



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TRANSLOKASYON ve DİĞER YAPISAL KROMOZOM
ABERASYONU SAPTANAN OLGULARDA KROMOZOM
KIRILMA BÖLGELERİNİN MICROARRAY İLE İLERİ
ANALİZİ**

Hazırlayan

Bio. Damla KARAAĞAÇLI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. ÖZTÜRK ÖZDEMİR

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

ÇOMÜ-BAP Proje No: BAP-TYL-2016-889

ÇANAKKALE- 2018



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TRANSLOKASYON ve DİĞER YAPISAL KROMOZOM
ABERASYONU SAPTANAN OLGULARDA KROMOZOM
KIRILMA BÖLGELERİNİN MICROARRAY İLE İLERİ
ANALİZİ**

Hazırlayan

Bio. Damla KARAAĞAÇLI

Tez Danışmanı

Prof. Dr. ÖZTÜRK ÖZDEMİR

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimince kapsamında desteklenmiştir.
Proje No:BAP-TYL-2016-889 olarak desteklenmiştir.

ÇANAKKALE- 2018

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Program Adı : Tıbbi Genetik

Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()

Anabilim Dalı : Tıbbi Genetik ABD

Tez Sahibi : Damla KARAAĞAÇLI

Tez Başlığı : Translokasyon ve Diğer Yapısal Kromozom Aberasyonu





Saptanan Olgularda Kromozom Kırılma Bölgelerinin MicroArray ile İleri Analizi

Sınav Yeri : Tıbbi Genetik ABD.

Sınav Tarihi : 13 Haziran 2018

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD., Çanakkale	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)		
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD., Çanakkale	
Prof.Dr.Fatma SILAN	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD, Çanakkale	
Dr.Öğr.Gör. Sinem ATIK YALÇINTEPE	Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD, Edirne	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Canakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences

Programme Name : Medical Genetics

Programme Level : Master of Science (X) Doctor of Philosophy ()

Department : Medical Genetics Department

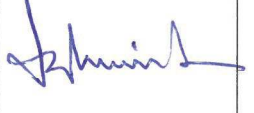
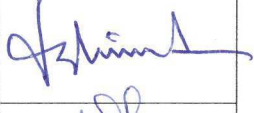

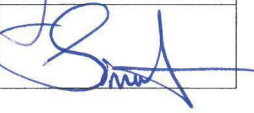
Student : Damla KARAAĞAÇLI

Title of the Thesis : The Further Analysis of the Translocated and Other Chromosome Breakages by MicroArray in Cases with Structural Chromosome Aberrations

Examination Place : Department of Medical Genetics

Examination Date : 13 June 2018

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	Canakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Canakkale	
Members of Examination Jury (Titles and Names)	COMU Faculty of Medicine	
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	Canakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Canakkale	
Prof.Dr.Fatma SILAN	Canakkale Onsekiz Mart University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Canakkale	
.Dr.Sinem Atik YALCINTEPE	Trakya University Faculty of Medicine, Department of Medical Genetics, Edirne	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated and numbered

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 13/06/2018

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Damla KARAAĞAÇLI

İmza:



TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinin her aşamasında ve her konuda bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanımız ve değerli tez danışmanım Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi birikimini benimle paylaşan ve analizler sırasında beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a,

Laboratuvar çalışmalarım ve analizlerim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Asistan Dr. Barış PAKSOY'a, Asistan Dr. Onur YILDIZ, Uzman Dr. Mine URFALI, sevgili çalışma arkadaşlarım; Mol. Biyolog Banu KURU UZUN, Biyolog Betül IŞIN, Mol. Biyolog Zeliha GÜLER AVNAK, Biyolog Damla Göksun VAKIFLI ÇAMER, Biyolog Elif ARI, Biyolog Diğdem UYSAL, Kimyager Hülya HAS, Biyolog Gaye ACAR, Kimyager Duygu KANKAYA ve Laboratuvar Teknikeri Şengül TÜRÜNZ'e,

Tez ve laboratuvar çalışmalarımı maddi olarak destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Tüm hayatım boyunca beni koşulsuz seven, yirmi yıllık eğitim hayatımda desteklerini bir an olsun esirgemeyen yaşamın bana en büyük şansı canım ailem; annem İlknur KARAAĞAÇLI, babam Mehmet Ali KARAAĞAÇLI, kardeşim Doğan KARAAĞAÇLI ve beni bir yerden hep izleyeceğini bildiğim biricik anneanneme SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNUYORUM.

Son olarak; ailemizin enerji ve mutluluk kaynağı oğlum Gofret iyi ki varsın ve hayatımızdasın. Teşekkürler...

Saygılarımla,
Damla KARAAĞAÇLI

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Proje No: BAP-TYL-2016-889 olarak desteklenmiştir.

ÖZET

MikroArray/a-CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu) kromozomal delesyon ve mikro duplikasyonların analiz edildiği ileri moleküler bir tekniktir. Mevcut araştırma projesine, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik kliniğine rutin tanı için gelen ve/veya sevk edilen ve kromozom analizi sonucunda translokasyon ve/veya diğer yapısal aberasyon saptanan, farklı yaş ve klinik bulgulara sahip 4 kadın ve 4 erkek olmak üzere toplam 8 olguya ait sitogenetik ve a-CGH profilleri sonuçlandırılmış ve değerlendirilmiştir. Çalışmada, olgulara ait heparinize periferik kan karyotip ve kromozom analizi için; periferik kan-EDTA ise total genomik DNA izolasyonlarında kullanıldı. Metafaz örnekleri tripsin-GTG, C ve NOR bant teknikleri ve FISH ile değerlendirildi. EDTA'lı kan örneklerinden PureLink Genomik DNA izolasyon kiti kullanılarak total genomik DNA izolasyonları yapıldı. Olgu DNA'ları 60k a-CGH (Agilent Superprint G3 Human Cytogenomics, Signapore) tekniği kullanılarak referans DNA (Agilent) örnekleri ile karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçlar yine Agilent Cytogenomics 4.0.2.21 software ile değerlendirildi.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde; transloke karyotipinde olan sekiz olguda kromozomal translokasyonlarının tamamen dengeli olduğu ve söz konusu olan kromozomlarda submikroskopik düzeyde bir mikrolelesyon ve /veya duplikasyon olmadığı saptanmıştır. Bu olguların sitogenetikte tanımlanamamış bir ve/veya birden fazla farklı kromozomlarında beklenmedik mikrolelesyon ve duplikasyonların olduğu görülmüştür.

Sınırlı sayıda vaka olmasına rağmen araştırma sonuçlarımız, a-CGH tekniğinin translokasyon, yapısal kromozom aberasyonu tanımlanmış olgularda yüz

güldürücü, ileri bir tanı tekniği olması yanısıra özellikle dengeli translokasyonu olan olguların tespitinde güç bir durum oluşturmaktadır. Bu tür olguların kesin ve etkin tanı almasında geleneksel karyotip-kromozom analizi gibi diğer amaca ve olgu spesifik tanısal değerleri yüksek olan tekniklerle birlikte karşılaştırılmalı olarak kullanılmasının önemli olduğu ortaya konmuştur. Yanısıra özellikle büyük yapısal kromozom aberasyonlu (delesyon, duplikasyon vs) olguların doğru tanı almasında geçerli ve güvenilir bir ileri teknik olması yanısıra dengeli transloke olguların kesin tanısı için karyotip, kromozom analizinin altın standart bir teknik olduğu açıklıkla söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: C bantlama, Dengeli Translokasyon, FISH, İnsan Kromozomları, a-CGH

ABSTRACT

ADVANCED ANALYSIS OF CHROMOSOMAL BREAK POINTS IN CASES WITH BALANCED TRANSLOCATIONS BY ARRAY-CGH TECHNIQUE

The microarray/a-CGH (Comparative Genomic Hybridization) method is an advanced molecular technique that using in the analysing of chromosomal deletions and micro duplications. In a total of 8 female and 4 male patients with different age and clinical findings were included in the current research project. Cases who admitted to Çanakkale Onsekiz Mart University Medical Faculty Hospital Medical Genetics clinic for routine diagnosis and/or referred for translocation and/or other structural aberration as a result of chromosome analysis were included. Balanced translocated 8 cases who has diagnosed cytogenetically were analysed by a-CGH technique.

Heparinised peripheral blood samples were used for karyotype and chromosomal analysis and peripheral blood-EDTA was used for total genomic DNA isolation. Metaphase samples were evaluated by trypsin-GTG, C and NOR band and FISH techniques. Total genomic DNA isolations were performed using PureLink Genomic DNA isolation kit from EDTA blood samples. DNAs that isolated from balanced translocated cases were compared with reference DNA (Agilent) samples using a 60k a-CGH (Agilent Superprint G3 Human Cytogenomics, Signapore) technique in the current case control project The results were also evaluated using Agilent Cytogenomics 4.0.2.21 software. The current results showed that all translocated karyotypes were completely balanced and no microdeletion and/or duplications were detected.

Despite the limited number of cases, our results show that a-CGH technique is a promising, advanced diagnostic technique for translocations, structural chromosome aberrations, and is particularly difficult to detect in cases with balanced translocations. It has been shown that it is important to use these techniques in a clear and effective way to diagnose such cases, as well as traditional karyotype-chromosome analysis, in comparison with other objective and specific diagnostic techniques.

In conclusion, it is also clear that karyotype, chromosome analysis is a gold standard technique and it is necessary to prioritize for definite diagnosis of balanced translocations. In addition, it can be clearly stated that it is a valid and reliable technique for the accurate diagnosis of cases with large structural chromosome aberrations such as microdeletion and/or duplication

Key Words: Karyotype Analysis, Banded Human Chromosome, Balanced Translocation, Break Points, a-CGH

İÇİNDEKİLER LİSTESİ	SAYFA NO
2. GENEL BİLGİLER.....	4
3. GEREÇ YÖNTEM	24
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
8. ÖZGEÇMİŞ.....	78
9. EKLER.....	80
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Kromozom	4
2.1.1. İnsan Kromozomlarının Temel Yapısı.....	4
2.1.2. Kromozomların Morfolojik Yapısı	4
2.1.2.1.Sentromer	5
2.1.2.2.Telomer	6
2.1.3.Kromozomların Moleküler Yapısı	7
2.2.Kromozom Aberasyonları.....	7
2.2.1.Kromozomal Aberasyonların Sınıflandırılması	8
2.2.1.1. Klinik Etkisine Göre Sınıflandırma	8
2.2.1.1.1.Dengeli Kromozom Aberasyonları	8
2.2.1.1.2.Dengesiz Kromozom Aberasyonları.....	9
2.2.1.2. Sitogenetik Sınıflandırma	9
2.2.1.2.1.Sayısal Kromozom Aberasyonları	9
2.2.1.2.2.Yapısal Kromozom Aberasyonları.....	11
2.2.2. Mozaisizm.....	17

2.3.Kromozomal Aberasyonlarda Tanı Yöntemleri	17
2.3.1.Sitogenetik Yöntemler	17
2.3.1.1. G Bantlama	17
2.3.1.2. C Bantlama.....	18
2.3.1.3. NOR Boyama.....	18
2.3.2.Moleküler Sitogenetik Yöntemler.....	18
2.3.2.1. Fluresan In Situ Hibridizasyon	18
2.3.2.2. Mikroarray/a-CGH.....	19
3. GEREÇ YÖNTEM	24
3.1. Yöntem	24
3.2. Kullanılan Teknikler.....	24
3.2.1. Olguların Sitogenetik Analizi	25
3.2.2. DNA Elde Etme Yöntemi	25
3.2.3. Mikroarray/a-CGH Uygulanması	27
3.2.3.1. Genomik DNA'nın İzolasyonu ve Eşitlenmesi.....	29
3.2.3.2. Msp1 Restriksiyon Enzim Kesimi	30
3.2.3.3. Fragmente DNA'nın İşaretlenmesi	31
3.2.3.4. Pürifikasyon	32
3.2.3.5. Vakum Konsantratör ile Buharlaştırma	32
3.2.3.6. Hibridizasyon.....	32
3.2.3.7. Slaytlara Yüklenme.....	33
3.2.3.8. Yıkama	33
3.2.3.9. Tarama	34
4. BULGULAR.....	35
4.1. Olgu 1	36
4.2. Olgu 2	39
4.3. Olgu 3	42
4.4. Olgu 4	45
4.5. Olgu 5	48

4.6. Olgu 6	54
4.7. Olgu 7	56
4.8. Olgu 8	59
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	71
7. KAYNAKLAR	73
8. ÖZGEÇMİŞ.....	78
9. EKLER.....	80



KISALTMALAR ve SİMGELER

a-CGH (Array-CGH) : Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu Mikroarray Tipi
(Comperative Genom Hybridization)

MR : Mental Retardasyon

FISH : Floresan In Situ Hibridizasyonu

DNA : Deoksiribonükleik asit

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SNP : Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)

CNV (KSV) : Kopya Sayı Varyantları (Copy Number Variation)

OMIM : İnsan Genleri Ve Genetik Hastalıkları Çevrimiçi Kaynağı (Online Mendelian Inheritance in Man)

Ng : Nanogram

µl : Mikrolitre

Kb : Kilobaz

Mb : Megabaz

mg : Mikrogram

ml : Mililitre

TABLULAR LİSTESİ**SAYFA NO**

Tablo 1. Restriksiyon uygulamasındaki bileşenler ve miktarları	30
Tablo 2. Floresan işaretleme için gerekli bileşenler ve miktarları	31
Tablo 3. Hibridizasyon aşamasında gerekli olan bileşenler ve miktarları	24
Tablo 4-A.1. Olgulara ait demografik bulgular.....	35
Tablo 4-A.2. Olgu 1'e ait klinik-sitogenetik-demografik bulgular	36
Tablo 4-B. Olgu 1 a-CGH'e ait bulgular.....	37
Tablo 5-A. Olgu 2'e ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	39
Tablo 5-B. Olgu 2 a-CGH'e ait bulgular.....	41
Tablo 6-A. Olgu 3'e ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	42
Tablo 6-B. Olgu 3 a-CGH'e ait bulgular.....	43
Tablo 7-A. Olgu 4'e ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	45
Tablo 7-B. Olgu 4 a-CGH'e ait bulgular.....	47
Tablo 8-A. Olgu 5'e ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	48
Tablo 8-B. Olgu 5 a-CGH'e ait bulgular.....	50
Tablo 9-A. Olgu 6'ya ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	54
Tablo 9-B. Olgu 6 a-CGH'e ait bulgular.....	55
Tablo 10-A. Olgu 7'ye ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	56
Tablo 10-B. Olgu 7 a-CGH'e ait bulgular.....	58
Tablo 11-A. Olgu 8'e ait klinik- sitogenetik-demografik bulgular	59
Tablo 11-B. Olgu 8 a-CGH'e ait bulgular.....	62

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil 1. Kromozomun Yapısı.....	5
Şekil 2. Sentromerin konumuna göre kromozomların sınıflandırılması.....	6
Şekil 3. a-CGH basamakları (Nature Education; 2008)	21
Şekil 4. a-CGH işlem basamakları.....	29
Şekil 5. Yıkama işlemi için hazırlanan düzenek.....	33
Şekil 6. Slayt tutucu	34
Şekil 7. Mikroarray scanner ve Agilent hibridizasyon fırını	34
Şekil 8-A. Olgu 1'e ait metefaz örneği	36
Şekil 8-B. Olgu 1'e ait 5 numaralı kromozom a-CGH profil	38
Şekil 8-C. Olgu 1'e ait X kromozomu a-CGH profil	38
Şekil 9-A. Olgu 2'ye ait metefaz örneği	39
Şekil 9-B. Olgu 2'ye ait C bant örneği	40
Şekil 9-C. Olgu 2'ye ait 11 numaralı kromozom a-CGH profili.....	41
Şekil 10-A. Olgu 3'e ait metefaz örneği	42
Şekil 10-B. Olgu 3'e ait 5 numaralı kromozom a-CGH profil	44
Şekil 10-C. Olgu 3'e ait 9 numaralı kromozom a-CGH profili.....	44
Şekil 10-D. Olgu 3'e ait 11 numaralı kromozom a-CGH profili.....	44
Şekil 11-A. Olgu 4'e ait metefaz örneği	45
Şekil 11-B. Olgu 4'e ait 8 Subtelomerik FISH örneği.....	46
Şekil 11-C. Olgu 4'e ait 1 numaralı kromozom a-CGH profili.....	47
Şekil 11-D. Olgu 4'e ait 5 numaralı kromozom a-CGH profili.....	48
Şekil 12-A. Olgu 5'e ait metefaz örneği	49
Şekil 12-B. Olgu 5'e ait 2 numaralı kromozom a-CGH profil	51

Şekil 12-C. Olgu 5'e ait 6 numaralı kromozom a-CGH profili.....	51
Şekil 12-D. Olgu 5'e ait 7 numaralı kromozom a-CGH profili.....	51
Şekil 12-E. Olgu 5'e ait 12 numaralı kromozom a-CGH profili	52
Şekil 12-F. Olgu 5'e ait 15 numaralı kromozom a-CGH profili	52
Şekil 12-G. Olgu 5'e ait 18 numaralı kromozom a-CGH profili.....	52
Şekil 12-H. Olgu 5'e ait 21 numaralı kromozom a-CGH profili.....	53
Şekil 12-I. Olgu 5'e ait X kromozomu a-CGH profil.....	53
Şekil 13-A. Olgu 6'ya ait metefaz örneği.....	54
Şekil 13-B. Olgu 6'ya ait 15 numaralı kromozom spesifik FISH örneği.....	55
Şekil 13-C. Olgu 6'ya ait X kromozomu a-CGH profili.....	56
Şekil 14-A. Olgu 7'ye ait metefaz örneği.....	57
Şekil 14-B. Olgu 7'ye ait NOR boyama örneği	57
Şekil 14-C. Olgu 7'ye ait X kromozomu a-CGH profili.....	58
Şekil 15-A. Olgu 8'e ait metefaz örneği	59
Şekil 15-B. Olgu 8'e ait C bantlama örneği.....	60
Şekil 15-C. Olgu 8'e ait XY FISH örneği	60
Şekil 15-D. Olgu 8'e ait ait SHOX FISH örneği	61
Şekil 15-E. Olgu 8'e ait Y kromozomu a-CGH profili	62

1. GİRİŞ

Kromozomal aberasyonlar; sitogenetik açıdan sayısal ve yapısal olarak, hastanın klinik bulgularına göre ise dengeli veya dengesiz aberasyonlar olarak ayrılmaktadır (Thompson ve ark., 2001). Yapısal kromozom aberasyonları; translokasyon, delesyon, duplikasyon, inversiyon, izokromozom, ring kromozom şeklinde meydana gelebilir.

Kromozom anomalili canlı doğumların yaklaşık %5'inde dengeli kromozomal yeniden düzenlenmeler (translokasyon, insersiyon ve inversiyon) saptanmaktadır ve bunların önemli bir kısmı ailevi olup anormal bir fenotiple ilişkili değildir (Gardner RJM ve ark., 2011).

Kromozom anomalilerinin tanısında kullanılan Giemsa-Tripsin (GTG) bantlama tekniği ile elde edilen 450-500 seviyesinde bant almış kromozomlar ile yapılacak analiz sayısal ve yapısal anomalilerin tanısı için yeterlidir. Ancak bu yöntem mikrodelesyon/duplikasyon, düşük oranlı mozaisizmler ve kompleks anomalilerin tanısı için yeterli olmamaktadır. Yaklaşık son 30 yıldır bu tür anomalilerin daha iyi tespiti için FISH yöntemi ile analiz yapılmaktadır. Bu teknik, kromozomların belli bölgelerine özgün DNA/Ribonükleik asit (RNA) dizilerinin enzimatik yolla floresan veren maddelerle işaretlendikten sonra metafaz ve interfaz kromozomlarının hibridize edilerek hedef bölgelerin değerlendirilmesi esasına dayanır (Piper ve ark.,1995; Schuler ve ark., 2003).

Yapısal kromozom anomalileri, kromozom kırıkları, kromozom rekombinasyon, kromozom değişim gibi anormal kombinasyonların sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sayısal kromozom anomalileri(annöplidi) 1/263 oranında, yapısal kromozom

anomalileri 1/375 oranında görülmekte olup; sayısal kromozom anomalilerinin yapısal kromozom anomalilerine göre daha sık rastlanmaktadır.

Yeni doğanlarda kromozomal anomali insidansının tüm kromozom anomalilerinin 1/154 olduğu görülmektedir. Yapısal kromozom anomalilerine baktığımızda; dengeli kromozom anomalileri 1/500 oranında, dengesiz kromozom anomalileri 1/1600 oranında, dengeli ve dengesiz tüm kromozomal yapısal anomaliler ise 1/375 oranında saptanmakta olup dengeli kromozom anomalilerinin, dengesiz kromozom anomalilerine göre daha sık gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Konvensiyonel sitogenetik tekniklerle saptanan yeniden düzenlenmeler raporlanırken görünüşte dengeli(apparently balanced) olarak raporlanır. Çünkü Giemsa(G) boyama ile yaklaşık 5 Mb ve üzerindeki büyüklükteki anomaliler tespit edilebilmektedir. Fenotip olarak normal bir bireyde görünüşte dengeli translokasyonlar saptandığında gerçek dengeli anormallik olarak kabul edilmektedir.

Kayıplar(monosami), kazançlardan(trizomi) daha fazla oranda sebep olur. Dengesiz yeniden düzenlenmeler genellikle, konjenital anomali ile beraber veya tek başına öğrenme güçlükleriyle ilişkilidir. Gelişim basamaklarında rolü olan Dozaj-Duyarlı Genler ve az veya çok miktarda eksprese edilen diğer genler fenotipik anomalilerle sonuçlanmaktadır.

Dengesiz yeniden düzenlenmelerde, duplikasyon(kazanım) %4, delesyon(kayıp) %2'lik bir oranda yaşama bağdaşır. Geri kalan yaklaşık %96'lık vakaların spontan gebelik kaybıyla sonlandığı bilgisi literatürde mevcuttur.

Dengeli otozomal resiprokal translokasyonlar sık görülür ve toplumda taşıyıcılığı >%0.1'dir. Bir gebelik sonucunda dengeli otozomal resiprokal translokasyon 4 olası sonucu vardır. Bu gebelik normal bir karyotip, dengeli

otozomal resiprokal translokasyon(ebeveyninki ile aynı), spontan gebelik kaybı düşükle sonuçlanabilir, dengesiz translokasyon ya da konjenital anomali, öğrenme güçlüğüne sahip yaşayan dengesiz translokasyonlu çocuğun doğumuna yol açabilir. Burada genetiğin önemli rolü, yaşayan dengesiz sonuçları öngörmektir. Bu öngörü amniyosentez, koryonvillz biyopsisi gibi prenatal diagnostik testlerin kararlarının alınmasında majör faktördür.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kromozom

2.1.1. İnsan Kromozomlarının Temel Yapısı

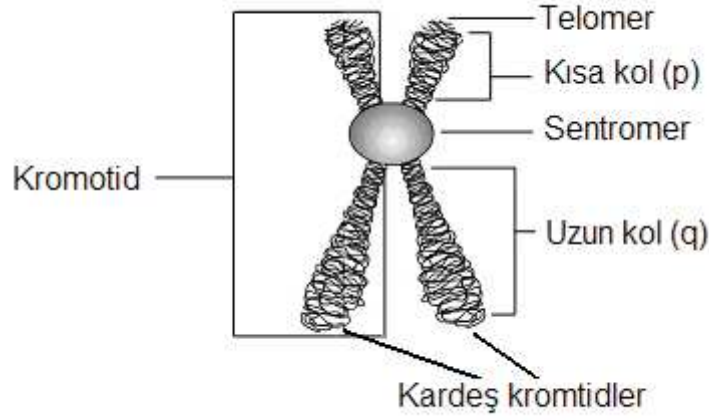
Kromozomlar ilk olarak, Hoffmeister tarafından *Tadescantia pallida* (Telgraf Çiçeği) bitkisinin polen ana hücresinde görülmüştür. Waldeyer ise bu cisimciklere daha sonra kromozom adını vermiştir.

Kromozom, genomik DNA'nın türe özgü sayı ve morfolojide paketlenme şekline denir ve ökaryotik hücrelere özgüdür.

Kromozomlar genellikle uzun, ağısı biçimde paketlenmiş, DNA kısımlarından meydana gelmiştir ve genetik materyali taşıyan ayrı selüler yapıdır. İnsan kromozomları nükleuslarının içinde kanalize olmuştur ve sayıları değişebilir. Diploid (2n) ya da haploid (n) şekillerinde bulunabilirler.

2.1.2. Kromozomların Morfolojik Yapısı

Canlıların sahip olduğu farklılığın nedenini öğrenmede kromozom morfolojisinden yararlanır. Mitoz bölünmenin metafaz evresi kromozom morfolojisinin incelenmesinde en iyi safhadır. İnsan kromozomları lineer yapıdadır. Kromozomlar, yalnızca mayoz II bölünmesini tamamlamış olgun gametlerde "kromatid" olarak adlandırılan tek bir DNA molekülünden oluşur. DNA replikasyonundan sonra birbiriyle aynı genetik yapı gösteren "kardeş kromatid" şeklinde adlandırılan iki kromatidten meydana gelir. Kardeş kromatidleri "sentromer" yardımıyla birbiriyle tutunmuş a-satellit DNA dizileri içeren bu yapı "kromozom" olarak adlandırılır(Şekil 1). Her kromatidi oluşturan çift zincirli DNA molekülünün uç bölgeleri ise "telomer" adı verilen tekrarlayan DNA dizileri ile birleşmiştir.



Şekil 1: Kromozom Yapısı

2.1.2.1. Sentromer

Sentromer, kromozomların temel yapılarından biri ve en önemli bölgelerindendir. Bu bölgelere, kinetokor, kinomer, primer boğum ya da iğ ipliklerinin bağlanma bölgesi şeklinde adlar da verilir. Sentromerin iki yanında bulunan kısımlar kromozomun p ve q kollarıdır.

Sentromer, mitoz ve mayoz bölünme esnasında kromozomların kutuplara göçünü, kromatid/kromozomların bölünen hücrelere doğru olarak aktarılmasını ve genetik materyalin yavru hücrelere eşit dağılmasını sağlar. Normal insan kromozomları tek sentromer içerir; ancak kromozom birleşmeleri, yeniden oluşumuna yol açabilir. Böylece iki sentromer içeren disentrik kromozomu oluşturur. Polisentrik kromozomlar da ise ikiden fazla sentromer vardır. Asentrik kromozomda sentromer yoktur ve kromozomlar arası translokasyondan sonra kromozom hücrede bir parça şeklinde kalmıştır. İzokromozom ise p ve q kolları birbirinin aynı olması yanı sıra bu kromozomlar birbirinin homoloğu olup birbirlerinin genetik bakımdan

aynısıdır. Bir hücredeki kromozomların, kardeş kromatidler eşleştikten sonra belli bir düzende (boy, sentromerin yeri, bantlanma) sınıflandırılarak sıralanmasına karyotip adı verilir.

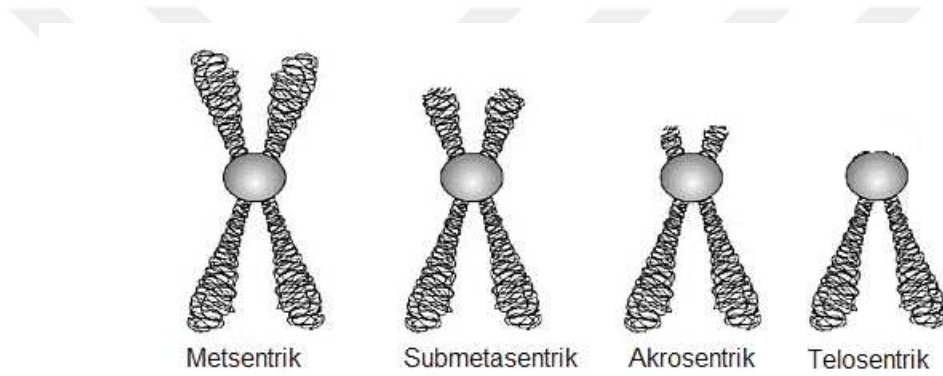
Kromozomlar sentromerlerinin konumuna göre 4 sınıfa ayrılır(Şekil 2);

A. Metasentrik: Sentromeri ortada olan kromozomlardır.

B. Submetasentrik: Sentromeri bir uca daha yakın olan kromozomlardır.

C. Akrosentrik: Sentromeri bir uçta olan kromozomlardır. Kısa kol oldukça kısadır.

D. Telosentrik: Tek kolu olan kromozomlardır. İnsan kromozomlarında bulunmaz.



Şekil 2: Sentromerin konumuna göre kromozomların sınıflandırılması

2.1.2.2. Telomer

Kromozomların bir diğer temel yapısı, DNA molekülünün uç kısımlarını oluşturan telomerdir. Genellikle kromozomların son uç kısımlarında yer alır ve kromozomun diğer kısımlarına göre en az boyanır özellikteki kısımdır. Bu yapıdan sonra satellitler bulunmaktadır. Satellitler telomerin aksine daha iyi boyanır. Kıyılan kromozom uçları diğer kromozomlar ile birleşme özelliğine sahipken doğal kromozom uçlarının stabil yapıda olması telomerlerin özel bir yapıya sahip olmasını sağlar. Lineer yapıda normal memeli kromozomları arka arkaya tekrarlayan hegzamer dizisi (AGGG)_n ile sonlanır ve bu yapıya telomer adı verilir. Telomerler,

DNA uçlarını füzyon, rekombinasyon ve bozulmadan koruma, kromozom uç kısımlarının tam replike olabilmelerini kolaylaştırma ve kromozomların çekirdek zarına tutunmasını sağlama gibi görevleri vardır.

2.1.3. Kromozomların Moleküler Yapısı

İnsan vücudunda yaklaşık olarak 60 trilyon hücre bulunur ve insan genomu yaklaşık olarak $3,2 \times 10^9$ baz çiftinden oluşur. Her hücre yaklaşık 10 μm çapındaki küçük çekirdeği içinde 6×10^9 bç ya da 2 m'ye yakın genomik DNA içeriğine sahiptir. Bu genomik DNA türe özgü kromozom sayısına bölünmüş haldedir ve organize bir yapılanmaya sahiptir. Bu organize yapı karşımıza kromatin olarak çıkar.

Kromozomlarda DNA paketlenme organizasyonunda görev alan yapı ve bölgeler;

- Histon Proteinler
- Nonhiston Proteinler
- Histon Oktomeri
- Nükleozom
- Ökromatin ve Heterokromatin Bölgeler

2.2. Kromozom Aberasyonları

Genetik bilgiyi taşıyan kromozomlar insan somatik hücrelerinde 46 adettir. 46 kromozomun 22 çiftini otozomal kromozomlar, bir çiftini ise kadınlarda XX ve erkeklerde XY olmak üzere seks kromozomları oluşturur. Somatik hücreler (46 kromozom) $2n$ ile simgelenir ve diploid yapıdadır. Gamet hücreleri ise n ile simgelenir, haploid yapıdadır ve 23 kromozoma sahiptir. Kromozom anomalisi,

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

Kromozom anomalileri sayısal veya yapısal olabileceği gibi otozom, gonozom hücreleri veya her ikisini de içerebilir. Kromozom anomalileri yaklaşık 154 canlı doğumda bir görülmektedir. Kromozomal anomalileri, klinik etkisi, kalıtım şekli, tüm hücrelerde bulunup bulunmamasına ya da morfolojik farklarına göre sınıflandırılmaktadır.

2.2.1. Kromozomal Aberasyonların Sınıflandırılması

2.2.1.1. Klinik Etkisine Göre Sınıflandırma

2.2.1.1.1. Dengeli Kromozom Aberasyonları

Dengeli kromozom aberasyonlarının yeni doğanda görülme sıklığı yaklaşık 500 doğumda 1’dir. Yapısal genlerde doz değişimine(artma-azalma) yol açmayan anomalilerde fenotipik bir etki beklenmemektedir ve bu şekildeki aberasyonlar “dengeli kromozom anomalisi” olarak adlandırılır. Fakat bazı dengeli kromozom aberasyonları mikroskobik olarak dengeli görünebilirken moleküler olarak dengesiz olabilir. Bu durum ‘görünürde dengeli’ ifadesini ortaya çıkarmıştır.

Dengeli yapısal aberasyonlar, taşıyıcılarda fenotipik etki göstermese de yüksek olasılıkla dengesiz gamet oluşma riski artmaktadır. Yeniden düzenlenmenin özelliğine göre risk %1 ile %100 arasında olabilir. Dengeli yeniden düzenlenmeler meydana geldiğinde kromozom kırıkları, aktif bir gen yapısını veya fonksiyonunu etkileyebilir ve sonucunda fenotipik bir etkiye yol açabilir.

2.2.1.1.2. Dengesiz Kromozom Aberasyonları

Genomda herhangi bir gen dozajı artışı ya da azalması fenotipin etkilenmesine neden olur. Etkilenen genlere bağlı olarak ortaya çıkan bulgular da farklılık gösterir. Dengesiz kromozom aberasyonlarının görülme sıklığı popülasyonlar arası farklılık gösterir.

2.2.1.2. Sitogenetik Sınıflandırma

2.2.1.2.1. Sayısal Kromozom Aberasyonları

Kromozom sayısında tüm artış veya azalma şeklindeki aberasyonlar “sayısal kromozom anomalisi” olarak tanımlanır. Bu grup ya genom mutasyonları ya da kromozom mutasyonları ile oluşur. Sayısal anomaliler, poliploidi ve anöploidi olmak üzere iki grupta değerlendirilir (Gersen S, Keagle MB, 2013).

A. Poliploidi

Poliploidi, kromozom haploid set sayısının ($n=23$) katları halinde artışı ile ortaya çıkan (triploidi= $3n$, tetraploidi= $4n$) sayısal kromozom aberasyonlarına "poliploidi" denir. Poliploidiler, daha çok spontan abortus materyallerinde görülürler. (Milunsky

A. ve Milunsky JM, 2010). Poliploidi fetal etki gösterir ancak nadir de olsa hem triploidi hem de tetraploidi canlı doğumlarda gözlemlenebilir.

B. Anöploidi

Anöploidi, diploid ($2n$) bir hücrede tek bir kromozom artışı ($2n+1$ =trizomi) ya da eksilmesi ($2n-1$ =monozomi) ile oluşur (Gersen SL ve Keagle MB, 2013). Anöploidiler kromozom aberasyonlarının en büyük kısmını kapsamaktadır. Bir kromozomun fazlalığı “trizomi”, bir kromozomun kaybı ise “monozomi” olarak tanımlanır. Anöploidi nedenleri iki farklı şekildedir. Otozom ya da seks kromozomlarının trizomileri görülebilir. Otozomal trizomiler trizomi 21 hariç yaşarla bağdaşmaz. Trizomi 21 insanda ilk tanımlanan ve 1/700'lük insidansla yenidoğanlarda en sık görülen anöploididir. Bunu 1/426'lık insidansla cinsiyet kromozom anöploidileri (47,XXY, 47,XYY ve 47,XXX) izler. Yenidoğanlarda çok nadir de olsa görülebilen trizomi 18 ve trizomi 13 daha çok spontan abortus çalışmalarında saptanır. Yaşarla bağdaşan tek monozomi örneği, Turner Sendromu'na yol açan X kromozom monozomisidir (45,X). 45,X'li hücre dizileri 46,XX ya da 46,XY zigotlarının postzigotik bölünmelerde bir X ya da Y kromozomunu kaybetmesi ile oluşmaktadır. Bu nedenle 45,X'li olguların mozaik olduğu kabul edilmektedir. Otozomal monozomiler ise letaldir ve abortus materyali çalışmalarında dahi ancak mozaik olarak saptanmaktadır ve canlı doğumlarda görülmezler (Nielsen J ve Wohlert M, 1991).

2.2.1.2.2. Yapısal Kromozom Aberasyonları

Kromozom sayısında değişiklik olmaksızın (Robertsonian translokasyon dışında) kromozomların yapısında meydana gelen artış ve/veya kayıp "yapısal kromozom anomalisi" şeklinde tanımlanır ve yenidoğanlarda yaklaşık olarak görülme sıklığı 1/450'dir (Vaz N ve Shyama SK, 2005). Yapısal kromozom anomalileri ailevi olabilecekleri gibi, de novo da oluşabilir. Bu yeni oluşumlar iyonize radyasyon, bazı viral enfeksiyonlar ve bazı kimyasallar gibi kırığa neden olan ajanlarla indüklenebilecekleri gibi kendiliğinden de oluşabilir (Thompson MV ve ark, 2001). Genetik materyalde artış ya da kayıba yol açan yapısal kromozom anomalileri, fenotipin etkilenmesine yol açar. Klinik bulguların şiddeti olaya katılan kromozom bölgesinin büyüklüğü ve o bölgedeki fonksiyonel genlerin miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Bu anomaliler de novo oluşabildikleri gibi parental translokasyon ve inversiyonların dengesiz ürünleri olarak da ortaya çıkabilmektedir. Bu anomaliler parsiyel monozomi (delesyon), parsiyel trizomi (duplikasyon) olabilecekleri gibi her iki anomali birlikte de görülebilmektedir (Milunsky ve Milunsky, 2010).. Dengeli ya da dengesiz olabilen bu aberasyonlar mitoz ve mayoz bölünmelerle stabil olarak yavru hücrelere aktarılır.

A. Delesyon

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

Sitogenetik olarak gözlenebilir otozomal delesyonların insidansı 1/7000 canlı doğumdur (Müeller ve Young, 1995; Thompson ve ark., 2001). Delesyonlar kromozomların uç bölgelerinde oluştuklarında “terminal”, ara bölgelerde oluştuklarında “intersisyel” olarak tanımlanır ve basit olarak kromozom kırılması ve asentrik parçanın kaybolması ile ya da homolog kromozomlar veya kardeş kromatidler arasında eşit olmayan crossing over sonucu oluşabilirler.

B. Duplikasyon

Duplikasyon, genomda belli bir bölgenin artışına verilen genel bir tanımlamadır. Duplikasyonlar, artış görülen bölge/segmentin genomda trizomisine yol açar ve bu bölgedeki genler üç doz olarak bulunurlar. Duplikasyonlar da delesyonlarda olduğu gibi, eşit olmayan krosing-over ile ortaya çıkabilir (Thompson MW, 2001). Homolog kromozomlar arasında gerçekleşen bir transpozisyon sonucunda meydana gelir. Homolog kromozomların ilkinde iki kırık, ikincisinde ise tek kırık meydana gelir. İki kırık arasındaki parça, homolog kromozomdaki tek kırıklı bölge arasındaki kalan bölgeye yerleşir. Bir kromozom parçasından iki kopya şeklinde var olmasına neden olur ve çoğunlukla mayoz bölünmede rastlanır. Somatik hücrelerde her kromozomdan iki adet bulunması kendiliğinden olan bir duplikasyondur. Duplikasyon, delesyona oranla daha çok görülmesine rağmen, delesyon kadar zararlı değildir (Gersen ve Keagle, 2005).

C. İnverson

Bir kromozomda iki kırık oluşup kırıklar arasındaki segmentin/bölgenin 180° kırık noktalarıyla tekrar birleşmesi sonucunda meydana gelir. İnversona uğramış segment, sentromer barındırıyorsa “perisentrik inverson”, sentromer barındırmıyorsa “parasentrik inverson” şeklinde tanımlanır. İnversonlar genellikle taşıyıcılarda anormal bir fenotipe neden olmazlar, ancak taşıyıcıların dengesiz gamet oluşturma riski yüksektir. Parasentrik inversonların rekombinasyonlarında asentrik ve disentrik ürün olduğundan yaşayabilen dengesiz ürün olasılığının çok düşük olduğu bildirilmektedir (Kaiser P, 1984; Daniel ve ark., 1989; Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG, 2011).

D. Translokasyon

Translokasyon, kromozomlar arası kromozom segmentlerinin değişimidir. Parça değişimi, homolog olmayan kromozomlarda gerçekleşirse ‘resiprokal translokasyon’ olarak isimlendirilir. Kromozomun ara bir segmentinin koparak aynı ya da farklı bir kromozomun ara bölgesine eklenmesi ‘insersiyonal translokasyon’ olarak isimlendirilir. Bağımsız iki akrosentrik kromozomun sentromer ya da p kollarından birleşmesi ise ‘Robertsonyan translokasyon’ olarak isimlendirilen yapısal kromozom anomalileridir (Miller OJ ve Therman E, 2001; Nussbaum RL ve ark. 2004).

D-1. Robertsonian Translokasyon

Kısa kollarını kaybeden iki akrosentrik kromozomun sentromer veya sentromere yakın bölgelerinden birleşimiyle meydana gelir. Akrosentrik kromozomların (13, 14, 15, 21, 22) kısa kollarında, p11 bölgesinde satellit DNA’lar I, II, III, IV, ve β; p12

bölgesinde 18S ve 28S ribozomal RNA'yı kodlayan genlerin tekrar dizileri; ve p13 bölgesi β -satellit DNA ve telomerik diziler ile sonlanmaktadır (Page ve ark., 1996; Bandyopadhyay ve ark., 2001). Dengeli robertsonian tipi translokasyon taşıyıcılarında total kromozom sayısı 45'tir. Populasyonda görülme sıklığı 1/1000'dir. Dengeli robertsonian translokasyon taşıyıcılarının dengesiz gamet verme olasılıkları yüksektir; trizomik ve monozomik zigotlar ortaya çıkar (Shaffer ve Lupski, 2000).

D-2. Resiprokal Translokasyon

Homolog olmayan iki kromozom arasında karşılıklı parça değişimi "resiprokal translokasyon" olarak adlandırılır. Genellikle en az iki kromozom arasında, iki kırık oluşumu ile meydana gelir ve bu durum toplam kromozom sayısını etkilemez. Resiprokal translokasyonlarda dengesiz gamet oluşturma riski %85 gibi yüksek bir oran olduğundan mental retardasyon öyküsü gözlenir (Gardner ve Sutherland, 2004).

D-3. İnsersiyonel Translokasyon (Transpozisyon)

Homolog olmayan iki kromozomdan birinci kromozomda iki noktadan, ikinci kromozomda ise bir noktadan kırılma meydana gelir. İki kırık arasında kalan parça homolog olmayan diğer kırık kromozoma giderek eklenir. Bu tip resiprokal (karşılıklı) olmayan translokasyona insersiyonel translokasyon denir. Böyle mutasyonlar 3 kırık gerektirdiği için nadir görülür (Gardner ve Sutherland, 2004).

D-4. Kompleks Kromozom Anomalileri (CCRs)

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

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

Tip 1: Kırık sayısı = kromozom sayısı

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

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

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

E. İzokromozom/İzodisentrik Kromozom

İzokromozom, sentromerin her iki tarafında da aynı kromozom kolunun bulunduğu ayna simetrisi gösteren kromozomlar. Bu kromozomlar genomda, kromozomun bir kolu için monozomi, diğer kolu için trizomiye yol açarlar. X kromozomunun uzun kolunun izokromozomu en sıklıkla görülür (Turner sendromu). Eğer izokromozom normal kromozom setine ek olarak bulunuyorsa, bu kromozom kolu için olgu tetrazomiktir. Oluşum mekanizmasında iki olayın rol aldığı düşünülmektedir. Bunlarda birisi, mayoz II'deki hatalı sentromer bölünmesi, diğeri ise kromozomun bir kolunun diğer homolog kromozomun yine aynı kolu ile perisentromerik bölgede translokasyonudur (Schinzel A, 1991).

Ender görülen bir aberasyon olan disentrik kromozom, herbiri bir sentromere sahip iki kromozom kolunun birleşmesiyle oluşur. Bu kromozomlar parasentrik inversiyon taşıyıcılarının dengesiz ürünleri olarak ortaya çıkabileceği gibi iki homolog kromozom arasında kardeş olmayan kromatidler arasındaki değişimler ile de oluşabilir. Disentrik kromozomlar mitotik olarak stabildir(Thompson MW, 2001).

F. Ring Kromozom

Kromozomun p ve q kolunda meydana gelen kırık uçlarının birleşmesiyle kromozom halka şekline dönüşür ve bu durum ring kromozomu olarak isimlendirilir. Ring kromozom, otozomal kromozomda meydana gelirse klinik durum ağır olabilir ancak; seks kromozomlarında gözlenirse daha hafif bulgular gözlenir ve görülme sıklığı en fazla X kromozomundadır.

G. Marker kromozomlar

Konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle tanı alamayan marker kromozomlar, normal kromozom çiftine ek ve çoğunlukla mozaik olarak bulunur. Yaklaşık olarak; popülasyonda görülme sıklığı 2000 kişiden 1 kişide görülür (Starke ve ark., 2003). Mozaik kromozom çoğunlukla mozaik formda gözlenir. Marker kromozomların büyük olanları bir ya da iki kromozom koluna ait genomik materyal içerebilir ve taşıdığı genlere bağlı olarak dengesizlik meydana gelebilir. Marker kromozom sentromer ve satellitlerden oluşabilir.

2.2.2 Mozaisizm

Aynı zigottan gelişen iki veya daha çok farklı kromozom yapısı gösteren hücre dizilerinin bulunması mozaisizm şeklinde adlandırılır. Farklı zigottan köken alan hücrelerde görülmesi de kimerizm olarak adlandırılır. Mozaisizmin en önemli nedeni postzigotik mitotik bölünmeler sırasında non-disjunktion gelişmesidir. Örneğin; trizomi 21'li bir zigot, mitoz bölünmeler sırasında fazla kromozomunu kaybederek 46/47,+21 mozaiyi olarak gelişim gösterebilir. Mozaisizmin bireyin fenotipine etkilerini değerlendirmek, özellikle prenatal tanıda saptandığında çok güçtür. Bu etkiler, kromozom anomalisinin türü, nondisjunction olayının zamanı, anomalili hücrelerin oranları ve etkilenen dokulara bağlı olarak değişir (Turleau C ve ark., 1986; Pagon RA ve ark., 1979).

2.3. Kromozomal Aberasyonlarda Tanı Yöntemleri

2.3.1. Sitogenetik Yöntemler

2.3.1.1. G Bantlama

Klasik sitogenetik analizlerinde en yaygın olarak kullanılan teknik G bantlamadır. Kromozomlar önce denatüre edilir. DNA'nın histon ve histon olmayan kılıfı uzaklaştırmak için bir ajan veya proteolitik enzim (trypsin, pankreatin) kullanılır. Ardından Giemsa ile muamele edilir. DNA'nın Adenin ve Timin bazlarından zengin heterokromatin bölgeleri koyu boyanırken Guanin ve Sitozin bazlarından zengin ökromatin bölgeler ise açık boyanır. GTG bantlama ile haploid genomda metafaz evresinde yaklaşık 400- 500 bant görülebilmekte ve bu da yaklaşık 5-10 Mb'lık (bant başına yaklaşık 50 gen) kromozomal değişimlerin tanınabilmesini sağlamaktadır.

2.3.1.2. C Bantlama

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

2.3.1.3. NOR Boyama (Nuclear Organiser Region)

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

2.3.2. Moleküler Sitogenetik Yöntemler

2.3.2.1. Fluresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

Kromozomların belli bölgelerine özgün DNA dizilerinin (prob) enzimatik yolla fluoresan veren maddelerle işaretlenerek DNA ile hibridizasyonu sonrasında mikroskopta görüntülenmesi esasına dayanan bir tekniktir. FISH tekniğinin sitogenetik tanıyı belirlemede önemli bir yeri vardır. (Bruno ve ark., 2006).

Moleküler genetikteki ilerlemeler çok sayıda özgün DNA dizilerinin klonlanmasına olanak sağlamış ve bu sayede belirli bölgelere özgün tek iplikli DNA oligonükleotidleri (prob) elde edilmiştir. Bu problemlerin, metafaz kromozomlarında ya da interfaz nükleus DNA'sına hibridizasyonu ile spesifik bölgeler görüntülenebilir. Klasik yöntemler ile rutin analizlerde (550 bantlık) 5Mb' dan daha küçük kromozomal değişimlerin tanınması mümkün olmadığından özellikle bilinen mikrodelesyon ve mikrodüplikasyon sendromlarının tanısında en pratik, hızlı ve maliyet açısından uygun olan yöntem bu sendromlara özgün problemlerin kullanımı ile gerçekleştirilen FISH tekniğidir.

2.3.2.2. MikroArray (a-CGH)

Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (Comperative Genomic Hybridization, CGH), genom boyunca dengesiz kromozom aberasyonlarının araştırılmasında kullanılır ve normal ve aberasyonlu genomun hibridizasyonu dayanan bir tarama yöntemi olarak son zamanların en değerli teknolojisidir. İlk olarak kanserdeki genomik değişimleri araştırmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Bejjani et al 2006). a-CGH teknolojisiyle bir insan genomunu(insanda toplam gen sayısı otuz bindir) birkaç saat içinde tek bir deney ile taramak mümkündür.

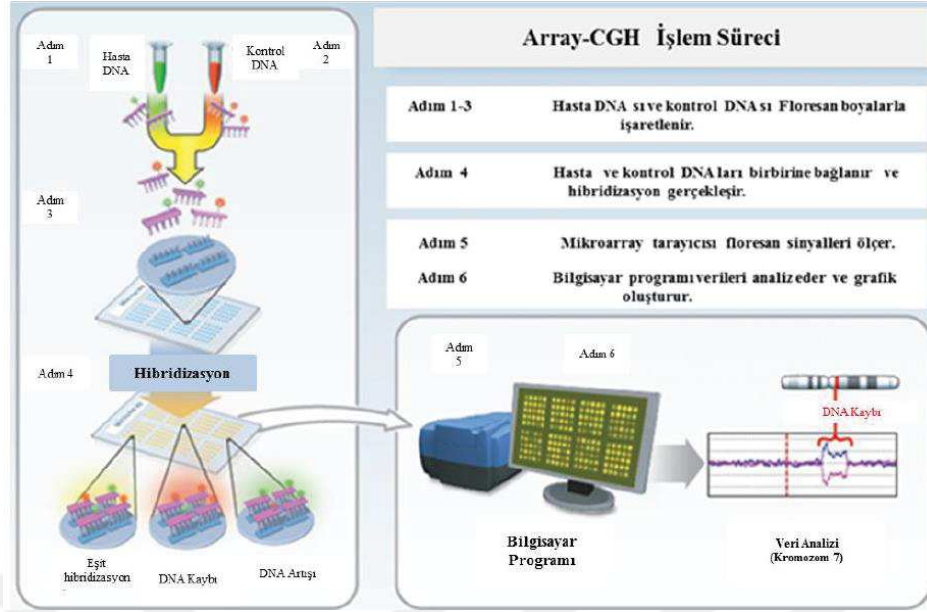
Genetik materyalin net kaybı ya da kazanımı şeklinde meydana gelen dengesiz kromozomal anormallik sonucu insanlar üzerinde birçok genetik bozukluk oluşmaktadır. Konvansiyonel sitogenetikte bu tür anormallikleri bireylerin kromozomlarından karyotip elde ederek ve bu karyotiplerdeki bant paternlerini analiz ederek saptamaktadırlar. Artık araştırmacılar, kromozomal dengesizlikleri tüm genomda hızlı bir tarama yapmak amacıyla a-CGH yöntemini kullanmaktadırlar.

a-CGH metodunda, metafaz kromozomlarını kullanmak yerine, analizde hedef olarak kullanılan küçük DNA segmentleri ile dizilenmiş slide'lar kullanılmaktadır (Lucito *ve ark.*,2003). Bu mikroarrayler, cam slide gibi katı bir destek üzerine küçük DNA segmentlerinin (prob olarak bilinirler) düzenli bir şekilde yerleştirilmesiyle tasarlanmaktadır. Problar, ilgili bölgeyi temsil eden oligonükleotidler (25-85 baz çifti)den yapay bakteri kromozomu (Bacterial Artificial Chromosomes; BAC) gibi genomik klonlara kadar değişen boyutlarda mevcuttur.

Son birkaç yılda a-CGH'in gelişimi ve klinik uygulamaları birçok genetik hastalığın moleküler temelini aydınlatılmasını ve tanı çalışmalarını oldukça kolaylaştırmıştır. İlk olarak kanserdeki genomik dengesizliklerin araştırılmasında kullanılmak üzere araştırma tekniği olarak geliştirildikten sonra, aCGH rutinde kullanılan gerekli bir teknik haline gelmiş ve birçok laboratuvarında da sitogenetik metotların yerini almaya başlamıştır.

a-CGH İşlem Basamakları;

1. Olgu ve referans hücrelerinin genomik DNA izolasyonu
2. DNA'nın florokromlarla [Cy 3 (yeşil) ve Cy5(kırmızı)] işaretlenmesi
3. Art arda tekrarlanan bölgelerden kaynaklanabilecek hatalı eşleşmeleri önlemek için Human Cot-1 DNA ile muamele, BAC, PAC, kosmid, cDNA, oligonükleotid ve PCR türevli problemlerin (target) cam matriks üzerine immobilizasyonu
4. Hibridizasyon
5. Sinyal ölçümü
6. Yorumlama



Şekil 3: a-CGH basamakları (Nature Education; 2008)

a-CGH Tekniğinin Kullanım Alanları:

- Kanser araştırmalarında
- Haritalamada
- Diagnostikte
- Epigenetik modifikasyonlara yönelik çalışmalarda

a-CGH Klinik Uygulamadaki Yeri

- Tüm Genom CNV Analizi
- Konvansiyonel Metodların Karakterizasyonu
- Anöploidiler
- Delesyon ve Duplikasyonlar
- Submikroskopik Değişimler
- Mozaiklikler - %10 dan çok ise

a-CGH -Hastalıklarla İlişkisi

- Spontan düşükler
- Mental Retardasyonlar
- Multiple Malformasyonlar
- Prenatal Tanı
- Kanserler
- Multifaktöryel Kalıtılan Hastalıklar

a-CGH Tekniğinin Avantajları

- Tüm genomdaki DNA kopya sayısındaki değişikliklerle ortaya çıkan kromozom anomalilerinin güvenilir şekilde tespiti ve sınıflandırılabilmesi,
- Birden fazla genomun birbirileri ile karşılaştırılabilme imkanı vermesi,
- DNA örneğinin az miktarda bile olsa yeterli olabilmesi,
- Metafaz plağına ihtiyaç duyulmaması,
- Tüm genomun tek bir deneyle analiz edilebilmesi
- DNA üzerindeki tek baz değişikliklerinin bile saptanabilmesi,
- Yüksek kararlılık ve verim,
- Yüksek hassasiyet,
- Başarılı sonuç alınabilirlik,
- Hız ve esneklik,
- Doğrulanabilirlik,
- Verifikasyon.

a-CGH Tekniğinin Sınırlandığı Noktalar

- Alanında uzman kişilere ihtiyaç duyması,
- Heterojen doku ve hücre populasyonları ile çalışmanın zorluğu,
- Standardizasyonun zorluğu,
- Dengeli anomaliler tespit edilemez,
- CNV tanıyı güçleştirebilir,
- Maliyet,
- Çözünürlük.



3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Yöntem

Proje, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi tarafından TYL-2016-889 numaralı proje ile desteklenmiştir. Ayrıca Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 2011-KAEK-27/2016-E.11384 numaralı proje 24/02/2016 tarihinde alınan izin ile başlatılmıştır.

Projede, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik kliniğine rutin tanı için gelen veya sevk edilen olgular kullanılmıştır. Kromozom analizi sonucunda yapısal kromozom aberasyonu saptanan 12 olgu belirlendi. Her olguya çalışma hakkında bilgi verilerek onamları alındı. Çalışmada 12 olguya ait kullanılacak DNA örnekleri Tıbbi Genetik Laboratuvarı gen bankasından bulundu. Belirlenen 12 olgudan 4 tanesi array optimizasyonu sırasında kullanılmıştır.

Çalışmada ilk olarak, olguların periferik kanından PureLink Genomik DNA izolasyon kiti ile total genomik DNA izolasyonu yapılmış olan DNA'lar ve referans DNA (Agilent) miktar ve saflıkları nanofotometre cihazında (Nanodrop implen P330) ölçülerek gerekli eşitlemeleri yapıldı. Agilent 60 K ISCA dizayn a-CGH kit kullanıldı. Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis Version 7.4 protokolüne uygun olarak olgu ve referans DNA'lar işaretlendi ve genomik DNA'lar birleştirildi. SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K array slaytlarına yüklenip hibridizasyon fırınında (Agilent Microarray Fırını) 24 saat 67°C'de hibridizasyon yapıldı. CytoSure protokolünce yıkanan mikroçipler, Agilent Mikroarray tarayıcı (AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner) ile tarandı. AgilentCytoGenomic3.0.2.11software programı ile mikroarray analizleri yapıldı ve sonuçlar değerlendirildi. Olgulara ait analiz görüntüleri alınıp gen listeleri

kaydedildi. Genomda gözlenen her artış ya da azalma ile ilgili genler OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) de incelendi.

3.2. Kullanılan Teknikler

3.2.1. Olguların Sitogenetik Analizi

Kromozom analizi işlem basamakları sırasıyla;

1. Her olgudan heparinize tüplere 5 ml periferik kan örnekleri alındı.
2. Kan örnekleri içerisinde 5 ml medyum bulunan steril kapaklı falkon tüpleri içine 5-6 damla kan eklenerek ekimi yapıldı. 72 saat 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Tüp üzerindeki etikete olgu numarası ve tarih not alındı.
3. Üremeleri için 37°C etüvde bırakılan kültür tüplerine harvestten 1,5 saat önce 100 µg/ml kolsemid (Biological Industries) eklenerek, tekrar etüv'e yerleştirilmiştir.
4. 72 saatlik süre sonunda kültür tüpü 1200 devirde 8 dakika santrifüj edilip supernatant bir pastör pipeti ile atıldı, pellet vortekslenerek üzerine toplam hacim 10 ml olacak şekilde hipotonik (0,075 M KCL) solüsyonu eklendi. Tüpler tekrar 45-60 dakika arası 37°C'de etüvde bekletildi.
5. Tüpler süre bitiminde 1200 devirde 8 dakika santrifüje edilip, supernatant atılır. Tüpler vortekslenerek yavaş bir şekilde fiksatif (1/3 glasiyal asetik asit/methanol) ilave edildi. Bu fiksatif işlemi tüp içerisindeki pellet berraklaşmıncaya kadar tekrarlandı.
6. Lamlar üzerine olgu numaraları yazıldı ve tüplerden her olgunun pelletinden pastör pipetiyle eğik biçimde lamlara damlatılarak yayıldı.

7. Lamlar 1 gece oda sıcaklığında, ertesi gün 30 dakika 65°C hotplate üzerinde yaşlandırılmaya bırakıldı.
8. Preparatlar yaşlandırma işlemi sonrası oda ısısındaki tripsin içerisine yerleştirilir, 20-30 saniye bekletilir, PBS-distile su karışımında yıkandı ve %4'lük Giemsa ile 1 dakika muamele edildi. Bir kez daha distile su ile yıkanarak kurutma işlemi yapıldı.
9. Oluşturulan preparatlar, mikroskopta incelenerek en az 20 metafaz örneği Cytovision programı ile kaydedildi.

3.2.2. DNA Elde Etme Yöntemi

Bütün olgulara ait kanının izole edildiği DNA izolasyon kiti, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda kayıt altına alındı ve PureLink Genomik DNA izolasyon kiti kullanıldı. İzolasyonlar üretici firmanın protokolüne göre yapıldı.

1. 40 µl Proteinase K, 200 µl kan ve 200 µl PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer tüplere eklenerek vortekslendi ve 56°C ısıtıcı blokta 10 dakika inkübasyona bırakıldı. (Elution buffer 70°C' ısıya ayarlanan ısıtıcıya konuldu.)
2. İnkübasyon sonrasında karışıma 200 µl %96–100 izopropil alkol eklendi ve vortekslendi. Tüp içindeki karışım spin kolana aktarıldı ve 8000 rpm de 1 dakika santrifüj edildi.
3. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı. Filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.

4. Filtreye 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 8000 rpm'de 1 dakikalık santrifüj işlemi yapıldı.
5. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı ve filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
6. Filtreye 500 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 10000 rpm'de 1 dakikalık santrifüj işlemi yapıldı.
7. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı, yeni bir collection tüp alındı.
8. Toplanan sıvı atıldı. Filtre 1,5 mL'lik eppendorf tüpü içine yerleştirildi.
9. 40 µl Elution Buffer konuldu.
10. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi ve 8000 rpm 1 dakikalık santrifüj işlemi yapıldı.
11. Filtre atıldı, eppendorf tüp içerisindeki elde edilen DNA -20°C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Mikroarray/a-CGH Uygulanması

Array Kitinin İçeriği

- SurePrint G3 Human CGH Bundle, 8×60K
- SureTag Complete DNA Labeling Kit
- SureTag DNA Labeling Kit Purification Columns
- Oligo aCGH Hybridization Kit
- Hybridization gasket slides
- Human Cot-1 DNA
- Oligo aCGH Wash Buffer 1 and Oligo aCGH Wash Buffer 2

Diğer Gerekli Malzemeler

- 0,2 mL'lik PCR tüpü
- 1,5 mL'lik Eppendorf tüpleri
- Referans DNA-Male ve Female (250 ng/uL) Agilent
- 8×60K Gasget Slide
- Agilent CGH Wash Buffer 1
- Agilent CGH Wash Buffer 2
- TBE Buffer
- Kapak ısıtmalı termal cyclers
- Nanofotometre (implen P330)
- Vakum konsantrator cihazı (Christ RVC 2-18 CD Plus Vacuum Concentrator)
- Agilent hibridizasyon fırını
- AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner
- Analizin Yapılacağı Bilgisayar Programları
- AgilentCytoGenomic3.0.2.11software



Şekil 4: a-CGH İşlem Basamakları (Sünnetçi D. KOÜ Tıbbi Genetik YL Programı 2010)

3.2.3.1. Genomik DNA'nın İzolasyonu ve Eşitlenmesi

Çalışma esnasında işlemler arasında DNA örnekleri ve işlem basamağına göre kullanılan bileşenler bozulmamaları ve soğuk kalmaları için buz bloklar üzerinde çalışma sağlanmıştır. Olgu ve referans DNA'lar Nanofotometre cihazında ölçümlenerek 50 ng olacak şekilde eşitlenmesi sağlandı.

3.2.3.2. Msp1 Restriksiyon Enzim Kesimi

Tablo 1: Restriksiyon uygulamasındaki bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Miktar (μ l) (bir reaksiyon)
Nukleaz İçermeyen Su	1 μ l
10x Restriksiyon Enzim Buffer	1.3 μ l
BSA	0.1 μ l
Alu1	0.25 μ l
Rsa1	0.25 μ l
Toplam	2,9 μ l

Reaksiyon tüpleri, total hacmi 13 μ l olacak şekilde 2,9 μ l master mix ve kalan hacmi kadar da DNA örnekleri eklendi. 2 saat 37°C’de ve 20 dakika 65°C’de PCR yapılarak fragmantasyon işlemi gerçekleştirildi. 3 dakika 98°C’de DNA denatürasyon - fragmantasyonu için PCR gerçekleştirildi. PCR’ın genel işleyiş prensibi primerlerle spesifik bölge çoğaltılmasıdır ancak a-CGH uygulamasında bölge çoğaltma yapılmaz ve her yere bağlanabilme özelliğindeki random primerler kullanıldı. Reaksiyon tüplerine 2,5 μ l Random Primer konularak total hacim 13 μ l iken 15.5 μ l hacimde oldu. 3 dakikalık PCR yapıldı ve 5 dakika buzda bekletildi.

3.2.3.3. Fragmente DNA'nın İşaretlenmesi

Tablo 2: Olgu ve referans DNA floresan işaretlemeleri için gerekli bileşenler ve miktarları

OLGULARA AİT DNA	
Bileşenler	Miktar (µl) (bir reaksiyon)
5x Reaksiyon Buffer	5.0 µl
10x dNTP'ler	2.5 µl
Cyanin-5 (Cy-5) Mavi	1.5 µl
Exo(-) Klenow (Enzim)	0.5 µl
Toplam	9,5 µl

REFERANS DNA	
Bileşenler	Miktar (µl) (bir reaksiyon)
5x Reaksiyon Buffer	5.0 µl
10x dNTP'ler	2.5 µl
Cyanin-3 (Cy-3) Pembe	1.5 µl
Exo(-) Klenow (Enzim)	0.5 µl
Toplam	9,5 µl

Cyanin-3 ve Cyanin-5 için iki ayrı reaksiyon mixi hazırlandı ve tüplere eklendi. 37°C'de 2 saat ve 65°C'de 10 dakika olmak üzere PCR işlemi yapıldı. İşlem sonunda PCR ürünleri -20 °C'de saklandı.

3.2.3.4. Pürifikasyon

Tüpler içlerine pürifikasyon kolonları yerleştirilerek her bir reaksiyon tüpüne 430 µl 1x TE Buffer (pH 8.0) konuldu. Kolonlara işaretlenmiş DNA'lar konuldu ve 12000 rpm'de 10 dakika, 3200 rpm'de de 1 dakika olmak üzere santrifüj edildi. Her defasında tüpün altındaki sıvı atıldı. Kolonda kalan ürün tüpe aktarıldı.

3.2.3.5. Vakum Konsantratör ile Buharlaştırma

Her bir olguya ait DNA ve referans DNA bir tüpte bir toplandı ve tüpler 55 °C'de 1 saat vakum konsantratörde toplam hacmi 16 µL olana kadar buharlaşmaya bırakıldı.

3.2.3.6. Hibridizasyon

Tablo 3: Hibridizasyon için gerekli bileşenler

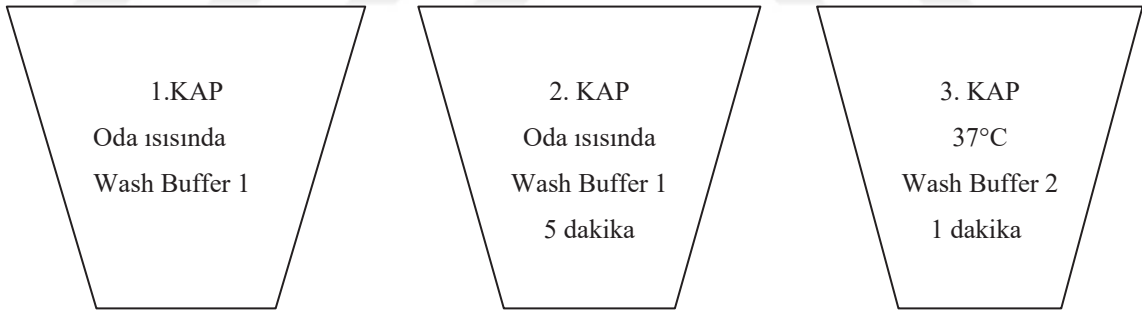
Bileşenler	Miktar (µl) (bir reaksiyon)
Cot-1 DNA (1.0 mg/mL)	2 µl
10x aCGH Blocking Agent	4.5 µl
2x HI-RPM Hibridizasyon Buffer	22.5 µl

Buharlaştırma sonrası kalan ürünlerin üzerine master mix eklendi. 98 °C'de 3 dakika ve 37 °C'de 30 dakika PCR yapıldı. Ardından 1 dakikalık santrifüj işlemi yapıldı.

3.2.3.7. Slaytlara Yükleme

Çalışma için bir mikroarray camı kullanıldı. Bir cam 8 bölmeden oluşmakta ve her bölme bir hasta için kullanılmıştır. Her bölmeye 40 µl hacimde örnekler yüklendi. Değerlendirmeyi olumsuz etkilememesi için yükleme sırasında baloncuk oluşmamasına dikkat edildi. Yayma işlemi sonrası cam mikroarray gasket slide üzerine yerleştirildi. 24 saat 67°C ve 20 rpm'de hibridizasyon işlemi için hibridizasyon fırınına konuldu.

3.2.3.8. Yıkama



Şekil 5: Yıkama işlemi için hazırlanan düzenek

Yıkama işlemi öncesi yıkama malzemeleri su ve asetonitril ile yıkandı. Array slaytları sırasıyla; 1. kap içerisinde gasket slayt ile SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K slaytı pens yardımı ile birbirlerinden ayrıldı. Array slaytı 2. kap içinde 5 dakika bekletildi. Etüvde 37°C sıcaklıkta tutulan Wash Buffer 2 içeren 3. kap etüvden alındı ve içine balık atıldı. Slayt içine konarak 1 dakika bekletildi.(Şekil 5)

3.2.3.9. Tarama

Yıkama işlemi sonrasında havayla fazla temas halinde olmaksızın hızlı bir şekilde slayt tutucu (Şekil 6) içerisine yerleştirildi. Slayt tutucu Mikroarray okuyucuya yerleştirildi (Şekil 7) ve bilgisayar programı üzerinden örnekler açılıp değerlendirildi.



Şekil 6: Slayt Tutucu



Şekil 7: Solda; Mikroarray Okuyucusu (AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner)

Sağda; Agilent hibridizasyon fırını

4. BULGULAR

Tezimde, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik kliniğine rutin tanı için gelen veya sevk edilen kişilerden kromozom analizi sonucunda yapısal kromozom aberasyonu saptanan 12 olgu kullanılmıştır. Belirlenen 12 olgudan 4 tanesi array optimizasyonu sırasında kullanılmıştır. Yaşları farklı 4 kadın ve 4 erkek olmak üzere 8 olgu ele alınmıştır. Projemize dahil edilen toplam 8 olgu, farklı sıra numaraları kullanılarak değerlendirilmiştir (Tablo 4-A1).

Tablo 4-A1: Araştırmaya dahil edilen ve kromozomal translokasyonları olan olgulara ait bazı demografik bulgular

Olgu	Karyotip	Yaşı	Kromozom Analizi Endikasyonu
1	46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1)	32	10 yıllık evli, infertilite, adet düzensizliği, ailede erkeklerde Mental Retardasyon öyküsü
2	46,XX,t(4q;11q)	24	2 yıllık evli, 2 abortus (5hafta,5hafta)
3	46,XX,t(5p13;14p13)	32	17 yıllık evli-sağlıklı bir erkek çocuk sahibi, 10 yıldır; (6h,6h,8h,8h) 4 abortus, hipertiroid
4	46,XX,t(1qter;8pter)	24	Erken doğum, bebekte 1 ve 8 numaralı kromozomda anomali
5	46,XY,t(15q24.1;21q11.2)	3	Dil özel gelişimsel bozukluk, konuşma bozukluğu, gelişme geriliği
6	46,XY,t(4p15.2;15p11.1)	40	Boy: 166 cm, 12 yıllık evlilikte MR bir kız çocuk sahibi, 5 yıldır sekonder infertilite
7	46,XY,15+	12	Konuşmaya başlama 5 yaş, dismorfik görünüm, Miyop – hipermetrop, ailesel Mental Retardasyon öyküsü
8	46,X,idic(Y)(pter-q12::q12-pter)	30	Konuşmaya başlama 6 yaş, infertilite (4 yıllık evli), azospermi, sol testiste varikosel, ellerde tremor (ailesel)

4.1. Olgu 1

Tablo 4-A2: Olgu 1'e ait klinik, sitogenetik ve diğ er demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
1	32	K	İnfertilite 10 yıllık evli Adet düzensizliğı Ailede erkeklerde Mental Retardasyon	46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1)

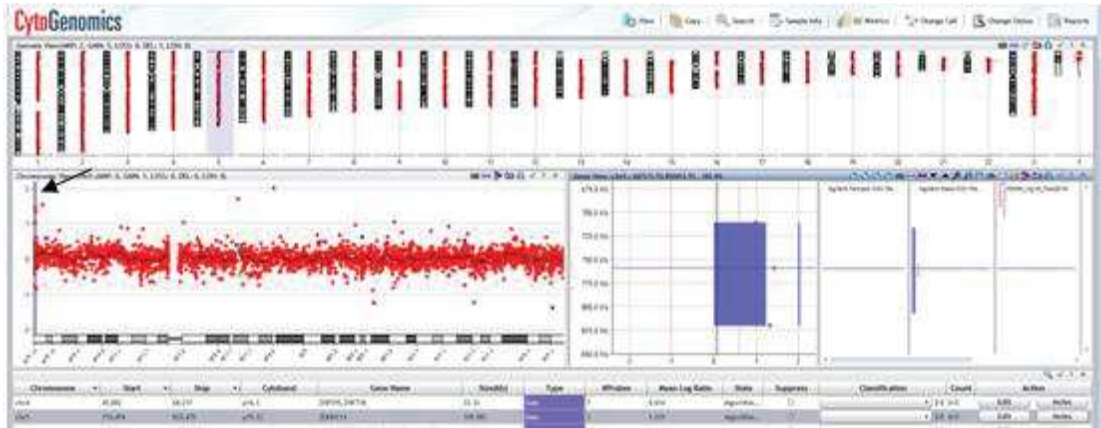


Şekil 8-A: 46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1) karyotipli olguya ait metafaz örneğı transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.

Olgu 1 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama sonrasında olgunun 46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1) karyotipte olduğu saptandı(Şekil 8-A). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 15 ve 17 numaralı kromozomların dengeli trasloke olduğu ve bu kromozomlar açısından mikroarray analizinde herhangi bir problem saptanmamıştır. Bu olguya ait 5 numaralı kromozomun p kolunda, 15.33 bölgesinde, 109.982 kb büyüklüğünde bir mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 8-B). Olgunun X kromozomuna ait q kolunun 28 bölgesinde ise 0.447 kb büyüklüğünde bir mikrolezyon saptanmıştır ve bu bölgede GDI1 geni bulunmaktadır(Şekil 8-C).

Tablo 4-B: Olgu 1'e ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentezledikleri protein/proteinler

Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyonu	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
5	Duplikasyon	p15.33	109.982	1.229	-	-
X	Delesyon	q28	0.447	-1.048	GDI1	Rab GDP dissociation inhibitor alpha



Şekil 8-B: 46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1) karyotipli olgunun 5 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

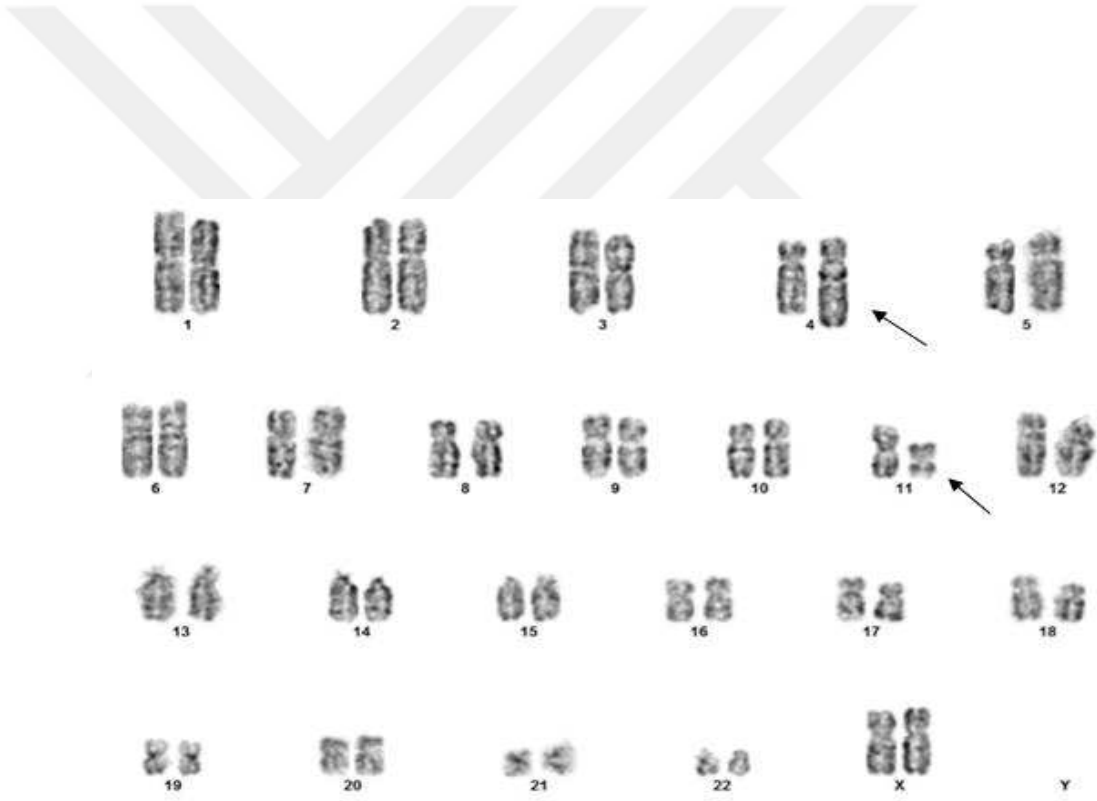


Şekil 8-C: 46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1) karyotipli olgunun X kromozomuna ait a-CGH profili

4.2. Olgu 2

Tablo 5-A: Olgu 2'ye ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
2	24	K	2 yıllık evli 2 abortus (5hafta,5hafta)	46,XX,t(4q;11q)



Şekil 9-A: 46,XX,t(4q;11q) karyotipli olguya ait metafaz örneği transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.



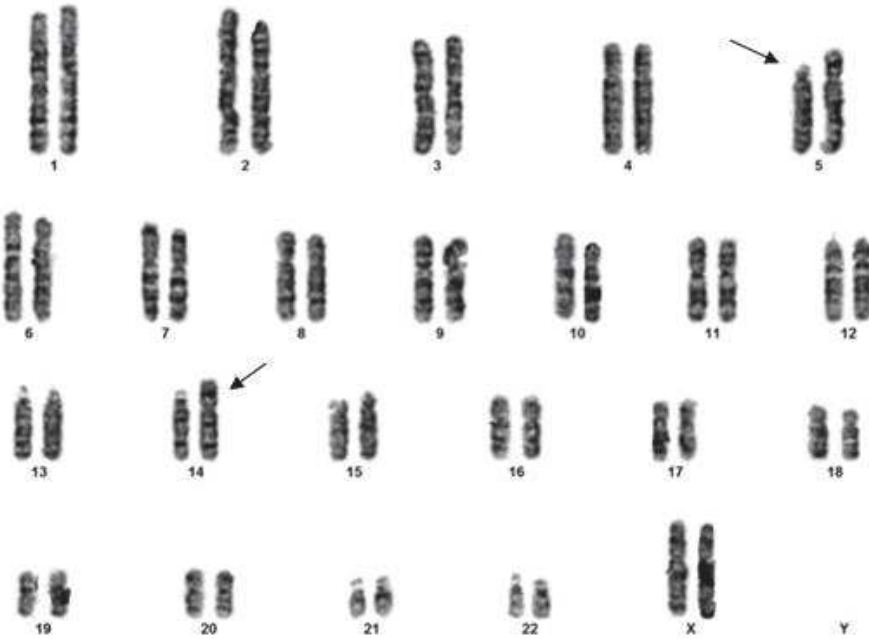
Şekil 9-B: 46,XX,t(4q;11q) karyotipli olguya ait C bantlama örneği transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.

Olgu 2 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG ve C bantlama sonrasında olgunun 46,XX,t(4q;11q) karyotipe olduğu saptandı(Şekil 9-A/9B). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 11 numaralı kromozomunda bir duplikasyon görülmüştür. Bu olguya ait 11 numaralı kromozomun p kolunda, 15.5 bölgesinde, 0,1 kb büyüklüğünde bir mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge H19 OMIM geni içermektedir(Şekil 9-C).

4.3. Olgu 3

Tablo 6-A: Olgu 3'e ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
3	32	K	17 yıllık evli- sağlıklı bir erkek çocuk sahibi 10 yıldır; (6h,6h,8h,8h) 4 abortus (3 hidrosefali fetüs, 1 intrauterin) Hipertiroid	46,XX,t(5p13;14p13)

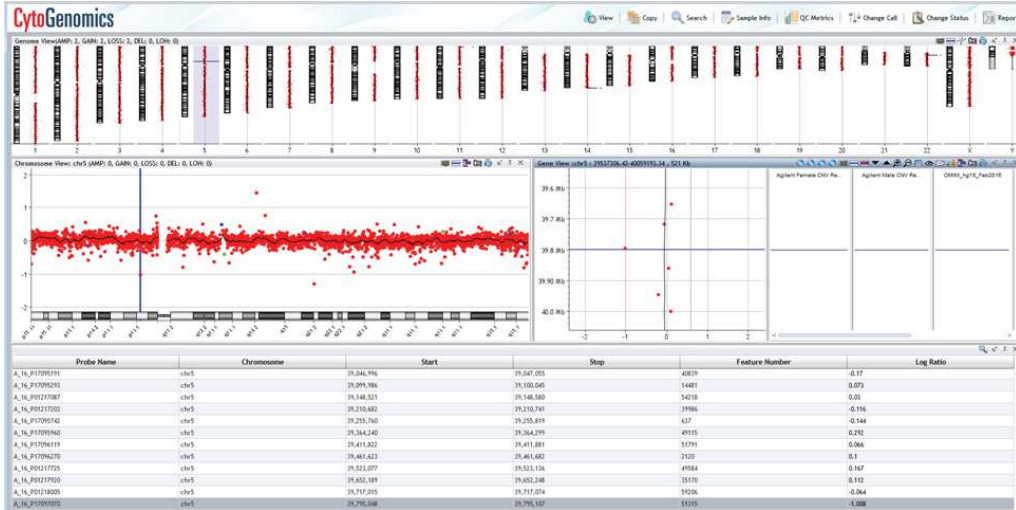


Şekil 10-A: 46,XX,t(5p13;14p13) karyotipli olguya ait metafaz örneği transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.

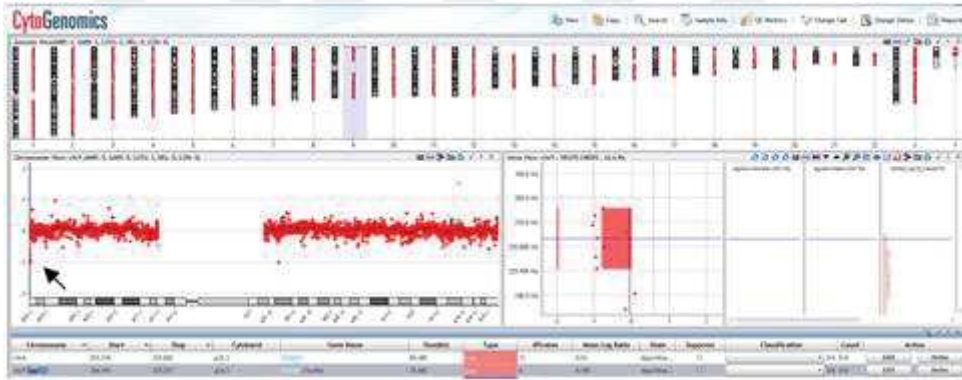
Olgu 3 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama ve karyotipleme sonrasında olgunun 46,XX,t(5p13;14p13) karyotipte olduğu saptandı(Şekil 10-A). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 11 numaralı kromozomunda bir duplikasyon, 5 ve 9 numaralı kromozomlar da ise delesyon görülmüştür. Bu olguya ait 5 numaralı kromozomun p kolunda, 13.1 bölgesinde, 0.1 kb büyüklüğünde mikrodelesyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 10-B). 9 numaralı kromozomun p kolunda, 24.3 bölgesinde, 25.065 kb büyüklüğünde mikrodelesyon saptanmış olup bu bölge DOCK8 OMIM geni içermektedir(Şekil 10-C). 11 numaralı kromozomun p kolunda, 15.5 bölgesinde, 0,1 kb büyüklüğünde bir mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge H19 OMIM geni içermektedir(Şekil 10-D).

Tablo 6-B: Olgu 3'e ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentzedikleri protein/proteinler

Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyon	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
5	Delesyon	p13.1	0.1	-1.008	-	-
9	Delesyon	p24.3	25.065	-0.785	DOCK8	Dedicator of cytokinesis protein 8
11	Duplikasyon	p15.5	0.1	0.919	H19	Non-coding RNA



Şekil 10-B: 46,XX,t(5p13;14p13) karyotipli olgunun 5 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



Şekil 10-C: 46,XX,t(5p13;14p13) karyotipli olgunun 9 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

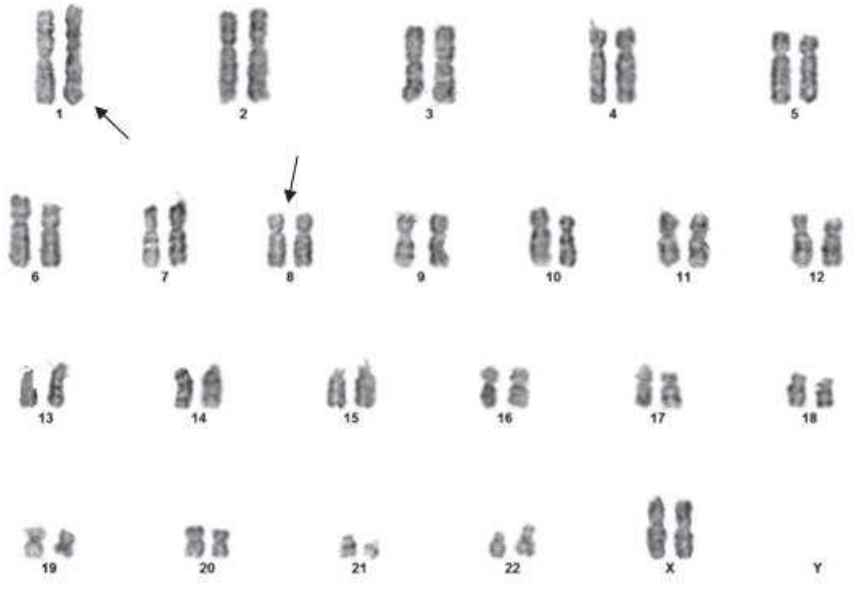


Şekil 10-D: 46,XX,t(5p13;14p13) karyotipli olgunun 11 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

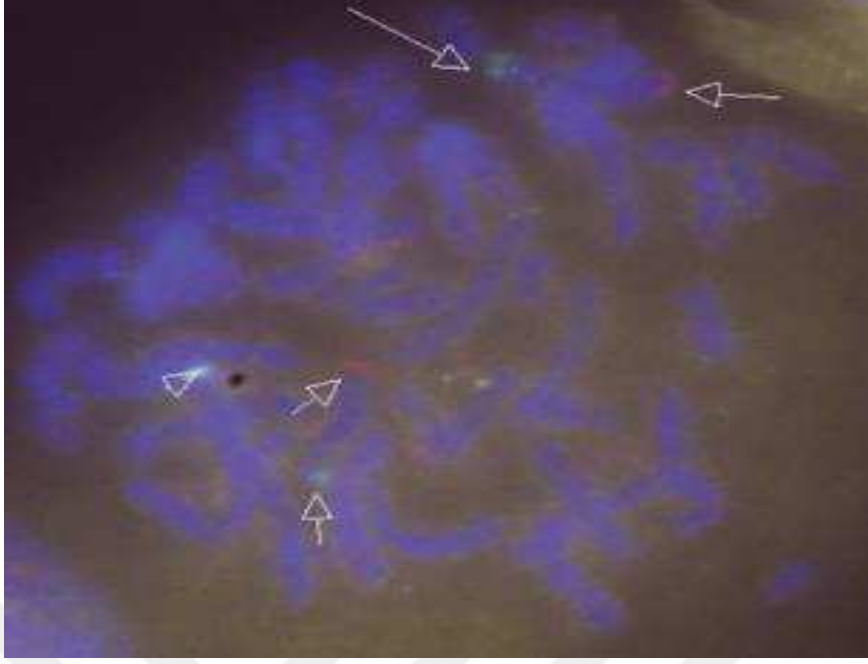
4.4. Olgu 4

Tablo 7-A: Olgu 4'e ait klinik, sitogenetik ve diğ er demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
4	24	K	33 haftalık erken doğum(1100gr) Bebekte 1-8 numaralı kromozomlarda anomali	46,XX,t(1qter;8pter)



Şekil 11-A: 46,XX,t(1qter;8pter) karyotipli olguya ait metafaz örneğ i transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.

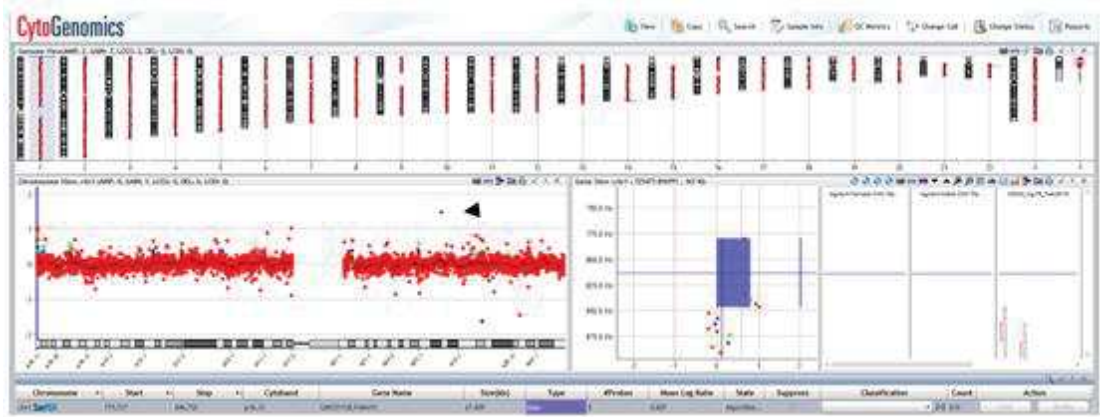


Şekil 11-B: 46,XX,t(1qter;8pter) karyotipli olgunun 8 numaralı kromozomuna ait Subtelomerik FISH yöntemi uygulanmış metafaz örneği

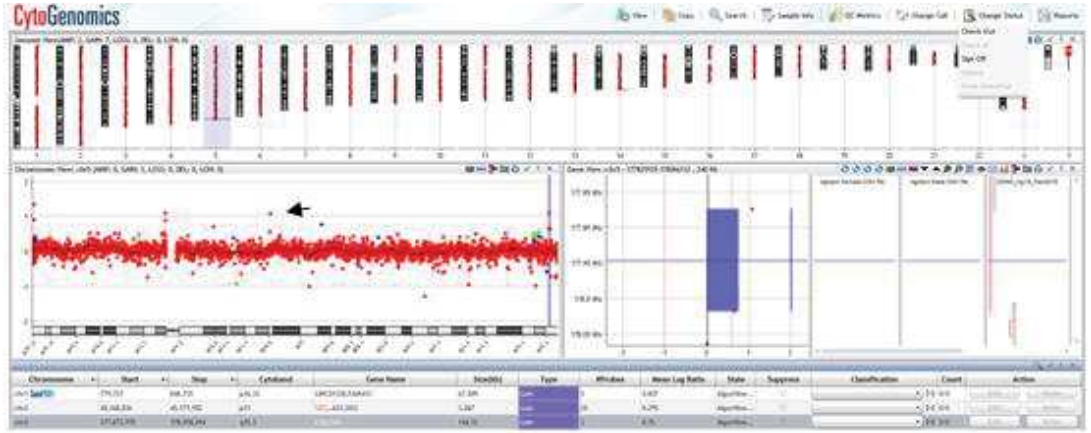
Olgu 4 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama ve Subtelomerik FISH sonrasında olgunun 46,XX,t(1qter;8pter) karyotipte olduğu saptandı(Şekil 11-A/11-B). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 1 ve 5 numaralı kromozomlarında duplikasyon görülmüştür. Bu olguya ait 1 numaralı kromozomun q kolunda, 35.3 bölgesinde, 67.009 kb büyüklüğünde mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 11-C). 5 numaralı kromozomun q kolunda, 35.3 bölgesinde, 144.12 kb büyüklüğünde mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge COL23A1 OMIM geni içermektedir(Şekil 11-D).

Tablo 7-B: Olgu 4'e ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentezledikleri protein/proteinler

Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyonu	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
1	Duplikasyon	q35.3	67.009	0.807	-	-
5	Duplikasyon	q35.3	144.12	0.76	COL23A1	Collagen alpha-1



Şekil 11-C: 46,XX,t(1qter;8pter) karyotipli olgunun 1 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

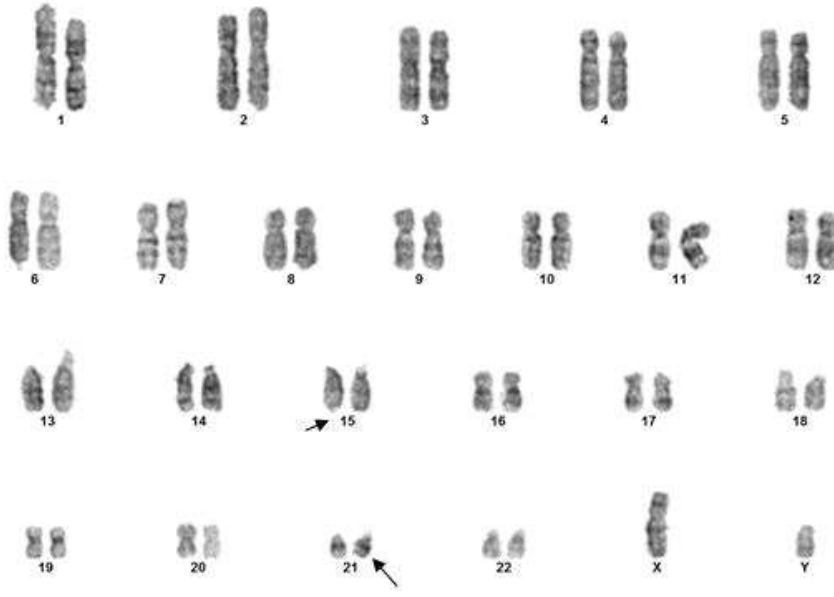


Şekil 11-D: 46,XX,t(1qter;8pter) karyotipli olgunun 5 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

4.5 Olgu 5

Tablo 8-A: Olgu 5'e ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
5	3	E	Dil özel gelişimsel bozukluk Konuşma bozukluğu Gelişme geriliği	46,XY,t(15q24.1;21q11.2)



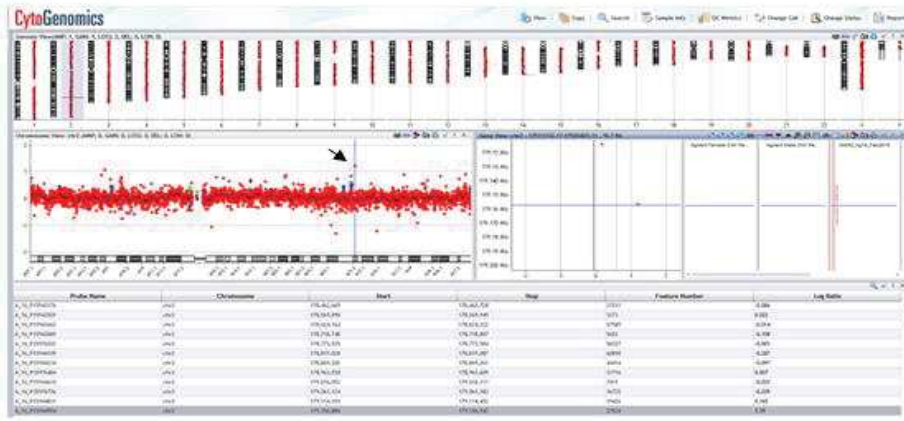
Şekil 12-A: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olguya ait metafaz örneği transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.

Olgu 5 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama, karyotip sonrasında olgunun 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipte olduğu saptandı(Şekil 12-A). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 2-12-15 numaralı kromozomlarında ve X-Y kromozomunda duplikasyon görülmüştür. Ayrıca; 6-7-16-18 ve 21 numaralı kromozomlarında ise delesyon görülmüştür. Bu olguya ait 2 numaralı kromozomun q kolunda, 31.2 bölgesinde, 92.7 kb büyüklüğünde duplikasyon saptanmış olup bu bölge OSBPL6 OMIM geni içermektedir(Şekil 12-B). 6 numaralı kromozomun q kolunda, 22.33 bölgesinde, 245 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölge LAMA2 OMIM geni içermektedir(Şekil 12-C). 7 numaralı kromozomun q kolunda, 21.13 bölgesinde, 245 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 12-D). 12 numaralı kromozomun q kolunda, 21.1 bölgesinde, 346 kb büyüklüğünde duplikasyon saptanmış olup bu bölge TRHDE

OMIM geni içermektedir(Şekil 12-E). 15 numaralı kromozomun q kolunda, 21.1 bölgesinde, 200 kb büyüklüğünde duplikasyon saptanmış olup bu bölge FBN1 OMIM geni içermektedir(Şekil 12-F). 18 numaralı kromozomun q kolunda, 22.3 bölgesinde, 351 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölge ZNF407 OMIM geni içermektedir(Şekil 12-G). 21 numaralı kromozomun q kolunda, 21.2 bölgesinde 180 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 12-H). X kromozomun p kolunda, 21.1 bölgesinde 180 kb büyüklüğünde duplikasyon saptanmış olup bu bölge DMD OMIM geni içermektedir(Şekil 12-I).

Tablo 8-B: Olgu 5'e ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentezledikleri protein/proteinler

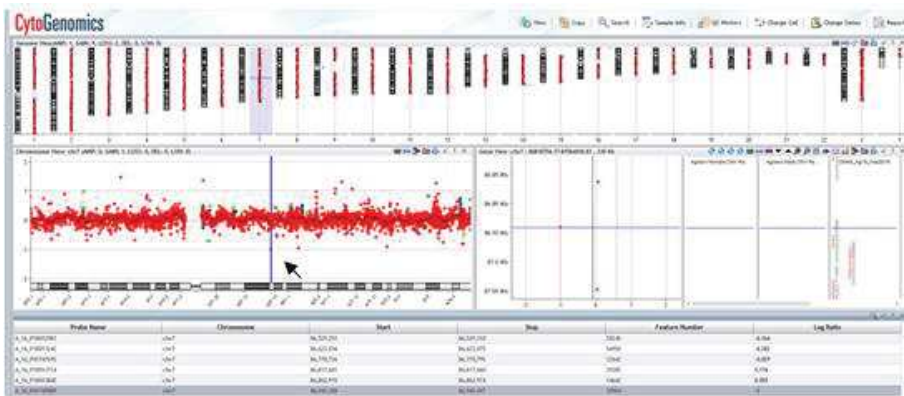
Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyonu	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
2	Duplikasyon	q31.2	92.7	1.19	OSBPL 6	Oxysterol binding protein
6	Delesyon	q22.33	245	-1.629	LAMA2	Laminin subunit alpha 2
7	Delesyon	q21.13	245	-1	-	-
12	Duplikasyon	q21.1	346	1.502	TRHDE	Thyrotropin-releasing hormone-degrading ectoenzyme
15	Duplikasyon	q21.1	200	0.936	FBN1	Fibrilin 1
18	Delesyon	q22.3	351	-1.105	ZNF407	Zinc Finger protein 407
21	Delesyon	q21.2	180	-0.8	-	-
X	Duplikasyon	p21.1	180	2.04	DMD	Distofin



Şekil 12-B: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 2 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



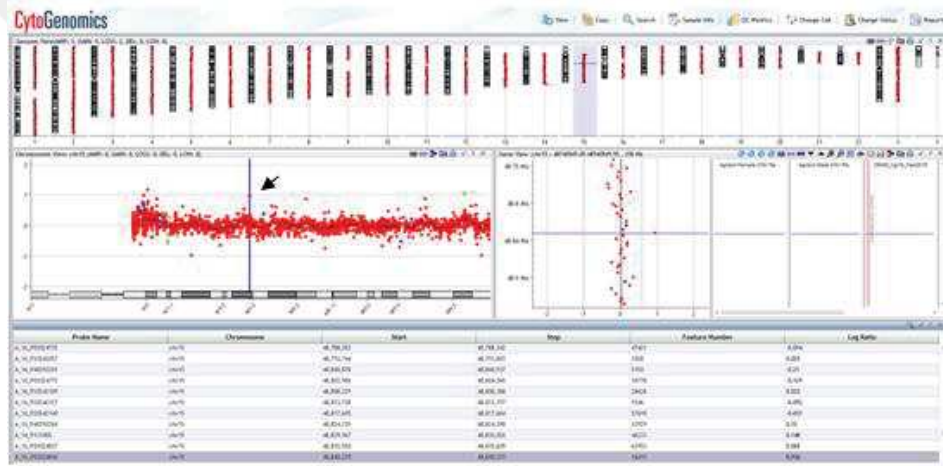
Şekil 12-C: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 6 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



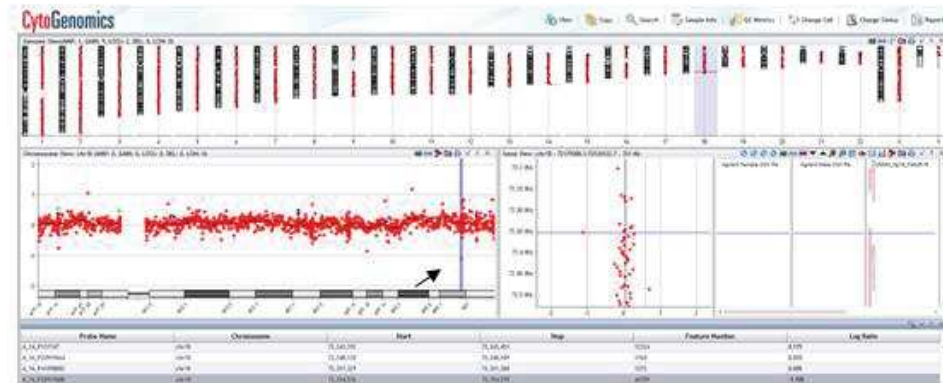
Şekil 12-D: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 7 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



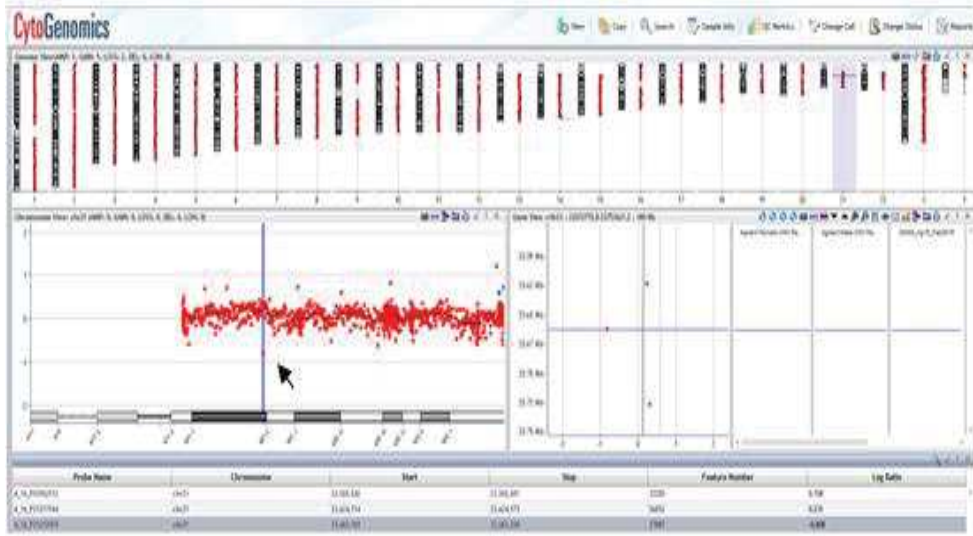
Şekil 12-E: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 12 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



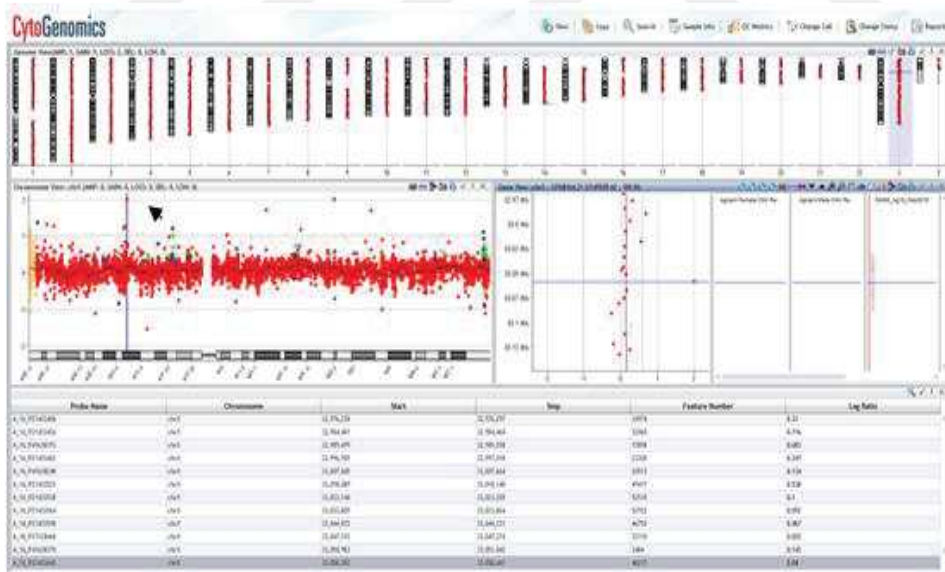
Şekil 12-F: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 15 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



Şekil 12-G: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 18 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili



Şekil 12-H: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun 21 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

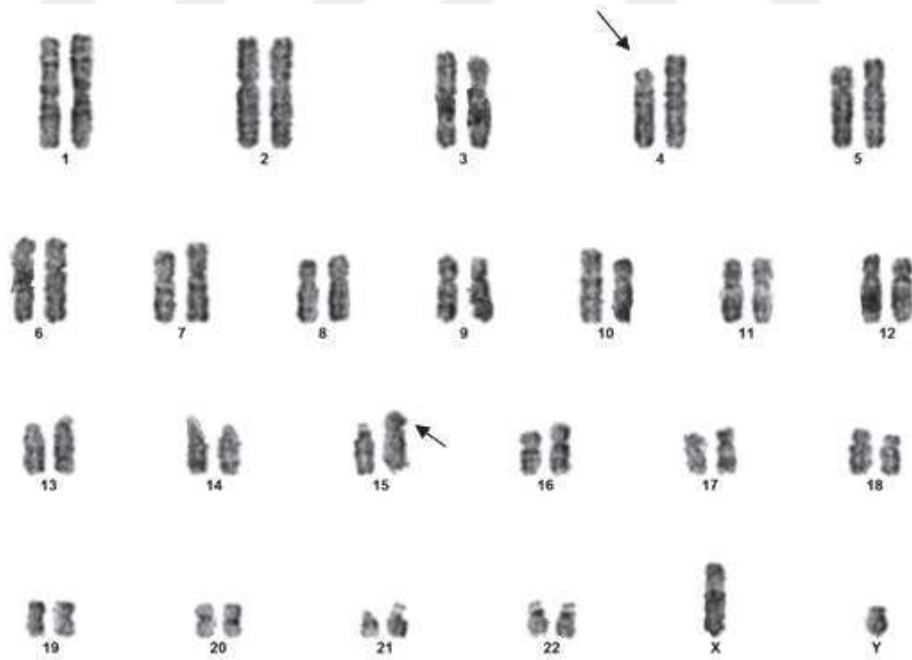


Şekil 12-I: 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) karyotipli olgunun X kromozomuna ait a-CGH profili

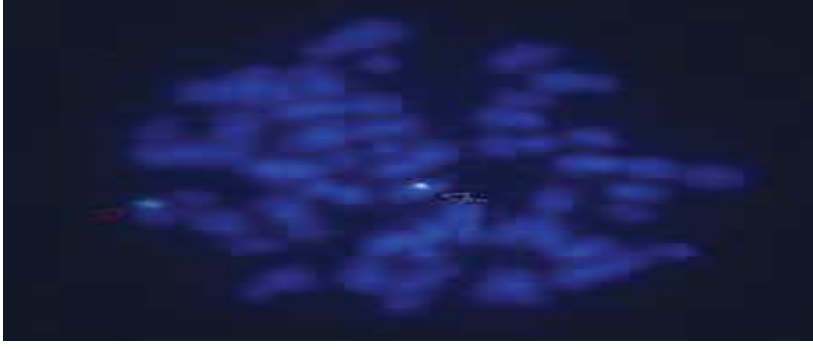
4.6 Olgu 6

Tablo 9-A: Olgu 6'ya ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
6	40	E	Boy: 166 cm 12 yıllık evlilikte Mental Retardasyonlu bir kız çocuk sahibi 5 yıldır sekonder infertilite	46,XY,t(4p15.2;15p11.1)



Şekil 13-A: 46,XY,t(4p15.2;15p11.1) karyotipli olguya ait metafaz örneği transloke kromozomlar okla gösterilmektedir.



Şekil 13-B: 46,XY,t(4p15.2;15p11.1) karyotipli olguya ait 15 numaralı kromozoma spesifik FISH yöntemi uygulanmış metafaz örneği

Olgu 6 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama ve 15 spesifik FISH yöntemi sonrasında olgunun 46,XY,t(4p15.2;15p11.1) karyotipte olduğu saptandı(Şekil 13A/13-B). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise X kromozomunda duplikasyon görülmüştür. Bu olguya ait X kromozomun p kolunda, 22.3 bölgesinde, 0.723 kb büyüklüğünde mikroduplikasyon saptanmış olup bu bölge SHOX OMIM geni içermektedir(Şekil 13-C).

Tablo 9-B: Olgu 6'ya ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentezledikleri protein/proteinler

Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyonu	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
X	Duplikasyon	P22.33	1.723	0.626	SHOX	Short stature homeobox protein

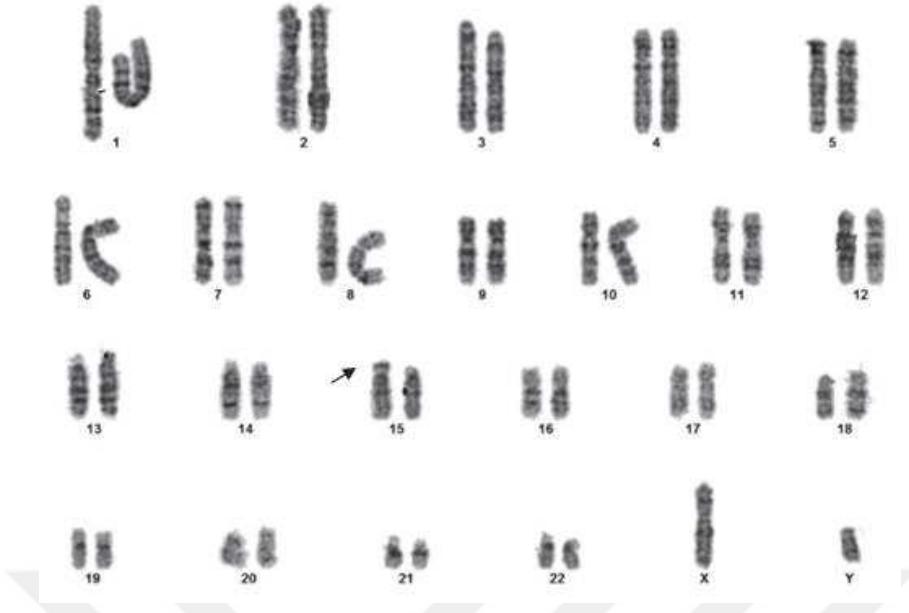


Şekil 13-C: 46,XY,t(4p15.2;15p11.1) karyotipli olgunun X kromozomuna ait a-CGH profili

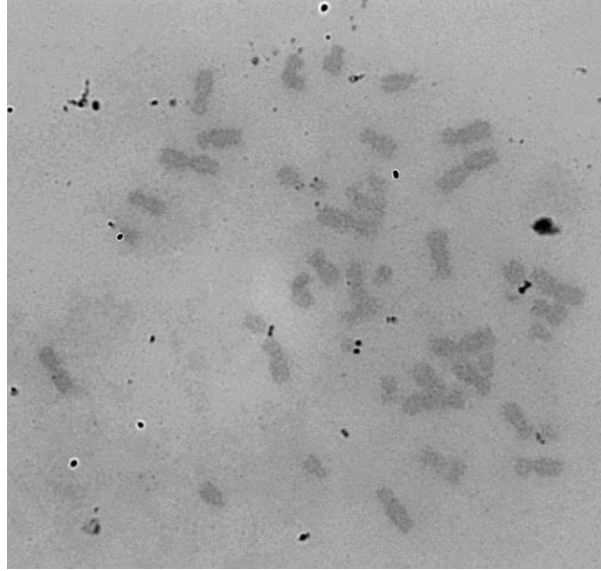
4.7 Olgu 7

Tablo 10-A: Olgu 7'ye ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
7	12	E	Konuşmaya başlama yaşı 5 Dismorfik görünüm Miyop – hipermetrop Ailesel Mental Retardasyon öyküsü	46,XY,15+



Şekil 14-A: 46,XY,15+ karyotipli olguya ait metafaz örneği 15 numaralı kromozom okla gösterilmektedir.



Şekil 14-B: 46,XY,15+ karyotipli olguya ait NOR boyama örneği

Olgu 7 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama ve NOR boyama sonrasında olgunun 46,XY,15+ karyotipte olduğu saptandı(Şekil 14-A/14B). Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde ise 14 numaralı kromozomunda delesyon görülmüştür. Bu olguya ait 14 numaralı kromozomun q kolunda, 32.33 bölgesinde, 67.802 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölge OMIM geni içermemektedir(Şekil 14-C).

Tablo 10-B: Olgu 7'ye ait a-CGH analizi sonrası elde edilen kromozom aberasyonları; aberasyon tipi, kromozomdaki lokalizasyonu, büyüklüğü, etkilenen tanımlanmış OMIM genleri ve sentezledikleri protein/proteinler

Kromozom No	Mutasyon tipi	Lokalizasyonu	Büyüklüğü Kb	Log Ratio	OMIM Genleri	Protein
14	Delesyon	q32.33	67.802	-0.992	-	-

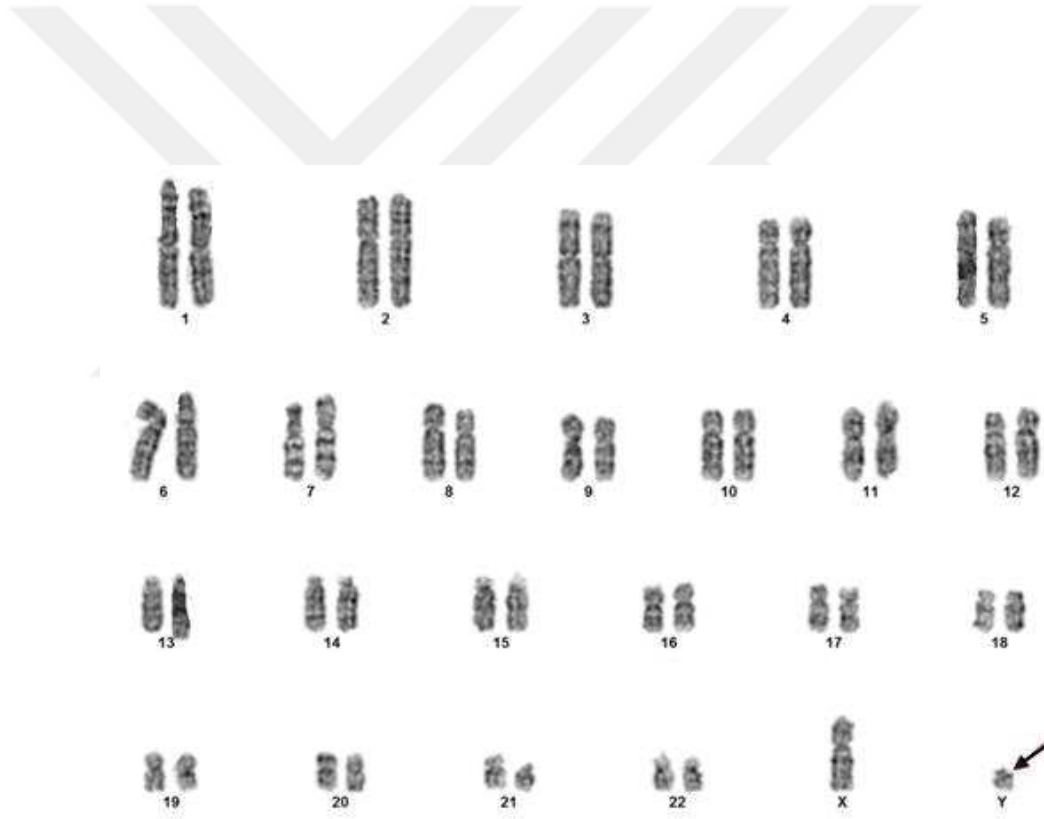


Şekil 14-C: 46,XY,15+ karyotipli olgunun 14 numaralı kromozomuna ait a-CGH profili

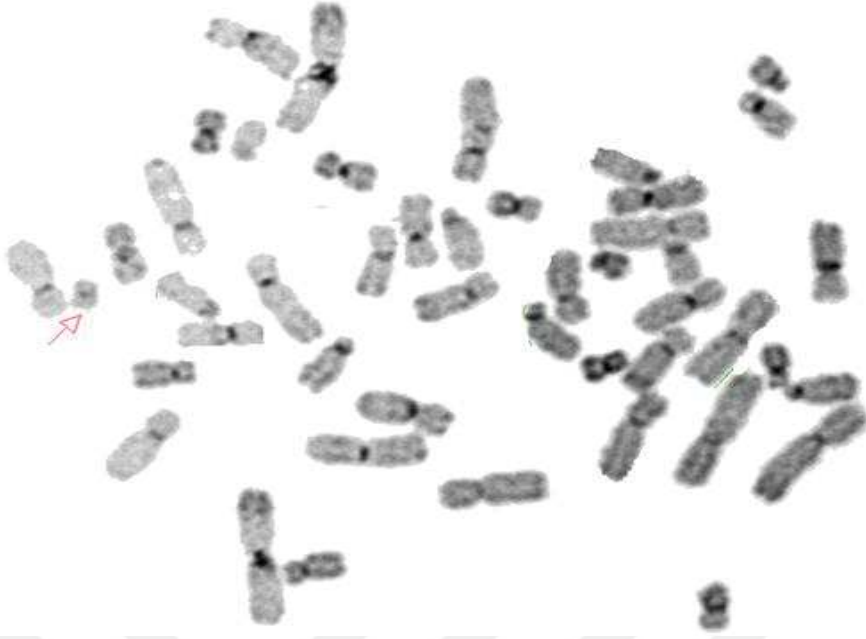
4.8 Olgu 8

Tablo 11-A: Olgu 8'e ait klinik, sitogenetik ve diğer demografik bulgular

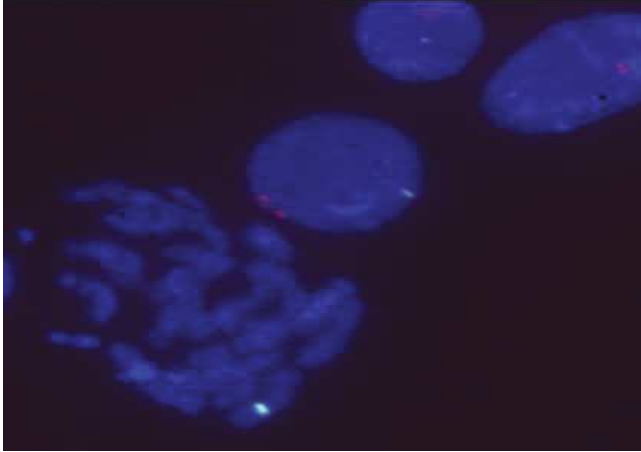
Olgu No	Yaşı	Cinsiyet	Klinik Bulguları	Karyotip Analizi
8	30	E	Konuşmaya başlama 6 yaş İnfertilite (4 yıllık evli) Azospermi Sol testiste varikosel Ellerde tremor (ailesel)	46,X,idic(Y)(pter-q12::q12-pter)



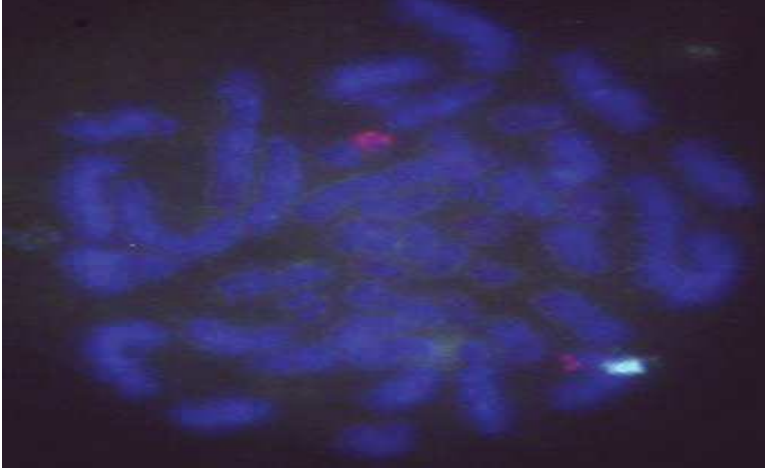
Şekil 15-A: 46,X,idic(Y)(pter-q12::q12-pter) karyotipli olguya ait metafaz örneği Y kromozomu okla gösterilmektedir.



Şekil 15-B: 46,X,idic(Y)(pter-q12::q12-pter) karyotipli olguya ait C bantlama görüntüsü Y kromozomu okla gösterilmektedir.



Şekil 15-C: 46,X,idic(Y)(pter-q12::q12-pter) karyotipli olguya ait XY FISH görüntüsü . X-DXZ1-Xp11.1-q11.1 bölgesi yeşil sinyali göstermektedir. Y-DYZ3-Yp11.1-q11.1 bölgesi kırmızı sinyali göstermektedir.



Şekil 15-D: 46,X,idel(Y)(pter-q12::q12-pter) karyotipli olguya ait SHOX FISH görüntüsü

X--Xp11.32-Xp22,33 bölgesi kırmızı sinyali göstermektedir.

Y-DYZ1 bölgesi yeşil sinyali göstermektedir.

X –DXZ bölgesi mavi sinyali göstermektedir.

Olgu 8 değerlendirildiğinde; yapılan tripsin-GTG bantlama(Şekil 15-A), C bant(Şekil 15-B), XY FISH(Şekil 15-C) ve SHOX FISH(Şekil 15-D) yöntemi sonrasında olgunun 46,X,idel(Y)(pter-q12::q12-pter) karyotipe olduğu saptandı. Bu olgunun, yapılan a-CGH profillemesinde de Y kromozomunda delesyon görülmüştür. Bu olguya ait Y kromozomun q kolunda, 11.221-11.223 bölgesinde, 9.878.291 kb büyüklüğünde delesyon saptanmış olup bu bölgede NLGN4Y, XKRY, CD24, KDM5D, EIF1AY, RPS4Y2, RBMY1A1, PRY2, PRY, TTTY6, TTTY5, TTTY4, BPY2, DAZ3, DAZ2 OMIM genlerini içermektedir(Şekil 15-E).

5. TARTIŞMA

Yapısal kromozom anomalileri, kromozom kırıkları, kromozom rekombinasyon, kromozom değişim gibi anormal kombinasyonların sonucunda ortaya çıkmaktadır. Sayısal kromozom anomalileri(annöploidi) 1/263 oranında, yapısal kromozom anomalileri 1/375 oranında görülmekte olup; sayısal kromozom anomalilerinin yapısal kromozom anomalilerine göre daha sık rastlanmaktadır. Yeni doğanlarda kromozomal anomali insidansının tüm kromozom anomalilerinin 1/54 olduğu görülmektedir. Yapısal kromozom anomalilerine baktığımızda; dengeli kromozom anomalileri 1/500 oranında, dengesiz kromozom anomalileri 1/1600 oranında, dengeli ve dengesiz tüm kromozomal yapısal anomaliler ise 1/375 oranında saptanmakta olup dengeli kromozom anomalilerinin, dengesiz kromozom anomalilerine göre daha sık gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Konvansiyonel sitogenetik tekniklerle saptanan yeniden düzenlenmeler raporlanırken görünüşte dengeli(apperently balanced) olarak raporlanır. Çünkü; Giemsa(G) boyama ile yaklaşık 5 Mb ve üzerindeki büyüklükteki anomaliler tespit edilebilmektedir. Fenotip olarak normal bir bireyde görünüşte dengeli translokasyonlar saptandığında gerçek dengeli anormallik olarak kabul edilmektedir. Kayıplar(monosami), kazançlardan(trizomi) daha fazla oranda sebep olur. Dengesiz yeniden düzenlenmeler genellikle, konjenital anomali ile beraber veya tek başına öğrenme güçlükleriyle ilişkilidir. Gelişim basamaklarında rolü olan Dozaj-Duyarlı Genler ve az veya çok miktarda eksprese edilen diğer genler fenotipik anomaliliklerle sonuçlanmaktadır.

Dengesiz yeniden düzenlenmelerde, duplikasyon(kazanım) %4, delesyon(kayıp) %2'lik bir oranda yaşamla bağdaşır. Geri kalan yaklaşık %96'lık vakaların spontan

gebelik kaybıyla sonlandığı bilgisi literatürde mevcuttur. Dengeli otozomal resiprokal translokasyonlar sık görülür ve toplumda taşıyıcılığı $>0.1\%$ 'dir. Bir gebelik sonucunda dengeli otozomal resiprokal translokasyon 4 olası sonucu vardır. Bu gebelik normal bir karyotip, dengeli otozomal resiprokal translokasyon(ebeveyninki ile aynı), spontan gebelik kaybı düşükle sonuçlanabilir, dengesiz translokasyon ya da konjenital anomali, öğrenme güçlüğüne sahip yaşayan dengesiz translokasyonlu çocuğun doğumuna yol açabilir. Burada genetiğin önemli rolü, yaşayan dengesiz sonuçları öngörmektir. Bu öngörü amniyosentez, koryonvillz biyopsisi gibi prenatal diagnostik testlerin kararlarının alınmasında majör faktördür.

Bizim çalışmamızda 1,2,3,4,5 ve 6 numaralı olgularda da olduğu gibi otozomal resiprokal translokasyonlar klinikte konjenital anomalili, gelişme geriliği olan, öğrenme güçlüğü olan bebeklerin veya tekrarlayan gebelik kayıpları ya da subfertilite kliniğiyle polikliniğe başvuran hastaların incelenmesi sırasında açığa çıkmaktadır. Eğer bu dengeli translokasyon anne ve babada tanımlanmamışsa denovo, eğer ailede daha önceden tanımlanmışsa ailesel translokasyon olarak nitelendirilmektedir. Eğer bu olgu fenotipik olarak normale, translokasyon rastlantısal bir bulgu olduğu düşünülür. Anormal fenotiple beraber görülürse ileri araştırma ve tetkik yapılması gerekmektedir. Anormal fenotipli hastalarda aile hikayesi alınarak pedigri oluşturulur. Malformasyonlar ayrıntılı bir şekilde not edilir. Bilişsel ve motor gelişim düzeyi tespit edilir. Muayene sırasında dismorfik bulgular not edilir. Anne ve babaya kromozom analizi, olgunun fotoğraflanması ve translokasyon bölgesindeki olası genlerin incelenmesi önerilmektedir.

Dengeli yeniden düzenlenmeler olduğu düşünülen vakalarda, anne ve baba normal ise bu bulgunun normal olduğu, eğer denovo ise kromozomal

translokasyonun bir sebep olma ihtimalini arttırmakta ve bu durumda aşağıdaki noktalar açısından dikkat edilmesi gerekmektedir. Translokasyon dengesiz olabilir, normal homologda resesif allelin ortaya çıkmasına sebep olması olabilir, kromozomal kırık sonucu anormal gen fonksiyon kazanımı, imprintik problemlerin gelişmesine neden olabilir. Translokasyon durumlarında konvansiyonel sitogenetik analize ilave olarak FISH, CGH analizi dengesiz translokasyon açısından ve kırık bölgesindeki literatürdeki ilgili genlerin araştırılması için yapılır.

Olgu 1; 10 yıllık evli 32 yaşında kadın olgunun adet düzensizliği ve infertilite öyküsü mevcuttur. Yapılan kromozom analizi sonucu 46,XX,9qh+,t(15q23-24;17q12-21.1) şeklindedir. a-CGH analizi sonucunda ise 15 ve 17 numaralı kromozomlarda translokasyonla ilgili bölgeler açısından delesyon ve/veya duplikasyon saptanmadı. 5 numaralı kromozomun p kolunda, 15.33 bölgesinde, 109.982 kb büyüklüğünde OMIM geni içermeyen bir mikroduplikasyon saptandı(Şekil 8-B). X kromozomuna ait q kolunun 28 bölgesinde ise 0.447 kb büyüklüğünde bir mikrodelesyon saptandı(Şekil 8-C) ve bu bölgede GDI1 geni yer alır. 15 ve 17 numaralı kromozomların a-CGH analizinde kromozomal lokuslarda delesyon ve duplikasyon saptanmaması translokasyonun dengeli olduğunu göstermektedir.

Olgu 2; 24 yaşında, 2 yıllık evli 5'er haftalık iki kez düşüğü olan habituel abortus tanısı olan kadın olgunun kromozom analizi sonucu 46,XX,t(4q;11q) şeklindedir. Şekil 9-A'da 4 numaralı kromozomun q kolu ile 1 numaralı kromozomun q kolu arasındaki translokasyon görülmektedir. Olgunun ileri analizi olan a-CGH de ise 11 numaralı kromozomun p kolunda 15.5 lokusunda 0.1 kb

büyükliğünde bir mikroduplikasyon saptandı. H19 geni bu duplikasyon bölgesinde yer almaktadır

H19 geni, İnsulin-like Growth Factor 2(IGF2) genine yakın imprinte olan bölgede bulunmaktadır. Bu gen sadece anneden kalıtılan kromozomdan eksprese olur. Bu genin ürünü olan uzun non-coding RNA tümör supresör fonksiyonuna sahiptir. Bu gendeki mutasyonlar Beckwith-Wiedemann Sendromu, Hemihyperplasia, Isolated, Silver-Russell Syndrome ve Wilms tümörü ile ilişkilidir. Reprodüktif sistemleri en çok plesantadan eksprese edilmektedir. H19 mRNA'sı, insan vücudunda en çok iskelet kasında ve adrenal bezden eksprese edilmektedir.

Olgu 3; 32 yaşında 17 yıllık evli kadın olgu, sağlıklı bir erkek çocuk sahibi ve son 10 yıldır 6,6,8 ve 8 haftalık olmak üzere 4 abortus öyküsü mevcuttur. Habituel abortus kliniği ile başvuran hastanın yapılan karyotip analizi 46,XX,t(5p13;14p13) şeklinde saptandı. a-CGH ile yapılan ileri analizde 5p13.1 bölgesinde 0,1 kb büyüklüğünde gen içermeyen bir delesyon(Şekil 10-B), 9p24.3 bölgesinde 25,065 kb büyüklüğünde DOCK8 geni içeren bir delesyon(Şekil 10-C) ve 11p15.5 bölgesinde de 0,1 kb büyüklüğünde bir duplikasyon(Şekil 10-D) saptandı. Kromozom analizi sonucunda tespit edilen 5 ve 14 numaralı kromozomlar arası saptanan translokasyon a-CGH analizi ile de 5. kromozomda translokasyon bölgesinde 0,1 kb büyüklüğünde delesyon olması translokasyonun dengesiz olabileceğini düşündürmektedir. Translokasyonun, dengeli ya da dengesiz olup olmadığını araştırmak için 180K a-CGH ile ileri analizi önerilir. Ayrıca; 9. kromozomdaki DOCK8 geni, proteinini kodlar. DOCK8 geni immünolojik sistemde bağırsak dendritik T hücrelerinin migrasyonunda görev almaktadır. Bu genin bozukluklarında, Hyper IGE Sendromu, Otozomal Dominant Nonsendromik Mental Retardasyon klinikleriyle ilişkilidir.

11 numaralı kromozomdaki H19 geni, İnsulin-like Growth Factor 2(IGF2) genine yakın imprinte olan bölgede bulunmaktadır. Bu gen sadece anneden kalıtılan kromozomdan eksprese olur. Bu genin ürünü olan uzun non-coding RNA tümör supresör fonksiyonuna sahiptir. Bu gendeki mutasyonlar Beckwith-Wiedemann Sendromu, Hemihyperplasia, Isolated, Silver-Russell Syndrome ve Wilms tümörü ile ilişkilidir.

Olgu4; 24 yaşında 33 haftalık erken doğum yapan kadın olgunun kromozom analizi sonucu 46,XX,t(1qter;8pter) şeklinde saptandı. Olgunun a-CGH ileri analizinde ise 1q35.3 bölgesinde 67.009 kb büyüklüğünde gen içermeyen bir duplikasyon(Şekil 11-C) ve 5q35.3 bölgesinde 144.12 kb büyüklüğünde COL23A1 genini içeren bir duplikasyon(Şekil 11-D) saptandı. a-CGH analizinde 1. kromozomda gen içermeyen bölgede duplikasyon olması kromozom analizindeki translokasyonun dengesiz olma ihtimalini düşündürmektedir. 5. kromozomdaki COL23A1 geni, Collogen alpha-1 zincirini kodlamasında görev alır. Bu genin hastalıkları arasında Ichthyosis, Congenital, Autosomal Recessive 11 hastalığı mevcuttur. COL23A1 genindeki duplikasyonun klinik anlam açısından değerlendirilmesi için hastanın dermatolojik muayenesinin yapılması ve COL23A1 geninin diğer tetkiklerle ileri analizinin duplikasyonların doğrulanması önerildi.

Olgu 5; 3 yaşında dil gelişimsel ve konuşma bozukluğu, gelişme geriliği olan erkek olgunun kromozom analizi sonucu 46,XY,t(15q24.1;21q11.2) şeklinde saptandı. Olgunun a-CGH ileri analizinde de 2q31.2 bölgesinde 92.7 kb büyüklüğünde OSBPL6 genini içeren bir duplikasyon(Şekil 12-B), 6q22.33 bölgesinde 245 kb büyüklüğünde LAMA2 genini içeren bir delesyon(Şekil 12-C), 7q21.13 bölgesinde 245 kb büyüklüğünde gen içermeyen bir delesyon(Şekil 12-D),

12q21.1 bölgesinde 346 kb büyüklüğünde TRHDE genini içeren bir duplikasyon(Şekil 12-E), 15q21.1 bölgesinde 200 kb büyüklüğünde FBN1 genini içeren bir duplikasyon(Şekil 12-F), 18q22.3 bölgesinde 351 kb büyüklüğünde ZNF407 genini içeren bir delesyon(Şekil 12-G), 21q21.2 bölgesinde 180 kb büyüklüğünde gen içermeyen bir delesyon(Şekil 12-H) ve Xp21.1 bölgesinde ise 180 kb büyüklüğünde DMD genini içeren bir duplikasyon(Şekil 12-I) saptandı. Olgunun kromozom analizinde 15 ve 21.kromozomlar arası translokasyonun a-CGH ile yapılan analizi sonucunda yine 15.kromozomda duplikasyon ve 21.kromozomda da delesyon olduğu saptandı. Olguda bulunan translokasyonun dengeli olup olmadığının araştırılması için 180K a-CGH ile ileri analizi önerildi. 15.kromozomdaki FBN1 geni Fibrilin-1 proteinini kodlar ve bu genin mutasyonları, Marfan Sendromu, Stiff Skin Sendromu, Acromicric Dysplasia gibi hastalıklarla ilişkilidir. 18.kromozomdaki ZNF407 geni, Zinc Finger protein 407 proteinini kodlar ve bu gen Non-Syndromic Intellectual Disability ile ilişkilidir. Olgunun dil gelişim bozukluğu ve gelişme geriliği ile ZNF407 geni arasında ileri tetkik ve analizinin yapılması önerildi.

Olgu 6, 12 yıllık evli ve yaşayan bir Mental Retardasyonlu kız çocuk sahibi ve son 5 yıldır sekonder infertilitesi olan 40 yaşında erkek olgunun kromozom analizi sonucu 46,XY,t(4p15.2;15p11.1) şeklinde saptandı. a-CGH analizinde Xp22.33 bölgesinde 1.723 kb büyüklüğünde SHOX genini içeren bir duplikasyon saptandı(Şekil 13-C). SHOX geni Short Stature Homeobox proteini kodlar. Bu genin mutasyonları, uzuvlarda gelişme geriliği veya kısalığı ve boy kısalığına sebep olur. Olgunun 166 cm boyunda öğrenildi ve Türkiye İstatistik Kurumu 01.07.2016 tarihli 21508 sayılı verilerine göre Türkiye’de yaşayan erkeklerin boy ortalaması 173 cm olduğundan olgu ortalamanın altında bulundu. SHOX geninde saptanan

duplikasyonun konfirmasyonu gerçek olup olmadığının tespiti açısından SHOX FISH ile ileri analizi önerildi. 4 ve 15. kromozomlarda a-CGH analizinde bir duplikasyon ya da delesyon gözlenmedi ve translokasyonun dengeli olmuş olabileceği saptandı.

Olgu 7; dismorfik yüz görünümü, miyop ve hipermetrop, ailesel Mental Retardasyon öyküsü bulunan, konuşmaya başlama yaşı 5 olan 12 yaşındaki erkek olgunun kromozom analizi sonucu 46,XY,15p+ şeklinde saptandı. a-CGH analizinde 14q32.33 bölgesinde 67.802 kb büyüklüğünde gen bölgesi içermeyen bir delesyon saptandı(Şekil 14-C). Olgunun 60K a-CGH analizi sonucunda gen bölgesi içeren kayıp ya da kazanım saptanmamış olup ileri analiz için 180K a-CGH yapılması önerildi. Olgunun ailesindeki MR bireyden ve anne-babasından kromozom analizi yapılması önerildi. Dismorfik yüz görünümü ve Mental retardasyon ile birlikte giden sendromlar açısından olgunun moleküler yöntemlerle ileri analizi önerildi.

Olgu 8; 4 yıllık infertilite, azospermi, sol testiste varikosel, ailesel elde tremoru olan ve konuşmaya 6 yaşında başlamış, 30 yaşında erkek olgunun karyotip analizi 46,X, idic(Y)(pter-q12::q12-pter) şeklinde saptandı. a-CGH analizinde ise Yq11.221-q11.223 bölgesinde 9.878.291 kb büyüklüğünde NLGN4Y, XKRY, CD24, KDM5D, RPS4Y2, RBMY1A1, PRY2, PRY, BPY2, DAZ3 ve DAZ2 genlerini içeren bir delesyon saptandı.

Kromozom analizinde saptanmış olan idicY kromozomunun a-CGH ileri analizi sonucunda Yq11.221-q11.223 lokusunda yaklaşık 9.8 kb büyüklüğünde bir delesyonu saptandı(Şekil 15-E). Olgunun Y kromozomunda delesyona uğrayan bu bölgedeki bazı genler klinik bulgularıyla ilişkilendirildi. XKRY, KDM5D, RPS4Y2, PRY, PRY2, BPY2, DAZ3 ve DAZ2 mutasyonları başta spermatogenik yetmezlik,

infertilite ve azopermiye sebep olur. Hastalığın kliniğiyle ilgili genlerde delesyona yol açtığı anlaşıldı. a-CGH ile saptanmış olan kopya sayısı değişikliklerinin diğer moleküler yöntemlerle ileri analizi önerildi.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mevcut araştırma projesine, moleküler düzeyde daha ileri analiz kapasitesine sahip a-CGH yönteminin dengeli translokasyonlu olgularda;

1. a-CGH yönteminin bu olgulardaki tanısal değeri,
2. Translokasyon meydana gelen kromozomların kırılma bölgelerinde fonksiyonel gen/genlerin etkilenip etkilenmediğinin ortaya konması amaçlandı. Bu amaçla sınırlı sayıda da olsa farklı yaş ve klinik bulgulara sahip toplam 8 olguya ait sitogenetik ve a-CGH profilleri sonuçlandırıldı ve değerlendirildi.

Sonuç olarak;

3. a-CGH yönteminin özellikle dengeli translokasyonu olan olguların kesin tanımlarında yetersiz olduğu,
4. Analiz edilen mevcut olgularda kromozom kırılma bölgelerinde etkilenmiş ve literatürde tanımlanmış genler olmasına karşın, tamamının klinikte patojenite etkisi olmayan non-fonksiyonel genler oldukları, sitogenetikte tanımlanamamış bir ve/veya birden fazla farklı kromozomlarında beklenmedik mikrolelesyon ve duplikasyonlar oldukları,
5. Mutasyon(mikrolelesyon, duplikasyon) saptanan genlerin olgularda var olan klinik bulgulara katkı verip vermediklerinin ortaya konması için çok sayıda dengeli translokasyon kromozom sahibi olguların dahil edildiği ileri düzeyde ve kapsamlı bir araştırmaya ihtiyaç olduğu,

6. Dengeli transloke olguların kesin tanıları için kromozom, karyotip ve karyogram analizlerinin yeni geliştirilen tekniklerle kıyaslandıklarında(a-CGH, NGS ve diğer) kesin tanı için altın standart olduğu,
7. Bu olgularda kromozom analizi yanı sıra özellikle translokasyona uğramış kromozomlarda varsa etkilenmiş fonksiyonel genlerin doğru analizi için a-CGH gibi ileri tekniklerle birlikte uygulanmasının olguların kesin ve doğru tanı almaları için daha yararlı olacağı önerilmiştir.



7. KAYNAKLAR

- Ausio J. The shades of gray of the chromatin fiber. Recent literature provides new insights into the structure of chromatin. *Bioessays* 37(1):46-51. 2015.
- Ballarati L, Recalcati MP, Bedeschi MF, Lalatta F, Valtorta C, Bellini M, Finelli P, Larizza L, Giardino D. Cytogenetic, FISH and array-CGH characterization of a complex chromosomal rearrangement carried by a mentally and language impaired patient. *Eur J Med Genet.* Jul-Aug;52(4):218-23. 2009.
- Baptista J, Prigmore E, Gribble SM, Jacobs PA, Carter NP, Crolla JA. Molecular cytogenetic analyses of breakpoints in apparently balanced reciprocal translocations carried by phenotypically normal individuals. *Eur J Hum Genet.* Nov;13(11):1205-12. 2005.
- Bi X. Heterochromatin structure: lessons from the budding yeast. *IUBMB Life* 66(10):657-666. 2014.
- Cantani A, Gagliosi D. Rubinstein-Taybi syndrome. Review of 732 cases and analysis of the typical traits. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2: 81-87. 1998.
- Cheung SW, Shaw CA, Yu W. Development and validation of a CGH microarray for clinical cytogenetic diagnosis. *Genet Med.*7(6): 422-432. 2005. Erratum in *Genet Med.*7(7):478. 2005
- Ciccione R, Giorda R, Gregato G, Guerrini R, Giglio S, Carozzo R, Bonaglia MC, Priolo E, Lagana C, Tenconi R, Rocchi M, Pramparo T, Zuffardi O, Rossi E. Reciprocal Translocations. A Trap For Cytogenetists? *Hum Genet.*117:571-82. 2005.
- Coulter ME, Miller, DT, Harris, DJ. Chromosomal microarray testing influences medical management. *Genet Med* 13, 770-776. 2011.
- Data summarized from Hsu LYF. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In Milunsky A, editor. *Genetic disorders and the fetus*, ed 4, Baltimore, Johns Hopkins University Press, pp 179-248. 1998.
- Davis T, Tivey HSE, Kipling D. Telomere Dynamics and Biology in Human Progeroid Syndromes. In Mancini L. *Telomeres: Function, Shortening and Lengthening*, 1st ed, New York, Nova Science, p.1-75. 2009.
- Della MM, Lonardo F, Faravelli F, Pierluigi M, Luquetti DV, De GM, Zuffardi O, Scarano G. A case of autism with an interstitial 1q deletion (1q23.3-24.2) and a de novo translocation of chromosomes 1q and 5q. *Am J Med Genet A.* Nov 15;143A(22):2733-7. 2007.
- Ferguson-Smith MA. History and evolution of cytogenetics. *Mol Cytogenet* 20;8:19, 2015.

- Fiorentino F, Caiazzo F, Napolitano S, Spizzichino L, Bono S, Sessa M, Nuccitelli A, Biricik A, Gordon A, Rizzo G, Baldi M. Introducing array comparative genomic hybridization into routine prenatal diagnosis practice. A prospective study on over 1000 consecutive clinical cases. *Prenat Diagn. Dec*;31(13):1270-82. 2011.
- Friedman JM, Baross A, Delaney AD, Ally A, Arbour L, Armstrong L, Asano J, Bailey DK, Barber S, Birch P, Brown-JohnM, Cao M, Chan S, Charest DL, Farnoud N, Fernandes N, Flibotte S, Go A, Gibson WT, Holt RA, Jones SJ, Kennedy GC, Krzywinski M, Langlois S, Li HI, McGillivray BC, Nayar T, Pugh TJ, Rajcan-Separovic E, Schein JE. Oligonucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation. *Am J Hum Genet*, 79:500–513. 2006.
- Gardner RJM, Sutherland R, Shaffer LG. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. Oxford University Press. UK. 2011.
- Gao J, Liu C, Yao F, Hao N, Zhou J, Zhou Q, Zhang L, Liu X, Bian X, Liu J. Array-based comparative genomic hybridization is more informative than conventional karyotyping and fluorescence in situ hybridization in the analysis of first-trimester spontaneous abortion. *Mol Cytogenet*, 5(1):33. 2012.
- Gersen S, Keagle MB. *The Principles of Clinical Cytogenetics*. Humana Press, New York. 3rd ed. 2013.
- Gijsbers AC, Bosch CA, Dauwese JG, Giromus O, Hansson K, Hilhorst-Hofstee Y, Kriek M, van Haeringen A, Bijlsma EK, Bakker E, Breuning MH, Ruivenkamp CA. Additional cryptic CNVs in mentally retarded patients with apparently balanced karyotypes. *Eur J Med Genet*. Sep-Oct;53(5):227-33. 2010.
- Golov AK, Razin SV, Gavrilov AA. Nucleosomal packaging of eukaryotic DNA and regulation of transcription. *Biopolym Cell* 30(6):413-425. 2014.
- Hennekam RCM, Van Den Boogaard MJ, Sibbles BJ, Van Spijker HG. Rubinstein-Taybi Syndrome in the Netherlands. *Am J Med Genet*; 6 (suppl): 17-29. 1990.
- <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/FBN1> son erişim tarihi 06/04/2018.
- <https://www.genome.gov/11508982/chromosome-abnormalities-fact-sheet/#al-5> son erişim tarihi 14/03/2018.
- <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SHOX> son erişim tarihi 26/04/2018.
- <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=21508> son erişim tarihi 09/03/2018.
- Jong K, Marchiori E, Meijer G. Breakpoint identification and smoothing of array comparative genomic hybridization data. *Bioinformatics*; 20(18):3636–3637. 2004.
- Jonhson CF. Broad thumbs and broad great toes with facial abnormalities and mental retardation. *J Pediatr*; 68: 942-951. 1966.

- Kaiser P. Pericentric inversions. Problems and significance for clinical genetics. *Hum Genet.* 68(1):1-47. 1984.
- Karsten RK, Dechassa ML, Lugger K. Nucleosomes as Control Elements for Accessing the Genome. In: Rippe K. *Genome Organization and Function in the Cell Nucleus*, 1st ed, Weinheim, Wiley-VCH, p.55-71. 2012.
- Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST, Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance C. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med*, 13:680–685. 2011.
- Lewin B. Nucleosomes. In *Genes VIII*, 1st ed, United States, Pearson Prentice Hall, p. 571-596. 2004.
- Li G, Zhu P. Structure and organization of chromatin fiber in the nucleus. *FEBS Lett pii.* S0014-5793(15)00281-1, [Epub ahead of print] doi: 10.1016/j.febslet.2015.04.023. 2015.
- Liyanage VRB, Zachariah RM, Delcuve GP, Davie JR, Rastegar M. New developments in chromatin research. An epigenetic perspective. In Simpson NM, Stewart VJ. *New Developments in Chromatin Research*, 1st ed, New York, Nova Science, p. 29-58. 2012.
- Lu X, Shaw CA, Patel A, Li J, Cooper ML, Wells WR, Sullivan CM, Sahoo T, Yatsenko SA, Bacino CA, Stankiewicz P, Ou Z, Chinault AC, Beaudet AL, Lupski JR, Cheung SW, Ward PA. Clinical implementation of chromosomal microarray analysis. Summary of 2513 postnatal cases. *PLoS One*, 2:e327. 2007.
- Maeshima K, Imai R, Tamura S, Nozaki T. Chromatin as dynamic 10-nm fibers. *Chromosoma* 23(3):225-237. 2014.
- Melekos M, Barbalias G, Asbach HW. Rubinstein-Taybi syndrome. *Urology*. 30: 238- 239. 1987.
- Mikhail FM. Chromosomal basis of inheritance. In: Rimoin DL, Pyeritz RE, Korf B. *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics*, 6th ed, Dublin, Elsevier, p. 1-26. 2013.
- Miller OJ, Therman E. *Human Chromosomes*. 4th.Edition. Springer, Verlag -Newyork. 2001.
- Nacheva EP, Grace CD, Bittner M, Ledbetter DH, Jenkins RB, Green AR. Comparative genomic hybridization. A comparison with molecular and cytogenetic analysis. *Cancer Genet Cytogenet.* Jan 15;100 (2):93-105. 1998.
- Newman WG, Hamilton S, Ayres J. Array comparative genomic hybridization for diagnosis of developmental delay. An exploratory cost–consequences analysis. *Clin Genet*; 71(3):254–259. 2007.

- Nussbaum RL, McInnes RR, Wilward HF. Principles of clinical cytogenetics and genomic analysis. In: Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 8th ed, Canada, Elsevier, p. 57-74. 2016.
- OMIM Database <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim> son erişim tarihi 01/02/2018.
- Park SJ, Jung EH, Ryu RS, Kang HW, Chung HD, Kang HY. The clinical application of array CGH for the detection of chromosomal defects in 20,126 unselected newborns. *Mol Cytogenet.* 6:21. 2013.
- Pennigton S. Chromosomal aberrations. In: Introduction to Genetics, 1st ed, Berlin, Wiley-Blackwell, p. 127-142. 2009.
- Rickman L, Fiegler H, Carter NP, Bobrow M: Prenatal diagnosis by array-CGH [review]. *Eur J Med Genet*; 48(3):232–240. 2005.
- Robson MJ, Brown LM, Sharrad WJ. Cervical spondylolisthesis and other skeletal abnormalities in Rubinstein-Taybi syndrome. *J Bone Joint Surg [Br]*. 62: 297-299. 1980.
- Rubinstein JH. Broad thumb-hallux (Rubinstein-Taybi) syndrome 1957-1988. *Am J Med Genet*; 6 (suppl): 3-16. 1990.
- Schluth-Bolard C, Delobel B, Sanlaville D, Boute O, Cuisset JM, Sukno S, Labalme A, Duban-Bedu B, Plessis G, Jaillard S, Dubourg C, Henry C, Lucas J, Odent S, Pasquier L, Copin H, Latour P, Cordier MP, Nadeau G, Till M, Edery P, Andrieux J. Cryptic genomic imbalances in de novo and inherited apparently balanced chromosomal rearrangements. Array CGH study of 47 unrelated cases. *Eur J Med Genet.* Sep-Oct;52(5):291-6. 2009.
- Sener RN. Rubinstein-Taybi syndrome. Cranial MR imaging findings. *Comput Med Imaging Graph*; 19: 417-418. 1995.
- Sismani C, Kitsiou-Tzeli S, Ioannides M, Christodoulou C, Anastasiadou V, Stylianidou G, Papadopoulou E, Kanavakis E, Kosmaidou-Aravidou Z, Patsalis PC. Cryptic genomic imbalances in patients with de novo or familial apparently balanced translocations and abnormal phenotype. *Mol Cytogenet.* Jul 21;1:15. 2008.
- Smardova J, Smarda J. Clinical sequelae of mutation of the CBP gene. *Cas Lek Cesk*; 138: 739-743. 1999.
- Stankiewicz P, Lupski JR. Genome architecture, rearrangements and genomic disorders. *Trends Genet*;18(2):74–82. 2002.
- Stevens CA, Bhakta MG. Cardiac abnormalities in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet*; 59: 346-348. 1995.
- Stimpson KM, Sullivan BA. Epigenomics of centromere assembly and function. *Curr Opin Cell Biol* 22(6):772-780. 2010.

- Stjernqvist S, Ryden T, Skold M, Staaf J. Continuous-index hidden Markov modelling of array CGH copy number data. *Bioinformatics*;23(8):1006–1014. 2007.
- Sünnetçi D. Zeka Geriliğine Neden Olan Delesyon ve Duplikasyonların Tam Genom Mikroarray Metoduyla Belirlenmesi. KOÜ Tıbbi Genetik YL Programı. 2010.
- Syrmou A, Tzetis M, Fryssira H, Kosma K, Oikonomakis V, Giannikou K, Makrythanasis P, Kitsiou-Tzeli S, Kanavakis E. Array comparative genomic hybridization as a clinical diagnostic tool in syndromic and nonsyndromic congenital heart disease. *Pediatr Res*, 73:772–776. 2013.
- Thompson&Thompson *Genetics In Medicine*. 2016. 8th Edition. P. 48,55,64,69.
- Theisen A. Microarray-based comparative genomic hybridization (aCGH). *Nature Education*; 1(1). 2008.
- Vaz N, Shyama SK. Numerical Chromosomal Abnormalities in the Malformed Newborns of Goa. *Int J Hum Genet*. 5(4): 237–240. 2005.
- Veltman JA, Brunner HG. Understanding variable expressivity in microdeletion syndromes. *Nat Genet*. Mar;42(3):192-3. 2010.
- Vissers LE, Stankiewicz P. Microdeletion and microduplication syndromes. *Methods Mol Biol*. 838:29-75. 2012.
- Vissers, L.E, De Vries, B.B, Osoegawa K. Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 73, 1261–1270. 2003.
- Ward RE, Jamison PL, Allanson JE. Quantitative approach to identifying abnormal variation in the human face exemplified by a study of 278 individuals with five craniofacial syndromes. *Am J Med Genet*; 91: 8-17. 2000.
- Wenger SL, Steele MW, Boone LY, Lenkey SG, Cummins JH, Chen XQ. “Balanced” karyotypes in six abnormal offspring of balanced reciprocal translocation normal carrier parents. *Am J Med Genet*, 55: 47–52. 1995.
- Wong A, Lese Martin C, Heretis K. Detection and calibration of microdeletions and microduplications by array-based comparative genomic hybridization and its applicability to clinical genetic testing. *Genet Med*;7(4):264–271. 2005.
- Xiang B, Li A, Valentin D, Nowak NJ, Zhao H, Li P. Analytical and clinical validity of wholegenome oligonucleotide array comparative genomic hybridization for pediatric patients with mental retardation and developmental delay. *Am. J. Med. Genet. A* 146A:1942–54. 2008.
- Yunis JJ. High resolution of human chromosomes. *Science*. 191: 1268– 1270. 1976.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Damla	Soyadı	KARAAĞAÇLI
Doğum Yeri	Edirne/Keşan	Doğum Tarihi	01.05.1991
Uyruğu	T.C	TC Kimlik No	25720636360
E-mail	damla_karaagaclicli@hotmail.com	Tel	+90 5437189036

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	2018
Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2014

A-Laboratuvar Deneyimi

Kandan ve amniyon sıvısından DNA izolasyonu, PCR uygulamaları, Nanodrop ile DNA- nükleik asit ve proteinlerin miktar ve kalite ölçümü, GTG Bantlama, Kromozom analizi, FISH ve tez çalışmasında deneyimlenen a-CGH tekniği.

B-Uluslararası Bildirileri

KILIC Sevilay, OZDEMIR Oztürk, SILAN Fatma, ISIK Selda, YILDIZ Onur, **KARAAGACLI Damla**, SILAN Coşkun, OGRET MEN Zerrin. The possible association between germ-line Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and psoriasis risk in Turkish population. Clinical and Experimental Dermatology. CED-2015-0982.R1. Experimental Original Article. 02-Nov-2015

C-Ulusal Sözlü Bildirileri

Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016 Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları Kongresi /
Kayseri

Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016, 29-30 Nisan

D-Katıldığı Ulusal Kongreler

Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016

Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016 Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları Kongresi

E- Sertifikalar

ISO 9001 Kalite Yönetim Sistemi İç Denetçi Katılım Sertifikası-KGS
Danışmanlık, 2011.

Türkiye Biyologlar Platformu İş İstihdam Kariyer Buluşması Eğitim Sertifikası-TSC
Yönetim Sistemleri Akademisi, 2014.

Uluslararası Yönetim Sistemleri Eğitim Sertifikası – TSC Yönetim Sistemleri
Akademisi, 2014.

9. EKLER

EK 1:

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı :18920478-050.01.04/E.20642
Konu :Başvuru İncelemesi

24.02.2016

Sayın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Translokasyon ve Diğer Yapısal Kromozom Aberasyonu Saptanan Olgularda Kromozom Kırılma Bölgelerinin MicroArray ile İleri Analizi" başlıklı 2011-KAEK-27/2016-E.11384 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 17/02/2016 tarih ve 03-11 nolu karar aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi :17.02.2016 14:00
Karar No :2016-03

Karar-19)2011-KAEK-27/2016-E.11384 no'lu araştırma ile ilgili olarak, Proje yürütücüsü Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'in çalışması ile ilgili raporünün hazırladığı değerlendirilmenin okunması sonrasında yapılan oylamada "ETİK KURUL ONAYINI ALIR." karar verilmiştir.(Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR projede yer aldığından dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)

 e-imzalıdır

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR
Başkan



24.02.2016 Sekreter : Faize OTURAN

Not: 5070 sayılı elektronik imza kanununa göre; bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Bilgi için: Faize OTURAN
Sekreter

EK 2:**SPIRALLİ TEZ KONTROL FORMU**

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	✓	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	✓	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	✓	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	✓	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	✓	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	✓	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	✓	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	✓	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	✓	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	✓	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	✓	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	✓	

Tarih: 05/07/2018 Öğrenci Damla KARAAĞAÇLI 	Tarih: 05/07/2018 Danışman Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR 
---	---

EK 3:**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİLTİ TEZ YAZIM KONTROL
LİSTESİ**

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Kapak sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Onay sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Teşekkür sayfası	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Türkçe özet	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
İngilizce özet	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Şekiller dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tablolar dizini	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Yöntem ve Gereç	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Bulgular	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tartışma	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Sonuç ve Öneriler	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tez planı	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Kâğıt ve baskı özelliği	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN	<input checked="" type="checkbox"/> UYGUN
Tarih: 05/07/2018 Öğrenci Damla KARAAĞAÇLI	Tarih: 05/07/2018 Danışman Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	