

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAC TABANLI ARRAY CGH UYGULAMALARININ  
DİSMORFİK OLGULARDAKİ TANISAL DEĞERİ**

**Deniz SÜNNETÇİ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ  
2013

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAC TABANLI ARRAY CGH UYGULAMALARININ  
DİSMORFİK OLGULARDAKİ TANISAL DEĞERİ**

**Deniz SÜNNETÇİ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü  
DOKTORA TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Yard. Doç. Dr. Naci ÇİNE

KOCAELİ  
2013

## SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: BAC tabanlı array CGH uygulamalarının dismorfik olgulardaki tanısal değeri

Tez yazarı: Deniz SÜNNETÇİ

Tez savunma tarihi:

Tez Danışmanı: Naci ÇİNE

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Doktora olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:		
ÜYE(DANIŞMAN):		
ÜYE:		
ÜYE:		
ÜYE:		

### ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../20..

Prof.Dr. Tuncay ÇOLAK

Enstitü Müdürü

## Özet

### BAC Tabanlı Array CGH Uygulamalarının Dismorfik Olgulardaki Tanısal Değeri

Kromozomal aberasyonlar multipl konjenital anomali, dismorfizm, gelişim geriliği/ mental retardasyon ve diğer nörolojik bozukluklara sebep olmaktadır. Rutin kromozom analizi, 5 Mb'dan büyük olan anöploidi ve yapısal düzensizlikleri saptayabilmekte ancak telomer bölgelerindeki aberasyonları, mikro-delesyon ve mikro-duplikasyonları tespit edememektedir. Floresans in situ hibridizasyon (FISH) ise fenotipe bağlı olarak belirlenen lokuslar hakkında bilgi verebilmektedir. Bu sınırları aşmak için yeni moleküler sitogenetik teknikler geliştirilmiştir. BAC tabanlı array CGH, kromozom çalışmalarının rezolüsyonunu artırarak kapsamlı bir analiz imkanı tanımaktadır.

Bu çalışmada, 0-18 yaş arası 77 dismorfik olguda yapılmış BAC tabanlı array CGH sonuçları retrospektif olarak yeniden değerlendirilmiş ve bu sonuçlar kromozom ve FISH analizi çıktılarıyla karşılaştırılmıştır. Elde edilen veriler ışığında BAC tabanlı array CGH'in dismorfik olgu tanısındaki önemi teknik açıdan tartışılmıştır.

Yapılan array CGH deneyleri sonucunda 77 hastanın 18'inde (%24,4), 19 farklı aberasyon saptanmıştır. Bu 77 hastanın 32'sine kromozom analizi yapılmıştır. Kromozom analizi yapılan 32 hastanın 13'ünde (% 40,6) aberasyonlar bulunmuş, 19'unda (%59,4) ise normal karyotipe rastlanmıştır. Array CGH ile, kromozom analizi yapılan 32 hastanın 3'ünde (%9,4) kromozom analizinin saptayamadığı aberasyonlar bulunmuştur. Kromozom analizleri ile saptanan dengeli insersiyon ve inversiyonlar array CGH ile saptanamamıştır.

Array CGH tabanlı metodlar, konvansiyonel sitogenetik metodlarıyla elde edilen verileri zenginleştirmektedir. Ancak array CGH metodları hastalıkların mekanizmalarının detaylı araştırılmasında moleküler sitogenetik, konvansiyonel sitogenetik, post-genomik ve biyoinformatik teknolojilerle kombine çalışılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: BAC tabanlı array CGH, dismorfik bulgular, dismorfik çocuk, kromozomal düzensizlikler

## Abstract

### Diagnostic Value of BAC based Array CGH Applications in Dysmorphic Cases

Chromosomal aberrations are the major cause patients with multiple congenital anomalies, dysmorphism, developmental delay/mental retardation, and other neurological disorders. Routine chromosome analysis identifies aneuploidy and structural rearrangements greater than 5Mb but can not identify abnormalities of the telomeric regions, micro-deletions and micro-duplications. Fluorescence in situ hybridization (FISH) was developed, however, FISH can usually only be performed in a limited manner based on phenotype. Molecular cytogenetic techniques were developed to overcome these limitations. BAC based array CGH was developed to analyze increasing the resolution.

In this study, BAC-based array CGH results of 77 dysmorphic patients between the ages of 0-18 were re-evaluated retrospectively and the results were compared with the data from routine chromosome and FISH analysis. Given these data, importance of BAC-based array CGH was discussed from technological aspects for the diagnosis of dysmorphic cases.

As a result of array CGH experiments 19 different aberrations were found in 18 of 77 patients (24.4%). Chromosomal analysis was performed in 32 of these 77 patients. Chromosome analysis showed aberrations in 13 of the 32 patients (40.6%) and normal karyotype in 19 of 32 patients (59.4%). By array CGH, chromosomal aberrations that couldn't be detected by chromosome analysis were found in 3 of 32 patients (9.4%). Balanced insertions and inversions that were identified by chromosome analysis couldn't be detected by array CGH.

Array CGH-based methods, enrich the data obtained by conventional cytogenetic methods. However, for a detailed investigation of the mechanisms of diseases, molecular cytogenetic methods, array CGH, conventional cytogenetics, post-genomics and bioinformatics technologies should be studied combined.

Keywords: BAC-based array CGH, dysmorphic features, dysmorphic child, chromosomal rearrangements

## **Teşekkür**

*Bilimin kapılarını aralayıp bana genetik alanında çalışma fırsatı veren ve manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam **Doç. Dr. Hakan SAVLI**'ya;*

*Genetik biliminin karmaşıklığı içerisinde kaybolduğum zamanlarda genetiği en yalın biçimiyle sabırla öğreten, en yoğun olduğu anlarda bile sıkıntılarımı dinleyip bana yol gösteren değerli danışman hocam **Yard. Doç. Dr. Naci ÇİNE**'ye;*

*Başta **Doç. Dr. Bülent KARA** olmak üzere eğitim sürecinde yer alan tüm **ÖĞRETİM ÜYELERİNE**;*

*Çalışma hayatımın her anında yardımlarını esirgemeyen tüm **ÇALIŞMA ARKADAŞLARIMA**;*

*Doğduğum andan bu yana hayatımın her anında koşulsuz yanımda olan ve beni destekleyen **AİLEME**;*

*Sonsuz Teşekkürlerimi Sunuyorum...*

*Saygılarımla  
Deniz SÜNNETÇİ*

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Dismorfoloji	2
2.1.1. Dismorfolojinin Tanımı	2
2.1.2. Terminoloji	2
2.1.2.1. Malformasyon, Disrupsiyon, Deformasyon, Displazi	2
2.1.2.1.1. Malformasyon	3
2.1.2.1.2. Disrupsiyon	5
2.1.2.1.3. Deformasyon	6
2.1.2.1.4. Displazi	6
2.1.2.2. Majör ve Minör Anomaliler	6
2.1.2.2.1. İnsidans	9
2.1.2.3. Sendrom, Sekans, Asosiasyon	10
2.1.2.3.1. Sendrom	11
2.1.2.3.2. Sekans	11
2.1.2.3.3. Asosiasyon (Birliktelik)	12
2.1.3. Etiyoloji	12
2.1.4. Malformasyonların Genetik Sebepleri	12
2.1.5. Kromozom Anomalileri ve Malformasyonlar	13
2.1.5.1. Sayısal Anomaliler	18
2.1.5.1.1. Trizomiler	18
2.1.5.1.2. Monozomiler	19
2.1.5.1.3. Mozaisizm	20
2.1.5.2. Yapısal Kromozom Anomalileri	20
2.1.5.2.1. Delesyonlar	21
2.1.5.2.2. Duplikasyonlar	25
2.1.5.2.3. Translokasyonlar	25
2.1.5.2.4. İnversiyonlar	25
2.1.5.2.5. İzokromozomlar	26
2.1.5.2.6. Frajil Bölgeler	26
2.1.5.3. Diğer Kromozom Anomalileri	27
2.1.5.4. Uniparental Dizomi	28

2.1.6. Gen Mutasyonları ve Malformasyonlar	28
2.1.6.1. Dominant Fenotipler	29
2.1.6.2. Resesif Fenotipler	30
2.1.7. Malformasyonların Multifaktöryel (Bifaktöryel) Sebepleri	31
2.1.8. Malformasyonların Çevresel Sebepleri	32
2.2. Dismorfik çocuğa yaklaşım	33
2.2.1. Tanısal Yaklaşım	36
2.2.1.1. Şüphe	36
2.2.1.2. Öykü	37
2.2.1.3. Fizik muayene	40
2.2.1.4. Sentez	42
2.2.1.5. Spesifik testler	42
2.2.1.6. Bilinen/bilinmeyen tanıya yönelik genetik danışma	45
2.2.1.7. Prenatal tanı	46
2.2.1.8. Takip	46
2.3. Mikroarray'ler	47
2.3.1. DNA Mikroarray'leri	47
2.3.2. Mikroarray'in Tarihçesi	48
2.3.3. Mikroarray Teknolojisinin Prensipleri	48
2.3.4. Mikroarray'lerin Kullanım Alanları ve Tipleri	48
2.3.5. Mikroarray'lerin Üretimi	53
2.3.5.1. Yüzey Mühendisliği	53
2.3.5.2. Noktalı Ve Oligonükleotid Array'ler	54
2.4. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH) teknolojisi	56
2.4.1. aCGH Metodolojisi	59
2.4.2. aCGH teknolojisinin avantaj ve dezavantajları	61
2.4.3. aCGH ile spesifik kromozomal bölgelerin çalışılması	62
3. Gereç-Yöntem	63
3.1. Yöntem	63
3.1.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	63
3.1.2. DNA'ların Kantite ve Kalite Tayini	64
3.1.3. aCGH Metodu	65
3.1.3.1. DNA'nın İşaretlenmesi	66
3.1.3.1.1. DNA'nın Pürifikasyonu	66
3.1.3.1.2. Kombinasyon	67
3.1.3.2. Hibridizasyon	67



3.1.3.3 Yıkama	68
3.1.3.4 Tarama	69
3.1.3.5 Veri Analizi	70
3.1.3.5.1 BlueGnome CytoChip Constitutional array'lerin özellikleri	71
3.1.4 Postnatal Kromozom Analizi	74
3.1.4.1 Periferik Lenfosit Kültürü	74
3.1.4.2. Kromozom analizi	75
3.1.5. FISH yöntemi	75
3.1.5.1. Prehibridizasyon	75
3.1.5.2. Denaturasyon	75
3.1.5.3. Hibridizasyon	75
3.1.5.4. Posthibridizasyon	75
3.1.5.5. Analiz	75
3.1.6. Postnatal kromozom analizinde kullanılan solüsyonlar	76
4. BULGULAR	78
5. TARTIŞMA	100
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	104
KAYNAKLAR	105
ÖZGEÇMİŞ	112

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CNV: Copy Number Variation (Kopya sayısı varyasyonu)

Mb: Megabaz

Kb: Kilobaz

bç: Baz çifti

aCGH: array based Comperative Genomic Hybridization (array tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon)

BAC: Bacterial Artificial Chromosome (Bakteri yapay kromozomu)

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

FISH: [Fluorescence](#) In Situ [Hybridization](#) (Floresans in situ hibridizasyon)

CGH: Comperative Genomic Hybridization (Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon)

SNP: Single Nucleotide Polymorphism (tek nükleotid polimorfizmi)

GDO: Genetiği Değiştirilmiş Organizma

LOH: Loss Of Heterozygosity (Heterozigosite kaybı)

CESH: Comparative Expressed Sequence Hybridisation (Karşılaştırmalı Ekspresyon Sekans Hibridizasyonu)

QFPCR: Quantitative fluorescence polymerase chain reaction (Kantitatif floresans polimeraz zincir reaksiyonu)

MLPA: Multiplex ligated probe amplification (Multipleks Ligasyon Prob Amplifikasyonu)

AVSD: Atrio-ventrikuler septal defekt

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Malformasyon, disrupsiyon, deformasyon, displazi .....	3
Şekil 2.2. Majör kalıtsal fragil bölgelerin şematik sunumu .....	27
Şekil.2.3. İnk-jet baskılama yöntemi ile oligo sentezinin genel mekanizması .....	55
Şekil 2.4. Array CGH: Tüm basamaklar .....	61
Şekil.3.1. NanoDrop ND-1000 .....	65
Şekil.3.2. DNA solüsyonlarının lameller üzerine pipetlenmesi .....	67
Şekil 3.3. Mikroarray'lerin lam kutusuna yerleştirilmesi .....	68
Şekil 3.4. Mikroarray taşıyan kasetlerin tarayıcıya yerleştirilmesi .....	69
Şekil 3.5. Agilent Mikroarray Tarayıcısı G2505B Modeli .....	70
Şekil 4.1. Saptanan tüm kromozomal anomalilere ait array CGH profilleri .....	80

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bazı malformasyonlar ile ilgili terminoloji .....	4
Çizelge 2.2. Konjenital malformasyonların nedenleri .....	5
Çizelge 2.3. Bazı minör anomaliler .....	8
Çizelge 2.4. Canlı doğan infantlarda görülen anomali sebeplerinin dağılımı .....	13
Çizelge 2.5. Kromozom aberasyonlarının keşfi .....	14
Çizelge 2.6. Spontan abortuslardaki kromozomal aberasyonların prevalansı .....	15
Çizelge 2.7. Yenidoğanlarda en sık gözlenen kromozom anomalileri ve dismorfik sendromlar .....	17
Çizelge 2.8. Canlı doğan infantlarda kromozomal aberasyonların prevalansı .....	19
Çizelge 2.9. Malformasyon ve malformasyon sendromlarıyla ilgili mikrolelesyonlar .....	22
Çizelge 2.10. Dismorfik çocuğun değerlendirilmesinde kullanılacak kontrol listesi ...	34
Çizelge 2.11. Dismorfolojik öykünün basamakları .....	38
Çizelge 2.12. İncelenmesi gereken bazı önemli dismorfik bulgular .....	41
Çizelge 2.13. Etiyolojisinde genetik sebeplerin varlığını düşündüren bulgular .....	43
Çizelge.2.14. Mikroarray teknolojileri ve uygulamaları .....	50
Çizelge.2.15. Mikroarray uygulamaları ve prob/ hedef tipleri .....	53
Çizelge.2.16. Array CGH, FISH ve Karyotip analizinin teknolojik açıdan karşılaştırılması .....	58
Çizelge 3.1. BlueGnome CytoChip Constitutional array'lerinde yer alan lokuslar .....	71
Çizelge 4.1. Çalışmada yer alan 77 hastaya ait genotip ve fenotip bulguları .....	89
Çizelge 4.2. array CGH ile saptanan kromozomal anomaliler .....	98

## 1. GİRİŞ

Dismorfik çocuk, vücut bölgelerinde bir veya daha fazla yapısal bozukluğu bulunan çocuktur (Boduroğlu, 2011). Tüm anomalilerin etiolojisinde genetik sebepler (% 15-25), çevresel faktörler veya multifaktöryel kalıtım (çevresel faktörler+genetik) yatmaktadır. Kromozom bozuklukları genetik etiyojilerin % 10-15 kadarını oluşturmakta (Stevenson ve Hall, 2006) ve dismorfik çocuklarda en sık karşılaşılan sebep olarak karşımıza çıkmaktadır. Beş Mb ve beş Mb'dan daha büyük olan kromozom bozuklukları, bireylerin kromozomlarından karyotip elde ederek ve bu karyotiplerdeki bant paternlerini analiz ederek saptanmaktadır. Ancak 4 Mb'dan daha küçük kromozom bozukluklarının saptanması için yeterli değildir. Bu yüzden zaman içinde daha yüksek rezolüsyonlu tekniklere ihtiyaç duyulmuştur. Floresans *in situ* Hibridizasyon (FISH), tanı rezolüsyonunu arttırmış fakat hedef odaklı bir metod olarak kalmıştır. Daha sonra geliştirilen metafaz CGH, tanıda kullanışlı bir yöntem gibi görünmesine rağmen, tanı konulmamış gelişim geriliği ve konjenital anomali vakalarının yaklaşık %10'unu açıklığa kavuşturmuş, metafaz kromozomlarının düşük çözünürlüğü ve teknik deneyim bu teknolojinin uygulama yaygınlığını sınırlamıştır.

Moleküler Karyotipleme olarak da bilinen Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (array based Comparative Genomic Hybridization; aCGH), gerek oligonükleotid tabanlı olsun gerekse BAC tabanlı olsun, kromozom bozukluklarını yüksek rezolüsyonda tarama imkanı sunmuştur (Schena ve ark., 1995). aCGH'in rutin tanıda sitogenetik metodların yerini alacağı öne sürülmüş olsa da önemli dezavantajlarından ötürü klasik sitogenetik metodlarla birlikte kullanılması tanı koyma niteliğini arttıracığı yönündedir.

Bu retrospektif çalışmada, 0-18 yaş arası 77 dismorfik olguda yapılmış BAC tabanlı array CGH sonuçlarının yeniden değerlendirilmesi ve bu sonuçların kromozom ve FISH analizi verileriyle klinik teknik açıdan karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. DİSMORFOLOJİ

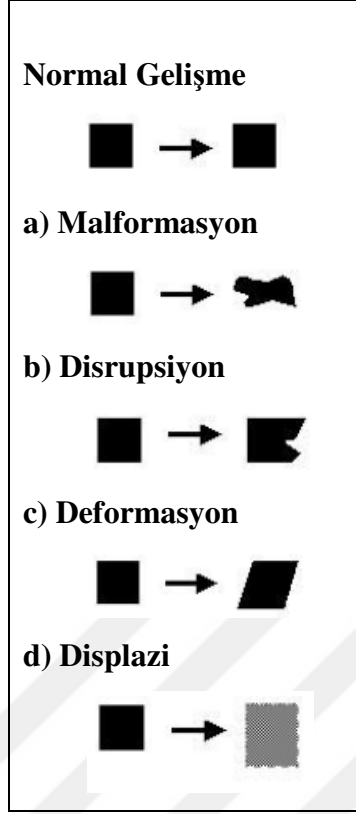
#### 2.1.1. Dismorfolojinin Tanımı

Dismorfoloji, 1960 yıllarında Amerikan asıllı pediatrist ve dismorfolog Dr. David Weyhe Smith tarafından ortaya atılmış olup klinisyen ve araştırmacıların insandaki gelişim paternleri ve yapısal anomalileri yorumlamaya çalıştığı klinik genetiğin bir disiplini. Dismorfoloji embriyoloji, klinik genetik ve pediatri alanlarındaki kavram, bilgi ve tekniklerden faydalanır. Genetik servislerinin bu kombinasyonda yer almasının sebebi, yapısal defektlerin büyük çoğunluğunun temelinde genetik sebeplerin yer almasıdır.

#### 2.1.2. Terminoloji

##### 2.1.2.1. Malformasyon, Disrupsiyon, Deformasyon, Displazi

Patolojik olarak birbirinden farklı olan yapısal anomaliler, **malformasyon** (Şekil 2.1.a), **disrupsiyon** (Şekil 2.1.b), **deformasyon** (Şekil 2.1.c), ve **displazi** (Şekil 2.1.d) olarak adlandırılmaktadır (Spranger ve ark., 1982). Anomaliler değişikliğin meydana geldiği gelişim basamağına, değişikliğe neden olan sürece ya da sonuca göre bu kategorilerden birinde yer alırlar.



Şekil 2.1. Malformasyon, disrupsiyon, deformasyon, displazi (Taçooy ve ark., 2005)

#### 2.1.2.1.1. Malformasyon

Organlarda ve değişik vücut bölgelerinde gelişim sürecindeki hatalar sonucu oluşan morfolojik bozukluklardır (örneğin; spida bifida) (Boduroğlu, 2011). Malformasyonlar, bir yapının ilk oluşumu esnasında ortaya çıkarlar. Yapı hatalı, eksik oluşabilir ya da yapının oluşumu tamamen başarısız olabilir (Spranger ve ark., 1982). Tek bir malformasyonu olan çocuklar genellikle bunun dışında tamamen normaldir. Malformasyon düzeltilebildiği takdirde prognoz çok iyidir (Boduroğlu, 2011).

Çizelge 2.1, bazı malformasyonların terminolojisi hakkında bilgi vermektedir.

Çizelge 2.1. Bazı malformasyonlar ile ilgili terminoloji (Taçoay ve ark., 2005)

---

**Brakisefali:** Baş çevresinin ön arka çapının sagittal planda kısa olması durumu, kafa normalden daha yuvarlaktır.

**Klinodaktili:** Parmakların medial veya laterale kıvrılması, sıklıkla 5. parmağın içe kıvrılması şeklinde rastlanır.

**Hipoplastik tırnak:** Parmaklarda olması gerekenden küçük tırnak.

**Düşük kulak:** Helikslerin kraniumla birleşme yerinin, her iki iç kantustan düz bir hatla çekilen çizginin altında kalması şeklinde tanımlanır.

**Hipertelorizm:** Her iki göz pupilleri arasında uzaklığın artması.

**Polidaktili:** El ve ayak parmaklarında ekstra parmak bulunmasıdır.

**Kısa palpebral fissürler:** Dış kantus iç kantus arası mesafe temel alındığında gözün horizontal aralığının az olmasıdır.

**Sindaktili:** Parmakların yetersiz ayrışmasıdır. En sık elde 3.-4. parmaklar, ayakta 2.-3. parmaklar arasında olur.

**Sinofrizis:** Kaşların orta hatta birleşmesi

**Telekantus:** İç kantusların lateralde yer alması. İç kantus mesafe artar fakat pupiller arası mesafe normaldir.

---

Çocukların yaklaşık %3'ünde belirgin konjenital malformasyonlar görülmektedir. Neonatal ve infant ölümlerinin sorumlusu çoğunlukla bu konjenital malformasyonlardır. Pediatri bölümlerine başvuran hastaların %30'unu konjenital malformasyonu olan hastalar oluşturmaktadır (Goh, 2001).

Konjenital malformasyonlar, etiyolojide gösterilmiş tek gen hastalıkları olanlar hariç, multifaktöryel kalıtım (genetik+çevre) özellikleri gösterirler. Ebeveynlerin bir sonraki gebeliklerinde ampirik risk %2-5 olacaktır (Boduroğlu, 2011).

Çizelge 2.2, konjenital malformasyonların nedenlerini göstermektedir.



Çizelge 2.2. Konjenital malformasyonların nedenleri (Taçoş ve ark., 2005)

<b>Monogenik (ciddi anomalilerin %7.5'i)</b>	<b>Çevresel ajanlar (% bilinmiyor)</b>
X'e bağılı hidrosefali	Poliklorine bifenil
Akondroplazi	Herbisid
Ektodermal displazi	Crva
Apert sendromu	Alkol
Treacher-Collins sendromu	
<b>Kromozomal (ciddi anomalilerin %6'sı)</b>	<b>İlaç (% bilinmiyor)</b>
Trisomi 21, 18, 13	Talidomid
X0, XXY	Dietilstilbestrol
Delesyonlar (4p-, 5p-, 7q-, 13q-, 18p-, 18q-, 22q-)	Fenitoin
Prader-Willi sendromu (%50'ünde 15. kromozomda delesyon)	Warfarin
	Sitotoksik ilaçlar
	İsotretinoic (A Vit.)
<b>Maternal infeksiyon (ciddi anomalilerin 2'si)</b>	D-Penisilamin
İntrauterin infeksiyonlar (ör. Herpes simplex, CMV, varicella, rubella ve toksoplazmozis)	Valproik asid
<b>Maternal Hastalık (ciddi anomalilerin %3.5'ini)</b>	<b>Bilinmeyen etyolojiler</b>
Diabetes mellitus	Poligenetik
Fenil ketonüri	Anensefali/ spina bifida
Hipertermi	Yarık dudak/damak
	Pilor stenozu
<b>Uterusun çevresel faktörleri (% bilinmiyor)</b>	Konjenital kalp hastalığı
<b>Deformasyon</b>	
Uterusta bası, oligohidramnios; çarpık ayak, tortikolis, doğumsal kalça çıkığı, pulmoner hipoplazi, fasial paralizisi	<b>Sporadik sendrom kompleksleri (anomalileri)</b>
	CHARGE birlikteliğı
<b>Disrupsiyon</b>	VATER birlikteliğı
Amniyotik bantlar, konjenital amputasyon, gastroşizis, porensfali, intestinal atrezi	Pierre Robin sekansı
	Prune-Belly sendromu
<b>İkiz</b>	<b>Nutrisyonel</b>
Bitişik ikizler, intestinal atrezi, porensfali	Düşük folik asid ve nöral tüp defektleri

### 2.1.2.1.2. Disrupsiyon

Normal olarak gelişim göstermiş bir yapının yıkıcı etkiye sebep olan durumlar sonucunda şekil bozukluğına uğramasıdır (örneğin; amniyotik bantlar) (Boduroğlu, 2011). Şekil ve konfigürasyon değışimleri, genellikle ayrılmayan kısımların ayrılması, kaynaşmayan kısımların kaynaşması, önceden varolanın sonradan yok olması gibi geniş çaplı morfolojik değışiklikler de disrupsiyona karşı sekonder olarak gelişebilir. Disrupsiyon nedenleri genelde çevreseldir, ancak kalıtsal trombofililer gibi genetik nedenler sonucu da oluşabilmektedir. Mekanik etkiler baskı, hemoraji, tromboz, emboli ve diğer vasküler bozukluklara yol açarak oluşan yapının zarar görmesine sebep olabilirler (Stevenson ve Hall, 2006).

### 2.1.2.1.3. Deformasyon

İntrauterin hayatta fetüsün dış mekanik etkilere uzun süre maruz kalması nedeniyle farklı vücut kısımlarında oluşan ve yenidoğanların yaklaşık %2'sinde karşılaşılan yapısal bozukluklardır (örneğin; şiddetli oligohidramniosla bağlı yüz şekli) (Boduroğlu, 2011). Deformasyonlar simetri kaybı, anormal duruş ve şekil bozukluğu ile sonuçlanır. Genelde organogenez sonrası meydana gelir ve herhangi bir doku defektine gereksinim duymaz. Ancak anomal dokular deformasyona daha meyillidir. Deformasyonlar genelde postnatal dönemde geri dönüşümlüdür, fakat bu durum deformasyonun ne kadar süre kaldığına ve gelişimin dış etkenlerin başlangıcına kadar ne kadar ilerlediğine bağlıdır (Stevenson ve Hall, 2006).

Deformasyonlar genellikle ilk gebelikten doğan bebeklerde görülür (Jones, 1997). Deformasyonların tekrarlama riski mekanik etkiyi ortaya çıkaran faktörün ne olduğuna göre değişir, örneğin çoğul gebelik nedeniyle oluştuysa sonraki tekil gebelikte risk çok düşüktür. Ancak etiyolojide uterus anomalisi var ise aynı kadının sonraki gebeliklerinde risk daha yüksek olacaktır (Boduroğlu, 2011).

### 2.1.2.1.4. Displazi

Hücreyel organizasyon bozukluğu sonucu ortaya çıkan durumlardır (örneğin; akondroplazi). Lokalize ve tek displazilerin sebebi çoğunlukla bilinmemektedir. Yaygın displazilerde ise sebep ilgili gen mutasyonlarıdır. Lokalize olanlarında sebebin aynı gendeki somatik mutasyonlar olabileceği düşünülmektedir. Çoğu sporadik olaylar olup tekrarlama riski düşüktür ve tekrarlama riski ilgili hastalığın kalıtım şekline bağlıdır (Boduroğlu, 2011).

### 2.1.2.2. Majör ve Minör Anomaliler

Yapısal anomaliler klinik önemine ve ciddiyetine göre ikiye ayrılır: **Majör (ciddi) anomaliler** ve **minör (hafif) anomaliler**.

**Majör (ciddi) anomaliler**, tıbbi, sosyal veya kozmetik olarak önemli sonuçları olan, tedavi edilmediği takdirde yaşamı tehdit edebilen ve işlev bozukluğuna yol açan yapısal

bozukluklardır. Konjenital kalp hastalıkları, yarık damak, yarık dudak, nöral tüp defektleri gibi.

**Minör (hafif) anomaliler** ise, ciddi bir sağlık sorununa yol açmayan, hatta tek tek olarak normal toplumda da bulunabilen hafif yapısal değişikliklerdir. Epikantal katlantı, simian çizgisi, aşağı eğimli palpebral fissürler gibi.

Majör anomaliler tanısal açıdan önemli olmakla birlikte, dismorfik hastaların tümünde görülmezler. Bu tip hastalarda tanı genellikle, çocuğun genel görünüşüne ya da yüz görünümüne hastalığa özgü özellik katan minör anomalilerin saptanması ile konur (Boduroğlu, 2011).

Bazı minör anomaliler Çizelge 2.3'te gösterilmektedir.

Çizelge 2.3. Bazı minör anomaliler (Hunter, 2002)

Kraniofasial	Diğer vücut bölgeleri	Cilt
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sagital fontanel</li> <li>• Aşağı eğimli palpebral fissürler</li> <li>• Kısa palpebral fissürler</li> <li>• Antevort ala nasiller</li> <li>• Natal dişler</li> <li>• Az gelişmiş malar</li> <li>• Bifid uvula</li> <li>• Posterior yerleşimli kulaklar</li> <li>• Açık metopik suturlar</li> <li>• Brushfield lekeleri</li> <li>• Oküler heterokromi</li> <li>• Düz filtrum</li> <li>• Anguli oris hipoplazisi</li> <li>• Mikrognati</li> <li>• Periauriküler pit ya da tag</li> <li>• Epikantik katlantılar</li> <li>• Uzak/yakın mesafeli gözler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bifid ksifoid</li> <li>• Anormal umbilikal pozisyon</li> <li>• 5. parmak klinodaktili</li> <li>• Nukal kalınlık</li> <li>• Aksesuar meme başı</li> <li>• Derin sakral dimfle</li> <li>• Belirgin topuk</li> <li>• Pectus excavatum</li> <li>• Umbilikal herni</li> <li>• Tek palmar çizgi</li> <li>• Tek umbilikal arter</li> <li>• Şal skrotum</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipopigmente lezyonlar</li> <li>• Aplazi kutis konjenita</li> <li>• Çeşitli nevüsler</li> <li>• Alt omurgada saçlı lezyon</li> <li>• Sebasöz nevüs</li> <li>• Hafif cilt sindaktili</li> <li>• Cafe au lait lekeleri</li> </ul>

• Hipodonti		
• Dudak frenulum yokluğu		
• Kulak heliksi anomalileri		

### 2.1.2.2.1. İnsidans

Majör anomaliler, en sık düşüklerde, orta sıklıkta ölü doğan infantlarda, en düşük sıklıkta ise canlı doğan infantlar arasında görülmektedir. Majör anomalilerin doğum esnasında canlı doğan infantlar arasında görülme sıklığı %2-3 kadardır (Marden ve ark., 1964; Van Regemorter ve ark., 1984; Myriantopoulos ve Chung, 1974; Chung ve Myriantopoulos, 1987; National Birth Defects Prevention Network, 2003; Johnson ve Rouleau, 1997; [Queisser-Luft](#) ve ark., 2002; Stoll ve Eurocat Working Group, 1995; California Birth Defects Monitoring Program, 1994; Cha´vez ve ark., 1988; Ka´lle´n, 1987; Merlob ve ark., 1985). Ayrıca 5 yaşa kadar, bireylerin %5'inde majör anomali saptanmaktadır.

İki veya daha fazla minör anomalinin varlığı, bir majör anomalinin ya da sendromun var olabileceğini belirtmektedir. Minör anomaliler çoğunlukla multipl anomalilerle seyreden spesifik bir bozukluk ya da sendromun belirteci, prenatal gelişim esnasında ise hasarın oluşum zamanının belirleyicisidir.

Yenidoğan infantların yaklaşık %15'i bir ya da daha fazla minör anomaliye sahiptir (Marden ve ark., 1964; Myriantopoulos ve Chung CS, 1974; Queisser-Luft ve ark., 2002; Merlob ve ark., 1985; Me´hes ve Stalder, 1983; Leppig ve ark., 1987). Yüksek oranda intrauterin büyüme geriliği olan prematür infantlarda daha yüksek bir insidans söz konusu olabilmektedir. Çocuktaki mevcut minör anomalilerin sayısına bağlı olarak majör doğumsal defektin bulunma riski artmaktadır. Minör anomalisi olmayan çocukların majör anomalili olma insidansı düşük iken (yaklaşık %1), bir minör anomalisi olan çocuğun

majör anomalili olma insidansı %3', iki minör anomalisi olan çocuğun majör anomalili olma insidansı %10, üç ve daha fazla minör anomalisi olan çocuğun majör anomalili olma insidansı ise %20 olarak bildirilmiştir (Marden ve ark., 1964; Mehes ve Stalder, 1983; Leppig ve ark., 1987). Minör anomaliler ile normal varyantlar ya da majör anomaliler arasında kesin bir fark yoktur. Determinasyonlar çoğunlukla gelişigüzel yapılmaktadır. Holmes'e göre minör anomaliler normal varyantlardan şu şekilde ayrılmaktadır: Bir özelliğin toplumda görülme sıklığının %4 veya daha fazla ise, bu özellik normal olarak değerlendirilmektedir (Holmes, 1976).

Bazı minör anomaliler yaş ile birlikte kaybolmaktadır. Aşağı eğimli palpebral fissürler, yatay palmar çizgiler, asimetrik kulaklar, preauriküler skin tag ve klinodaktili bu anomaliler arasında yer almaktadır. Mehes'e göre, doğum sonrası yüksek miktarda saptanan minör anomali sayısı, 1 yaşa kadar azalma göstermiştir (Meheş ve Stalder, 1983). Yüksek damak, düşük kulaklar ve yukarı eğimli palpebral fissürlerin prevalansı 1 yaşa kadar %50 oranında azalmaktadır. Fakat majör anomaliler için, minör anomalilerdeki 1 yaşa kadar görülen bu azalma tam tersi özellik göstermektedir (Myriantopoulos ve Chung, 1974).

### 2.1.2.3. Sendrom, Sekans, Asosiasyon

Multipl yapısal anomaliler çoğunlukla birlikte görülmektedir ve bu durum için bir terminoloji geliştirilmiştir (Spranger ve ark., 1982; Smith, 1975; Opitz ve ark., 1979; Pinsky, 1977; Gilbert-Barnes ve ark., 1989; McKusick, 1969). Hastaya yapılacak yaklaşım ve verilecek genetik danışmayı yönlendirmek açısından bu terminolojinin bilinmesi gerekmektedir.

Bir çocukta birden fazla konjenital anomali biraraya gelirse;

- anomalilerin ortak bir etiyolojisi varsa, **sendrom**dan
- anomalilerin tek bir patogenezi varsa, **sekanstan**
- anomaliler rastlantısal olmayan şekilde birarada görülüyorsa, **asosiasyon**dan (**birliktelik**) bahsedilir (Davies ve Evans, 2003).

### 2.1.2.3.1. Sendrom

Sendromlar genellikle ortak bir etiyolojiye bağlı olarak birlikte oluşan majör ve minör anomalilerin iyi karakterize grupları olarak kabul edilmektedir. Çoğu olguda, birden fazla gelişim alanı etkilenmektedir.

*Malformasyon sendromları*, aşağıda belirtilen gelişim sürecindeki hatalardan kaynaklanmaktadır:

- Down sendromunda (özellikle el ve yüzdeki spesifik dismorfik bulgular ile seyreden kardiyak, beyin ve üst gastrointestinal defektler) olduğu gibi *tam kromozom anomalileri*
- Minör öğrenme problemleri ve velokardiyofasiyal sendrom ile karakterize 22q11 delesyonundan Di George sendromuna kadar çeşitli fenotiplerin sebebi *interstisyel kromozom delesyonları*
- Marfan sendromunda olduğu gibi *tek gen defektleri*
- Annenin gebelikte kullandığı ilaçlar, maruz kaldığı kimyasallar, alkol kullanımı, geçirdiğı hastalıklar ve annedeki metabolik düzensizlikler gibi *çevresel faktörler*

Malformasyon sendromlarının tekrarlama riski altta yatan etiyolojik sebebe göre farklılık gösterir. Kromozomal, tek gen defektleri veya teratojene bağlı malformasyon sendromlarında, duruma uygun risk figürünü belirleyip aileye bu duruma dayalı genetik danışma verilmelidir.

### 2.1.2.3.2. Sekans

Bir hastada saptanan multipl yapısal bozuklukların tümü en başta oluşan tek bir yapısal bozukluğa bağlı olarak gelişirse buna *sekans* denir. Bu yapısal bozukluklar arasında sebep-sonuç ilişkisi vardır. Sonrakiler ilk oluşan yapısal bozukluk var olduğu için gelişir. Sonrakilere yol açan ilk yapısal bozukluk malformasyon, deformasyon, disrupsiyon veya displazi olabilir. Örneğin; ilk yapısal bozukluk malformasyon ise bu durum malformasyon sekansı, disrupsiyon ise disrupsiyon sekansı olarak isimlendirilir. Tekrarlama riski, başlatan ilk yapısal bozukluğun riski kadardır.

### 2.1.2.3.3. Asosiasyon (Birliktelik)

İki veya daha fazla yapısal anomalisi olan çocukta bu yapısal anomaliler arasında sekansta olduğu gibi bir sebep-sonuç ilişkisi yoksa, sendromda olduğu gibi ortak bir etiyolojik faktör gösterilemediyse ve bu yapısal anomaliler toplumda tesadüfi olarak birlikte görülebilecekleri sıklıktan çok daha yüksek sıklıkta birarada görülüyorlarsa bu duruma *asosiasyon (birliktelik)* denir. Böyle bir durumda büyük olasılıkla henüz tanımlanamamış bir etiyolojik faktör vardır. Örneğin, önceleri CHARGE asosiasyonu olarak tanımlanan, etiyolojisinde CHD7 genindeki mutasyonun olduğu saptandıktan sonra yeniden adlandırılan CHARGE sendromu gibi.

Asosiasyonların en sık görülen örneği VATER asosiasyonudur. Vertebral anomaliler, anal atrezi, trakeo-özefageal fistül, renal veya radial defektler gibi farklı malformasyonların birarada görüldüğü VATER asosiasyonlu hastalarda bu durumdan sorumlu tek bir etiyolojik faktör gösterilememiştir. Bu tip malformasyonlar genellikle sporadik olup tekrarlama riski çok düşüktür (Boduroğlu, 2011).

### 2.1.3. Etiyoloji

Tüm anomalilerin etiyolojisinde **genetik sebepler** (tek gen, multipl genler, kromozomal), **çevresel faktörler** (mekanik, enfeksiyöz, kimyasal) veya **multifaktöryel kalıtım** (çevresel faktörler+genetik) yatmaktadır.

### 2.1.4. Malformasyonların Genetik Sebepleri

Mevcut klinik ve teknolojik metodlar yenidoğan infantlarda görülen anomalilerin sebebinin yalnızca yarısını belirleyebilmektedir (Çizelge 2.4). Belirlenebilen nedenlerin yalnızca yarısı ya tamamen ya da kısmen genetikdir.



Çizelge 2.4. Canlı doğan infantlarda görülen anomali sebeplerinin dağılımı (Stevenson ve Hall, 2006).

Sebeup	İnsidans (%)
Genetik	15-25
Kromozom	10-15
Tek gen	2-10
Multifaktöryel	20-25
Çevresel	8-12
Maternal hastalıklar	6-8
Uterin/plasental	2-3
İlaçlar/kimyasallar	0.5-1
İkiz	0.5-1
Bilinmeyen	40-60

Genetik materyalin miktarı ve yapısında meydana gelen bozukluklar, normal oluşumu engelleyerek büyük oranda malformasyonlara ve diğer morfolojik değişimlere sebebiyet verirken, aynı oranda fonksiyonel bozukluklara da yol açmaktadır.

### 2.1.5. Kromozom Anomalileri ve Malformasyonlar

Flemming'in 1882 yılında kornea epitelyumunda kromozom gözlemlerinin ardından (Flemming, 1882), malformasyon sendromlarının kromozomal temeli ile ilgili ilk adımlar 1959 yılında Lejeune tarafından atılmıştır (Lejeune, 1959). Bu gelişmeleri 1930 yılında Waardenburg ve Bleyer'in bağımsız olarak ortaya attıkları mayoz esnasında kromozomların ayrılmama durumlarının Down sendromuna yolaçtığı yönündeki gelişmeler izlemiştir (Waardenburg, 1932; Bleyer, 1934).

Kromozom analizi, hücre kültürü ve metafaz preparasyonundaki hızlı gelişmeler ile Tjio ve Levan'ın 1956 yılındaki insan kromozom sayısının 46 olduğu üzerine yapmış olduğu keşiflerden sonra (Tjio ve Leyan, 1956), laboratuvarlarda yaygın bir biçimde kullanılmaya başlandı. 1959 yılından itibaren, başta malformasyon sendromları olmak üzere

birçok hastalığın oluşum sebebine açıklık getiren sayısal kromozom anomalileri keşfedilmiştir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Kromozom aberasyonlarının keşfi (Stevenson ve Hall, 2006).

<b>Yıl</b>	<b>Kromozom aberasyonu</b>
1959	Trizomi 21; 45,X; 47,XXY
1960	Trizomi 18; Trizomi 13
1961	47,XYY
1963	Del 5p
1965	Del 4p
1969	Frajil X
1971	Trizomi 8
1973	Trizomi 9

Spontan abortusların yaklaşık yarısında kromozom anomalileri sorumlu tutulmaktadır. 45,X canlı doğan infantlarda en sık görülen kromozom anomalisi olup, anormal fetüslerde sık gözlenen tatrploidi, triploidi ve birçok trizomi canlı doğan infantlarda görülmez (Çizelge 2.6).

Çizelge 2.6. Spontan abortuslardaki kromozomal aberasyonların prevalansı (Stevenson ve Hall, 2006).

<b>Aberasyon tipi</b>	<b>Oran (%)</b>
Tüm kromozom aberasyonları	40
Trizomiler	20
T-16	8
T-13,15,21,22	2*
T-2,7,8,14,18	1*
T-4,9,10,20	0.5*
T-3,5,6,12,7	0.1
T-1,11,19	<0.1*
Cinsiyet kromozomu	<0.5
Monozomi X	8
Otozomal monozomi	<0.1
Poliploidiler	9
Triploidi	7
Tetraploidi	2
Diğer yeniden düzenlenmeler	3
Mozaisizm	2
Dengesiz yeniden düzenlenmeler	1
Dengeli yeniden düzenlenmeler	<0.5

\* Adı geçen herbir trizomi için yaklaşık oran.

Malformasyon sendromlarını anlamada kromozomlardan yararlanma 1960 yıllarında en yüksek seviyeye ulaşmıştır. 1971 yılında Caspersson ve arkadaşlarının bantlama tekniklerinden bahsetmesi, 1977 yılında Sutherland'in frajil bölgeleri göstermesi, 1990 yıllarında profaz ve prometafaz (yüksek rezolüsyon) kromozomlarının analizi ilgiyi sitogenetik alanına yönlendirmiştir. 1990 yıllarında Floresans In Situ Hibridizasyon (FISH) ve 2000 yıllarında Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH)'un ortaya çıkışı, ışık mikroskobu rezolüsyonunun üstünde analiz imkanı vermiş, küçük submikroskobik delesyon ve duplikasyonların saptanmasını sağlamıştır (Caspersson ve ark., 1971; Sutherland, 1979; Yunis, 1976; Biesecker, 2002; Pinkel ve ark., 1998).

Kromozomlarda meydana gelen hatalar birtakım hücresel süreçlerde oluşmaktadır. Ayrılmama ya da anafaz gecikmesi mitoz veya mayozda meydana gelerek yavru hücre ya da gametlerde anormal sayıda kromozom ile sonuçlanır (Hassold, 1985; Therman, 1986). Translokasyon, inversiyon, delesyon ve duplikasyon mayotik bölünme esnasında hatalı crossing-over sonucu gametlerde dengesiz kromozom komplemanı oluşumuna neden olur. Her tür kromozom anomalisi gebelik esnasında etkisini göstermekte, gametlerin sağkalım ve fonksiyonu üzerine etki etmektedir. Çeşitli kromozom anomalileri, konseptüs disorganizasyonu, embriyodisgenezis ve fetal patolojiye neden olmaktadır. Malformasyonlar, büyüme bozuklukları, mental hasar ve diğer bulgular genellikle kromozomlar üzerindeki ufak değişimler sonucu meydana gelmektedir (Pai ve ark., 2003).



Çizelge 2.7. Yenidoğanlarda en sık gözlenen kromozom anomalileri ve dismorfik sendromlar (Clayton-Smith J., 2008)

<b>Durum</b>	<b>Bulgular</b>	<b>Tanı testi</b>
Trizomi 21 Down sendromu	Brakisefali, düz kulaklar, hipotoni, AVSD, tek palmar çizgi, sandal gap belirtisi, Hirschsprung hastalığı	Karyotip ya da QFPZR trizomi 21'i göstermektedir
Trizomi 18 Edwards sendromu	Parmak kontraktürleri, globular baş, displastik kulaklar, düşük doğum ağırlığı, kalp defektleri, kısa geniş ayak parmakları, radial aplazi	Karyotip ya da QFPZR trizomi 18'i göstermektedir
Trizomi 13 Patau sendromu	Holoprozensefali, yarık, kalp defekti, polidaktili, renal anomaliler, mikroftalmi	Karyotip ya da QFPZR trizomi 13'ü göstermektedir
4p-Wolf-Hirschorn sendromu	Hipertelorizm, belirgin glabella, yarık damak ve dudak, kısa filtrum, büyük kulaklar	Rutin karyotip ile belki görülebilir. FISH ya da MLPA ile daha güvenilir sonuçlar elde edilir
5p-Cri du Chat sendromu	Kedi miyavlamasını andırır ağlama, mikrosefali, belirgin epikantal katlantılar, yarık damak, kulak anomalileri	5p15 delesyonu genellikle rutin karyotip ile saptanabilmektedir. FISH ile daha küçük delesyonlar saptanabilir.
12p tetrazomisi Pallister Killian sendromu	Yüksek doğum ağırlığı, makrosefali, diafragmatik herni, kaba yüz, hipotoni, uzun filtrum, şakaklarda seyrek saçlar	Daima mozaik formdadır. Kanda bakılan kromozom analizi ile görülebilmesi muhtemeldir. Cilt biyopsisi ya da FISH için yanak mukoza hücreleri

		gerekmektedir.
22q11 delesyonu Di George sendromu Velokardiyofasial sendrom	Kardiyak defektler, yarık damak, mikrognati, belirgin burun, hipokalsemi, timus yokluğu	22q11 delesyonu için FISH. Bazıları MLPA ile saptanabilen 22q11 delesyonu taşır

### 2.1.5.1. Sayısal Anomaliler

Ovaryum ve testislerde gametlerin olgunlaşması esnasında primordial hücredeki kromozom sayısının mayoz ile yarıya inmesi gerekirken, ayrılmama olayı sonucu dengesiz kromozom sayısına sahip gametler oluşur. Böyle gametlerin fertilizasyonu sonrasında oluşan anormal zigot abortusla sonuçlanır (Shiota ve ark., 1987; Eiben ve ark., 1990; Hassold ve ark., 1980; Tabet ve ark., 2001; Kajii ve ark., 1980; Pai ve ark., 2003; Warburton, 1987; Porter ve Hook, 1980; de Grouchy ve Turleau, 1984; Schinzel, 2001; Hsu, 1998; Alberman ve Creasy, 1977; Hanna ve ark., 1997; Dunn TM, ve ark., 2001). Anormal zigot gelişimini doğuma kadar sürdürebilse bile, malformasyon, büyüme bozuklukları ve mental hasar ile doğar (Pai ve ark., 2003; de Grouchy ve Turleau, 1984; Schinzel, 2001).

#### 2.1.5.1.1. Trizomiler

Abortusla sonuçlanan gebeliklerde en sık görülen otozomal trizomi, trizomi 16, en az görülen ise trizomi 1'dir (Alberman ve Creasy, 1977; Hanna ve ark., 1997; Dunn ve ark., 2001). Trizomi 13, 18 ve 21 abortusa neden olsa da, canlı doğan infantlarda yüksek sıklıkta görülmektedir (Çizelge 2.7). Herbir otozomal trizomi az ya da çok karakteristik malformasyon paterni oluşturmaktadır (Pai ve ark., 1984; Schinzel, 2001).

Canlı doğan infantlarda ekstra cinsiyet kromozomları da sık görülmekte olup, X inaktivasyonu ve Y kromozomu üzerindeki az sayıdaki aktif genden dolayı malformasyona rastlanmamaktadır.

Çizelge 2.8. Canlı doğan infantlarda kromozomal aberasyonların prevalansı (Stevenson ve Hall, 2006).

<b>Kromozomal aberasyon</b>	<b>Prevalans</b>
Trizomi 21	1/700
Trizomi 13	1/7000
Trizomi 18	1/8000
Trizomi 8*	<1/100,000
Trizomi 9	<1/100,000
Monozomi X	1/2500 (dişiler)
47,XXX	1/1200 (dişiler)
47,XXY	1/1000 (erkekler)
47,XYY	1/1000 (erkekler)
Frajil X	1/4000 (erkekler)
48,XXYY	1/25,000 (erkekler)
48,XXXX	<1/100,000 (dişiler)
48,XXXYY	<1/100,000 (erkekler)
49,XXXXXX	<1/100,000 (dişiler)
49,XXXXXY	<1/100,000 (erkekler)

\* Genellikle mozaik

#### **2.1.5.1.2. Monozomiler**

Monozomi X anöploidiler arasında en sık görülmekte olup, bunun dışındaki monozomiler canlı doğan infantlarda görülmezler (Pai, 2003; de Grouchy ve Turleau, 1984; Schinzel, 2001; Hanna ve ark., 1997; Dunn ve ark., 2001). Turner sendromu dişî bireylerde, büyüme bozukluğu, ovaryan disgenezis, iskelet, kardiyak, böbrek, yüz ve kranial anomaliler mevcuttur (de Grouchy ve Turleau, 1984; Schinzel, 2001; Rosenfeld ve Grumbach, 1990).

Y kromozomi monozomisi, embriyonik gelişim için gerekli olan X kromozomu üzerindeki genlerin yokluğundan ötürü letaldir.

### **2.1.5.1.3. Mozaisizm**

Ayrılmama ve anafaz gecikmesi embriyonik dönem ve preimplantasyon sürecinde meydana geldiğinde malformasyonlara neden olabilirken, daha geç dönemlerde meydana gelen hatalı bölünmeler malformasyonlara neden olmamaktadır. Geç dönemde meydana gelen hatalı bölünmeler, cilt ve saç rengi pigmentasyonunda mozaik paternin oluşumu, segmental dissimetri ve diğer büyüme bozuklukları ile sonuçlanmaktadır (Happle, 1985.). Sayısal kromozom mozaisizminin oluşumu sporadiktir ve germinal hücrelerde meydana gelmediği sürece gelecek kuşaklara aktarılmaz.

Fertilizasyondan birkaç gün sonra meydana gelen mozaisizm, embriyoyu, ekstraembriyonik dokuları ya da herikisini de etkileyebilir. Koryon villus gibi ekstraembriyonik dokuların prenatal tanıda kullanımı bu durumdan dolayı kafakarıştırıcı nitelikte olabilmektedir. Kalousek ve arkadaşları, trizomi 13 ve trizomi 18 saptanan fetüslerin plasentalarının öploid olduğunu saptamışlardır (Kalousek ve ark., 1989). Bu durumdan yola çıkarak, anöploid plasentanın, kromozom olarak normal olan fetüslerde meydana gelen büyüme geriliği ve spontan düşüklerin nedenine bir açıklama getirebileceğini düşündürmektedir (Gartner ve ark., 1988; Kalousek ve Dill, 1983; Lestou ve ark, 2000).

### **2.1.5.2. Yapısal Kromozom Anomalileri**

Yapısal kromozom anomalileri mayoz bölünme esnasında homolog sekansların anormal eşleşmesi sonucu meydana gelip, kromozomlar arası ya da kromozom içi genetik materyal değişimiyle sonuçlanmaktadır. Aynı mekanizma tüm yapısal yeniden düzenlenmeler için geçerlidir. Bu yapısal yeniden düzenlenmeler; translokasyonlar, delesyonlar, dulikasyonlar, inversiyonlar ve insersiyonlardır. Dengeli, genlerin regülatör bölgelerinde hasarlara yol açmayan yapısal yeniden düzenlenmeler fenotipe yansımaz ancak, %50 ihtimalle dengesiz gametlerin oluşumuna neden olur.

Genlerin regülatör bölgelerinde hasarlara yol açan dengeli yapısal yeniden düzenlenmeler ise fenotipte değişikliklere neden olur.



Dengesiz yeniden düzenlenmeler, kromozomlar üzerinde kayıp ya da kazanıma sebebiyet verir. Dengesiz yeniden düzenlenmeler, ebeveynlerden birinde mevcut olan dengeli kromozomal yeniden düzenlenmenin dengesiz gametler oluşturmaları ile var olabileceği gibi de novo da olabilmektedir.

#### **2.1.5.2.1. Delesyonlar**

Delesyon, bir kromozomun bir parçasının kaybolmasıdır. Delesyonlar submikroskopik bir geni etkileyebildikleri gibi, mikroskop altında görülebilecek kadar büyük de olabilirler (Pai ve ark., 2003; ve ark., 1984; Schmickel, 1986; Brewer ve ark., 1998; Koolen ve ark., 2004; Schwartz ve Graf, 2002; Schinzel, 1988). Kromozom üzerindeki bir bölgenin delesyonu monozomi ile aynı etkiye sahiptir. Çizelge 2.8. en sık rastlanan mikredelesyon sendromlarını göstermektedir.

Çizelge 2.9. Malformasyon ve malformasyon sendromlarıyla ilgili mikrodelesyonlar

Sendrom	Lokasyon	Bulgular
Alagille (JAG1)*	20p11.23-p12.2	Dismorfik fasial bulgular, kronik kolestaz, omur kemeri defektleri, pulmonik stenoz
Albright herediter osteodistrofi	2q37	Kısa bodur yapı, anormal yüz, brakimetafalangizm, nöbetler, gelişim geriliği
Alfa talasemi ve mental retardasyon	16p13.3	Dismorfik fasial bulgular, alfa talasemi, mental retardasyon
Angelman (UBE3A)*	15q11-q13	Hipotoni, mikrosefali, hipopigmentasyon, ataksik yürüme şekli, sebepsiz gülmeler, nöbetler, mental retardasyon
Kedi gözü sendromu	22q11.2	Kolobom, koanal atrezi, öğrenme güçlüğü, mental retardasyon
Cri du chat	5p13-p15.2	Mikrosefali, hipertelorizm
Greig sefalopolisindaktili (GLI3)*	7p13	Kraniosinostoz, polisindaktili, mental retardasyon
Langer-Giedion	8q24.1	Trikorinofarengal sendrom (seyrek saç, bulböz burun, koni şeklinde falangeal epifiz), multipl ekzostoz, mental retardasyon
Miller-Dieker (LIS1)*	17p13.3	Tip 1 lizensefali, dismorfik yüz
NF1 mikrodelesyonu	17q11.2	Nörofibromatöz, erken başlangıçlı kutanöz

		nörofibromlar, fasial dismorfizm, öğrenme güçlüğü, mental retardasyon
Prader-Willi	15q11-q13	Hipotoni, obezite, kısa boy, küçük el ve ayaklar, hipopigmentasyon, hiperfaji, mental retardasyon
Rubinstein-Taybi (CBP)*	16p13.3	Dismorfik fasial bulgular, geniş el ve ayak başparmağı, mental retardasyon
Smith-Magenis	17p11.2	Dismorfik fasial bulgular, davranış bozuklukları, self destrüktif davranış, periferal nöropati, mental retardasyon
Velo-kardiyo-fasiyal (proksimal 22q mikrodelesyonu, diGeorge)	22q11	Anormal yüz, yarık damak, timik hipoplazi, hipokalsemi, kardiyak defekt
WAGR (PAX6)*	11p13	Wilms tümör, aniridia, genitoüriner anomaliler, mental retardasyon
Williams (LIMK1)*	7q11.23	Dismorfik fasial bulgular, infantil hiperkalsemi, konjenital kalp hastalığı, erken deri yaşlanması, girişken kişilik, mental retardasyon
Wolf-Hirschhorn	4p16.3	Anormal yüz, yarık dudak/damak, kalp ve

		böbrek malformasyonları, beyin anomalileri, genital anomaliler, mental retardasyon
1p36 delesyonu	1p36	Hipotoni, büyüme anomalileri, kraniofasial dismorfizm, minör kardiyak malformasyonlar, gelişim geriliği
Distal 22q mikrodelesyonu (ProSAP2?)	22q13-qter	Hafif fasial dismorfizm, hipotoni, ağır dil gelişiminde gecikme
Xp22.3 delesyonu	Xp22.3	X'e bağlı ihtiyozis, epilepsi, oküler albinizm, Kallmann sendromu, mental retardasyon
Xp21 delesyonu	Xp21	Musküler distrofi, gliserol kinaz eksikliği, konjenital adrenal hipoplazi, mental retardasyon

\* Sendrom bulgularının bazılarını ya da tümüne neden olabilecek gen ( Schwartz ve Graf, 2002; Brewer ve ark., 1998)

Ring kromozom, iki telomer ve jukstatelomerik genlerin çeşitli segmentlerinin delesyonu sonucu bir kromozomun iki ucunun füzyonu ile oluşur. Ring kromozomlar stabil olmayıp, farklı hücrelerde farklı büyüklüklerde olabilirler. Hücre bölünmesi esnasında kaybolarak mozaizme neden olurlar (Wyandt, 1988). Fenotip, delete olan genetik materyale göre değişkenlik gösterir. Ring kromozomların bir kuşaktan fazla aktarılabilmesi nadir görülmektedir.

#### **2.1.5.2.2. Duplikasyonlar**

Duplikasyonlar, normal kromozomlar arasındaki eşit olmayan crossing over, perisentrik inversiyonların kırılma noktaları arasında oluşan crossing over ya da translokasyonların dengesiz dağılımı sonucu meydana gelmektedir (Pai ve ark., 2003.; van Dyke, 1988). Kromozom üzerinde bir bölgenin duplikasyonu ile meydana gelen trizomi, fenotipik değişiklikler ile sonuçlanır. Mikroduplikasyonlar mikrodelsyonlara göre daha az farkedilir. Bu durumun, fenotipin mikrodelsyonlara göre daha hafif seyretmesi ve mevcut teknolojilerle daha zor saptanabiliyor olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### **2.1.5.2.3. Translokasyonlar**

Translokasyonların en sık görülen tipi, akrosentrik kromozomlar (13-15, 21 ve 22) arasında meydana gelen Robertsonian translokasyonlardır. Ribozomal RNA genlerini içeren kısa kollardaki kayıplar sağlık açısından bir tehdit oluşturmaz. Homolog akrosentrik kromozomlar arasında oluşan translokasyon taşıyıcıları, bileşik bir kromozomu taşıyan ya da bir akrosentrik kromozomdan yoksun anormal gametleri oluşturmaktadır. Gebelikler trizomik ya da monozomik olurlar. Farklı akrosentrik kromozomlar arasındaki Robertsonian translokasyon taşıyıcıları, eşit oranlarda normal, dengeli taşıyıcı, trizomik ya da monozomik gametler oluşturur.

Resiprokal translokasyonlarda, translokasyon dengeli ya da fonksiyon bozukluğuna yol açmayan türden ise fenotipik bir etki gözlenmez. Dengeli Resiprokal translokasyon taşıyıcılarının meydana getirdiği gametlerin yarısı dengesiz kromozom dağılımına sahip olacaktır.

İnversiyonel translokasyonlarda ise anormal gametlerin oluşumu, iki kromozomun ve homologlarının ayrılışına bağlıdır.

#### **2.1.5.2.4. İversiyonlar**

Perisentrik inversiyonların sonucu, yeniden düzenlenme dengeli ve ya fonksiyon bozukluğuna yol açmayan türden ise benidir (Groupe de Cytogéneticiens Français, 1986; Kleczkowska ve ark., 1987).

Perisentrik inversiyon görülen bir ailenin oluşturduğu gametlerin yarısı, crossing over'ın invert olan segment içerisinde gerçekleşmesi durumunda dengesiz kromozom dağılımına sahip olacaklardır.

Parasentrik inversiyonlar, bir genin yapısını bozmadığı ya da komşu genlerde regülasyon bozukluğuna yol açmadığı durumlarda benidir. Dengeli parasentrik inversion taşıyıcısının oluşturacağı gametlerin yarısı, crossing over'ın invert segment içerisinde gerçekleşmesi durumunda dengesiz kromozom dağılımına sahip olacaktır.

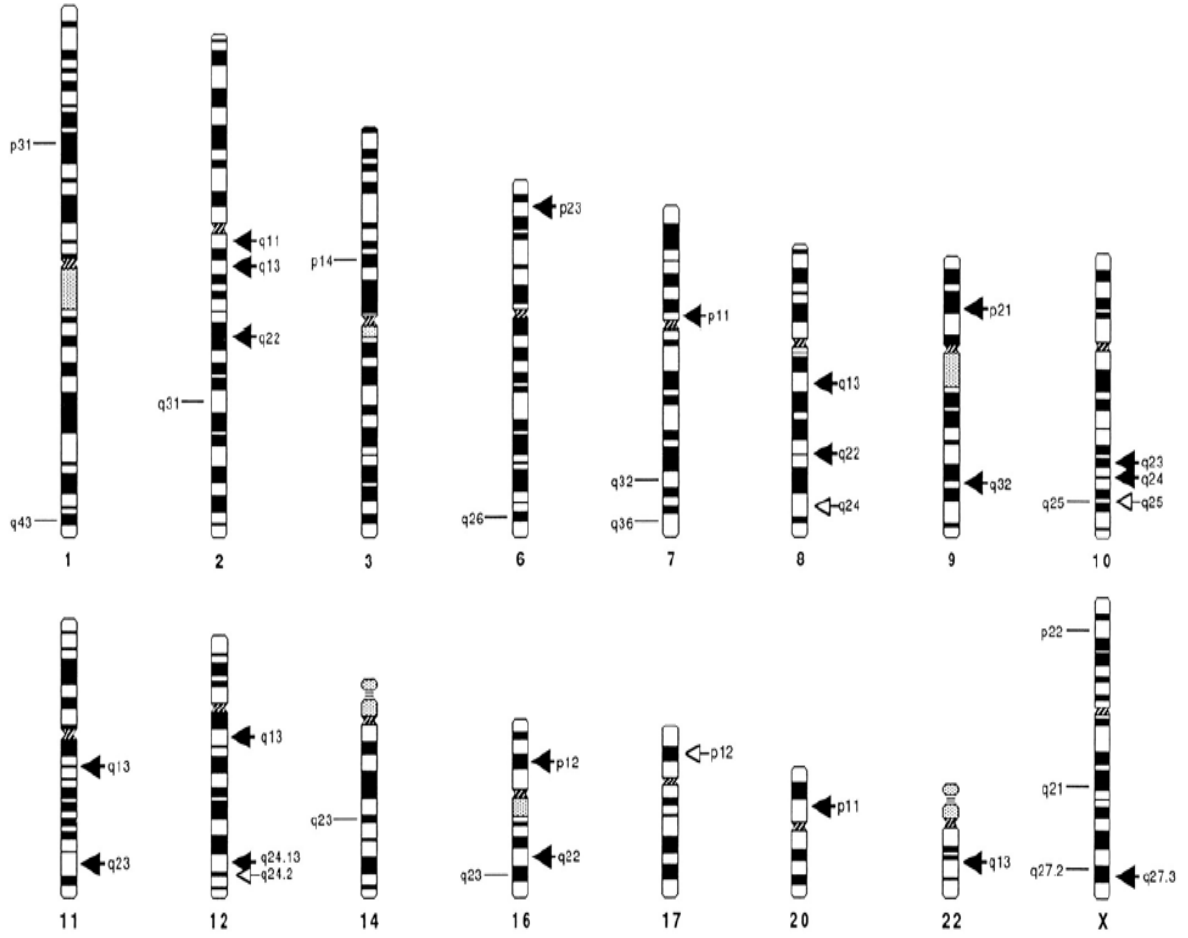
#### **2.1.5.2.5. İzokromozomlar**

İzokromozomlarda, iki özdeş kromozom kolu bulunur ve kromozomun bir kolunun delesyonu, diğer kolunun duplikasyonu söz konusudur. Otozomal izokromozomlar nadir görülürken, Xq izokromozomlarına sıklıkla rastlanmaktadır (Harbison ve ark., 1988; Schmutz ve Pinno, 1986).

#### **2.1.5.2.6. Frajil Bölgeler**

Frajil bölgelerden X kromozomu üzerinde bulunan q27.3 lokusu, dismorfizm ve mental retardasyonla seyreden Frajil X sendromuna neden olmaktadır.

Şekil 2.2, majör kalıtsal frajil bölgeleri göstermektedir.



Şekil 2.2. Majör kalıtsal frajil bölgelerin şematik sunumu. Siyah oklar, folata duyarlı bölgeleri, beyaz oklar bromodeoksiüridin (BrdU) ve distamisin A ile indüklenen bölgeleri, çizgiler ise folata duyarlı ve afidikolin ile indüklenen temel frajil bölgeleri göstermektedir (Jacky, 1991).

### 2.1.5.3. Diğer Kromozom Anomalileri

Bazı otozomal resesif hastalıklarda kromozomal kırılmalar ve yeniden düzenlenmeler görülmektedir. Kromatid kırıkları Fanconi anemisinde; triradial ve kuadriradial yeniden düzenlenmeler, kardeş kromatid değişimi Bloom sendromunda; 7 ve 14. kromozomların rastgele olmayan yeniden düzenlenmeleri ve kırıkları ataksi telenjiektazide; kromozom kırıkları Werner sendromu ve progeriada tipik olarak görülmektedir. Ancak, büyüme bozukluğu, malformasyonlar ve dismorfik bulgulara bu kromozomal değişikliklerin mi

yoksa temelinde yatan mutasyonun pleiotropik etkisinin mi sebep olduğu tam olarak bilinmemektedir.

Akrosentrik kromozomlar ve 1, 9, 16. kromozomlarda görülen sentromer bölünmeleri (kromozom pufları) Roberts sendromu (SC fokomeli) birçok hastada gözlenmektedir ([Parry ve ark.](#), 1986). Çoğu kromozomda gözlenen prematür sentromerik bölünmeler mikrosefali sendromu, Dandy-Wlaker malformasyonu, Wilms tümörü ve farklı anöplodilerin mozaizminde tanımlanmıştır.

#### **2.1.5.4. Uniparental Dizomi**

Normal büyüme ve gelişim için iki ebeveyne ait genetik bilgiye gereksinim vardır (Hall, 1990). Uniparental dizomi, bir homolog kromozom çiftinin tamamının veya bir parçasının aynı ebeveynden gelmesi durumudur.

Prader-Willi sendromu bireylerin %10-25'inde maternal dizomi, Angelman sendromu bireylerin %3-4'ünde paternal dizomi görülmektedir ([Nicholls ve ark.](#), 1989; Gabriel ve ark., 1998). Uniparental dizomi ayrıca Beckwith-Wiedemann sendromu (paternal UPD 11p15.5), Russell-Silver sendromu (maternal UPD 7), kısa boy, mental retardasyon ve multipl anomalileri olan bireylerde bildirilmiştir (Frézal ve Schinzel, 1991; Reish ve ark., 2002.; Preece ve ark., 1997). Uniparental dizomi nadirdir ve bazı trizomik kaçışlarda görülmektedir. İzodizominin otozomal resesif hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (Engel ve Antonarakis, 2002).

#### **2.1.6. Gen Mutasyonları ve Malformasyonlar**

Dismorfologlar, endokrinologlar, klinik genetik ve metabolizma uzmanları genellikle çalışmalarında mutant genlerin fonksiyonel ve yapısal sonuçları üzerine yoğunlaşmışlardır. Mutant genlerin dismorfolojideki yeri hiç de azımsanacak gibi değildir. Kenneth Jones'un "Smith's Recognizable Patterns of Human Malformations" isimli kitabında yer alan 290 verinin %70'inden mutant genler sorumlu tutulmaktadır (Jones, 1997).

Malformasyonlar ya da diğer morfolojik bulgular "Mendelian Inheritance in Man" içerisinde yer alan 15262 kaydın 2534'ünde (%17) bulunmaktadır ve bu



malformasyonlardan sorumlu olan genler tanımlanmış ya da bölgesel olarak haritalanmıştır (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) and National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD). World Wide Web URL: [http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/omim](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim), 2000).

Kromozomal yeniden düzenlenmeler ve bağlantı analizleri anomalilere sebep olan ve çeşitli kromozomlar üzerinde yer alan genlerin ortaya çıkmasını sağlamıştır (McKusick, 1998; Cuticchia, 1995). Bu genlerde meydana gelen mutasyonların çoğu fenotipe etkisi olmayan zararsız moleküler polimorfizimlerdir. Diğer mutasyonlar, organizmanın hayatını daim ettirecek biyolojik süreçleri engellemektedir. Bu iki ekstrem durum arasındaki mutasyonlar da fenotipe letal olmayan değişikliklere sebebiyet vermektedir. Tüm bunlar, dismorfologlar ve klinik genetik uzmanları için tanı ve araştırma zorlukları yaratan tek gen hastalıklarını oluşturmaktadır.

Çoğu gen çiftler ya da alleller halinde bulunur. Erkeklerde genlerin bazıları X veya Y kromozomları üzerinde hemizigot ya da tek olarak yer alır. Genlerin bu durumlarından yola çıkarak gen mutasyonlarının fenotipik sonuçları dominant fenotipler ve resesif fenotipler olarak gruplara ayrılmaktadır.

#### **2.1.6.1. Dominant Fenotipler**

"Dominant gen" ya da "dominant mutasyon" terimleri etkilerini fenotipe tek doz halindeyken gösteren genleri karakterize etmek için kullanılmaktadır. Bugüne kadar bildirilen dominant fenotiplerin sayısı resesif fenotiplerin sayısından fazladır (McKusick, 1998).

Dominant fenotiplere neden olan mutasyonlar çoğu vakada yapısal proteinleri kodlayan genleri etkilemektedir (örn; Stickler sendromu ve osteogenesis imperfecta sebebi olan kollajen gen mutasyonları) (Tsipouras ve Ramirez, 1987; Knowlton ve ark., 1989). Bu mutasyonlar embriyogenez esnasında yapısal anomali oluşturmaya elverişlidir.

Dominant fenotipler, mutant genin otozom ya da X kromozomu üzerinde olup olmamasına göre farklılık göstermektedir.

Otozomal dominant fenotiplerin karakteristik özellikleri:

- Erkek ve dişi bireyler eşit oranda etkilenir.
- Babadan oğula geçiş söz konusu olabilir.
- Genellikle sadece bir kuşak etkilenir.
- Etkilenen bireylerin çocukları %50 olasılıkla etkilenir.
- Etkilenmiş bireylerin normal çocukları, çocuklarına mutant geni aktarmaz.

X'e bağlı dominant fenotiplerin karakteristik özellikleri:

- Erkek ve dişi bireyler 1/2 oranında etkilenir.
- Babadan oğula geçiş söz konusu değildir.
- Etkilenmiş erkek bireyler fenotipi tüm kızlarına aktarır.
- Etkilenmiş dişi bireylerin çocukları %50 olasılıkla etkilenir.
- Genellikle sadece bir kuşak etkilenir.
- Heterozigot dişi bireyler hemizigot erkek bireylere nazaran daha hafif etkilenirler.

#### 2.1.6.2. Resesif Fenotipler

Bir genin iki kopyasına da ihtiyaç duyan fenotipler resesif fenotipler olarak adlandırılır. Anormal gen ürünü genellikle bir enzim ya da transport proteindir. Mutasyon bakımından homozigot bireylerde, oluşan ürünün yapısı ve miktarı oluşan mutasyondan etkilenir. Yalnızca bir kopya mutant geni olan bireyler "heterozigot" ya da "taşıyıcı" olarak adlandırılırlar ve gen ürününün yalnızca %50'si bu mutasyondan ekilenir. Böyle bir mutasyon sonucu genellikle fenotipik değişiklik oluşmaz. Bu mutasyondan etkilenen gen ürününün doğası gereği, resesif fenotipler morfolojiyi değil fonksiyonu bozan metabolik bozukluklardır. Morfolojik değişimler, genellikle embriyogenez sonrası ya da postnatal dönemde oluşmaktadır.

Resesif fenotipler, mutant genin otozom ya da X kromozomu üzerinde olup olmamasına göre farklılık göstermektedir.

Otozomal resesif fenotiplerin karakteristik özellikleri:

- Erkek ve dişi bireyler eşit oranda etkilenir.
- Çocuğun etkilenmesi için her iki ebeveynin de taşıyıcı olması gerekmektedir.

- Ebeveynler (heterozigot taşıyıcılar) genelde normaldir.
- Taşıyıcı ebeveynlerin çocukları %25 olasılıkla, etkilenmiş, %50 olasılıkla taşıyıcı, %25 olasılıkla normaldir.
- Nadiren mutant gen popülasyonda vardır, büyük olasılıkla da etkilenmiş çocuğun ebeveynleri akrabadır.

X'e bağlı resesif fenotiplerin karakteristik özellikleri:

- Sadece erkekler etkilenmiştir.
- Taşıyıcı dişi bireylerin erkek çocukları %50 olasılıkla etkilenir.
- Taşıyıcı dişi bireylerin kız çocukları %50 olasılıkla taşıyıcıdır.
- Babadan oğula geçiş sözkonusu değildir.
- Etkilenmiş erkek bireylerin tüm kızlarına taşıyıcıdır.
- Etkilenmemiş erkek bireyler fenotipi aktaramazlar.
- Az oranda dişi birey hafif anomaliler gösterebilir.

### 2.1.7. Malformasyonların Multifaktöryel (Bifaktöryel) Sebepleri

Çevresel ve kalıtsal faktörler biraraya gelerek malformasyonları, diğer morfolojik özellikleri ve fonksiyonel bozuklukları meydana getirir. Multifaktöryel kavramda, genetik ya da çevresel faktörler tek başlarına anormal fenotip oluşturmamakta, ancak çevresel ve genetik birçok faktör varlığında etkilerini göstermektedir (Carter, 1969; Roberts, 1961).

Bir ailede, belirli fenotipin tekrarlama riski genel popülasyonunkinden büyük ve Mendel olasılıklarına göre küçükse multifaktöryel sebeplerden söz edilir. İzole nöral tüp defektleri, yarı dudak/damak ve belli başlı kardiyak defektler multifaktöryel sebepleri olan malformasyonlara örnektir.

Multifaktöryel sebeplerin karakteristik özellikleri:

- Erkek ve dişi bireyler farklı oranlarda etkilenirler.
- İndeks vakasının birinci, ikinci ve üçüncü derece akrabalarında tekrarlama riski yüksektir.
- Tekrarlama riski, etkilenmiş ikinci 1. derece akrabanın ortaya çıkmasıyla iki katına çıkar.
- İndeks vakadaki fenotipin şiddetiyle orantılı olarak tekrarlama riski de artar.

- İndeks vaka daha az etkilenen cinsiyette ise tekrarlama riski artar.

### **2.1.8. Malformasyonların Çevresel Sebepleri**

Literatürde annenin gebelik esnasında kullandığı ilaçlar, maruz kaldığı kimyasallar, alkol kullanımı, geçirdiği hastalıklar ve annedeki metabolik düzensizliklerin neden olduğu multipl malformasyon sendromları tanımlanmıştır. Fetal alkol sendromu, diabetik anne çocuğu, annede hiperfenilalaninemi bu durumlara örnek olarak verilebilir. Teratojene veya çevresel etkene gebeliğin hangi döneminden itibaren maruz kalındığı ortaya çıkan tabloyu belirlemektedir. Organogenezisin devam ettiği ilk 8 hafta içindeki etkilenme, değişik malformasyonların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Hangi organın ilgili teratojenin etkisine duyarlılığı yüksekse malformasyon o organda gelişecektir.

Malformasyon sendromlarının tekrarlama riski, altta yatan etiyolojik sebebe göre farklılık göstermektedir (Boduroğlu, 2011).

## 2.2. DİSMORFİK ÇOCUĞA YAKLAŞIM

Dismorfik terimi, düzensiz, anormal, ağırlı anlamına gelen "dis" ve şekil, biçim anlamına gelen "morf" kelimelerinden türetilmiştir. Dismorfik çocuk, vücut bölgelerinde bir veya daha fazla yapısal bozukluğu bulunan çocuktur (Boduroğlu, 2011). Tüm yenidoğanların yaklaşık % 2'sinde doğuştan yapısal bozukluk saptanmaktadır (Boyd ve ark., 2011). Ülkemizde yapılmış bir çalışmaya ait bildirilen yenidoğan konjenital malformasyon insidansı % 3.65'tir (Tunçbilek ve ark., 1999). Yapısal bozukluğu olan çocuklarda klinik yaklaşım önem teşkil etmektedir. Çünkü, kesin ve doğru tanı ancak doğru bir klinik yaklaşımla mümkündür. Yapısal bozukluğun uygun bir şekilde değerlendirildiği bir yaklaşım sonucunda bu yapısal bozukluğun oluşma zamanı, mekanizması, olası etyolojisi konusunda fikir edinmek mümkündür. Bu konularda bir kez fikir edinildiğinde çocuğa sonradan yapılacak tanısal testler, tedavi girişimleri ve aileye verilecek genetik danışma doğru yönlendirilebilir.

Yapısal bozukluğu olan dismorfik bir çocuğu değerlendiren hekimin öncelikli olarak yetkin olması gereken alanlar normal yapısal özellikler ve normal embriyonik gelişimdir. Bir yapısal bozukluğun tanımlanmasında normal gelişimden ve anatomiden sapmanın ne ölçüde olduğunu kaydetmek ve bu sapmanın hangi embriyonik süreçlerin etkilenmesi sonucunda, hangi embriyonik aşamada olduğunu saptamak önem taşımaktadır. Bu nedenle yaklaşımı yapan klinisyenin adeta bir dedektif gibi ipuçları ve deliller toplar tarzda fizik muayene yapması gerekir. Tanısal testleri de aynı mantıkla yönlendirmelidir. Bir yapısal bozukluğun prenatal ya da postnatal oluşunu, başka yapısal bozukluklarla birlikteliği olup olmadığını, prenatal başlangıçlı ise hangi gebelik haftasında gelişmiş olabileceğini, birden fazla yapısal bozukluk var ise aralarındaki sebep-sonuç ilişkisini, tek bir mekanizmayla açıklanabilip açıklanamayacağını, komşuluk ilişkilerini, embriyonik olarak ortak bir dokudan köken alıp almadıklarını, sebeplerini, teratojenik/genetik/kromozomal bozukluk olup olmadığını sorgulamalıdır (Boduroğlu, 2011).

Doğru tanıya gidilmesi ve hastanın azami faydayı sağlayabilmesi açısından yaklaşımın sistematik bir biçimde gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Çizelge 2.10. dismorfik bir çocuğa yaklaşımda izlenecek yolu örneklemektedir.

Çizelge 2.10. Dismorfik çocuğun değerlendirilmesinde kullanılacak kontrol listesi (Clayton-Smith J., 2008)

<b>1. Genel Bilgi</b>	İsim Cinsiyet Doğum Tarihi Köken
<b>2. Aile öyküsü</b>	Üç kuşağı kapsayan aile ağacı Akraba evliliği sorgulaması
<b>3. Gebelik öyküsü</b>	Obstetrik komplikasyonlar Diabet gibi maternal hastalıklar İlaç ve alkol kullanımı Anormal bulgular (görüntüleme, serumda tarama, amniyon, CVS) Sıvı hacmi Anormal duruş
<b>4. Doğum öyküsü</b>	Gestasyon Doğum şekli Plasenta ve kord damarları Apgar Doğum ağırlığı Doğumda farketilen malformasyonlar Küvöz bakımı
<b>5. Neonatal periyot</b>	Beslenme Sarılık ve solunum problemi gibi komplikasyonlar
<b>6. Genel muayene</b>	Elle muayene Cilt pigmenter anomalileri Ödem, nukal ve genel
<b>7. Dismorfik bulgular</b>	Kranial şekil, suturlar, fontaneler Fasial bulgular Kulak şekli ve pozisyonu Göz mesafesi, kırmızı refleksi, kolobom Vücut orantısı ve simetri Göğüs şekli ve ayırık meme başları

	Abdominal duvar Omurga, sakral anomaliler ya da apendaj Kol ve bacaklar-uzunluk, eğilme, kontraktürler, eklem gevşekliği Parmaklar, sayı ve şekil Palmar çizgiler-fetal pedler Genital organlar ve anal anomaliler
<b>8. Nörogelişimsel</b>	Kas tonusu ve gücü Fokal nörolojik bulgular Hareketler Yaşa uygun gelişim
<b>9. Laboratuvar incelemeleri</b>	Karın bölgesi ultrasonu, kalp, beyin Gerekliyse MRI (anormal görüntüleme, baş büyüklüğü, nöbetler) Kemik displazisinden şüpheleniliyorsa iskelet taraması Rutin hematoloji ve biyokimya Metabolik Sitogenetik Moleküler genetik
<b>10. Fotoğraflar</b>	Ebeveynden izinli Düz bir arkaplana karşı ana dismorfik bulgular
<b>11. Takip değerlendirmesi</b>	Bulguların klinik ve aileler için tutulması Ebeveynler ile tartışılması Testler ve takip için net planların yapılması

### 2.2.1. Tanısal Yaklaşım

Dismorfolojik değerlendirme basamakları aşağıdaki gibi olmalıdır:

- Şüphe (konjenital anomaliler, gelişim problemleri, mental retardasyon)
- Öykü
- Fizik muayene
- Sentez
- Spesifik testler
- Bilinen/bilinmeyen tanı adına genetik danışma
- Prenatal tanı
- Takip

#### 2.2.1.1. Şüphe

Çocukta aşağıdaki durumlardan birinin varlığı söz konusu ise genetik etiyojiden şüphelenilmelidir:

- Konjenital anomaliler, örneğin; majör anomali ya da 2'den fazla minör anomali
- Büyüme defisiti, örneğin; kısa boy, büyüme-gelişme geriliği
- Gelişim geriliği, mental defisit ya da gelişmede gerileme
- Sekonder seksüel özelliklerin gelişiminde yetersizlik
- Kuşkulu genital
- Ya da basit olarak " normal görünmüyorsa"



### 2.2.1.2. Öykü

Yapısal defektler ile doğan bir bebeğin annesinin gebelik öyküsünde geçirilen ateşli, döküntülü hastalıklar, kullanılan ilaçlar, alkol kullanımı, kimyasal maruziyeti, annenin mesleği, fetal hareketler, önceki gebeliklerle ilgili bilgiler, tekrarlayan düşükler ve gebelik kayıpları dikkatle sorgulanmalı, perinatal döneme ait bilgilerden fetal distres, amniyon sıvı miktarı, bebeğin geliş pozisyonu ve doğum şekli, çoğul gebelik olup olmadığı, doğum ağırlığı, baş çevresi kaydedilip değerlendirilmelidir. Bebeğin gelişim basamaklarının sorgulanması, normalden sapmaların belirlenmesi, davranış değişikliklerinin kaydedilmesi de tanısal açıdan önem teşkil etmektedir.

Üç kuşağı kapsayan bir aile ağacı ile ailede daha önce tanımlanmış yapısal defektli bireyler, tekrarlayan gebelik kayıpları, akraba evliliği olup olmadığı tanımlanmalı ve ailesel kromozomal translokasyon taşıyıcılığı veya belli bir şekilde kalıtım gösteren bir genetik hastalığın varlığı konusunda bulgular elde edilmeye çalışılmalıdır (Boduroğlu, 2011).

Dismorfolojik öyküyü oluşturan basamaklar Çizelge 2.11'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.11. Dismorfolojik öykünün basamakları (Gupta N ve Kabra M, 2007; Goh DLM,2001)

### **Aile Öyküsü**

- Üç kuşağı kapsayan aile ağacı ve öyküsü:
  - a. Akrabalık otozomal resessif hastalık riskini arttırır.
  - b. Erkek kardeşleri ve ya maternal erkek akrabaları gibi etkilenen erkek hastalar X'e bağlı bir hastalık söz konusu olduğunu gösterir.
  - c. Özellikle erkekten erkeğe olan vertikal geçiş şekli otozomal dominant hastalığın söz konusu olduğunu belirtir.
  - d. Düşükler, ölü doğumlar ya da erken neonatal dönem ölümleri parental dengeli kromozomal translokasyon olduğunu düşündürmelidir.
- Doğumsal defektler
- Diğer genetik hastalıklar
- Tekrarlayan düşükler
- Parental yaş ve sağlık durumu
- Akrabalık

### **Antenatal**

- Olası teratojenik maruziyetler
- Tanı prosedürü sonuçları (Ultrason, Amniosentez) ve komplikasyonlar (kanama, yüksek ateş)
- Fetal hareket (başlangıç zamanı, canlılık)

### **Perinatal**

- Gestasyon
- Doğum komplikasyonları
- Fetal prezentasyon

- Doğum şekli
- Neonatal durumu (canlılık, antropometri, solunum, ölçümler, nöbetler)
- Yenidoğan dönemi (beslenme, belirgin anomaliler, komplikasyonlar, resüsitasyon)

#### **Post-neonatal**

- Fiziksel büyüme (boy, ağırlık, baş çevresi)
- Gelişim basamakları (formal psikometrik testler, erken kilometre taşları)
- Genel sağlık (hastalık, operasyonlar, özel çalışmalar)
- Nöbetler
- Görme ve duymada herhangi bir bozukluk, davranış fenotipi

### 2.2.1.3. Fizik muayene

Dismorfik çocuğun değerlendirilmesinde en önemli ve tecrübe gerektiren basamaktır. Dismorfik bir bebeği muayene ederken hekimin tüm vücut sistemlerini gözden geçirmesi önemlidir. Muayenede özellikle yüz, ekstremiteler ve genital organların incelenmesi, yapısal özelliklerinin kaydedilmesi, birbirleriyle ilişkileri ve orantılarının gözlenmesi, gerekirse ölçümler yapılarak kayıt altına alınması önemlidir. Dismorfik çocukta saptanan özellikler diğer aile üyelerinin özellikleriyle de karşılaştırılmalıdır.

Çizelge 2.12. dikkatle incelenmesi gereken bazı önemli dismorfik bulguları içermektedir (Boduroğlu, 2011).



Çizelge 2.12. İncelenmesi gereken bazı önemli dismorfik bulgular (Gupta N ve Kabra M, 2007)

İnceleme	
Antropometri	Boy, kilo, baş çevresi, kol boyu, üst segment/alt segment oranı Ölçümler normal yüzdeyi aşarsa, genetik tanıya gidilmesi gerekir
Baş	Şekil, büyüklük, anterior ve posterior fontaneler, alın ve temporal bölgeler
Saç	Renk, dokusu, saçta whorl paterni, saç çizgisi, büyüme
Gözler	Eğim, interkantalar mesafe, şekil, büyüklük, kornea, sklera, iris (renk, kolobom), fundus
Kulaklar	Büyüklük, pozisyon, şekil
Ağız bölgesi	Şekil, büyüklük, damak (dar, yüksek, yarık), dişler, dudaklar (kalın, ince, yarık, şekil), filtrum (kısa, uzun, düz, belirgin)
Çene-Malar bölge	Mikrognati, retrognati, malar bölge hipoplazisi
Boyun	Kısa, uzun, yele boyun
Göğüs	Şekil, meme uçları arası mesafe, sternum
Eller-Üst ekstremiteler	Şekil, parmaklar, tırnaklar, klinodaktili, ekstremiteler uzunlukları, angulus
Ayaklar-Alt ekstremiteler	Şekil, parmaklar, baş parmak anomalileri, ekstremiteler uzunlukları, kalça dislokasyonu, ödem
Cilt	Renk, dokusu, hirsütizm, terleme, pigmenter anomaliler

Değişik bulguların zaman içinde değişimini izlemek ve tanı zorluğu olduğu durumlarda hastanın bulgularının diğer uzmanlarla paylaşılması adına muayene esnasında ailesinden onay alınarak dismorfik çocuğun saptanan yapısal değişikliklerinin ve genel görünümünün fotoğraflanarak kayıt altına alınması da önemli bir adımdır (Boduroğlu, 2011).

#### 2.2.1.4. Sentez

Ayrıntılı öykü ve detaylı fizik muayene sonrası çocuğun dismorfik/yapısal anomalileri olduğuna karar verilir. Eğer çocukta tek anomali var ise anomalinin ciddiyeti saptanmaya çalışılır. Eğer çocukta multipl minör/majör anomaliler söz konusu ise, tanı displazi, deformasyon, sekans, sendromik, kromozomal ya da teratojenik olarak sınıflandırılır.

OMIM, POSSUM, OMD gibi veritabanları ve PubMed gibi literatür programları kullanılarak bilinen vakalarla karşılaştırma yapılır.

#### 2.2.1.5. Spesifik testler

Çocukların büyük bir kısmı herhangi bir spesifik test gerektirmez. Ancak bazı durumlarda aşağıdaki testlerin yapılması gerekebilir:

1. Kromozom Analizi (Karyotip): Bilinen bir kromozomal sendromun confirmasyonu ya da tanımlanmamış multipl malformasyonların varlığı durumunda karyotip analizine başvurulur. Gelişim ve büyüme geriliğinin eşlik ettiği farklı organ sistemlerinin anomalilerinde mutlaka karyotip analizi yapılmalıdır. Multipl konjenital anomaliler, kuşkulu genital, minör ve/veya majör anomalilere eşlik eden gelişim geriliği, bir bireyde iki tek gen hastalığı varlığı, tekrarlayan düşükler kromozom analizinin endikasyonlarıdır. Mikrodelesyon sendromuna özgü bulgular varlığında ise FISH analizinin yapılması önerilmektedir.

Çizelge 2.13. etiyojisinde genetik sebeplerin varlığını düşündüren bulgular verilmektedir.

## Çizelge 2.13. Etiyolojisinde genetik sebeplerin varlığını düşündüren bulgular

### Genel

- Kısa boy ya da uzun boy
- Büyüme-gelişme geriliği ya da obezite
- Anormal baş çevresi: mikrosefali ya da makrosefali
- Anormal baş şekli: brakisefali, skafosefali, trigonosefali
- Değişik vücut orantısı: kısa omurga, kısa ekstremiteler, uzun ekstremiteler

### Fasial bulgular

- Sinofrizis
- Hipertelorizm ya da hipotelorizm
- Aşağı eğimli ya da yukarı eğimli palpebral fissürler
- Kısa palpebral fissürler (palpebral fissürlerin uzunlukları genelde iki göz arasındaki mesafeye eşittir)
- Kısa veya uzun burun
- Posterior yerleşimli ya da düşük kulaklar
- Düz ya da anormal şekilli kulaklar
- Aşağı dönük, ince/dolgun, ya da yarık dudak
- Düz ya da uzun filtrum
- Yüksek ya da yarık damak
- Bifid uvula ya da uvula yokluğu
- Prognati ya da mikrognati

### Eller ve ayaklar

- Brakidaktili

- Araknodaktili (uzun parmaklar)
- Klinodaktili
- Sindaktili
- Polidaktili
- Displastik tırnaklar
- Anormal çizgiler

#### Cilt ve saç

- Anormal cilt pigmentasyonu: hemangiom, cafe au lait lekeleri, meç ya da whorl
- Anormal miktarda saç: saç dökülmesi, hirsütizm ya da hipertrikoz
- Anormal saç çizgisi: düşük saç çizgisi (posterior ya da anterior) ya da açık alın bölgesi
- Değişik saç rengi: beyaz perçem

#### Müsküloskeletal

- Kısa boyun
- Anormal göğüs şekli ya da boyutu: pectus carinatum, pectus excavatum, kısa sternum
- Meme başı anomalileri: ayırık meme başları, aksesuar meme başı, içe çökük meme başları
- Omurga anomalileri: anensefali, ensefalosel, miyelomeningosel ya da spina bifida occulta stigmatları (saç, lipom, derin dimfle)
- Anormal mafsalsal şekli
- Anormal mafsalsal hareketi: hiper mobilite ya da azalmış hareket açıklığı

#### Karın bölgesi

- Karın duvarı defektleri: omfalosel, gastroşizis
- Hepatosplenomegali
- Nefromegali



- Kuşkulu genital\_(Goh DLM,2001)

2. DNA düzeyinde tek gen defektlerine spesifik moleküler testler.

3. Nörometabolik testler ya da depo hastalıkları testleri, anormal kan/üriner substrat taraması. Dismorfizme neden olan lizozomal hastalıklar, peroksizomal hastalıklar ve kolesterol metabolizması gibi metabolik hastalıkların varlığı metabolik testlerin endikasyonlarıdır.

4. Özellikle nörolojik belirtileri, kranial kontur anomalileri, mikrosefali veya makrosefali olan ve bilinen bir tanısı olmayan hastalarda nörogörüntüleme düşünülmelidir. MRI çoğu durumda tercih edilen bir görüntüleme yöntemidir.

5. Anomaliye bağlı skeletal araştırmalar ( X ışınları gibi)

6. Aşağıdaki durumlar varlığında karyotip analizi için cilt biyopsisi önerilmektedir:

a. Farklı cilt pigmentasyonu

b. Asimetri

c. 2.-3. parmak sindaktilisi ile 3.-4. parmak sindaktilisi ve bulböz parmak uçları (diploid/triploid mozaisizm).

#### **2.2.1.6. Bilinen/bilinmeyen tanıya yönelik genetik danışma**

Tanı konulamadığı durumlarda, bu durumun nedenlerini açıklayan bir danışmanın yapılması gerekmektedir.

Aşağıdaki bazı özelliklerin ve özellik paternlerinin olması durumunda tekrarlama riski % 25'lere kadar çıkmaktadır:

- Etkilenmiş çocukların bulunması
- Fetal anomalilere bağlı ölü doğum/geç düşükler
- Benzer etkilenmiş bireylerin aile öyküsü
- Akrabalık
- Nörogelişimsel regresyon
- Yüz özelliklerinde kabalaşma

Yüksek risk belirten bulguların olmaması durumunda empirik risk % 5 olarak verilebilir.

Asosiasyon ve sekanslarda tekrarlama riski düşüktür. Denovo kromozomal anomaliler %1'den daha düşük tekrarlama riskine sahiptir. Tek gen hastalıklarında ise, tekrarlama riski kalıtım şekline göre değişim göstermektedir.

#### **2.2.1.7. Prenatal tanı**

Prenatal tanı, kesin tanıya varıldığı durumlarda önerilmektedir (örneğin DNA tabanlı testlerle konfirme edilmiş tek gen hastalıkları ve kromozomal defektlerin varlığında). Birçok durumda, kesin bir prenatal test sonucu elde etmek mümkün olamamaktadır. Ancak, rutin antenatal incelemeler ve konjenital malformasyonlar için yüksek çözünürlüklü ultrasonografi faydalı olabilmektedir. Üçüncü seviye ve 3D ultrasonografiler ile fasial profil ve diğer dismorfik bulgular başarıyla görüntülenebilmektedir.

#### **2.2.1.8. Takip**

Hastanın takibi aşağıdaki durumlar için önemlidir:

- Yeni çıkan testler önerilebilir.
- Ek tıbbi sorun çıkıp çıkmadığı ve ilerleyen gelişim süreci izlenebilir.
- Sendrom tanımlama şansı arttırılabilir. Bazı dismorfik sendromların, çocuk belirli yaşa gelmeden tanımlanması zordur.
- Tekrarlama riski daha kolay saptanabilir (Gupta N ve Kabra M, 2007)

## 2.3. MİKROARRAY'LER

Biyomedikal araştırmalar, yalnızca bilginin derlenmesi yönünde değil aynı zamanda yeni teknolojilerin ortaya çıkması yönünde ilerlemektedir. Gen ifedelerini araştırmak için kullanılan klasik metodlar araştırmacıların belirli bir zaman içerisinde az sayıdaki geni inceleyebilmelerine olanak tanımaktadır. Yeni teknolojilere duyulan ihtiyaç karşılaşılan problemlerin çözümünü ve terapide kullanılacak yeni potansiyel hedeflerin bulunmasına imkan tanımıştır. Mikroarray'ler araştırmacıların tek bir deneyde hızlı ve verimli bir şekilde birçok genin ifadesini incelemesini olanaklı kılmaktadır. Mikroarray'ler büyük metodolojik ilerleme göstermekte ve araştırmacılara yeni teknolojilerin ne kadar güçlü araçlar olduğunu izah etmektedir. Bilim adamları mikroarray teknolojisini büyüme ve gelişimi farklı açılardan anlamak ve birçok hastalığın altında yatan genetik sebeplerin keşfi için kullanmaktadırlar.

### 2.3.1. DNA Mikroarray'leri

DNA Mikroarray'i, moleküler biyoloji ve tıpta kullanılan multipleks bir teknolojidir. DNA Mikroarray'i "Features" denen ve herbiri prob (reportör) olarak bilinen pikomol seviyesindeki spesifik DNA sekanslarından oluşan binlerce mikroskobik DNA oligonükleotid noktacığının dizilenmiş serilerinden oluşmaktadır. Bu problemler, yüksek-kararlılıkta cDNA ya da cRNA örneğini (*hedef* olarak bilinir) hibritlemede kullanılan kısa bir gen parçası ya da diğer DNA elemanı olabilmektedir. Prob- hedef hibridizasyonu, genellikle hedefteki nükleik asit veriminin göreceli olarak saptanması için florofor, gümüş ya da kemiluminesans -işaretili hedeflerin taranmasıyla incelenir ve kantifiye edilir. Bir array binlerce probun onlarcasından oluştuğu sürece bir mikroarray çalışması bir çok genetik testin aynı anda gerçekleştirilmesine olanak tanımaktadır. Bu durum birçok keşfin hızlanmasını sağlamaktadır.

Standart mikroarray'lerde problemler yüzey mühendisliği yolu ile katı bir yüzeye (kimyasal matris= epoksi-silan, amino-silan, lizin, poliakrilamid ve ya diğerleri) kovalent bağ yardımıyla tutturulmaktadır. Katı yüzey cam ya da silikon çip olabileceği gibi mikroskobik boncuklardan da oluşabilmektedir.

DNA mikroarray'leri ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin ölçülmesi, SNP'lerin taranması, mutant genomların sekanslanması ve genotiplemede kullanılmaktadır.

Mikroarray'ler fabrikasyon, çalışma, verim, hassasiyet ve maliyet bakımından farklılık göstermektedirler.

### **2.3.2. Mikroarray'in Tarihçesi**

Mikroarray teknolojisi, fragmente DNA'nın bir substrata tutturularak ve daha sonra bilinen bir gen ya da fragment ile problanarak çalışılan Southern Blot'tan geliştirilmiştir. Array'lerde ekspresyon profili için farklı DNA topluluklarının kullanılması ilk olarak 1987 yılında açıklanmış ve array'lenen bu DNA'lar interferon tarafından ifadeleri değişen genlerin tanımlanması için kullanılmıştır (Kulesh ve ark., 1987). Bu ilk array'ler iğne-spotlama aracının kullanılması ile filtre kağıdı üzerine cDNA'ların spotlanması sonucu oluşturulmuştur. Miniatürize mikroarray'lerin gen ekspresyon profilinde kullanılması ilk olarak 1995 tarihinde bildirilmiş (Schena ve ark., 1995) ve mikroarray üzerinde tam ökaryotik genomu (*Saccharomyces cerevisiae*) 1997 yılında yayımlanmıştır (Lashkari ve ark., 1997).

### **2.3.3. Mikroarray Teknolojisinin Prensibi**

Mikroarray ardındaki temel prensip iki DNA ipliği arasındaki hibridizasyon, birbirleriyle ile spesifik olarak baz çiftleri arasında hidrojen bağı oluşturarak eşleşen komplementer nükleik asit sekanslarının yapısıdır. Bir nükleotid sekansındaki yüksek sayıdaki komplementer baz çiftleri iki iplik arasında sıkı bir non-kovalent bağın olduğu anlamına gelmektedir. Non-spesifik olarak bağlanan sekansların yıkanmasından sonra, sadece hibridize olmuş olan eşleşmiş kuvvetli iplikler kalmaktadır. Böylece, bir prob sekansına bağlanan floresans işaretli hedef sekanslar, eşleşen bazların sayısı, hibridizasyon koşulları (sıcaklık gibi) ve hibridizasyon sonrası yıkama tarafından belirlenen hibridizasyon gücüne bağlı olarak sinyal oluşturmaktadırlar. Bir noktacıktan (feature) gelen toplam sinyal gücü, bu noktacığın üzerinde mevcut olan problemlere bağlanan hedef örneğin miktarına bağlı olmaktadır. Mikroarray'lerde, prob yoğunluklarının farklı koşullar altındaki yoğunlukları ile karşılaştırılmasında ve yeri bilinen probun özelliğinin belirlenmesinde göreceli kantitasyon kullanılmaktadır.

### **2.3.4. Mikroarray'lerin Kullanım Alanları ve Tipleri**

Birçok array çeşidi mevcut bulunmakta ve geniş ayrımları yüzeyemi yoksa kodlu boncuklar üzerine mi düzenlenmiş olmalarına göre yapılmaktadır:

- Klasik katı-faz array’i, “feature” olarak bilinen düzenli mikroskobik “spot”ların toplu halidir ve herbiri spesifik bir probta cam, plastik ya da silikon bioçip ( genel olarak *genom çipi*, *DNA çipi* veya *gen çipi* gibi katı bir yüzeye tutturulmuştur. Binlerce prob tek bir mikroarray üzerinde belirli lokasyonlara yerleşmiştir.
- Alternatif boncuk array’i, hedef sekansta kullanılan farklı olarak iki veya daha fazla boya ile herbiri spesifik bir prob olan mikroskobik polistren boncukların toplu halidir

DNA mikroarray’leri, DNA’yı taramak için (karşılaştırmalı genomik hibridizasyonda olduğu gibi-CGH) ya da proteinlere dönüşen ya da dönüşmeyen RNA’yı (çoğu genellikle reverse transkripsiyon sonrası cDNA’lardır) taramak için kullanılmaktadır. cDNA ile gen ekspresyonunun ölçülmesi süreci *ekspresyon analizi* ya da *ekspresyon profili* olarak adlandırılmaktadır.

DNA/oligonükleotid mikroarray’lerinin en sık görülen kullanım alanı gen ekspresyon analizleridir. Bu teknikte, iki örnekten izole edilen RNA’lar büyük sayıda cDNA/oligonükleotidleri içeren cam mikroskop slide’ı üzerine hibritlenmeden önce iki farklı florokrom (genellikle yeşil olan siyanür 3-Cy3 ve kırmızı olan siyanür 5-Cy5) ile işaretlenmektedirler. Uyulması gereken koşullarda gerçekleştirilen hibridizasyon sonrası, mikroarray tarayıcısında iki florokrom belirli dalgaboylarında uyarılır ve biyolojik örnekteki transkript seviyeleriyle orantılı olan floresans emisyon sinyalleri tarayıcı tarafından kaydedilir. Mikroarray verileri, ortak biyolojik fonksiyonları taşıdığı düşünülen, benzer ekspresyon paterni gösteren genlerin gruplandırılmasına olanak tanıyan spesifik yazılım programları ile analiz edilemektedir.

Çizelge.2.14. Mikroarray teknolojileri ve uygulamaları

Teknoloji/ Uygulama	Açıklama
Gen ekspresyon profili	Binlerce genin ekspresyon düzeyleri, belirli tedavilerin, hastalıkların ve gelişim basamaklarının gen ekspresyonu üzerine etkisi incelenmektedir.
Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH)	Farklı hücre ve yakın ilgili organizmalarda genom içeriğinin (delesyon ve duplikasyon açısından) değerlendirilmesini sağlamaktadır.
GeneID	Çoğu PZR ve mikroarray teknolojisini birleştirmektedir. Besin ve yemlerdeki GDO'ların, hastalık teşhisinde hücre kültürlerindeki mikoplazmaların ya da patojenlerin ID'lerinin saptanmasında kullanılan küçük çaplı array'lerdir.
Çip üzerinde kromatin immünopresipitasyonu (ChIP)	Belirli proteine bağlanan DNA sekansları bu proteinin immünopresipitasyonu ile izole edilebilmektedir. Bu fragmentler daha sonra mikroarray (tiling array) üzerine hibritlenmekte ve genom boyunca protein bağlanma bölgelerinin saptanması olanaklı hale gelmektedir.
DamID	ChIP'in analogudur. İlgilenilen proteinin bağlandığı genomik bölgelerin izolasyonu ve bağlanma bölgelerinin saptanması için mikroarray'i probamada kullanılmaktadır. ChIP'in aksine, DamIP'de antikor gerekliliği yoktur. Ancak protein bağlanma bölgelerinde adenin metilasyonu gerekmektedir. Bu sayede bu bölgeler seçici olarak amplifiye edilmektedir.

SNP taraması	Populasyon içerisinde ya da populasyonlar arasında allellerdeki tek nükleotid polimorfizmlerinin saptanmasını sağlamaktadır. Genotipleme, adli tıp analizleri, hastalığa eğilimin ölçülmesi, ilaç aday tanımlanması, bireylerde germline mutasyonların oluşumu, kanserlerdeki somatik mutasyonlar, LOH, genetik bağlantı analizlerinde kullanılmaktadır.
Alternatif splicing taraması	“Exon junction array” dizaynı, bir genin öngörülen ekzonlarının bilinen ya da potansiyel splice bölgelerine spesifik problemler kullanılmaktadır. Tipik gen ekspresyon array’i (gen başına 1-3 prob) ve tiling array (gen başına yüzlerce-binlerce prob) arasında bir yoğunluk ya da sahaya sahiptir. Bir genin alternatif splice formlarının ekspresyonunun incelenmesinde kullanılmaktadır. Ekzon array’leri farklı dizayna sahiptir, bilinen ya da öngörülen genler için herbir ekzonu saptamak adına düzenlenen problemleri kullanmakta ve farklı splicing izoformlarını tespit etmede kullanılabilir.
Füzyon gen mikroarray’leri	Kanser örneklerinde olduğu gibi füzyon transkriptlerinin taranmasında kullanılmaktadır. Bu durumun temelindeki prensip alternatif splicing mikroarray’lerine dayanmaktadır. Oligo dizayn stratejisi kimerik transkript bağlantılarının ölçümleri ile füzyon çiftlerinin ekzon yönünde ölçümlerinin bileşiminden oluşmaktadır.
Tiling array	Genom tiling array’leri ilgilenilen genomik

	<p>bölgeyi (bezen tam bir kromozom kadar büyük bir bölge) yoğun bir şekilde temsil eden örtüşen problardan oluşmaktadır. Daha önce bilinmeyen ya da öngörülemeyen transkriptlerin ve alternatif splice formlarının ekspresyonlarının empirik olarak saptanmasında kullanılmaktadır.</p>
--	---





Çizelge.2.15. Mikroarray uygulamaları ve prob/ hedef tipleri

Prob	İşaretlenmiş Örnek (Hedef)	Teknik	Uygulama
Genomik DNA (YAC, BAC)	Genomik DNA fragmentleri	Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH)	Gen kopya sayısı mutasyon çalışması
Genomik DNA	mRNA(cDNA)	Karşılaştırmalı Ekspres Olmuş Sekans Hibridizasyonu (CESH)	Kromozomal lokasyona bağlı göreceli ekspresyon (tüm genler)
cDNA/uzun oligo'lar	mRNA/cDNA	Ekspresyon Profili	Göreceli ekspresyon (bilinen ya da öngörülen genler)
Kısa/uzun oligo'lar	Genomik DNA fragmentleri	Genetik görüntüleme	Genotipleme Polimorfizm
Proteinler	Proteinler	Protein array	Protein ağırları, metabolizma...

### 2.3.5. Mikroarray'lerin Üretimi

Mikroarray'ler prob sayısına, maliyete, müşteri talebine ve sorulan bilimsel sorunun tipine göre farklı yollarla üretilebilmektedir. Array'ler, 10 probtan 2.1 milyon mikrometre-ölçekli proba kadar olabilmektedir.

#### 2.3.5.1. Yüzey Mühendisliği

İlgili uygulamaya yönelik en iyi yüzey özelliklerini elde etmek için DNA mikroarray üretiminin ilk basamağı substrat yüzey mühendisliğidir. En uygun yüzey özellikleri, ilgili DNA hedefleri için yüksek sinyal/gürültü oranı sağlayanlardır. Genel olarak bu özellik, ilgili hedef bölgelerin spesifik olmayan bağlanmalarını minimize ederken prob yüzey yoğunluğunu ve aktivitesini arttırmaktadır. Yüzey mühendisliğinin metodları; platform materyaline, tasarıma ve uygulamaya göre çeşitlilik göstermektedir.

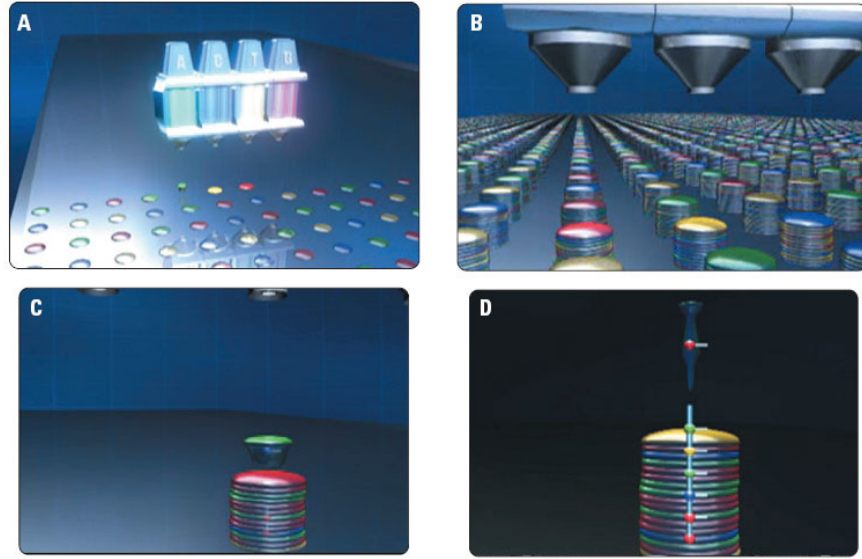
### 2.3.5.2.Noktalı Ve Oligonükleotid Array'ler

Mikroarray'ler; cam slaytlar üzerine küçük punto-noktalı iğne ile baskılama, önceden hazırlanmış kalıplar ile fotolitografi, dinamik mikroayna aygıtları kullanılarak fotolitografi, ink-jet baskılama ya da mikroelektrod array'lerde elektrokimya gibi çeşitli teknolojilerle üretilmektedir.

*Noktalı mikroarray*'lerde probalar; mRNA'lara tekabül eden oligonükleotidler, cDNA ya da PZR ürünlerinin küçük fragmentleridir. Problar, array'ler üzerine yerleştirilmeden önce sentezlenirler ve daha sonra cam üzerine "noktalanırlar". Ortak yaklaşım; DNA problemleri içeren kuyucuklara daldırılan ve daha sonra her bir prob array yüzeyindeki tasarlanmış yerlere yerleştiren, robotik bir kol tarafından kontrol edilen küçük punto iğne array'lerini kullanmaktadır. Problemlerin oluşturduğu "hat" hazırlanan problemlerin nükleik asit profillerini göstermekte ve deneysel ya da klinik örneklerinden türetilen tamamlayıcı cDNA ya da cRNA hedeflerini almaya hazır hale gelmektedir. Bu teknik, dünyanın her yerinde araştırmacılar tarafından kendi laboratuvarlarında "in-house" baskılı mikroarray'lerin üretimi için kullanılmaktadır. Bu array'ler her bir deney için kolaylıkla tasarlanabilir, çünkü araştırmacılar array'ler üzerindeki problemleri ve baskılama yerlerini seçebilirler ve problemleri kendi laboratuvarlarında sentezleyebilirler ve array'leri lekeleyebilirler. Hibridizasyon için lekelenmiş örneklerini meydana getirebilirler, örnekleri array'ler üzerine hibritleyebilirler ve son olarak da array'leri kendi cihazlarıyla tarayabilirler. Bu durum, her çalışma için tasarlanabilen düşük maliyetli array'ler sağlar ve araştırmacının ilgilenmediği muazzam sayıdaki genleri taşıyan pahalı ticari array'lerin alış maliyetlerini önler. Literatürde, küçük boyut ve baskılama veriminin az olmasından dolayı in-house noktalı mikroarray'in ticari oligonükleotid array'ler ile aynı seviyede hassasiyete sahip olmadığını gösteren birçok yayın bulunmaktadır.

*Oligonükleotid mikroarray*'lerinde probalar, bilinen ya da umulan açık okuma çerçeveleri sekanslarıyla eşleşmek için tasarlanmış kısa sekanslardır. Sıklıkla oligonükleotid problemlerin "noktalı" mikroarray'lerde kullanılmasına rağmen, "oligonükleotid array" çoğunlukla spesifik bir üretim tekniğini tanımlar. Oligonükleotid array'ler, kısa oligonükleotid sekansların yüzey üzerine baskılanmasıyla üretilmektedir. Bu sekanslar bir geni ya da gen ailesini temsil etmektedir ve intakt sekansın yüzeye yerleştirilmesi yerine direkt olarak yüzeye sentezlenmektedir. Sekanslar, arzu edilen amaca göre uzun (Agilent tasarımında 60-mer problemleri) ya da kısa (Affymetrix tarafından üretilen 25-er problemleri) olabilir: uzun problemler hedef gene spesifik olurken, kısa problemler array boyunca yüksek yoğunlukta noktalanırlar ve üretilmeleri daha ucuzdur. Oligonükleotid

array'lerin üretiminde kullanılan bir teknik de; ışık ve ışığa duyarlı maskeleme ajanlarının sekans oluşturmada kullanıldığı silika substrat üzerine fotolitografik sentezdir. Her bir uygulanabilir prob, array'i tek nükleotid içeren solüsyonda yıkamadan önce seçici olarak "maskesiz"dir. Daha sonra maskeleme reaksiyonları gerçekleşirken, diğer prob seti farklı nükleotid maruziyetine kalmadan önce yine maskesizdir. Birçok tekrardan sonra bütün problemlerin sekansları oluşturulmuş olur. Sıklıkla, NimbleGen sisteminde kullanılan Maskesiz Array Sentezi, geniş prob sayısı ve esneklik sağlar.



Şekil.2.3. İnk-jet baskılama yöntemi ile oligo sentezinin genel mekanizması. A: Aktif mikroarray yüzeyi üzerine nükleotidlerin birikerek ilk tabakayı oluşturması. B: Nükleotidlerin slide üzerine basılması ile multiple tabakalar meydana gelmesi ve oligoların uzaması. C, D: Zincire yeni bir bazın eklenmesi.

([www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint\\_ABCD.jpg](http://www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint_ABCD.jpg))

## 2.4. ARRAY TABANLI KARŞILAŞTIRMALI GENOMİK HİBRİDİZASYON (aCGH) TEKNOLOJİSİ

Genetik materyalin net kaybı ya da kazanımı şeklinde meydana gelen dengesiz kromozomal anormallik sonucu insanlar üzerinde birçok genetik bozukluk oluşmaktadır. Klasik olarak, sitogenetikçiler bu tür anormallikleri bireylerin kromozomlarından karyotip elde ederek ve bu karyotiplerdeki bant paternlerini analiz ederek saptamaktadırlar. Ayrıca, 1970'lerdeki gelişmelerden bu yana, bant paterninin sitogenetik analizi çeşitli konjenital anomalisi olan bireylerin klinik değerlendirilmesinde kullanılan primer tekniklerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. İdeal koşullar altında, yaklaşık 5 megabaz (Mb) büyüklüğündeki bozukluklar bant analizi ile saptanabilmektedir ki bu tür kromozomal düzenlenmeler "mikroskobik" olarak adlandırılmaktadır.

Giemsa ile boyalı metafaz kromozomlarının sitogenetik analizi, dengeli ve dengesiz yapısal ve sayısal kromozom anomalilerini saptayabilmektedir. Ancak ince kromozom düzenlenmeleri (< 4 Mb)nin saptanması için yeterince hassas değildir. Floresans *in situ* Hibridizasyon (FISH) tekniği ise, tanı çözünürlüğünü arttırmış ve bu zamana kadar kromozomal dengesizlik ve düzenlenmelerin saptanmasında kullanılan bir yöntem olmuştur. FISH analizinde, floresans işaretli DNA problemleri interfaz hücrelerine ya da metafaz kromozomlarına spesifik genomik segmentlerin varlığını, yerini ve sayısı belirlemek amacıyla hibridize edilmektedir. Ancak, FISH analizi zaman alıcı ve ilgili kromozomal bölge hakkında aday kromozomal bölgeler (örneğin; subtelomerik bölgeler) ve ifade olmuş bölgeler (örneğin; mikrolezyon sendromu) açısından ön bilgi gerektiren hedefli bir metoddur. FISH analizi, beklenmedik dengesizliklerin genom düzeyinde taranmasını sağlamamakta ve yalnızca klinisyen tarafından fenotipin klinik değerlendirmesi sonucu sorulan sorunun cevabını verebilmektedir.

Metafaz CGH'i başlangıçta tümör sitogenetiğinde kullanılan bir araç olarak geliştirilmiştir. Bu teknikte, hasta ve referans genomik DNA'ları farklı renkte işaretlenerek birlikte bir cam slide üzerindeki normal metafazlara hibridize edilmektedir. Farklı hibridizasyon sinyalleri ile tüm genom boyunca yaklaşık 3-10 Mb çözünürlüğündeki kromozomal düzenlenmeler bu teknik kullanılarak saptanabilmektedir.

Metafaz CGH, tanıda kullanışlı bir yöntem gibi görünmesine rağmen, tanı konulmamış gelişim geriliği ve konjenital anomali vakalarının yaklaşık %10'unu açıklığa kavuşturmuş, metafaz kromozomlarının düşük çözünürlüğü ve teknik deneyim bu teknolojinin uygulama yaygınlığını sınırlamıştır.

Klasik CGH ile ilgili bazı limitasyonların üstesinden gelmek için araştırmacılar, CGH prensibini mikroarraylerin kullanımı ile birleştirmişlerdir (Skena *ve ark.*, 1995).

Metafaz kromozomlarının yerini, robotik olarak cam mikroskop slide'ı üzerine metal iğne ya da cam kapiller ile sabitlenen hedef DNA'ların alması çözünürlüğü belirgin bir biçimde arttırmış ve analiz prosedürünü kolaylaştırmıştır.

Artık araştırmacılar, kromozomal dengesizlikleri tüm genomda hızlı bir tarama yapmak amacıyla array CGH (aCGH) yöntemini kullanmaktadırlar.

Moleküler Karyotipleme olarak da bilinen Array Tabanlı Karşılaştırılmalı Genomik Hibridizasyon (array based Comperative Genomic Hybridization; aCGH), yüksek rezolüsyon, segmental genomik kopya sayısı varyasyonlarının (CNV) genom düzeyinde taranması için geliştirilen bir tekniktir. aCGH, yüzlerce farklı genomik lokusun DNA kopya sayısı kaybı ve kazanımı açısından kapsamlı bir şekilde sorgulanmasına olanak tanımaktadır.

aCGH teknolojisi ilk olarak 1997 yılında Solinas-Toldo *ve ark.* tarafından hedef dizinin cam matriks üzerine immobilize edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Konvansiyonel CGH in üzerine kurulmuş gibi görünse de duyarlılık alanı açısından çok daha ileri bir yöntemdir. Bu alandaki gelişmeleri, 1999 yılında Pollack *ve ark.* tarafından array platformu üzerine cDNA dizisinin immobilize edilmesi ve DNA'daki kopya sayısındaki değişmeleri genom düzeyinde ortaya çıkarmak izlemiştir. Böylece, farklı renklerdeki florokrom boya ların kullanılması ile DNA kopya sayısındaki değişimlere bağlı olarak ortaya çıkan kromozom anomalileri, genom boyunca güvenilir bir şekilde tespit edilebilecek ve sınıflandırılabilirlerdir.

aCGH metodunda, metafaz kromozomlarını kullanmak yerine, analizde hedef olarak kullanılan küçük DNA segmentleri ile dizilenmiş slide'lar kullanılmaktadır (Lucito *ve ark.*, 2003). Bu mikroarrayler, cam slide gibi katı bir destek üzerine küçük DNA segmentlerinin (*prob* olarak bilinirler) düzenli bir şekilde yerleştirilmesiyle tasarlanmaktadır. Problar, ilgili bölgeyi temsil eden oligonükleotidler (25-85 baz çifti)den yapay bakteri kromozomu (Bacterial Artificial Chromosomes; BAC) gibi genomik klonlara kadar değişen boyutlarda mevcuttur. aCGH klasik CGH'e göre, probların metafaz kromozomlarından daha küçük olmasından dolayı daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Rezolüsyon seviyesi, probların büyüklüğüne ve DNA probları arasındaki genomik uzaklığa bağlı olarak belirlenir.

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

Çizelge.2.16. Array CGH, FISH ve Karyotip analizinin teknolojik açıdan karşılaştırılması

Parametre	Array-CGH	FISH	Karyotip analizi
Rezolüsyon <sup>b</sup>	++	++	+
Analitik hassasiyet <sup>c</sup>	+	+++	+
Hücre bölünmesi	Gerekli değil	Gerekli değil	Gerekli
Dengeli anomalilerin saptanması	-	+	+
Çoklu klonları belirleme	-	+	+
Bilinmeyen anomalilerin saptanması	+	-	+

<sup>a</sup> Artı ve Eksi işaretlerinin her bir metod için göreceli dereceleri belirtmektedir.

<sup>b</sup> Saptanabilir en küçük anomali

<sup>c</sup> Anomaliyi saptamada gerekli olan minimum anormal hücre yüzdesi (Maciejewski ve Mufti, 2008)

### 2.4.1. aCGH Metodolojisi

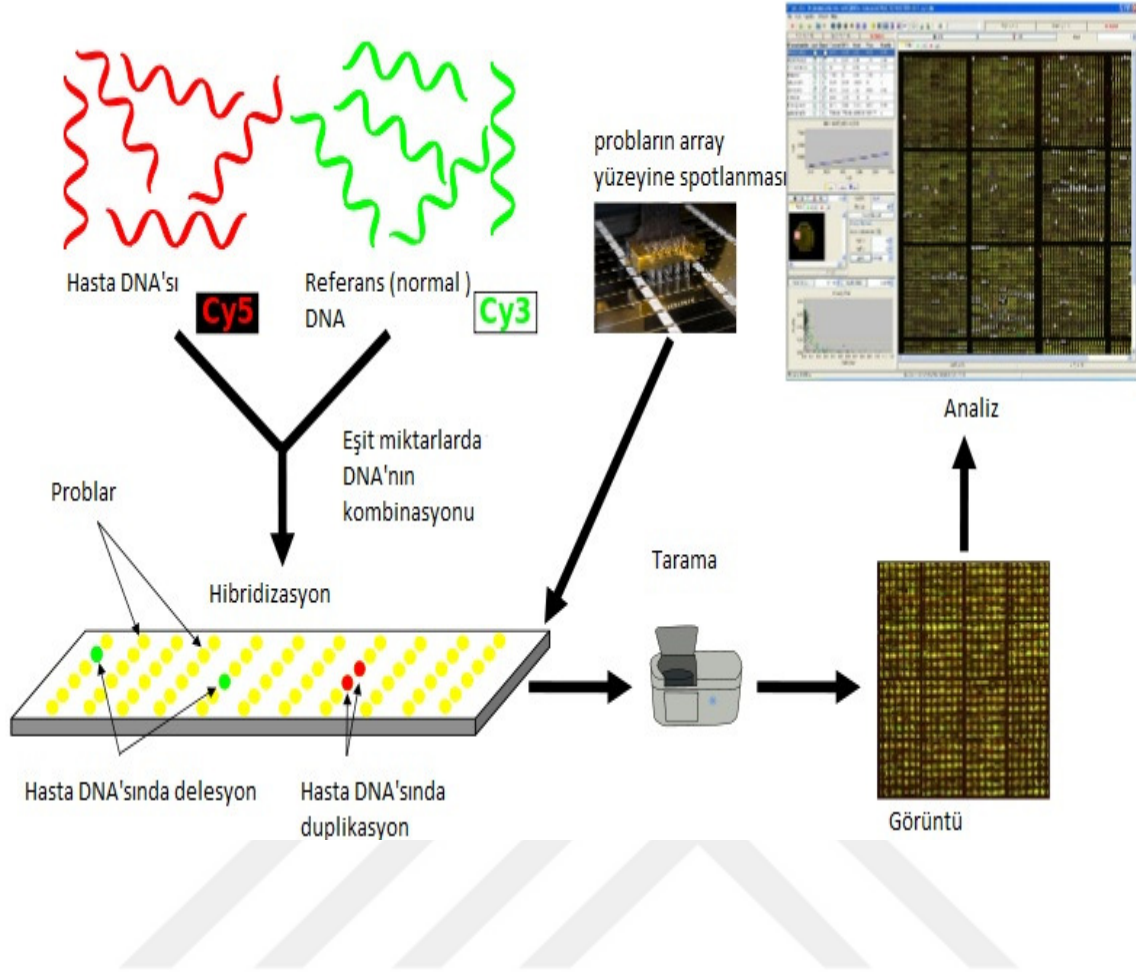
aCGH’de, test örneği (kan, cilt, amniyosentez örnekleri gibi) ve referans örneğinden elde edilen eşit miktarlardaki işaretli genomik DNA’lar, birlikte DNA hedefleri içeren array’ler üzerine hibridize edilmektedir. Bazı laboratuvarlar havuzlandırılmış erkek ve dişi kontrol DNA’ları kullanırken, bazı laboratuvarlar da bireysel erkek ve dişi kontrol DNA’ları kullanmaktadırlar. Farklı laboratuvarlarda aynı-cinsiyet ya da karşıt-cinsiyet kontroller de kullanılmaktadır. Hasta ve kontrollere ait genomik DNA’lar Cyanine 3 (Cy3) ve Cyanine 5 (Cy5) ile farklı işaretlenmektedirler. Tekrarlı sekansların hibridizasyonları ise Cot-1 DNA ile bloke edilmektedir. Slide’lar mikroarray tarayıcıları kullanılarak görüntü dosyaları olarak taranmaktadırlar. Nokta yoğunlukları ölçülmekte ve görüntü dosyaları Feature Extraction yazılım programlarıyla nicel olarak değerlendirilmekte ve niceliksel analiz programından çıkan text dosyaları kopya sayısı analizleri için yazılım programlarına yüklenmektedir. Floresans yoğunluk oranları, referans ve hasta genomik DNA’larındaki DNA sekanslarının kopya sayısı ile orantılı çıkmaktadır. Bir prob üzerindeki floresans boya yoğunlukları eşit oluyorsa hasta DNA’sı ile referans DNA’nın eşit kantiteye sahip oldukları; eğer değişen bir Cy3:Cy5 oranı var ise hasta DNA’sının spesifik bir bölgesinde kayıp ya da kazanı varolduğu sonucu çıkarılmaktadır. Bu genomik dengesizlikler metafaz veya interfaz FISH analizleri, long-range ve kantitatif PZR metodları, özelleştirilmiş multipleks ligasyon prob amplifikasyonu (MLPA) deneyleri ve yüksek rezolüsyonlu diğer aCGH platformları gibi diğer sitogenetik ve moleküler metodlar ile valide edilebilmektedir.

Problar (hedefler); yapay bakteri kromozomları (BAC’lar), ya da P1 (PAC) klonları (75-200 kb boyutlarında) formlarında insan genomik DNA parçaları olabildiği gibi, kozmit (30-40 kb boyutlarında) ve fozmit (40-50 kb boyutlarında) veya oligonükleotid (25-85 mer) gibi daha küçük insört klonları olabilmektedir. Farklı aCGH platformlarının genomik çözünürlüğü, DNA probleminin aralık ve uzunlukları ile belirlenmektedir. Birçok klinik olarak eleverişli aCGH platformu; anöploidi, tanımlı mikrodelesyon veya mikroduplikasyon sendromları ve subtelomerik veya diğer dengesiz kromozomal düzenlenmeleri saptamak için tasarlanmış “targeted mikroarrayler”dir. Ayrıca hedeflerin 1 klon/Mb ya da 1klon/100 kb gibi olacak şekilde eşit aralıklarla genomu örttüğü tam-genom aCGH platformları da mevcuttur. Ticari tam-genom oligonükleotid arraylerinde 1 prob/6kb’den 1 prob/70 kb’ye kadar olanları mevcuttur. Bazı klinik açıdan elverişli

aCGH'ler BAC'ları taklit eden veya rastgele genomik sekansları hedef alan oligonükleotidlerden oluşmuştur. Ortalama BAC boyutundan daha küçük değişimleri değerlendirebilen "Focused" ya da tam-genom oligonükleotid arrayleri kullanmanın avantajı, yüksek rezolüsyon ve geliştirilmiş dinamik aralıktır (sinyal/gürültü oranı).

Test örneğinden (kan hücreleri, cilt hücreleri, fetal hücreler gibi) DNA izole edilmektedir. Kontrol (referans) örneği DNA'sı farklı bir floresans boya ile boyanırken test DNA'sı spesifik başka bir renkteki floresans boya ile boyanmaktadır. Test ve referans genomik DNA'ları birleştirilerek mikroarrayler üzerine uygulanmaktadır. DNA'lar denatüre edildikten sonra tek zincirli olduklarından dolayı, slide üzerine yayıldıklarında dizilenmiş tek zincirli probalar ile hibridize olmaktadır. Daha sonra, dijital görüntüleme sistemleri yardımıyla slide'ın bir resmi çekilmekte ve her bir hedefe hibridize olan işaretli DNA problemlerinin göreceli floresans şiddetleri ölçülmektedir. Test ve referans hibridizasyon sinyallerinin floresans oranı, genom boyunca farklı pozisyonlarda tanımlanır ve normal genoma göre test genomunda meydana gelen kopya sayısı değişimleri hakkında göreceli bilgi vermektedir. İnsan genomunun son sekanslanması ve genetik materyalin katı bir yüzeyde robotik olarak taranmasında kullanılan yüksek verimlilikteki metodların gelişimi benzeri görülmemiş bir düzeyde submikroskopik kromozomal delesyon ve duplikasyonlar tespitini kolaylaştırmaktadır (Schena *ve ark.*, 1995; Shaffer *ve ark.*, 2007).





Şekil 2.4. Array CGH: Tüm basamaklar ([http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Array-CGH\\_protocol.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Array-CGH_protocol.svg))

#### 2.4.2. aCGH Teknolojisinin Avantaj ve Dezavantajları

aCGH teknolojisinin primer avantajı, array üzerindeki temsili lokuslarda anöploidi, delesyon, duplikasyon ve/veya amplifikasyonları aynı anda tarayabilmesidir. Bu tekniğin kullanılmasıyla gerçekleştirilen bir deney binlerce FISH analizine eşdeğerdedir, aynı zamanda emek ve masraftan da tasarruf edilmektedir. Bunun yanı sıra, aCGH'in idiopatik mental retardasyon ve çeşitli doğum hasarları olan bireylerde submikroskopik kromozomal anomalilerin saptanmasında kullanılan güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır. Birçok geniş ölçekli çalışma, aCGH'in mental retardasyon /gelişim geriliği olan bireylerde kromozomal anomalileri 10%-20% oranında saptadığını göstermişlerdir. Bu anomalilerin yalnızca 3%-5% kadarı diğer yöntemlerle saptanabilmiştir (Shaffer ve ark., 2007).

aCGH'in temel dezavantajı, dengeli düzenlenmeleri saptayamamasıdır. Kopya sayısı varyasyonları (Copy Number Variation; CNV) ise aCGH'in şüphe uyandıran kısmıdır. CNV'ler fenotipik olarak normal bireylerde bulunmuştur ve genel populasyonda yüksek frekansta görülebilirler. CNV'ler çoğunlukla kalıtsaldır ve genomun önemli bir kısmını teşkil edebilirler. Tahmin ettiğimizden çok daha fazla CNV olduğu ve CNV'lerin çok daha sık görüldüğü düşünülmektedir. CNV'lerin nasıl genetik varyabiliteye neden olduğu da henüz kesinlik kazanmış değildir.

### **2.4.3. aCGH İle Spesifik Kromozomal Bölgelerin Çalışılması**

aCGH multiple anomalilerin aynı anda saptanmasını sağlayıp klasik sitogenetik metodlarına göre daha yüksek rezolüsyon sunduğundan dolayı araştırmacılar kromozomların belirli bölgelerindeki düzenlenmelere odaklanmışlardır. Son yıllarda, aCGH subtelomerik ve perisentromerik düzenlenmelerde oldukça kullanışlı olmaktadır.

Subtelomerik düzenlenmeler üzerine yapılan çalışmalar, aCGH'in insan genomunun kompleksliği hakkında beklenmedik oranda bilgi sunmuştur. 13, 14, 15, 21, 22. kromozomların kısa kolları ve subtelomerik bölgeler çalışmaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır, çünkü bu bölgeler gen bakımından oldukça zengindir (Saccone ve ark., 1992) ve birçok mekanizma tarafından yeniden düzenlenmeye meyillidir.

aCGH, her kromozomda tekrarlı sentromerik bölgelere doğrudan komşu olan perisentromerik bölgelerin yeniden düzenlenmelerini de saptamaya olanak tanımaktadır. Perisentromerik bölgeler instabiliteye meyillidiler, dolayısıyla Williams, DiGeorge ve Prader-Willi sendromlarına neden olanları gibi birçok mikrodelesyon bu bölgelerde gerçekleşmektedir. Yüksek derecede tekrarlı dizi içerdiklerinden ve klasik G-bantlama ile tanımlanmaları değişkenlik gösterdiğinden bu bölgelerin kromozom analizi ile değerlendirilmeleri oldukça zordur. Dizayn edilen yeni mikroarrayler sayesinde perisentromerik bölgelerdeki kopya sayısı değişimleri saptanabilmektedir.

### 3. GEREÇ-YÖNTEM

#### 3.1. Yöntem

Sözkonusu çalışma retrospektif olup, çalışmada yer alan hasta grubunu 2010-2012 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na rutin tanı amaçlı genetik inceleme için başta Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve çevre merkezlerden sevk edilen, 0-18 yaş arası 77 dismorfik bireyler oluşturmaktaydı. Herbir hastadan mor kapaklı EDTA'lı hemogram tüpüne yaklaşık 2 cc. periferik kan alındı ve kan materyalinin 400 uL kadarı aCGH çalışması için genomik DNA izolasyonunda kullanıldı. DNA izolasyonu sırasında DNeasy Blood&Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanıldı. DNA kalitesi agaroz jel elektroforezi ile kantitesi ise spektrofotometre (NanoDrop ND-1000; NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) kullanılarak tayin edildi. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH array) platformu olarak CytoChip Focus Constitutional (BlueGnome, Cambridge, U.K) kullanıldı. Yeterli kalite ve kantiteye sahip hasta DNA'sı ve referans DNA (Human Genomic DNA: Male/Female; Promega Corporation, Madison, USA) CytoChip protokolüne uygun olarak işaretlendi. İşaretlenen hasta DNA'sı ile referans DNA birleştirildi ve protokole uygun olarak CytoChip Focus Constitutional v. 1.1. mikroarray'ler ile 47°C'deki su banyosunda 16-21 saat boyunca hibridizasyona bırakıldı. Hibridizasyon süresi sonunda CytoChip protokolüne uygun olarak yıkanan mikroarray'ler, Agilent G2505B Mikroarray tarayıcı (Agilent Microarray Scanner; Agilent Technologies, Palo Alto, CA) ile tarandı ve BlueFuse v2.2 yazılımı (BlueGnome, Cambridge, U.K) kullanılarak analiz edildi.

Çalışmanın etik açıdan uygunluğu, Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu tarafından değerlendirildi ve onaylandı (KOU KAEEK 2012/58). Çalışmada yer alan hastalar şahsen olur veremeyecek bireyler olup, aydınlatılmış onam formları ebeveynleri tarafından imzalanmıştır.

##### 3.1.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler:

- QIGEN DNeasy Blood&Tissue Kit (50) Cat No:69504
- QIAGEN Proteinase K Cat No: 19133-10 mL

- MERCK Ethanol Absolute GR for analysis, 2.5 L Cat No: 1.009.832.500
  - % 80'lik etanol
  - AppliChem Water (Molecular biology grade), 500 mL CAS-No:7732-18-5
  - 1,5 mL'lik Eppendorf tüp
1. 1,5 mL'lik eppendorf tüpe 40 uL Proteinase K, 400 uL kan ve 400 uL Buffer AL pipetlendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi.
  2. Karışım, 56°C ısıtıcı blokta 10 dak. inkübe edildi.
  3. İnkübasyon sonrasında karışıma 400 uL absolute alkol eklendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi.
  4. Karışımın tümü DNeasy Mini Spin kolonuna eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi. ( Kolon karışımın tamamını almadığı takdirde işlem 2 kez tekrarlandı.)
  5. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı. Filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
  6. Filtreye 500 uL uL % 80'lik etanol eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
  7. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı ve filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
  8. Filtreye 500 uL AW1 eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
  9. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı, yeni bir collection tüp alındı.
  10. Filtreye 500 uL % 80'lik etanol eklendi ve 14 000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
  11. Toplanan sıvı atıldı. Tüp boş haliyle 20 000 g'de 3 dak. santrifüj edildi.
  12. Filtre 1,5 mL'lik eppendorf tüpü içine yerleştirildi ve 100 uL nuclease içermeyen su eklendi.
  13. Oda sıcaklığında 1 dak. inkübe edildi ve 10 000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.  
Filtre atıldı, eppendorf tüp içerisinde toplanan DNA -20°C'de muhafaza edildi.

### **3.1.2. DNA'ların Kantite ve Kalite Tayini**

DNA'nın kantitesi NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) cihazında DNA-50 opsiyonu kullanılarak yapıldı. DNA'ların 260/280 oranlarının 1,8 ve üzeri; 260/230 oranlarının ise 2,0 ve üzeri olmasına dikkat edildi.



Şekil.3.1. NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE)

DNA'ların kalite tayinleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla % 1'lik agaroz jel hazırlamak için 0.5 g agaroz tartılarak 50 ml 1×TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) içerisinde kaynatılarak çözüldü. Katılaşmayacak kadar soğutulmuş agaroz çözeltisi tarak ihtiva eden jel tablasına dökülerek jelin polimerleşmesi beklendi. Jel katılaştıktan sonra, tarak çıkarılarak içerisinde 1×TBE tamponu bulunan elektroforez tankı içerisine yerleştirildi. Jelin ilk kuyusuna DNA markır yüklendi. Jel elektroforez tankı güç kaynağına bağlandı ve jel 1 saat süre ile 100 Volt akım uygulanarak yürütüldü. DNA'ların, intakt olmasına dikkat edildi.

### 3.1.3. aCGH Metodu

#### Gerekli Malzemeler

- Fluorescent Labelling System (BlueGnome) İçerik: Reaction Buffer, Nuclease free water, primer solution, dCTP-labelling mix, Cy3 dCTP, Cy5 dCTP, Klenow enzyme, EDTA solution, DS hybridization buffer (15% dextran sulphate)
- AutoSeq G50 kolonları (BlueGnome)
- COT Human DNA (BlueGnome)
- CytoChip Focus mikroarray'leri 2x (BlueGnome)
- 22x22 mm lamel (Isolab)
- 25 ya da 50 pozisyonlu kapaklı lam kutusu
- Tween20 (Sigma)

- 20x SSC [pH 7.0] (250 mL için: 43,825 g NaCl+22,05 g Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O+ 250 mL deiyonize su )
- Referans DNA-Male (250 ng/uL) Promega
- Referans DNA-Female (250 ng/uL) Promega
- 400 ng hasta DNA'sı (100 ng/uL)
- 0,2 mL'lik PZR tüpü
- 1,5 mL'lik Eppendorf tüpleri
- 50 mL'lik Falcon tüpleri

### 3.1.3.1 DNA'nın İşaretlenmesi

1. İşaretleme mix'i Fluorescent Labelling System kullanılarak aşağıdaki tabloda belirtilen miktarlara göre hazırlandı.

İçerik	Cy3 işaretleme mix (1 reaksiyon için)	Cy5 işaretleme mix (1 reaksiyon için)
Reaction Buffer	10 uL	10 uL
Nuclease free water	19 uL	19 uL
primer solution	10 uL	10 uL
dCTP-labelling mix	5 uL	5 uL
Cy3 dCTP	1 uL	
Cy5 dCTP		1 uL
Toplam	45 uL	45 uL

1. 4 uL hasta DNA'sı (400 ng) ya da 4 uL referans DNA'sı (400 ng) ve 45 uL işaretleme mix'i 0,2 mL'lik PZR tüplerinde birleştirildi (Cy3 mix hasta DNA'sı ile, Cy5 mix referans DNA'sı ile birleştirilmeli).
2. Thermal cycler'da 5 dak 94°C'de, 5 dak 4°C'de inkübe edildi.
3. 1 uL Klenow enzimi eklenir ve 37°C'deki thermal cycler'da 16-20 sa inkübasyona bırakıldı.
4. İnkübasyon sonunda her bir reaksiyona 5 uL EDTA solüsyonu eklendi.

#### 3.1.3.1.1. DNA'nın Pürifikasyonu

1. Her bir tüpe 1,5 mL'lik Eppendorf tüp hazırlandı.
2. AutoSeq G50 kolonları, kapakları üzerinde vortekslendi.

3. Kapağı ¼ oranında çevirilerek 2 mL'lik collection tüplerine yerleştirildi ve 2000x g'de 1 dak. santrifüj edildi.
4. Her bir kolon 1,5 mL'lik Eppendorf tüplerine yerleştirildi ve kolonların tam ortasına işaretlenen DNA'lar pipetlendi.
5. Kapak ¼ oranında kapatıldı ve 2000 x g'de 1 dak. santrifüj edildi.
6. Kolonlar atıldı ve NanoDrop ND-1000 cihazında, DNA-50 opsiyonunda, 2 uL işaretli DNA ile kantite ölçümleri yapılır.

NanoDrop'ta pmol/uL ve ng/uL oranları dikkate alındı. Bu oranlar yardımıyla aşağıdaki değerler hesaplandı.

DNA verimi 180-325 ng/µl;

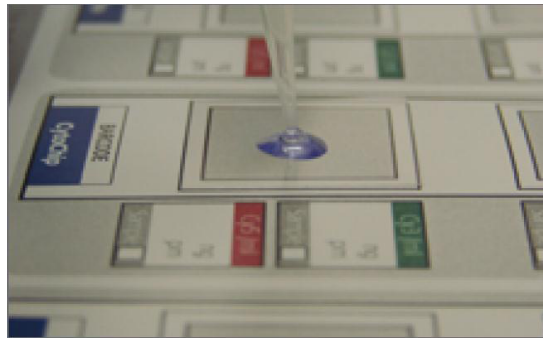
Dye inkorporasyonu 6-15 pmol/µl olmalıdır.

#### **3.1.3.1.2. Kombinasyon**

1. Her bir hasta DNA'sı ile referans DNA'sı aynı tüpte birleştirildi ve 25 uL COT Human DNA eklendi.
2. Tüpte yaklaşık 3 uL pellet kalacak şekilde 65°C'deki Speedvac cihazında yüksek vakumda santrifüj edildi.

#### **3.1.3.2 Hibridizasyon**

1. Süre sonunda işaretli DNA'lara daha önceden 75°C'de ısıtılmış 21 uL DS Hibridizasyon buffer eklendi.
2. DNA solüsyonları 75°C'de 10 dak boyunca denature edildi.
3. 18 uL DNA solüsyonu 22x22 mm'lik lameller üzerine pipetlendi (Şekil 3.2).



Şekil.3.2. DNA solüsyonlarının lameller üzerine pipetlenmesi

4. Üzerlerine hibridizasyon kalıp kağıdına göre CytoChip Focus mikroarray'leri barkodları aşağı bakacak şekilde yerleştirildi.
5. Mikroarray'ler, içerisinde 2XSSC/%50 Formamid (ile ıslatılmış kurutma kağıdı bulunan lam kutularına yerleştirildi (Şekil 3.3).
6. 47°C'deki su banyosunda 3-16 sa hibridizasyona bırakıldı.



Şekil.3.3. Mikroarray'lerin lam kutusuna yerleştirilmesi

### 3.1.3.3 Yıkama

1. Yıkama aşaması aşağıdaki koşullarda gerçekleştirildi.

Yıkama	Hacim	Sıcaklık	Süre	Karıştırma	Buffer
0	100 mL	Oda sıcaklığı	-	-	*2x SSC/0.05% Tween20 (Lamellerin mikroarray'lerden ayrılması)
1	400 mL	Oda sıcaklığı	10 dak	2.5 cm manyetik balık	*2x SSC/0.05% Tween20
2	400 mL	Oda sıcaklığı	10 dak	2.5 cm manyetik balık	**1xSSC
3	500 mL	60°C (Hybex Microsample Incubation System kullanılması önerilir)	5 dak	-	***0.1xSSC
4	400 mL	Oda sıcaklığı	1 dak	2.5 cm manyetik balık	***0.1xSSC



- \* 100 mL 20XSSC+0,5 mL Tween 20+ deiyonize su ile 1000 mL'ye tamamlanır
  - \*\* 25 mL 20XSSC+ deiyonize su ile 500 mL'ye tamamlanır
  - \*\*\* 5 mL 20XSSC+ deiyonize su ile 1000 mL'ye tamamlanır
2. Yıkama işlemi sonunda mikroarray'ler 50 mL'lik Falcon tüplerine konularak 170xg'de 3 dak boyunca santrifüjlenerek kurutuldu ve tarama işlemine geçildi.

### 3.1.3.4 Tarama

1. Mikroarray'ler barkod kısımları üste gelecek şekilde tarayıcı kasetlerine yerleştirildi.
2. Kasetler içerisindeki mikroarray'ler tarayıcı karuseline yerleştirildi.



Şekil.3.4. Mikroarray taşıyan kasetlerin tarayıcıya yerleştirilmesi

3. Agilent Scan Control programı açılarak aşağıdaki ayarlar yapıldı ve tarama işlemi başlatıldı.

Tarama alanı (Scan Region)	X pos: 15mm Y pos: 3 mm Width: 52 mm Height: 19,50 mm
Channels (Kanallar)	Red&Green
Resolution (Rezolüsyon)	10 um
TIFF	16 bit
PMT	%100



Şekil.3.5. Agilent Mikroarray Tarayıcısı G2505B Modeli

### 3.1.3.5 Veri Analizi

Tarama sonunda elde edilen TIFF dosyaları BlueGnome'un Imageviewer programına yüklendi. Bu program yardımıyla iki hastaya ait bilgiyi içeren tek görüntü, herbiri farklı hastaya ait bilgiyi içeren iki ayrı görüntü haline getirildi. Her bir görüntü analiz edilmek üzere BluGnome'un BlueFuse Multi v2.2 yazılımına (BlueGnome, Cambridge, U.K) yüklendi. Görüntüler, programa üzerinde herhangi bir değişiklik yapılamayacak şekilde entegre edilmiş CytoChip algoritmaları yardımıyla delesyon ve duplikasyon açısından analiz edildi.

### 3.1.3.5.1 BlueGnome CytoChip Constitutional array'lerin özellikleri

BlueGnome CytoChip Constitutional array'leri hastalık odaklı mikroarray'lerdir. Hastalıklara ilişkin bölgeler, son yayınlardan ve OMIM veritabanından yararlanarak seçilmiştir. Array'ler 97 OMIM hastalığı işe ilgili bilgi sunmakta ve 143 hastalık ilişkili gen içermektedir. Her bir gen 3'er prob ile temsil edilmektedir.

Çizelge 3.1. BlueGnome CytoChip Constitutional array'lerinde yeralan, bilinen hastalıklarla ilişkili gen ya da lokusları göstermektedir.

Çizelge 3.1. BlueGnome CytoChip Constitutional array'lerinde yeralan lokuslar

HASTALIK	OMIM	LOKUS	SİTOBAND
1p36 DELETION SYNDROME	607872	P21127-10	1p36.33
1q21.1 DELETION SYNDROME, 1.35-MB	612474	N/A	1q21.1
3q29 MICRODELETION SYNDROME	609425	DLG1, PAK2	3q29
15q13.3 MICRODELETION SYNDROME	612001	N/A	15q13.2-q13.3
17q21.31 MICRODELETION SYNDROME	610443	CRHR1, MAPT	17q21.31
22q11.2 DELETION SYNDROME, DISTAL	611867	N/A	22q11.21-q11.23
22q13.3 DELETION SYNDROME	606232	SHANK3	22q13.33
ADENOMATOUS POLYPOSIS OF THE COLON; APC	175100	APC	5q22.2
ADRENAL HYPOPLASIA, CONGENITAL; AHC	300200	NROB1	Xp21.2
ALAGILLE SYNDROME 1; ALGS1	118450	JAG1	20p12.2
		UBE3A	15q11.2
		ATP10A	15q12
ANGELMAN SYNDROME; AS	105830	MECP2	Xq28
ANIRIDIA; AN	106210	PAX6	11p13
		N/A	16p11.2
AUTISM	209850	RPL10	Xq28
AUTISM, X-LINKED, SUSCEPTIBILITY TO, 2	300495	NLGN4X	Xp22.31-p22.32
AUTISM, X-LINKED, SUSCEPTIBILITY TO, 1	300425	NLGN3	Xq13.1
AUTISM, X-LINKED, SUSCEPTIBILITY TO, 3	300496	MECP2	Xq28
BASAL CELL NEVUS SYNDROME; BCNS	109400	PTCH1	9q22.32
		NSD1	5q35.2-q35.3
		H19, IGF2	11p15.5
		KCNQ1	11p15.4-p15.5
BECKWITH-WIEDEMANN SYNDROME; BWS	130650	CDKN1C	11p15.4
BRACHYDACTYLY-MENTAL RETARDATION SYNDROME; BDMR	600430	Z51342	2q37.3
BRANCHIOOTORENAL SYNDROME 1; BORI	113650	EYA1	8q13.3
BRUTON AGAMMAGLOBULINEMIA TYROSINE KINASE; BTK	300300	BTK	Xq22.1
BUSCHKE-OLLENDORFF SYNDROME	166700	N/A	12q14.2-q15
CAMPOMELIC DYSPLASIA	114290	SOX9	17q24.3
		CECR5, CECR1,	22q11.1
CAT EYE SYNDROME; CES	115470	CECR6	
CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE, DEMYELINATING, TYPE 1A; CMT1A	118220	PMP22	17p12
CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE, X-LINKED, 1; CMTX1	302800	GJB1	Xq13.1

CHARGE SYNDROME	214800	CHD7	8q12.2	
CLEIDOCRANIAL DYSPLASIA; CCD	119600	RUNX2	6p12.3	
CORNELIA DE LANGE SYNDROME 1; CDLS1	122470	NIPBL	5p13.2	
CRI-DU-CHAT SYNDROME	123450	TERT	5p15.33	
		Z23908	5p15.2	
DANDY-WALKER SYNDROME; DWS	220200	ZIC1, ZIC4	3q24	
DIAPHRAGMATIC HERNIA, CONGENITAL	142340	CHD2	15q26.1	
		NR2F2	15q26.2	
DIGEORGE SYNDROME/VELOCARDIOFACIAL SYNDROME SPECTRUM OF MALFORMATION 2	601362	D10S293	10p14	
		NEBL	10p12.31	
DIGEORGE SYNDROME; DGS	188400	HIRA, TBX1	22q11.21	
DOSAGE-SENSITIVE SEX REVERSAL; DSS	300018	NR0B1	Xp21.2	
DOWN SYNDROME	190685	BSCR2	21q22.2	
		GATA1	Xp11.23	
FEINGOLD SYNDROME	164280	MYCN	2p24.3	
FRAGILE X MENTAL RETARDATION SYNDROME	300624	FMR1	Xq27.3	
GREIG CEPHALOPOLYSYNDACTYLY SYNDROME; GCPS	175700	GLI3	7p14.1	
HETEROTAXY, VISCERAL, 1, X-LINKED; HTX1	306955	ZIC3	Xq26.3	
HIRSCHSPRUNG DISEASE, SUSCEPTIBILITY TO, 1; HSCR1	142623	RET2	10q11.21	
HOLOPROSEPHALY	236100	TMEM1	21q22.3	
HOLOPROSEPHALY 2; HPE2	157170	SIX3	2p21	
HOLOPROSEPHALY 3; HPE3	142945	SHH	7q36.3	
HOLOPROSEPHALY 4; HPE4	142946	TGIF1	18p11.31	
HOLOPROSEPHALY 5; HPE5	609637	ZIC2	13q32.3	
HOLT-ORAM SYNDROME; HOS	142900	TBX52, TBX32	12q24.21	
HYPERGLYCEROLEMIA	307030	GK3P	Xp21.2	
HYPOPARATHYROIDISM, SENSORINEURAL DEAFNESS, AND RENAL DISEASE	146255	GATA3	10p14	
ICHTHYOSIS, X-LINKED; XLI	308100	STS	Xp22.31	
JACOBSEN SYNDROME; JBS	147791	N/A	11q23.1-q24.1	
JOHANSON-BLIZZARD SYNDROME; JBS	243800	UBR1	15q15.2	
JOUBERT SYNDROME 4; JBTS4	609583	NPHP1	2q13	
KABUKI SYNDROME	147920	N/A	8p22	
KALLMANN SYNDROME 1; KALI	308700	KALI	Xp22.31	
LERI-WEILL DYSCHONDROSTEOSIS; LWD	127300	SHOX1	Xp22.33	
LISSENCEPHALY, X-LINKED, 1; LISX1	300067	DCX	Xq22.3-q23	
MENTAL RETARDATION, X-LINKED, WITH PANHYPOPHYTARISM	300123	SOX3	Xq27.1	
METACHROMATIC LEUKODYSTROPHY	250100	ARSA	22q13.33	
MICROPTHALMIA, SYNDROMIC 7; MCOPS7	309801	HCCS, ARHGAP6	Xp22.2	
MILLER-DIEKER LISSENCEPHALY SYNDROME; MDLS	247200	PAFAH1B1, YWHAE,	17p13.3	
		HIC1		
		NDUFS2		1q23.3
		NDUFS1		2q33.3
		NDUFS6		5p15.33
		NDUFS4		5q11.2
		NDUFA12L		5q12.1
		PTPMT1		11p11.2
MITOCHONDRIAL COMPLEX I DEFICIENCY	252010	NDUFS8, NDUFV1	11q13.2	
		NDUFV2	18p11.22	
MUSCULAR DYSTROPHY, BECKER TYPE; BMD	300376	NDUFS7	19p13.3	
		DMD	Xp21.1-p21.2	
MUSCULAR DYSTROPHY, DUCHENNE TYPE; DMD	310200	DXS7	Xp11.3	
MUSCULAR DYSTROPHY, DUCHENNE TYPE; DMD	310200	DMD	Xp21.1-p21.2	
NAIL-PATELLA SYNDROME; NPS	161200	LMX1B	9q33.3	

NEPHRONOPHTHISIS 1; NPHP1	256100	NPHP1	2q13
NEUROFIBROMATOSIS, TYPE I; NF1	162200	NF1	17q11.2
NEUROFIBROMATOSIS, TYPE II; NF2	101000	NF2	22q12.2
NEUROPATHY, HEREDITARY, WITH LIABILITY TO PRESSURE PALSIES; HNPP	162500	PMP22	17p12
NOONAN SYNDROME 1; NS1	163950	PTPN11	12q24.13
PELIZAEUS-MERZBACHER DISEASE; PMD	312080	PLP1	Xq22.2
POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE, INFANTILE SEVERE, WITH TUBEROUS SCLEROSIS; PKDTS	600273	PKD1	16p13.3
POTOCKI-LUPSKI SYNDROME; PTL5	610883	RAI1, MFAP4, FLII	17p11.2
POTOCKI-SHAFFER SYNDROME	601224	ALX4, EXT2	11p11.2
PRADER-WILLI SYNDROME; PWS	176270	SIM1	6q16.3
PRADER-WILLI SYNDROME; PWS	176270	SNRPN, NDN	15q11.2
RETINOBLASTOMA; RB1	180200	RB1	13q14.2
RETT SYNDROME; RTT	312750	CDKL5	Xp22.13
		MECP2	Xq28
RIEGER SYNDROME, TYPE 1; RIEG1	180500	PITX2	4q25
RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME; RSTS	180849	CREBBP	16p13.3
SAETHRE-CHOTZEN SYNDROME; SCS	101400	TWIST1	7p21.1
SEX-DETERMINING REGION Y; SRY	480000	SRY	Yp11.31
SMITH-MAGENIS SYNDROME; SMS	182290	RAI1, MFAP4, FLII	17p11.2
SOTOS SYNDROME	117550	NSD1	5q35.2-q35.3
SPERMATOGENIC FAILURE, NONOBSTRUCTIVE, Y-LINKED	415000	USP9Y, UTY	Yq11.21
		CDY2B1	Yq11.221
		JARID1D	Yq11.222
		NR_001537,	Yq11.223
		DAZ31, DAZ11,	
		DAZ21	
SPLIT-HAND/FOOT MALFORMATION 1; SHFM1	183600	SHFM1	7q21.3
SPLIT-HAND/FOOT MALFORMATION 3; SHFM3	600095	FBXW4	10q24.32
SPLIT-HAND/FOOT MALFORMATION 4; SHFM4	605289	TP63	3q28
SPLIT-HAND/FOOT MALFORMATION 5; SHFM5	606708	DLX1, EVX2	2q31.1
SYNPOLYDACTYLY 1; SPD1	186000	HOXD13	2q31.1
TOWNES-BROCKS SYNDROME; TBS	107480	SALL1	16q12.1
TRICHORHINOPHALANGEAL SYNDROME, TYPE I; TRPS1	190350	TRPS1	8q23.3
TRICHORHINOPHALANGEAL SYNDROME, TYPE II; TRPS2	150230	TRPS1	8q23.3
		EXT1	8q24.11
TUBEROUS SCLEROSIS; TS	191100	TSC1	9q34.13
		TSC2	16p13.3
VELOCARDIOFACIAL SYNDROME	192430	ARVCF, TBX1	22q11.21
WILLIAMS-BEUREN REGION DUPLICATION SYNDROME	609757	N/A	7q11.23
WILLIAMS-BEUREN SYNDROME; WBS	194050	GTF2IRD1,	7q11.23
		MLXIPL, BAZ1B,	
		ELN, RFC2,	
		WBSCR22, FKBP6,	
		GTF2I, LAT2,	
		BCL7B, TBL2,	
		CLIP2, EIF4H,	
		LIMK1, WBSCR27,	
WBSCR16, FZD9,			
WILMS TUMOR 1; WT1	194070	WT1	11p13
WILMS TUMOR, ANIRIDIA, GENITOURINARY ANOMALIES, AND MENTAL RETARDATION	194072	PAX6	11p13
WOLF-HIRSCHHORN SYNDROME; WHS	194190	WHSC1	4p16.3

X INACTIVATION-SPECIFIC TRANSCRIPT; XIST	314670	MSX1 XIST2	4p16.2 Xq13.2
--	--------	---------------	------------------

### 3.1.4 Postnatal Kromozom Analizi

#### 3.1.4.1 Periferik Lenfosit Kültürü

##### Kültür

- Hastadan yaklaşık 3cc heparinize kan alınır.
- Her hasta için 2 tüp hazırlanır.
- Bu tüplere 12 damla hasta kanı, 5cc besiyeri eklenir.
- Tüpler 37°C'lik etüvde 72 saat inkübe edilir.
- Tüplere 70. saatte 0,2cc kolsemid eklenir ve 2 saat daha inkübasyona devam edilir.
- 72. Saatte tüpler etüvden alınıp 1300 rpm'de 8 dk. santrifüj edilir.
- Santrifüj işleminden sonra supernatant atılır. Vorteksle, tüplerin üzerine 7ml'e kadar KCL damla damla eklenir.
- Tüpler 40 dk. Etüve kaldırılır.
- Etüvden çıkarılan tüplere 1'er cc fixatif, enjektörle damlatılarak pipetaj yapılır.
- Tüpler santrifüje koyulur.
- Supernatant pasteur pipetiyle 2ml'ye kadar çekilip boşaltılır. Pellet kısmına zarar vermemeye özen gösterilir.
- Vorteksle , tüplerin üzerine 5ml'ye kadar fiksatif damla damla eklenir.
- Tüpler +4 °C'de 15dk. bekletilir.
- Buzdolabından çıkarılan tüpler 1300rpm'de 8 dk. Santrifüj edilir.
- Supernatant atılır. Fiksatifle 5ml'e kadar vortekslenerek damlatılır.
- Tüpler berraklaşınca kadar yıkama işlemine devam edilir.

##### Preparasyon

- Yayılacak olan tüpler 2 kez yıkanır.
- Tüplerdeki pellet durumuna göre, genellikle 2cc'ye kadar çekilip boşaltılır ve pipetaj yapılır
- Her hasta için her tüpten 2'şer slayt yayılır.
- Slaytların iki tanesi önce buhara tutulup sonra yüksekte 6-7 damla materyal damlatılır.
- 2 slayt ise bire bir oranında hazırlanmış olan ters fiksatif damlatılıp daha sonra materyal yüksekte damlatılır.

- Slaytlar dikey bir şekilde kurumaya bırakılır.
- Kuruyan slaytlar tepsiye dizilerek yaşlandırılır

### **Boyama**

- Birine PBS, ikincisine PBS ile sulandırılmış tripsin, ve diğerine de gurr buffer-leishman solusyonu konmak üzere 3 beher hazırlanır.
- Farklı hastalardan alınan 2 slayt önce tripsine(1-2sn) sonra PBS'e daldırılıp çalkalanır ve çıkartılır. Daha sonra 2-3 dk. boyada bekletilir.
- Distile su ile boya uzaklaştırılır.
- Slaytlar kuruduktan sonra mikroskop altında bant ve boya kontrolü yapılır.

### **3.1.4.2 Kromozom analizi**

Her hasta başına en az 20 metafaz Cytovision kromozom analiz programında işlenerek değerlendirilir. ISCN 2008'e göre raporlandırılır.

### **3.1.5 FISH yöntemi**

#### **3.1.5.1 Prehibridizasyon**

- FISH uygunlanacak hastaya ait pelletten 5-6 damla slayta damlatılır.

#### **3.1.5.2 Denaturasyon**

- 1µl prob,12 µl hibridizasyon solüsyonu,1 µl COT-1 DNA karışımının tamamı slayta damlatılır.
- Slaytın üzeri lamelle kapatılıp rubber solüsyonu ile etrafı kaplanır.
- 5 dk 75 °C'de denature edilir.

#### **3.1.5.3 Hibridizasyon**

- 16 saat 37 °C'de inkübe edilir.

#### **3.1.5.4 Posthibridizasyon**

- Slaytın üzerindeki lamel kaldırılır.
- 45sn 72 °C'lik 0,4XSSC solüsyonu ile muamele edilir.
- 30sn oda sıcaklığındaki 2XSSC solüsyonunda bekletilir.
- Slaytlar tam kurumadan, Vectashield ve DAPI karışımı slayta uygulanır.
- Lamelle kapatılarak -20 °C'ye kaldırılır.

#### **3.1.5.5 Analiz**

- Floresan mikroskopunda, kullanılan probun özelliğine uygun filtrelerde analiz yapılarak sinyal paternleri değerlendirilir.

### 3.1.6 Postnatal kromozom analizinde kullanılan solüsyonlar

#### Besiyeri Hazırlama

- HAM's besiyerinin içine
- 20 ml Fetal bovine serum
- 4 ml fitohemaglutinin,
- 2ml penisilin
- 3ml L-glutamin eklenir.

#### KCl Hazırlama

- 1,1 g. KCL
- 0.2 g. C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub> (trisodyumsitratdehidrat)
- 300 ml distile suyla hazırlanır.

#### Fiksatif

- 3 birim metanol
- 1 birim asetik asit
- Taze olarak kullanılmalıdır.

#### Tripsin

- 0.02-0.04 (ideal olan 0.03 g.) hassas tartı ile tartılır. Güncel olan 0,1g tripsin
- Üzerine 50 ml PBS eklenir.
- Mezure hazırlanır.

#### Gurr buffer

- 1000 ml distile su
- 1 tablet Gurr Buffer
- Erimesi için magnetik karıştırıcıda karıştırılır.

#### PBS

- 8g NaCl
- 0.2g KCL
- 1.14 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>



- 0.2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- Distile su ile 1000ml ye tamamlanır

### **Leishman**

Stok Boya;

- 800 mg leishman
- 400 ml metanol
- Magnetik karıştırıcı 70 °C ye ayarlanır
- 750-1000 rpm devirde tüm gece kapağı tam kapatılmadan döner.
- Boya hazırlanan şişe ışık almaması için alüminyum folyo ile kapatılır.

Boyama işleminde kullanılacak olan boya;

- 1Birim stok boya(40ml)
- 4Birim GURR Buffer (160ml)
- Boyama kutusuna hazırlanır.

### **3.1.7 FISH tekniğinde kullanılan solüsyonlar**

#### **20XSSC**

- 175,3 g NaCl
- 88,2g Sodyum Sitrata
- Distile su ile 1000ml'ye tamamlanır.

#### **2XSSC**

- 10ml 20XSSC
- 90ml distile su

#### **0,4XSSC**

- 2ml 20XSSC
- 98ml distile su

#### 4. BULGULAR

Bu çalışmada, dismorfik bulguları (majör ya da minör anomaliler) olan ve etiyojisinde kromozomal anomali olduğu düşünölen 49 erkek( %64,1), 28 kız(%35.9) olmak üzere toplam 77 hasta 1 Mb rezolösyonundaki BAC tabanlı array CGH ile değerlendirildi. Herbir hastanın DNA'sı işaretlenip "normal" referans DNA ile hibritlendi.

Yapılan array CGH deneyleri sonucunda 18 hastada (%24.4), 19 farklı kromozomal anomali saptandı. Bu anomalilerden 8'ini duplikasyonlar, 11'ini delesyonlar oluşturmaktaydı. Delesyonlar 5p, 6q, 8p, 9p, 10q, 13q, 15q, 21q, 22q bölgelerinde; duplikasyonlar ise 1q, 2q, 5p, 7q, 13q, 21q, Xp bölgelerinde bulunmaktaydı. Bu anomalilerden 13'ü 5 Mb'dan büyük, 6'sı ise 5 Mb'dan küçüktü. Anomalilerden en küçüğü 1,786,458 bç uzunluğunda, en büyüğü ise 63,160,941 bç uzunluğundaydı. Bu 18 hastadan 2'sinde (70 ve 79 No'lu hastalar) başlangıçları aynı fakat bitişleri farklı olan (9)(p24.3p22.3) delesyonu saptandı.

Saptanan tüm kromozomal anomalilere ait array CGH profilleri Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

Parental kromozom analizi yapılabilen 6 hastanın 4'ünde de novo kromozomal anomali saptandı. Çalışmadaki 74 No'lu hastanın 5p bölgesinde saptanan delesyon ve duplikasyonların; 83 No'lu hastanın 7q bölgesinde saptanan duplikasyon ve 8p bölgesinde saptanan delesyonun paternal kaynaklı olduğu bulundu.

Çalışmamızda yer alan 77 hastanın 32'sine kromozom analizi de yapılmıştır. Bu 32 hastanın 13'ünde (% 40,6) kromozom analizi sonucu aberasyonlar bulunmuş, 19'unda (%59,4) ise kromozom analizi ile herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır. Kromozom analizi yapılan 32 hastanın 3'ünde (71, 83, 84 No'lu hastalar) (%9.4) kromozom analizinin saptayamadığı kromozomal anomaliler bulunmuştur. Kromozom analizi sonucu 46,XX,ins (6;3)(q23;q27q21?) karyotipi saptanan 46 No'lu hastada array CGH sonucu herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır. Kromozom analizinde normal karyotip saptanan 19 hastanın 1'inde (84 No'lu hasta) (% 5,3) array CGH ile submikroskopik 8p23.1 delesyonu saptanmıştır.

Bu hastalardan 1 No'lu hastanın karyotip sonucu 48,XX,+21,+mar bulunmuş, fakat yapılan array CGH analizleri sonucunda yalnızca 21. kromozom üzerindeki duplikasyon görülebilmiş, marker'ın ne olduğu belirlenememiştir.

Down sendromu şüphesiyle laboratuvarımıza gelen ve karyotipi 46,XY,inv(9)(p11q13) olan 71 numaralı hastada yapılan array CGH analizleri sonucunda kromozom analizi ile görülen inversiyon saptanamamış, ancak 22q11.21q11.23 bölgesinde 4,727,892 bç büyüklüğünde delesyon saptanmıştır. DiGeorge N25 FISH probu (Cytocell 22q11.2 bölgesi) ile yapılan verifikasyon çalışmalarında delesyon görülememiştir.

Karyotipi 46,XX,del(13)(q14-q31.?) olan 76 No'lu hastanın array CGH sonucunda delesyon bölgeleri [(13)(q14.2q31.3)] net olarak belirlenebilmiştir.

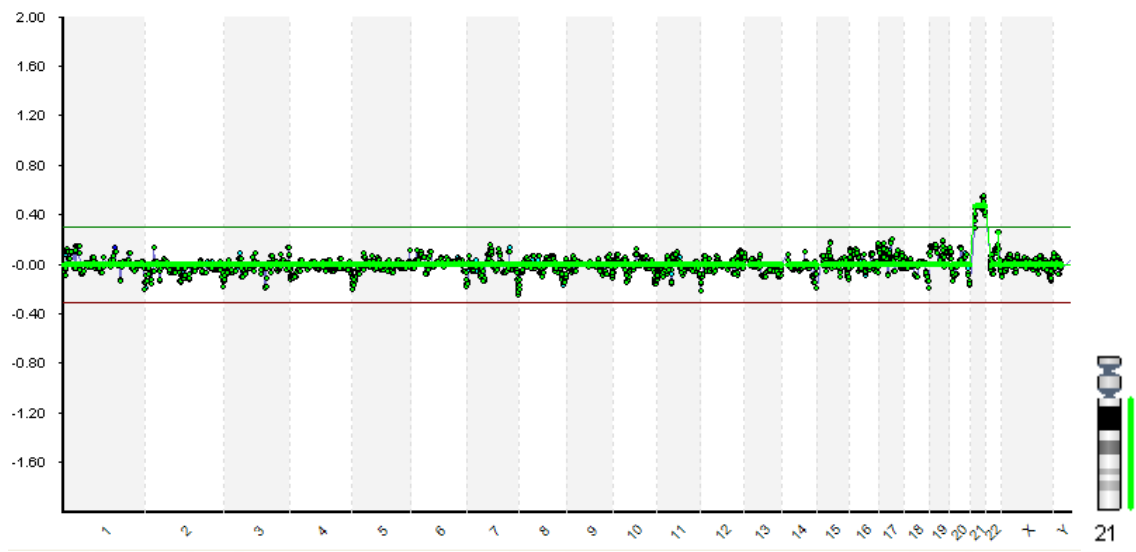
Ring kromozomu olan 46,XY,r(21)(pter;q22) karyotipli 77 No'lu hastanın kayba uğrayan belli başlıca genlerinin (21)(q22.2q22.3) bölgesindeki TMPRSS3, CBS, CRYAA, CSTB, AIRE, ITGB2, COL18A1, COL6A1, COL6A2, FTCD, PCNT olduğu saptanmıştır.

Mozaik 45,XY,-13[17]/46,XY,rec(13)(dup)(13)(q31)r(13)(q11q34)[83] karyotipine sahip 80 No'lu hastada array CGH sonucunda (13)(q31.1q34) duplikasyonu saptanmış, 13. kromozoma ait herhangi bir delesyona rastlanmamıştır.

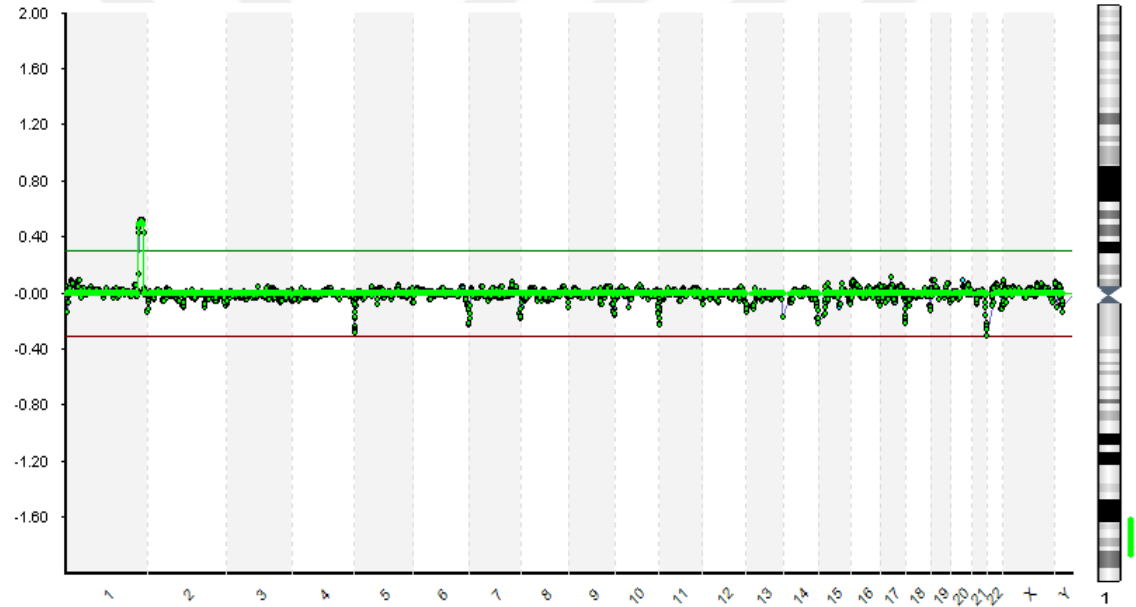
Karyotipi 46,XX,add8(p22→pter) olan 83 No'lu hastada gerçekleştirilen array CGH, karyotipi açıklayan (7)(q31.31q36.3) bölgesinde duplikasyon, (8)(p23.3p23.2) bölgesinde ise delesyon saptanmıştır.

Çalışmada yer alan 77 hastaya ait genotip ve fenotip bulguları Çizelge 4.1'de özetlenmektedir. array CGH ile saptanan kromozomal anomalilere ait detaylı bilgi ise Çizelge 4.2'de belirtilmektedir.

A. Hasta No:1 [dup(21q11.2q22.3)]

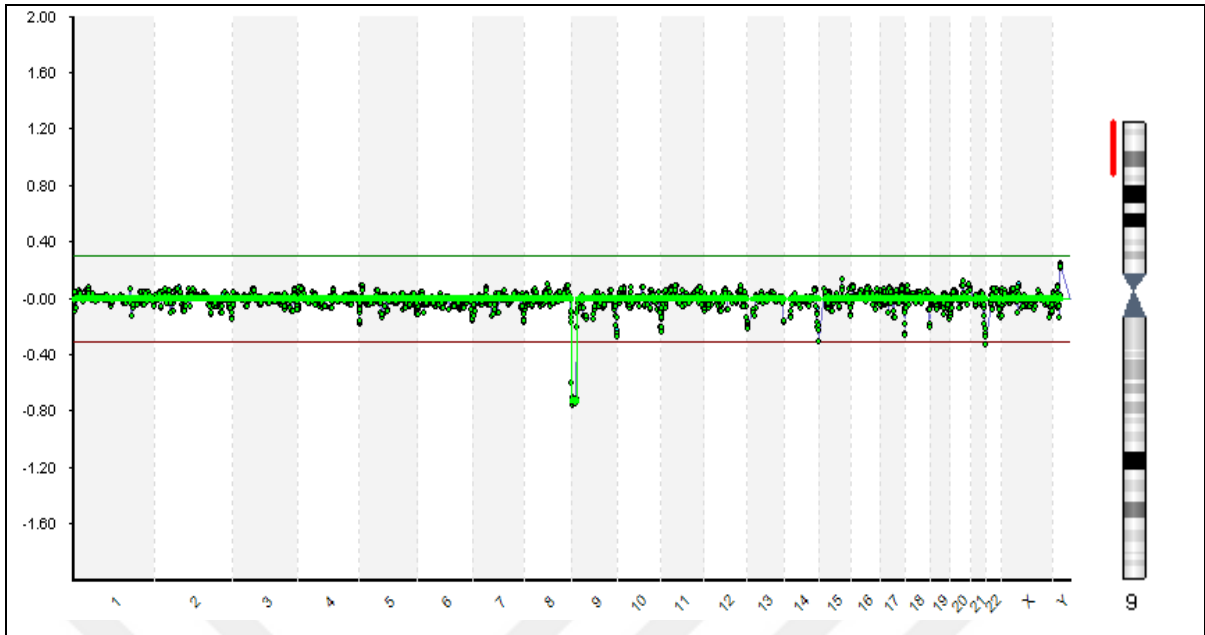


B. Hasta No:69 [dup(1)(q41q43)]

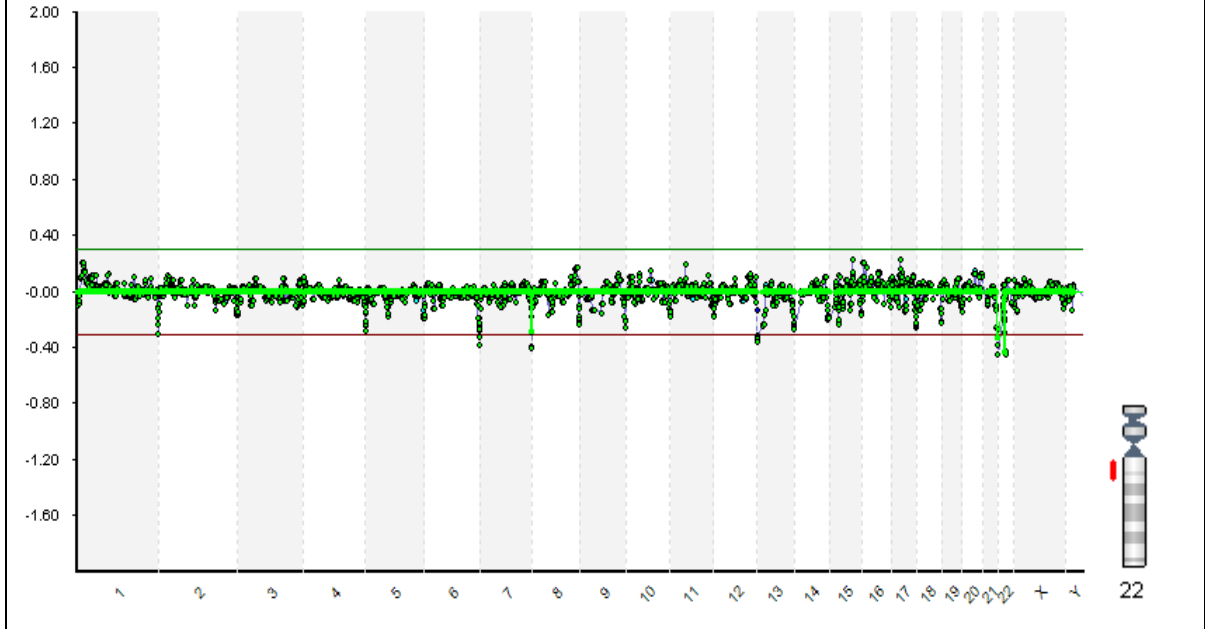


C. Hasta No:70 [del(9)(p24.3p22.3)]

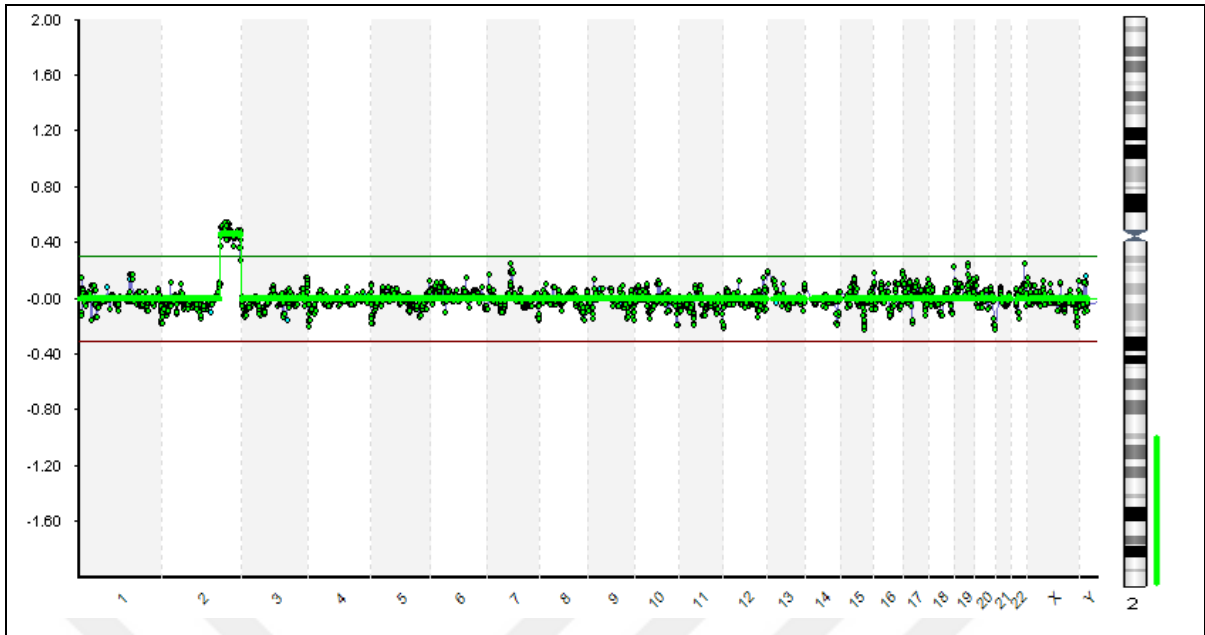




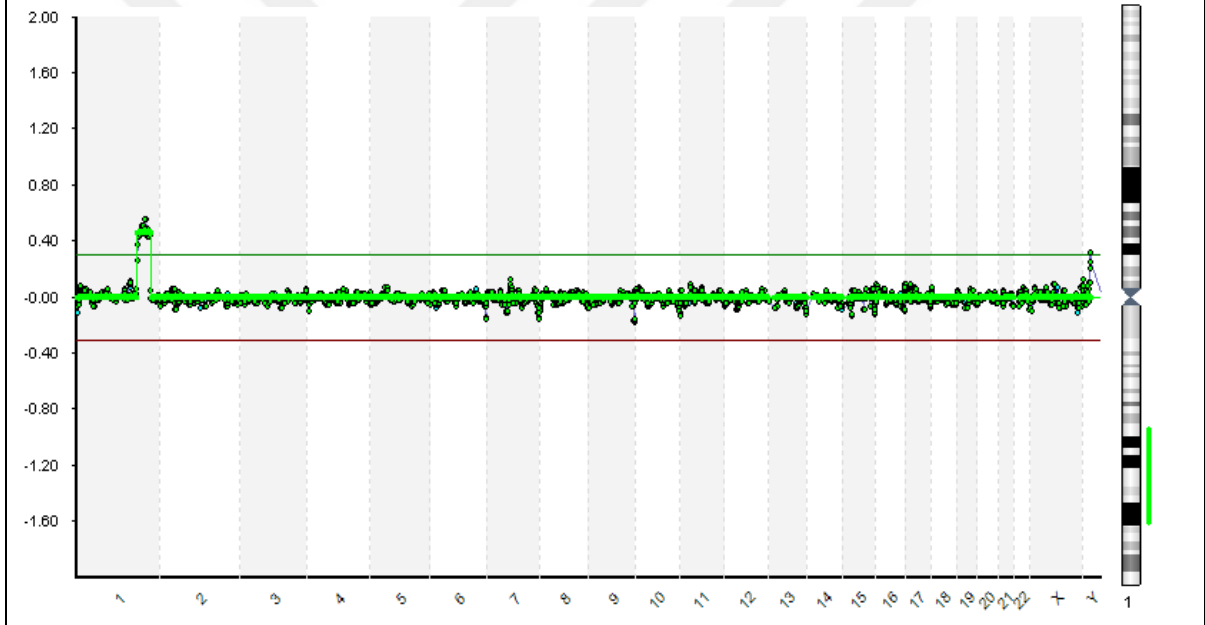
D. Hasta No:71 [del(22)(q11.21q11.23)]



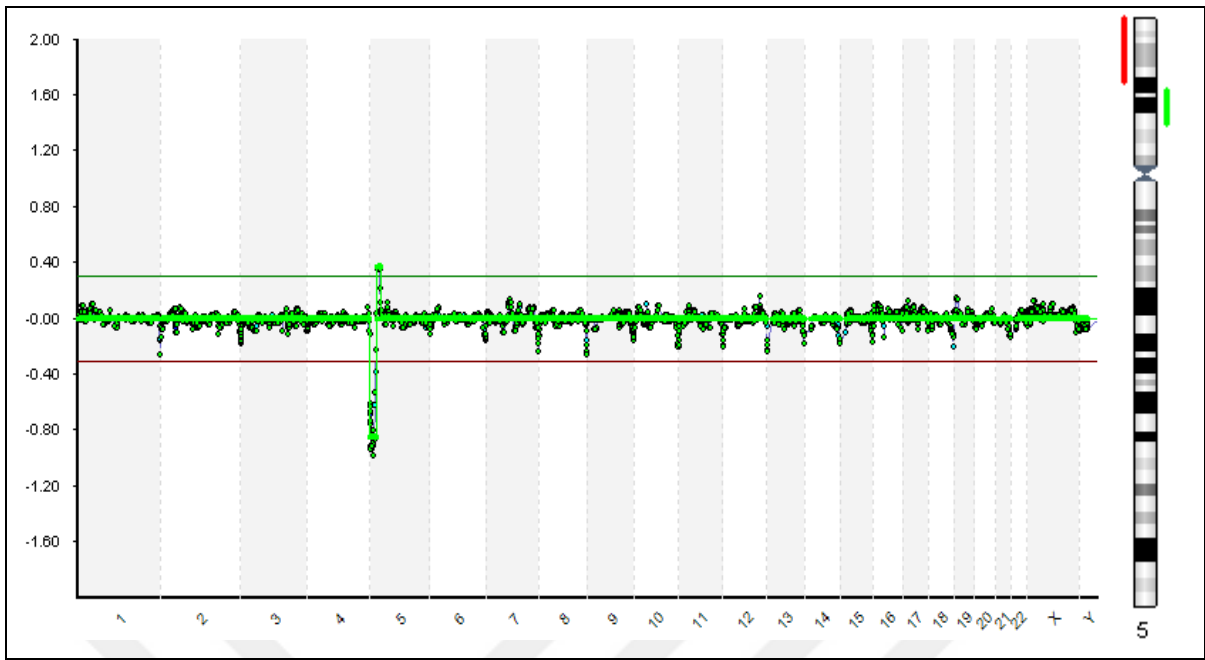
E. Hasta No:72 [dup(2)(q31.2q37.3)]



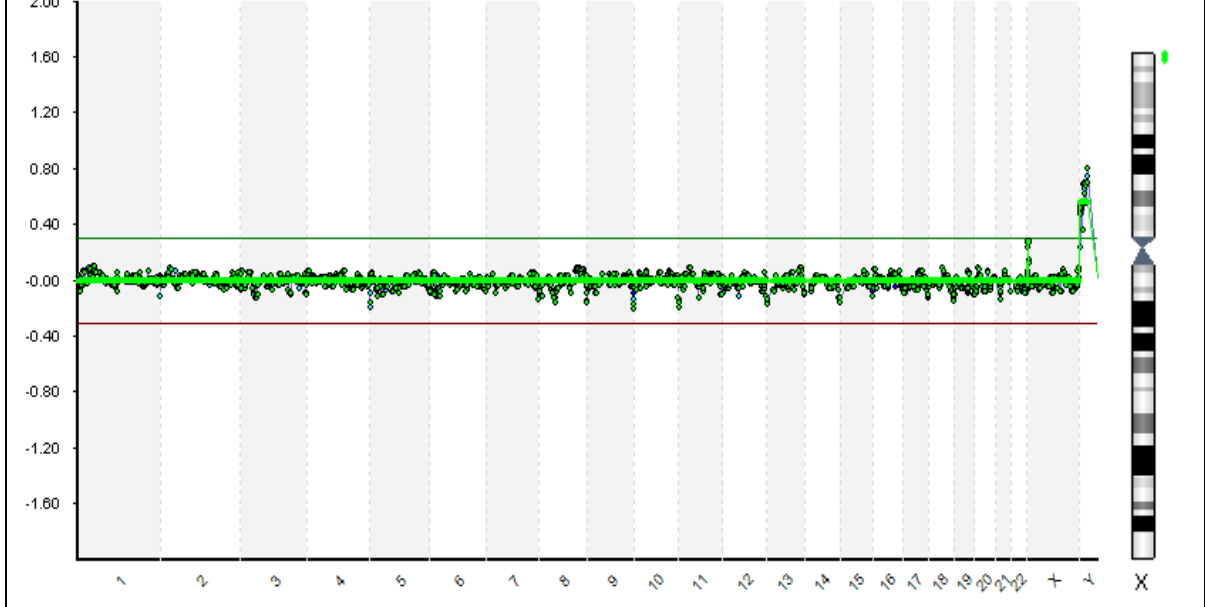
F. Hasta No:73 [dup(1)(q25.3q42.11)]



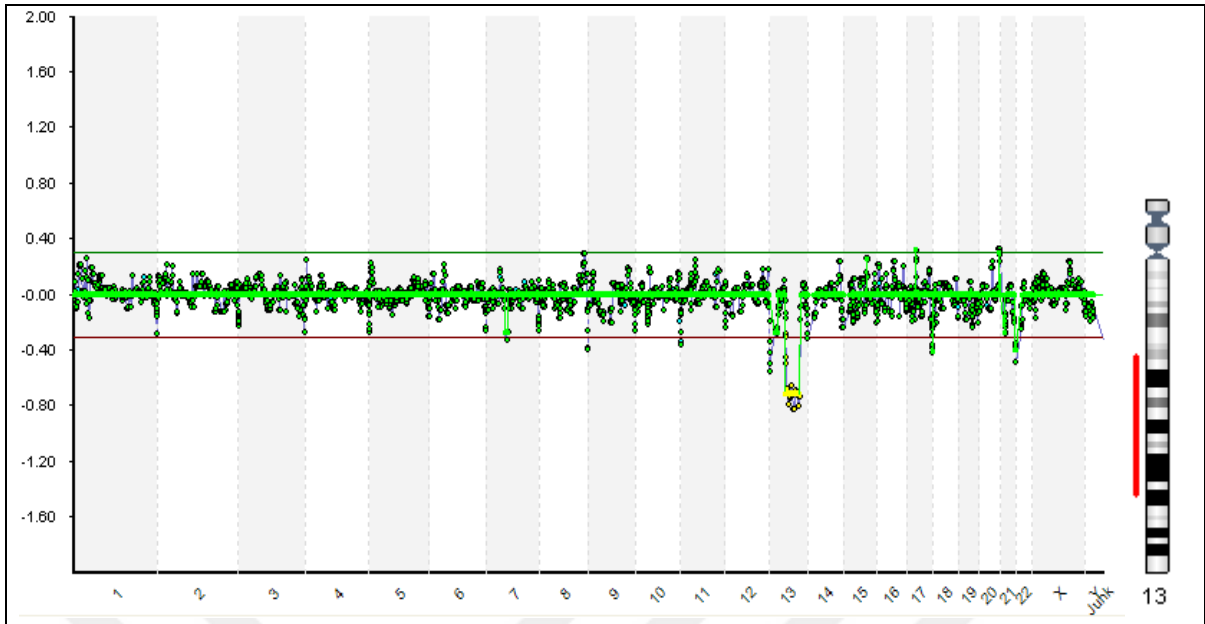
G. Hasta No:74 [del(5)(p15.33p14.3), dup(5)(p14.3p13.3)]



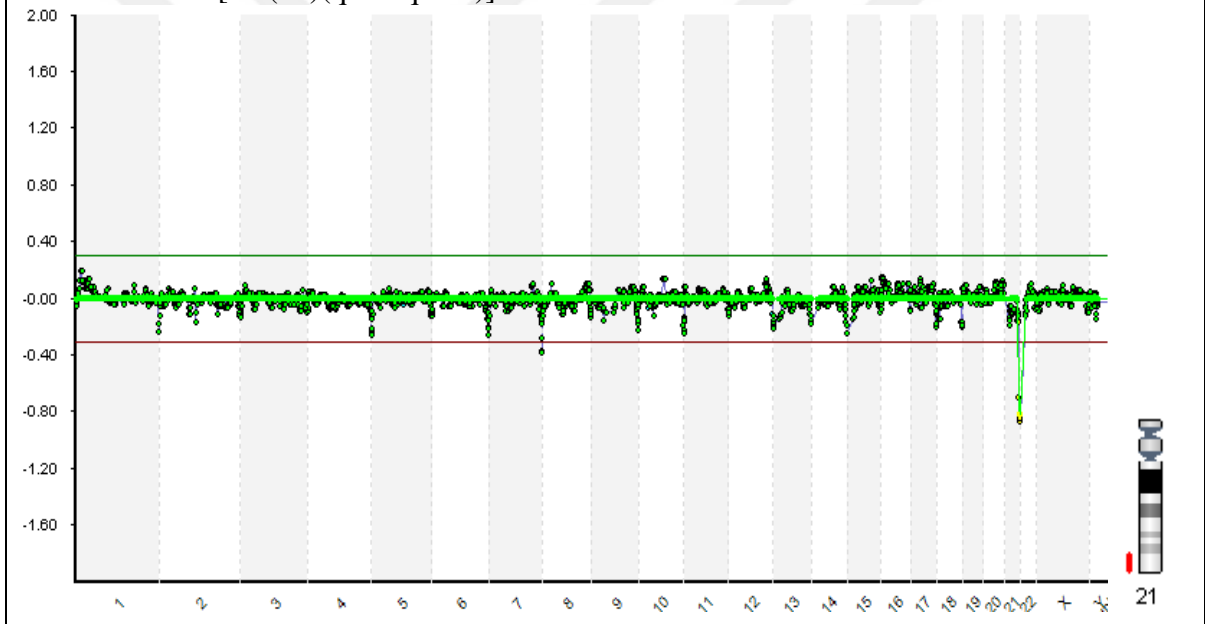
H. Hasta No:75 [dup(X)(p22.33)]



I. Hasta No:76 [del(13)(q14.2q31.3)]

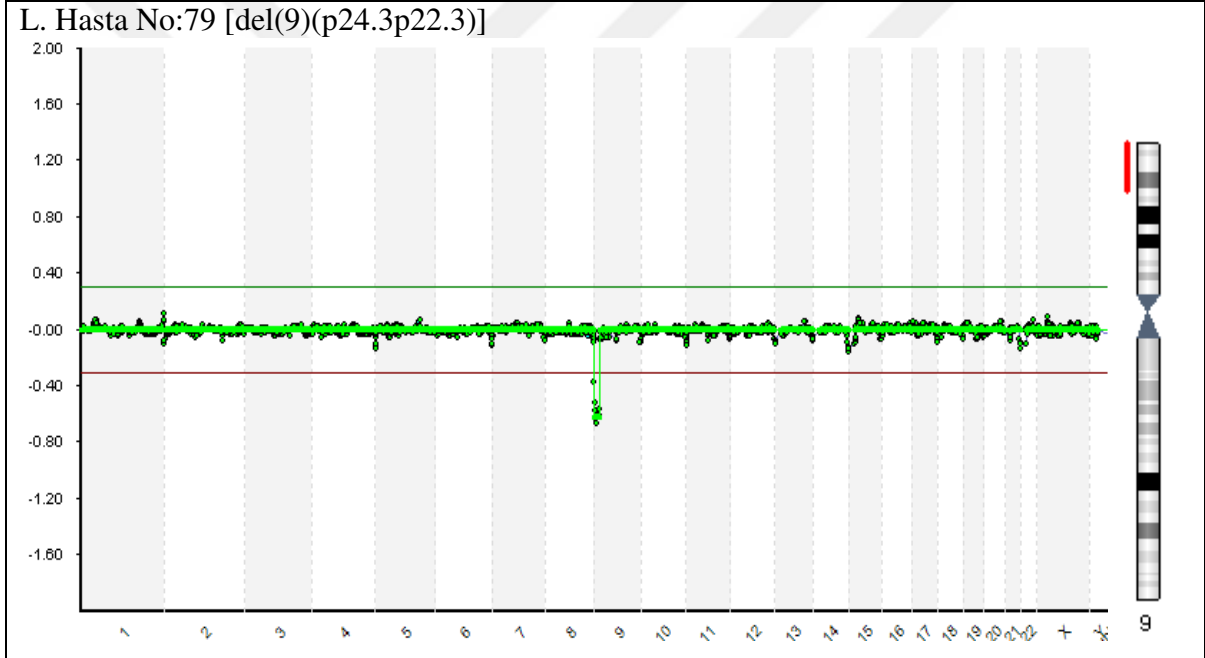
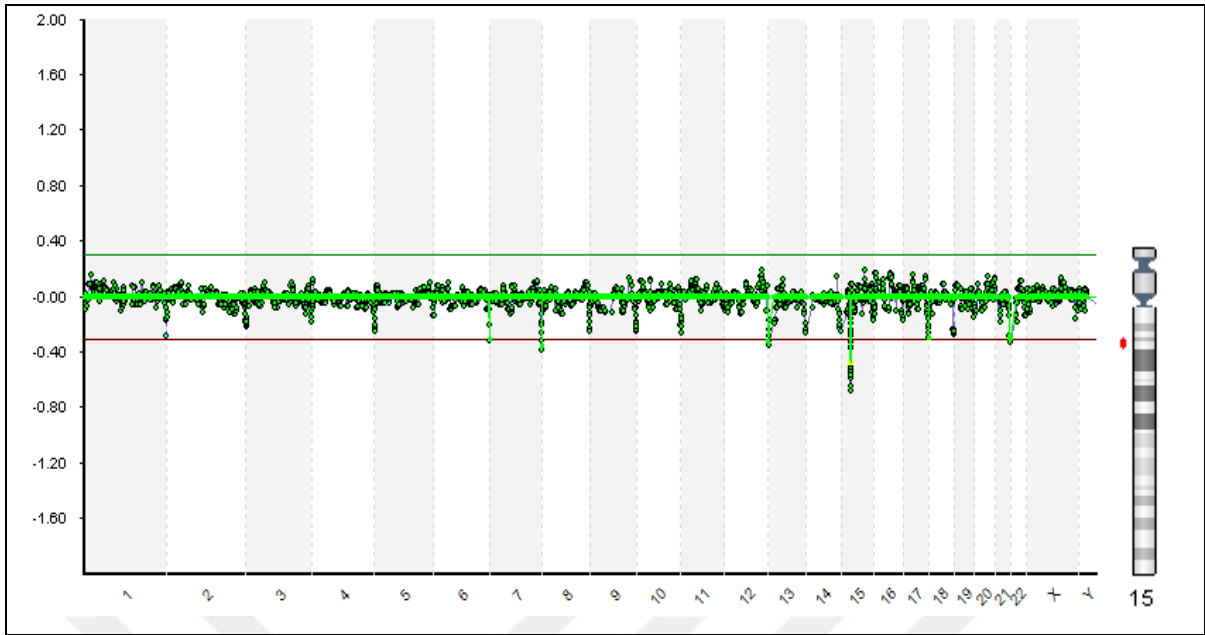


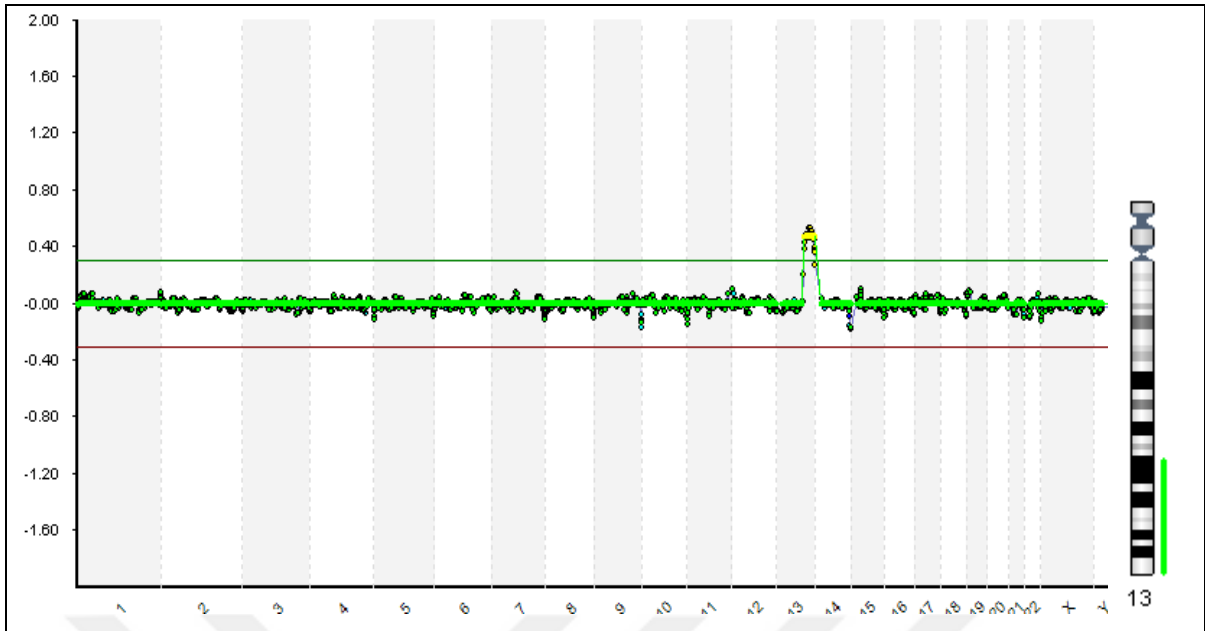
J. Hasta No:77 [del(21)(q22.2q22.3)]



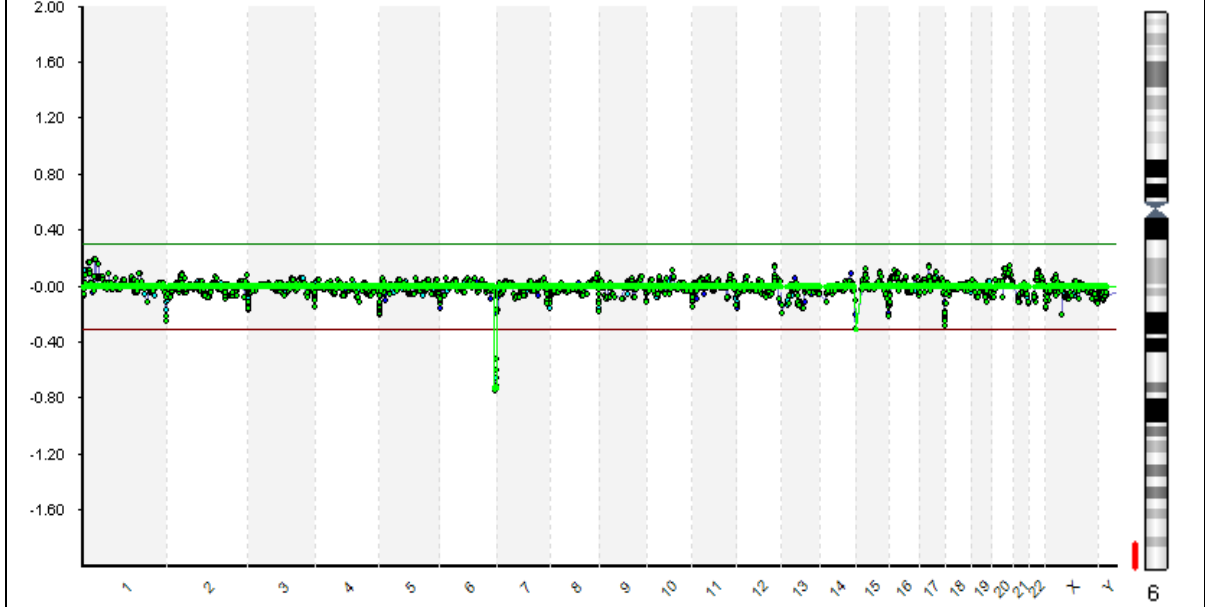
K. Hasta No: 78 [del(15)(q13.2q13.3)]



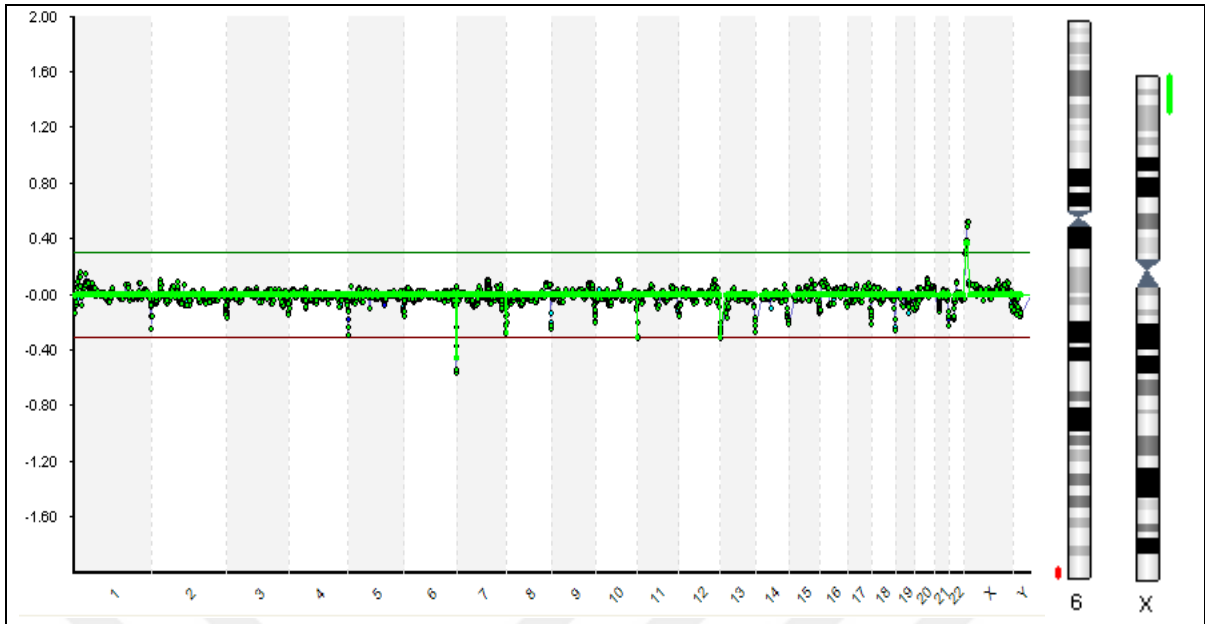




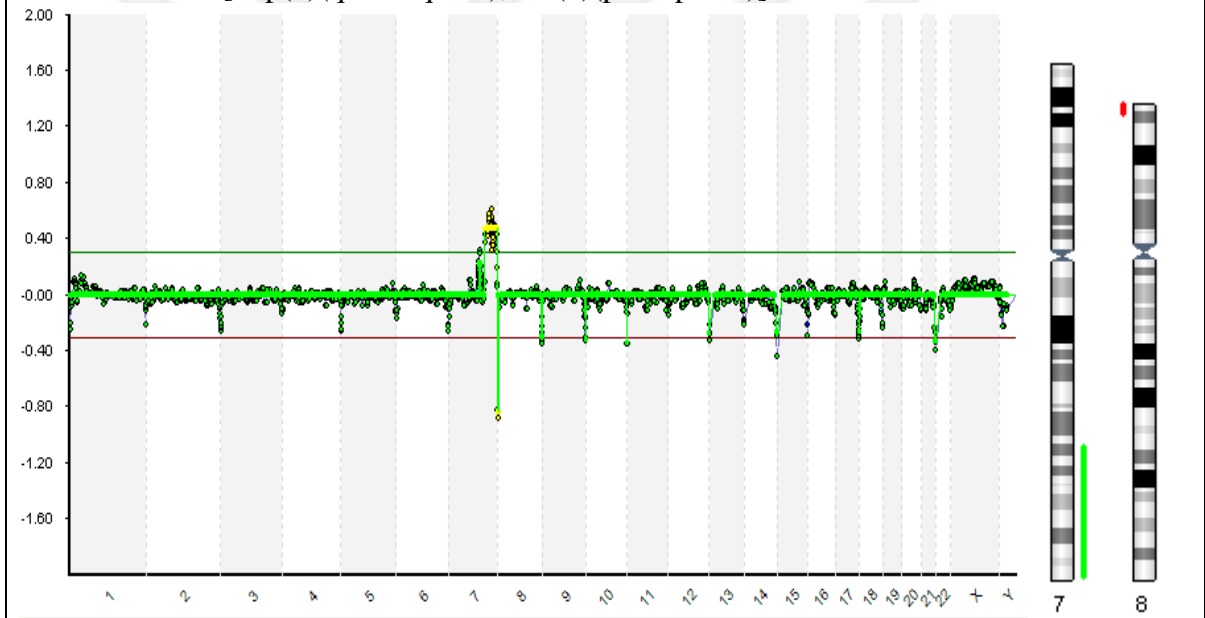
N. Hasta No:81 [del(6)(q26q27)]



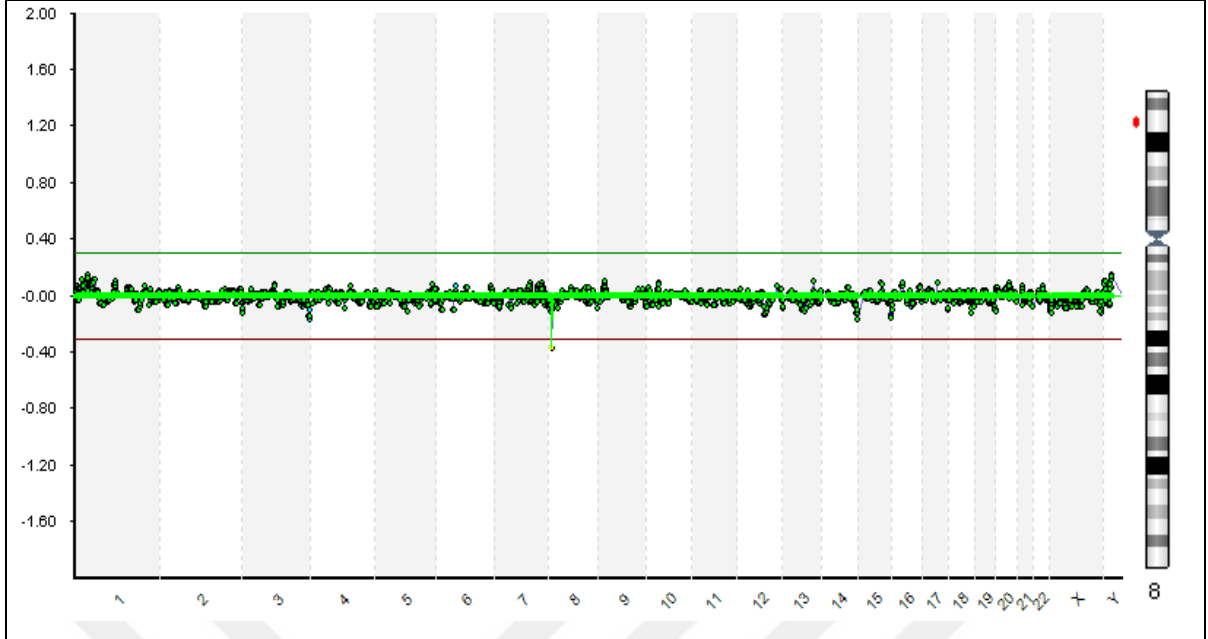
O. Hasta No:82 [dup(X)(p22.33p22.2), del(6)(q27)]



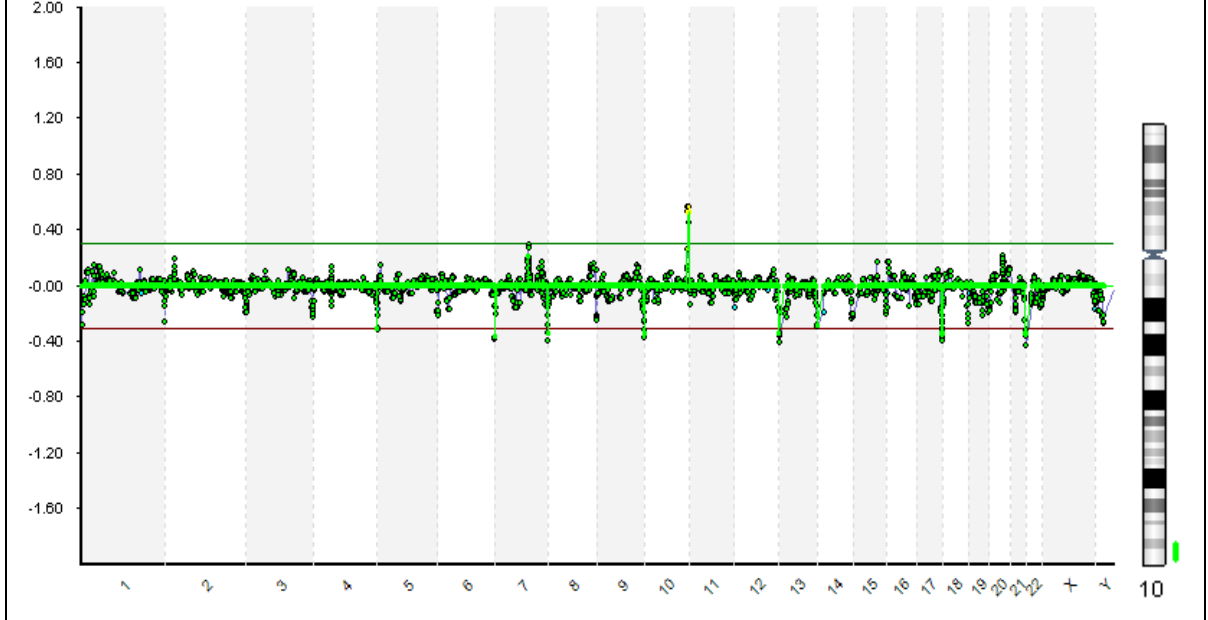
P. Hasta No:83 [dup(7)(q31.31q36.3), del(8)(p23.3p23.2)]



R. Hasta No:84 [del(8)(p23.1)]



S. Hasta No:85 [del(10)(q26.2q26.3)]



Kromozomal anomali saptanan hastalara ait tüm genom (1-22, X, Y kromozomları) ve anormal kromozom görüntüleri. Tüm genom görüntüsündeki y eksenini sinyal oranlarının  $\log_2$  tabanındaki karşılığını, x eksenini ise yeşil noktacıklarla temsil edilen klonların bulunduğu kromozomları göstermektedir. Kromozom ideogramlarında kırmızı renk delesyon varlığını, yeşil renk ise duplikasyon varlığını belirtmektedir.

Şekil 4.1. Saptanan tüm kromozomal anomalilere ait array CGH profilleri

Çizelge 4.1. Çalışmada yer alan 77 hastaya ait genotip ve fenotip bulguları

Hasta No	Cinsiyet	Yaş	Dismorfik Bulgular	Karyotip	FISH	array CGH Sonucu
1	K	1 yaş	Yukarı eğimli palpebral fissürler, düşük kulaklar, basık burun kökü, makroglossi, retrognati	48,XX,+21,+mar	-	dup(21q11.2q22.3)
2	E	10 ay	Frontal bossing, basık burun kökü, yukarı eğimli palpebral fissürler, retrognati, hipoplazik ala nasiller, antevort ala nasiller, epikantus, ayrık meme başı, çökük meme başı, ayak 2. ve 3. parmaklarda bilateral pozisyon anomalisi	-	-	Normal kromozom kuruluşu
3	E	11 yaş	Dar damak, yüksek damak, kısa palpebral fissürler, burun ucu ala nasilleri geçiyor, retrognati	-	Nuc ish(TBX1x2)[100] Nuc ish(22q13.3x2)[100] Prob:DiGeorge/TBX1 Probe(22q11) with 22q13.3 deletion syndrome probe combination TBX1(22q11.2) Cytocell Cat No.LPU 014	Normal kromozom kuruluşu
4	E	11 yaş	Uzun filtrum, mikropenis, antevort ala nasiller	-	-	Normal kromozom kuruluşu
5	E	3 yaş	Uzun filtrum, düşük kulak, antevort kulak, displastik kulak, mikrosefali, ayrık meme başı, kısa boyun, brakisefali, yüksek damak	-	-	Normal kromozom kuruluşu
6	E	2 yaş	Mikrosefali, hipertelorizm, aşağı eğimli palpebral fissürler, tubuler burun, hipoplastik ala nasiller, uzun filtrum, dar damak yapısı, retromikrognati, sırtta hirsütizm, uzun kirpikler	-	-	Normal kromozom kuruluşu
7	K	7 yaş	Yele boyun, düşük ense-saç çizgisi, cubitus valgus, pectus excavatum, dar alın yapısı, bulböz burun, uzun filtrum, hipotelorizm, uzun kirpikler, ince üst dudak, prognati, kol-	-	-	Normal kromozom kuruluşu

			bacak-costalar altında pigmentasyon, düşük kulak, parçalı kulak memesi lobu, sırtta-bacaklarda hirşutizm, ayak parmaklarında pozisyon anomalisi, kliteromegali, hipoplastik labiumlar			
8	E	16 yaş	Mikrosefali, araknodaktili, marfanoid görünüm, yukarı eğimli palpebral fissürler, tubuler burun, kısa filtrum, dolgun dudaklar, bozuk diş yapısı, büyük kulaklar	-	-	Normal kromozom kuruluşu
9	E	15 yaş	Uzun yüz, dar yüz, retromikrognati, yüksek damak, uzun boyun, tubuler burun, uzun filtrum, makroorşidizm, burun ucu ala nasilleri geçiyor	-	-	Normal kromozom kuruluşu
10	E	4 yaş	Basık burun kökü, bulböz burun, uzun filtrum, epikantus, uzun kirpik, yüksek damak, retrognati, displastik kulaklar, tapering fingers, kısa boyun, mikropenis, polidaktili, pes planus	-	-	Normal kromozom kuruluşu
11	E	2 yaş	Mikrosefali, retrognati, ince üst dudak, bilateral elde Simian, uzun filtrum, derin yerleşimli gözler, geniş ayak başparmağı	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
12	E	9 yaş	Yüksek damak, frontal upsweep saç, basık burun kökü, burun ucu ala nasilleri geçiyor, hipertelorizm, büyük kulaklar, sağ göz ekzotropya	-	-	Normal kromozom kuruluşu
13	E	6	Mikrosefali, yüksek ense-saç çizgisi, hipertelorizm, badem şeklinde göz, yukarı eğimli palpebral fissürler, bulböz burun, belirgin filtrum, retromikrognati, 5. parmak klinodaktili, displastik kulaklar, burun ucu ala nasilleri geçiyor	-	-	Normal kromozom kuruluşu
14	K	14 yaş	Turner stigmatları, tubuler burun, burun ucu ala nasilleri geçiyor	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu

16	E	4 yaş	Mikrosefali, derin yerleşimli gözler, frontal bossing, tubuler burun, uzun filtrum, ince üst dudak, fasial asimetri, retrognati, ayrık meme başı	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
17	K	13 yaş	Yukarı eğimli palpebral fissürler, basık burun kökü, burun ucu ala nasilleri geçiyor, kısa filtrum, düşük kulak, yüksek damak, kısa boyun	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
18	E	16 yaş	Makrosefali, kısa filtrum, aşağı eğimli palpebral fissürler, yüksek damak	-	-	Normal kromozom kuruluşu
19	E	12 yaş	Aşağı eğimli palpebral fissürler, tubuler burun, kısa filtrum, ince üst dudak, yüksek damak, 5. parmak klinodaktili, ayrık meme başı	-	-	Normal kromozom kuruluşu
20	E	2 yaş	Kranial asimetri, bulböz burun, uzun filtrum, displastik kulak, ince üst dudak, ayrık meme başı, aşağı eğimli palpebral fissürler	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
21	E	9 yaş	Fasial asimetri, dolikosefali, burun ucu ala nasilleri geçiyor, düşük göz kapakları	-	-	Normal kromozom kuruluşu
22	K	15 yaş	Uzun yüz, basık burun kökü, yukarı eğimli palpebral fissürler, hipertelorizm, kısa filtrum, burun ucu ala nasilleri geçiyor, mikrotia, derin yerleşimli gözler	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
23	E	3 yaş	Basık burun kökü, uzun filtrum, düşük ense saç çizgisi, kısa boyun, geniş boyun, mikrognati, antevort ala nasiller, tapering fingers	-	-	Normal kromozom kuruluşu
24	K	3 ay	Mikrosefali, yüksek damak, dar alın yapısı, antevort ala nasiller, geniş burun kökü	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
25	E	3 yaş	Ptotik gözler, uzun kirpikler, mikrognati, kısa boyun, inmemiş testisler	-	-	Normal kromozom kuruluşu

26	E	3 yaş	Derin yerleşimli gözler, displastik kulaklar, yüksek damak yapısı, dar damak, küçük ağız yapısı	-	-	Normal kromozom kuruluşu
27	E	15 yaş	Yüksek damak, tubuler burun, sendromik boy kısalığı	-	-	Normal kromozom kuruluşu
28	K	12 yaş	Büyük kulaklar, hipertelorizm, epikantus, tubuler burun, antevert ala nasiller, yüksek damak, dar damak	-	-	Normal kromozom kuruluşu
29	E	5 yaş	Frontal bossing, dolikosefali, basık burun kökü	-	-	Normal kromozom kuruluşu
30	K	2 gün	Kranial asimetri, mikrocefali	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
31	K	15 yaş	Sendromik boy kısalığı, 5. metakarp kısalığı, yüksek damak, uzun yüz, düşük kulak, küçük kulaklar, kalkan göğüs	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
32	E	5 yaş	Antevert ala nasiller, dar damak, yüksek damak, mikrognati, ayırık meme başı, ince üst dudak, aşağı eğimli palpebral fissürler, mikrocefali	-	-	Normal kromozom kuruluşu
33	E	13 yaş	Boy kısalığı, üçgen yüz, uzun yüz, yüksek damak, fasial asimetri, 5. parmak klinodaktili, düşük kulak, hipotelorizm	-	-	Normal kromozom kuruluşu
34	K	20 ay	Hipotelorizm, epikantus, yukarı eğimli palpebral fissürler, küçük kulak, displastik kulak, belirgin glabella, uzun filtrum, küçük eller, uzun falanks	-	-	Normal kromozom kuruluşu
35	E	7 yaş	Belirgin burun kökü, ayırık meme başı, sivri çene yapısı, kısa boyun, geniş boyun	-	-	Normal kromozom kuruluşu
37	E	6 ay	Mikrocefali, kısa boyun, uzun filtrum, küçük el, küçük ayak, antevert ala nasiller	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
38	K	10	Ayırık meme başı, belde cafe au lait lekeleri,	-	-	Normal kromozom



		yaş	epikantus, yüksek damak, dar damak, displastik kulaklar, yukarı eğimli palpebral fissürler, geniş burun kökü, basık burun kökü, dar burun kanatları, uzun filtrum			kuruluşu
40	E	14 yaş	Sağ elde Simian, sol elde parsiyal Simian, sağ meme başı içe çökük, ayrık meme başı, dar damak, yüksek damak, mikropenis, burun ucu ala nasilleri geçiyor	-	-	Normal kromozom kuruluşu
41	E	7 yaş	Strabismus, burun sola deviye, tubuler burun, ince parmaklar	-	Nuc ish(TUPLE1x2)[100} Nuc ish(22q13.3x2)[100] Prob:DiGeorge and 22q13.3 deletion syndrome probe combination VCFS TUPLE1 Cytocell Cat No.LPU 004	Normal kromozom kuruluşu
42	K	2 yaş	Bilateral ayaklarda 2. 3. parmaklarda sindaktili, hipertelorizm, belirgin filtrum	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
44	K	5 yaş	Burun ucu ala nasilleri geçiyor, basık burun kökü, mikrognati, dar damak, yüksek damak, belde cafe au lait lekeleri, retrognati, mikrosefali, ince üst dudak, belirgin glabella, antevrt kulak, belirgin kulak	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
45	K	3 gün	Yarık damak, yarık dudak	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
46	K	6 ay	Mikrosefali, blefarofimosis, epikantus, ayaklarda parsiyal sindaktili	46,XX,ins (6;3)(q23;q27q21?)	-	Normal kromozom kuruluşu
48	K	16 yaş	Kısa palpebral fissürler, dolgun göz kapakları, strabismus, sivri çene yapısı, bulböz burun, tapering fingers, sol ayak 2. 3. parmaklarda parsiyal sindaktili, hipoplastik tırnaklar, kısa boyun, geniş boyun	-	-	Normal kromozom kuruluşu
49	K	7 yaş	Basık burun kökü, antevrt ala nasiller, epikantus, geniş burun kanatları, sinofrizis, dar damak, yüksek damak, displastik kulaklar, düşük kulaklar, antevrt kulaklar, kısa el parmakları, geniş el parmakları, uzun	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu

			filtrum, sol meme başı içe çökük			
50	E	2 yaş	Antevert ala nasiller, basık burun kökü, geniş burun kökü, dar alın yapısı, düşük kulaklar, sırtta doğum lekeleri, sol ayak 2. 3. parmaklarda sindaktili, mikrosefali	-	-	Normal kromozom kuruluşu
51	K	11 yaş	Dolikosefali, dar damak, yüksek damak, belirgin burun kökü, kısa filtrum, pectus excavatum, belirgin alın, pes planus	-	-	Normal kromozom kuruluşu
52	E	13 yaş	Tubuler burun, belirgin kulak, düşük kulak, öne açılı kulak, posterior yerleşimli kulak, pectus excavatum, dar damak, yüksek damak, ince parmaklar, uzun parmaklar	-	-	Normal kromozom kuruluşu
53	E	10 yaş	Basık burun ucu, strabismus, üçgen yüz görünümü, yukarı eğimli palpebral fissürler, displastik kulaklar, sinofrizis, pektus karinatum, torakal kifoskolyoz	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
55	E	17 yaş	Burun sola deviye, yüksek damak, dar damak, displastik kulaklar, belirgin filtrum	46,XY	-	Normal kromozom kuruluşu
56	E	2 yaş	Basık burun yapısı, burun kanatları dar, ince üst dudak, belirgin kulaklar, antevert kulaklar, bilateral elde Simian, belirgin glabella, ayrık meme başı, belirgin filtrum	-	-	Normal kromozom kuruluşu
57	E	15 yaş	Göbek solunda cafe au lait lekesi, düşük kulak, aşağı eğimli palpebral fissürler, yüksek damak, düşük ense saç çizgisi, retrognati	-	-	Normal kromozom kuruluşu
58	K	13 yaş	Yüksek damak, düşük ense saç çizgisi, kısa filtrum, sivri çene yapısı	-	-	Normal kromozom kuruluşu
59	E	18 yaş	Kısa el parmakları, kalın el parmakları, yukarı eğimli palpebral fissürler, kısa filtrum, dar damak, yüksek damak, prognati, ince üst dudak, düşük ense saç çizgisi	-	-	Normal kromozom kuruluşu

60	K	3 yaş	Mikrosefali, sinofrizis, yukarı eğimli palpebral fissürler, tubuler burun, bilateral kulak önünde bir adet skin tag, yüksek damak, belirgin burun kökü, hipertelorizm, strabismus, antevort kulak, belirgin kulak, retrognati	-	-	Normal kromozom kuruluşu
61	E	9 yaş	Antevort kulak, belirgin kulak, hipertelorizm, düşük ense saç çizgisi, dar alın yapısı, dar damak, yüksek damak, ince üst dudak, tubuler burun, burun ucu ala nasilleri geçiyor	-	-	Normal kromozom kuruluşu
62	K	2 yaş	Displastik kulaklar, derin yerleşimli gözler, bilateral elde parsiyal Simian, frontal bossing, geniş burun kökü, basık burun kökü, yüksek damak, dar damak, ince el parmakları, uzun el parmakları	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
64	E	6 yaş	Düşük kulaklar, dismorfik kulaklar, prognati, ince üst dudak, saçta iki whorl, uzun çene, seyrek kaşlar, uzun filtrum, bulböz burun, üçgen yüz	-	-	Normal kromozom kuruluşu
65	E	5 yaş	Displastik kulak, ince üst dudak, geniş burun kökü, üçgen yüz görünümü, tubuler burun	-	-	Normal kromozom kuruluşu
67	K	2 yaş	Basık burun kökü, geniş burun kökü, dar alın yapısı, yüksek damak, uzun filtrum, büyük kulaklar, belirgin kulaklar, ince üst dudak, hipertelorizm	-	-	Normal kromozom kuruluşu
68	K	1 ay	Yarık damak	46,XX	-	Normal kromozom kuruluşu
69	E	9 yaş	Mikrotestis, hirşutizm, düşük alın saç çizgisi, derin yerleşimli gözler, yukarı eğimli palpebral fissürler, belirgin glabella, tubuler burun, kısa filtrum, burun ucu ala nasilleri geçiyor, yüksek damak, sağ elde Simian, ayırık ön dişler, retrognati, düşük kulak,	46,XY,der(10)(10pter→10qter::1q41→1q43)	-	dup(1)(q41q43)

			displastik kulaklar			
70	E	8 yaş	Geniş alın yapısı, geniş burun kökü, burun ucu ala nasilleri geçiyor, uzun filtrum, ince üst dudak, küçük kulaklar, uzun ayak parmakları, sağ inguinal bölgede beyaz leke, kuru el derisi, yüksek ense saç çizgisi, aşağı eğimli palpebral fissürler	46,XY,del(9)(p22)	-	del(9)(p24.3p22.3)
71	E	6 yaş	Küçük kulaklar, displastik kulaklar, tubuler burun, badem şeklinde göz, yukarı eğimli palpebral fissürler, aşağı eğimli dudak komissürleri, retrognati	46,XY,inv(9)(p11q13)	DiGeorge N25 negatif (Cytocell 22q11.2 bölgesi)	del(22)(q11.21q11.23)
72	K	2 ay	Mikrosefali, basık burun kökü, düşük kulaklar, ince üst dudak, hipertelorizm, antevort ala nasiller, burun ucu ala nasilleri geçiyor, yüksek damak, dar damak, displastik kulaklar, düz filtrum, parşomen cilt, yukarı eğimli palpebral fissürler	46,XX,der(4)(4p16→4q35:2q31.2→q37.3)	-	dup(2)(q31.2q37.3)
73	E	7 yaş	İnmemiş testisler, üst üste binen ayak parmakları	46,XY,dup(1)(q22q32)		dup(1)(q25.3q42.11)
74	K	2 yaş	Üçgen yüz, mikrosefali, epikantus, yüksek damak, düşük ense saç çizgisi, içe çökük meme başları, yukarı eğimli palpebral fissürler, belirgin glabella, displastik kulaklar, strabismus	46,XX,rec(5)del(5)(p14)dup(5)(p14)	-	del(5)(p15.33p14.3), dup(5)(p14.3p13.3)
75	E	9 ay	İnmemiş testisler, yarı damak, mikrognati, sağ dış kulak agenezisi, sol göz kapağı hafif düşük	-	-	dup(X)(p22.33)
76	K	1 yaş	Pitoz, telekantus, geniş alın yapısı, geniş burun kökü, düz filtrum, mikrognati, antevort kulak memesi, üst üste binen sol ayak parmakları	46,XX,del(13)(q14-q31.?)	-	del(13)(q14.2q31.3)
77	E	12 yaş	Mikrosefali, mikropenis	46,XY,r(21)(pter;q22)	-	del(21)(q22.2q22.3)

78	E	3 yaş	Basık burun kökü, balık ağız	-	-	del(15)(q13.2q13.3)
79	E	9 yaş	Trigonosefali	46,XY,del9(p22→pter)	-	del(9)(p24.3p22.3)
80	E	11 ay	Mikrosefali, uzun filtrum, ince üst dudak, mikrognati, içe kıvrık heliksler, düşük kulak, basık burun kökü, 5. parmak klinodaktili, talipes ekinovarus, belirgin alın, yaygın cafe au lait lekeleri, bifid skrotum, epikantus, makroglossi	45,XY,-13[17]/46,XY,rec(13)(dup)(13)(q31)r(13)(q11q34)[83]	Nuc ish(13q14.3x2)[87] Nuc ish(13q14.3x1)[13]	dup(13)(q31.1q34)
81	E	9 yaş	Skolyoz, yüksek damak, dar damak, ayrık meme başı, displastik kulaklar, antevort ala nasiller	-	-	del(6)(q26q27)
82	K	13 yaş	Sol elde simian, epikantus, basık burun kökü, geniş burun kökü, dolgun göz kapakları, dar damak, yüksek damak, uzun yüz, talipes ekinovarus, uzun parmaklar, ince parmaklar	-	Nuc ish (N25x2) [100] Nuc ish (22q13.3x2) [100] Prob:DiGeorge and 22q13.3 Deletion Syndrome Probe Combination VCFS N25 Cytocell Cat. No. LPU 010	dup(X)(p22.33p22.2), del(6)(q27)
83	K	11 ay	Basık burun kökü, düşük kulak, displastik kulaklar, frontal bossing, ince üst dudak, ince alt dudak, uzun filtrum	46,XX,add8(p22→pter)	-	dup(7)(q31.31q36.3), del(8)(p23.3p23.2)
84	E	17 yaş	Geniş alın yapısı, tubuler burun, burun sola deviyeye, burun ucu ala nasilleri geçiyor, aşağı eğimli palpebral fissürler, displastik kulaklar, kısa filtrum, prognati, yüksek damak, dar damak, ayrık meme başı, bilateral elde Simian, sol ayak 4. parmakta pozisyon anomalisi, mikropenis, hipospadias	46,XY	-	del(8)(p23.1)
85	E	7 yaş	Antevort kulak, belirgin burun kökü, tubuler burun, ince üst dudak, prognati, dar damak, yüksek damak	-	-	del(10)(q26.2q26.3)

Çizelge 4.2. array CGH ile saptanan kromozomal anomaliler

Hasta No	Aberasyon (ISCN'e göre)	Başlangıç-Bitiş (bc)	Boyut (bc)	Genler <sup>1</sup>	Parental analiz
1	arr 21q11.2q22.3( 13,452,809-46,844,477x3 )	13452809-46844477	33,391,668	LIPI, PRSS7, APP, SOD1, MRAP, IFNAR2, IL10RB, IFNGR2, KCNE2, KCNE1, RUNX1, CLDN14, HLCS, TMPRSS3, CBS, CRYAA, CSTB, AIRE, ITGB2, COL18A1, COL6A1, COL6A2, FTCD, PCNT [293]	-
69	arr 1q41q43(220,105,994x2, 220,263,850-236,661,865x3, 237,433,439x2)	220263850-236661865	16,398,015	TLR5, LBR, EPHX1, LEFTY1, PSEN2, CABC1, GJC2, ACTA1, AGT, GNPAT, EGLN1, DISC1, TBCE, LYST, EDARADD, ACTN2, MTR, RYR2 [379]	46,XY 46;XX
70	arr 9p24.3p22.3( 94,476-16,233,312x1, 17,067,731x2)	94476-16233312	16,138,836	VLDLR, KCNV2, GLIS3, JAK2, GLDC, TYRP1[59]	-
71	arr 22q11.21q11.23(17,919,311x2, 17,922,051-22,649,943x1, 23,583,626x2)	17922051-22649943	4,727,892	SEPT5, TBX1, TXNRD2, ARVCF, SERPIND1, SNAP29, BCR, IGLL1, SMARCB1 [174]	-
72	arr 2q31.2q37.3(178,166,086x2, 179,052,797-242,213,738x3 )	179052797-242213738	63,160,941	CERKL, NEUROD1, FRZB, COL3A1, COL5A2, SLC40A1, PMS1, MSTN, HIBCH, STAT1, STAT4, HSPD1P4, HSPD1P5, HSPD1P6, HSPD1P1, HSPD1, SATB2, CASP10, CASP8, ALS2, BMPR2, CTLA4, ICOS, NDUFS1, CRYGD, CRYGC, PIP5K3, ACADL, CPS1, ABCA12, ATIC, FN1, SMARCAL1, PNKD, SLC11A1, ZNF142, CYP27A1, WNT6, FEV, IHH, NHEJ1, DES, PAX3, IRS1, COL4A4, SLC19A3, SP110, CHRND, GIGYF2, KCNJ13, ATG16L1, UGT1A6, UGT1A8, UGT1A7, UGT1A4, UGT1A10, UGT1A3, UGT1A1, UGT1A9, UGT1A5, COL6A3, MLPH, PER2, CAPN10, AGXT [389]	-
73	arr 1q25.3q42.11(180,305,079x2, 180,970,888-221,443,666x3, 221,980,831x2)	180970888-221443666	40,472,778	LAMC2, NCF2, HMCN1, PRG4, TPR, CDC73, CFH, F13B, ASPM, CRB1, PTPRC, CACNA1S, PKP1, TNNT2, CHI3L1, REN, IL10, CD55, CR2, CR1, CD46, MIRN29C, LAMB3, HSD11B1, IRF6, RD3, USH2A, TGFB2, RAB3GAP2, TLR5 [264]	46,XY 46;XX
74	arr 5p15.33p14.3(109,395, 234,837-19,712,134x1, 20,505,254x2)  arr 5p14.3p13.3(20,505,254x2, 22,389,367-32,829,638x3, 33,366,642x2)	234837-19712134  22389367-32829638	19,477,297  10,440,272	SDHA, SLC6A19, TERT, MTRR, CCT5, DNAH5, ANKH, [58]  Bilinmiyor [15]	46,XY,inv(5)(p14.3pter) 46;XX

75	arr Xp22.33( 386,805-2,625,871x2, 2,635,912)	386,805-2625871	2,239,067	SHOX [12]	-
76	arr 13q14.2q31.3(47,801,252x2, 47,879,024-90,433,037x1, 92,590,544x2)	47879024-90433037	42,554,013	RB1, PHF11, RNASEH2B, ATP7B, CLN5, EDNRB, SLITRK1 [88]	46,XY 46;XX
77	arr 21q22.2q22.3(40,630,702x2, 41,459,414-46,844,477x1 )	41459414-46844477	5,385,064	TMPRSS3, CBS, CRYAA, CSTB, AIRE, ITGB2, COL18A1, COL6A1, COL6A2, FTCD, PCNT [98]	-
78	arr 15q13.2q13.3(28,170,743x2, 28,340,564-30,525,298x1, 30,691,536x2)	28340564-30525298	2,184,734	CHRNA7 [14]	-
79	arr 9p24.3p22.3( 94,476-15,310,967x1, 16,233,312x2)	94476-15310967	15,216,491	VLDLR, KCNV2, GLIS3, SLC1A1, JAK2, GLDC, TYRP1 [55]	-
80	arr 13q31.1q34(77,893,397x2, 79,436,649-114,037,803x3 )	79436649-114037803	34,601,155	SLITRK1, ZIC5, PCCA, FGF14, ERCC5, LIG4, COL4A1, CARS2, F7, F10, GRK1 [97]	46,XY 46;XX
81	arr 6q26q27(162,026,348, 163,423,536-170,763,528x1 )	163423536-170763528	7,339,993	PACRG, T, THBS2, TBP [36]	-
82	arr 6q27(167,196,250x2, 167,885,163-170,763,528x1)	167885163-170763528	2,878,365	THBS2, TBP [18]	-
	arr Xp22.33p22.2(404,510-11,533,154x3)	404510-11533154	11,128,644	SHOX, XG, ARSE, NLGN4X, STS, KAL1, GPR143, MID1, HCCS, AMELX[42]	
83	arr 7q31.31q36.3(116,638,395x2, 118,064,141-157,653,174x3, 158,625,975x2)	118064141-157653174	39,589,033	ING3, AASS, TAS2R16, LEP, RBM28, IMPDH1, CALU, FLNC, BPGM, CHRM2, AKR1D1, TRIM24, ATP6V0A4, TBXAS1, BRAF, TAS2R38, PRSS1, KEL, CLCN1, CNTNAP2, KCNH2, NOS3, PRKAG2, EN2, SHH, LMBR1, MNX1 [276]	46,XY,t(7;8)(q31.33;p23.3) 46,XX
	arr 8p23.3p23.2( 115,733-3,684,191x1, 5,181,124x2)	115733-3684191	3,568,458	CLN8, ARHGEF10 [12]	
84	arr 8p23.1(8,235,335x2, 9,203,044-10,989,715x1, 11,347,602x2)	9203044-10989715	1,786,671	Bilinmiyor [9]	-
85	arr 10q26.2q26.3(128,130,623x2, 128,883,697-133,661,495x3, 134,176,639x2)	128883697-133661495	4,777,798	Bilinmiyor [13]	-

<sup>1</sup>Fenotipe etkisi olduğu bilinen/düşünülen genler; toplam gen sayısı parantez içinde bildirilmektedir.

## 5. TARTIŞMA

Kromozomal anomalilerin çoğunlukla doğumsal defektlerle sonuçlandığı ve dismorfik bulgular, multipl konjenital anomali, konjenital kalp hastalıkları, gelişim geriliği ya da mental retardasyona neden oldukları bilinmektedir (Schoumans ve ark., 2005; Aradhya ve ark., 2007; de Vries ve ark., 2005; Krepischi-Santos ve ark., 2006). Çalışmamız, 1 Mb rezolüsyonundaki BAC tabanlı array CGH ile taranmış geniş bir dismorfik hasta grubundan oluşmaktadır.

Toplam 77 dismorfik hasta arasından 18 hastada (%24.4), 19 farklı kromozomal anomali saptandı. Menten ve ark. da 140 idiyopatik mental retarde/multipl konjenital anomalili hastanın 28'inde (%20) 1 Mb rezolüsyonundaki BAC tabanlı array CGH ile kromozomal anomali saptamışlardır (Menten ve ark., 2006). Saptanan 19 anomaliden 8'ini duplikasyonlar, 11'ini delesyonlar oluşturmaktaydı. On sekiz hastanın 6'sının ebeveynleri kromozomal anomalinin kalıtsal ya da de novo oluşu açısından kromozom analizi ile tarandı. Parental kromozom analizi yapılabilen bu 6 hastanın 4'ünde de novo kromozomal anomali saptandı ve bu kromozomal anomalilerin normal varyant olmadıkları görüldü. Saptanan de novo kromozomal anomalilerin oluşan dismorfik fenotipin sebebi olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kromozom analizi yapılan 32 hastanın 13'ü (% 40.6) anormal karyotipe sahipti. Kromozomal anomalisi olduğu düşünülen 6183 pediatrik hastada yapılan önceki sitogenetik çalışmalarında kromozomal aberasyon insidansı %21.6 bulunmuştur (Shah ve ark., 1990; Kenue ve ark., 1995; Kim ve ark., 1999; Goud ve ark., 2005). Bizim bulduğumuz değer bu kadar yüksek çıkması, hasta sayımızın az olmasından, hasta grubumuzun yüksek derecede kromozom anomalisi riski olan seçilmiş, dismorfik vakalardan oluşmuş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Array CGH ile kromozom analizi yapılmış olan 32 hastanın 3'ünde (% 9.4) kromozom analizinin saptayamadığı klinik ile ilişkili kromozomal anomaliler saptanmıştır. Saptanan bu değer, multipl konjenital anomalili/mental retarde hastalar üzerinde yapılan önceki çalışmalarda saptanan %10-15 interstisyel submikroskobik anomali değeriyle uyumludur (Vissers ve ark., 2003; Shaw-Smith ve ark., 2004; de Vries ve ark., 2005;



Rosenberg ve ark., 2006; Schoumans ve ark., 2005). Kromozom analizi ancak 5 Mb ve üzeri büyüklükteki aberasyonları saptayabilmektedir (Brady ve Vermeesch, 2012). Bu nedenle çalışmamızda yer alan ve array CGH ile 1,786,671 bç büyüklüğünde 8p23.1 delesyonu saptanmış olan 84 No'lu hastamızda normal karyotipe rastlanması şaşırtıcı değildir.

Çalışmamızda literatüre uyumlu olarak, saptanan delesyon sayısı (11) duplikasyon sayısına (8) nazaran fazladır. Bu durum teknik ve biyolojik açıdan farklı sebeplerden kaynaklanıyor olabilir. Teknik olarak, çoğu eşik değeri algoritmaları delesyonlarla kıyaslandığında yanlış negatif duplikasyon sonucu oluşturmaya daha elverişlidir. Çoğu eşik değeri algoritmaları delesyon ve duplikasyonlar için sınır değerini, sinyal yoğunluk oranlarının ortalamasından eşik uzaklıklarda belirler. Delesyonların sinyal yoğunluk oranları ortalamadan daha uzak (1/2 oranı), duplikasyonların sinyal yoğunluk oranları ortalamaya daha yakın (3/2 oranı) olmasına rağmen, büyük olasılıkla bazı duplikasyonların saptanamaması kaçınılmazdır. Biyolojik olarak, genelde duplikasyonlar hafif seyreden bir fenotipi oluşturur. Ayrıca, insan genomundaki duplikasyonlar delesyonlardan daha az oluşmaktadır. Van Ommen, delesyonların sıklığı hakkında her 8 doğumda 1, duplikasyonların sıklığı hakkında ise her 50 doğumda 1 olarak tahmin yürütmüştür (Van Ommen, 2005). Bu durumda delesyon vakalarının sayısının duplikasyon vakaları sayısından yaklaşık 6 kat daha fazla olduğu söylenebilir. Multipl konjenital anomalili/mental retarde vakalarda delesyonlar duplikasyonlara göre yaklaşık 2 kat fazladır.

Array CGH ile özgün fenotipleri olan genomik düzensizliklerin belirlenmesi, de novo değişimlerin klinik açıdan değerlendirilmesini kolaylaştırmakla kalmaz dozu normal gelişim bakımından kritik olan genlerin araştırılması için taranacak genomik bölgenin sınırlarını çizmektedir. Karyotipi 46,XX,del(13)(q14-q31.?) olan 76 No'lu hastanın array CGH sonucunda delesyon bölgeleri [(13)(q14.2q31.3)] net olarak belirlenebilmiştir. Karyotipi 46,XX,add8(p22→pter) olan 83 numaralı hastada array CGH sonucu 7q31.31q36.3 duplikasyonu ve 8p23.3p23.2 delesyonu saptanmıştır. Yapılan parental kromozom analizleri sonucunda, de novo aberasyonun 46,XY,t(7;8)(q31.33;p23.3) karyotipinde dengeli translokasyon taşıyıcısı olan babadan kalıtıldığı saptanmış ve dismorfik fenotipin bu aberasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Parental analizlerin kopya sayısı varyasyonlarını (CNV) dışlamada önemli bir yeri bulunmaktadır. CNV'ler,

taniya varmada kafa karışıklığı yaratmaktadır. Bu kafa karışıklığını ortadan kaldırmak için parental analiz yapılmalı, toplumda normal bireylerde görülen CNV'ler ile karşılaştırılmalı, DGV (Database of Genomic Variants), DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources) gibi veritabanlarındaki aynı genotipe sahip fenotiplere göre değerlendirme yapılmalıdır.

Down sendromu şüphesiyle laboratuvarımıza gelen ve karyotipi 46,XY,inv(9)(p11q13) olan 71 numaralı hastada yapılan array CGH analizleri sonucunda kromozom analizi ile görülen inversiyon saptanamamış, ancak 22q11.21q11.23 bölgesinde 4,727,892 bç büyüklüğünde delesyon saptanmıştır. DiGeorge N25 FISH probu (Cytocell 22q11.2 bölgesi) ile yapılan verifikasyon çalışmalarında sinyal alınamamıştır. Bunun sebebi de DiGeorge N25 FISH probunun array CGH ile saptanan bölgenin dışında kalmasıdır. Array CGH ile saptanan bu bölgenin konfirmasyonu için başlangıç ve bitiş noktasına uygun prob dizayn edilmelidir.

Hastalardan 1 No'lu hastanın karyotip sonucu 48,XX,+21,+mar bulunmuş, fakat yapılan array CGH analizleri sonucunda yalnızca 21. kromozom üzerindeki duplikasyon görülebilmiş, marker'ın ne olduğu belirlenememiştir. Bu durumda, marker kromozomun tekrar sekansları içeren akrosentrik kromozomların (13,14,15,21,22) kısa kollarından veya 1, 9, 16, Y kromozomlarının heterokromatin bölgelerinden parçalar taşıdığı düşünülebilir. CytoChip Focus Constitutional (BlueGnome, Cambridge, U.K) mikroarray'lerinde bu bölgelerden sinyal alınabilmesi için gerekli proplar bulunmamaktadır.

Array CGH, kromozom/genom düzensizliklerinin tespitinde hızlı ve etkin bir teknoloji olmasına rağmen, dengeli translokasyon ve insersiyonları, inversiyonlar ve %30'dan daha düşük seviyedeki somatik mozisizmleri saptayamamaktadır (Ahn, 2010; Iourov ve ark., 2008, 2012). Bundan dolayıdır ki, kromozom analizi sonucu 46,XX,ins(6;3)(q23;q27q21?) karyotipi saptanan 46 No'lu hastadaki insersiyon ve 46,XY,inv(9)(p11q13) karyotipindeki 71 No'lu hastadaki inversiyon array CGH sonucu görülememiştir. Ayrıca 45,XY,-13[17]/46,XY,rec(13)(dup)(13)(q31)r(13)(q11q34)[83] mozaik karyotipteki 80 No'lu hastada array CGH yalnızca %83 mozaizim oranındaki (13)(q31.1q34) bölgesindeki duplikasyonu saptayabilmiş, %17 mozaizim oranındaki 13. kromozom monozomisini saptayamamıştır. Bu nedenle array CGH tabanlı metodlar, hastalıkların mekanizmalarının detaylı araştırılmasında moleküler sitogenetik,

konvansiyonel sitogenetik, post-genomik ve biyoinformatik teknolojilerle kombine çalışılmalıdır.

Array CGH verileri, yalnızca moleküler tanıya değil, hastalıkların genetik (genomik) mekanizmalarının keşfine de imkan tanımaktadır. Bu çalışmada tespit edilen genler, dismorfik bulguların hücresel ve moleküler temellerinin tanımlanmasında büyük öneme sahiptir ve ileri biyoinformatik analizler gerektirmektedir.



## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız, dismorfik vakalarda BAC tabanlı array CGH yöntemiyle yüksek oranda kromozomal anomalinin saptanmasıyla sonuçlanmıştır. Birçok ticari platformun bulunması ve geliştirilmiş hibridizasyon protokolleri, array CGH maliyetlerinin düşmesi ile birlikte ve rutin tanıda kullanılabilirliğini sağlayacaktır. Array CGH'in, rutin tanıda normal karyotipli dismorfik vakalarda güvenle kullanılabilir olacaktır.

Halen, multipl konjenital anomalileri olan vakaların hangi rezolüsyonlu platformlarla taranması gerektiği kafa karıştırıcıdır. 1 Mb rezolüsyonundaki BAC tabanlı array CGH platformları, 1 Mb'dan daha küçük kromozomal anomalileri kaçırmaktadır. Yüksek rezolüsyonlu array'ler (oligoarray'ler), 1Mb'dan daha küçük kromozomal anomalileri saptama olanağı vermektedir. Ancak, yüksek rezolüsyonlu array'lerin kullanımı mutlaka tanısal verimi arttıracakını düşündürmemelidir. Bu tip array'lerin tanısal veriminin doğru bir şekilde değerlendirilmesi için küçük kromozomal anomalilerin yüksek rezolüsyonlu array'ler ile farklı popülasyonlarda çalışılması gerekmektedir. Ayrıca, bu array'ler ile tespit edilen yanlış pozitif sonuçların indirgenmesi bakımından array'lerin tasarımında, taranacak her bölge 3 veya daha fazla klon ile temsil edilmelidir.

Hatalı hibridizasyonlardan doğan yanlış pozitif sonuçların dışlanması açısından array CGH sonuçlarının her hasta için konfirme edilmesi önerilmektedir. Delesyonlar FISH analizleri ile, 2 Mb'dan küçük duplikasyonlar ise kantitatif PZR ile konfirme edilmelidir.

Kromozom analizinin saptayabildiği %30'dan daha düşük mozaisizmi, dengeli translokasyon, insersiyon ve inversiyonları array CGH'in saptayamaması, kromozom analizinin 5 Mb'dan küçük kromozom aberasyonlarını görememesi bu iki yöntemin birlikte kullanılmasını gerekli kılmaktadır. Hastalıkların mekanizmalarının detaylı araştırılmasında array CGH, moleküler sitogenetik, konvansiyonel sitogenetik, post-genomik ve biyoinformatik teknolojiler kombine çalışılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- [Ahn, J.W.](#), [Mann, K.](#), [Walsh, S.](#), [Shehab, M.](#), [Hoang, S.](#), [Docherty, Z.](#), [Mohammed, S.](#), [Mackie Ogilvie, C.](#) (2010) Validation and implementation of array comparative genomic hybridisation as a first line test in place of postnatal karyotyping for genome imbalance. [Mol Cytogenet.](#) 3:9.
- Alberman, E.D., Creasy, M.R. (1977) Frequency of chromosomal abnormalities in miscarriages and perinatal deaths. *J Med Genet* 14:313
- Aradhya, S., Manning, M.A., Splendore, A., Cherry, A.M. (2007) Whole-genome array-CGH identifies novel contiguous gene deletions and duplications associated with developmental delay, mental retardation, and dysmorphic features. *Am J Med Genet A* 143A:1431–1441.
- Bleyer, A. (1934) Indications that mongoloid imbecility is a gametic mutation of degenerative type. *Am J Dis Child* 47:342
- Boduroğlu, K. (2011) Dismorfik ocuğa Yaklaşım Turkiye Klinikleri *J Pediatr Sci* 7:33-8
- Boyd, P.A., Haeusler, A.M., Barisic, I., Loane, M., Game, E., Dolk, H. (2011) EUROCAT Report 9: Surveillance of congenital anomalies in Europe 1980–2008. *Birth Defects Research (Part A)*;91:S1
- Brady, P.D., Vermeesch, J.R. (2012) [Genomic microarrays: a technology overview.](#) *Prenat Diagn.* 32:336-43.
- Brewer, C., Holloway, S., Zawalynski, P., Schinzel, A., FitzPatrick, D. (1998) A chromosomal deletion map of human malformations. *Am J Hum Genet* 63:1153
- California Birth Defects Monitoring Program. (1994) Birth Defects in California: 1983–1990. California Birth Defects Monitoring Program
- Carter, C.O. (1969) Genetics of common disorders. *Br Med Bull* 25:52
- Caspersson, T., Lomakka, G., Zech, L. (1971) The 24 fluorescence patterns of human metaphase chromosomes—distinguishing characters and variability. *Hereditas* 67:89
- Chavez, G.F., Cordero, J.F., Becerra, J.E. (1988) Leading major congenital malformations among minority groups in the United States, 1981–1986. *CDC Surveil Sum* 37:17
- Chung, C.S., Myriantopoulos, N.C. (1987) Congenital anomalies: mortality and morbidity, burden and classification. *Am J Med Genet* 27:505
- Clayton-Smith, J. (2008) Assessment of the dysmorphic infant. *Infant* 4: 206-10.
- Cuticchia, A.J. (1995) Human Gene Mapping: A Compendium. Johns Hopkins Univ Press
- Davies, D.P., Evans, D.J.R. (2003) Clinical dysmorphology: understanding congenital abnormalities. *Current Paediatrics* 13,288-297
- de Grouchy, J., Turleau, C. (1984) *Clinical Atlas of Human Chromosomes*, ed 2. John Wiley & Sons, New York
- de Vries, [B.B.](#), [Pfundt, R.](#), [Leisink, M.](#), [Koolen, D.A.](#), [Vissers, L.E.](#), [Janssen, I.M.](#), [Reijmersdal, S.](#), [Nillesen, W.M.](#), [Huys, E.H.](#), [Leeuw, N.](#), [Smeets, D.](#), [Sistermans, E.A.](#), [Feuth, T.](#), [van Ravenswaaij-Arts, C.M.](#), [van Kessel, A.G.](#), [Schoenmakers, E.F.](#), [Brunner, H.G.](#), [Veltman, J.A.](#) (2005) Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet* 77:606–616.
- Dunn, T.M., Grunfeld, L., Kardon, N.B. (2001) Trisomy 1 in a clinically recognized IVF pregnancy. *Am J Med Genet* 99:152

- [Eiben, B.](#), [Bartels, I.](#), [Bähr-Porsch, S.](#), [Borgmann, S.](#), [Gatz, G.](#), [Gellert, G.](#), [Goebel, R.](#), [Hammans, W.](#), [Hentemann, M.](#), [Osmers, R.](#), et al. (1990) Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet* 47:656
- Engel, E., Antonarakis, S.E. (2002) *Genomic Imprinting and Uniparental Disomy in Medicine: Clinical and Molecular Aspects*. Wiley-Liss, New York
- Flemming, W. (1882) Beitrage zur Kenntniss der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. *Arch Mikrosk Anat Entwickl* 20:1
- Frezal, J., Schinzel A. (1991) Report of the committee on clinical disorders, chromosome aberrations and uniparental disomy. *Cytogenet Cell Genet* 58:986
- Gabriel, J.M., Higgins, M.J., Gebuhr, T.C., Shows, T.B., Saitoh, S., Nicholls, R.D. (1998) A model system to study genomic imprinting of human genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 14857
- Gartner, A.B., Barrett, I.J., Kalousek, D.K. (1988) Confined placental mosaicism in spontaneous abortions. *Am J Hum Genet* 43:A130
- Gilbert-Barness, E., Opitz, J.M., Barness, L.A. (1989) The pathologist's perspective of genetic disease: malformations and dysmorphology. *Pediatr Clin North Am* 36:163
- Goh, D.L.M. (2001) Approach to a dysmorphic individual. Paediatric shared care programme. *Bulletin* 17
- Goud, M.T., Al-Harassi, S.M., Al-Khalili, S.A., Al-Salmani, K.K., Al-Busaidy, S.M., Rajab, A. (2005) Incidence of chromosome abnormalities in the Sultanate of Oman. *Saudi Med J* 26:1951–1957.
- Groupe de Cytogénééticiens Francais. (1986) Pericentric inversions in man: a French collaborative study. *Am Genet* 29:129
- Gupta, N., Kabra, M. (2007) Approach to a dymorphic child. 1st National Conference on Neurogenetics - Conference Abstracts. *Pediatric Oncall [serial online]* 2007 [cited 15 February 2007(Supplement 2)];4
- Hall, J.G. (1990) Genomic imprinting: review and relevance to human diseases. *Am J Hum Genet* 46:857
- Hanna, J.S., Shires, P., Matile, G. (1997) Trisomy 1 in a clinically recognized pregnancy. *Am J Med Genet* 68:98
- Happle, R. (1985) Lyonization and the lines of Blaschko. *Hum Genet* 70:200
- [Harbison, M.](#), [Hassold, T.](#), [Kobryn, C.](#), [Jacobs, P.A.](#) (1988) Molecular studies of the parental origin and nature of human X isochromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 47:217
- Hassold, T.J. (1985) The origin of aneuploidy in humans. In: *Aneuploidy, Etiology and Mechanisms*. VL Dellarco, PE Voytek, A Hollaender, eds. Plenum Press, New York, 1985, p 103.
- Hassold, T., Chen, N., Funkhouser, J., Jooss, T., Manuel, B., Matsuura, J., Matsuyama, A., Wilson, C., Yamane, J.A., Jacobs, P.A. (1980) A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. *Ann Hum Genet* 44:151
- Holmes, L.B. (1976) Congenital malformations. *N Engl J Med* 295:204
- Hsu, L.Y.F. (1998) Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities through amniocentesis. In: *Genetic Disorders of the Fetus. Diagnosis, Prevention and Treatment*, ed 4. Milunsky A, ed. John Hopkins Univ Press, Baltimore, p 179.
- Hunter, A.G. (2002) Medical genetics: 2. The diagnostic approach to the child with dysmorphic signs. *CMAJ*. 167:367-72

- Iourov, I.Y., Vorsanova, S.G., Yurov, Y.B. (2008) Chromosomal mosaicism goes global. *Mol Cytogenet* 1:26.
- Iourov, I.Y., Vorsanova, S.G., Yurov, Y.B. (2012) Somatic Genome Variations. eLS
- Jacky, P. (1991) Fragile X and other heritable fragile sites on human chromosomes. In: *The ACT Cytogenetics Laboratory Manual*, ed 2. Barch MJ, ed. Raven Press, New York, p 489
- Johnson, K.C. Rouleau, J. (1997) Temporal trends in Canadian birth defects prevalences, 1979–1993. *Can J Public Health* 88:169
- Jones, K.L. (1997) Introduction including dysmorphology approach and classification. In: Jones KL, ed. *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformations*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; p.1-7.
- [Kajii, T., Ferrier, A., Niikawa, N., Takahara, H., Ohama, K., Avirachan, S.](#) (1980) Anatomic and chromosomal anomalies in 639 spontaneous abortuses. *Hum Genet* 55:87
- Ka'ille'n, B. (1987) Population surveillance of multimalformed infants: experience with the Swedish registry of congenital malformations. *J Hum Genet* 35:205
- Kalousek, D.K., Barrett, I.J., McGillivray, B.C. (1989) Placental mosaicism and intrauterine survival of trisomies 13 and 18. *Am J Hum Genet* 44:338
- Kalousek, D.K., Dil, F.J. (1983) Chromosomal mosaicism confined to the placenta in human conceptions. *Science* 221:665
- Kenue, R.K., Raj A.K., Harris, P.F., el-Bualy, M.S. (1995) Cytogenetic analysis of children suspected of chromosomal abnormalities. *J Trop Pediatr* 41:77–80.
- Kim, S.S., Jung, S.C., Kim, H.J., Moon, H.R., Lee, J.S. (1999) Chromosome abnormalities in a referred population for suspected chromosomal aberrations: a report of 4117 cases. *J Korean Med Sci* 14:373–376.
- Kleczkowska, A., Fryns, J.P., Van den Berghe, H. (1987) Pericentric inversions in man: personal experience and review of the literature. *Hum Genet* 75:333
- [Koolen, D.A., Nillesen, W.M., Versteeg, M.H., Merckx, G.F., Knoers, N.V., Kets, M., Vermeer, S., van Ravenswaaij, C.M., de Kovel C.G., Brunner, H.G., Smeets, D., de Vries, B.B., Sijdermans, E.A.](#) (2004) Screening for subtelomeric rearrangements in 210 patients with unexplained mental retardation using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA). *J Med Genet* 41:892
- Knowlton, R.G., Weaver, E.J., Struyk, A.F., Knobloch, W.H., King, R.A., Norris, K., Shamban, A., Uitto, J., Jimenez, S.A., Prockop, D.J. (1989) Genetic linkage analysis of hereditary arthro-ophthalmopathy (Stickler syndrome) and the type II procollagen gene. *Am J Hum Genet* 45:681
- [Krepischi-Santos, A.C., Vianna-Morgante, A.M., Jehee, F.S., Passos-Bueno, M.R., Knijnenburg, J., Szuhai, K., Sloos, W., Mazzeu, J.F., Kok, F., Cheroki, C., Otto, P.A., Mingroni-Netto, R.C., Varela, M., Koiffmann, C., Kim, C.A., Bertola, D.R., Pearson, P.L., Rosenberg, C.](#) (2006) Whole-genome array-CGH screening in undiagnosed syndromic patients: old syndromes revisited and new alterations. *Cytogenet Genome Res* 115:254–261.
- Kulesh DA, Clive DR, Zarlenga DS, Greene JJ (1987). Identification of interferon-modulated proliferation-related cDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 (23): 8453–8457
- [Langer, L.O. Jr., Krassikoff, N., Laxova, R., Scheer-Williams, M., Lutter, L.D., Gorlin, R.J., Jennings, C.G., Day, D.W.](#) (1984) The tricho-rhino-phalangeal syndrome with exostoses: four additional patients without mental retardation, and review of the literature. *Am J Med Genet* 19:111
- Lashkari DA, DeRisi JL, McCusker JH, Namath AF, Gentile C, Hwang SY, Brown PO, Davis RW (1997). Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (24): 13057–13062.

- Lejeune, J. (1959) Le mongolisme. Premier exemple d'aberration autosomique humaine. *Ann Genet Semaine Hop* 1:41
- Leppig, K.A., Werler, M.M., Cann, C.I., Cook, C.A., Holmes, L.B. (1987) Predictive value of minor anomalies. I. Association with major malformations. *J Pediatr* 110:531
- [Lestou, V.S.](#), [Desilets, V.](#), [Lomax, B.L.](#), [Barrett, I.J.](#), [Wilson, R.D.](#), [Langlois, S.](#), [Kalousek, D.K.](#) (2000) Comparative genomic hybridization: a new approach to screening for intrauterine complete or mosaic aneuploidy. *Am J Med Genet* 92:281
- Lucito R, John Healy, Joan Alexander, Andrew Reiner, Diane Esposito, Maoyen Chi, Linda Rodgers, Amy Brady, Jonathan Sebat, Jennifer Troge, Joseph A. West, Seth Rostan, Ken C.Q. Nguyen, Scott Powers, Kenneth Q. Ye, Adam Olshen, Ennapadam Venkatraman, Larry Norton, Michael Wigler. (2003) Representational oligonucleotide microarray analysis: A high-resolution method to detect genome copy number variation. *Genome Research* 13, 2291–2305
- Marden, P.M., Smith, D.W., McDonald, M.J. (1964) Congenital anomalies in the newborn infant, including minor variations. *J Pediatr* 64:357.
- McKusick, V.A. (1998) Mendelian Inheritance in Man. A Catalog of Human Genes and Genetic Disorders, ed 12. Johns Hopkins University Press, Baltimore
- McKusick, V.A. (1969) On lumpers and splitters, or the nosology of genetic disease. *BDOAS* V(1):23
- Mehes, K., Stalder, G. (1983) Minor Malformations in the Neonate. Akadémiai Kiadó, Budapest
- [Menten, B.](#), [Maas, N.](#), [Thienpont, B.](#), [Buysse, K.](#), [Vandesompele, J.](#), [Melotte, C.](#), [de Ravel, T.](#), [Van Vooren, S.](#), [Balikova, I.](#), [Backx, L.](#), [Janssens, S.](#), [De Paepe, A.](#), [De Moor, B.](#), [Moreau, Y.](#), [Marynen, P.](#), [Fryns, J.P.](#), [Mortier, G.](#), [Devriendt, K.](#), [Speleman, E.](#), [Vermeesch, J.R.](#) (2006) Emerging patterns of cryptic chromosomal imbalance in patients with idiopathic mental retardation and multiple congenital anomalies: a new series of 140 patients and review of published reports. *J Med Genet*. 43:625-33.
- Merlob, P., Papier, C.M., Klingberg, M.A., Reisner, S.H. (1985) Incidence of congenital malformations in the newborn, particularly minor abnormalities. *Prog Clin Biol Res* 163(C):51
- Myriantopoulos, N.C., Chung, C.S. (1974) Congenital malformation in singletons: epidemiologic survey. *BDOAS* X(11):1
- National Birth Defects Prevention Network. (2003) Birth defects surveillance data from selected states, 1996–2000. *Birth Def Res (Part A) Clin Mol Teratol* 67:729
- [Nicholls, R.D.](#), [Knoll, J.H.](#), [Butler, M.G.](#), [Karam, S.](#), [Lalande, M.](#) (1989) Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in non-deletion Prader-Willi syndrome. *Nature* 342:281
- [Opitz, J.M.](#), [Herrmann, J.](#), [Pettersen, J.C.](#), [Bersu, E.T.](#), [Colacino, S.C.](#) (1979) Terminological, diagnostic, nosological, and anatomical-developmental aspects of developmental defects in man. *Adv Hum Genet* 9:71
- Pai, G.S., Lewandowski, R.C., Borgaonkar, D.S. (2003) Handbook of Chromosomal Syndromes. John Wiley & Sons, Hoboken
- [Parry, D.M.](#), [Mulvihill, J.J.](#), [Tsai, S.E.](#), [Kaiser-Kupfer, M.I.](#), [Cowan, J.M.](#) (1986) SC phocomelia syndrome, premature centromere separation, and congenital cranial nerve paralysis in two sisters, one with malignant melanoma. *Am J Med Genet* 24:653
- Pinkel, D., Segreaves, R., Sudar, D., Clark, S., Poole, I., Kowbel, D., Collins, C., Kuo, W.L., Chen, C., Zhai, Y., Dairkee, S.H., Ljung, B.M., Gray, J.W., Albertson, D.G. (1998) High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nat Genet* 20:207



- Pinsky, L. (1977) The polythetic (phenotypic community) system of classifying human malformation syndromes. *BDOAS XIII(3A):13*
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, Jeffrey SS, Botstein D, Brown PO. (1999) Genom-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat. Genet.* 23(1): 41-46
- Porter, I.H., Hook, E.B. (1980) *Human Embryonic and Fetal Death*. Academic Press, New York
- Preece, M.A., Price, S.M., Davies, V., Clough, L., Stanier, P., Trembath, R.C., Moore, G.E. (1997) Maternal uniparental disomy 7 in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 70:328
- [Queisser-Luft, A., Stolz, G., Wiesel, A., Schlaefer, K., Spranger, J.](#) (2002) Malformations in newborn: results based on 30,940 infants and fetuses from the Mainz congenital birth defect monitoring system (1990–1998). *Arch Gynecol Obstet* 266:163
- [Reish, O., Lerer, I., Amiel, A., Heyman, E., Herman, A., Dolfin, T., Abeliovich, \(2002\) D.](#) Wiedemann-Beckwith syndrome: further prenatal characterization of the condition. *Am J Med Genet* 107:209
- Roberts, J.A.F. (1961) Multifactorial inheritance in relation to normal and abnormal human traits. *Br Med Bull* 17:241
- Rosenberg, C., Knijnenburg, J., Bakker, E., Vianna-Morgante, A., Sloos, W.C., Otto, P.A., Kriek, M., Hansson, K., Krepisch-Santos, A.C., Fiegler, H., Carter, N.P., Bijlsma, E.K., van Haeringen, A., Szuhai, K., Tanke, H.J. (2006) Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: Clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. *J Med Genet* 43:180–6.
- Rosenfeld, R.G., Grumbach, M.M. (1990) *Turner Syndrome*. Marcel Dekker, New York
- Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. (2007). [The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future](#). *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 145C(4):335-45.
- [Saccone S, De Sario A, Della Valle G, Bernardi G.](#) (1992) The highest gene concentrations in the human genome are in telomeric bands of metaphase chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89, 4913–4917
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270 (5235): 467–470.
- Schinzel, A. (1988) Microdeletion syndromes, balanced translocations, and gene mapping. *J Med Genet* 25:454
- Schinzel, A. (2001) *Catalogue of Unbalanced Chromosome Aberrations in Man*, ed 2. Walter de Gruyter, Berlin
- Schmickel, R.D. (1986) Contiguous gene syndromes: a component of recognizable syndromes. *J Pediatr* 109:231
- Schmutz, S.M., Pinno, E. (1986) Morphology alone does not make an isochromosome. *Hum Genet* 72:253
- [Schoumans, J., Ruivenkamp, C., Holmberg, E., Kyllerman, M., Anderlid, B.M., Nordenskjöld, M.](#) (2005) Detection of chromosomal imbalances in children with idiopathic mental retardation by array based comparative genomic hybridisation (array-CGH). *J Med Genet* 42:699–705.
- Schwartz, S., Graf, M.D. (2002) Microdeletion syndromes: characteristics and diagnosis. In: *Molecular Cytogenetics. Protocols and Applications*. Fan Y-S, ed. Humana Press, Totowa NJ, p. 275
- Shah, V.C., Murthy, D.S., Murthy, S.K. (1990) Cytogenetic studies in a population suspected to have chromosomal abnormalities. *Indian J Pediatr* 57:235–243.

Shaw-Smith, C., Redon, R., Rickman, L., Rio, M., Willatt, L., Fiegler, H., Firth, H., Sanlaville, D., Winter, R., Colleaux, L., Bobrow, M., Carter, N.P. (2004) Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/ mental retardation and dysmorphic features. *J Med Genet* 41:241–8.

Shiota, K., Uwabe, C., Nishimura, H. (1987) High prevalence of defective human embryos at the early postimplantation period. *Teratology* 35:309

Smith, D.W. (1975) Classification, nomenclature, and naming of morphologic defects. *J Pediatr* 87:162

Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, Cremer T, Lichter P. (1997) Matrix-based comparative genomic hybridisation: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 20(4):399-407

[Spranger, J.](#), [Benirschke, K.](#), [Hall, J.G.](#), [Lenz, W.](#), [Lowry, R.B.](#), [Opitz, J.M.](#), [Pinsky, L.](#), [Schwarzacher, H.G.](#), [Smith, D.W.](#) (1982) Errors of morphogenesis: concepts and terms. Recommendations of an international working group. *J Pediatr*. 100:160-5

Stevenson, R.E., Hall, J.G. (2006) Human malformations and related anomalies. Oxford University Press.

Stoll, C., Eurocat Working Group. (1995) Distribution of single organ malformations in European populations. *Ann Genet* 38:32

Sutherland, GR. (1979) Heritable fragile sites on human chromosomes. I. Factors affecting expression in lymphocyte culture. *Am J Hum Genet* 31:125

[Tabet, A.C.](#), [Aboura, A.](#), [Dauge, M.C.](#), [Audibert, F.](#), [Coulomb, A.](#), [Batallan, A.](#), [Couturier-Turpin, M.H.](#), [Feldmann, G.](#), [Tachdjian, \(2001\) G.](#) Cytogenetic analysis of trophoblasts by comparative genomic hybridization in embryo-fetal development anomalies. *Prenat Diagn* 21:613.

Taçoý, Ş., Mihçı, E. (2005) Konjenital Anomalilere Güncel Yaklaşım Türkiye Klinikleri *J Pediatr Sci* 1:48-55

Therman, E. (1986) Human Chromosomes, Structure, Behavior, Effects, ed 2. Springer-Verlag, New York.

Tjio, J.H., Leyan, A. (1956) The chromosome number of man. *Hereditas* 42:1

Tsipouras, P., Ramirez, F. (1987) Genetic disorders of collagen. *J Med Genet* 24:2

Tunçbilek, E., Boduroğlu, K., Alikayıfoğlu, M. (1999) Results of the Turkish congenital malformation survey.. *Turk J Pediatr*;41(3):287-97

van Dyke, D.L. (1988) Isochromosomes and interstitial tandem direct and inverted duplications. In: *The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements*. A Daniel, ed. AR Liss, New York, p 635.

van Ommen, G.J. (2005) Frequency of new copy number variation in humans. *Nat Genet* 37:333–4.

Van Regemorter, N., Dodion, J., Druart, C. (1984) Congenital malformations in 10,000 consecutive births in a university hospital: need for genetic counseling and prenatal diagnosis. *J Pediatr* 104:386

Visser, L.E., de Vries, B.B., Osoegawa, K., Janssen, I.M., Feuth, T., Choy, C.O., Straatman, H., van der Vliet, W., Huys, E.H., van Rijk, A., Smeets, D., van Ravenswaaij-Arts, C.M., Knoers, N.V., van der Burgt, I., de Jong, P.J., Brunner, H.G., Geurts van Kessel, A., Schoenmakers, E.F., Veltman, J.A. (2003) Array-based comparative genomic hybridization for the genome-wide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *Am J Hum Genet* 73:1261–70.

Vorsanova, S.G., Yurov, Y.B., Iourov, I.Y. (2010) Human interphase chromosomes: a review of available molecular cytogenetic technologies. *Mol Cytogenet* 3:1.

Waardenburg, P.J. (1932) *Das menschliche Auge und seine Erbanlagen*. Martinus Nijhoff, Haag

Warburton, D. (1987) Chromosomal causes of fetal death. Clin Obstet Gynecol 30:268

Wyandt, H.E. (1988) Ring autosomes: identification, familial transmission, causes of phenotypic effects and in vitro mosaicism. In: The Cytogenetics of Mammalian Autosomal Rearrangements. A Daniel, ed. AR Liss, New York, p 667

Yunis, J.J. (2002) High resolution of human chromosomes. Science 191:1268, 1976.; Biesecker LG: The end of the beginning of chromosome ends. Am J Med Genet 107:263

<http://drugline.org/medic/term/dysmorphology/>;[http://en.wikipedia.org/wiki/David\\_Weyhe\\_Smith](http://en.wikipedia.org/wiki/David_Weyhe_Smith)

[www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint\\_ABCD.jpg](http://www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint_ABCD.jpg)

[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Array-CGH\\_protocol.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Array-CGH_protocol.svg)

<http://www.pathology.med.umich.edu/handbook/details.php?testID=4760>



## ÖZGEÇMİŞ

### 1. Bireysel Bilgiler

- Adı Soyadı: Deniz SÜNNETÇİ
- Doğum yeri ve tarihi: İZMİT 06.01.1984
- Uyuşu: T.C.
- Çalıştığı kurum: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.
- İletişim Adresi ve telefonu: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası Tıbbi Genetik A.D. 41380 İzmit-KOCAELİ      Tel: (262) 303 88 53

### 2. Eğitimi

#### EĞİTİM DURUMU

- 2010-... : Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji A.B.D. Doktora Programı
- 2009-2010 : Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji A.B.D. Yüksek Lisans Programı  
(Tez: Zeka geriliğine neden olan delesyon ve duplikasyonların tam genom mikroarray metoduyla belirlenmesi)
- 2003- 2007 : Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi  
Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü  
(Fen -Edebiyat Fakülte İkincisi, GNO: 3,69/4)
- 1999-2002 : Kocaeli Anadolu Lisesi

#### STAJLAR

- 01/ 07/2007- 01/ 09/2007 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Genetik A.B.D.
- 01/ 07/2006- 28/ 07/2006 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji A.B.D.
- 20/ 06/2005- 22/ 07/2005 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji A.B.D

#### YABANCI DİL

İngilizce

#### ALDIĞI EĞİTİMLER

- 09/07/2012-27/07/2012 : Visiting Scholar (Yeni Nesil Dizileme Kursu)  
Leuven Katolik Üniversitesi Genetik Departmanı

- Belçika
- 25/10/2011-28/10/2011 : [4th Course in Integration of cytogenetics,](#)  
microarrays and massive sequencing in  
biomedical and clinical research-European  
Genetics Foundation-Italy
- 01/12/2010-05/12/2010 : Kalıtım modelleri, klinik genetik ve genetik danışma  
kursları-9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi-Türkiye
- 23/10/2009- 29/10/2009 : Microarray Training Course- Oxford Gene  
Technology- İngiltere
- 06/04/2009- 06/04/2009 : Deney Hayvanları Kullanımı Sertifika  
Kursu- Kocaeli Üniversitesi- Türkiye
- 07/02/2008- 08/02/2008 : MLPA (Dizi Analizi) Uygulaması-  
Kocaeli Üniversitesi- Türkiye
- 16/11/2007- 20/12/2007 : Sitogenetik Eğitimi ( CGH, FISH,  
Karyotip Analizi)- Semmelweis Üniversitesi-  
Macaristan

### 3. Unvanları

2010-... : Uzm. Biyolog

2007- 2010 : Biyolog

### 4. Mesleki Deneyimi

-BAC ve oligo tabanlı array CGH deney ve analizleri

-Polar cisimcik ve blastomer örneklerinde BAC tabanlı array CGH yöntemiyle  
preimplantasyon genetik tarama

-Kan ve doku örneklerinde gen ekspresyon mikroarray çalışmaları, network ve pathway  
analizleri

- GeneSpring GX, Ingenuity Pathway Analysis ve DAVID programları ile biyoinformatik  
analizler

-Kantitatif Real Time PCR ile GDO taramaları

### 5. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Tıbbi Genetik Derneği

### 6. Bilimsel Etkinlikler

#### Kongre Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Hakan Savlı, Naci Çine, **Deniz Sünnetçi**, Ömer Kurtaş, Emel Gönüllü, Abdullah Hacihanefioğlu. Quatification of Eight Genes (Bcl2, Bcl-Xl, Bcl-W, Bax, Bik, Myc, Cyclin D1, Cyclin D2) in Chronic Myeloid Leukemia. (24/ 02/2008- 27/02/2008 2. International Symposium of Multidisciplinary Cancer Research, Poster Presentation)

Savlı H, Çine N, **Sünnetçi D**, Üzülmez N, Nagy B, Galimberti S, Baysal K, Limpai boon T, Limtrakul P. Gene Network And Canonical Pathway Analysis In Hematopoietic And Soft Tissue Originated Malignancies: A Microarray Experience Of Medical Genetics Department Of Kocaeli University In 2007-2008. (8. Turkish-German Gynecology Congress Antalya 29/04/2009-03/05/2009)

Hakan Savlı, Naci Çine, Bülent Kara, **Deniz Sünnetçi**, Esen Gümü şlü, Nilüfer Üzülmez, Zeynep Ünal, Buket Engüzel. Genomic Analysis in Angelman Syndrome by Using Array Based Comperative Genomic Hybridization Technology (array CGH). (28-31 October 2009 XI. National Medical Biology and Genetics Congress.)

Balint Nagy, Norbert Sipos, Naci Cine, **Deniz Sunnetci**, Andras Szanto, Attila Demeter, Janos Rigo Jr, Hakan Savli. Gene Expression in Ovarian Cancer. (April 29-May 3 2009 8. International Congress of the Turkish-German Gynecological Education and Research Foundation)

Hakan SAVLI, Naci Çine, **Deniz Sünnetçi**, Nilüfer Üzülmez, Balint Nagy, Sara Galimberti, Kemal Baysal, Temduang Limpai boon, Pornngarm Llimtrakul. “Gene network and Canonical pathway analysis in heamatopientic and soft tissue originated malignancies: A Microarray experience of Medical Genetics Department of Kocaeli University in 2007-2008 (Oral presentation). 8<sup>th</sup> INCTR Meeting on Cancer in Countries with Limited Resources, Antalya, Turkey, 2009.

R. Akkoyunlu, B. Enguzel, N. Cine, **D. Sunnetci**, N. Uzulmez, S. Eren, E.Gumuslu, Z. Ilkay, D. Yavuz, Hakan SAVLI. Diagnostic value of a-CGH method for recurrent miscarriage and implantation failures. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

S. Eren, N. Cine, **D. Sunnetci**, N. Uzulmez, E. Gumuslu, B. Enguzel, R. Akkoyunlu, Z. Ilkay, D. Yavuz, B. Dal, Hakan SAVLI. Detection of genetic abnormalities by array comparative genomic hybridization for fetal tissues. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

Hakan SAVLI, N Cine, DF Gluzman, **D Sunnetci**, LM Sklyarenko, VA Nadgorna, MP Zavalevych, SV. Koval. Cytomorphological, immunocytochemical and molecular biological features of leukemias exposed to ionizing radiation. (Poster presentation) 36th National Haematology Congress, Antalya, 2010.

N Cine, I Tarkun, Z Canturk, Y Gurbuz, **D Sunnetci**, Hakan SAVLI. Whole genome expression, canonical pathway and gene network analysis in the cases of papillary thyroid cancer. (Poster presentation) 9th National Medical Genetics Congress, İstanbul, 2010.

N Cine, **D Sunnetci**, T Limpai boon, Hakan SAVLI. Gene network and canonical pathway analysis in early and late phase response and non-response to therapy in cervical cancer. (Poster presentation) 9th National Medical Genetics Congress, İstanbul, 2010.

Z Ilkay, N Cine, D Yavuz, B Dal, N Uzulmez, **D Sunnetci**, E Gumuslu, B Enguzel, S Eren, RU Akkoyunlu, Hakan SAVLI. Detection of MEFV gene mutation frequency patients Familial Mediterreanean Fever (FMF) in Kocaeli region. (Poster presentation) 9th National Medical Genetics Congress, İstanbul, 2010.

D Yavuz, N Cine, Z Ilkay, B Dal, N Uzulmez, **D Sunnetci**, E Gumuslu, B Enguzel, S Eren, R Akkoyunlu, Hakan SAVLI. Mutations frequency of the thrombosis risk factor genes in habituel abortus patients in the region of Kocaeli. (Poster presentation) 9th National Medical Genetics Congress, İstanbul, 2010.

E Gumuslu, N Cine, B Kara, **D Sunnetci**, N Uzulmez , B Enguzel, S Eren, R Akkoyunlu, Z Ilkay, D Yavuz, Hakan SAVLI. Application of array cgh method in two 18q21.31-q23 deletion patients.(Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

N. Cine, **D. Sunnetci**, P. Limtrakul, Hakan SAVLI. Effects of curcumin on global gene expression profile in the highly invasive human breast carcinoma cell line MDA-MB 231.(Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

Hakan SAVLI, **D. Sunnetci**, E. Caliskan, N. Cine. Fast screening of chromosomal aneuploidies for in vitro fertilization improvement on preimplantation genetic diagnosis samples. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

Hakan SAVLI, **D. Sunnetci**, N. Uzulmez, E. Gumuslu, S. Eren, B. Enguzel, R. Akkoyunlu, D. Yavuz, Z. Ilkay, N. Cine. Diagnostic use of targeted array CGH platforms: 2009-2010 Kocaeli University Experience. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

**D. Sunnetci**, N. Cine, B. Kara, S. Eren, B. Enguzel, Hakan SAVLI. Detection of deletions and duplications that cause mental retardation by whole genome array CGH. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

N. Uzulmez, N. Cine, **D. Sunnetci**, E. Gumuslu, B. Enguzel, S. Eren, Z. Ilkay, D. Yavuz, R. Akkoyunlu, Hakan SAVLI. HTFA (High - Throughput FISH Analysis): A new sensitive approach to screen hematological malignancies. (Poster presentation) European Human Genetics Conference, Amsterdam, 2011.

Mutlu O, **Sunnetci D**, Gumuslu E, Celikyurt I.K, Cine N, Savli H, Ulak G. Effects of Tianeptine and Olanzapine on learning and memory in unpredictable chronic mild stress applied mice. (Poster presentation) 21<sup>st</sup> National Congress of Pharmacology, Eskişehir, 2011.

E. Gumuslu, N. Cine, **D. Sunnetci**, B. Kara, R. Akkoyunlu, S. Eren, H. Savli. Phenotypic Evaluation of 8q11.1-q11.23 Deletion In a Mental Retardation Patient (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

D. Yavuz, N. Uzulmez, **D. Sunnetci**, N. Cine, H. Savli. The simultaneous usage of BAC based high throughput FISH analysis and the Real-Time PCR technology at the diagnosis

of the adult myeloid leukemia cases. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

H. Savli, **D. Sunnetci**, N. Cine, D. Gluzman, M. Zavelevich, L. Sklyarenko, V. Nadgornaya, S. Koval. Gene expression profiling of B-CLL in Ukrainian patients exposed to low doses of ionizing radiation in post-Chernobyl period. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

**D. Sunnetci**, N. Canturk, N. Cine, C. Ercin, T. Simsek, H. Savli. Whole genome expression, canonical pathway and gene network analysis in breast cancer. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

Z. Ilkay, N. Cine, **D. Sunnetci**, N. Uzulmez, D. Yavuz, H. Savli. A new combined approach at the diagnosis of childhood Acute Lymphoblastic Leukemia patients: Real Time PCR and BAC based high throughput FISH analysis. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

N. Cine, I. Tarkun, N. Canturk, Y. Gurbuz, **D. Sunnetci**, H. Savli. Whole genome expression, canonical pathway and gene network analysis in the cases of papillary thyroid cancer. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

S. Eren, N. Çine, B. Doğruoğlu, Z. İlkey, R. U. Akkoyunlu, E. Gümüşlü, **D. Sünnetçi**, H. Savlı. Incidence And Clinical Significance Of Pericentric Inversion Of Chromosome 9. (Poster presentation) [European Human Genetics Conference, June 23-26 2012](#), Nurnberg, Germany

E Sever, **D Sünnetçi**, İ Yücesoy, N Çine, N Üzülmez, H Savlı. Significance of chromosomal deletions and duplications, k-ras, her-2/neu mutations in the etiology of endometrial cancer. (Poster presentation) IV. Multidisciplinary Cancer Research Congress, December 13-16 2012, Bursa, Turkey

## 7. Yayınlar

Hakan Savlı, Seda Eren, Nilüfer Üzülmez, Zeynep İlkey, Duygu Yavuz, **Deniz Sünnetçi**, Abdullah Hacıhanefioğlu, Naci Çine. High Throughput FISH Analysis. A New, Sensitive Option For Evaluation Of Haematological Malignancies. Turk J Hematol (In Press)

Naci Cine, Esen Ulak Gumuslu, **Deniz Sunnetci**, Seda Eren, Buket Dogruoglu, Ramiz Ufuk Akkoyunlu, Bulent Kara, Hakan Savli. De novo deletions of the 18q21.31 region in patients with mental retardation and facial dysmorphism: a case series. J Med Case Rep. (In Press)

Özgür Mehtap, Elif Birtaş Ateşoğlu, Pınar Tarkun, Emel Gönüllü, Hakan Keski, Yıldırım Topçu, Nilüfer Üzülmez, **Deniz Sünnetçi**, Abdullah Hacıhanefioğlu. The Association Between Gene Polymorphisms and Leukocytosis with Thrombotic Complications in Patients with Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera. Turk J Hematol 2012;29:162-169



Cine N, Limtrakul P, **Sunneci D**, Nagy B, Savli H. [Effects of curcumin on global gene expression profiles in the highly invasive human breast carcinoma cell line MDA-MB 231: A gene network-based microarray analysis.](#) Exp Ther Med. 2013 Jan;5(1):23-27. Epub 2012 Oct 19.

Savli H, **Sunneci D**, Cine N, Gluzman DF, Zavelevich MP, Sklyarenko LM, Nadgornaya VA, Koval SV. [Gene expression profiling of B-CLL in Ukrainian patients in post-Chernobyl period.](#) Exp Oncol. 2012;34(1):57-63.

Malbora B, Meral C, Malbora N, **Sunneci D**, Cine N, Savli H. [A case of del\(13\)\(q14.2\)\(q31.3\) associated with hypothyroidism, hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia and total ophthalmoplegia.](#) Gene. 2012 Feb 22.

Colak T, Cine N, Bamac B, Kurtas O, Ozbek A, Bicer U, **Sunneci D**, Savli H. [Microarray-based gene expression analysis of an animal model for closed head injury.](#) Injury. 2012 Feb 15.

Hakan SAVLI, DF. Gluzman, **D. Sünneci**, MP. Zayevich, LM. Sklyarenko, VA. Nadgornaya, SV Koyal. Quantitative real time PCR analysis of apoptosis-related gene expression in leukemias in ukrainian patients. Exp Oncol. (2011) Jun;33(2):104-6.

## 8. Projeler

Türk toplumunda prostat tümörlerine genomik yaklaşımlar: Bir array CGH ve gen anlatımları çalışması. Nazım Mutlu, Hakan Savlı, Naci Çine, Ramis Ufuk Akkoyunlu, Seyfettin Çiftçi, Esen Gümüşlü, Seda Eren, **Deniz Sünneci**. (Kocaeli Üniversitesi BAP-2012/61)

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMA ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU**

ETİK KURULUN ADI	KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
AÇIK ADRES	Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Birimi Umuttepe Yerleşkesi /KOCAELİ
TELEFON	0262 303 71 64
FAKS	0262 303 74 63
E-POSTA	etikkurul@kocaeli.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	BAC tabanlı array CGH uygulamalarının dismorfik olgulardaki tanısal değeri		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜNÜN KODU	KOU KA EK 2012/58		
	EUDRACT NUMARASI			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Uzm. Biyolog Deniz SÜNNETÇİ		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Doktora Öğrencisi		
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr. Naci ÇİNE (Danışman)		
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI	Tıbbi Genetik		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	KOU Tıp Fak. Tıbbi Genetik AD		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	Umuttepe Yerleşkesi Üçtepeliler/İZMİT		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	-		
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ	-		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	

ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>
	FAZ 2	<input type="checkbox"/>
	FAZ 3	<input type="checkbox"/>
	FAZ 4	<input type="checkbox"/>
	BE/BY	<input type="checkbox"/>
	DİĞER	<input type="checkbox"/> Diğer ise belirtiniz:

ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	İL AÇIŞIRMA	DIŞI <input checked="" type="checkbox"/>	Belirtiniz:RETROSPEKTİF DOKTORA TEZİ
	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/> ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	14.12.2012			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
OLGU RAPOR FORMU				Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	-
SİGORTA	<input type="checkbox"/>	-	
HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>	-	
İLAN	<input type="checkbox"/>	-	
YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	-	
SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	-	
GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	-	
DİĞER	<input type="checkbox"/>	-	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2/2	Proje No: KOU KAEK 2012/58	Tarih : 15.01.2013
	Uzm.Biyolog Deniz SÜNNETÇİ'nin Doktora tez başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve Kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı'na arzına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy çokluğu ile karar verilmiştir.		

**ETİK KURUL BİLGİLERİ**

ÇALIŞMA ESASI	Hasta Hakları Yönetmeliği (01.08.1998/23420), Helsinki Bildirgesi (2008), İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu (Aralık 2011)GCP-Guideline for Good Clinical Practice (10 Haziran 1996)İnsan Denekleri İçeren Biyomedikal Araştırmaların Uluslar arası Rehber Kuralları (CIOMS, 2002), Biyotıp Araştırmalarına İlişkin İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesine Ek Protokolün Onaylanmasının Uygun Bulunduğuna Dair Kanun (10 Mart 2011/6212), Biyoloji ve Tıbbın Uygulanması Bakımından İnsan Hakları ve İnsan Haysiyetinin Korunması Sözleşmesi: İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesi (4 Nisan 1997), Ek Madde -10 (6 Nisan 2011, 6225) Resmi Gazetede 19 Ağustos 2011 tarih ve 28030 sayı ile yayınlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik
---------------	---

**ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI:** KOU TF Tıp Tarihi ve Etik AD./PROF. DR. NERMIN ERSOY  
**ETİK KURUL ÜYELERİ**

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsi yet	İlişki *		Katılım **		İmza
Prof. Dr. Nermin ERSOY Başkan	Tıp Tarihi ve Etik	KOU TF Tıp Tarihi ve Etik AD.	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	N. Ersoy
Prof.Dr. Dilek URAL Başkan Yard.	Kardiyoloji	KOU TF Kardiyoloji AD	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	W. Dilek
Prof. Dr. B.Faruk ERDEN Üye	Farmakoloji	KOU TF Farmakoloji AD.	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gülcan TÜRKER Üye	Pediyatri	KOU TF Çocuk Sağlığı ve Hast. AD.	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Berna Ayakta ŞERİFi Üye	Halk Sağlığı	Izmit 1 Nolu AÇSAP	K	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	Katılmad
Yard.Doç.Dr.Ayşe KARSON Raportör	Fizyoloji	KOU TF Fizyoloji AD	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hale MARAL KIR Üye	Biokimya	KOU TF Biokimya AD.	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Yavuz Gürkan Üye	Anestezi ve Reanimasyon	KOU Tıp fak.	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm.Dr.Murat GÜVEN Üye	Genel Cerrahi	Kocaeli Derince Eğt. Arş Hastanesi	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Av. Ersayın IŞIK Üye	Avukat	Kocaeli Barosu	E	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Seval BİZEL Üye	Hasta Hakları Temsilcisi	Ev Hanımı	K	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	S. Bizel

\* :Araştırma ile İlişki

\*\* :Toplantıda Bulunma