvının kültüre edilerek yeterli DNA miktarını karşılayabileceğini ya da 10 cc gibi yüksek miktarlardaki amniyotik sıvının istenilen DNA'yı sağlayabileceği görülmüştür. Daha az miktardaki amniyotik sıvı örneğinde metod yeterli DNA'nın elde edilme çalışmaları başarısız olmuştur. Koryon villus ve kord kanından ise kültüre edilmeden izole edilen DNA materyallerinde a-CGH tekniğinin başarılı bir şekilde uygulanabildiği sonucuna varılmıştır. Örneklerden elde edilen DNA'nın kalitesi a-CGH tekniğinin başarısını önemli ölçüde etkilemektedir. Bununla birlikte her bir laboratuvar aşaması son derece titiz bir şekilde yürütülmelidir.

Array CGH tekniği, konvensiyonel karyotiplemeye göre hızlı ve kolay bir teknik olmasının yanı sıra kromozom analizi ile saptanamayan mikrodelesyon ve mikroduplikasyonların belirlenmesinde son derece kullanışlıdır. Bununla birlikte a-CGH tekniği ile yalancı pozitif veriler, klinik özelliği belirsiz varyantlar ve fenotipi açıklanamayan değişimler de dahil olmak üzere çok sayıda veri elde edilmektedir. Elde edilen veriler postnatal olarak daha kolay değerlendirilebilirken prenatal vakalarında yorumlanmaları oldukça zor bir hale gelebilmektedir. Bilinmeyen özellikteki varyantlar, parental endişe ve prenatal danışmada yol açabileceği problemler açısından genetikçileri olduğu kadar kadın doğum uzmanlarını da ilgilendiren bir konudur. Çalışmamızda, karşılaştırılan veri tabanlarında "benign" veya "patojenik" olduğu belirtilen CNVlerin dışında saptanan varyantların yorumlanmasında zorluklar çekilmiştir.

a-CGH ile değişim saptanan olgularda, söz konusu değişimin konfirmasyonu için diğer moleküler yöntemlerin kullanılması gerekmektedir. Bununla birlikte saptanan değişimlerin familial ya da de

novo olduğu hakkında bilgi edinmek için SNP analizlerinin yapılması gerekir.

Sonuç olarak USG anomalisi olan olgularda aCGH analizleri, altın standart olan kromozom analizine alternatif olma potansiyeli yüksek bir teknolojidir. Ancak, yüksek rezolüsyonlu aCGH analizlerinin uygulanmasının daha güvenilir olduğu düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ackerman, C., Locke, A. E., Feingold, E., Reshey, B., Espana, K., Thusberg, J., Mooney, S., Bean, L. J. H., Dooley, K. J., Cua, C. L. Reeves, R. H., Sherman, S. L. & Maslen, C. L. (2012). *An Excess of Deleterious Variants in VEGF-A Pathway Genes in Down-Syndrome-Associated Atrioventricular Septal Defects*. The American Journal of Human Genetics 91, 646–659, October 5, 2012
- ACOG Practice Bulletin No. 77: *Screening for fetal chromosomal abnormalities*. (2007). Obstet Gynecol 109:217–27.
- Ağras, K. (2011). *Antenatal hidronefrozlu bebeklerde tanısal değerlendirme*. Türk Üroloji Dergisi - Turkish Journal of Urology 2011;37(1):47-53
- Aldinger, K. A. & Doherty, D. (2016). *The genetics of cerebellar malformations*. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine (2016) 1-12 <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2016.04.008>
- Albu, D.F., Albu, C. C. & Albu, S. D. (2105). *A Dandy-Walker Variant Prenatally Diagnosed Using Ultrasound on One of the Fetuses of a Twin Pregnancy Obtained through In Vitro Fertilization*. International Journal of Medical Research and Review. January - February, 2015/ Vol 3/ Issue 1 ISSN 2321-127X
- Alvarez, R. M., García-Díaz, L., Marquez, J., Fajardo, M., Rivas, E., García-Lozano, J. C. & Antinolo G. (2011). *Hemimegalencephaly: Prenatal Diagnosis and Outcome*. Fetal Diagn Ther 2011;30:234–238 Doi: 10.1159/000329937
- Artan, S. & Başaran, N. (Ed.). (1996). *Rutin FISH uygulamaları, "Teorik ve Pratik Floresan In Situ Hibridizasyon"*. ETAM, Eskişehir, sh: 51-59.
- Aydınlı, K. (1992). *Prenatal Tanı ve Tedavi*, 1. baskı. İstanbul: Perspektiv Yayın ve Reklam Hizmetleri
- Azhar, M., Schultz, J. E. J., Grupp, I., Dorn, G. W., Meneton, P., Molin, D. G. M., Gittenberger-de Groot, A. C. & Doetschman, T. (2003). *Transforming growth factor beta in cardiovascular development and function*. Cytokine & Growth Factor Reviews 14 (2003) 391–407
- Azhar, M. & Ware, S. M. (2016). *Genetic and Developmental Basis of Cardiovascular Malformations*. Clin Perinatol 43 (2016) 39–53 <http://dx.doi.org/10.1016/j.clp.2015.11.002>

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Babacan, A., Akpak, Y. K., Kaya, N., Gül, İ., Muhcu, M., Müngen, E. & Süleymanoğlu, S. (2015). *İzole sağ arkus aorta: Antenatal değerlendirilmesi*. Journal of Clinical and Experimental Investigations. 2015; 6 (2): 192-195 doi: 10.5799/ahinjs.01.2015.02.0516.
- Bagul, M., Tripathi, P. & Mishra, R. (2016). *Lobar Holoprosencephaly: Cranial Sonography and MRI Imaging Features*. Journal of Case Reports 2016;6(2):284-287
- Beauchesne, L. M., Connolly, H. M., Ammash, N. M. & Warnes, C. A. (2001). *Coarctation of the Aorta: Outcome of Pregnancy*. Journal of the American College of Cardiology Vol. 38, No. 6, 2001
- Beksaç, M. S. (Ed.). (1996). *Prenatal Tanı*, Ankara: Medical Network
- Benn, P., Cuckle, H. & Pergament, E.(2013). *Non-invasive prenatal testing for aneuploidy: current status and future prospects*. Ultrasound Obstet Gynecol 42: 15–33 Published online in Wiley Online Library doi: 10.1002/uog.12513.
- Berry, S. M., Stone, J., Norton, M. E., Johnson, D. & Berghella, V. (2013). *Fetal blood sampling*. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) American Journal of Obstetrics &Gynecology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2013.07.014>
- Bickmore, W. A. (2001). *Karyotype analysis and chromosome banding*. Encyclopedia of life sciences / Nature Publishing Group / www.els.net
- Boggild, S., Molgaard, S., Glerup, S. & Nyengaard, J. R. (2016). *Spatiotemporal patterns of sortilin and SorCS2 localization during organ development*. BMC Cell Biology 17:8 DOI 10.1186/s12860-016-0085-9
- Brock, D. J. H., Rodeck, C. H. & Ferguson-Smith, M. A. (1992). *Prenatal Diagnosis And Screening*. Longman Group UK Limited.
- Bui, T. H., Vetro, A., Zuffardi, O., & Shaffer, L. G. (2011). *Current controversies in prenatal diagnosis 3: is conventional chromosome analysis necessary in the post-array CGH era?*. PRENATAL DIAGNOSIS Prenat Diagn 31: 235–243.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Chen, C., Ko, T., Su, Y., Su, J., Chen, Y., Lee, C., Chen, L. & Wang, W. (2013). *Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a proximal deletion of 22q (22q11.2→q11.21)*. Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology 52 (2013) 147-151.
- Cifarelli, A. & Ballerini, L. (2005). Truncus arteriosus. Orphanet encyclopedia. March 2005. [orpha.net./data/patho/GB/uk-TA05.pdf](http://orpha.net/data/patho/GB/uk-TA05.pdf)
- Connor, J. M., Ferguson-Smith, M.A. (1993). *Essential Medical Genetics*. Forth Edition, Four Dragons, Black-Well Scientific Publications.
- Cruz-Lemini, M., Parra-Saavedra, M., Borobio, V., Bennasar, M., Gonce, A., Martinez, J. M. & Borrell A. (2014). *How to perform an amniocentesis*. Ultrasound Obstet Gynecol 44: 727-731
- Cucke, H. S. & van Lith, J. M. M. (1999). *Apropriate biochemical parameters in first-trimester screening for Down syndrome*. Prenat. Diagn. 19, 505-512.
- Cuckle, H. & Benn, P. (2010). *Multianalyte maternal serum screening for chromosomal defects*. In Genetic Disorders and the Fetus: Diagnosis, Prevention and Treatment (6th edn), Milunsky A, Milunsky JM (Eds). Wiley-Blackwell, Chichester, UK, 771 – 818.
- Cuypers, J. A. A. E., Witsenburg, M., van der Linde, D. & Roos-Hesselink J. W. (2013). *Pulmonary stenosis: update on diagnosis and therapeutic options*. Cuypers JAAE, et al. Heart 2013;00:1-9. doi:10.1136/heartjnl-2012-301964
- Çil, E. (2007). *Pulmoner Stenoz*. Güncel Pediatri 2007; 5: 111-3
- Dashe, J. S. (2016). *Aneuploidy Screening in Pregnancy*. Obstetrics & Gynecology Vol. 128, No. 1, July 2016. Obstet Gynecol 2016;128:181-94. DOI: 10.1097/AOG.0000000000001385
- Diribaş, K., Kaya, C. & Koç, F. A. (2002). *İlk Trimester Fetal Tarama Testleri*. T klin Jinekoloj Obst, 12: 186-193
- Dizen, P., Asal, N., Kaçar, M., Yılmaz, Ö., Ünlü, E. N., Köse, S. A. & Koşar, P. (2013). *İkinci trimester gebeliklerde fetal nazal kemik uzunluğunun değerlendirilmesi*. S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt 4 / Sayı 3 /2013

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Dudarewicz, L., Holzgreve, W., Jeziorowska, A., Jakubowski, L. & Zimmermann, B. (2005). *Molecular methods for rapid detection of aneuploidy*. J Appl Genet 46:207-215.
- Durak, B. (1998). Normal Ve Translokasyon Taşıyıcısı Erkeklerin Spermiumlarında FISH İle Kromozom Analizi, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji A.B.D. na Bağlı Tıbbi Genetik Bilim Dalı, Eskişehir.
- Dyment, D. A., Sawyer, S. L., Chardon, J. W. & Boycott, K. M. (2013). *Recent Advances in the Genetic Etiology of Brain Malformations*. Curr Neurol Neurosci Rep (2013) 13:364 DOI 10.1007/s11910-013-0364-1
- Eijk-Van, O. P. G. & Schouten, J. P. (2011). *Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA®) for the Detection of Copy Number Variation in Genomic Sequences*. Methods Mol Biol.;688:97-126.
- Elles, R., Mountford, R. & Mann, K. (Ed.) (2002). *Prenatal detection of chromosome aneuploidy by quantitative fluorescence-PCR*. *Methods in Molecular Medicine: Molecular Diagnosis of Genetic Diseases*. 2nd Ed., Totowa, NJ: Humana Press, 141-156.
- Erdemoğlu, M. & Kale, A. (2007). *Genetik Amaçlı Amniyosentez Uygulanan 183 Olgunun Prospektif Analizi*. Dicle Tıp Dergisi, Cilt: 34, Sayı: 3, (170-175)
- Evangelidou, P., Sismani, C., Ioannides, M., Christodoulou, C., Koumbaris, G., Kallikas, I., Georgiou, I., Velissariou, V. & Patsalis, P. C. (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*. Molecular Cytogenetics 3:24
- Evangelidou, P., Alexandrou, A., Moutafi, M., Ioannides, M., Antoniou, P., Koumbaris, G., Kallikas, I., Velissariou, V., Sismani, C., & Patsalis, P. C. (2013). *Implementation of High Resolution Whole Genome Array CGH in the Prenatal Clinical Setting: Advantages, Challenges, and Review of the Literature*. BioMed Research International Volume 2013, Article ID 346762

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Fahed, A. C., Gelb, B. D., Seidman J. G. & Seidman C. E. (2013). *Genetics of Congenital Heart Disease: The Glass Half Empty*. Circ Res. 2013;112:707-720 doi: 10.1161/CIRCRESAHA.112.300853
- Feuk, L., Carson, A. R. & Scherer, S. W. (2006). *Structural variation in the human genome*. Nat Rev Genet. Feb;7(2):85-97
- Filges, I., Kang, A., Klug, V., Wenzel, F., Heinemann, K., Tercanli, S. & Miny, P. (2012). *Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis of first trimester pregnancies at high risk for chromosomal anomalies*. Molecular Cytogenetics, 5:38
- 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.
- Gaglioti, P., Danelon, S., Bontempo, S., Mombro, M., Cardaropoli, S. & Todros, T. (2005). *Fetal cerebral ventriculomegaly: outcome in 176 cases*. Ultrasound Obstet Gynecol 2005; 25: 372-377 Doi: 10.1002/uog.1857
- Gajewska-Knapik, K. & Impey, L. (2015) *Congenital lung lesions: Prenatal diagnosis and intervention*. Seminars in Pediatric Surgery 24 (2015) 156–159 doi:http://dx.doi.org/10.1053/j.sempedsurg.2015.01.012
- Gardner, R. J. M. & Sutherland, G. R. (2004). *Chromosome Abnormalities And Genetic Counselling*, Third ed., Oxford University Pres, New York.
- Gelb, B. D. & Chung, W. K. (2017). *Complex Genetics and the Etiology of Human Congenital Heart Disease* .Cold Spring Harb Perspect Med 2014;4:a013953
- Gerdes, T., Kirchhoff, M., Lind, A. M., Larsen, G. V., Schwartz, M. & Lundsteen, C. (2005). *Computer-assisted prenatal aneuploidy screening for chromosome 13, 18, 21, X and Y based on multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)*. European Journal of Human Genetics 13, 171–175

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Geva, T. Martins, J. D. & Wald, R. M. (2014). *Atrial septal defects*. Published Online April 9, 2014 [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62145-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62145-5)
- Gittenberger-de Groot, A. C., Azhar, M. & Molin, D. G. M. (2006). *Transforming Growth Factor B-SMAD2 Signaling and Aortic Arch Development*. Trends Cardiovasc Med 2006;16:1-6
- Greene, N. D. E. & Copp, A. J. (2015). *Neural Tube Defects*. Annu Rev Neurosci. 2014 ; 37: 221-242. doi:10.1146/annurev-neuro-062012-170354.
- Grimshaw, G. M., Szczepura, A., Hulten, M., MacDonald, F., Nevin, N. C., Sutton, F. & Dhanjal, S. (2003). *Evaluation of molecular tests for prenatal diagnosis of chromosome abnormalities*. Health Technol Assess 7(10): 1-146.
- Günel, Y. D. (2012). *Karın Ön Duvari Defektlerinde Antenatal Tanı ve İzlem*. KÜ Tıp Fak Derg 2012; 14(1) ISSN 1302-3314
- Gürgöze, M. K. & Karaca T. (2012). *Perinatal Hidronefroz: Etiyoloji ve Böbrek Fonksiyonlarına Etkisi*. Fırat Tıp Dergisi 2012; 17(3): 139-143
- Haciveliöğlü, S., Güngör, A. Ç, Gencer, M. & Coşar, E. (2012). *Birinci trimesterde görülen geçici ve izole fetal megasistis üçüncü trimesterde açıklanamayan intrauterin fetal ölüme neden olabilir mi? Olgu sunumu ve literatür özeti*. Perinatoloji Dergisi 2012;20(2):68-71
- Hayes, H., Dutrillaux, B., Popescu, P. & Bourgeois C. (2000). *Chromosome Banding Techniques*. Techniques in Animal Cytogenetics. Part of the series Principles and Practice pp 25-68
- Hemmi, K., Ma, D., Miura, Y., Kawaguchi, M., Sasahara, M., Hashimoto-Tamaoki, T., Tamaoki, T., Sakata, N. & Tsuchiya, K. (2006). *A homeodomain-zinc finger protein, ZFH4, is expressed in neuronal differentiation manner and suppressed in muscle differentiation manner*. Biol Pharm Bull. 2006; 29:1830-5.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Holder, A. M., Klaassens, M., Tibboel, D., de Klein, A., Lee, B. & Scott, D. A. (2007). *Genetic Factors in Congenital Diaphragmatic Hernia*. The American Journal of Human Genetics Volume 80 May 2007 DOI: 10.1086/513442
- Hsu, L. Y. F. (1986). *Prenatal Diagnosis of Chromosome Abnormalities*. Genetic Disorders and the Fetus, pp 115-183.
- Hulten, M. A., Dhanjal, S. & Pertl, B. (2003). *Rapid and simple prenatal diagnosis of common chromosome disorders: advantages and disadvantages of the molecular methods FISH and QF-PCR*. Reproduction 126:279-297.
- Irani, S., Ahmadi, F., Javam, M., Taghi, A. V. & Niknejad, F. (2015). *Outcome of isolated fetal choroid plexus cyst detected in prenatal sonography among infertile patients referred to Royan Institute: A 3-year study*. Iran J Reprod Med Vol. 13. No. 9. pp: 571-576.
- Itsara, A., Cooper, G. M., Baker, C., Girirajan, S., Li, J., Absher, D., Krauss, R. M., Myers, R. M., Ridker, P. M., Chasman, D. I., Mefford, H., Ying, P., Nickerson, D. A. & Eichler, E. E. (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.
- Jansen, F. A. R., Blumenfeld, Y. J., Fisher, A., Cobben, J. M., Odibo, A. O., Borrell, A. & Haak, M. C. (2015). *Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis*. Ultrasound Obstet Gynecol 2105; 45: 27-35 Doi: 10.1002/uog.14695
- Johnson, A. L. & Bamforth, S. D. (2016) *Molecular Pathways and Animal Models of Semilunar Valve and Aortic Arch Anomalies*. Springer-Verlag Wien 2016 S. Rickert-Sperling et al. (eds.), Congenital Heart Diseases: The Broken Heart: Clinical Features, Human Genetics and Molecular Pathways, DOI 10.1007/978-3-7091-1883-2_42
- Jordan, V. K., Rosenfeld, J. A., Lalani, S. R & Scott, D. A. (2014). *Duplication of HEY2 in Cardiac and Neurologic Development*. Am J Med Genet Part A 167A:2145–2149. DOI 10.1002/ajmg.a.37086

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Joziase, I. C., van de Smagt, J. J., Smith, K., Bakkers, J., Sieswerda, G., Mulder, B. J. M. & Doevendans, P. A. (2008). *Genes in congenital heart disease: atrioventricular valve formation*. Basic Res Cardiol 103:216–227 (2008) DOI 10.1007/s00395-008-0713-4
- Jun Du, S., Tan, X. & Zhang, J. (2014). *SMYD Proteins: Key Regulators in Skeletal and Cardiac Muscle Development and Function*. The Anatomical Record 297:1650–1662
- Kalaycı, H., Özdemir, H., Gülümser, Ç., Parlakgümüő, A., Çok, T., Tarım, E. & Yanık, F. B. (2015). *Ventrikülomegali vakalarının ultrasonografik değerlendirilmesi*. Perinatoloji Dergisi 2015;23(1):1–5
- Kallioniemi, A., Kallioniemi, O. P., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J. W., Waldman, F. & Pinkel, D.(1992). *Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors*. Science ; 258(5083):818-21.
- Karşıdağ, A. Y. K., Subaş, S., Giray, B. & Büyükbayrak, E. E. (2016). *İzole Fetal Pyelektazi Olgularında Antepartum Seyir ve Takip*. J Kartal TR 2016;27(2):103-106 doi: 10.5505/jkartaltr.2015.75317
- Kidron, D., Shapira, D., Sira, L. B., Malinger, G., Lev, D., Cioca, A., Sharony, R. & Sagie, T. L. (2015). *Agensis of the corpus callosum. An autopsy study in fetuses*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015 . DOI 10.1007/s00428-015-1872-y
- Kirchhoff, M., Gerdes, T., Maahr, J., Rose, H., Bentz, M., Dohner, H. & Lundsteen, C. (1999). *Deletions below 10 megabasepairs are detected in comparative genomic hybridization by standard reference intervals*. Genes Chromosomes Cancer. 25(4):410-3.
- Kirchhoff, M., Rose, H. & Lundsteen, C. (2001). *High resolution comparative genomic hybridisation in clinical cytogenetics*. J Med Genet 38(11):740-4.
- Konstantinov, I. E., Karamlou, T., Blackstone, E. H., Mosca, R. S., Lofland, G. K., Caldarone, C. A., Williams, W. G., Mackie, A. S. & McCrindle, B. W. (2006). *Truncus Arteriosus Associated with Interrupted Aortic Arch in 50 Neonates: A Congenital Heart Surgeons Society Study*. Ann Thorac Surg 2006;81:214–23 doi:10.1016/j.athoracsur.2005.06.072

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Kousi, M. & Katsanis, N. (2016). *The Genetic Basis of Hydrocephalus*. Annu. Rev. Neurosci. 2016. 39:409-35.
- La Framboise, 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.
- Lang, S. Goldberg, E., Zarnow, D., Johnson, M. P., Storm, P. B. & Heuer, G. G. (2014). *Prenatal Diagnosis of Hemimegalencephaly*. World Neurosurgery. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wneu.2013.09.028>
- Lazier, J., Fruitman, D., Lauzon, J., Bernier, F., Argiropoulos, B., Chernos, J., Caluseriu, O., Simrose, R. & Thomas, M. A. (2016). *Prenatal array comparative genomic hybridization in fetuses with structural cardiac anomalies*. J Obstet Gynaecol Can. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jogc.2016.02.010>
- Leung, T. Y., Vogel, I., Lau, T. K., Chong, W., Hyett, J. A., Petersen, O. B. & Choy, K. W. (2011). *Identification of submicroscopic chromosomal aberrations in fetuses with increased nuchal translucency and an apparently normal karyotype*. Ultrasound Obstet Gynecol 38(3):307-310
- Levett, L. J., 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, C., Li, X., Pang, S., Chen, W., Qin, X., Huang, W., Zeng, C. & Yan, B. (2014). *Novel and Functional DNA Sequence Variants within the GATA6 Gene Promoter in Ventricular Septal Defects*. Int. J. Mol. Sci. 2014, 15, 12677-12687; doi:10.3390/ijms150712677
- Liao, A. W., Sebire, N. J., Geerts, S., Cicero, S. & Nicolaides, K. H. (2003). *Megacystis at 10–14 weeks of gestation: chromosomal defects and outcome according to bladder length*. Ultrasound Obstet Gynecol 2003; 21: 338–341.
- Liao, C. Li, R., Fu, F., Xie, G., Zhang, Y., Pan, M., Li, J. & Li, D. (2014). *Prenatal diagnosis of congenital heart defect by genome-wide high-resolution SNP array*. Prenatal Diagnosis 2014, 34, 858–863 DOI: 10.1002/pd.4383

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Martinez, R., Gamez, F., Bravo, C., Sanchez, P., Orizales, C., Ortiz, L. & De Leon-Luis J. (2013). *Perinatal outcome after ultrasound prenatal diagnosis of persistent right umbilical vein*. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 168 (2013) 36–39.
- Maslen, C. L. (2004). *Molecular genetics of atrioventricular septal defects*. Curr Opin Cardiol 19:205–210.
- Mayo Clinic <http://www.mayoclinic.org/tests-procedures/percutaneous-umbilical-blood-sampling/multimedia/cordocentesis/img-20006443>
- Micro Optics <http://www.microopticsl.com/products/metaclass-karyotyping/>
- Monni, G., Pagani, G., Stagnati, V., Iuculano, A. & Ibba, R. M. (2015). How to Perform transabdominal chorionic villus sampling : a practical guideline. The journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine , Taylor and Francis group, ISSN: 1476-7058
- Morris, A., Boyd, E., Dhanjal, S., Lowther, G. W., Aitken, D. A., Young, J., Menzies, A. L., Imrie, S. J. & Connor, J. M. (1999). *Two years' prospective experience using fluorescence in situ hybridization on uncultured amniotic fluid cells for rapid prenatal diagnosis of common chromosomal aneuploidies*. Prenat Diagn 19:546-551.
- Morssink, L. P., Kornman, L. H., Hallahan, T. W., Beekhuis, J. R., de Wolf, B. T. H. M. & Mantingh A. (1998). *Maternal serum levels of free β -hCG and PAPP-A in the first trimester of pregnancy are not associated with subsequent fetal growth retardation or preterm delivery*. Prenatal Diagnosis, Volume 18, Issue 2 Pages 147–152
- Nicolaides, K. H. (2011). *Screening for fetal aneuploidies at 11 to 13 weeks*. Prenatal Diagnosis Prenat Diagn 2011; 31 : 7-15.
- Nicolini, U., Lalatta, F., Natacci, F., Curcio, C. & Bui, T. H. (2004). *The introduction of QF-PCR in prenatal diagnosis of fetal aneuploidies: time for reconsideration*. Human Reproduction Update 10(6):541-548.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Norton, M. E., Jacobsson, B., Swamy, G. K., Laurent, L. C., Ranzini, A. C., Brar, H., Tomlinson, M. W., Pereira, L., Spitz, J. L., Holleman, D., Cuckle, H., D.Phil., Musci, T. J. & Wapner, R. J. (2015). *Cell-free DNA Analysis for Noninvasive Examination of Trisomy*. N Engl J Med 372:1589-1597 doi: 10.1056/NEJMoa1407349.
- Nussbaum, R. L., McInnes, R. R. & Willard, H. F. (2005). *Thompson & Thompson Genetics in Medicine*, 6. baskı. Güneş Kitabevi (Türkçe Çevirisi).
- Nyberg, D. A. (1990). *The Fetal Nervous System*. Seminars in Roentgenology, Vol XXV, No 4 (October), 1990: pp317-333.
- Ogilvie, C. M., Donaghue, C., Fox, S. P., Docherty, Z. & Mann, K. (2005). *Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy using quantitative fluorescence-PCR (QF-PCR)*. J Histochem Cytochem. Mar;53(3):285-8
- Oğuz, F. & Akbulut, L. (2015). *Böbreğin Sayı Anomalileri ve Cerrahi Tedavisi*. Derman Tıbbi Yayıncılık. DOI: 10.4328/DERMAN.3720
- Okutan, O., Kartaloğlu, Z., Çalışkan, T., Kunter, A., Mutlu, H. & İlvan, A. (2005). *Sağ Aortik Ark Anomalisi*. Akciğer Arşivi : 2005; 6: 120-122.
- Osoegawa, K., Iovannisci, D. M., Lin, B., Parodi, C., Schultz, K., Shaw, G. M. & Lammer, E. J. (2014). *Identification of Novel Candidate Gene Loci and Increased Sex Chromosome Aneuploidy among Infants with Conotruncal Heart Defects*. Am J Med Genet A. 0(2): 397-406. doi:10.1002/ajmg.a.36291.
- Ouzounian, J. G., Ludington, C. & Chan, S. (2007). *Isolated choroid plexus cyst or echogenic cardiac focus on prenatal ultrasound: is genetic amniocentesis indicated?* Am J Obstet Gynecol 2007;196;595.e1-595.e3.
- Özgüven, T., Evrücke, C., Kadayıfçı, O. & Arıdoğan, N. (1994). *170 riskli gebede açık nöral tüp defekti taramasında maternal serum alfa fetoprotein sonuçları*. Perinatoloji Dergisi 2:248-250.
- Pala, H. G., Balcı, S. & Demir, N. (2012). *İlk Trimester Tarama Testi Etkinliği; Dokuz Eylül Üniversitesi Tecrübesi*. 2012 DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi Cilt 26, Sayı 3, (Aralık) 2012, 189 - 193.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Palomares, M., Delicado, A., Mansilla, E., de Torres, M. L., Vallespin, E., Fernandez, L., Martinez-Glez, V., Garcia-Minaur, S., Nevado, J., Simarro, F. S., Ruiz-Perez, V. L., Lynch, S. A., Sharkey, F. H., Thuresson, A. C., Anneren, G., Belligni, E. F., Martinez-Fernandez, M. L., Bermejo, E., Nowakowska, B., Kutkowska-Kazmierczak, A., Bocian, E., Obersztyn, E., Martinez-Frias, M. L., Hennekam, R. C. M. & Lapunzina P. (2011). *Characterization of a 8q21.11 Microdeletion Syndrome Associated with Intellectual Disability and a Recognizable Phenotype*. The American Journal of Human Genetics 89, 295–301
- Paul, L. K., Brown, W. S., Adolphs, R., Tyszka, J. M., Richards, L. J., Mukherjee P. & Sherr, E. H. (2007). *Agenesis of the corpus callosum: genetic, developmental and functional aspects of connectivity*. Nature Reviews Neuroscience Volume 8 April 2007. doi:10.1038/nrn2107
- Pedram, M., Bayındır, P., Kalın, S. & Alper, H. (2014). *Siyanotik Konjenital Kalp Hastalıkları Anomalilerinde Görüntüleme Bulguları*. Selçuk Pediatri 2014;2(2):206-214
- Peng, R., Xie, H., Zheng, J., Zhou, Y. & Lin, M. (2016). *Fetal Right Aortic Arch: Associated Anomalies, Genetic Anomalies with Chromosomal Microarray Analysis and Postnatal Outcome*. National Scientific Foundation Committee of China. doi: 10.1002/pd.5015
- Penny, D. J. & Vick, G. W. (2011). *Ventricular septal defect*. Lancet 2011; 377: 1103–12 . DOI:10.1016/S0140-
- Pertl, B., Kopp, S., Kroisel, P. M., Tului, L., Brambati, B. & Adinolfi, M. (1999). *Rapid detection of chromosome aneuploidies by quantitative fluorescence PCR: first application on 247 chorionic villus samples*. J Med Genet 36:300-303.
- Pierpont, M. E. M., Markwald, R. R. & Lin, A. E. (2000). *Genetic Aspects of Atrioventricular Septal Defects*. American Journal of Medical Genetics (Semin. Med. Genet.) 97:289±296 (2000).
- Pinkel, D. & Albertson, D. G. (2005). *Comparative Genomic Hybridization*. Annual Review of Genomics and Human Genetics. 6: 331-354.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Pollack, J. R., Perou, C. M., Alizadeh, A. A., Eisen, M. B., Pergamenschikov, A., Williams, C. F., Jeffrey, S. S., Botstein, D. & Brown, P. O. (1999). *Genom-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays*. Nat. Genet. 23(1): 41-46.
- Rare Chromosome Disorder Support Group Charity Number 1110661
- Romaniello, R., Marelli, S., Giorda, R., Bedeschi, M. F., Bonaglia, M. C., Arrigoni, F., Triulzi, F., Bassi, M. T. & Borgatti, R. (2016). *Clinical Characterization, Genetics, and Long-Term Follow-up of a Large Cohort of Patients With Agenesis of the Corpus Callosum*. Journal of Child Neurology 1-12. DOI: 10.1177/0883073816664668
- Rooney, D. E. (2001). *Human Cytogenetics: Constitutional Analysis, A Practical Approach*. Third edition, Oxford University Press.
- Rosati, B., Grau, F. & McKinnon, D. (2006). *Regional variation in mRNA transcript abundance within the ventricular wall*. Journal of Molecular and Cellular Cardiology 40 (2006) 295–302
- Rosen, T., & D'Alton M.E. (2005). *Down Syndrome Screening in the First and Second Trimesters: What Do the Data Show*. Semin Perinatol 29:367-375 doi:10.1053/j.semperi.2006.01.001
- Rustico, M. A., Lanna, M., Coviello, D., Smoleniec, J. & Nicolini, U. (2007). *Fetal pleural effusion*. Prenatal Diagnosis Prenat Diagn 2007; 27: 793–799.
- Saha, E., Mullins, E. W. S., Paramasivam, G., Kumar, S. & Lakasing, L. (2012). *Perinatal outcomes of fetal echogenic bowel*. Prenatal Diagnosis 32, 758-764. Doi: 10.1002/pd.3898
- Sakamoto, M., Hirata, H., Ohtsuka, T., Bessho, Y. & Kageyama, R. (2003). *The Basic Helix-Loop-Helix Genes Hesr1/Hey1 and Hesr2/Hey2 Regulate Maintenance of Neural Precursor Cells in the Brain*. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. Vol. 278, No. 45, Issue of November 7, pp. 44808–44815,
- Saldarriaga, W., Garcia-Perdomo, H. A., Arango-Pineda, J. & Fonseca, J. (2015). *Karyotype versus genomic hybridization for the prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities: a metaanalysis*. Am J Obstet Gynecol 212:330.e1-10.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Saltık, L. (2011). *Komplet atriyoventriküler septal defekt: Anatomi, patoloji ve cerrahi zamanlama*. Türk Göğüs Kalp Damar Cer Derg 2011;19 Suppl 1:1-5 doi: 10.5606/tgkdc.dergisi.2011.01Suppl1
- Scola, E. & Triulzi, F. (2016). *Ventriculomegaly*. Perinatal Neuroradiology: From the Fetus to the Newborn, DOI 10.1007/978-88-470-5325-0_7
- Schachterle, W., Rojas, A., Xu, S. & Black, B. L. (2012). *ETS-Dependent Regulation of a Distal Gata4 Cardiac Enhancer*. Dev Biol. 361(2): 439–449. doi:10.1016/j.ydbio.2011.10.023
- Shaffer, L. G., Bejjani, B. A, Torchia, B., Kirkpatrick, S., Coppinger, J. & Ballif, B. C. (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.
- Slater, H. R., Bruno, D. L., Ren, H., Pertile, M., Schouten, J. P. & Choo, K. H. A. (2003). *Rapid, high throughput prenatal detection of aneuploidy using a novel quantitative method (MLPA)*. J Med Genet; 40: 907–912.
- Snijders, R. J., Sebire, N. J., Faria, M., Patel, F. & Nicolaides, K. H. (1995). *Fetal mild hydronephrosis and chromosomal defects: relation to maternal age and gestation*. Fetal Diagn Ther. 1995 Nov-Dec;10(6):349-55
- Solinas-Toldo, S., Lampel, S., Stilgenbauer, S., Nickolenko, J., Benner, A., Dohner, H., Cremer, T. & Lichter, P. (1997). *Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances*. Genes Chromosomes Cancer. 20(4):399-407.
- Sonek, J. & Croom C. (2014). *Second Trimester Ultrasound Markers of Fetal Aneuploidy*. Clinical Obstetrics And Gynecology Volume 57, Number 1, 159–181.
- Spellmon, N., Holcomb, J., Trescott, L., Sirinupong, N. & Yang, Z. (2015). *Structure and Function of SET and MYND Domain-Containing Proteins*. Int. J. Mol. Sci. 2015, 16, 1406-1428; doi:10.3390/ijms16011406

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Spencer, K., Souter, V., Tul, N., Snijders, R. & Nicolaides, K. H. (1999). *A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free β -human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A*. *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 13, 231- 237.
- Srebniak, M., Boter, M., Oudesluijs, G., Joosten, M., Govaerts, L., Van Opstal, D. & Galjaard, R. J. (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. & Beaudet, A. (2007). *Use of array CGH in the evaluation of dysmorphism, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation*. *Current Opinion in Genetics & Development*, 17:1-11.
- Steele, M. W. & Breg, W. R. (1966). *Chromosome analysis of human amniotic fluid cells*. *Lancet* I: 383.
- Syngelaki, A., Chelemen, T., Dagklis, T., Allan, L. & Nicolaides, K.H. (2011). *Challenges in the diagnosis of fetal non-chromosomal abnormalities at 11 - 13 weeks*. *Prenat Diagn* 31: 90 - 102.
- Şen, C. (2002). *Amniosentez ve koryon villus örneklemesi*. *Perinatoloji Dergisi* 10(2):55-58.
- Taylor-Phillips, S., Freeman, K., Geppert, J., Agbebiyi, A., Uthman, O. A., Madan, J., Clarke, A., Quenby, S. & Clarke A. (2016). *Accuracy of non-invasive prenatal testing using cell-free DNA for detection of Down, Edwards and Patau syndrome: a systematic review and meta-analysis*. *Obstetrics and gynecology BMJ Open* 6:e010002 doi:10.1136/bmjopen-2015-010002.
- Temming, L. A. & Macones, G. A. (2015). *What is prenatal screening and why to do it?*. *Seminars in perinatology*. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semperi.2015.11.002>
- Thein, A. T. A., Abdel-Fattah, S. A., Kyle, P. M. & Soothill, P. W. (2000). *An assessment of the use of interphase FISH with chromosome specific probes as an alternative to cytogenetics in prenatal diagnosis*. *Prenat Diagn* 20:275-280

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Thompson E. C. & Travers, A. A. (2008). *A Drosophila Smyd4 Homologue Is a Muscle-Specific Transcriptional Modulator Involved in Development*. PLoS One August 2008 Volume 3 Issue 8 e3008
- Uğurlu, Ş. B., Kabakçı, B., Sarıosmanoğlu, O. N., Oto, Ö., Hazan, E., Paytoncu, Ş., Saylam, G. S. & Ünal, N. (2004). *Tip I-II trunkus arteriozuslu çocuklarda cerrahi uygulama sonuçlarımız: Yedi olgunun değerlendirilmesi*. Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi 2005;13(3):219-223
- Ulusoy, S. (2008). Siyanotik ve Asiyantik Konjenital Kalp Hastalığı Olan Çocuklarda Hemostatik Değişiklikler, Uzmanlık Tezi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, İstanbul.
- Valenti, C., Schutta, E.J. & Kehaty, T.: (1968). *Prenatal diagnosis of Down's syndrome*. Lancet 2:220 Letter.
- Van den Hof, M. C., Halifax, N. S. & Wilson, R. D. (2005). *Fetal Soft Markers in Obstetric Ultrasound*. J Obstet Gynaecol Can 2005;27(6):592-612.
- Verhagen, J. M. A., Schrandt-Stumpel, C. T. R. M., Krapels, I. P. C., de Die-Smulders, C. E. M., van Lint, F. H. M., Willekes, C., Weber, J. W., Gavilanes, A. W. D., Macville, M. V. E., Stegmann, A. P. A., Engelen, J. J. M., Bakker, J., Vos, Y. J. & Frints, S. G. M. (2011). *Congenital hydrocephalus in clinical practice: A genetic diagnostic approach*. European Journal of Medical Genetics 54 (2011) e542-e547.
- Verma, R. S. & Babu, A. (Ed.). (1995). *Human Chromosomes* (Pennington, J. E.; Sheinis, L. A.; edited), McGraw-Hill, Inc., USA.
- Villafañe, J., Feinstein, J. A., Jenkins, K. J., Vincent, R. N., Walsh, E. P., Dubin, A. M., Geva, T., Towbin, J. A., Cohen, M. S., Fraser, C., Dearani, J., Rosenthal, D., Kaufman, B. & Graham, T. P. (2013). *Hot Topics in Tetralogy of Fallot*. Journal of the American College of Cardiology Vol. 62, No. 23, 2013

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Vissers, L. E., de Vries, B. B., Osoegawa, K., Janssen, I. M., Feuth, T., Choy, C. O., Straatman, H., van der Vliet, W., Huys, E. H., van Rijk, A., Smeets, D., van Ravenswaaij-Arts, C. M., Knoers, N. V., van der Burgt, I., de Jong, P. J., Brunner, H. G., van Kessel, A. G., Schoenmakers, E. F. & Veltman, J. A. (2003). *Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities*. *Am J Hum Genet.*73(6):1261-70.
- Wald, N., Stone, R., Cuckle, H. S., Grudzinskas, J.G., Barkai, G., Brambati, B., Teisner, B. & Fuhmann, W. (1992). *First trimester concentrations of pregnancy associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's Syndrome*. *BMJ.* 4: 305:28.
- Wald, N. J., Rodeck, C., Hackshaw, A. K., Walters, J., Chitty, L. & Mackinson A. M. (2003). *First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS)*. *Health Technology Assessment* 7(11).
- Waller, K., Chaithongwongwatthana, S., Yamasmit, W. & Donnenfeld, A. E. (2005). *Chromosomal abnormalities among 246 fetuses with pleural effusions detected on prenatal ultrasound examination: Factors associated with an increased risk of aneuploidy*. *Genetics IN Medicine* July/August 2005 Vol. 7 No. 6 DOI: 10.1097/01.GIM.0000170774.86075.12
- Wat, J. J. & Wat, M. J. (2014). *Sox7 in vascular development: review, insights and potential mechanisms*. *Int. J. Dev. Biol.* 58: 1-8 (2014) doi: 10.1387/ijdb.130323mw
- Wessels, M. V. & Willems, P. J. (2010). *Genetic factors in non-syndromic congenital heart malformations*. *Clin Genet* 2010: 78: 103–123 doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01435.x
- Wilson, R. D., Gagnon, A., Audibert, F., Campagnolo, C., Carroll, J., Brock, J. A., Chong, K., Johnson, J. A., MacDonald, W., Okun, N., Pastuck, M. & Vallee-Pouliot, K. (2015). *Prenatal Diagnosis Procedures and Techniques to Obtain a Diagnostic Fetal Specimen or Tissue: Maternal and Fetal Risks and Benefits*. *J Obstet Gynaecol Can* 37(7):656–668

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)


- Wynn, J., Yu, L. & Chung, W. K. (2014). *Genetic causes of congenital diaphragmatic hernia*. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 19 (2014) 324e330
- Yan, Y., Wu, Q., Zhang, L., Wang, X., Dan, S., Deng, D., Sun, L., Yao, L., Ma, Y. & Wang, L., (2014). *Detection of submicroscopic chromosomal aberrations by array-based comparative genomic hybridization in fetuses with congenital heart disease*, *Ultrasound Obstet Gynecol* 43: 404–412
- Yang, X., Li, R., Fu, F., Zhang, Y., Li, D. & Liao, C. (2016). *Submicroscopic chromosomal abnormalities in Fetuses with Increased Nuchal Translucency and Normal Karyotype*. Taylor & Francis Doi: 10.3109/14767058.2016.1168394
- Yang, Y. Li, L., Wang, J., Liu, X., Chen, X., Zhang, W., Wang, X., Jiang, J., Liu, X. & Fang, W. (2012). *A Novel GATA4 Loss-of-Function Mutation Associated With Congenital Ventricular Septal Defect*. *Pediatr Cardiol* (2012) 33:539–546 DOI 10.1007/s00246-011-0146-y .
- Yıldırım, Z. N. Y. (2013). *Konjenital Böbrek Anomalileri*. *Çocuk Dergisi* 13(4):141-146, 2013 doi:10.5222/j.child.2013.141
- Yılmaz, E., Efetürk, T. & Nas, T. (2007). *Birinci Trimesterde Prenatal Anensefali Tanısı : Olgu Sunumu*. *Perinatoloji Dergisi*, Cilt 15, Sayı 2/Ağustos 2007.
- Yıstra, B., van den Ijssel, P., Carvalho, B., Brakenhoff, R. H. & Meijer, G. A. (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.
- Yinon, Y., Kelly, E. & Ryan, G. (2008). *Fetal pleural effusions*. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology* Vol. 22, No. 1, pp. 77–96, 2008 doi:10.1016/j.bpobgyn.2007.09.004
- Yunis, J.J. (1981). *Mid-prophase human chromosomes: the attainment of 2000 bands*. *Hum Genet.* 56: 293–298
- Yüksel, A., Büyükkurt, S. & Savaş, H. (2003). *Persistan Sağ Umbilikal Ven (PSUV); Bir Anomali ya da Varyasyonun Prenatal Tanısı ve Literatürün Sonuçları*. *T Klin J Gynecol Obst* 2003, 13:117-121.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Zhang, H., Gao, Y., Jiang, F., Fu, M., Yuan, Y., Guo, Y., Zhu, Z., Lin, M., Liu, Q., Tian Z., Zhang, H., Chen, F., Lau, T. K., Zhao, L., Yi, X., Yin, Y. & Wang W. (2015). *Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146 958 pregnancies*. *Ultrasound Obstet Gynecol* 45: 530–538 Wiley Online Library Doi: 10.1002/uog.14792

Ekler Dizini

EK – 1 Hasta Onam Formu

| | | | |
|---|--|---------------|------------|
|  | TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAY FORMU | DOKÜMAN NO | HD.RB.288 |
| | | YAYIN TARİHİ | 26.05.2014 |
| | | REVİZYON NO | 01 |
| | | REVİZYON TAR. | 03.02.2016 |
| | | SAYFA | 1 / 1 |

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

Aşağıdaki bilgileri okudum.

1- **Biyolojik örnek vermeyi ve bu örneklerden sitogenetik / moleküler sitogenetik / moleküler genetik çalışma yapılmasını,**

Kabul ediyorum Kabul etmiyorum

Örnek : Amniyon sıvısı Koryon villus doku örneği
 Kord kanı Diğer


2- **Elde edilen sonuçların kimlik bilgilerim açık olarak kullanılmadan eğitim amaçlı bilimsel olarak kullanılmasını,**

Kabul ediyorum Kabul etmiyorum

| | | |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|
| Hastanın İsim ve İmzası | Ebeveynin İsim ve İmzası | Aile adına sorumlu Kişinin İsim ve İmzası |
|------------------------------------|-------------------------------------|--|

- Verdiğiniz örnekten direkt çalışma ve/veya uzun dönem doku kültürü yapılacak ve sitogenetik / moleküler sitogenetik / moleküler genetik çalışma sonucu seçilen yöntemle ilgili olarak 1-4 hafta içinde raporlandırılacaktır.
- Kültürde üreme olmazsa, yeniden örnek alınması istenebilir.
- Sitogenetik analizde mozaik veya patolojik durum ortaya çıktığında aynı ve/veya ikinci bir prenatal tanı tekniği ile alınmış örnekten tekrar çalışma istenebilir.
- Bazı durumlarda ebeveyn ve/veya ailede çalışma istenebilir.
- Prenetal tanıda seçilen tekniğe bağlı olarak %0.5-4 arasında gebeliğin düşükle sonlanması olasılığı vardır.
- Sitogenetik moleküler sitogenetik ve moleküler genetik analiz sonuçlarını yorumlamak bazen güç olabilir veya alınan sonuçlar örnekteki gerçek durumu yansıtmayabilir. Ayrıca kromozom analizinde küçük yapısal değişimler ve düşük orandaki mozaikizmler değerlendirilemeyebilir.
- Yapılan test var olan riske yönelik olup, sadece riskli hastalık hakkında bilgi verir. Diğer hastalıklarla ilgili bir bilgi veya fikir vermez. Burada yapılan sitogenetik, moleküler sitogenetik ve moleküler genetik testlerin normal bulunmasına karşın çocukta genetik veya genetik olmayan başka hastalıklar veya anomaliler ortaya çıkabilir.

EK - 2 Etik Kurul Karar Raporu



ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
BAŞKANLIĞI

Prof. Dr. Ömer ŞAYLIGİL
(Başkan)
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı

Doç. Dr. Uğur BİLGE
(Başkan Yardımcısı)
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Aile Hekimliği Anabilim Dalı

Doç. Dr. Özlem ÖRSAL
(Raportör)
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Eskişehir Sağlık Bilimleri Fakültesi
Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı

Prof. Dr. Setenay DİNCER ÖNER
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Biyostatistik Anabilim Dalı

Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Anatomi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embryoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Aydın YENİLMEZ
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Uroloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Altan EŞSİZOĞLU
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Ruhsal Sağlık ve Hastalıkları
Anabilim Dalı

Doç. Dr. Ömer KILIÇ
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı /
Çocuk Enfeksiyon Hast. Bilim Dalı

Doç. Dr. Batu Can YAMAN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Diş Hekimliği Fakültesi
Restoratif Diş Tedavisi
Anabilim Dalı

Prof. Dr. Bekir YAŞAR
Genel Cerrahi Uzmanı

Av. Önder CAN
Avukat


Etik Kurul Sekreterliği
Aysun SERTTAŞ
Makbule SARIÇİÇEK
Tel: 0 222 239 29 79 / 4690

Sayı: 80558721/G - 210
Konu: Karar - Bio.Exin SABUNCU

30 Nisan 2016

Sayın; Prof.Dr.Sevilhan ARTAN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

Sorumlu Araştırmacısı olduğunuz *"Anormal Ultrason Bulgusu Olan Gebeliklerde aCGH Verilerinin Değerlendirilmesi"* başlıklı çalışma hakkında alınan karar ilişikte gönderilmiştir.
Bilgilerinizi ve gereğini saygı ile rica ederim.

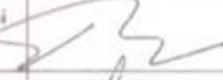
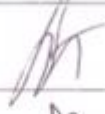





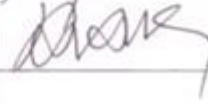


Doç. Dr. Uğur BİLGE
Etik Kurul Başkan Yardımcısı
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

EK - 2 Etik Kurul Karar Raporu (Devam Ediyor)

| ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BAŞKANLIĞI KARAR FORMU | |
|--|---|
| Başvuru Tarihi: 17.06.2016 | Çalışmanın Başlığı: "Anormal Ultrason Bulgusu Olan Gebeliklerde aCGH Verilerinin Değerlendirilmesi" Çalışmacılar: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı - Prof.Dr.Sevilhan ARTAN (Yüksek Lisans Tez Danışmanı), Bio.Esin SABUNCU (Yüksek Lisans Tez Sahibi) |
| Çalışmanın değerlendirildiği ilk toplantı tarihi: 27.06.2016 | Sonuç: <ol style="list-style-type: none">1. Başlıktaki kısaltmanın açık olarak yazılması önerilmektedir.2. Kişisel verileri gerçek kişilere ilişkin, bir hastalık dolayısıyla hekim veya diğer sağlık personeli tarafından edinilen her türlü bilgi olarak tanımlayabiliriz. Hastalığın türü, hastanın öyküsü, teşhis, tedavi, psikolojik belirtiler, bedeni eksiklikler ve özellikler hasta dosyası, röntgen filmleri, muayene sonuçları ile kişisel, ailevi, mesleki, ekonomik duruma ilişkin veriler hastanın kimliği ve adresi dahi kişisel veri olarak değerlendirilmelidir. Bu nedenle tıbbi kayıtların gizliliğine gerekli özenin gösterilmesi şarttır.3. Araştırmacılar İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu (2015), Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi (2013)'ni imzalamış bu imza ile sorumluluğu kabul ettiklerini beyan etmişlerdir.4. Araştırmacıların yetkin ve bu araştırma için yeterli oldukları anlaşılmaktadır.5. Ulusal ve uluslararası mevzuatta dile getirilen "Tıbbi verilerin gizliliğine azami dikkat esastır." |
| Karar Tarihi: 27.06.2016 Karar No: 30 | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Prof.Dr.Sevilhan ARTAN (Yüksek Lisans Tez Danışmanı) ve Bio.Esin SABUNCU (Yüksek Lisans Tez Sahibi) tarafından yürütülen "Anormal Ultrason Bulgusu Olan Gebeliklerde aCGH Verilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmanın yapılmasının etik açıdan uygun olduğuna oy birliğiyle karar verilmiştir. Araştırmacılara başarılar dileriz. |

EK - 2 Etik Kurul Karar Raporu (Devam Ediyor)

| ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU | | |
|--|--|--|
| Unvanı/Adı/Soyadı | Kurumu | İmza |
| 1 Prof. Dr.Ömür ŞAYLIGİL (Başkan) | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı | |
| 2 Doç. Dr. Uğur BİLGE (Başkan Yardımcısı) | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı |  |
| 3 Doç. Dr. Özlem ÖRSAL (Raportör) | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Eskişehir Sağlık Bilimleri Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği Anabilim Dalı |  |
| 4 Prof. Dr. Setenay DİNÇER ÖNER | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyostatistik Anabilim Dalı |  |
| 5 Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı |  |
| 6 Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı |  |
| 7 Prof. Dr. Aydın YENİLMEZ | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı | |
| 8 Doç. Dr. Altan EŞSİZOĞLU | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ruh Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı | |
| 9 Doç.Dr.Ömer KILIÇ | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı/ Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Bilim Dalı |  |
| 10 Doç. Dr. Batu Can YAMAN | Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi Anabilim Dalı |  |
| 11 Prof. Dr. Bekir YAŞAR | Genel Cerrahi Uzmanı |  |
| 12 Av. Önder CAN | Hukuk | |

Özgeçmiş

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Esin Sabuncu
Doğum tarihi ve yeri : 09.09.1987 Eskişehir
Uyruğu :TC
Medeni durumu :Bekar
İletişim adresleri :esinsabuncu@gmail.com

Eğitim Durumu

(Tarih sırasına göre eskiden yeniye doğru ilköğretim, lise, üniversite, yabancı dil / diller) :

İlköğretim : Dumlupınar İlköğretim Okulu

İlköğretim : Atayurt Koleji

Lise : Atayurt Anadolu Lisesi

Üniversite : Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yabancı Diller : İngilizce

Mesleki Deneyim :

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Yayımlar :

(Makale, Sözlü Bildiri, Poster Bildiri, Kitap, Kitap Bölümü vd.)

Bilimsel Etkinlikler

Burslar :
Ödüller :
Projeler :
Sözlü Konferans veya Seminerler :
Kurslar ve Eğitim Programları :

