



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

**İNTRAKRANİYAL ANEVİZMALARDA KOPYA SAYISI
VARYASYONLARININ ARRAY-CGH YÖNTEMİ İLE
İNCELENMESİ**

BETÜL KILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
PROF.DR. SEVİLHAN ARTAN**

Eskişehir

2021



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

**İNTRAKRANİYAL ANEVİZMALARDA KOPYA SAYISI
VARYASYONLARININ ARRAY-CGH YÖNTEMİ İLE
İNCELENMESİ**

BETÜL KILIÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
PROF.DR. SEVİLHAN ARTAN

Eskişehir

2021

ÖZET

İNTRAKRANİYAL ANEVİZMALARDA KOPYA SAYISI VARYASYONLARININ ARRAY-CGH YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

İntrakraniyal anevrizmalar (İA); beyindeki intrakraniyal arter duvarının bir defekt, hastalık veya hasara bağlı olarak geri dönüşümsüz anormal fokal dilatasyonudur. Birçok genetik ve çevresel risk faktörlerinden kaynaklanan sebepler nedeniyle toplumun %2-5'ini etkileyen IA'lar, travmatik olmayan subaraknoid kanamaların (SAK) yaklaşık %80-85'inden sorumludur. Sigara, alkol kullanımı, hipertansiyon, diyabet gibi risk faktörlerinin yanı sıra tek yumurta ikizleri, ailesel genetik analizler ve popülasyon temelli genetik epidemiyoloji çalışmaları, genetik faktörlerin SAK ve IA patogenezinde oldukça önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar; ailesel IA olguları nedeniyle genetik yatkınlığın araştırılması yönündedir. Hastalık başlangıç yaşının ailesel IA' da daha erken olduğu, anevrizma rüptürüne bağlı SAK olasılıklarının ise toplumdan 7 kat daha fazla olduğu çalışmalarla ortaya konmuştur. Ailesel olarak görülmeleri IA'ların ve rüptür gelişiminin genetik faktörlerden etkilenebileceğini göstermektedir. Yapılan çalışmalar IA'nın multigenik olduğu yönündeki kanıtları destekler niteliktedir. Günümüzde IA'nın tedavisinde en önemli zorluk anevrizmanın rüptürüdür. İntrakraniyal anevrizma rüptürü sonrası gelişen SAK morbidite ve mortalitesi oldukça yüksek bir durumdur. Bu nedenle anevrizmaların oluşumu ve rüptür riski ile ilişkili biyobelirteçlerin belirlenmesi moleküler patolojinin anlaşılması ve tedavi açısından büyük öneme sahiptir. Çalışmalarda rüptüre olan ve olmayan IA hastalarında kopya sayısı değişiklikleri (KSD) saptanmış ve KSD' ler ile SAK riski arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ancak bu konuda veriler yetersiz kalmaktadır.

Çalışmamızda; rüptüre olan ve rüptüre olmayan IA' lı hastalarda mikrodizin yöntemi ile KSD' lerin belirlenmesi, tespit edilen KSD' ler ile SAK arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda yirmi dört rüptüre ve yirmi dört unrüptüre olmak üzere toplamda kırk sekiz IA' lı hasta ve confirmasyon amacıyla IA öyküsü bulunmayan, sağlıklı 8 kontrol olgusu çalışmamıza dahil edilmiş olup, hastaların kan örneklerinden izole edilen DNA örneklerinden mikrodizin yöntemi ile KSD' ler analiz edilmiştir.

Çalışmamız sonucunda kanamış ve kanamamış olmak üzere tüm olgularımızda toplamda yüz otuz bir KSD saptanmıştır. Saptanan KSD' lerden birden fazla olguda

ortak olarak saptananlar değerlendirmeye alınmıştır. Kanamış İA' lı olgularda birden fazla olguda saptanan KSD' ler; MSX1, SHH, GNAS, PPP2R3B ve TWIST1 genlerini içeren kromozomal lokusta kazanç ve GDI1 genini içeren kromozomal lokusta kaybı içermektedir. Kanamamış İA' lı olgularda birden fazla olguda saptanan KSD' ler; MSX1, SHH, GNAS genlerini içeren kromozomal lokusta kazanç, GDI1 ve NR2F2 genlerini içeren kromozomal lokusta kaybı içermektedir. Saptanan KSD bölgelerinin içerdikleri genler; DECIPHER, OMIM, DGV ve PubMed veritabanları kullanılarak incelenmiş ve İA ile doğrudan ilişkileri kurulamamış ancak literatür ile uyumlu lokuslar saptanmıştır. Ayrıca literatür verileri ile TWIST1 geni ve H19 polimorfik varyantının İA patogenezinde ilişkisi olabileceği saptanmıştır. İA patogenezinin anlaşılması için daha fazla veriye ve dolayısıyla olgu sayısı daha fazla olan yeni çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: İnttrakraniyal Anevrizma, KSD, SAK, Mikrodizin

SUMMARY

ANALYSIS OF COPY NUMBER VARIATIONS IN INTRACRANIAL ANEURISMS USING THE ARRAY-CGH METHOD

Intracranial aneurysms (IA) are irreversible abnormal focal dilatation of the intracranial artery wall in the brain due to a defect, disease or damage. IAs that affect 2-5% of population due to reasons arising from many genetic and environmental risk factors, are responsible for approximately 80-85% of non-traumatic subarachnoid hemorrhages (SAH). In addition to risk factors such as smoking, alcohol use, hypertension, and diabetes, identical twins, familial genetic analyzes and population-based genetic epidemiology studies show that genetic factors play a very important role in the pathogenesis of SAH and IA. Studies conducted to date have been directed to the investigation of genetic predisposition due to familial IA cases. Studies have shown that the age of disease onset is earlier in familial IA, and the probability of SAH due to aneurysm rupture is 7 times higher than that of the population. Their familial appearance indicates that IAs and rupture development can be affected by genetic factors. Studies conducted support the evidence that IA is multigenic. Today, the most important risk in the treatment of IA is rupture of the aneurysm. SAH that develops after IA rupture is a situation with high morbidity and mortality. Therefore, determining the biomarkers associated with the formation of aneurysms and the risk of rupture is of great importance in terms of understanding molecular pathology and treatment. For these reasons, every study on this subject gains value. Clarification of genetic factors will lead to the determination of treatment strategies targeting pathophysiological processes, and risk assessments of presymptomatic individuals in the family can also be made. In the studies, copy number differences (CSD) were determined in IA patients with and without rupture and the relationship between CSDs and SAH risk was investigated. However, data on this subject are still insufficient.

In our study; it was aimed to determine the CNVs in patients with ruptured and unruptured IA by microarray method, and to evaluate the relationship between detected CNVs and SAH clinics. Accordingly, a total of 48 IA patients including 24 ruptured and 24 unruptured, and 8 healthy control individuals without a history of IA

for evaluation of detected CNVs were included into the study, and CNVs were analyzed by microarray method from DNA samples isolated from the blood samples of the patients and controls.

As a result of our study, a total of 131 CNVs was detected in all ruptured and unruptured IA cases. The CNVs detected in more than a case were taken into consideration. The gains in the MSX1, SHH, GNAS, PPP2R3B and TWIST1 genes were revealed in the patients with SAH whereas only the GDI1 gene deletion was seen in this group. CNVs detected in more than one case in patients with non-bleeding IA include gain in chromosomal loci containing MSX1, SHH and GNAS genes, and loss in loci containing GDI1 and NR2F2 genes.

The genes localized on the detected CNV regions were examined using the DECIPHER, OMIM, DGV and PubMed databases. Although the detected variants could not be directly related to IA, but loci were found in accordance with the literature. Literature data indicate that TWIST1 gene and H19 polymorphic variant may be related in IA pathogenesis, and our findings are consistent with the literature. It was concluded that more data and thus new studies with more cases are needed to understand the pathogenesis of IA.

Key Words: Intracranial aneurysms, CNV, SAH, Microarray

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLO DİZİ.....	ix
ŞEKİL DİZİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İNTRAKRANİYAL ANEVİZİMLER.....	4
2.1.1. Tanım ve tarihçe	4
2.1.2. Sınıflandırma	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	7
2.1.4. Histopatoloji ve fizyopatoloji	8
2.1.5. Subaraknoid kanama (SAK).....	9
2.1.5.1. SAK risk faktörleri	10
2.1.5.2. SAK kliniği	11
2.1.6. Tanı	12
2.1.7. Tedavi.....	14
2.1.7.1. Cerrahi tedavi	14
2.1.7.2. Endovasküler tedavi.....	14
2.2. KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİ (COPY NUMBER VARIATIONS = CNV)	15
2.2.1. Oluşum mekanizmaları	18
2.2.1.1. NAHR (Nonallelic Homolog Recombination)	19
2.2.1.2. NHEJ (Non-homolog End Joining Mechanism)	19
2.2.1.3. FoSTeS (Fork Stalling and Template Switching)	20
2.2.2. KSD' ler ve klinik	21
2.2.3. KSD' lerin yorumlanması	22
2.2.4. Mikrodizin teknolojisi	24
2.2.4.1. Array-CGH (array-Comparative Genomic Hybridization, aCGH) ...	25
2.2.4.1.1. Array-CGH tekniği	25
2.2.4.1.2. Array-CGH prensibi	26
2.2.4.1.3. a-CGH avantaj ve dezavantajları	27
2.2.4.1.4. SNP-Array (Single Nucleotide Polymorphism Array)	28

2.2.4.1.5. a-CGH ve SNP-Array karşılaştırılması	28
2.2.5. İntrakraniyal anevrizmalarda KSD.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. HASTA GRUBU	31
3.2. GEREÇLER.....	32
3.2.1. Kullanılan aletler.....	32
3.2.2. Kullanılan kimyasal malzemeler	32
3.3. YÖNTEM.....	33
3.3.1. DNA izolasyonu.....	33
3.3.2. Genomik DNA' nın analizi.....	34
3.3.3. Genomik DNA' nın enzimatik etiketleme kiti ile restriksiyon kesimi	34
3.3.4. Genomik DNA' nın floresan işaretlenmesi	35
3.3.5. Etiketlenmiş genomik DNA' nın temizlenmesi	36
3.3.6. Ürün miktarı ve spesifik aktivite hesaplanması	37
3.3.7. Etiketlenmiş genomik DNA' nın hibridizasyona hazırlanması.....	37
3.3.8. Mikroarray hibridizasyonu	38
3.3.9. Hibridizasyon sonrası yıkama.....	39
3.3.10. MikroArray taratılması.....	40
3.3.11. Verilerin analizi.....	40
3.3.12. KSD' lerin değerlendirilmesi	41
3.3.13. İstatistiksel analiz	42
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA.....	59
5.1. SAPTANAN KSD' LER.....	60
5.2. SAPTANAN POLİMORFİK VARYANTLAR.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	72
KAYNAKLAR DİZİNİ	73
ÖZGEÇMİŞ	82

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1. KSD' lerin Genotip Spektrumu ve İlişkili Fenotipler	18
Tablo 2.2. KSD' lerin Klinik Değerlendirmesi	22
Tablo 3.1. Restriksiyon Kesim Karışımı Hazırlanması	35
Tablo 3.2. Restriksiyon PCR Programı.....	35
Tablo 3.3. Denatürasyon-Fragmantasyon PCR Programı.....	35
Tablo 3.4. Floresan İşaretleme Karışımı Hazırlanması	36
Tablo 3.5. DNA Etiketlenmesi PCR Programı.....	36
Tablo 3.6. Hibridizasyon Karışımı Hazırlanması.....	38
Tablo 3.7. Hibridizasyon PCR Programı	38
Tablo 4.1. Çalışmamıza Dahil Edilen Hastaların Demografik ve Klinik Verileri....	44
Tablo 4.2. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularının Yaş ve Cinsiyet Bilgileri.....	46
Tablo 4.3. Kanamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Saptanan KSD' ler.....	47
Tablo 4.4. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Saptanan KSD' ler...	48
Tablo 4.5. Kanamış ve Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Ortak Saptanan KSD' ler.....	50
Tablo 4.6. Kanamış İntrakraniyal Anevrizmalı En Az 2 Olguda Saptanmış Polimorfik Varyantlar.....	53
Tablo 4.7. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı En Az 2 Olguda Saptanmış Polimorfik Varyantlar	54
Tablo 4.8. Kanamış ve Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Ortak Saptanan Polimorfik Varyantlar	54
Tablo 4.9. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularında Saptanan KSD' ler.....	57
Tablo 4.10. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularında Saptanan Polimorfik Varyantlar.....	58
Tablo 5.1. Kanamış İntrakraniyal Anevrizmalı Çalışma Grubumuzda Birden Fazla Saptanan KSD' ler.....	61

Tablo 5.2. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Çalışma Grubumuzda Birden Fazla Saptanan KSD' ler.....	62
Tablo 5.3. Olgularımızda DGV Veritabanı Verileri İle Örtüştüğü Saptanan KSD Bölgelerinin İçerdiği OMIM Genleri.....	67
Tablo 5.4. Choi ve Arkadaşlarının Çalışma Sonuçları İle Bizim Çalışma Sonuçlarımızın Karşılaştırılması	69



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 2.1. İntrakraniyal Anevrizmanın Görüntüleme Teknikleriyle Değerlendirilmesi.....	13
Şekil 2.2. KSD Sayısının Yıllar İçerisindeki Değişimi	15
Şekil 2.3. Tanımlanan KSD' lerin Boyut Dağılımı	16
Şekil 2.4. Non-allelık Homolog Rekombinasyon (NAHR)	19
Şekil 2.5. Non-homolog Birleştirme (NHEJ)	20
Şekil 2.6. Replikasyon Çatalının Arızalanması ve Kalıbın Ayrılması.....	21
Şekil 2.7. a-CGH Prensibi	27
Şekil 3.1. Mikroarray Slaytın Contalı Lam Üzerine Yerleştirilmesi	39
Şekil 3.2. Hibridizasyon Fırınına Yerleştirilmeden Önce Hibridizasyon Haznesinin Sıkıştırılması	39
Şekil 3.3. Slaytı Lam Tutucusuna Yerleştirme	40
Şekil 4.1. Çalışma Grubumuzdaki Bireylerin Yaş Dağılım Grafiği	46
Şekil 4.2. Olgu 13' te Saptanan 4p16.2 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	50
Şekil 4.3. Olgu 27' de Saptanan 7p21.1 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	51
Şekil 4.4. Olgu 14' te Saptanan 7q36.3 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	51
Şekil 4.5. Olgu 24' te Saptanan 20q13.32 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	51
Şekil 4.6. Olgu 15' de Saptanan Xq28 Lokusunda Kayıp Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	52
Şekil 4.7. Olgu 44' te Saptanan Xp22.33 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	52
Şekil 4.8. Olgu 35' de Saptanan Yp11.32 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü	52

Şekil 4.9. Olgu 21' de Saptanan 11p15.5 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP- Array Görüntüsü	56
Şekil 4.10. Olgu 7' de Saptanan 4p16.2 Lokusunun DGV Veritabanı Görüntüsü ...	57



SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

a-CGH	: Array Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
BTA	: Çok Kesitli Bilgisayarlı Tomografik Anjiyografi
CTA	: Bilgisayarlı Tomografik Anjiyografi
cDNA	: Komplementer DNA
Cy-3	: Cyanine -3
Cy-5	: Cyanine- 5
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSA	: Dijital Substraksiyon Amjiyografi
DECIPHER	: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources
FISH	: Floresan İn Situ Hibridizasyon
FOSTES	: Replikasyon çatalının arızalanması ve kalıbın ayrılması
gDNA	: Genomik DNA
İA	: İntrakraniyal Anevrizma
KSD	: Kopya Sayısı Değişimleri
LCR	: Düşük kopya tekrarı.
LINE	: Uzun Serpiştirilmiş Nükleer Element
mRNA	: Mesajcı RNA
MLPA	: Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu
MRA	: Manyetik Rezonans Anjiyografisi
NAHR	: Non-allelük Homolog Rekombinasyon
NHEJ	: Non-homolog Rekombinasyon
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonları
RNA	: Ribonükleik Asit

SAK : Subaraknoid Kanama
SNP : Tek Nükleotid Polimorfizm
VUS : Klinik Önemi Belirsiz Varyant



1. GİRİŞ VE AMAÇ

İntrakraniyal anevrizmalar (İA); arter duvarının anormal fokal dilatasyonudur ve arter duvarında internal elastik lamina tabakasındaki kollajen fiberlerin dejenerasyonu ve zayıflaması sonucu meydana gelmektedir. Genel toplumun %3-5'ini etkilemektedir (Vlak vd., 2011). Anevrizmalar en sık serebral arterlerin bifurkasyon bölgelerinde gelişmektedir. Bir arter duvarının histolojik kesitinde içten dışa doğru sırasıyla endotelyal tabaka, intima, internal elastik lamina, arter duvarının bütünlüğünü sağlayan media tabakası ve bunun dışında da adventisya tabakası bulunur. İntrakraniyal damarlarda eksternal elastik lamina bulunmazken anevrizma kesesinde ise internal elastik lamina azalmış ve kaybolmuş, media tabakası ise bulunmamaktadır. Morfolojilerine göre sakküler ve sakküler olmayan olarak ikiye ayrılan İA'ların %90-95'i sakkülerdir. Yapılan birçok çalışmada prevalansı %0,5-6 arasında belirlenen İA'ların gelişiminde hem kalıtsal hem de çevresel faktörler, sigara, alkol kullanımı, yaş, cinsiyet, hipertansiyon, diyabet, özgeçmişte subaraknoid kanama varlığı ve etnisite gibi birçok risk faktörünü tetiklemektedir (Feigin vd., 2005).

Subaraknoid kanama bir arter veya venin yırtılması sonucu kanın doğrudan subaraknoid boşluğa geçmesidir ve anevrizma nedeni ile ortaya çıktığından çoğu anevrizmanın farkedilme sebebidir. Hemodinamik kuvvetler ve anevrizma duvarındaki tensil stresler anevrizma oluşumu ve rüptür gelişiminde önemlidir. Anevrizmanın hacimleri ve boyutları rüptür riskini etkileyen en önemli faktörlerdir. Çapı 7 mm ve üstündeki anevrizmaların yıllık rüptür riski %2,5 iken daha küçük anevrizmalarda bu oran yaklaşık %1' dir (Edlow vd., 2008). Tıp ve nöroşirürji alanındaki tüm gelişmelere rağmen SAK olgularında %40-50 oranında bireyler kaybedilir. Olguların %10-20' sinde çoğunlukla felç gözlenmekte olup tedavi aracılığıyla tüm vakaların yaklaşık %40' ında iyileşme gözlenmektedir (Juvela vd., 2001).

İntrakraniyal anevrizma genetiği hakkındaki bilgilerimizin sınırlı olmasına rağmen genetik faktörlerin SAK ve İA patogeneğinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Bu sonuca tek yumurta ikizleri, ailesel genetik analizler ve popülasyon temelli genetik epidemiyoloji çalışmaları ile ulaşılmıştır (Zhang & Claterbuck, 2008). Ailesel genetik çalışmalar; aile öyküsünde İA tanısı alan bireylerin olduğu

vakalarda hastalığın daha erken yaşlarda geliştiğini ve SAK gelişme olasılığının genel popülasyona göre 7 kat daha artmış olduğunu ortaya koymuştur (Okamoto vd., 2003). Bu bilgiler ve çeşitli kalıtsal hastalıklar ile olan ilişkileri İA gelişiminde genetik faktörlerin rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Tip IV Ehlers-Danlos Sendromu, Klinefelter Sendromu, Noonan Sendromu gibi birçok sendromik hastalığın anevrizmaya neden olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra yapılan birçok çalışmada anevrizma gelişimi üstünde etkisi olan mutasyonlar ve risk faktörleri tanımlanmıştır. Bu kalıtsal risk faktörlerinden bazıları otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, psödoxanthoma elasticum, kalıtsal hemorajik telenjektazi, tip I nörofibromatozis, aort koarktasyonu, fibromusküler displazi, feokramositomadır. Ayrıca tek nükleotid varyantlarının yanı sıra kopya sayısı değişikliklerinin de anevrizma gelişiminde etkili olabileceği düşünülmektedir (Balik vd., 2015).

DNA' da 1 Kb' dan daha büyük delesyon ve duplikasyonlar yapısal kopya sayısı değişiklikleri (KSD) olarak tanımlanmaktadır. Bu varyantlar 1 Kb' dan onlarca MB' a kadar değişen büyüklüklerde olabilir ve tüm genomda dağılmış halde bulunarak bireyler arasındaki farklılıklara neden olmaktadır. Bu yapısal varyantların genomdaki lokalizasyonları, boyutları, gen içerikleri fenotipe yansımaları açısından çeşitlilik göstermektedirler. Bazı varyantlar benign nitelikte olabilirken, bazıları patojenik olabilirler (Battaloğlu & Başak, 2010). Bu bilgiler doğrultusunda son yıllarda İA' lı hastalarda KSD' lerin saptanmasına yönelik araştırmalar literatürde yer almaktadır. Yapılan çalışmalar, KSD' lerin SAK riski ile ilişkili olabileceğini destekler niteliktedir. Multiple genetik ve çevresel risk faktörlerinin bir arada rol alması nedeniyle SAK hala klinisyen ve araştırmacıların anlamak için mücadele ettiği bir konudur. Ancak yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olması ve örneklem gruplarının yetersizliği SAK ile KSD ilişkisinin net olarak ortaya konmasını engellemektedir. Oysa, İA' ların moleküler patolojisinin anlaşılması, rüptüre olan ve olmayan vakalar arasındaki varsa genetik farklılıkların belirlenmesi hem klinisyen yönlendirilmesi hem de daha etkin tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine ışık tutacaktır.

Yukarıda belirtilen gereklilikler doğrultusunda, çalışmamızın araştırma sorusu "Rüptüre olan ve olmayan intrakraniyal anevrizma patolojisinde tüm genom genelinde KSD farklılıkları var mıdır?" şeklindedir. Bu doğrultuda bu çalışmada, İA

tanısı alan olgularda, hastalıkla ilişkisi olabileceği bildirilen kopya sayısı varyantlarının mikrodizin yöntemi ile incelenerek olası varyantların belirlenmesi ve olgularda saptanan genetik değişikliklerin anevrizma rüptürüne etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Rüptüre İA' lı yirmi dört hasta ve rüptüre olmayan İA' lı yirmi dört hasta birey ve konfirmasyon amacı ile ailesinde ve kendisinde İA öyküsü bulunmayan, sağlıklı 8 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bu çalışmanın verileri; tespit edilen lokuslardaki genlerin anevrizma gelişimi ve rüptür üzerindeki etkilerini tanımlayabilme potansiyelindedir. Ayrıca, genetik faktörlerin aydınlatılması, patofizyolojik süreçleri hedef alan tedavi stratejilerin belirlenmesine de öncülük etme potansiyeli bulunmaktadır. Aynı zamanda ileride literatürde ortak bir birlikteliğin sağlanmasıyla beraber ailede presemptomatik bireylerin risk değerlendirmeleri de yapılabilecektir. Bu çalışmanın İA aday genlerinin belirlenmesine katkıda bulunacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İntrakraniyal Anevrizmalar

2.1.1. Tanım ve tarihçe

Anevrizma, eski Yunanca'da "genişleme" anlamında kullanılan "aneurusma" kelimesinden köken almaktadır. Bir kan damarının duvarının; hastalık, defekt veya hasara bağlı geri dönüşümsüz anormal fokal dilatasyonu olarak tanımlanır. İntrakraniyal anevrizmalar; arter duvarında internal elastik lamina tabakasındaki kollajen fiberlerin dejenerasyonu ve zayıflaması sonucu meydana gelen genişlemelerdir. En sık serebral arterlerin bifurkasyon bölgelerinde gelişirler. Anevrizmalar çoğunlukla beyin tabanına yerleşerek burada bulunan beyin omurilik sıvısı içerisinde kanamaya sebep olurlar. Anevrizmaların farkedilmesi genellikle sebep olduğu SAK ile gerçekleşir. Anevrizma sebebiyle bir arter veya venin yırtılması sonucu kanın doğrudan subaraknoid boşluğa geçmesi SAK olarak tanımlanır.

İntrakraniyal anevrizmaların SAK sebebi olabileceği 1725 yılında Morgagni'nin her iki posterior serebral arterde insidental dilatasyonları tanımlamasıyla ilk kez düşünülmüştür. Buna göre muhtemelen Morgagni İA' ların tanımını yapan ilk bilim insanıdır. Bununla beraber ilk rüptüre olmamış İA raporu, 1765 yılında Francesco Biumi tarafından verilirken ilk rüptüre İA raporu da 1814 yılında Blackall tarafından bildirilmiştir (Prestigiacomu, 2006). Bir İA' ya ilk direkt yaklaşım 1932 yılında Norman McComish Dott tarafından tanımlanmıştır.

2.1.2. Sınıflandırma

İntrakraniyal anevrizmaların sınıflandırması morfolojik ve etiyolojik olarak yapılabilir. İntrakraniyal anevrizmalar morfolojik olarak sakküler (berry) ve sakküler olmayan anevrizmalar olarak ayrılmaktadır. Sakküler anevrizmalar; en sık görülen anevrizma tipi olup genellikle arteriyel bifurkasyonlardan köken alırlar. Yuvarlak ve berry tipi oluşumlardır ve damar duvarındaki tabakaların zayıflaması nedeniyle meydana gelen genişlemelerdir yani gerçek anevrizmalardır. İntrakraniyal anevrizmaların %90-95' ini sakküler anevrizmalar oluşturur (Datar, 2019). Sakküler anevrizmalar boyutlarına göre kendi içinde sınıflandırılabilirler. 3 mm' den küçük anevrizmalar baby anevrizma, 3-6 mm arası anevrizmalar küçük anevrizma, 7-10 mm arası orta büyüklükte anevrizma, 11-25 mm arası büyük anevrizma ve 25 mm'

den büyük anevrizmalar dev anevrizma olarak adlandırılmaktadırlar. Anevrizmaların yaklaşık %90' ı küçük boyuttadır. Dev anevrizmalar tüm anevrizmaların yalnızca yaklaşık %5 kadarını oluşturmaktadır (van Gijn vd., 2007).

Sakküler olmayan anevrizmalar; fuziform, dissekan ve serpentin anevrizmalar olarak sınıflandırılmaktadır. Fuziform anevrizmalar iç biçimli anevrizmalardır ve damarın uzun bir bölümünü içeren iç şeklinde bir genişleme olarak görülür. Genellikle vertebrobaziller sistemde oluşan fuziform anevrizmaların gelişme sebepleri damar duvarındaki dejeneratif değişiklikler ve aterosklerozdur. Yaşlı hastalarda görülmekle beraber nadiren rüptüre olurlar (Mackel vd., 2019).

Serpentin anevrizmaların ayrı giriş çıkışları vardır ve irregüler vasküler kanal şeklinde görülürler. Damar duvarındaki tekrarlayan kanamalara sekonder oluştukları düşünülen dev anevrizmalardır. Gerçek duvarları olmadıkları için psödoanevrizmalar olarak kabul edilmektedirler. Anjiyografik olarak serpentin anevrizmaları fuziform anevrizmalardan ayırt etmek zordur. Ancak fuziform anevrizmalardan farklı olarak daha genç yaş grubunda görülürler ve daha nadir gözlenirler (Kandemirli vd., 2018).

Dissekan anevrizmalar, intima ve elastik laminada oluşan bir yırtığa sekonder olarak damar duvarı içinde kan birikmesi sonucu oluşurlar. Bu yırtık sıklıkla adventisya tabakasına ulaşarak subaraknoid kanamaya sebep olur. Görülme sıklığı genç erkek hastalarda daha fazladır. Ayrıca fibromusküler displazi, poliarteritis nodoza, sifiliz ve medial mukoid dejenerasyonun dissekan anevrizma sıklığını arttırdığı düşünülmektedir (Kandemirli vd., 2018).

Anevrizmalar etiyolojilerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.

- a) Dejeneratif anevrizmalar
- b) Aterosklerotik anevrizmalar
- c) Hipertansif anevrizmalar
- d) Embolik anevrizmalar
- e) Arteriyovenöz malformasyona bağlı anevrizmalar
- f) Travmatik anevrizmalar
- g) Mikotik anevrizmalar
- h) Onkotik anevrizmalar
- i) Diğer durumlarla birlikte olanlar (otozomal dominant polikistik böbrek hastalığı, fibromusküler displazi, bağ dokusu hastalıkları, aort koarktasyonu,

bakteriyel endokardit, Osler-Weber- Rendou Sendromu) (Kandemirli vd., 2018).

Anevrizmaların büyük bir kısmının arter duvarındaki edinilmiş dejeneratif değişikliklere sekonder olarak oluştuğu düşünülmektedir. Dejeneratif anevrizmalar; hemodinamik dengesizliklerin oluşturduğu vasküler hasar sonucu meydana gelmektedir. Özellikle de arteriyel bifurkasyonlarda gelişen anormal duvar stresleri anevizma oluşumu ve büyümesi hatta rüptüründe önemli bir etkidir (Okamoto vd., 2003).

Mikotik anevrizmalar; arter duvarında infeksiyöz hasar sonucu meydana gelir ve çoğunluğu psödoanevrizmalardır. Genellikle Willis poligonu distalinde küçük damarlarda oluşan fuziform görünümlü anevrizmalardır. Tüm intrakraniyal anevrizmaların %0,7-4' ünü ve çocuklardaki intrakraniyal anevrizmaların %5-15' ini oluştururlar. Sıklıkla infektif endokardit ve kötü ilaç kullanımı öyküsü bulunan hastalarda meydana gelmektedirler. Bakteriyel anevrizmalarda stafilokok ve streptokok, fungal anevrizmalarda ise Aspergillus fumigatus etken gösterilmektedir. Rüptür riski yüksek olan bu anevrizmalar; septik emboli sonucu damar duvarındaki inflamasyon ve anevrizmal dilatasyon sonucu oluşurlar (H. Wu vd., 2020).

Travmatik anevrizmalar; kaza veya cerrahi girişim sırasında, doğrudan veya kapalı kafa travmalarında beyin kan damarının duvarının zedelenmesi, gerilmesi vs. sonucu hasar oluşmasıyla damar çevresinde toplanan hematoma rekanalize olması ve pulsasyonun bu şekilde iletilmesi sonucu meydana gelmektedir. Travmatik anevrizmaların çoğu psödoanevrizmadır. İntrakraniyal anevrizmaların tümünün %0,2-1' ini oluştururken çocuklarda intrakraniyal anevrizmaların %5-15' ini oluştururlar (Fukuda vd., 2019).

Onkotik anevrizmalar; tümörün direkt vasküler invazyonu ya da tümör embolisi sonucu damar duvarında oluşan hasardan kaynaklanmaktadır. İntrakraniyal anevrizmaların yalnızca %0,1' inden sorumludur. Onkotik anevrizmalara menenjiom, hipofiz adenomu, yüksek gradeli astrositom gibi primer intrakraniyal tümörler ve atrial miksooma ve karyokarsinom gibi metastatik tümörler sebep olabilirler (Zairi vd., 2011).

Aterosklerotik anevrizmalar; baziller arterdeki ektazik genişlemelerle meydana gelmektedir. Düzensiz bir şekle sahip olduğundan dolayı çevresindeki beyin dokusu ve sinir köklerine bası yapmaktadır (Feng vd., 2019).

Arteriyovenöz malformasyona bağlı anevrizmaların görülme sıklığı %3-23 arasında değişmektedir. İntrakraniyal yüksek akım sonucu hemodinamik stresteki artış damar duvarında incelmeye sebep olarak arteriyovenöz malformasyon gelişme riskini artırmaktadır. Arteriyovenöz malformasyona bağlı oluşan anevrizmaların duvar yapıları ince olduğu için bu anevrizmaların ani intravasküler hipertansiyon sonucu rüptüre olma riski yüksektir. Arteriyovenöz malformasyonu ve kanaması olan hastaların %80' inde akıma bağlı anevrizmalar izlenmektedir (Schievink vd., 1997).

2.1.3. Epidemiyoloji

İntrakraniyal anevrizmaların görülme sıklığı %3-5 arasında değişmekte olup her yaş grubunda görülmekle beraber 25 yaş ve üstünde yaş ilerledikçe sıklık artmakta ve özellikle 40-60 yaşlar arasında semptomatik hale gelmektedir (Liu vd., 2015). Pediatrik yaş grubunda İA insidansı oldukça düşüktür ve tüm olguların %2' sini oluştururlar. Ayrıca çocuklardaki anevrizmaların mortalite oranı daha düşük ve cerrahi tedaviyle iyileşme oranı daha yüksektir. Pediatrik anevrizmalar çoğunlukla posttravmatik veya mikotik anevrizmalar olup, erişkin yaş grubu anevrizmalarına göre daha geniş (ortalama 17 mm) boyutlardadır ve erkeklerde kızlara oranla daha fazla görülürler. İntrakraniyal anevrizmalar erişkin yaş grubunda ise bunun aksine kadınlarda erkeklerden yaklaşık 3 kat daha fazla görülmektedir (Ruigrok & Rinkel, 2008). Bu durum İA oluşumunda hormonal faktörlerin rol oynadığını düşündürmektedir. Ayrıca kadınlarda erkeklere oranla multiple anevrizma görülme sıklığı 5 kat daha fazladır. Multiple anevrizmalı olguların %75' inde 2 adet anevrizma, %15' inde 3 adet anevrizma ve %10' unda ise 3' ten fazla sayıda anevrizma bulunmaktadır. Multiple anevrizma insidansı vaskülopatiler ve bağ dokusu hastalıklarında ve polikistik böbrek hastalığında artmaktadır (Sengupta, 2015).

Anevrizmaların yıllık rüptür insidansı %1-2' dir. Öyküsünde SAK bulunan olgularda tekrarlama riski her yıl için %2.2' dir. Aile bireylerinde anevrizma öyküsünün varlığı diğer aile üyelerinde de anevrizma gelişme riskini artırmaktadır. Anevrizma görülme insidansı ikizlerde, birinci derece akrabalarda önemli derecede

yüksektir. Ayrıca genel olarak toplumlarda İA görülme sıklığı ortalama 100.000'de 6-7 iken Japonya ve Finlandiya gibi bazı toplumlarda bu oran 20/100.000 gibi yüksek değerlerdedir. Dolayısıyla İA sıklığı toplumlar arasında farklılık gösterebilmektedir (Brown & Broderick, 2014).

2.1.4. Histopatoloji ve fizyopatoloji

İntrakraniyal anevrizmalar gros patoloji görünümüne göre sakküler (berry), fuziform ve dissekan anevrizmalar olarak gruplandırılabilir.

Sakküler anevrizmalar genellikle arteriyel bifurkasyonlarda ortaya çıkan, damar duvarındaki tüm tabakaların zayıflaması nedeniyle meydana gelen yuvarlak berry tipi genişlemelerdir. Anevrizma kesesini oluşturan tabakalardan biri olan intima normal olarak izlenmekte olup subintimal hücre proliferasyonu sıklıkla meydana gelmektedir. Anevrizmalarda internal elastik membran çok zayıflamış veya tamamen ortadan kalkmıştır ve media tabakası anevrizma duvarında seçilemeyecek şekilde parent arter ile birleşilen yerde sonlanmıştır. Bazı media alanlarında intersisyumda fibrozis görülebilir. Küçük anevrizmalarda media kısa bir bölüm şeklinde kısmen devam edebilir. Adventisyada lenfosit ve fagosit infiltrasyonu izlenebilir. İntrakraniyal arterlerin eksternal elastik laminasının olmamasının veya tunika media tabakasının zayıf olmasının; küçük çaptaki damarlarda İA' ların ekstrakraniyal anevrizmalardan daha yüksek oranda görülmesine sebep olduğu düşünülmektedir. Bununla beraber anevrizma duvarı belirgin moleküler bozuklukları barındırmaktadır. Anevrizma duvarları normal intrakraniyal vasküler yapılara göre daha az kollajene sahiptir ve bazal membran proteinlerinde dizilim bozukluğu görülmektedir. Ayrıca anevrizmalarda matriks komponentlerin anjiyogenez faktörlerinde normal olmayan ekspresyon seviyeleri bildirilmiştir (Chalouhi vd., 2013).

Sakküler anevrizmaların oluşum mekanizmalarına ilişkin günümüze kadar önemli bilgiler edinilmiş olmakla birlikte henüz tam açıklanamamaktadır. Bir vasküler ağda maksimum hemodinamik stresin olduğu yer damar bifurkasyon apeksidir. Anevrizmadaki sistol ve diastol ile oluşan kan akımı hızındaki değişiklikler damar duvarında strese neden olarak intimal zedelenmeye yol açmaktadır. Bu hemodinamik stres İA' ların oluşmasında, büyümesinde ve konfigürasyonunda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca anevrizma trombozu ve rüptüründe de etkiye sahip olan hemodinamik stres, yalnızca anevrizmanın oluşumu

ve progresyonunda değil, anevrizma tedavisinde kullanılacak endovasküler yöntemlerin belirlenmesinde de önem taşımaktadır (Etminan & Rinkel, 2016).

Anevrizma ile parent arter arasındaki geometrik ilişki intraanevrizmal akım paternlerini belirleyici en önemli faktördür. Lateral anevrizmalarda kan anevrizma içine ostiumun distal bölümünden girip proksimal bölümünden çıkarak anevrizma kesesinin merkezinde yavaş akıma neden olur. Bunun aksine arter bifurkasyonunda yerleşik olan anevrizmalarda, intraanevrizmal sirkülasyon hızlı olur. Dolayısıyla hemodinamik stres şiddeti anevrizma büyümesi ve rüptürü üzerinde farklı etkilere neden olmaktadır (Etminan & Rinkel, 2016).

2.1.5. Subaraknoid kanama (SAK)

Subaraknoid kanama; arterial veya nadiren venöz nedenlerle serebellum, serebrum ve spinal kordun subaraknoid mesafesi içerisinde oluşan kanama olarak tanımlanmaktadır. SAK birçok nedene bağlı olarak her yaşta görülebilir. Ölümcül sonuçlar doğurabilen akut serebrovasküler bir olaydır ve ani ölümlerin sebepleri içerisinde kalp hastalıklarından sonra ikinci sıradadır (Etminan & Rinkel, 2016).

Subaraknoid kanamanın görülme sıklığı 6-8/100000 arasında değişmektedir fakat bu oran yaş ilerledikçe artmaktadır. Subaraknoid kanamanın mortalite oranı ise %40.6 olarak bildirilirken SAK sonrası hayatta kalan bireylerin %50-75' inin 6 ay gibi bir süre sonrasında nörolojik defisit olmadan önceki hayatlarına dönebildikleri belirtilmiştir. Ancak %25 oranında hastalarda kalıcı nörolojik bozukluklar, kısmi felç gibi vücut fonksiyonlarında bozulma veya daha ciddi durumlarda koma görülebilir. SAK' nın en sık görüldüğü yaş 60 ve üzeri olmakla beraber kadınlarda görülme sıklığının daha fazla olduğu bildirilmiştir (Etminan & Rinkel, 2016).

Subaraknoid kanamanın sebeplerinden en önemlisi anevrizma rüptürüdür. Subaraknoid kanamaların yaklaşık %85'inin anevrizmalardan kaynaklandığı bildirilmektedir (van Gijn vd., 2007). Anevrizmalar yırtıldığında damardan subaraknoid mesafeye yüksek basınç ile ya da bazen sızma şeklinde geçen kan, burada birikerek beyne bası oluşturur. Anevrizmalar herhangi bir zamanda rüptüre olabilirler. Aşırı fiziksel aktivite, hipertansiyon, sigara ve alkol kullanımı gibi faktörler anevrizmaların rüptüre olarak SAK oluşmasında etkilidirler (Etminan & Rinkel, 2016).

Subaraknoid kanama insidansı ve anevrizma prevalansı karşılaştırıldığında anevrizma prevalansının SAK insidansından 200 kat daha fazla olduğu bilinmektedir. Bu da anevrizmaların büyük bir kısmının rüptüre olmadığını düşündürmektedir. Verilere göre, İA öyküsü olmasına rağmen olguların %50-80 kadarında herhangi bir kanama bulgusu görülmemektedir (Edlow vd., 2008).

Anevrizma kanaması riskini etkileyen faktörlerden en önemlisi anevrizmanın boyutudur. Rüptür riski anevrizma boyutu arttıkça artmaktadır. 7 mm ve üstündeki çaplarda olan anevrizmaların yıllık rüptür riski %2,5 iken daha küçük anevrizmalarda bu risk %1 dolaylarındadır. Fakat büyük ve küçük anevrizmalar ile kanama sıklıkları karşılaştırıldığında; her ne kadar küçük anevrizmalarda kanama riski daha az olsa da küçük anevrizma görülme sıklığının daha yüksek olması nedeniyle küçük anevrizmalarda kanama oranı relatif olarak büyük anevrizmalardan daha fazla görülmektedir. Anevrizma boyutunun yanında ense/boyun oranı da rüptür riski ile doğru orantılı bir ilişkiye sahiptir (van Gijn vd., 2007).

2.1.5.1. SAK risk faktörleri

Subaraknoid kanamanın en önemli risk faktörlerinden biri ailevi predispozisyonudur ve hastalarda %5-20 arasında değişen oranlarda pozitif ailevi geçiş öyküsü bulunmaktadır. Ailede birinci derece akrabalarda SAK öyküsü bulunduğu takdirde riskin 3-7 kat arttığı, ikinci derece akrabalarda SAK öyküsü bulunması halindeyse bu riskin genel popülasyondaki rakamlarla benzer olduğu bildirilmektedir. Ailevi geçişli SAK'ın en sık nedeni otozomal dominant polikistik böbrek hastalığıdır. Bunun yanı sıra Ehler-Danlos tip 4 ve nörofibromatozis tip 1 ailesel SAK için risk faktörü olarak bilinmektedir (Aneurysms, 2012).

Sigara tüketiminin anevrizmal SAK oranını artırdığı, sigara tüketen bireylerde tüketmeyenlere göre %2.2 oranında rölatif risk artışı olduğu belirlenmiştir (Feigin vd., 2005). Bazı popülasyon kohort çalışmalarında saptanan verilere göre; SAK geçiren bireylerin %70-75'inin sigara tüketme öyküsü bulunmaktadır ve %50-60'ı aktif sigara tüketicisidir (Kissela vd., 2002). Aynı zamanda orta ve aşırı derece alkol tüketiminin de SAK için risk faktörü olabileceği bilinmektedir. Alkol tüketiminin haftada 150 gramın üzerinde olduğu bireylerde SAK riskinin %1.1 arttığı bildirilmektedir (Clarke, 2008). Kokain, amfetamin gibi zararlı alışkanlıkların hemorajik inme riskini artırdığı ve kokain alışkanlığı olan bireylerin %50'inde

yapısal anomalilerden anevrizma ve arterivenöz malformasyonun birlikte bulunduğu buna bağlı olarak da bu alışkanlıkların SAK riskini arttırdığı belirtilmektedir.

Hipertansiyon; intraserebral kanamada temel bir risk faktörüdür ve yüksek kan basıncının SAK riskini anlamlı derecede artırdığı bilinmektedir. Sistolojik kan basıncında gerçekleşen her 10 mm Hg artışın, SAK riskini %31 oranında artırdığı bildirilmiştir (Aneurysms, 2012).

Yaş, cinsiyet ve etnisite de SAK için risk faktörleridir. Yaş arttıkça rüptür riski artmaktadır ve 60 yaş üzerinde SAK geçirme riskinin daha genç yaşlara göre %1.2-1.7 daha fazla olduğu bildirilmiştir (Aneurysms, 2012). Bununla beraber kadınlarda SAK geçirme riski erkeklere oranla %1.4-1.6 daha fazladır (Shojima M, vd., 2005). Ayrıca ırklar üzerinde yapılan çalışmalar, siyah ırkda SAK riskinin beyaz ırka göre 1.8 kat daha fazla olduğunu göstermektedir (Feigin vd., 2005).

2.1.5.2. SAK kliniği

Subaraknoid kanamada klinik tablo; kanamanın lokalizasyonuna, miktarına, genişliğine ve bunlara bağlı olarak gelişen komplikasyonlara göre baş ağrısı gibi hafif bir belirtiden koma gibi ağır bir sonuca kadar değişim göstermektedir. En karakteristik klinik özelliği ani başlayan şiddetli baş ağrısıdır (Hasan vd., 2018).

Subaraknoid kanamadan sonra, beyin omurilik sıvısında fibrinolitik aktivite artarak plazmini oluşturabilmekte ve anevrizmal bölgedeki kan pıhtısını eriterek yeniden kanamaya yol açabilmektedir. Anevrizmal SAK sonrası hastaların %15' inde yeniden kanamanın bir göstergesi olan ani bilinç bozukluğu gerçekleşmektedir. Kanama sonrası tedavi uygulanmayan anevrizmalarda yeniden kanama riski ilk 4 haftada %40' lardadır. Yeniden kanama riskinin en yüksek olduğu zaman dilimi %4 oranla ilk 24 saattir ve birinci günden sonra bu oran günde %1,5' e düşerek ve ilk iki haftadaki toplam tekrar kanama riski %14 dolaylarında olmaktadır. Yeniden kanama sonrası hastaların prognozu oldukça ciddidir ve %80' i hayatını kaybeder veya belirgin nörolojik defisite göstermektedir (Fak vd., 2012).

En sık karşılaşılan komplikasyonlardan biri olan serebral iskemi, SAK sonrası bölgesel arteriyel vazospazm sonucu oluşur. Serebral iskemi için en riskli dönem SAK sonrası 5-14 gün arasındadır. Hidrosefali; SAK sonrası ilk yetmiş iki saat içerisinde %20-30 oranında görülmektedir. Akut hidrosefali; primezensefalik sistemlerde fazla miktarda kan birikmesi ve intraventriküler kanama olması durumlarında gelişir (van

Gijn vd., 2007). Subaraknoid kanama olgularının %50' sinde ciddi boyutlarda kardiyak aritmiler gözlenmektedir. Bunun yanı sıra kanın yaygın inflamatuvar ve nörotoksik etkisi nedeniyle yaygın beyin ödemi de SAK sonrası komplikasyonları arasındadır (Claassen vd., 2002). Bir diğer SAK sonrası komplikasyon %10-30 oranında gözlenen hiponatremidir (Bederson vd., 2009). Anevrizmal SAK sonrası ayrıca anemi, hipotansiyon, hiperglisemi, hipomagnezemi, kalp yetmezliği ve pnömoni gibi komplikasyonlar ve uzun dönemde görülen anosmi, epilepsi, kognitif defektler ve psikososyal disfonksiyon gibi bazı geç komplikasyonlar görülebilmektedir (van Gijn vd., 2007).

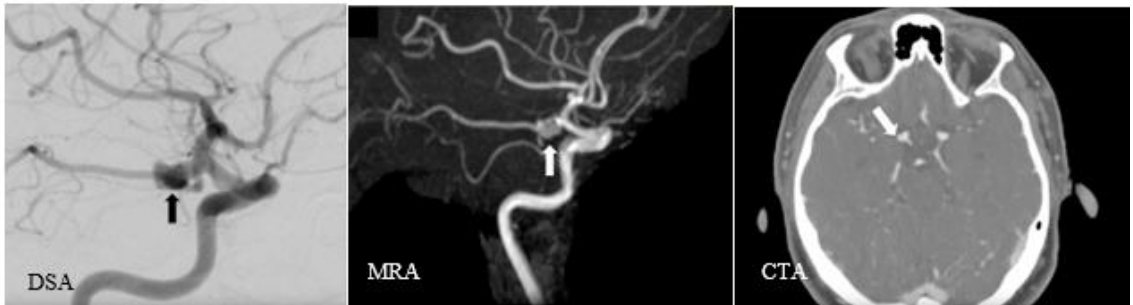
Subaraknoid kanama olgularının en önemli ve geç dönem mortalite ve morbiditenin en sık nedeni ise SAK sonrası %30-70 oranında görülmekte olan vazospazmdir. Serebral vazospazm; beyin tabanındaki büyük kapasitant arterlerin geç dönem daralmasıdır ve kanamadan sonra 3 ve 5 gün arasında başlayarak on dördüncü güne kadar en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Bu durumda hastalarda konfüzyon, şiddetli baş ağrısı, ense sertliği, bilinç bozukluğu, inkontinans, hemiparezi veya afazi görülmektedir (Fak vd., 2012). Vazospazmın patogenezi tam olarak bilinmemekle beraber; vazodilatasyonu inhibe eden maddeler, immünoreaktif veya inflamatuvar olaylar, araknoid membranın gerilmesi, pıhtının basısı, trombosit agregasyonu vazospazma sebep gösterilmektedir (Pluta vd., 2009). Vazospazm, olgularda yaklaşık %50 oranında, gecikmiş iskemik nörolojik kayıp olarak kendini göstermektedir ve bu olgularda tedavi görmeleri halinde bile %15-20 oranında ölüm ya da malformasyon gerçekleşmektedir (Fak vd., 2012).

Vazospazm olgularında son durum değerlendirilmesinde GOS skalası kullanılmaktadır. Ayrıca SAK şiddetinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan sınıflandırmalar Hunt-Hess sınıflandırması ve Fisher skalasıdır (Green, 2016).

2.1.6. Tanı

İntrakraniyal anevrizma tanısında günümüzde kullanılan 3 temel yöntem vardır. Bunlar; çok kesitli bilgisayarlı tomografik anjiyografi (BTA), manyetik rezonans anjiyografi (MRA) ve dijital substraksiyon anjiyografi (DSA)'dır. İntrakraniyal anevrizmaların tanısında uzun yıllardır DSA kullanılmaktadır ve günümüzde de altın standart olarak kullanılmaya devam etmektedir. Anjiyografinin amacı yalnızca anevrizmayı saptamak değil aynı zamanda hasta için cerrahi ya da

endovasküler tedavilerden hangisinin kullanılması gerektiğini tespit etmektir. Anjiyografi ile anevrizmaları sakküler, fuziform, serpentin, dissekan veya psödoanevrizma olarak tespit edip sınıflandırmak kolaylıkla mümkündür. Ayrıca multipl anevrizmalı hastalarda kanayan anevrizmanın hangisi olduğunu saptamak konusunda bilgi almak için anjiyografi uygun bir yöntemdir (Donmez vd., 2011). Bunun yanı sıra CT ve MR anjiyografi gibi invaziv olmayan yöntemlerin gelişmesiyle anevrizma saptanması ve özellikle takibinde kullanılmaya başlanmıştır. Yapılan bir çalışmaya göre CT anjiyografinin doğruluk oranı %89, MR anjiyografinin doğruluk oranı %90 olarak belirtilmiştir (White vd., 2000). Subaraknoid kanamadan şüphelenilen hastalarda ilk tercih edilen yöntem olan BTA; non-invaziv olması, hızlı görüntülenebilir olması, 3D görüntüleri istenilen düzlem ve açıda oluşturmaya olanak sağlaması gibi avantajlara sahiptir. MR Anjiyografi ile anevrizma boynu ve anevrizmaya komşu arter ilişkisi değerlendirilebilmektedir. Bunların yanında BTA ile karşılaştırıldığında MRA daha uzun sürede sonuç veren bir yöntem olmasıyla travmada pratik bir yöntem değildir. Hastalarda cerrahi bir klips olması durumunda kullanılamaması ve harekete bağlı olarak artefaktların sonucu etkilemesi de MRA'nın dezavantajları arasındadır (Pearce, 2006). Altın standart yöntem olarak kabul edilen DSA, oldukça hassas ve yüksek doğruluk oranlarına sahip bir yöntemdir. İnce arteriyel dalları ve kollateral dolumu gösterebilir ve kan akımını dinamik olarak değerlendirmeye olanak sağlamasıyla diğer yöntemlere göre oldukça avantajlıdır. İA' nın BT, MR ve anjiyografi görüntüleri Şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. İntrakraniyal Anevrizmanın Görüntüleme Teknikleriyle Değerlendirilmesi (Yoon vd., 2016).

2.1.7. Tedavi

Günümüzde anevrizma tedavisinde iki temel yöntem kullanılmaktadır. Bunlar cerrahi yöntemler (mikrocerrahi kliplleme) ve endovasküler yöntemler (koilleme) şeklinde sınıflandırmaktadır.

2.1.7.1. Cerrahi tedavi:

1960 ve 1970' li yıllarda anevrizma ile ilgili çalışmaların artmasıyla İA'ların tedavisinde cerrahi yaklaşım kabul görmüş ve günümüzde de İA' larda cerrahi yöntemler tedavinin temel taşı oluşturmaktadır. Cerrahinin zamanlaması halen tartışmalı olmakla beraber çoğu cerrah düşük evredeki olgularda kanamayı takiben ilk 3 gün içerisinde erken cerrahi tedavi uygulanmasını tavsiye etmektedir. Yapılan klinik çalışmalar da erken cerrahi tedavinin geç cerrahi tedaviden daha etkili olduğunu destekler niteliktedir. Evresi iyi olan hastalarda mümkün olduğunca kısa zamanda uygulanan cerrahi tedavinin tekrar kanama riskini ve tekrar kanamaya bağlı mortalite ve morbiditeyi azaltacağı düşünüldüğünden dolayı uygun bir yaklaşım olarak kabul görmektedir (Laidlaw & Siu, 2002). Tam oklüzyon oranları %90-95 olarak bildirilmesine ve cerrahi olarak kapatılan anevrizma sonrası SAK riskinin oldukça düşük olduğu bilinmesine rağmen rüptüre olmamış İA' ların direkt cerrahi ile kapatılması ciddi oranlarda morbidite ve mortalite riski taşımaktadır. Cerrahi ile ilgili riskleri etkileyen hasta yaşı, anevrizma boyut ve lokalizasyonu ile anevrizma semptomlarının varlığı gibi birçok faktör bulunmaktadır (Lozano vd., 2019).

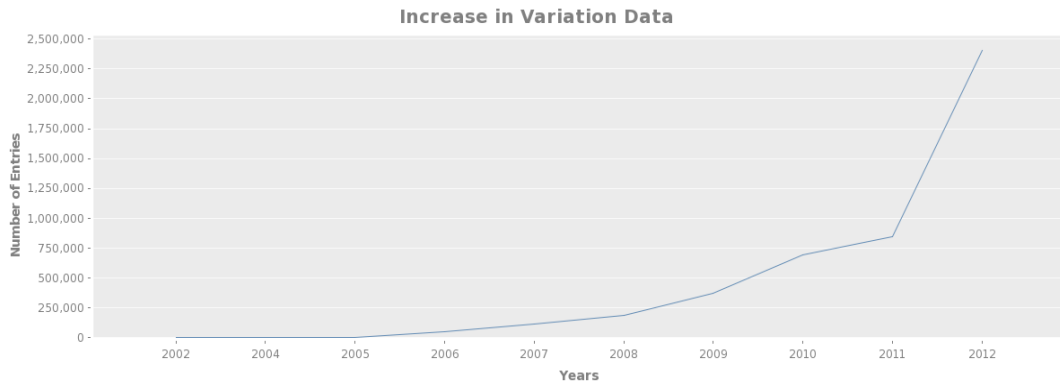
2.1.7.2. Endovasküler tedavi:

Anevrizma tedavisinde geçtiğimiz yıllarda cerrahi tedaviye alternatif olarak endovasküler tedaviler kullanılmaya başlanmıştır. Endovasküler tedavi; platinden yapılmış koillerin anevrizma içinde uygun lokalizasyonda elektrik akımıyla takılı bulunduğu dağıtıcı telden ayrılması temeline dayanır. Koiller tedavi edilecek hastaya göre değişiklik gösterebilen farklı boyut ve çaplardadır. Ayrıca prosedür ile ilişkili mortalite ve morbidite oranına, hasta yaşının etkisi cerrahi tedaviye oranla daha düşüktür. Tedavide mortalite ve morbidite riskini etkileyen faktörler anevrizma boyutunun 12 mm'den büyük olması ve posterior dolaşımda lokalize olmasıdır (Ihn vd., 2018). Prosedürün hızlı olması, transfemoral arteriyal yaklaşımların kullanımı, multipl anevrizmlar ve vazospazmı aynı anda tedavi edebilme imkanı sağlaması endovasküler tedavinin avantajları arasında yer almaktadır. Büyük anevrizmalarda

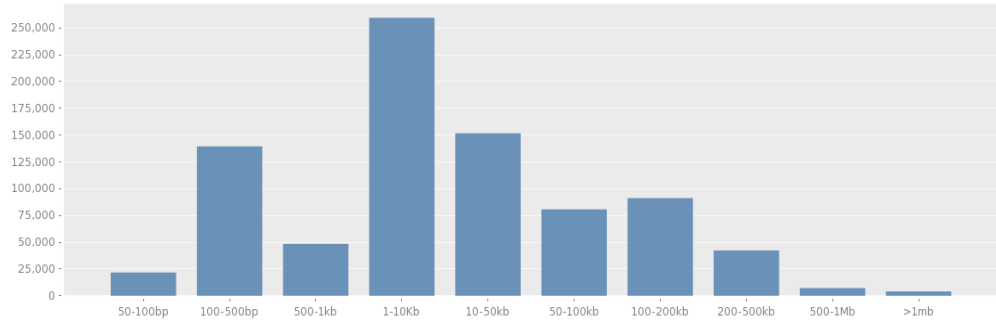
anevrizma boynunun tam olarak kapatılamaması olasılığı nedeniyle büyük anevrizmalarda balon modelleme ya da mikrocerrahi yöntemler tercih edilmektedir (Pearce, 2006).

2.2. Kopya Sayısı Değişiklikleri (Copy Number Variations = CNV)

Kopya sayısı değişiklikleri (KSD); insan genomunda yer alan kopya sayısında artma veya azalma şeklinde görülen yapısal değişiklikler ve referans genomla karşılaştırıldığında ortaya çıkan dozaj farklılığı olarak tanımlanmaktadır (Zarrei vd., 2015). Bireyler arasındaki farklılıkların genom düzeyindeki temellerinin anlaşılmasında, insan genom projesinin ve ardından gelen genom araştırmalarında edinilen bilgilerin önemli katkısı olmuştur. Uzun yıllar genetik ve fenotipik varyasyona çoğunlukla SNP'lerin neden olduğu düşünülmüştür. Fakat günümüzde KSD'lerin genetik heterojenitede önemli etkileri olduğu bilinmektedir. Otozomal genom %4,8-9,5 oranında KSD içermektedir (Sudmant vd., 2015). Kopya sayısı değişikliklerinin bulunduğu veri tabanı olan Database of Genomic Variations (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)'a göre son yıllarda tanımlanan KSD'lerin sayısı artmış ve 1 kb' dan daha küçük 50 bp uzunluğunda KSD'ler de tanımlanmıştır. İlgili veriler Şekil 2.2 ve Şekil 2.3' te gösterilmiştir.



Şekil 2.2. KSD Sayısının Yıllar İçerisindeki Değişimi
(<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)



Şekil 2.3. Tanımlanan KSD' lerin Boyut Dağılımı
(<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)

Bireyler arasındaki genom çeşitliliği tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) ve kopya sayısı varyasyonları ile açıklanabilmektedir. KSD ve SNP' ler boyutları yönünden farklılık gösterirler ve KSD' ler daha fazla nükleotidi kapsamasıyla SNP' lardan ayrılmaktadır.

Mendel tipi ve kompleks hastalıklarda KSD mutasyonları saptanabilmektedir. Genomun bazı bölgelerindeki kopya sayısı değişiklikleri belirgin fenotipe sebep olmayabilir. Ancak birçok gen ve gen anlatımını düzenleyen bölgelerdeki kopya sayısı varyasyonları, gen dozajını ve gen anlatımını olumsuz etkileyerek fenotipe yansıma gösterebilmektedirler. Kopya sayısı varyasyonları bir genin tamamını, gen parçalarını, çok sayıda geni, regülatör elementleri içerebilir veya gen içermeyen bölgelerde bulunabilir. Bunların yanısıra delesyon, duplikasyonla karşılaştırıldığında daha ciddi fenotipe sebep olmaktadır (Miller vd., 2010).

DNA' da farklı kopya sayılarının bulunması mRNA ve protein seviyelerinde önemli değişikliklere sebep olabilmektedir. Dozaj-sensitif genlerinin bulunduğu genomik segmentleri etkileyen kopya sayısı değişimleri, birçok hücresel süreçte değişikliklere sebep olabilir ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilir. Ancak sağlıklı bireylerde de yaygın olarak KSD bulunması bu kopya sayısı varyantlarının her zaman hastalığa sebep olmadığını göstermektedir (Mishra & Whetstone, 2016). Sonuç olarak kompleks veya poligenik hastalıklarda ve genetik altyapısı tam olarak tanımlanamamış hastalıklarda genetik yapının belirlenmesi; hastalığın fenotipinin açıklanmasına, hastalıklara genetik yatkınlığın araştırılmasına, hastalık sürecinin ve tedaviye yanıtın belirlenmesine katkı sağlamaktadır.

Kopya sayısı varyasyonları birkaç yol ile hastalık fenotipinin ortaya çıkmasına sebep olurlar. Bunlardan en önemlileri; kantitatif etki, genlerin bölünmesi, regülatör bölgelerin etkilenmesi, heterozigosite kaybı ve ardışık gen delesyonlarıdır.

Kantitatif etki (dozaj): Genomda meydana gelen delesyon ve duplikasyonlar dozaj-sensitif genlerin genomik kopya sayılarını değiştirirler. Böylece duplike genlerde ürün artışı meydana gelerek dengesizlikler oluşur ve ürünün yapısı, buna bağlı olarak da fonksiyonu bozulur. Bununla beraber; eğer KSD' ler üst düzey replikasyon bölgeleriyle ilişkili ise dozaj etkileri sabit olmamakla birlikte zamanla artış gösterebilmektedir (Lee, Scherer, 2010).

Genlerin bölünmesi: Kopya sayısı varyasyonlarının oluşumu; genlerin bütünlüğünü bozarak gen içerisinde kırık nokta oluşumuna ve buna bağlı olarak gen ürününün fonksiyonunun bozulmasına sebep olabilmektedir (Lee & Scherer, 2010).

Regülatör bölgelerin etkilenmesi: Gen ürününü veya fonksiyonunu etkileyen faktörlerden bir diğeri promotör veya diğer regülatör bölgelerin kesintiye uğramasıdır. Kopya sayısı varyasyonlarının %50' sinden daha fazlasında patojenite; promotör bölgelerin kesintiye uğraması sonucu meydana gelmektedir (Stranger vd., 2007).

Heterozigosite kaybı: Bir KSD' nin fenotipik sonuçları için gen içeriği kadar genel genomik durum da oldukça önemli bir faktördür. Dozaj-insensitif bir genin delesyonu ile sonuçlanan bir KSD' nin fenotipe yansımaması beklenir fakat diğer alel fonksiyonel bir mutasyona sahip ise fenotipin etkilenmesi söz konusudur. Bu durumda çift vuruş hipotezine göre; KSD' lerin, otozomal resesif hastalıkların ortaya çıkma ihtimalinin arttırdığı belirtilmektedir (Rivera-Brugués vd., 2011).

Ardışık gen delesyonu: Gen içermeyen veya tek bir geni içeren KSD' ler, nokta mutasyonu gibi fonksiyonel davranış sergileyerek dominant ve resesif Mendeliyen kalıtım paterni gösterirler. Fakat daha fazla gen içeren KSD' ler ardışık gen sendromlarına sebep olurlar.

Kopya sayısı varyasyonlarının genotip spektrumu ve ilişkilendirilmiş fenotipler aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Lee & Scherer, 2010) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. KSD' lerin Genotip Spektrumu ve İlişkili Fenotipler

KSD GENOTİP	İLİŞKİLİ FENOTİP
Resesif bölünme veya delesyon	Duchenne/Becker Muskuler Distrofisi(DMD)
Dominant bölünme veya delesyon	Nörofibromatozis (NF1) Tuberoz Skleroz (TSC1-TSC2) Sotos Sendromu (NSD1) Charge Sendromu (CHD7)
Dozaj etkisi	Erken Başlangıçlı Alzheimer (APP) 22q Otizmi (SHANK3)
Multiallelik etkiler	Crohn Hastalığı Yatkınlığı (DEFB4) Sistemik Otoimmünite Yatkınlığı (FCGR3B) Parkinson Hastalığı (SNCA) HIV/AIDS, Kawasaki Hastalığı, Romatoid Artrit Yatkınlığı (CCL3L1)
Ardışık gen delesyonları	DiGeorge Sendromu (22q11.2 delesyonu) Williams-Beuren Sendromu (7q11.23 delesyonu) 1p36 Mikrodelesyon Sendromu
Heterojen	Otizm Bipolar Bozukluk Şizofreni Fallot Tetralojisi

2.2.1. Oluşum mekanizmaları

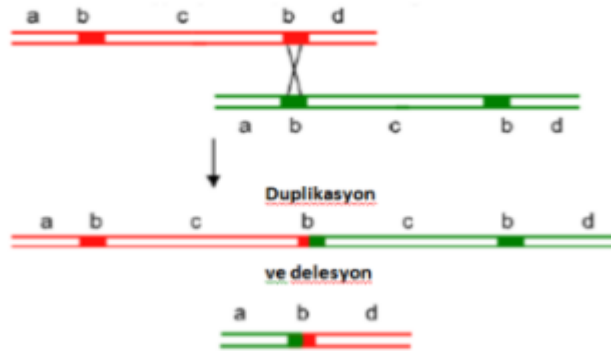
İnsan genomunun yaklaşık %5 kadarı kopya sayısı varyantlarını içermektedir. Tekrar dizilerinden birbiriyle %90' ın üzerinde benzerliğe sahip olan ve 1 kb' dan büyük DNA segmentleri “düşük kopyalı tekrarlar (LCR)” veya “segmental duplikasyon” olarak adlandırılmaktadır. Bu düşük kopyalı tekrarlardan %97' nin üzerinde benzerlik gösteren ve 10 kb' ın üzerinde olanlar, genomik instabiliteye ve KSD oluşumuna sebep olabilmektedirler (Van Binsbergen, 2011).

Kopya sayısı varyasyonları mayotik veya somatik bölünmeler sırasında meydana gelebilir. Kopya sayısı varyasyonlarının oluşumu yakınındaki genomik

dizilerle ilişkilendirilebilmektedir. Genellikle kopya sayısı varyasyonlarının yakınlardaki diziler; segmental duplikasyon, düşük kopyalı tekrar dizileri ve Alu veya LINE gibi neredeyse aynı dizi setleridir. Bu tekrarlayan ve birbiriyle aynı genom dizileri rekombinasyon sırasında hatalı dizilimlere sebep olmaktadır (Lee & Scherer, 2010).

2.2.1.1. NAHR (*Nonallelic Homolog Recombination*)

Rekombinasyona bağlı bir mekanizma olan NAHR; homolog kromozomlarda kardeş olmayan kromatitleri arasındaki genetik materyal değişimidir ve bu değişim genomik çeşitliliği sağlamaktadır. Tekrarlayan DNA dizilerine sahip genom bölgeleri çift zincir kırıkları için daha hassastır. Allelik olmayan homolog bölgeler arasındaki rekombinasyon sırasında 50-100 kb büyüklüğünde düşük kopya tekrarlarının bulunduğu bölgelerde yeniden düzenlemeler gerçekleşir. Bunlar; delesyon, duplikasyon, inversiyon, translokasyon, izokromozom, marker kromozom ya da yapısal polimorfizmler olabilir (Weischenfeldt vd., 2013) (Şekil 2.4). NAHR, mitotik bölünme sırasında da meydana gelebilir. Bu durumda, somatik hücrelerinde yeniden düzenlenmelere sahip mozaik bir popülasyon oluşur. Kanser hastalarının birçoğu bu somatik NAHR mekanizması sonucu oluşan genomik yeniden düzenlenmelere sahiptir (Hastings vd., 2009).



Şekil 2.4. Non-allelik Homolog Rekombinasyon (NAHR) (Hastings vd., 2009).

2.2.1.2. NHEJ (*Non-homolog End Joining Mechanism*)

DNA'daki çift iplik kırılmalarını tamir eden ve kırılma uçlarını homolog olmaksızın doğrudan bağlayan basit bir mekanizmadır (Weischenfeldt vd., 2013).

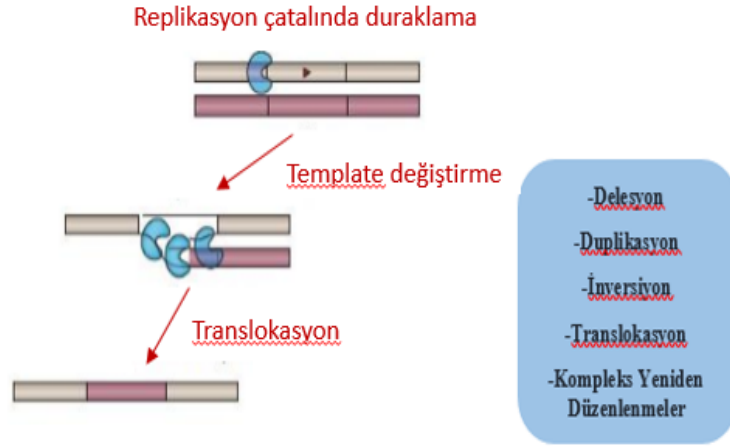
NAHR' den farklı olarak bu mekanizmada rekombinasyon oluşması için düşük kopya tekrarlarına ihtiyaç olmamakla beraber tamir bölgesinde sıklıkla moleküler skar olarak adlandırılan fazla nükleotidler bulunur. Bu nükleotidler birleştirme öncesi düzenleme çalışmalarının ürünleridir. Bu birleştirme sonucunda kırık noktalarına yakın bölgelerde kopyalanmaya bağlı dizi insersiyonları veya delesyonlar meydana gelebilmektedir (Hastings vd., 2009) (Şekil 2.5). DNA'da bazı bölgeler, kırılmalara daha yatkındır ve bu bölgeler "hot spot" olarak ifade edilmektedirler. Translokasyondaki kırık bölgeleri; çift zincir kırıklarının oluşumuna neden olan, homoloji göstermeyen, nükleazlara duyarlı, hatalı sekonder yapının oluşumundan sorumlu, stabil olmayan AT zengin palindromik diziler içermektedir.



Şekil 2.5. Non-homolog Birleştirme (NHEJ) (Hastings vd., 2009).

2.2.1.3. FoSTeS (Fork Stalling and Template Switching)

FoSTeS; muhtemelen mitoz sırasında DNA replikasyonu aşamasında kesintili zincirin replikasyon çatalından kesintisiz zincirin replikasyon çatalına taşınmasıyla meydana gelen, DNA replikasyonuna bağlı bir mekanizmadır (Weischenfeldt vd., 2013). Bu mekanizmada öncelikle replikasyon durur, kesintili DNA zinciri çözülür, aynı kromozoma veya başka kromozomun farklı bir yerine bağlanarak replikasyon yeniden başlar. Yeni replikasyon çatalının lokalizasyonuna göre duplikasyon ya da delesyon meydana gelebilmektedir (Şekil 2.6). Durma ya da yeni çatala yer değiştirme sayısı arttıkça, kompleks yeniden düzenlenmeler oluşabilmektedir (Hastings vd., 2009).



Şekil 2. 6. Replikasyon Çatalının Arızalanması ve Kalıbın Ayrılması.
(FoSTeS) (Weischenfeldt vd., 2013).

2.2.2. KSD' ler ve klinik

Multifaktöriyel hastalıklar; genetik ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimi ile ortaya çıkan, yaygın hastalıklardır. Bu tip hastalıklarda poligenik etkileşim söz konusu olduğundan hastalığın genetik temelini belirlemek ve tanı testi geliştirmek oldukça zordur. Nöral tüp defektleri, yarık damak-dudak, diyabet, osteoporoz, inflamatuvar hastalıklar, konjenital kalp hastalıkları ve psikiyatrik hastalıkların birçoğu multifaktöriyel hastalıklardır. Konjenital kalp hastalıkları, epilepsi, Alzheimer, otizm, iskelet displazisi gibi birçok multifaktöriyel hastalık kopya sayısı varyasyonları ile ilişkilendirilmektedir. Anevrizmalar da bir multifaktöriyel hastalıktır (Naseer vd., 2015).

Bir KSD' nin klinik patojenitesinin değerlendirilmesinde önemli faktörler rol oynamaktadır. Bu faktörler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.2) (Miller vd., 2010).

Tablo 2.2. KSD' lerin Klinik Değerlendirmesi

ÖNEMLİ KRİTERLER	MUHEMEL KSD DURUMU
Sağlıklı ebeveynden kalıtılmış KSD	Benign
Sağlıklı ebeveynden kalıtılmış,sonrasında değişmiş KSD	Patojenik
Etkilenmiş ebeveynden kalıtılmış KSD	Patojenik
Sağlıklı bir akrabada saptanan KSD' nin benzeri	Benign
Etkilenmiş bir akrabada saptanan KSD'nin benzeri	Patojenik
Sağlıklı bireyleri içeren KSD veri tabanındaki verilerle tamamen örtüşen KSD	Benign
Tanımlanmış ve bir sendromla ilişkilendirilmış KSD' leri içeren veri tabanındaki verilerle tamamen ölçüşen KSD	Patojenik
Morbid OMIM genlerini içeren KSD	Patojenik
Gen içeriği zengin bir bölgeyi içeren KSD	Patojenik
Gen içeriği sınırlı olan bir bölgeyi içeren KSD	Benign
Delesyon olarak saptanan KSD	Patojenik
Homozigot delesyon olarak saptanan KSD	Patojenik
Dozaj-sensitif genleri içermeyen bölgede duplikasyon olarak saptanan KSD	Benign
Amplifikasyon olarak saptanan KSD	Patojenik
Bilinen düzenleyici elementleri içermeyen KSD	Benign

2.2.3. KSD' lerin yorumlanması

Genomik KSD' lerden bazıları popülasyonda çok yaygın olduğundan, KSD' ler polimorfizm kaynağı olarak bildirilmektedirler (Conrad vd., 2010).

Kopya sayısı varyasyonları saptanması durumunda, saptanan varyasyonun değerlendirilmesi ve tanımlanması için bazı kriterler bulunmaktadır.

- a) **Zararsız varyant (Benign varyant):** Saptanan değişim duplikasyon ise ve dozaj-sensitif bir gen ya da regülatör elementler içermiyor ise benign olarak ifade edilmektedir.
- b) **Muhtemelen zararsız varyant (Likely benign):** Sağlıklı ebeveynden kalıtılmış, veritabanları ile sağlıklı bireylerde kalıtıldığı saptanmış ve

patolojik özelliği olan genleri içermeyen varyantlar likely benign olarak tanımlanmaktadır.

- c) **VUS (Klinik önemi belirsiz varyant):** İçerdiği genlerin klinikle ilişkili olduğu bilinmesine rağmen bu genlerin patojenitesi hakkında kesin bir kanıt henüz bulunmamakta ise, içerdiği genlerin bilinen bir hastalığa neden olduğu bilinmemekte fakat klinik ile ilişkisi yok ise saptanan değişim VUS olarak kabul edilmektedir.
- d) **Muhtemelen zararlı varyant (Likely patojenik):** Saptanan değişim delesyon, homozigot bir delesyon veya bir amplifikasyon ise patojenik olma ihtimalinden dolayı likely patojenik olarak tanımlanmaktadır.
- e) **Zararlı varyant (Patojenik):** Saptanan değişim eğer etkilenmiş bir ebeveyninden kalıtılmış ise, etkilenmiş aile bireylerinde saptanmış ise, veritabanlarında bildirilmiş klinikle örtüşüyorsa, bilinen bir mikrodelesyon ya da mikroduplikasyon sendromu ile ilişkilendirilmiş ise, içerdiği gen sayısı fazla ve OMIM ilişkili genler içeriyorsa patojenik olarak değerlendirilmektedir.

Kopya sayısı varyasyonlarından bazıları benign varyantlar olarak kabul edilirken, bazıları hatta birçoğu nadir varyantlardır ve hastanın fenotipine etkisinin olup olmadığı ya da sonuçlarının ne olabileceği henüz bilinmemektedir. Klinik önemi bilinmeyen nadir varyantların yorumlanması ve bu sınıflandırılmamış varyantların fenotipik etkisinin belirlenmesi oldukça güçtür. Bu anlamda olabildiğince fazla verinin bir araya getirilmesi ve paylaşılması ve böylece KSD'lerin daha iyi yorumlanabilmesi amacıyla uluslararası veri tabanları oluşturulmuştur.

DGV: Bu veri tabanı insan genomunun yapısal değişikliklerinin geniş çaplı bir özeti sergilenmektedir. Bu veri tabanının amacı; fenotipik veriler ile genomik değişiklikleri ilişkilendirmektir. Sağlıklı kontrol örneklerinde tanımlanan yapısal varyantları içermesiyle, yapılan çalışmalarda kontrol verisi olarak kullanılma imkanı sağlamaktadır (MacDonald vd., 2014).

ClinVar: Bu veri tabanı, genomik değişiklikler ile fenotipe yansımaları arasındaki ilişkileri içermektedir. Sürekli güncellenen ve eklemeler yapılan veriler sayesinde genotipik varyasyonlar ile ilişkili fenotipler hakkında bilgilerin değişimini ve gelişimini takip etme olanağı sağlamaktadır (Iacocca vd., 2018).

DECIPHER: Genomik varyantların yorumlanabilmesi amacıyla tasarlanmış olan bu veri tabanı; çeşitli biyoinformatik kaynaklardan yararlanarak içerdiği bilgiler ile olgularda saptanan varyantlarla ilgili klinik tanının geliştirilmesinin ve normal veya patojenik olarak tanımlanmasının kolaylaştırılmasını amaçlamaktadır. Bununla

birlikte, genomik varyantın tanımlanmasıyla hastalığın mekanizması ve potansiyel terapötik hedefler hakkında bilgi sağlamaktadır (<https://decipher.sanger.ac.uk/about/overview>).

OMIM: 15000 üzeri gen hakkında bilgi içeren bu veri tabanı; genler ile genetik fenotipler arasındaki ilişkiye odaklanarak kapsamlı bir arşiv sağlamaktadır (Amberger vd., 2015).

2.2.4. Mikrodizin teknolojisi

Temeli Northern ve Southern blot tekniklerine dayanan mikrodizin teknolojisi; binlerce gen veya transkript ifadesini aynı anda belirleyebilen, oligonükleotidlerin veya cDNA parçalarının yoğun bir şekilde art arda dizilmeleri ile ortaya çıkmış bir teknolojidir. DNA/RNA çipleri, gen çipleri veya biyoçip olarak da bilinen bu tekniğin temelini hibridizasyon oluşturmaktadır (Guarnaccia vd., 2014).

Moleküler hibridizasyon; baz dizisi bilinen etiketli prob ile baz dizisi araştırılan hedef nükleik asit molekülünün bir araya getirilerek komplementerlerine bağlanmasıdır. Moleküler hibridizasyonun amacı; hazırlanılan proba benzer dizilere sahip fragmentleri saptayabilmektir.

Temel olarak cDNA ve oligonükleotid olmak üzere iki çeşit mikrodizin vardır. cDNA mikrodizinlerinde; DNA molekülleri cam ya da silikon yüzeylere immobilize edilmiş halde bulunmaktadır. Bu mikrodizinler genellikle uzun ölçekli taramalarda ve ekspresyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Oligonükleotid mikrodizinlerinde; yaklaşık 25 nükleotid uzunluğundaki oligonükleotidler cam yüzeylere kimyasal veya konvansiyonel yöntemlerle immobilize edilmiş halde bulunmaktadır. Bu mikrodizinler çoğunlukla haritalama, yeni genlerin keşfi ve mutasyon taramalarında tercih edilmektedir (Faas vd., 2010).

Son yıllarda membran yerine cam kullanılması, radyoaktivite yerine floresan işaretleyicilerin alması ve özellikle de nükleik asitlerin belirlenen noktalara bağlanmasını sağlayabilecek hassaslıkta yöntemlerin geliştirilmesi, elde edilen bilgileri, çalışmanın kullanım alanlarını ve bu çalışmaların verimliliğini artırmıştır. Mikrodizin teknikleri; polimorfizm çalışmalarında, fizyolojik ve patolojik süreçlerde gen ekspresyonunun takibinde, kanser genlerinde heterozigot mutasyonları takip etmede, farmakolojik çalışmalarda ekspresyon seviyelerindeki değişikliğin takibinde ve toksikoloji çalışmalarında kullanılmaktadır (Keen-Kim vd., 2006).

2.2.4.1. Array-CGH (*array-Comparative Genomic Hybridization, aCGH*)

Array CGH (a-CGH), karşılaştırmalı genom hibridizasyon analizlerini mikrodizin teknolojisiyle birleştiren ve birden fazla genomun birbiri ile karşılaştırılmasına olanak sağlayan, genomik dengesizlikleri DNA düzeyinde tanımlayan bir tekniktir. Bu yöntem; hücre kültürüne gereksinim duyulmaması, çalışma için az miktarda DNA örneğinin yeterli olması ve DNA üzerindeki kb düzeyindeki değişiklikleri bile saptayabilmesi açısından diğer tekniklere üstünlük sağlamaktadır (Kleijer vd., 2011).

Array-CGH yöntemi konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle gözlenemeyen submikroskopik aberasyonları tespit etme açısından yüksek rezolüsyon sağlamaktadır. FISH tekniğinde kullanılan proplar bölge spesifik olduklarından şüphelenilen bir lokus olmadığı durumlarda tüm kromozomlardaki aberasyonları inceleme açısından uygun bir teknik değildir. Bunun gibi MLPA tekniği de bölge spesifik bir teknik olduğundan a-CGH tüm bu yöntemlere göre mikrodelesyon, duplikasyon ve amplifikasyonları saptamada daha avantajlı bir tekniktir. Etiyolojisi bilinen ya da bilinmeyen durumları saptamak için lokustan lokusa 1 kb' a kadar ayrıntılı kopya sayı varyantlarını ortaya çıkarmak için tasarlanan bir tekniktir. Klasik sitogenetiğe göre a-CGH; iki kat daha fazla ek anomali saptamayı sağlamaktadır (Bejjani & Shaffer, 2006). Fakat bununla birlikte dengeli kromozomal anomalileri ve poliploidileri tespit edememesi bu tekniğin dezavantajlarıdır.

Array-CGH klinikte birçok alanda kullanılabilir. Klinik şüphe taşıyan mental retardasyon vakalarında sitogenetik normal sonuç verdiğinde daha ayrıntılı ileri analiz yöntemi olarak, prenatal tanıda ultrason bulguları varlığında sitogenetik açıklayıcı olmadığı durumlarda ileri analiz olarak, kanser sınıflandırılması, takibi ve araştırmalarında ve dengeli olmayan translokasyonların saptanmasında kliniğe yardımcı bir yöntem olarak a-CGH kullanılmaktadır (Baptista vd., 2008).

2.2.4.1.1. Array-CGH tekniği

Array-CGH tekniğinin temeli ilk olarak 1996 yılında Solinas-Toldo ve arkadaşları tarafından atılmıştır. DNA' nın bir substrata bağlanıp belirlenmiş bir gen veya fragment ile prob hazırlanması olarak tanımlanan Southern Blot tekniğinden temel almaktadır. Farklı olarak membran yerine cam kullanılmaktadır ve radyoaktivitenin yerini floresan işaretler almıştır. Bu teknik temel olarak iki farklı

floresan boya ile işaretlenmiş referans ve hasta DNA' larının cam slayta immobilize edilerek hibridizasyonuna dayanır. Bu teknik sayesinde genomda çok farklı ve çok sayıda lokusun DNA kopya sayısı farklılıkları saptanabilmektedir. Referans DNA ile hasta DNA' sı arasındaki yüzlerce nükleotit farklılıkları, varsa mikrodelsiyon ve duplikasyonları bu teknik sayesinde yakalanabilmektedir (Cappuccio vd., 2016).

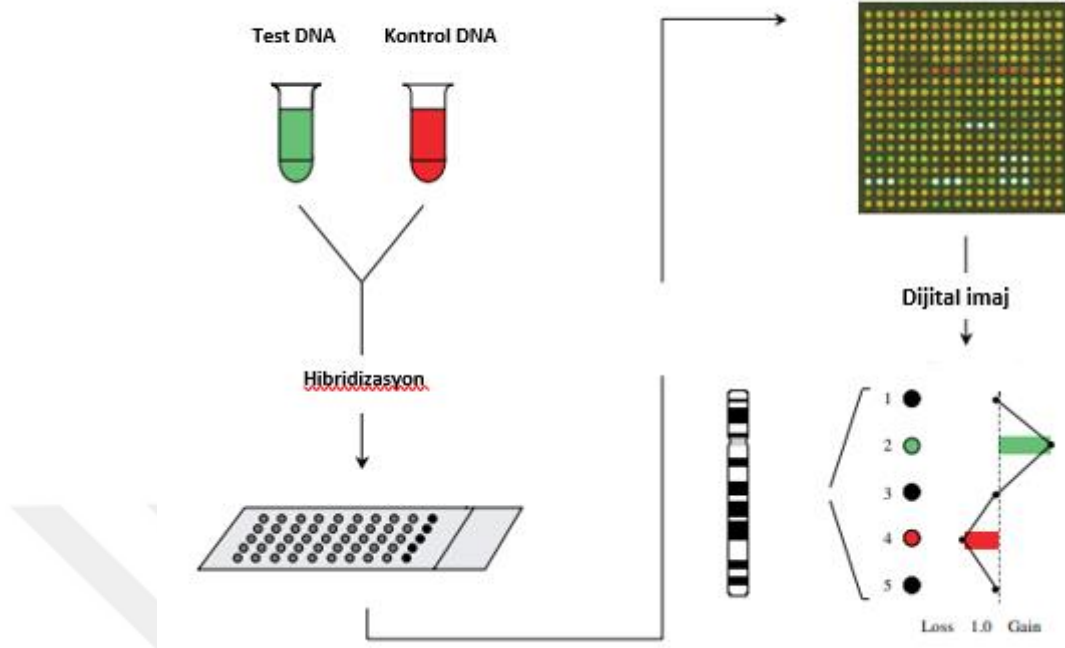
Array-CGH yöntemi kullanılarak kopya sayı varyantları olarak adlandırılan delesyon veya duplikasyonlar referans DNA ile karşılaştırılarak ortaya çıkarılabilmektedir. Bu KSD' ler kilobaz boyutundan megabaz boyutuna kadar değişkenlik gösterebilir (Hoffman & Ph, 2012). Böylelikle bu değişikliklerin hastalıklarla ilişkisi gen boyutunda ortaya çıkarılmaktadır.

2.2.4.1.2. Array-CGH prensibi

Array tekniği için öncelikle kan, amniyon gibi vücut materyallerinden DNA izole edilir. Hastaların DNA' sı ve protokolde kullanılacak referans DNA miktarları birbirleriyle olabildiğince eşitlenir. Bu işlemden sonra array tekniği temelde dört işleme dayanır. Bunlardan ilki; restriksiyon aşamasıdır ve DNA restriksiyon enzimleriyle kesilir. İkincisi; işaretlenme aşamasıdır, hasta ve referans için farklı olan Cyanin-3 (Cy-3) ve Cyanin-5 (Cy-5) sentetik reaktif boyalarla DNA' lar işaretlenir. Üçüncüsü; pürifikasyon ve dördüncü aşama hibridizasyon aşamasıdır.

Referans DNA ve hasta DNA' ları eşleştirilirken cinsiyetlerinin aynı olmasına dikkat edilmelidir. Hasta ve referanslara ait genomik DNA' lar PCR ile restriksiyon enzimleri kullanılarak kesilir. Kesilmiş hasta DNA' ları mavi renkte olan Cyanin-3 ile, referans DNA' ları kırmızı renkte olan Cyanin-5 ile işaretlenir ve karıştırılarak aynı slayt üzerine uygulanır. Bu aşamada amaç; işaretlenmiş DNA' ların slayt üzerine tutturulmuş problardan dizi eşleniği olanlar ile hibridize olmasıdır. Hibridizasyon aşamaları tamamlandıktan sonra yıkama işlemleri gerçekleştirilir ve slayt cam tutucu bar içerisine yerleştirilerek tarama (scan) ve analizleri gerçekleştirilir (Şekil 2.7).

Problar yapay bakteri kromozomlarından (BAC'lar), P1 (PAC) klonları formlarında insan genomik DNA parçaları şeklinde ya da sentetik oligonükleotidler şeklinde olabilmektedir. Farklı a-CGH platformlarının genomik çözünürlüğü kullanılan DNA problemlerinin uzunlukları ve sıklıkları ile belirlenmektedir (Shaffer vd., 2007)



Şekil 2.7. a-CGH Prensi (Oostlander vd., 2004).

2.2.4.1.3. a-CGH avantaj ve dezavantajları

Array CGH yöntemiyle hemen hemen tüm dengesiz kromozom anomalileri tespit edilebilmektedir. Karyotip analizlerinde gözlemlenemeyen ve normal olarak rapor edilen anomaliler array tekniğiyle saptanabilmektedir. Tipik olarak bölgeye spesifik çoklu problemler kullanılan FISH ve MLPA yöntemleriyle karşılaştırıldığında a-CGH genom boyu anomalileri analiz edebilme olanağı sağlamasıyla büyük avantaja sahiptir. Aynı zamanda a-CGH tekniği; karyotip analizinin aksine bölünmüş hücrelere ihtiyaç duymaz. 1 kilobaza kadar küçük kayıp veya kazançları saptayabilecek yüksek rezolüsyona sahiptir. Bütün kromozom anöploidilerini tespit edebilir. Telomerik düzenlemeleri tespit etme bakımından diğer yöntemlerden daha başarılıdır. Çalışmanın kalitesini kontrol edebilme imkanı sağlar.

Array-CGH yönteminin en önemli dezavantajlarından biri dengeli yapısal anomalileri saptayamamasıdır. Ayrıca genetik bozukluklar içerisinde kromozomal dengesizliklerin yanı sıra, gen düzeyindeki nokta mutasyonları kaynaklı hastalıklar da bulunmaktadır. Ancak a-CGH, rezolüsyonu nedeniyle bp düzeyindeki nokta mutasyonlarını belirleyemez. Ayrıca oligonükleotid a-CGH, mozaizm, poliploidi, uniparental dizomi, genomik imprinting hakkında da bilgi verememektedir.

Günümüz koşullarında konvansiyonel sitogenetiğe göre çok daha pahalı bir yöntem olması da dezavantajlarından biridir (De Ravel vd., 2007).

2.2.4.1.4. SNP-Array (Single Nucleotide Polymorphism Array)

Genomda belirli bir baz lokalizasyonunda meydana gelen tek nükleotid değişiklikleri, SNP yani tek nükleotid polimorfizmi olarak adlandırılmaktadır. SNP' ler tüm genetik varyasyonların neredeyse %90' ını oluşturmaktadır. İnsan genomunda ortalama her 300 nükleotid arasında yerleşmiş şekilde SNP' ler bulunmaktadır ve birçoğunun 2 alleli mevcuttur (LaFramboise, 2009).

SNP-Array; genomun içerdiği SNP' nin genotiplenmesi amacıyla geliştirilmiştir ve genetik varyasyonların tespitinde kullanılmaktadır. SNP-Array; CGH tekniğine benzer şekilde hibridizasyon temeline dayanır. Bu teknikte bilinen iki allel ile eşleşen oligonükleotid probalar kullanılarak hibridizasyon oranlarına göre genotip belirlenmektedir. SNP-Array tekniğinde; SNP' leri saptayabilme açısından hassas, KSD' leri saptayabilme açısından daha az hassas, 20-30 bazlık kısa oligonükleotidler kullanılmaktadır. Genomda bulunan delesyon veya duplikasyon gibi yapısal dengesizlikler ölçülen toplam sinyal seviyesini değiştirerek KSD' leri saptama ve analiz etme imkanı sağlamaktadır (Beaudet, 2013). aCGH tekniği ile benzerlik göstermekle birlikte farklı olarak SNP-Arrayde yalnızca olgu DNA' sı işaretlenmektedir. Olgu DNA' sının içerdiği SNP allelinin sinyal yoğunluğu, yapay referans sinyal yoğunlukları ile karşılaştırılmaktadır ve böylece SNP-Array ile sadece genomdaki kayıp veya kazançların tespiti değil aynı zamanda allelik dengesizlikler de belirlenebilmektedir. Günümüzde her iki array platformunu bir araya getirerek aynı platformda birleştiren CGH+SNP arrayleri kullanılmaktadır. Bu teknik ile; allel kaybı, heterozigosite kaybı, uniparental dizomi ve paternite tespit edilebilmektedir (Erzurumluoğlu, 2018).

2.2.4.1.5. a-CGH ve SNP-Array karşılaştırılması

Array-CGH ve SNP-Array; yöntem ve dayandıkları temel prosedürler olarak birbirine benzer olsa da aralarında birçok farklılıklar vardır. Bunlardan biri içerdikleri problemlerdir. Array-CGH tekniğinde sadece KSD analizi için geliştirilmiş, 50-70 baz uzunluğunda oligonükleotid problemler kullanılmaktadır. SNP-Array yönteminde ise SNP' lere özel geliştirilmiş yirmi baz uzunluğundaki kısa problemlerin yanı sıra KSD' lerin analizi için uzun oligonükleotid problemler de kullanılmaktadır.

Böylece a-CGH yalnızca KSD analizi için kullanılırken SNP-Array, SNP' lere ek olarak KSD, UPD ve paternite analizlerinde de kullanılabilir (Shinawi & Cheung, 2008).

Array-CGH yönteminde hem hasta hem de sağlıklı kontrolden genomik DNA elde edilmesi ve bunların farklı florokromlarla işaretlenerek aynı dizi üzerinde hibridize edilmesi gerekmektedir. Böylece ortaya çıkan sinyal paternindeki farklılıklardan KSD' ler saptanabilmektedir. SNP-Array yönteminde ise yalnızca hasta örneğinden genomik DNA elde edilmesi yeterlidir. İçerdiği referans DNA' lar ile hibridizasyon yapılarak elde edilen sinyal paternlerindeki farklılıklar, öncesinde KSD analizi yapılmış ve toplanmış kontroller ile karşılaştırılarak değerlendirilir (Shinawi & Cheung, 2008).

SNP-Array'de problemlerin yerleşimi SNP'lerin lokalizasyonuna bağımlı olduğundan çözünürlük sınırlı kalmaktadır. Bunun aksine array-CGH'de çözünürlüğü artırmak amacıyla prob içeriği, kapasitesi, lokalizasyonları belirlenirken daha geniş çaplı düşünülebilmekte ve bu sayede tek ekzona kadar çözünürlük elde edilebilmektedir (Han & goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee, 2019).

2.2.5. İntrakraniyal anevrizmalarda KSD

İntrakraniyal anevrizma; etiolojisinde hem çevresel hem de genetik faktörlerin eşit derecede role sahip olduğu çok faktörlü bir hastalıktır. İntrakraniyal anevrizmaların oluşumunda konjenital ve sonradan oluşan dejeneratif değişiklikler birlikte rol oynamaktadır. İkiz çalışmalarında aynı bölgelerde anevrizmaların saptanması anevrizma formasyonunda herediter faktörlerin varlığını düşündürmektedir. Etnik orijine bağlı kalmaksızın, İA olgularının %7-20 kadarında pozitif aile öyküsünün olduğu, birinci derece akrabalarda riskin arttığı bildirilmiştir (Santiago-Sim vd., 2016). Ayrıca birçok çalışma; SAK gözlenen olguların 1. ve 2. derece akrabalarında artmış İA ve SAK varlığını ortaya koymuş ve insidansının yaklaşık %6-10 olduğunu bildirmiştir (Broderick vd., 2005). Aile öyküsüne bağlı ailesel yatkınlığın gözlenmesi, genetik faktörlerin İA gelişiminde rolü olduğunu desteklemektedir.

Familiyal intrakraniyal anevrizma üzerinde dünya çapında yapılmış genom çapı ilişkilendirme çalışmalarında bazı sık rastlanan varyantlara yoğunlaşmış olmakla

birlikte bu varyantların hastalık gelişiminde minör etkiye sahip oldukları düşünülmektedir (Y. Q. Wu vd., 2018).

Buna ek olarak İA' lar için, 4q31.23 kromozom bölgesinde EDNRA, kromozom 8q12.1 üzerinde SOX17, 9p21.3 kromozomal bölgesinde CDKN2A, CDKN2B, CDKN2BAS, 10q24.32 kromozom bölgesinde CNNM2, 12q22 kromozom bölgesinde KL/STARD13, 13q13.1 kromozomunda RBBP8, kromozom 20q12.2 ve 20p12.1.3-6 bölgelerinde bazı yatkınlık lokusları saptanmıştır. Ancak bu genlerin, İA için popülasyona atfedilebilen riskin sadece bir kısmını açıklayabilmektedir (Akiyama vd., 2010; Bilguvar vd., 2008; Yasuno vd., 2011).

Intrakraniyal anevrizma vakalarında DNA kopya sayısı aberasyonların çalışıldığı sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılabilmektedir. Bu konuda ilk çalışma Choi ve ark. tarafından 2009 yılında yirmi üç rüptüre İA' lı hastada yapılmıştır. Çalışma sonucunda on dokuz kromozomal bölgede KSD' ler tespit etmişler ve bu bölgede bulunan genlerin İA rüptürü ile bağlantılı olabileceğini raporlamışlardır (Choi vd., 2009). Japon popülasyonunda gerçekleştirilen bir çalışmada mikroarray yöntemi ile SNP genotipleme yapılarak SAK'lı hastalarda toplam beş yüz doksan yedi ortak KSD belirteci saptanmış ve bunun üzerinde aynı ekibin SAK gelişen ve gelişmeyen İA' lı hastalarda yaptığı bir diğer çalışmada, tespit ettikleri KSD bölgelerinin SAK riski ile ilişkisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda bin altı yüz kırk dört ortak KSD bölgesi saptanmış, data analizleri sonucunda 2 KSD bölgesinin (del4q31.3, dup10p15.1) SAK riski ile anlamlı derecede ilişkili olduğu belirtilmiştir (Bae vd., 2010). Fan ve ark, yaptıkları KSD çalışmasında WWOX genini içeren delesyonların, Çin İA vakalarında risk tahmini yapmak için kullanılabilir genetik bir biyobelirteç olabileceğini raporlamışlardır (Fan vd., 2016).

Yapılan çalışmalar KSD' lerin SAK riski ile ilişkisi olabileceğini hakkında ipuçları vermekle birlikte bu konuda yapılan çalışmalar oldukça sınırlı kalmıştır. Bu nedenle her yeni çalışma İA' ların gelişimine etkisi olabilecek genlerin tanımlanmasına ve İA oluşum mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına öncülük edecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Çalışmamıza, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Nöroloji ve Beyin ve Sinir Cerrahisi uzmanları tarafından anevrizma tanısı alan olgular dahil edilmiştir. Tüm hastalarda intrakraniyal sakküler anevrizma varlığı, serebral diagnostik anjiyografi, tomografi anjiyografi veya MR Anjiyografi ile tespit edilmiştir. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri EDTA' lı tüpe alınarak laboratuvarımıza ulaştırılmıştır.

Çalışmamız Eylül 2020- Kasım 2020 tarihler, arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda olgu ve kontrol sayısının belirlenmesi amacıyla, PASS 11 paket programı ile, Jin Soo Choi ve ark. tarafından yayınlanan 'Identification of DNA copy number aberrations by array comparative genomic hybridization in patients with ruptured intracranial aneurysms' adlı makalede görülme oranları göz önünde bulundurularak %5 hata ile güven aralığı yaklaşımı kullanılarak tek oran testi ile güç analizi yapılmıştır. %80 güç ile en az kırk altı kişinin çalışmaya dahil edilmesi uygun bulunmuştur (Choi vd., 2009). Çalışmamızda rüptüre anevrizma öykülü yirmi dört ve unrüptüre anevrizma öykülü yirmi dört olmak üzere toplam kırk sekiz olgu ve confirmasyon amacıyla ailesinde ve kendisinde İA öyküsü bulunmayan 8 sağlıklı kontrol olgusu; periferik kan hücrelerinden elde edilen genomik DNA'larından, tüm genomdaki KSD' lerin saptanması amacıyla array-CGH+SNP yöntemi ile incelenmiştir.

Çalışma kapsamında olguların dahil edilme ve edilmeme kriterleri aşağıda özetlenmiştir;

Dahil edilme kriterleri:

- 1)18 yaş ve üzeri intrakraniyal anevrizma tanısı alan vakalar

Dahil edilmeme kriterleri:

- 1)Travmatik, mikotik ya da disekan anevrizma varlığı
- 2)Kan beyin bariyerini bozacak ek hastalık, kemoterapi ya da travma hikayesinin olması
- 3)Polikistik böbrek hastalığı, Ehler Danlos Sendromu, Marfan Sendromu gibi sendromik hastalığa sahip olanlar

4)Hipertansiyon, sigara içimi ve alkol kullanımını gibi anevrizma risk faktörü bulunan olgular

3.2. Gereçler

3.2.1. Kullanılan aletler

- Hibridizasyon Fırını (Agilent)
- Hibridizasyon Fırını Rotatoru (Agilent)
- Hibridizasyon Haznesi (Agilent)
- Hibridizasyon Haznesi Contalı Lamı (Agilent)
- Mikroarray Tarayıcısı (Agilent)
- Manyetik Karıştırıcı Çubuk (Corning)
- Isıtma Özellikli Manyetik Karıştırıcı (Corning)
- Ozon Bariyer Lam Kapağı (Agilent)
- 1.5 L Cam Tabak (Borcam)
- Lam yıkama plakaları (Wheaton)
- Lam tutucusu (Agilent)
- Pipet seti (Gilson)
- Polimeraz Zincir Reaksiyonu Cihazı (PE GenAmp System 9700)
- Vorteks (Heidolph)
- Derin Dondurucu (Arçelik)
- Buzdolabı (Arçelik)
- Strip (Perkin Elmer)
- Mikrofüj Tüpleri (Ambion)
- Toplama Tüpü (Qiagen)
- Spin kolonu (Qiagen)
- Spektrofotometre (NanoDrop ND-1000)
- Su banyosu
- Termostat (Biosan)

3.2.2. Kullanılan kimyasal malzemeler

- Proteinaz K Solüsyonu (Qiagen)
- İnsan gDNA'sı (Kadın/Erkek)
- CGH+SNP Microarray Kit 4x180K, Agilent Inc, USA

- Alu I (Agilent)
- Rsa I (Agilent)
- Genomik DNA enzimatik Etiketleme Kiti (Agilent)
- Oligo aCGH Yıkama Tamponu 1 ve 2 (Agilent)
- Oligo aCGH Hibridizasyon Kiti (Agilent)
- 1xTE (Tris EDTA, pH 8.0) (Agilent)
- Asetonitril (Sigma)
- PBS
- Distile Su

3.3. Yöntem

3.3.1. DNA izolasyonu

Hasta bireylerden EDTA'lı tüpler içerisine 2 cc periferik kan örneği alınmıştır.

- Her hasta için birer ependorf tüp içerisine önce 10 µL Proteinaz K (20 mg/ml) eklenmiştir. Sonra 200 µL periferik kan örneği ve 200 µL ekstraksiyon tamponu eklenmiş ve 15 sn vorteks yapılmıştır.
- Tüpler 15 dk 56°C'de su banyosunda bekletilmiştir. Süre sonunda örneğin tüpün dibinde toplanmasını sağlamak amacıyla kısa bir santrifüj yapılmıştır.
- Tüplere 210 µL binding solüsyon eklenip, vorteks yapılmıştır.
- Daha sonra karışım 1,5 ml'lik tüp içerisine yerleştirilen spin kolona aktarılarak, 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş ve süre sonunda tüpün dibinde toplanan sıvı dökülmüştür.
- Spin kolona 650 µL yıkama tamponu 1 eklenip, 8000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilmiş ve DNA, kolonda kalırken tüpün dibinde toplanan sıvı dökülmüştür.
- Ardından spin kolona 500 µL yıkama tamponu 2 eklenip, 8000 rpm'de 1 dk. santrifüj edilmiştir ve süre sonunda tüpün dibinde toplanan sıvı dökülmüştür.
- Spin kolona 250 µL yıkama tamponu 2 eklenip, 14000 rpm'de 3 dk. santrifüj edilmiştir ve süre sonunda tüpün dibinde toplanan sıvı dökülmüştür.
- Spin kolon yeni bir 1,5 ml'lik tüpe aktarılmıştır ve 200 µL elüsyon tamponu eklenerek, 5 dk oda ısısında bekletilmiş, süre sonunda 8000 rpm'de 1 dk santrifüj edilerek DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.3.2. Genomik DNA' nın analizi

Array-CGH deneyimizin başarısı için gDNA' nın niceliksel ve niteliksel değerlendirmesinin doğru şekilde yapılması çok önemlidir. Genomik DNA'nın kaliteli olması için, karbonhidrat, protein ve organik çözücüler gibi atıklardan arınmış olması ve degradesyona en az düzeyde uğramış olması gerekmektedir. Genomik DNA'nın saflığının ve konsantrasyonunun değerlendirilmesi için NanoDrop ND-1000 UV-VIS Spektrofotometresi kullanılmıştır.

- NanoDrop program menüsünden ‘Nükleik Asit Ölçümü’ seçilmiş ve örnek tipi DNA-50 olarak ayarlanmıştır.
- Cihazın ölçüm ayarını sıfırlamak için 1.5 µL distile su ve 1.5 µL elüsyon tamponu ile blank yapılmıştır.
- Hasta kanlarından elde edilen gDNA örneklerinin her birinden 1.5 µL kullanılarak DNA konsantrasyonu ölçülmüştür.
- Ürün miktarları aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Ürün}(\mu\text{g}) = \frac{\text{DNA konsantrasyonu} \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \right) \times \text{Örnek hacmi}}{1000 \text{ ng}/\mu\text{g}}$$

- Yüksek kalitedeki ve kontamine olmamış gDNA'nın A260/A280 oranı 1.8-2.0 arasında olmalıdır.

3.3.3. Genomik DNA' nın enzimatik etiketleme kiti ile restriksiyon kesimi

- Her bir PCR tüpüne dört hasta ve dört referans DNA örneklerinden 20,2 µL eklenmiştir.
- Restriksiyon kesim karışımı hazırlanmıştır. (Tablo 3.1)
- Hazırlanan restriksiyon kesim karışımından 5.8 µl, hasta ve referans DNA'larının her birinin üzerine eklenmiş ve tabloda belirtilen programda PCR cihazına yüklenmiştir (Tablo 3.2).
- PCR döngüsünün bitmesinin ardından her bir PCR tüpü içerisine 5 µl ‘Random Primer’ pipetaj yapılarak eklenmiştir.
- PCR cihazı ‘denatürasyon-fragmantasyon’ programı ayarlanmış ve örnekler bu programda çalıştırılmıştır. (Tablo 3.3)

- PCR döngüsünün bitmesinin ardından cihazdan çıkarılan örnekler -20 °C de 5 dk bekletilmiştir.

Tablo 3.1. Restriksiyon Kesim Karışımı Hazırlanması

Bileşen	Reaksiyon Başına (µl)	8 Reaksiyonluk (µl)
Distile su	2	18
10xRestriksiyon Enzim Tamponu	2,6	23,4
BSA	0,2	1,8
Alu 1	0,5	4,5
Rsa 1	0,5	4,5
Son hacim	5,8	52,2

Tablo 3.2. Restriksiyon PCR Programı

Basamak	Sıcaklık	Zaman
1	37 °C	2 saat
2	65 °C	20 dakika (dk)
3	4 °C	Beklet (∞)

Tablo 3.3. Denatürasyon - Fragmantasyon PCR Programı

Basamak	Sıcaklık	Zaman
1	95 °C	3 dk
2	4 °C	Beklet (∞)

3.3.4. Genomik DNA' nın floresan işaretlenmesi

- Flouresan işaretleme için iki farklı renkte işaretleyici içeren karışımlar hazırlanmıştır.

- Hasta DNA'ları için mavi renkte Cyanine 5-dUTP içeren floüresan işaretleme karışımı, referans DNA'lar için kırmızı renkte Cyanine 3-dUTP içeren floüresan işaretleme karışımı hazırlanmıştır (Tablo 3.4).
- Referans DNA'ların bulunduğu tüplere Cy-3, hasta DNA'larının bulunduğu tüplere ise Cy-5 içeren karışımlardan 19 µl eklenmiştir.
- DNA etiketlemesi labeling PCR programıyla gerçekleştirilmiştir (tablo 3.5).

Tablo 3.4. Floresan İşaretleme Karışımı Hazırlanması

Bileşen	Reaksiyon başına (µL)	4 Reaksiyonluk (µL)
5xReaksiyon Tamponu	10	50
10xdNTP	5	25
Cyanine 3-dUTP Cyanine 5-dUTP	3	15
Exo (-) Klenow	1	5
Son Hacim	19	95

Tablo 3.5. DNA Etiketlenmesi PCR Programı

Basamak	Sıcaklık	Zaman
1	37 °C	2 saat
2	65 °C	10 dakika (dk)
3	4 °C	Beklet (∞)

3.3.5. Etiketlenmiş genomik DNA' nun temizlenmesi

- Her bir hasta ve referans örneği için etiketlenmiş birer 1.5 µL'lik mikrofütü tüpleri içerisine filtre yerleştirilmiştir (Amicon ultra-0.5, ultracel-30 membran, 30kDa).
- Her bir filtreli reaksiyon tüpüne DNA örnekleri, 430 µL 1xTE ile pipetaj yapılarak aktarılmıştır.

- Tüpler oda sıcaklığında 14.000xg'de, 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj ardından tüpün altında kalan örnek atılmış ve filtreler tekrar tüplere yerleştirilmiştir.
- Her bir tüpe filtreler üzerine 480 µL 1xTE eklenmiştir. Tüpler tekrar 14.000xg'de 10 dk santrifüj edilmiştir.
- Her bir örnek için yeni mikrofüj tüpleri etiketlenmiş ve santrifüjden çıkan tüplerin filtreleri ters çevrilerek yeni tüplere yerleştirilmiştir.
- Yeni tüpler 1000xg'de 1dk santrifüj edilerek temizlenmiş örnek elde edilmiştir.

3.3.6. Ürün miktarı ve spesifik aktivite hesaplanması

- Ürün miktarı ve spesifik aktivite hesaplanması Nanodrop ND-1000 UVVIS Spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır. NanoDrop program menüsünden MikroArray, örnek tipi olarak DNA-50 seçeneği ayarlanmıştır.
- Cihazın ölçüm ayarını sıfırlamak için öncesinde 1.5 µL distile su ve 1.5 µL TE tamponu ile blank yapılmıştır.
- Temizlenmiş etiketli örneklerden 1.5 µL kullanılarak her örneğin A260nm (DNA), A550nm (cyanine 3), A650nm (cyanine 5) absorbansı, gDNA konsantrasyonu ve hacmi ölçülmüştür.
- Spesifik aktivite yani µg genomik DNA başına pmol boya aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Spesifik aktivite} = \frac{\mu\text{l boya başına pmol}}{\mu\text{l gDNA başına } \mu\text{g}}$$

- Ürün miktarı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Ürün}(\mu\text{g}) = \frac{\text{DNA konsantrasyonu} \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}}\right) \times \text{Örnek hacmi}}{1000 \text{ ng}/\mu\text{g}}$$

- Spesifik aktiviteleri hesaplanarak birbirine en yakın değere sahip referans ve hasta örnekleri eşleştirilmiş ve DNA' ları tek bir tüpte birleştirilmiştir.

3.3.7. Etiketlenmiş genomik DNA' nın hibridizasyona hazırlanması

- Hibridizasyon karışımı Tablo 3.6' da gösterildiği şekilde hazırlanmıştır.

- Referans ve hasta örneklerinin birleştirilmesiyle hazırlanan her bir karışımdan 39 µl yeni PCR tüplerine aktarılmıştır.
- DNA örneklerinin üzerine hibridizasyon karışımından 71 µl pipetaj yaparak eklenmiştir.
- Örneklerin hibridizasyonu için ayarlanan programda PCR cihazına yüklenmiştir (Tablo 3.7).

Tablo 3.6. Hibridizasyon Karışımı Hazırlanması

Bileşen	Hibridizasyon başına hacim (µL)
Cot-1 DNA (1.0 mg/mL)	5
10x aCGH bloke edici ajan	11
2x HI-RPM hibridizasyon tamponu	55
Son Hacim	71

Tablo 3.7. Hibridizasyon PCR Programı

Basamak	Sıcaklık	Zaman
1	95 °C	3 dk
2	37 °C	30 dk

3.3.8. Mikroarray hibridizasyonu

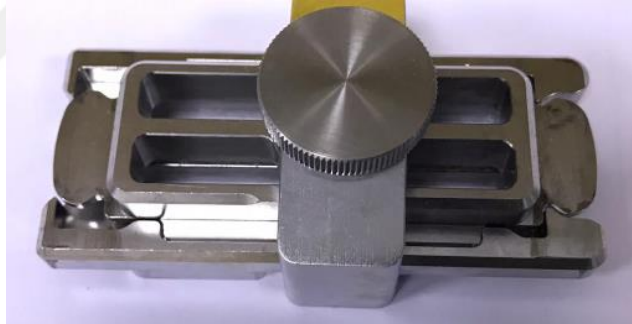
- Hibridizasyon haznesine dört hazneli temiz contalı lam, tabanına tam olarak oturtularak yerleştirilmiştir (Şekil 3.1).
- Conta ile çevrelenmiş bölümlerin her birine hibridizasyon örnek karışımından 100 µL alınarak ‘sürükle ve dağıt’ metodunu ile yayılmıştır.
- Array slaytının ‘Agilent’ etiketli yüzü problemleri içerdiğinden bu tarafı aktif yüz olarak adlandırılır. Dolayısıyla slayt, aktif yüz contalı lamın üst yüzeyine gelecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.2).
- Hibridizasyon haznesi iyice sıkılarak kapatılmış ve önceden ayarlanmış 65°C hibridizasyon fırınının rotator yuvasına yerleştirilmiştir. Denge için

simetriğine gelecek şekilde bir diğer hibridizasyon haznesi daha yerleştirilmiştir.

- Rotator hızı 20 devir/dakika olarak ayarlanmıştır ve 65°C fırında 16-24 saat hibridizasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.1. Mikroarray Slaytın Contalı Lam Üzerine Yerleştirilmesi



Şekil 3.2. Hibridizasyon Fırınına Yerleştirilmeden Önce Hibridizasyon Haznesinin Sıkıştırılması

3.3.9. Hibridizasyon sonrası yıkama

- Hibridizasyon sonrası yıkama için kullanılacak tüm malzemeler öncelikle %100 asetonitril ile yıkanarak ardından distile su ile iyi bir şekilde durulanmıştır.
- Hibridizasyon süresinin dolmasının ardından haznesinden çıkarılan slayt, yıkama solüsyonu 1 içerisinde contalı lamdan ayrılmıştır.
- Hemen ardından slayt, manyetik karıştırıcı üzerinde bulunan yıkama solüsyonu 1 içerisinde 5 dk. bekletilmiştir.

- Yıkama solüsyonu 1' den çıkartıldıktan sonra 37°C'ye ayarlı manyetik karıştırıcı üzerinde bulunan yıkama solüsyonu 2 içerisinde 1 dk bekletilmiştir.
- Ardından asetonitril içerisinde 10 saniye, stabilizasyon solüsyonu içerisinde 30 saniye bekletilen slaytların yıkamaları tamamlanmış ve yıkamalar sonucunda slayt, hibridizasyon sırasında oluşan yanlış bağlanmalardan temizlenmiştir.
- Mikroarray slaytı, lam tutucusuna 'Agilent' etiketi yani aktif yüzü üst tarafta kalacak şekilde yerleştirilmiş, lam kapağı da kapatılarak lam tutucusuna uygun şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Slaytı Lam Tutucusuna Yerleştirme

3.3.10. MikroArray taratılması

- Lam tutucu, tarayıcı cihaza yüklenmiştir. Bağlı olduğu bilgisayardan 'Scan Control' programı kullanılarak slayt üzerindeki veri bilgisayara aktarılmıştır.

3.3.11. Verilerin analizi

- Tarama işlemi bittikten sonra aberasyonları analiz etmek için imaj dosyasından (.tiff) veri çıkartma ve log oranlarına dönüştürme işlemi yapmak amacıyla *Feature Extraction Software For Cytogenomics* (versiyon 4.0.1.21) yazılımı kullanılmıştır.
- Analizler *Agilent CytoGenomics* (versiyon 4.0.2.21) programında yapılmıştır.

3.3.12. KSD'lerin değerlendirilmesi

- Analiz aşamasında 5 probun altındaki bağlanma bölgeleri değerlendirmeye alınmamıştır.
- Sınıflandırma belirli kriterler dikkate alınarak yapılmıştır. Saptanan KSD; eğer daha öncesinde DGV veritabanında 3 çalışmadan fazla gösterilmiş ise, gen içeriği yok ise ve toplumda %1'den fazla bulunuyor ise 'benign' olarak sınıflandırılmıştır.
- Saptanan KSD; bilinen mikrodelesyon/duplikasyon sendromu ile örtüşüyor ve fenotipe neden olan, dozaj-sensitif bir gen içeriyorsa 'patojenik' olarak sınıflandırılmıştır.
- Saptanan KSD; bahsedilen kriterleri içermiyor ve toplumda %1'in altında görülüyor ise nadir KSD'ler olarak kabul edilmiştir. Bu nadir KSD'lerin etkisi henüz belirlenmemiş ve OMIM genleri içermiyorsa, 'VUS yani önemi belirsiz varyant' olarak sınıflandırılmıştır.

Sonuçların yorumlanması için kullanılan veri tabanları aşağıda belirtilmiştir.

- a. DGV (Database of Genomic Variants) (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>),
- b. DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) (<http://decipher.sanger.ac.uk/>),
- c. Cytogenomics Array Group CNV Database (<https://www.cagdb.org>),
- d. UCSC (University of California, Santa Cruz) (<http://genome.ucsc.edu/>),
- e. PubMed kapsayan NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),
- f. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<http://omim.org/>)
- g. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (<https://www.genome.jp/kegg/>),
- h. RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics): Protein veri bankası (<http://www.rcsb.org/pdb>)

i. PubChem : Kimyasal bilgi veritabanı
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

3.3.13. İstatistiksel analiz

- KSD oranlarının hasta grubunda frekanslarının belirlenmesi ve karşılaştırılması için ki-kare ve Fisher's exact testleri kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Rüptüre ve unrüptüre intrakraniyal anevrizmalı olgularda kopya sayısı varyasyonlarının mikrodizin teknolojisi ile incelenerek olası varyasyonların belirlenmesi ve olgularda saptanan varyantların anevrizma rüptürüne etkisini değerlendirilmesini amaçladığımız çalışmamıza yirmi dört rüptüre ve yirmi dört unrüptüre olmak üzere kırk sekiz hasta ve konfirmasyon amacıyla ailesinde ve kendisinde İA öyküsü bulunmayan sağlıklı 8 kontrol olgusu dahil edilmiştir. Hasta grubu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ve Beyin Cerrahisi Anabilim Dallarında nonsendromik İA tanısı alan olgulardan oluşmaktadır. Tüm hastalarda intrakraniyal anevrizma varlığı, serebral diagnostik anjiyografi, tomografi anjiyografi veya MR Anjiyografi ile tespit edilmiştir. Olgulardan alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonları ile yöntem bölümünde detaylarıyla açıklanan genetik analizler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir.

Yaş ve cinsiyetin anevrizma için bir risk faktörü olmasından dolayı çalışma grubundaki bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımları belirlenmiştir. Olgularımızın yaş, cinsiyet ve hastalık bilgileri Tablo 4.1' de verilmiştir. Bu veriler doğrultusunda çalışma grubumuzun yirmi dördünü erkek, yirmi dördünü kadın hastalar oluşturmaktadır. Kadın olguların yaş ortalaması 52,88 ve erkek olguların yaş ortalaması 53,08' dir. Genel yaş ortalaması 52,97' dir. Yapılan istatistik değerlendirme sonucu olgularımız arasında cinsiyete göre bir fark görülmemiştir ($p>0,005$).

Kontrol olgularımızın yaş ve cinsiyet bilgileri Tablo 4.2' de verilmiştir. Bu veriler doğrultusunda 8 kontrol olgusunun 4' ü kadın ve 4' ü erkeklerden oluşmaktadır. Kadın kontrol olgularımızın yaş ortalaması 56,75 ve erkek kontrol olgularımızın yaş ortalaması 57,25' tir. Kontrol olgularımızda genel yaş ortalaması 57' dir. Ayrıca olgularımızın yaş dağılımları ilgili şekilde gösterilmiştir (Şekil 4.1).

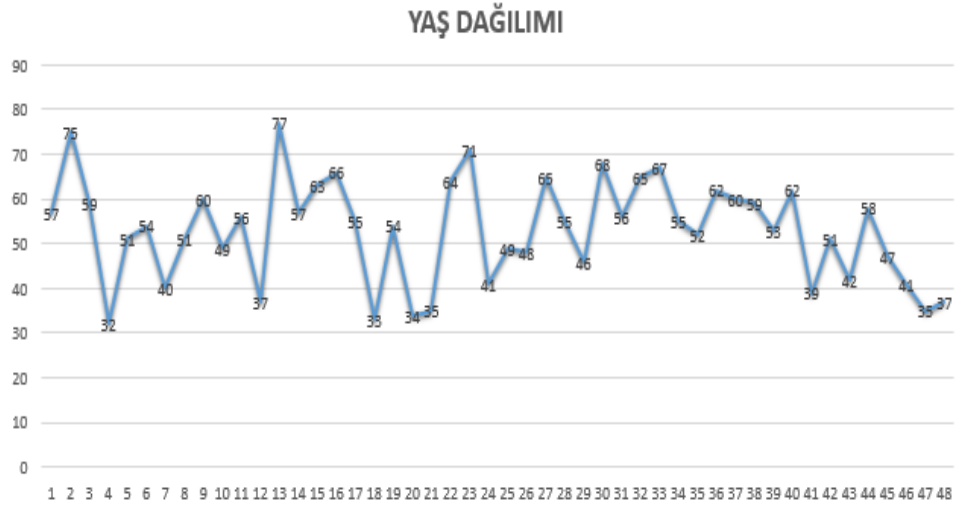
Tablo 4.1. Çalışmamıza Dahil Edilen Hastaların Demografik ve Klinik Verileri

OLGU	YAŞ	CİNSİYET	ANEVRİZMA
1	57	Erkek	Kanamış
2	75	Erkek	Kanamış
3	59	Erkek	Kanamış
4	32	Kadın	Kanamış
5	51	Erkek	Kanamış
6	54	Erkek	Kanamış
7	40	Kadın	Kanamış
8	51	Erkek	Kanamış
9	60	Erkek	Kanamış
10	49	Kadın	Kanamış
11	56	Erkek	Kanamış
12	37	Erkek	Kanamış
13	77	Erkek	Kanamış
14	57	Kadın	Kanamış
15	63	Kadın	Kanamış
16	66	Erkek	Kanamış
17	55	Erkek	Kanamış
18	33	Erkek	Kanamış
19	54	Kadın	Kanamış
20	34	Erkek	Kanamış
21	35	Erkek	Kanamış
22	64	Kadın	Kanamış
23	71	Kadın	Kanamış
24	41	Erkek	Kanamış

25	49	Kadın	Kanamamış
26	48	Kadın	Kanamamış
27	65	Erkek	Kanamamış
28	55	Kadın	Kanamamış
29	46	Kadın	Kanamamış
30	68	Kadın	Kanamamış
31	56	Erkek	Kanamamış
32	65	Erkek	Kanamamış
33	67	Kadın	Kanamamış
34	55	Kadın	Kanamamış
35	52	Kadın	Kanamamış
36	62	Kadın	Kanamamış
37	60	Kadın	Kanamamış
38	59	Erkek	Kanamamış
39	53	Kadın	Kanamamış
40	62	Kadın	Kanamamış
41	39	Kadın	Kanamamış
42	51	Erkek	Kanamamış
43	42	Erkek	Kanamamış
44	58	Erkek	Kanamamış
45	47	Kadın	Kanamamış
46	41	Kadın	Kanamamış
47	35	Kadın	Kanamamış
48	37	Erkek	Kanamamış

Tablo 4.2. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularının Yaş ve Cinsiyet Verileri

OLGU	YAŞ	CİNSİYET
1	34	Kadın
2	56	Kadın
3	61	Kadın
4	76	Kadın
5	68	Erkek
6	47	Erkek
7	49	Erkek
8	65	Erkek



Şekil 4.1. Çalışma Grubumuzdaki Bireylerin Yaş Dağılım Grafiği

Çalışma grubumuzu oluşturan hastalarda mikrodizin teknolojisi ile kopya sayısı varyasyonları araştırılmış ve bunun sonucunda toplam yüz otuz bir KSD saptanmıştır. Kanamış ve kanamamış olgular öncelikle kendi içlerinde ayrı ayrı değerlendirilmiş daha sonra aralarındaki ortaklıklar değerlendirilmiştir. Kanamış intrakraniyal anevrizmalı olgularımızda toplamda elli yedi KSD saptanmıştır. Bu

KSD'lerin yirmi dokuzu polimorfik varyant olarak değerlendirilmiştir. Kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularımızda toplamda yetmiş dört KSD bölgesi saptanmış ve bunların kırkı polimorfik varyant olarak değerlendirilmiştir. Kanamış ve kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda saptanan KSD'lerin büyüklükleri ve içerdikleri genler ilgili tablolarda yer almaktadır (Tablo 4.3 ve Tablo 4.4). En az 2 olguda saptanan KSD'ler koyu renkte gösterilmiştir. Bu veriler doğrultusunda kanamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda tekrarlayan varyasyonlar; MSX1, SHH, GNAS, PPP2R3B, TWIST1 genlerinde kazanç ve GDI1 geninde kayıp olarak belirlenmiştir. Kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda ise tekrarlayan varyasyonlar MSX1, SHH, GNAS genlerinde kazanç ile GDI1 ve NR2F2 geninde kayıp olarak saptanmıştır. Bu verilere göre kanamış ve kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgular arasında 9 ortak KSD saptanmıştır. Ortak saptanan KSD'ler ilgili tabloda gösterilmiştir (Tablo 4.5)

Tablo 4.3. Kanamış İntarakraniyal Anevrizmalı Olgularda Saptanan KSD'ler

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
1p31.1	134.054 bp	Kayıp	LINC01781	1
1p36.31	90.609 bp	Kayıp	MIR4417	1
2p11.2- p11.1	2.352.759 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	1
2p24.3	117.928 bp	Kayıp	SLC38A11	1
2q34	36.076 bp	Kayıp	LINC01878	1
4p16.2	880 bp	Kazanç	MSX1	6
4p22.3	222.992 bp	Kayıp	LINC02267	1
4q27	56.504 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	1
6p21.33	1.259 bp	Kazanç	TNXB	1
6p25.3	441 bp	Kazanç	FOXC1	1
6q15	376.77 bp	Kazanç	Gen içermiyor.	1
6q24.2	235 bp	Kazanç	PLAGL1, HYMAI	1
7p21.1	446 bp	Kazanç	TWIST1	2
7q36.3	1.645 bp	Kazanç	SHH	3

7q36.3	462 bp	Kazanç	EN2	1
10p11.23	334.043 bp	Kazanç	MTPAP, MAP3K8, LYZL2, GOLGA2P6, MIR7162	1
11p15.5	2.378 bp	Kazanç	KCNQ1	1
14q32.2	3.380 bp	Kazanç	DLK1	1
16p13.3	1.021 bp	Kazanç	SOX8	1
16q23.1	170.343 bp	Kazanç	CLEC18B, GLG1, NPIP15	1
20q13.32	1.054 bp	Kazanç	GNAS, LOC101927932	10
Xp22.33	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	7
Xp11.4	11.084 bp	Kazanç	BCOR	1
Xp11.23	1.006 bp	Kazanç	FTSJ1	1
Xq28	447 bp	Kayıp	GDI1	2
Yp11.2	353.13 bp	Kazanç	TSPY1, TTTY20, FAM197Y2	1
Yp11.32	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	5
Yp11.22-q11.23	979.044 bp	Kazanç	DAZ1, TTTY3, TTTY3B, CDY1, CDY1B	1

Tablo 4.4. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Saptanan KSD' ler

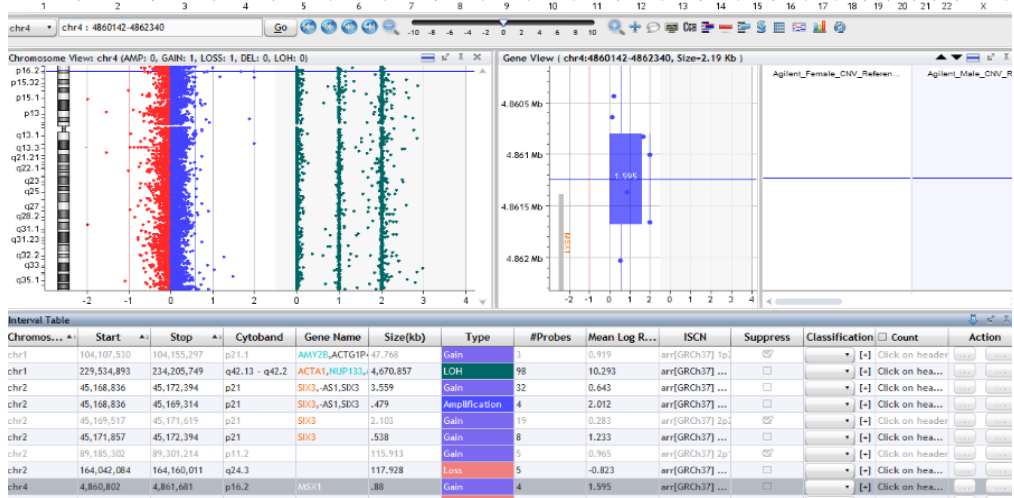
LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
1p21.2	180.923 bp	Kayıp	SLC30A7,DPH5	1
1p31.1	134.054 bp	Kayıp	LINC01781	1
1p35.2	141.647 bp	Kayıp	LINC01648	1
2p37.3	118.638 bp	Kazanç	COL6A3, MLPH	1
2p11.2-11.1	2.319.230 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	1
3p13	79.728 bp	Kayıp	EIF4E3	1
4p16.2	880 bp	Kazanç	MSX1	6
4p16.2	1.069 bp	Kayıp	MSX1	1
5q12.1	238.088 bp	Kazanç	IPO11, IPO11-LRRC70	1

6q22.3	111.711 bp	Kayıp	LAMA2	1
6q25.3	182.276 bp	Kazanç	TMEM242, ZDHHC14	1
6q27	86.428 bp	Kazanç	Gen içermiyor.	1
7q31.1	119.575 bp	Kazanç	NRCAM	1
7q36.3	1.645 bp	Kazanç	SHH	2
9p13.1-p12	1.472.105 bp	Kayıp	SPATA31A7, FAM74A1, ZNF658B	1
9p21.1	106.386 bp	Kayıp	ACO1	1
10q21.3	416.754 bp	Kayıp	ANXA2P3	1
11p15.5	2.378 bp	Kazanç	KCNQ1	1
12p12.3	202.167 bp	Kazanç	AEBP2	1
12p13.31	390.882 bp	Kayıp	PZP, DOX12P, AZMP1	1
12q21.33	107.402 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	1
14q11.2	583.416 bp	Kayıp	LOC105370401	1
14q23.1	529 bp	Kazanç	SIX1	2
15q26.2	1.008 bp	Kayıp	NR2F2	3
16p12.2	189.525 bp	Kayıp	METTL9, IGSF6, OTOA, LOC101927814	1
19q13.12	200.054 bp	Kayıp	KIRREL2, APLP1, HCST, TYROBP, LRFN3, SDHAF1, SYNE4, ALKBH6, CLIP3, THAP8, NFKBID	1
20q13.32	2.392 bp	Kazanç	GNAS, LOC101927932	13
21q21.2	125.749 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	1
22q11.21	307.114 bp	Kayıp	DGCRG, PRODH, DGCR2	1
Xp11.4	11.084 bp	Kazanç	BCOR	1
Xp21.3	333.007 bp	Kazanç	Gen içermiyor.	1
Xp22.33	92.849 bp	Kazanç	PPP2R3B, GTPBP6, LINC00685	1
Xp26.3	8.105 bp	Kayıp	HPRT1	1
Xq28	447 bp	Kayıp	GDI1	8

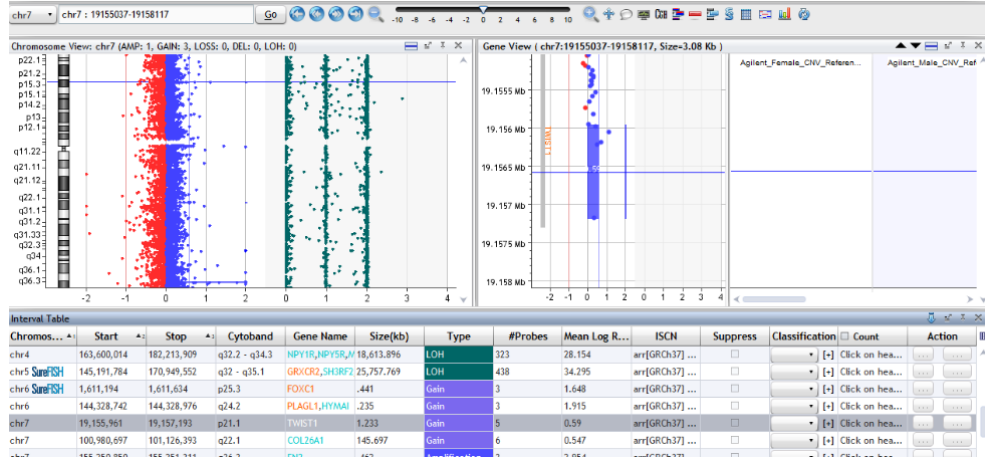
Tablo 4.5. Kanamış ve Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Ortak Saptanan KSD'ler

LOKUS	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	KANAMIŞ OLGU SAYISI	KANAMAMIŞ OLGU SAYISI	TOPLAM OLGU SAYISI
1p31.1	Kayıp	LINC01781	1	1	2
2p11.2-p11.1	Kayıp	Gen içermiyor.	1	1	2
4p16.2	Kazanç	MSX1	6	6	12
7q36.3	Kazanç	SHH	2	2	4
11p15.5	Kazanç	KCNQ1	1	1	2
20q13.32	Kazanç	GNAS, LOC101927932	10	13	23
Xp11.4	Kazanç	BCOR	1	1	2
Xp22.33	Kazanç	PPP2R3B	7	1	8
Xq28	Kayıp	GDI1	2	8	10

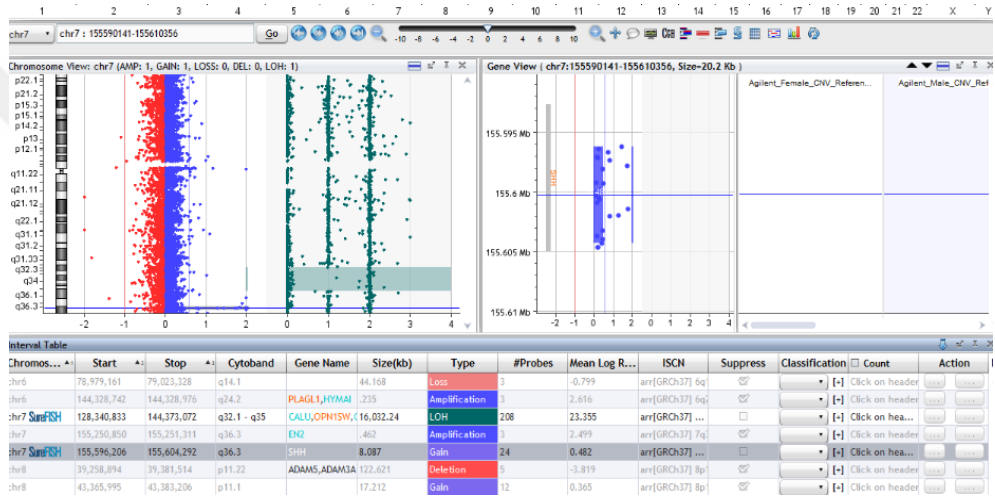
Olgularımızda saptanan varyantların mikroarray görüntüsü örnekleri aşağıdaki şekillerde gösterilmiştir (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).



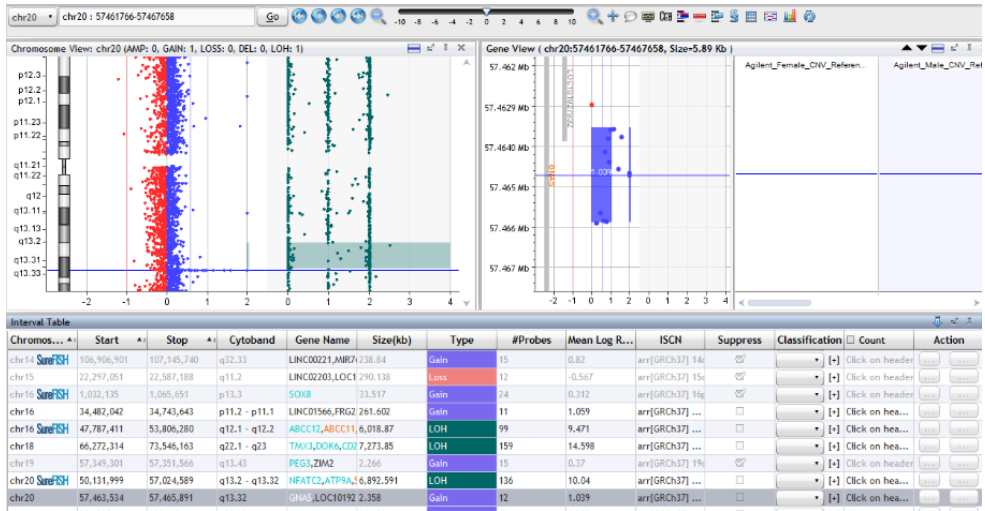
Şekil 4.2. Olgu 13' te Saptanan 4p16.2 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



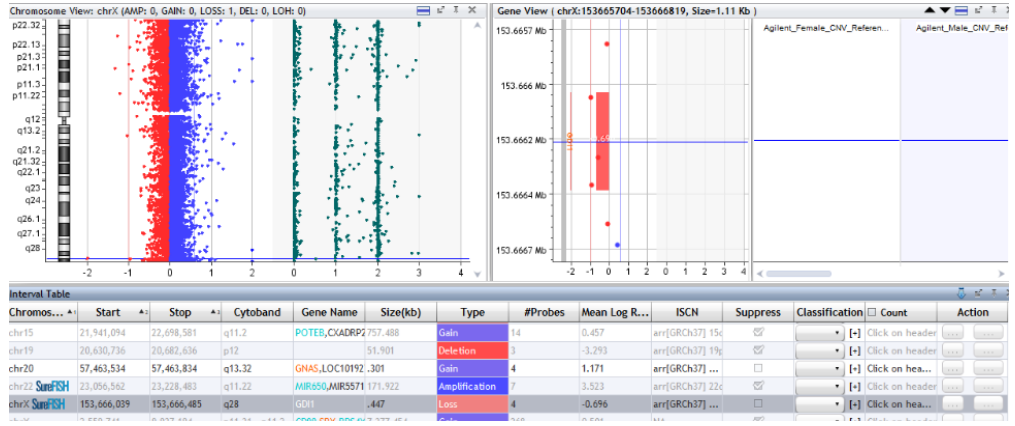
Şekil 4.3. Olgu 27' de Saptanan 7p21.1 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



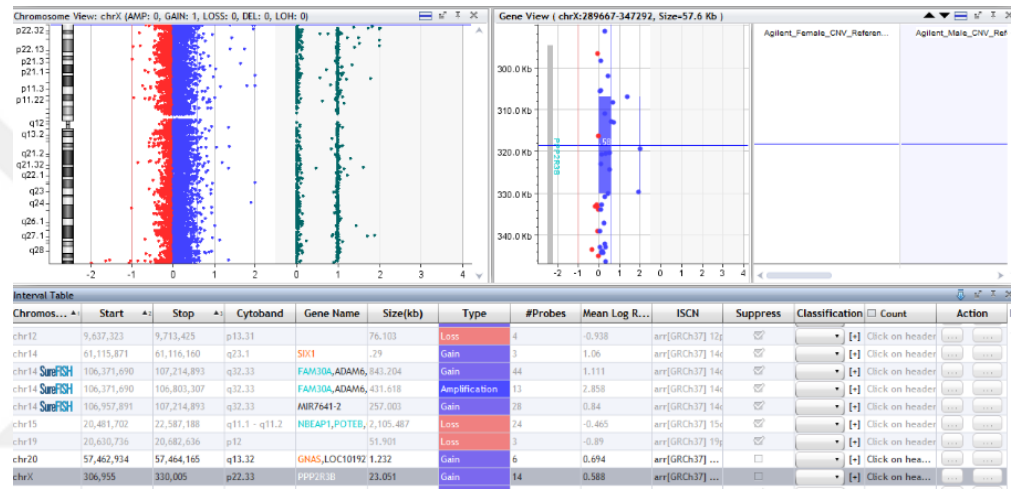
Şekil 4.4. Olgu 14' te Saptanan 7q36.3 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



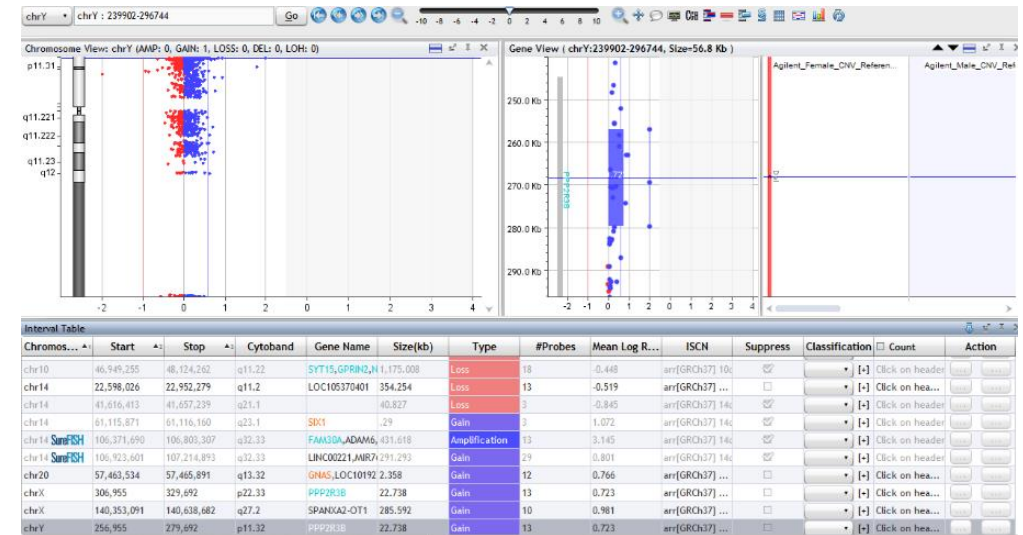
Şekil 4.5. Olgu 24' te Saptanan 20q13.32 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



Şekil 4.6. Olgu 15' de Saptanan Xq28 Lokusunda Kayıp Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



Şekil 4.7. Olgu 44' te Saptanan Xp22.33 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



Şekil 4.8. Olgu 35' de Saptanan Yp11.32 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü

Ayrıca olgularda sağlıklı bireylerde kopya sayısı varyasyonlarının yer aldığı DGV veritabanı verileri ile örtüşen polimorfik varyantlar da değerlendirilmiş ve elde edilen verilere göre en az iki olguda görülmüş polimorfik varyantlar ilgili tabloda gösterilmiştir (Tablo 4.6 ve Tablo 4.7). Bu verilere göre; kanamış intrakraniyal anevrizmalı olguların en az ikisinde olmak üzere ortak 10 kromozomal bölgede polimorfik varyant saptanmıştır. Kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda ise en az ikisinde olmak üzere ortak on dört kromozomal bölgede polimorfik varyant saptanmıştır. Ayrıca; kanamış ve kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olguların verileri karşılaştırıldığında iki grup arasında yirmi bir ortak bölgede polimorfik varyant saptanmış ve veriler ilgili tabloda gösterilmiştir (Tablo 4.8)

Tablo 4.6. Kanamış İntrakraniyal Anevrizmalı En Az İki Olguda Ortak Saptanmış Polimorfik Varyantlar

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
1q21.1	161.608 bp	Kayıp	NBPF25P	3
2q37.3	150.772 bp	Kayıp	LINC01237, LINC01238, LINC01880	3
4q13.2	90.702 bp	Kayıp	UGT2B17	4
6q27	394.160 bp	Kazanç	KIF25, KIF25-AS1, FRMD1	2
9p12-p11.2	372.118 bp	Kazanç	FAM74A7, SPATA31A6, CNTNAP3, CNTNAP3P2	2
11p15.5	485 bp	Kazanç	H19, HOTS	5
14q11.2	218.068 bp	Kayıp	OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K3	2
16p11.2	1.493.591 bp	Kayıp	TP53TG3, TP53TG3E, SLC6A10P, ENPP7P13	3
16p11.2-p11.1	261.602 bp	Kazanç	TP53TG3HP, FRG2DP, LINC01566	2
17q21.31	238.798 bp	Kazanç	KANSL1, LRRC37A, ARL17B,A, NSFP1	2

Tablo 4.7. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı En Az İki Olguda Ortak Saptanmış Polimorfik Varyantlar

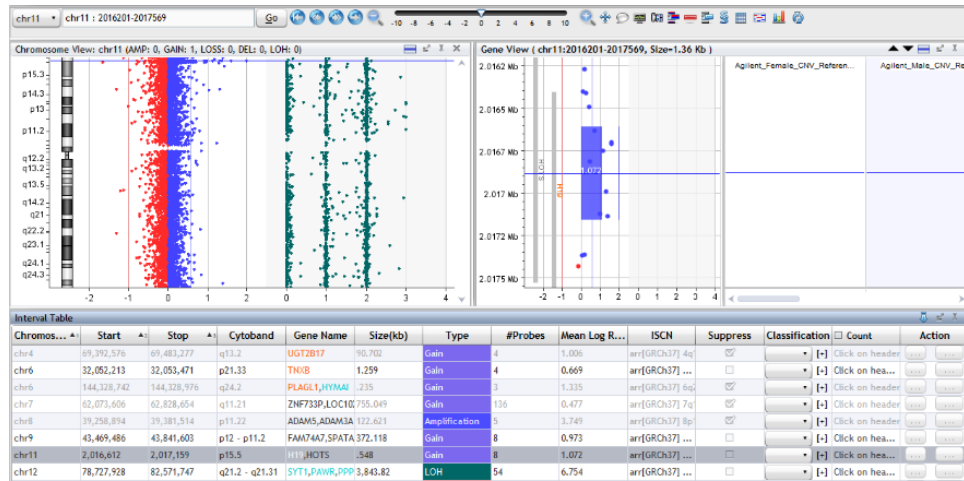
LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
1q21.1	191.469 bp	Kayıp	NBF25P	5
2p11.2	792.176 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	5
2q37.3	150.772 bp	Kayıp	LINC01237, LINC01238, LINC01880	2
4p16.3	22.330 bp	Kazanç	ZNF595, ZNF718	5
4q13.2	119.267 bp	Kayıp	UGT2B28	4
4q13.2	90.702 bp	Kayıp	UGT2B17	3
6p25.3	158.74 bp	Kayıp	DUSP22, IRF4	2
6p25.3	24.543 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	2
8p23.1	427.614 bp	Kazanç	FAM86B1, DEFB130A, DEFB109A	4
10q11.22	198.247 bp	Kazanç	SYT15, GPRIN2, NPY4R	2
10q26.3	129.639 bp	Kazanç	CYP2E1, SYCE1, SCART1, SPRNP1	2
11p15.5	548 bp	Kazanç	H19, HOTS	8
14q32.33	17.071 bp	Kayıp	Gen içermiyor.	5
15q11.1- q11.2	2.105.487 bp	Kazanç	POTEB, CHEK2P2, HERC2P3, GOLGA6L6	10
16p11.2	1.025.147 bp	Kayıp	TP53TG3, TP53TG3B, SLC6A10P	3
17q21.31	162.712 bp	Kazanç	KANSL, KANSL-AS 1	2
22q11.21	1.544 bp	Kazanç	TBX1	3
22q11.21	1.544 bp	Kayıp	TBX1	2

Tablo 4.8. Kanamış ve Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Olgularda Ortak Saptanan Polimorfik Varyantlar

LOKUS	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	KANAMIŞ OLGU SAYISI	KANAMAMIŞ OLGU SAYISI	TOPLAM OLGU SAYISI
1q21.2	Kayıp	NBPF25P	3	5	9
2q37.3	Kayıp	LINC01237, LINC01238, LINC01880, LOC285097	3	1	4
4q13.2	Kayıp	UGT2B17	4	3	7
4q13.2	Kayıp	UGT2B28	1	4	4
6p25.3	Kazanç / Kayıp	DUSP22	1	2	3
8p23.1	Kazanç	FAM86B1, FAM85A, FAM66A, FAM90A25P, DEFB130A	1	4	5
8q24.23	Kayıp	LINC02055	1	1	2
9p12-11.2	Kazanç	FAM74A7, SPATA31A6, CNTNAP3A, CNTNAP3P2	2	1	3
10q11.22	Kayıp / Kazanç	SYT15, GPRIN2, NPY4R, NPY4R2, HNRNPA1P33	1	2	3
10q26.3	Kazanç	CPY2E1, SYCE1, SCART1	1	2	3
11p15.5	Kazanç	H19, HOTS	5	8	13
14q32.33	Kayıp	Gen içermiyor.	1	5	6
14q11.2	Kazanç	DUXAP10, BMS1P22, BMS1P18, POTEM, OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K3	1	1	2
14q11.2	Kayıp	OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K3	2	1	3
15q11.1-q11.2	Kayıp / Kazanç	POTEB, CHEK2P2, HERC2P3, GOLGA6L6,			

		GOLGA8CP, POTEB,2, NF1P2, OR4M2, OR4N4	1	10	11
15q15.3	Kayıp	CATSPER2, PPIP51C1P1- VATSPER2, STPC	1	1	2
16p11.2	Kayıp	TP53TG3, TP53TG3E, SLC6A10P, ENPP7P13	3	3	6
16p11.2- p11.1	Kazanç	LINC01566	2	1	3
17q21.31	Kazanç	KANSL1, KANSL1-AS1	1	2	3
19q13.2- q13.31	Kazanç / Kayıp	PSG10P, PSG1, PSG6,PSG7	1	1	2
22q11.21	Kazanç	TBX1	1	3	4

Ayrıca olgularımızda en yüksek sıklıkta saptanan H19 varyantının mikroarray görüntüsü Şekil 4.9’ da, varyantın DGV veritabanı görüntüsü ise Şekil 4.10’ da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Olgu 21’ de Saptanan 11p15.5 Lokusunda Kazanç Aberasyonunun SNP-Array Görüntüsü



Şekil 4.10. Olgu 7’ de Saptanan 11p15.5 Lokusunun DGV Veritabanı Görüntüsü. (Şekilde gösterilen mavi renkler belirlenen lokus içerisinde kazanç saptanan bölgeleri, kırmızı renkler kayıp saptanan bölgeleri belirtmektedir.) (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>)

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 8 kontrol olgusunda toplam 8 kromozomal bölgede KSD saptanmıştır. Bunlardan 3’ ü polimorfik varyant olarak saptanmıştır. Saptanan KSD’ ler Tablo 4.9’ da, saptanan polimorfik varyantlar ise Tablo 4.10’ da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularında Saptanan KSD’ ler

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
4p16.2	880 bp	Kayıp	MSX1	7
20q13.32	1.054 bp	Kayıp	GNAS, LOC101927932	7
Xp22.33	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	1
Xq28	447 bp	Kayıp	GDI1	2
Yp11.32	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	1

Tablo 4.10. Çalışmamıza Dahil Edilen Kontrol Olgularında Saptanan Polimorfik Varyantlar

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
4p13.2	90.702 bp	Kayıp	UGT2B17	1
15q11.1-q11.2	2.282.338 bp	Kayıp	POTEB	2
16p11.2	1.493.591 bp	Kayıp	TP53TG3	1

Yapılan istatistiksel çalışmalar sonucunda; 4p16.2 ve 20q13.32 lokuslarının kopya sayısı değişiklikleri, istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde kontrol olgularında daha fazla oranda saptandığından ($p < 0,005$), intrakraniyal anevrizma gelişiminde rol oynamadığı şeklinde yorumlanmıştır. Olgularımızda saptanan diğer varyantlar ile kontrol olguları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,005$).

5. TARTIŞMA

Rüptüre ve unrüptüre intrakraniyal anevrizmalı olgularda kopya sayısı varyasyonlarının mikrodizin teknolojisi ile incelenerek olası varyasyonların belirlenmesi ve olgularda saptanan varyantların anevrizma rüptürüne etkisini değerlendirilmesini amaçladığımız çalışmamıza yirmi dört rüptüre ve yirmi dört unrüptüre olmak üzere kırk sekiz hasta ve konfirmasyon amacıyla ailesinde ve kendisinde İA öyküsü bulunmayan sağlıklı 8 kontrol olgusu dahil edilmiştir. Hasta grubu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji ve Beyin Cerrahisi Anabilim Dallarında nonsendromik İA tanısı alan olgulardan oluşmaktadır. Tüm hastalarda intrakraniyal anevrizma varlığı, serebral diagnostik anjiyografi, tomografi anjiyografi veya MR Anjiyografi ile tespit edilmiştir. Olgulardan alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonları ile yöntem bölümünde detaylarıyla açıklanan genetik analizler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalında gerçekleştirilmiştir. İA olgularında a-CGH yöntemi kullanarak kopya sayısı değişikliklerini araştırdığımız bu çalışmamızda elde edilen veriler bu bölümde tartışılmıştır.

Birçok genetik ve çevresel risk faktörlerinden kaynaklanan sebepler nedeniyle toplumun %3-5'i intrakraniyal anevrizma ile karşı karşıyadır (Liu vd., 2015). Multifaktöriyel bir hastalık olan İA'nın etiyojisinde, sigara, alkol tüketimi, hipertansiyon gibi çevresel faktörler ve genetik faktörler saptanmaktadır (Feigin vd., 2005). Literatürde, İA ve kopya sayısı değişiklikleri arasındaki ilişkiyi araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda, İA ile ilişkili kesin bir gen ya da aday gen tanımlanmamış olup çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Genetik heterojenite veya çalışılan hasta grupları arasındaki farklılıkların, bu çelişkilere sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle daha fazla çalışma ve veriye ihtiyaç bulunmaktadır.

Kopya sayısı varyasyonları, insan genomunun yaklaşık %12' sini oluşturan, bireyler arasında farklılık gösteren, 1 kb' dan daha büyük yapısal değişikliklerdir. KSD' lerin büyük bir kısmının fenotipe yansımadağı düşünülmektedir. Fakat bir kısmı dozaj etkileri nedeniyle gen ekspresyon seviyelerini etkileyerek çok sayıda hastalıkta rol oynamaktadır (Sudmant vd., 2015). Gen ekspresyonu, birçok faktörden etkilenebilen değişken bir mekanizma olmasına karşın KSD çok daha stabil olduğu için daha sağlam ve daha iyi bir biyobelirteç olabileceği düşünülmektedir.

Kopya sayısı varyasyonları birçok şekilde ve farklı mekanizmalar ile hastalıklara sebep olabilmektedir. KSD'lerin patojeniteleri, dozajları ile ilişkilendirilmektedir. Yani her zaman hastalık oluşturmak için doğrudan genleri içermesi gerekmemektedir. Lokal kromatin yapıyı bozarak, çeşitli mekanizmaların ilerleyişini değiştirerek hastalıklara yol açabilmektedir. Tek bir geni içeren ya da tek bir genin farklı bölgelerini içeren KSD'ler nokta mutasyonları benzeri fonksiyonel etki gösterebilirler. Bunun yanı sıra genlerin üst üste gelmesi şeklinde gerçekleşen kopya sayısı değişimlerinde füzyon genler meydana gelebilmekte ve bu şekilde hastalıklar meydana gelebilmektedir. KSD uzunluğu; içerdiği gen sayısının artma ihtimali nedeniyle fenotipe yansıyan etkiler açısından önemli bir faktördür. Uzun KSD'ler çok sayıda gen içermeye potansiyeline sahip olduklarından hastalık oluşturma riski taşımaktadır (Erdem & Ceylan, 2020).

Ayrıca KSD'lerin çoğu doğrudan hastalıklara neden olmamaktadır. Kritik genlerin yakınlarında bulunan kopya sayısı varyantları hastalık gelişiminde rol oynamaktadır. Sıklıkla ise dozaj-sensitif genlerin miktarlarını değiştirerek hastalık sebebi oluşturmaktadır. Genomik bir segmentin delesyonu; hemizigotluk ve buna bağlı olarak haployetmezlik oluşturarak, karşı alelde fonksiyon kaybı nedeniyle delesyona uğramamış alelin fonksiyonunun tek başına yetersizliği sonucu hastalığa sebep olabilmektedir. Genomik bir segmentin duplikasyonu ise; duplike olmuş genlerin aşırı ekspresyonu sonucu, ürün yapısını ve buna bağlı olarak fonksiyonunu değiştirerek hastalığa sebep olabilmektedir (Erdem & Ceylan, 2020).

Çalışmamızda saptadığımız kopya sayısı varyantlarının, araştırma grubumuz olan intrakraniyal anevrizma ve subaraknoid kanama kliniğinde öneme sahip olup olmadığını değerlendirmek için sağlıklı bireyler ve polimorfik varyantları içeren DGV veritabanı ile hasta bireylerde saptanan varyantları içeren DECIPHER veri tabanı kullanılarak karşılaştırma yapılmıştır. Ayrıca kopya sayısı değişikliği saptadığımız kromozomal bölgeni içerdiği genler için OMIM ve PubMed veritabanları kullanılarak literatür taraması yapılmıştır.

5.1. Saptanan KSD'ler

Çalışmamızda kanamış ve kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgular öncelikle ayrı gruplar olarak kendi aralarında değerlendirilmiş ve daha sonra iki grup arasında ortak saptanan KSD'ler değerlendirmeye alınmıştır. Araştırma grubunun

tüm olgularında en az 1 olmak üzere KSD saptanmıştır. Toplamda çalışma olgularımızda yüz otuz bir kromozomal bölgede KSD saptanmıştır. Kanamış olgularımızda toplamda elli yedi (yirmi dokuzu polimorfik varyant), kanamamış olgularımızda ise toplamda yetmiş dört (kırk tanesi polimorfik varyant) KSD saptanmış olup, bu KSD saptanan bölgelerin 8' i kontrol olgularında da görülmüştür.

Kanamış İA' lı olgularımızda saptanan KSD' ler:

Çalışma grubumuzda kanamış İA' lı olgularda, toplam elli yedi varyant saptanmıştır. Bunlardan yirmi dokuzu DGV veritabanı ile örtüşen polimorfik varyantlardır ve benign olarak sınıflandırılmıştır. Saptadığımız varyantlardan çoğu tek olguda saptanmış ve birden fazla olguda tekrarlanmamış varyantlardır. Birden fazla olguda tekrarlandığı saptanan 7 kromozomal bölge görülmüştür. Bu bölgeler; 4p16.2, 7p21.1, 7q36.3, 20q13.32, Xp22.33, Xq28 ve Yp11.32' dir. Kanamış intrakraniyal anevrizmal olgularda en az iki olguda saptanan varyantların lokus, boyut, aberasyon ve gen içeriği bölgeleri ilgili tabloda gösterilmiştir (Tablo 5.1).

Tablo 5.1. Kanamış İntrakraniyal Anevrizmal Çalışma Grubumuzda Birden Fazla Olguda Saptanmış KSD' ler

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
4p16.2	880 bp	Kazanç	MSX1	6
7p21.1	446 bp	Kazanç	TWIST1	2
7q36.3	1.645 bp	Kazanç	SHH	3
20q13.32	1.054 bp	Kazanç	GNAS, LOC101927932	10
Xp22.33	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	7
Xq28	447 bp	Kayıp	GDI1	2
Yp11.32	22.738 bp	Kazanç	PPP2R3B	5

Kanamamış İA' lı olgularımızda saptanan KSD' ler:

Çalışma grubumuzda kanamamış İA' lı olgularda ise toplam yetmiş dört KSD saptanmıştır. Bunlardan kırk DGV veritabanı ile örtüşen polimorfik varyantlardır ve benign olarak sınıflandırılmıştır. Kanamış İA olgularında saptadığımız varyantlar ile benzer olarak, kanamamış İA' lı olgularımızda da saptadığımız varyantların çoğu tek olguda saptanmış varyantlardır. Birden fazla olguda saptanan 6 kromozomal bölge görülmüştür. Bunlar; 4p16, 7q36.3, 14q23.1, 15q26.2, 20q13.32 ve Xq28' dir. Kanamamış İA' lı olgularda birden fazla olguda saptanan KSD' lerin lokus, boyut, aberasyon ve gen içeriği bilgileri ilgili tabloda yer almaktadır (Tablo 5.2).

Tablo 5.2. Kanamamış İntrakraniyal Anevrizmalı Çalışma Grubumuzda Birden Fazla Olguda Saptanan KSD' ler

LOKUS	BOYUT	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
4p16.2	880 bp	Kazanç	MSX1	6
7q36.3	1.645 bp	Kazanç	SHH	2
14q23.1	529 bp	Kazanç	SIX1	2
15q26.2	1.008 bp	Kayıp	NR2F2	3
20q13.32	2.392 bp	Kazanç	GNAS, LOC101927932	13
Xq28	447 bp	Kayıp	GDI1	8

Kanamış İA' lı yirmi dört olgu çalışılmış ve 6 olguda (%25), 4p16.2 kromozomal lokusunda kazanç saptanmıştır. KSD saptanan bölge MSX1 (Muscle Segment Homeobox 1) OMIM genini içermektedir. MSX1 geni; kas segmenti Homeobox gen ailesinin birüyesini kodlar. Bu genin kodladığı gen ürünü; ekstremitte paterni oluşumunda, kraniyofasiyal gelişimde, özellikle odontogenezde ve tümör büyümesinin inhibisyonunda rol oynamaktadır. Bu gendeki mutasyonlar yarık damak/dudak, Witkop Sendromu ve Wolf-Hirshorn Sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Nieminen vd., 2003). Ayrıca davranış bozuklukları ve gelişme geriliği üzerine

yapılan çalışmalarda MSX1 geninin patojenitesi DECIPHER veritabanı verilerine göre belirsiz olarak belirtilmektedir (<https://decipher.sanger.ac.uk/>). Bu gen ile ilgili incelenen veritabanlarında, İA ile ilişkilendirilebilecek herhangi bir veriye ulaşılmamıştır. Ayrıca MSX1 geni 7 kontrol olgumuzda da saptanmış olup bu nedenle anlamlı olarak değerlendirilmemiş ve benign olarak sınıflandırılmıştır.

Kanamış İA' lı olgularımızdan 2' sinde (%8.3), 7p21.1 kromozomal bölgede kazanç saptanmıştır. Bu bölge TWIST1 (Twist Family BHLH Transcription Factor 1) OMIM genini içermektedir. TWIST1 geni; embriyonik gelişimde önemli bir rol oynayan temel bir döngü-sarmal (bHLH) transkripsiyon faktörünü kodlamaktadır. Uzuv gelişimi, kahverengi yağ metabolizmasının düzenlenmesi, kafatası gelişimi gibi görevlere sahiptir. TWIST1 geni ile ilişkili yolaklar, EGF/EGFR sinyal yolağı ve sinir kreti farklılaşmasıdır. TWIST1 hipermetilasyonu; kanserde overekspresyon ve metastaz ile sonuçlanabilmektedir (Yang vd., 2004). TWIST1 duplikasyonu; DECIPHER veritabanı verilerine göre atriyal septal defekt için patojenik olarak belirtilmektedir. Ayrıca entelektüel yetersizlik ile ilişkisinde patojenitesi belirsiz olarak bildirilmektedir (<https://decipher.sanger.ac.uk/>).

Bunların yanı sıra TWIST1 geninin, kan akışının bozulduğu yetişkin arter bölgelerinde eksprese edildiği bilinmektedir. TWIST1; endotel hücre proliferasyonunu ve inflamasyonunu indükleyerek, aterosklerozu destekleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Shear strese olan etkisi nedeniyle vasküler yeniden şekillenme ile ve dolaylı olarak da anevrizma patogenezi ile ilişkilendirilmektedir. Shear stres; damarlarda kan akımı nedeniyle uygulanan mekanik kayma kuvvetidir. Shear stresin düşük olduğu durumlarda; anti aterojenik transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunda azalma gerçekleşirken, pro-aterojenik transkripsiyon faktörlerin ekspresyonunda artış gerçekleşmektedir. Böylece shear stresin azaldığı damar bölgeleri ateroskleroza ve dolayısıyla anevrizma oluşumu ile rüptüre olmaya daha yatkın hale gelmektedir (Mahmoud vd., 2016). TWIST1 geni; shear stresin düşük olduğu bölgelerde eksprese edilen bir transkripsiyon faktörü olduğundan, bizim kanamış İA' lı olgularımızın %8.3' ünde saptadığımız TWIST1 duplikasyonu rüptüre İA ile ilişkilendirilebilmektedir.

Ayrıca Lansdell ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yayınlanan çalışmada TWIST1 geni yakınlarında bulunan rs10230207 genetik varyantının, TWIST1 ve iki genin (HDAC9, FERD3L) mRNA ekspresyonunu değiştirdiği ve İA ile ilişkili

olduğu bildirilmiştir. Bu genetik varyantın, bildirilen genlerin ifadesini nasıl değiştirdiği bilinmemektedir (Lansdell vd., 2019).

Ayrıca 2009 yılında Choi ve arkadaşları tarafından yayınlanan ve intrakraniyal anevrizmalarda kopya sayısı değişikliklerini araştıran çalışma sonucunda; 7p21.1 kromozom bölgesinde, hastaların %39' unda kazanç saptanmıştır. Bu yönü ile bizim saptadığımız kromozomal bölge ile uyumlu olmasına rağmen saptanan bölge, TWIST1 genini ve bizim saptadığımız bölgeyi içermemekte fakat yakınında bulunmaktadır (Choi vd., 2009). Bununla beraber TWIST geninin aterosklerozun bir sebebi olan düşük shear strese sahip damar bölgelerinde eksprese edildiği bilgisi ile rüptüre yatkınlık üzerindeki etkisi göz önüne alınarak, bizim de saptadığımız kazanç aberasyonunun, anevrizma ile bağlantısı açısından takip edilmesi gerektiği kanısındayız.

Kanamış İA' lı olgularımızdan 3' nde (%12.5), 7q36.3 kromozom bölgesinde kazanç saptanmıştır. Bu kromozomal bölge; erken embriyonun şekillenmesinde etkili olan bir proteini kodlayan SHH (Sonic Hedgehog Signaling Molecule) OMIM genini içermektedir. Bu genin transkribe ettiği proteindeki kusurlar; gelişmekte olan n beynin sağ ve sol hemisferlere doğru şekilde ayrılmadığı bir bozukluk olan holoprosensefali (HPE) nedenidir (Schell-Apacik vd., 2003). Ayrıca SHH; kolobom mikroftalmi, şizensefali, tek medyan maksiller santral kesici sendromu ile ilişkilendirilmiş bir morbid gendir. Bu gen ile ilgili yapılan veritabanı araştırmalarında İA ile ilişkili bir veriye ulaşılmamıştır.

Kanamış İA' lı olgularımızdan 10' unda (%41,6), 20q13.32 kromozom bölgesinde kazanç saptanmıştır. Bu lokus; GNAS (Guanine Ncleotide Binding Protein, Alpha Stimulating Activity Polypeptide) OMIM genini ve LOC101927932 RNA genini içermektedir. GNAS geni; paternal olarak kalıtılan bir imprint gen ve Pseudo paratiroidizm ve McCune- Albright Sendromu ile ilişkilendirilmiş morbid bir gendir (Mantovani vd., 2004). GNAS geni; GTP bağlanması, RAS sinyal yolu ve seçici serotonin geri alım inhibitörü yolaklarında görev almaktadır. GNAS hiperfonksiyonu; travmaya bağlı kanama eğiliminin artması, kanama süresinin uzaması, brakidaktili ve zeka geriliği ile karakterize edilmektedir. Bu gen ve İA ile ilgili yapılan literatür taramasında, GNAS ile İA ilişkili herhangi bir bilgiye ulaşılmamıştır. Ayrıca GNAS geni 7 kontrol olgumuzda da saptanmış olup bu nedenle anlamlı olarak değerlendirilmemiş ve benign olarak sınıflandırılmıştır.

LOC101927932; bir RNA genidir ve lncRNA (Uzun kodlanmayan RNA) sınıfına bağlıdır. Uzun kodlanmayan RNA' lar; çekirdeğin epigenetik modülasyonu ve post-transkripsiyonel kontrol işlevlerine sahip olduklarından, epigenetik yapıyı değiştirerek gen ekspresyonunu etkileyebilirler (Turgut Coşan vd., 2018). Bu nedenle saptadığımız lokustaki kazanç aberasyonunun, anevrizmanın epigenetik kontrolünde rolü olabileceği göz önünde bulundurularak takip edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kanamış İA' lı olgularımızın 7' sinde (%29,1) Xp22.33 kromozom bölgesinde kazanç saptanmıştır. Ayrıca kanamış İA' lı olgularımızın 5' inde (%20,8) Yp11.32 bölgesinde kazanç saptanmıştır. Bu iki farklı kromozomlarda bulunan bölgeler ortak olarak PPP2R3B (Protein Phosphatase 2 regulatory Subunit B) OMIM genini içermektedir. Bu verilere dayanarak PPP2R3B genini içeren varyasyon toplam 24 kanamış olgumuzdan 12' sinde (%50) saptanarak, olgularımız arasında en yüksek oranda ortaklık saptanan gen olmuştur. PPP2R3B geni; hücre büyümesi ve bölünmesinde negatif kontrolde rol oynamaktadır. DECIPHER veri tabanına göre gelişim geriliği, bilateral kriptorşidizm, mikrosefali ve fallot tetralojisi ile ilişkisi patojenik olarak bildirilmektedir (<https://decipher.sanger.ac.uk/>). Yapılan literatür taramaları sonucunda PPP2R3B geni ile İA arasında ilişki olduğuna dair bir bilgiye ulaşılmamıştır. Ayrıca bu gen; 1 kontrol olgumuzda Xp22.33 bölgesinde, 1 kontrol olgumuzda da Yp11.32 bölgesinde olmak üzere toplam 2 kontrol olgumuzda da saptanmış olup bu nedenle anlamlı olarak değerlendirilmemiş ve benign olarak sınıflandırılmıştır.

Kanamış İA' lı 2 olgumuzda (%8.3), Xq28 kromozom bölgesinde kayıp saptanmıştır. Bu bölge GDI1 (GDP Dissociation İnhibitör 1) OMIM genini içermektedir. GDI1 geni; GDP-GTP değişim reaksiyonlarını düzenleyen proteinleri transkribe eden, GTPaz aktivatörleri olarak görev yapan bir gendir. GDI1 kopya sayısı kaybı; DECIPHER veri tabanında prematür overyan yetmezliği için patojenik olarak bildirilmektedir (<https://decipher.sanger.ac.uk/>). X' e bağlı mental retardasyon ve Xq28 mikroduplikasyon sendromu ile ilişkilendirilmiş morbid bir gendir (Vandewalle vd., 2009). Yapılan veritabanı ve literatür taramaları sonucunda GDI1 geni ve İA arasında bir ilişki kurulmamıştır. Ayrıca GDI1 geni 2 kontrol olgumuzda da saptanmış olup bu nedenle anlamlı olarak değerlendirilmemiş ve benign olarak sınıflandırılmıştır. Ayrıca GDI1; Ras ailesinin alt üyesini

kodlamaktadır. Ras proteininin işlevleri arasında; hücrelerin sinyal transdüksiyonu bulunmaktadır (Journal, 2011). Bu nedenle; saptadığımız GDI1 genini içeren kayıp aberasyonunun süreç içerisinde sinyal iletimi anomalisine yol açma potansiyeli sebebiyle, etkisinin başka çalışmalarca belirlenmesi gerektiği kanısındayız.

Kanamamış İA' lı olgularımızda 6 kromozomal bölgede tekrarlanan KSD saptanmıştır (Tablo 5.2). Bu bölgelerden 4' ü, kanamış İA' lı olgularımızda saptanan bölgeler ile ortaktır. Bunlar; 4p16.2, 7q36.3, 20q13.32 ve Xq28 bölgeleridir. KSD bölgelerinin saptandığı hasta sayıları değişmekle beraber, bölgeler ve gen içerikleri kanamış İA' lı olgular ile ortak olarak saptanmış ve bu bölgelerin içerdiği genler ile ilgili bilgiler yukarıda açıklanmıştır. Ortak saptanan bölgeler dışında farklı olarak kanamamış İA' lı olgularda 2 kromozomal bölgede KSD saptanmıştır. Bu bölgeler 14q23.1 ve 15q26.2' dir.

Kanamamış İA' lı 2 olgumuzda (%8.3), 14q23.1 kromozom bölgesinde kazanç saptanmıştır. Bu bölge uzuv gelişiminde rol oynadığı düşünülen SIX1 (SIX Homeobox 1) OMIM genini içermektedir. SIX1; otozomal dominant sağırılık ve branchiootik sendromu ile ilişkilendirilmiş morbid bir gen ve bir transkripsiyon faktörüdür (Sanggaard vd., 2007). Kanamamış İA' lı 3 olgumuzda (%12,5) 15q26.2 bölgesinde kopya sayısı kaybı saptanmıştır. Bu bölgenin içerdiği NR2F2 (Nuclear Receptor Subfamily 2) OMIM geni; steroid tiroid hormonu süper ailesinin bir üyesini kodlayan bir transkripsiyon faktörüdür. Konjenital kalp hastalıkları ve XX cinsiyet geri dönüşü ile ilişkilendirilmiş morbid gendir (Al Turki vd., 2014). Yapılan veritabanı ve literatür taramalarında SIX1 ve NR2F2 geni ile İA arasında ilişki kurabilecek bir veriye ulaşılmamıştır. Ancak transkripsiyon faktörlerinin; genlerin transkripsiyonunu düzenlemek için, diğer genleri kontrol etme fonksiyonuna sahip olmaları nedeniyle, İA ile doğrudan ilişkili olmasa da değerlendirilmelerinin uygun olduğunu düşünmekteyiz.

5.2. Saptanan Polimorfik Varyantlar

Çalışmamızda, sağlıklı bireyler ve polimorfik varyantları içeren DGV veritabanı verileri ile örtüşen lokuslardaki varyantlar, günümüzdeki bilgilerimizle benign olarak değerlendirilmesine rağmen ileride yapılacak çalışmalar ile elde edilecek verilere göre patojenitesinin değişmesi potansiyeli nedeniyle değerlendirmelerimize dahil edilmiştir. Olgu grubumuzda kanamış İA' lı olgularda

yirmi dokuz, kanamamış İA' lı olgularda kırk bir olmak üzere toplamda yetmiş polimorfik varyant saptanmıştır. Kanamış İA ve kanamamış İA olguları karşılaştırıldığında iki olgu grubunda ortak olarak yirmi bir polimorfik varyant saptanmıştır. Bu KSD bölgelerinin içerdiği genlerden on yedisi OMIM geni olarak saptanmıştır (Tablo 5.3).

Tablo 5.3. Olgularımızda DGV Veritabanı Verileri İle Örtüştüğü Saptanan KSD Bölgelerinin İçerdiği OMIM Genleri

OMIM GENİ	LOKUS	KANAMIŞ OLGU SAYISI	KANAMAMIŞ OLGU SAYISI
UGT2B17	4q13.2	4	3
UGT2B28	4q13.2	1	4
DUSP22	6p25.3	1	2
IRF4	6p25.3	-	2
KIF25	6q27	2	-
FAM86B1	8p23.1	1	4
CNTNAP3A	9p12-p11.2	2	1
SYT15	10q11.22	1	2
GPRIN2	10q11.22	1	2
NPY4R	10q11.22	1	2
CYP2E1	10q26.3	1	2
SYCE1	10q26.3	1	2
H19	11p15.5	5	8
POTEB	15q11.1-q11.2	1	10
TP53TG3	16p11.2	3	3
KANSL1	17q21.31	2	2

LRRC37A	17q21.31	2	-
---------	----------	---	---

Saptanan OMIM genlerinden H19 (H19 İmprinted Maternally Expressed Transcript) geni; 11p15.5'te yer almaktadır. Kanamış İA' lı 5 (%20,8), kanamamış İA' lı 8 (33,3) olgumuzda olmak üzere toplamda kırk sekiz olgudan on üçünde (%27); 11p15.5 kromozom bölgesinde kazanç saptanmıştır. 11p15.5; İA için duyarlılık lokusu olarak bilinmektedir. Bu lokus; H19 (H19 İmprinted Maternally Expressed Transcript) OMIM genini içermektedir. 11p15.5 lokusunda, H19 geninin yakınlığında bulunan BET1L geninin rs2280543 varyantı ile İA yatkınlığı arasında güçlü bir ilişki olduğu ve BETL1 risk lokusunun H19 ile etkileşime girerek İA duyarlılığını artırdığı bildirilmiştir (Chen & Sima, 2019). H19; bir tümör baskılayıcı olarak işlev gören, kodlanmayan uzun bir RNA (lncRNA) olarak bilinmektedir. Uzun kodlanmayan RNA' lar, transkripsiyon veya posttranskripsiyon düzeyinde gen ekspresyonunu düzenleyerek İA dahil olmak üzere birçok hastalıkta yer almaktadır (Li vd., 2017; Wang vd., 2017). H19 gibi lncRNA' ların İA' larda normal olmayan seviyelerde eksprese edildiği ve H19' un İA oluşumunda önemli risk faktörleri olan hipertansiyon ve ateroskleroz patolojisine etkili olduğu gösterilmiştir (Kumar vd., 2019). Tüm bu verilere dayanarak bizim de toplamda 13 olguda (%27) saptadığımız 11p15.5 varyasyonunun, İA patogenezi üzerinde etkili olabileceği ihtimalini göz önünde bulundurmak gerekmektedir.

Saptanan diğer OMIM genleri; yöntem bölümünde bildirilen veritabanları aracılığı ile araştırılmış fakat anevrizma ile ilişkili bir veri saptanmamıştır.

Ayrıca 2009 yılında Choi ve arkadaşları tarafından yayınlanan ve intrakraniyal anevrizmalarda kopya sayısı değişikliklerini araştıran "Identification of DNA copy number aberrations by array comparative genomic hybridization in patients with ruptured intracranial aneurysms" adlı çalışma sonucu elde edilen veriler ile bizim verilerimiz arasında benzerlikler bulunmaktadır. Choi ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile bizim çalışmamızda ortak saptanan lokuslar gösterilmiştir (Tablo 5.4). Lokusların ortak olmasının yanı sıra gen içeriği de ortak olan bölgenin verileri koyu olarak işaretlenmiştir (Choi vd., 2009).

Tablo 5.4. Choi ve Arkadaşlarının Çalışma Sonuçları İle Bizim Çalışma Sonuçlarımızın Karşılaştırılması

ÇALIŞMALAR	LOKUS	ABERASYON	GEN İÇERİĞİ	OLGU SAYISI
Jin Soo Choi ve ark.	1q44	Kazanç	OR5BU1	7/23 (%30)
	2q24.3	Kazanç	SCN1A	7/23 (%30)
	5q13.2	Kayıp	-	7/23 (%30)
	5q14.3	Kazanç	MASS1	8/23 (%35)
	6q22.33	Kazanç	KIAA0408, C6orf174	9/23 (%39)
	7p21.1	Kazanç	AHR	9/23 (%39)
	7q11.23	Kazanç	ELN, WBSCR1, RFC2, CYLN2	7/23 (%30)
	10q26.3	Kazanç	GPR123	9/23 (%39)
	11p15.5	Kazanç	KCNQ1, CDKN1C, SLC22A18	8/23 (%35)
	14q32.33	Kayıp	-	8/23 (%35)
	15q11.2	Kayıp	VSIG6	9/23 (%39)
	16p11.2	Kayıp	SPN, QPRT, C16orf54, KIF22	8/23 (%35)
	22q11.21	Kayıp	DGCR6, PRODH	9/23 (%39)
	1q44	Kayıp	OR2G6, OR2T29	1/48 (%2)
2q24.3	Kayıp	-	1/48 (%2)	
5q13.2	Kayıp	SERF1A, SMN1	1/48 (%2)	

Bizim çalışmamız	5q14.3	Kayıp	-	1/48 (%2)
	6q22.33	Kayıp	LAMA2	1/48 (%2)
	7p21.1	Kazanç	TWIST1	3/48 (%6,2)
	7q11.23	Kazanç	DTX2P1- UPK3BP1- PMS2P11	1/48 (%2)
	10q26.3	Kazanç	CPY2E1, SYCE1, SCART1	3/48 (%6,2)
	11p15.5	Kazanç	H19,HOTS	13/48 (%27)
	14q32.33	Kayıp	-	6/48 (%12,5)
	15q11.2	Kazanç	POTEB, CHEK2P2	10/48 (%20,8)
	16p11.2	Kayıp	TP53TG3, SLC6A10P	6/48 (%12,5)
	22q11.21	Kayıp	DGCR6, PRODH	1/48 (%2)

Çalışmalar karşılaştırıldığında KSD saptanan bazı kromozomal lokuslar aynı olduğu halde aberasyonların farklı olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmada 1q44, 2q24.3, 5q14.3 ve 6q22.33 bölgelerinde kazanç saptanmış fakat bizim çalışmamızda aynı bölgelerde kayıp saptanmıştır. Ayrıca bu çalışmada 15q11.2 bölgesinde kayıp saptanmış fakat bizim çalışmamızda aynı bölgede kazanç saptanmıştır. Bunların yanı sıra iki çalışma arasında KSD saptanan ortak kromozomal bölgeler bulunmasına rağmen; bir kromozom bölgesi hariç diğer varyantlarda gen içerikleri farklılık göstermektedir. Bizim saptadığımız genler; bu çalışmada saptanan genlerin yakınlığında yer almaktadır. Yalnızca 22q11.21 bölgesinde saptanan kayıp; hem bahsedilen çalışmada hem bizim çalışmamızda, gen içeriğini de kapsayan şekilde ortak olarak saptanmıştır. Bu bölgenin içerdiği genler DGCR6 (DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 6) ve PRODH (Proline Dehydrogenase 1) OMIM genleri literatürde araştırılmış fakat İA ile ilişki kurulamamıştır.

2008 yılında Joon Seol Bae ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, toplamda 497 olgu dahil edilerek SAK ile KSD' ler arasındaki ilişki araştırılmış ve çalışma sonucunda toplamda 597 ortak KSD saptanmıştır. Yapılan ilişki analizleri sonucunda SAK ile en anlamlı buldukları KSD bölgesi, 14q31 kromozomal bölgesidir ve SEL1L genini içermektedir. Çalışmamızda 14q31 bölgesinde herhangi bir varyasyon saptanmamıştır (Bae vd., 2008).

2010 yılında yine aynı ekip tarafından toplam 473 olgu ile SAK ile KSD arasında ilişki araştırılmış ve sonucunda 1644 KSD saptanmıştır. Yüksek oranda ortak olarak saptadıkları 22 KSD bölgesinden 2' sinde saptanan varyantlar yüksek oranda anlamlı olarak belirtilmiştir. Bu varyantlar; 4q31.3' de kayıp ve 10p15.1' de kazanç olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda 4q31.3 ve 10p15.1 kromozomal bölgesinde herhangi bir varyant saptanmamıştır (Bae vd., 2010).

Çalışmamızda saptanan toplam yüz otuz bir varyanttan, kırksekiz olgudan her birine ortalama 2.73 varyant düşmektedir. 8 kontrol olgumuzda saptanan toplam 8 varyanttan, kontrol olgusu başına 1 varyant düşmektedir. Buna göre hasta olgularımızın ortalama varyant değeri, kontrol olgularımıza göre fazla olmakla farklılık göstermektedir. Kanamış yirmi dört olgumuzda saptanan elli yedi varyanttan, kanamış olgu başına 2,37 varyant düşmekte ve kanamamış yirmi dört olgumuzda saptanan yetmiş dört varyanttan, kanamamış olgu başına 3,08 varyant düşmekte olup kanamış ve kanamamış olgularımızın ortalama varyant oranları farklılık göstermektedir. Çalışmamızda olgu sayımız sınırlı olması, ortak aberasyon saptama olasılığımızı düşürdüğünden dolayı, olgu sayısının artırılarak bu çalışmanın yapılmasının yeni lokuslar saptamada etkili olacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İntrakraniyal anevrizmalarda kopya sayısı varyasyonlarını inceleyerek, olası varyasyonların intrakraniyal anevrizma gelişimi ve rüptürüne etkisini araştırmayı amaçladığımız çalışmamıza; İA tanısı alan 48 olgu (24 kanamış/24kanamamış) ve İA öyküsü bulunmayan, sağlıklı 8 kontrol olgusu dahil edilmiştir.

Çalışmamızın sonucunda;

- 48 olguda toplamda 131 KSD saptanmıştır. Bunlardan 57'si kanamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda, 74' ü kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda saptanmıştır.
- Kanamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda saptanan KSD' lerden 29' u, kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda saptanan KSD' lerden 40' ı DGV veritabanı verileriyle örtüşmekte olan polimorfik varyantlardır.
- Kanamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda daha sıklıkla saptadığımız KSD bölgelerinin içerdiği OMIM genleri; MSX1, SHH, GNAS, PPP2R3B, TWIST1 ve GDI1' dir.
- Kanamamış intrakraniyal anevrizmalı olgularda daha sıklıkla saptadığımız KSD bölgelerinin içerdiği OMIM genleri; MSX1, SHH, GNAS, GDI1 ve NR2F2' dir.
- Bu genlerin çeşitli veritabanları kullanılarak ve literatür taraması yapılarak gerçekleştirilen analizi sonucunda, doğrudan İA ile ilişkileri kurulamamıştır. Ancak TWIST1 geni ve H19 polimorfik varyantı, literatürde geçen bilgiler göz önüne alınarak, İA patogenezinde etkili olabilecek genler olarak saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda olgu ve kontrol sayısının az olması, aberasyon saptamak için bir kısıtlılık durumundadır. Dolayısıyla daha fazla olgu sayısının, daha fazla veriye ulaşabilme açısından önemli olması nedeniyle, yüksek olgu sayısı ile bu çalışmaların yapılmasını önermekteyiz.

Anevrizma gelişimi ve rüptürü multifaktöriyel etkilerin rol oynadığı kompleks bir sistemdir. Anevrizma gelişimine neden olan biyobelirteçlerin saptanması; anevrizma tanısının kolaylaşması, erken tanı imkanı ve tedavide yeni stratejilerin belirlenmesine olanak sağlaması nedeniyle önemlidir. Ayrıca intrakraniyal anevrizmada bir genetik belirleyici saptanması; erken tanı ve dolayısıyla erken müdahale ile rüptüre olmadan önce tedavi edilme olanağı sağlamasıyla da önem kazanmaktadır. Hatta belki ileride genetik anomalilerin önceden saptanarak gen tedavilerinin belirlenmesi ve anevrizma oluşumunun daha öncesinde engellenmesi mümkün olabilecektir. Bu bağlamda daha fazla çalışma yapılmasını önermekteyiz.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akiyama, K., Narita, A., Nakaoka, H., Cui, T., Takahashi, T., Yasuno, K., Tajima, A., Krischek, B., Yamamoto, K., Kasuya, H., Hata, A., & Inoue, I. (2010). Genome-wide association study to identify genetic variants present in Japanese patients harboring intracranial aneurysms. *Journal of Human Genetics*, *55*(10), 656–661. <https://doi.org/10.1038/jhg.2010.82>
- Al Turki, S., Manickaraj, A. K., Mercer, C. L., Gerety, S. S., Hitz, M. P., Lindsay, S., D'Alessandro, L. C. A., Swaminathan, G. J., Bentham, J., Arndt, A. K., Low, J., Breckpot, J., Gewillig, M., Thienpont, B., Abdul-Khaliq, H., Harnack, C., Hoff, K., Kramer, H. H., Schubert, S., ... Semple, R. (2014). Rare variants in NR2F2 cause congenital heart defects in humans. *American Journal of Human Genetics*, *94*(4), 574–585. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.03.007>
- Amberger, J. S., Bocchini, C. A., Schiettecatte, F., Scott, A. F., & Hamosh, A. (2015). OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an Online catalog of human genes and genetic disorders. *Nucleic Acids Research*, *43*(D1), D789–D798. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1205>
- Aneurysms, I. (2012). *İntrakraniyal Anevrizma Patofizyolojisi ve Genetiği*. *43*, 189–196.
- Bae, J. S., Cheong, H. S., Kim, J. O., Lee, S. O., Kim, E. M., Lee, H. W., Kim, S., Kim, J. woong, Cui, T., Inoue, I., & Shin, H. D. (2008). Identification of SNP markers for common CNV regions and association analysis of risk of subarachnoid aneurysmal hemorrhage in Japanese population. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *373*(4), 593–596. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.06.083>
- Bae, J. S., Cheong, H. S., Park, B. L., Kim, L. H., Park, T. J., Kim, J. Y., Pasaje, C. F. A., Lee, J. S., Cui, T., Inoue, I., & Shin, H. D. (2010). Genome-wide association analysis of copy number variations in subarachnoid aneurysmal hemorrhage. *Journal of Human Genetics*, *55*(11), 726–730. <https://doi.org/10.1038/jhg.2010.97>
- Balik, T., Üniversitesi, D. E., Enstitüsü, O., & Zm, İ. İ. R. (2015). *1 1 2 3*. *6*(1), 109–116.
- Baptista, J., Mercer, C., Prigmore, E., Gribble, S. M., Carter, N. P., Maloney, V., Thomas, N. S., Jacobs, P. A., & Crolla, J. A. (2008). Breakpoint Mapping and Array CGH in Translocations: Comparison of a Phenotypically Normal and an Abnormal Cohort. *American Journal of Human Genetics*, *82*(4), 927–936. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.02.012>
- Beaudet, A. L. (2013). The Utility of Chromosomal Microarray Analysis in Developmental and Behavioral Pediatrics. *Child Development*, *84*(1), 121–132. <https://doi.org/10.1111/cdev.12050>
- Bederson, J. B., Connolly, E. S., Batjer, H. H., Dacey, R. G., Dion, J. E., Diringer, M. N., Duldner, J. E., Harbaugh, R. E., Patel, A. B., & Rosenwasser, R. H. (2009). Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: A statement for healthcare professionals from a special writing group of the stroke council, American heart association. *Stroke*, *40*(3), 994–1025. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.191395>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Bejjani, B. A., & Shaffer, L. G. (2006). Application of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *Journal of Molecular Diagnostics*, 8(5), 528–533. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2006.060029>
- Bilguvar, K., Yasuno, K., Niemelä, M., Ruigrok, Y. M., Von Und Zu Fraunberg, M., Van Duijn, C. M., Van Den Berg, L. H., Mane, S., Mason, C. E., Choi, M., Gaál, E., Bayri, Y., Kolb, L., Arlier, Z., Ravuri, S., Ronkainen, A., Tajima, A., Laakso, A., Hata, A., ... Günel, M. (2008). Susceptibility loci for intracranial aneurysm in European and Japanese populations. *Nature Genetics*, 40(12), 1472–1477. <https://doi.org/10.1038/ng.240>
- Broderick, J. P., Sauerbeck, L. R., Foroud, T., Huston, J., Pankratz, N., Meissner, I., & Brown, R. D. (2005). The Familial Intracranial Aneurysm (FIA) study protocol. *BMC Medical Genetics*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-6-17>
- Brown, R. D., & Broderick, J. P. (2014). Unruptured intracranial aneurysms: Epidemiology, natural history, management options, and familial screening. *The Lancet Neurology*, 13(4), 393–404. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70015-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70015-8)
- Cappuccio, G., Vitiello, F., Casertano, A., Fontana, P., Genesio, R., Bruzzese, D., Ginocchio, V. M., Mormile, A., Nitsch, L., Andria, G., & Melis, D. (2016). New insights in the interpretation of array-CGH: Autism spectrum disorder and positive family history for intellectual disability predict the detection of pathogenic variants. *Italian Journal of Pediatrics*, 42(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13052-016-0246-7>
- Chalouhi, N., Hoh, B. L., & Hasan, D. (2013). Review of cerebral aneurysm formation, growth, and rupture. *Stroke*, 44(12), 3613–3622. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.002390>
- Chen, Y., & Sima, X. (2019). Replication of GWAS loci revealed an increased risk of BET1L and H19 polymorphisms with intracranial aneurysm. *Disease Markers*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9490639>
- Choi, J. S., Kim, S. R., Jeon, Y. W., Lee, K. H., & Rha, H. K. (2009). Identification of DNA copy number aberrations by array comparative genomic hybridization in patients with ruptured intracranial aneurysms. *Journal of Clinical Neuroscience*, 16(2), 295–301. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2007.11.015>
- Claassen, J., Carhuapoma, J. R., Kreiter, K. T., Du, E. Y., Connolly, E. S., & Mayer, S. A. (2002). Global cerebral edema after subarachnoid hemorrhage: Frequency, predictors, and impact on outcome. *Stroke*, 33(5), 1225–1232. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000015624.29071.1F>
- Clarke, M. (2008). Systematic review of reviews of risk factors for intracranial aneurysms. *Neuroradiology*, 50(8), 653–664. <https://doi.org/10.1007/s00234-008-0411-9>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Conrad, D. F., Pinto, D., Redon, R., Feuk, L., Gokcumen, O., Zhang, Y., Aerts, J., Andrews, T. D., Barnes, C., Campbell, P., Fitzgerald, T., Hu, M., Ihm, C. H., Kristiansson, K., MacArthur, D. G., MacDonald, J. R., Onyiah, I., Pang, A. W. C., Robson, S., ... Hurles, M. E. (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*, 464(7289), 704–712. <https://doi.org/10.1038/nature08516>
- Datar, S. (2019). Aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurological Emergencies: A Practical Approach*, 27(3), 232–244. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28072-7_12
- De Ravel, T. J. L., Devriendt, K., Fryns, J. P., & Vermeesch, J. R. (2007). What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *European Journal of Pediatrics*, 166(7), 637–643. <https://doi.org/10.1007/s00431-007-0463-6>
- Donmez, H., Serifov, E., Kahriman, G., Mavili, E., Durak, A. C., & Menkü, A. (2011). Comparison of 16-row multislice CT angiography with conventional angiography for detection and evaluation of intracranial aneurysms. *European Journal of Radiology*, 80(2), 455–461. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2010.07.012>
- Edlow, J. A., Malek, A. M., & Ogilvy, C. S. (2008). Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Update for Emergency Physicians. *Journal of Emergency Medicine*, 34(3), 237–251. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2007.10.003>
- Erdem, H. B., & Ceylan, A. C. (2020). Diagnostic Utility of Microarray Testing in Chromosome Five Associated Disorders. *Acta Oncologica Turcica*, 53(1), 145–150. <https://doi.org/10.5505/aot.2020.68926>
- Erzurumluoğlu, E. (2018). *Prenatal Sitogenetik Anomalilerde İleri Tanı Yöntemi Olarak Array Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon*. 3(1), 63–69.
- Etminan, N., & Rinkel, G. J. (2016). Unruptured intracranial aneurysms: Development, rupture and preventive management. *Nature Reviews Neurology*, 12(12), 699–713. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2016.150>
- Faas, B. H. W., Van Der Burgt, I., Kooper, A. J. A., Pfundt, R., Hehir-Kwa, J. Y., Smits, A. P. T., & De Leeuw, N. (2010). Identification of clinically significant, submicroscopic chromosome alterations and UPD in fetuses with ultrasound anomalies using genome-wide 250k SNP array analysis. *Journal of Medical Genetics*, 47(9), 586–594. <https://doi.org/10.1136/jmg.2009.075853>
- Fak, T. I. P., Tez, U., Bey, E. K., Dani, D. T. E. Z., & Prof, M. (2012). *Serebral anevr i zmalı hastaların cerrah i tedav i sonuçlarının de ğ erlend i r i lmesi*.
- Fan, J., Sun, W., Lin, M., Yu, K., Wang, J., Duan, D., Zheng, B., Yang, Z., & Wang, Q. (2016). Genetic association study identifies a functional CNV in the WWOX gene contributes to the risk of intracranial aneurysms. *Oncotarget*, 7(13), 16104–16111. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7546>
- Feigin, V. L., Rinkel, G. J. E., Lawes, C. M. M., Algra, A., Bennett, D. A., Van Gijn, J., & Anderson, C. S. (2005). Risk factors for subarachnoid hemorrhage: An updated systematic review of epidemiological studies. *Stroke*, 36(12), 2773–2780. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000190838.02954.e8>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Feng, X., Qi, P., Wang, L., Lu, J., Wang, H. F., Wang, J., Hu, S., & Wang, D. (2019). Relationship between cerebrovascular atherosclerotic stenosis and rupture risk of unruptured intracranial aneurysm: A single-center retrospective study. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 186, 105543. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2019.105543>
- Fukuda, H., Yanagawa, T., Horikawa, F., Nakajima, N., Kitagawa, M., Lo, B., & Yamada, K. (2019). “Clip Anchor-Assisted Coil Embolization” for Endovascular Parent Artery Occlusion of Intracranial Traumatic Aneurysm. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 28(11), 104374. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2019.104374>
- Green, M. S. (2016). *Greenberg MS (2010). Handbook of Neurosurgery, 7th Ed ,New York: Thieme Medical Publishers,21:699-625.*
- Guarnaccia, M., Gentile, G., Alessi, E., Schneider, C., Petralia, S., & Cavallaro, S. (2014). Is this the real time for genomics? *Genomics*, 103(2–3), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2014.02.003>
- Han, E. S., & goleman, daniel; boyatzis, Richard; Mckee, A. (2019). 濟無No Title No Title. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Hasan, T. F., Duarte, W., Akinduro, O. O., Goldstein, E. D., Hurst, R., Haranhalli, N., Miller, D. A., Wharen, R. E., Tawk, R. G., & Freeman, W. D. (2018). Nonaneurysmal “Pseudo-Subarachnoid Hemorrhage” Computed Tomography Patterns: Challenges in an Acute Decision-Making Heuristics. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 27(9), 2319–2326. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.04.016>
- Hastings, P. J., Lupski, J. R., Rosenberg, S. M., & Ira, G. (2009). Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews Genetics*, 10(8), 551–564. <https://doi.org/10.1038/nrg2593>
- Hoffman, E. P., & Ph, D. (2012). *Genomics, Intellectual Disability, and Autism*. 733–743.
- Iacocca, M. A., Chora, J. R., Carrié, A., Freiburger, T., Leigh, S. E., Defesche, J. C., Kurtz, C. L., DiStefano, M. T., Santos, R. D., Humphries, S. E., Mata, P., Jannes, C. E., Hooper, A. J., Wilemon, K. A., Benlian, P., O’Connor, R., Garcia, J., Wand, H., Tichy, L., ... Knowles, J. W. (2018). ClinVar database of global familial hypercholesterolemia-associated DNA variants. *Human Mutation*, 39(11), 1631–1640. <https://doi.org/10.1002/humu.23634>
- Ihn, Y. K., Shin, S. H., Baik, S. K., & Choi, I. S. (2018). Complications of endovascular treatment for intracranial aneurysms: Management and prevention. *Interventional Neuroradiology*, 24(3), 237–245. <https://doi.org/10.1177/1591019918758493>
- Journal, C. M. (2011). Hücre içi sinyal iletimi mekanizmalarının kanser tanı ve tedavisindeki rolü. *Cumhuriyet Medical Journal*, 35(2), 302–310. <https://doi.org/10.7197/cmj.v35i2.1008000845>
- Juvela, S., Poussa, K., & Porras, M. (2001). Factors affecting formation and growth of intracranial aneurysms: A long-term follow-up study. *Stroke*, 32(2), 485–491. <https://doi.org/10.1161/01.STR.32.2.485>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Kandemirli, S. G., Cekirge, S., Oran, I., Saatci, I., Kizilkilic, O., Cinar, C., Islak, C., & Kocer, N. (2018). Intracranial serpentine aneurysms: Spontaneous changes of angiographic filling pattern. *American Journal of Neuroradiology*, *39*(9), 1662–1668. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A5746>
- Keen-Kim, D., Grody, W. W., & Richards, C. S. (2006). Microelectronic array system for molecular diagnostic genotyping: Nanogen NanoChip® 400 and Molecular Biology Workstation. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, *6*(3), 287–294. <https://doi.org/10.1586/14737159.6.3.287>
- Kissela, B. M., Sauerbeck, L., Woo, D., Khoury, J., Carrozzella, J., Pancioli, A., Jauch, E., Moomaw, C. J., Shukla, R., Gebel, J., Fontaine, R., & Broderick, J. (2002). Subarachnoid hemorrhage: A preventable disease with a heritable component. *Stroke*, *33*(5), 1321–1326. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000014773.57733.3E>
- Kleijer, W. J., van der Sterre, M. L. T., Garritsen, V. H., Raams, A., & Jaspers, N. G. J. (2011). Evolution of prenatal detection of neural tube defects in the pregnant population of the city of Barcelona from 1992 to 2006. *Prenatal diagnosis*, *31*(10), 1184–1188. <https://doi.org/10.1002/pd>
- Kumar, S., Williams, D., Sur, S., Wang, J. Y., & Jo, H. (2019). Role of flow-sensitive microRNAs and long noncoding RNAs in vascular dysfunction and atherosclerosis. *Vascular Pharmacology*, *114*, 76–92. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.10.001>
- LaFramboise, T. (2009). Single nucleotide polymorphism arrays: A decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Research*, *37*(13), 4181–4193. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp552>
- Laidlaw, J. D., & Siu, K. H. (2002). Ultra-early surgery for aneurysmal subarachnoid hemorrhage: Outcomes for a consecutive series of 391 patients not selected by grade or age. *Journal of Neurosurgery*, *97*(2), 250–258. <https://doi.org/10.3171/jns.2002.97.2.0250>
- Lansdell, T. A., Fisher, C., Simmonds, K., Reeves, M. J., Woo, D., Dorrance, A. M., & Demel, S. L. (2019). Rs10230207 genotype confers changes in HDAC9 and TWIST1, but not FERD3L in lymphoblasts from patients with intracranial aneurysm. *Neurogenetics*. <https://doi.org/10.1007/s10048-019-00569-2>
- Lee, C., & Scherer, S. W. (2010). The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, *12*(March), 1–29. <https://doi.org/10.1017/S1462399410001390>
- Li, H., Wang, W., Zhang, L., Lan, Q., Wang, J., Cao, Y., & Zhao, J. (2017). Identification of a Long Noncoding RNA-Associated Competing Endogenous RNA Network in Intracranial Aneurysm. *World Neurosurgery*, *97*, 684-692.e4. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.10.016>
- Liu, H., Zhang, T., Jiao, S., Li, B., Guan, J., & Wang, Y. X. J. (2015). Epidemiological investigation of 264 sporadic cases of ruptured cerebral aneurysm at a single institution in southwest China. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, *11*(2), 1609–1614. <https://doi.org/10.2147/NDT.S86607>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Lozano, C. S., Lozano, A. M., & Spears, J. (2019). The changing landscape of treatment for intracranial aneurysm. *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 46(2), 159–165. <https://doi.org/10.1017/cjn.2019.7>
- MacDonald, J. R., Ziman, R., Yuen, R. K. C., Feuk, L., & Scherer, S. W. (2014). The Database of Genomic Variants: A curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), 986–992. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt958>
- Mackel, C. E., Devaiah, A., Holsapple, J., & Moore, J. M. (2019). Neural Crest Cell Failure as Embryogenesis for Fusiform Aneurysm of the Anterior Communicating Artery: Case Report and Review of the Literature. *World Neurosurgery*, 129, 232–236. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.06.011>
- Mahmoud, M. M., Kim, H. R., Xing, R., Hsiao, S., Mammoto, A., Chen, J., Serbanovic-Canic, J., Feng, S., Bowden, N. P., Maguire, R., Ariaans, M., Francis, S. E., Weinberg, P. D., Van Der Heiden, K., Jones, E. A., Chico, T. J. A., Ridger, V., & Evans, P. C. (2016). TWIST1 integrates endothelial responses to flow in vascular dysfunction and atherosclerosis. *Circulation Research*, 119(3), 450–462. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308870>
- Mantovani, G., Bondioni, S., Lania, A. G., Corbetta, S., De Sanctis, L., Cappa, M., Di Battista, E., Chanson, P., Beck-Peccoz, P., & Spada, A. (2004). Parental origin of Gs α mutations in the McCune-Albright syndrome and in isolated endocrine tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 3007–3009. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0194>
- Miller, D. T., Adam, M. P., Aradhya, S., Biesecker, L. G., Brothman, A. R., Carter, N. P., Church, D. M., Crolla, J. A., Eichler, E. E., Epstein, C. J., Faucett, W. A., Feuk, L., Friedman, J. M., Hamosh, A., Jackson, L., Kaminsky, E. B., Kok, K., Krantz, I. D., Kuhn, R. M., ... Ledbetter, D. H. (2010). Consensus Statement: Chromosomal Microarray Is a First-Tier Clinical Diagnostic Test for Individuals with Developmental Disabilities or Congenital Anomalies. *American Journal of Human Genetics*, 86(5), 749–764. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.04.006>
- Mishra, S., & Whetstone, J. R. (2016). Different Facets of Copy Number Changes: Permanent, Transient, and Adaptive. *Molecular and Cellular Biology*, 36(7), 1050–1063. <https://doi.org/10.1128/mcb.00652-15>
- Naseer, M. I., Faheem, M., Chaudhary, A. G., Kumosani, T. A., Al-Quaiti, M. M., Jan, M. M., Saleh Jamal, H., & Al-Qahtani, M. H. (2015). Genome wide analysis of novel copy number variations duplications/deletions of different epileptic patients in Saudi Arabia. *BMC Genomics*, 16(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-16-S1-S10>
- Nieminen, P., Kotilainen, J., Aalto, Y., Knuutila, S., Pirinen, S., & Thesleff, I. (2003). MSX1 gene is deleted in Wolf-Hirschhorn syndrome patients with oligodontia. *Journal of Dental Research*, 82(12), 1013–1017. <https://doi.org/10.1177/154405910308201215>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Okamoto, K., Horisawa, R., Kawamura, T., Asai, A., Ogino, M., Takagi, T., & Ohno, Y. (2003). Family history and risk of subarachnoid hemorrhage: A case-control study in Nagoya, Japan. *Stroke*, *34*(2), 422–426. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000053851.17964.C6>
- Oostlander, A. E., Meijer, G. A., & Ylstra, B. (2004). Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clinical Genetics*, *66*(6), 488–495. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2004.00322.x>
- Pearce, J. M. S. (2006). Subarachnoid hemorrhage. *Seminars in Neurology*, *26*(1), 148–149. <https://doi.org/10.1055/s-2006-933320>
- Pluta, R., Hansen-Schwartz, J., Dreier, J., Vajkoczy, P., Macdonald, R., Nishizawa, S., Kasuya, H., Wellmann, G., Keller, E., Zauner, A., Dorsch, N., Clark, J., Ono, S., Kiris, T., Leroux, P., & Zhang, J. (2009). Cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: time for a new world of thought. *Neurological Research*, *31*(2), 151–158. <https://doi.org/10.5167/uzh-20337>
- Prestigiacomo, C. J. (2006). Historical perspectives: the microsurgical and endovascular treatment of aneurysms. *Neurosurgery*, *59*(5 Suppl 3), 39–47. <https://doi.org/10.1227/01.NEU.0000237438.35822.00>
- Rivera-Brugués, N., Albrecht, B., Wiczorek, D., Schmidt, H., Keller, T., Göhring, I., Ekici, A. B., Tzschach, A., Garshasbi, M., Franke, K., Klopp, N., Wichmann, H. E., Meitinger, T., Strom, T. M., & Hempel, M. (2011). Cohen syndrome diagnosis using whole genome arrays. *Journal of Medical Genetics*, *48*(2), 136–140. <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.082206>
- Ruigrok, Y. M., & Rinkel, G. J. E. (2008). Genetics of intracranial aneurysms. *Stroke*, *39*(3), 1049–1055. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.497305>
- Sanggaard, K. M., Rendtorff, N. D., Kjaer, K. W., Eiberg, H., Johnsen, T., Gimsing, S., Dyrmoose, J., Nielsen, K. O., Lage, K., & Tranebjærg, L. (2007). Branchio-oto-renal syndrome: Detection of EYA1 and SIX1 mutations in five out of six Danish families by combining linkage, MLPA and sequencing analyses. *European Journal of Human Genetics*, *15*(11), 1121–1131. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201900>
- Santiago-Sim, T., Fang, X., Hennessy, M. L., Nalbach, S. V., Depalma, S. R., Lee, M. S., Greenway, S. C., McDonough, B., Hergenroeder, G. W., Patek, K. J., Colosimo, S. M., Qualmann, K. J., Hagan, J. P., Milewicz, D. M., Macrae, C. A., Dymecki, S. M., Seidman, C. E., Seidman, J. G., & Kim, D. H. (2016). THSD1 (Thrombospondin Type 1 Domain Containing Protein 1) Mutation in the Pathogenesis of Intracranial Aneurysm and Subarachnoid Hemorrhage. *Stroke*, *47*(12), 3005–3013. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.014161>
- Schell-Apacik, C., Rivero, M., Knepper, J. L., Roessler, E., Muenke, M., & Ming, J. E. (2003). SONIC HEDGEHOG mutations causing human holoprosencephaly impair neural patterning activity. *Human Genetics*, *113*(2), 170–177. <https://doi.org/10.1007/s00439-003-0950-4>
- Schievink, W. I., Parisi, J. E., Piegras, D. G., & Michels, V. V. (1997). Intracranial aneurysms in Marfan's syndrome: An autopsy study. *Neurosurgery*, *41*(4), 866–871. <https://doi.org/10.1097/00006123-199710000-00019>

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Sengupta, R. (2015). Unruptured intracranial aneurysms. *Neurology India*, 63(6), 826–828. <https://doi.org/10.4103/0028-3886.170064>
- Shaffer, L. G., Bejjani, B. A., Torchia, B., Kirkpatrick, S., Coppinger, J., & Ballif, B. C. (2007). The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: Cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *American Journal of Medical Genetics, Part C: Seminars in Medical Genetics*, 145(4), 335–345. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30152>
- Shinawi, M., & Cheung, S. W. (2008). The array CGH and its clinical applications. *Drug Discovery Today*, 13(17–18), 760–770. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2008.06.007>
- Stranger, B. E., Forrest, M. S., Dunning, M., Ingle, C. E., Beazlsy, C., Thorne, N., Redon, R., Bird, C. P., De Grassi, A., Lee, C., Tyler-Smith, C., Carter, N., Scherer, S. W., Tavaré, S., Deloukas, P., Hurles, M. E., & Dermitzakis, E. T. (2007). Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene phenotypes. *Science*, 315(5813), 848–853. <https://doi.org/10.1126/science.1136678>
- Sudmant, P. H., Mallick, S., Nelson, B. J., Hormozdiari, F., Krumm, N., Huddleston, J., Coe, B. P., Baker, C., Nordenfelt, S., Bamshad, M., Jorde, L. B., Posukh, O. L., Sahakyan, H., Watkins, W. S., Yepiskoposyan, L., Abdullah, M. S., Bravi, C. M., Capelli, C., Hervig, T., ... Eichler, E. E. (2015). Global diversity, population stratification, and selection of human copy-number variation. *Science*, 349(6253), 1–16. <https://doi.org/10.1126/science.aab3761>
- Turgut Coşan, D., Yağcı, E., & Kurt, H. (2018). Epigenetikten Kansere Uzanan Çizgiler: Uzun Kodlamayan RNA'lar. *OSMANGAZI Journal of Medicine*, 40(3), 114–121. <https://doi.org/10.20515/otd.440958>
- Van Binsbergen, E. (2011). Origins and breakpoint analyses of copy number variations: Up close and personal. *Cytogenetic and Genome Research*, 135(3–4), 271–276. <https://doi.org/10.1159/000330267>
- van Gijn, J., Kerr, R. S., & Rinkel, G. J. (2007). Subarachnoid haemorrhage. *Lancet*, 369(9558), 306–318. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60153-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60153-6)
- Vandewalle, J., Van Esch, H., Govaerts, K., Verbeeck, J., Zweier, C., Madrigal, I., Mila, M., Pijkels, E., Fernandez, I., Kohlhase, J., Spaich, C., Rauch, A., Fryns, J. P., Marynen, P., & Froyen, G. (2009). Dosage-Dependent Severity of the Phenotype in Patients with Mental Retardation Due to a Recurrent Copy-Number Gain at Xq28 Mediated by an Unusual Recombination. *American Journal of Human Genetics*, 85(6), 809–822. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.10.019>
- Vlak, M. H. M., Algra, A., Brandenburg, R., & Rinkel, G. J. E. (2011). Prevalence of unruptured intracranial aneurysms, with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*, 10(7), 626–636. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70109-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70109-0)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- Wang, W., Li, H., Yu, L., Zhao, Z., Wang, H., Zhang, D., Zhang, Y., Lan, Q., Wang, J., & Zhao, J. (2017). Aberrant expression of lncRNAs and mRNAs in patients with intracranial aneurysm. *Oncotarget*, 8(2), 2477–2484. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13908>
- Weischenfeldt, J., Symmons, O., Spitz, F., & Korbel, J. O. (2013). Phenotypic impact of genomic structural variation: Insights from and for human disease. *Nature Reviews Genetics*, 14(2), 125–138. <https://doi.org/10.1038/nrg3373>
- White, P. M., Wardlaw, J. M., & Easton, V. (2000). Can noninvasive imaging accurately depict intracranial aneurysms? A systematic review. *Radiology*, 217(2), 361–370. <https://doi.org/10.1148/radiology.217.2.r00nv06361>
- Wu, H., Wang, X., Zhou, X., Wu, Z., Wang, Y., Pan, M., & Lu, B. (2020). Mycotic aneurysm secondary to melioidosis in china: A series of eight cases and a review of literature. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14(8), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008525>
- Wu, Y. Q., Li, Z., Shi, Y., Chen, L., Tan, H., Wang, Z., Yin, C., Liu, L., & Hu, J. (2018). Exome Sequencing Identifies LOXL2 Mutation as a Cause of Familial Intracranial Aneurysm. *World Neurosurgery*, 109, e812–e818. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2017.10.094>
- Yang, J., Mani, S. A., Donaher, J. L., Ramaswamy, S., Itzykson, R. A., Come, C., Savagner, P., Gitelman, I., Richardson, A., & Weinberg, R. A. (2004). Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell*, 117(7), 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.06.006>
- Yasuno, K., Bakırcıoğlu, M., Low, S. K., Bilgüvar, K., Gaál, E., Ruigrok, Y. M., Niemelä, M., Hata, A., Bijlenga, P., Kasuya, H., Jääskeläinen, J. E., Krex, D., Auburger, G., Simon, M., Krschek, B., Oztürk, A. K., Mane, S., Rinkel, G. J. E., Steinmetz, H., ... Günel, M. (2011). Common variant near the endothelin receptor type A (EDNRA) gene is associated with intracranial aneurysm risk. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(49), 19707–19712. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117137108>
- Yoon, N. K., McNally, S., Taussky, P., & Park, M. S. (2016). Imaging of cerebral aneurysms: a clinical perspective. *Neurovascular Imaging*, 2(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40809-016-0016-3>
- Zairi, F., De Saint Denis, T., Thines, L., Bourgeois, P., & Lejeune, J. P. (2011). Ruptured cerebral oncotic aneurysm from choriocarcinoma: Report of two cases and review of the literature. *Acta Neurochirurgica*, 153(2), 353–357. <https://doi.org/10.1007/s00701-010-0863-7>
- Zarrei, M., MacDonald, J. R., Merico, D., & Scherer, S. W. (2015). A copy number variation map of the human genome. *Nature Reviews Genetics*, 16(3), 172–183. <https://doi.org/10.1038/nrg3871>
- Zhang, J., & Clatterbuck, R. E. (2008). Molecular genetics of human intracranial aneurysms. *International Journal of Stroke*, 3(4), 272–287. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2008.00224.x>