

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

(YÜKSEK LİSANS)

**KONOTRUNKAL KALP ANOMALİSİ ve DİSMORFİK
BULGULARI OLAN ÇOCUKLARDA FİSH YÖNTEMİ
KULLANILARAK 22q11.2 DELESYON SIKLIĞININ
ARAŞTIRILMASI**

BİO. ÖZLEM KAYA

**DANIŞMAN
PROF. DR. BEYHAN TÜYSÜZ**

GENETİK ANABİLİM DALI/GENETİK PROGRAMI

İSTANBUL-2006

TEZ ONAYI

Aşağıda tanıtımı yapılan tez, jüri tarafından başarılı bulunarak Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

/ /

Prof.Dr.Emine Kökoğlu
Enstitü Müdürü

Kurum : İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Program Adı : Genetik Programı/Genetik Anabilim Dalı
Programın seviyesi : Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐
Anabilim Dalı : Genetik Programı/Genetik Anabilim Dalı
Tez Sahibi : Özlem Kaya
Tez Başlığı : Konotrunkal Kalp Anomalisi ve Dismorfik Bulguları olan Çocuklarda FISH Yöntemi Kullanılarak 22q11.2 Delesyon Sıklığının Araştırılması
Sınav Yeri : İ.Ü. Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü
Sınav Tarihi : 14 / 12 / 2006

Tez Sınav Jürisi

Ünvanı Adı Soyadı Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı

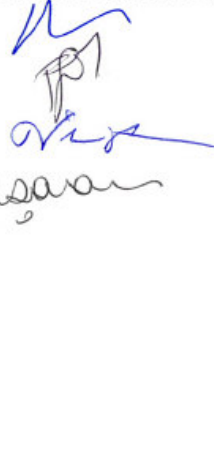
1.Prof. Dr. Beyhan Tüysüz

2.Prof. Dr. Funda Öztunç

3.Prof. Dr. Nihan Erginel Ünaltuna

4.Prof. Dr. Seher Başaran

5.Doç Dr. Kıvanç Çefle



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Özlem Kaya

(İmza)



Canım Anne ve Babama,

TEŞEKKÜR

Çalışmamın gerçekleşmesinde verdiği değerli bilgileriyle bulunduğu katkılar ve sağladığı olanaklar için, danışman hocam Sayın Prof. Dr. Beyhan Tüysüz'e, bilimsel katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Funda Öztunç'a ve Yrd. Doç. Dr. Tevfik Demir'e ile bana zaman ayıran, teknik bilgi ve deneyimleri ile yardımcı olan Sayın Uzm.Dr. Tufan Çankaya'ya ve Uzm. Dr. Elif Yılmaz'a,

Tez süresinde, zor zamanlarımdaki yardım ve destekleri için tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bu çalışmanın her aşamasında hiçbir konuda desteğini esirgemeyip her zaman yanımda olan canım arkadaşım Bio. Filiz Güçlü'ye,

Bu günlere gelmemde büyük katkıları olan, benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen sevgili anneme, babam ve eşime,

Ve canım oğlum Yiğit'e,

Teşekkür ve Şükranlarımı Sunarım...

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-546/21102004 nolu proje olarak desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	İX
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	X
RESİMLER LİSTESİ.....	Xİİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET.....	XİV
ABSTRACT.....	XVİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Konotrunkal Kalp Anomalileri:	3
2.2 22q11.2 DELESYON SENDROMU.....	4
2.2.1 Tanım	4
2.2.2 Sıklık:	6
2.2.4 Etiyoloji ve Genetik:	7
2.2.5 22q11.2 Delesyon Sendromu Klinik Bulguları:	10
2.2.5.1 Karakteristik yüz görünümü:	10
2.2.5.2 Timüs hipoplazisine bağlı immün yetmezlik:.....	11
2.2.5.3 Yarık damakla beraber/ayrı velofarengeal disfonksiyon:	11
2.2.5.4 Hipoparatiroidizme bağlı hipokalsemi:	12
2.2.5.5 Gelişimsel ve psikiyatrik problemler:	12
2.2.1.1 DiGeorge Sendromu:.....	12
2.2.1.2 Velokardiyofasiyal Sendrom:	13
2.2.1.3 Konotrunkal Anomali Face sendrom:	14
2.2.1.4 Cayler Kardiyofasyal Sendrom:.....	15
2.2.1.5 Otozomal Dominant Opitz G/BBB Sendromu:	15
2.2.6 Tanısal Metodlar:	16
2.2.6.1 Kromozom Eldesi:.....	16

2.2.6.2 HRBT (High Resolution Bantlama Tekniği):.....	16
2.2.6.3 FISH (Fluoresan İn Situ Hibridizasyon):.....	17
2.2.6.3.1 Problar	18
2.2.6.3.2 Probların İşaretlenmesi	19
2.2.6.3.3 Prob Çeşitleri	19
2.2.6.3.3.1 Lokusa özgü problemler	19
2.2.6.3.3.2 Tekrarlayan Dizi (Satellit) Problemleri	20
2.2.6.3.3.3 Kromozomun Tümünü Boyayan (Painting) Problemleri	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1 Gereç	22
3.1.1 Hasta ve Kontrol Grubu	22
3.1.2 Kullanılan Aletler.....	23
3.2.2.1 Cam Malzeme	23
3.2.3 Kimyasal Maddeler	24
3.2.3.1 Standart Periferik Kan Lenfosit Kültürü Solüsyonları	24
3.2.3.2 GTG Bantlama Solüsyonları :.....	24
3.2.3.3 FISH Solüsyonları	24
3.2 Yöntemler	25
3.2.1 Senkronize Etme Yöntemi İle Periferik Kan Lenfosit Kültürü	25
3.2.2 Kromozom Eldesi:	26
3.2.3 GTG Bantlama.....	26
3.2.4 Problemlerin Kullanımı.....	26
3.2.4.1 Ön İşlem	26
3.2.4.1.1 Denatürasyon	27
3.2.4.1.2.Hibridizasyon	27
3.2.4.2 Hibridizasyon sonrası yıkama.....	27
3.2.4.3 Hibrid sinyallerinin görüntülenmesi	27
3.2.5 İstatistiksel metotlar:	28
4. BULGULAR	29
4.1 KTKD ve dismorfik bulgusu olan olguların incelenmesi:.....	29
4.2 KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan olguların (kontrol-1) incelenmesi:	34
4.3 KTKD olan dismorfik bulgusu olmayan olguların (kontrol-2) incelenmesi:	38

4.4 Delesyon pozitif olan olguların anne/babalarının 22qdelesyon varlığının araştırılması:.....	39
4.5 Hasta grubu ve kontrol gruplarında delesyon sıklığı arasındaki farkın incelenmesi:40	
4. TARTIŞMA.....	42
4. KAYNAKLAR.....	47
ETİK KURUL KARARI.....	59
ÖZGEÇMİŞ.....	60

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1 : FISH tekniğinin kullanım alanları	18
Tablo 4-1 : Hasta grubunun (Konotrunkal kalp anomalisi ve dismorfik bulguları olan çocuklar) klinik ve sitogenetik bulguları.....	29
Tablo 4-2 : Kontrol-1 grubunun (Konotrunkal dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulguları olan çocuklar) klinik ve sitogenetik bulguları.....	35
Tablo 4-3 : Kontrol-2 grubu klinik ve sitogenetik bulguları.....	38
Tablo 4-4 : Del22q11.2 saptanan olguların ebeveynlerinin klinik ve sitogenetik bulguları.....	39
Tablo 4-5 : Hasta grubuyla kontrol-1 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından karşılaştırılması.....	40
Tablo 4-6 : Hasta grubuyla kontrol-2 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından karşılaştırılması.....	40
Tablo 4-7 : Kontrol-1 grubuyla kontrol-2 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından araştırılması.....	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil2-1: Farengeal ark yapılarının gelişimi.....	7
Şekil2-2: İnsan kromozom 22q11.2 bölgesindeki (DGCR; DiGeorge kritik bölgesi) genler ve problemlerin lokalizasyonları.....	8
Şekil 4.1: FISH yöntemiyle Tablo 4.1- Olgu 4, B.S.'in metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu pozitifliği.....	33
Şekil 4.2 : KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan VCFS'lu hastamızın (Tablo 4.1 Olgu 22, Ö.Ş.) karyotipi.....	33
Şekil 4.3 : KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan DGS'lu hastamızın (Tablo 4.1 Olgu 23, B.Ü.) karyotipi.....	34
Şekil 4.4: Kontrol-1 grubundaki Olgu 4, N.T.'in metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu pozitifliği.....	36
Şekil 4.5 : Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif bulunan VCFS'lu hastamızın (Tablo 4.2 Olgu 4, N.T.) karyotipi.....	37
Şekil 4.6 : Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu bulunan DGS'lu hastanın (Tablo 4.2 Olgu 6, K.Y.) karyotipi.....	38
Şekil 4.7: Kontrol-2 grubundaki (A) Olgu 2, A.K. ve (B) Olgu 8, H.K.'un 22q11.2 delesyonu negatifliği.....	39

RESİMLER LİSTESİ

Resim 4.1: KTKD grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan DiGeorge sendromlu hastamızda Hiperteleorism, burun kökü geniş, mikrognati, dar palpebral fissür, küçük ağız, alın belirgin.....	32
Resim 4.2: KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan VCFS'lu hastamızda uzun yüz, hiperteleorism, hafif antimongoloid aks, düğme burun, filtrum kısa, kepçe kulak ve silindirik parmaklar.....	32
Resim 4.3: Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif bulunan VCFS'lu hastamızda uzun yüz, hiperteleorism, kaşlar seyrek, parmaklar fusiform.....	36
Resim 4.4: Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu bulunan DGS'lu hastanın yüz görünümü: Hiperteleorizm, mavi sklera, burun kökü basık-geniş, kulaklarda heliksler yapışık, ağız köşeleri aşağı dönük üst dudak ince, mikrognati.....	37

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ASD	: Atrial septal defekt
AVSD	: Atriyoventriküler septal defekt
CAFS	: Konotrunkal anomali face sendrom
CATCH 22	: Cardiac anomaly, Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, Hypocalcemia
COMT	: Katekol-O-metiltransferaz
CTAFS	: Konotrunkal anomali-yüz sendromu
DA	: Duktus arteriosus
DAOM	: Depressor anguli oris muscle
Del22q11.2	: 22q11.2 delesyonu
DGCR	: DiGeorge kritik bölgesi
DGS	: Digeorge sendromu
DKA	: Doğumsal kalp anomalisi
DORV	: Çift çıkımlı sağ ventrikül
FISH	: Floresan In Situ Hibridizasyon
HRBT	: High Resolution (Yüksek Rezolüsyonlu) Bantlama Tekniği
IAA tip B	: Aortik ark interrüpsiyonu tip B
KTKD	: Konotrunkal kalp defekti
PA	: Pulmoner atrezi
PAVSD	: Pulmoner atrezi/ventriküler septal defekt
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PMVSD	: Posterior yerleşimli ventriküler septal defekt
PTA	: Persistan trunkus Arteriosus
SPVSD	: Subpulmoner ventriküler septal defekt

TA	: Trunkus arteriosus
TGA	: Büyük arterlerin transpozisyonu
TBX1	: T-box 1 geni
TOF	: Fallot tetralojisi
TUPLE-1	: TUP-like enhancer of split gene-1
UFD1L	: ubiquitin fusion degradation
VCFS	: Velocardiofacial Sendrom
VSD	: Ventriküler Septal Defekt
22q11.2 DS	: 22q11.2 Delesyon Sendromu

ÖZET

Kaya Ö. (2006) Konotrunkal kalp anomalili ve Dismorfik bulguları olan çocuklarda FISH yöntemiyle 22q11.2 delesyon sıklığının araştırılması.

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul.

Doğumsal kalp anomalilerinin %10-15'ini oluşturan konotrunkal kalp defektleri (KTKD) kalbin çıkış yolu anomalileri olup, bu grup hastalarda 22q11.2 delesyonu prevalansı %12.8-30 arasındadır. Bu oran izole KTKD defekti olan grupta %12-17 arasında iken, KTKD yanı sıra dismorfik bulgusu olanlarda ise %30'a kadar çıkmaktadır.

Bu çalışmanın amacı KTKD ve dismorfik bulguları olan çocuklarda FISH yöntemi ile 22q11.2 delesyon sıklığının saptanması, bu grup hastalarla, konotrunkal dışı kalp anomalisi/dismorfik bulguları olan (kontrol-1) ve konotrunkal kalp anomalisi olup dismorfik bulgusu olmayanlar arasında (kontrol-2) 22q11.2 delesyon sıklığı bakımından anlamlı bir fark olup olmadığının araştırılmasıdır. Bu amaçla 23 hasta grubu ile 10 kontrol-1 ve 13 kontrol-2 grubu olarak seçilen çocukta lokusa özgü prob olan DiGeorge/VCFS TUPLE 1 probu kullanılarak yapılan FISH analizlerinde 22q11.2 bölgeleri delesyon açısından incelendi.

KTKD ve dismorfik bulguları olan hasta grubunda 22q11.2 delesyon oranı %26 (6/23) ve kontrol-1 grubu olarak seçtiğimiz KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan hastalardaki 22q11.2 delesyon oranı %30 (3/10) olarak bulundu. Hasta ve kontrol-1 grubu arasında 22q11.2 delesyon sıklığı açısından fark olmadığı görüldü. Kontrol-2 grubu olarak seçtiğimiz sadece KTKD olup dismorfik bulgusu olmayan hastalarda ise delesyon saptanmadı (0/13). Gerek hasta gerekse kontrol-1 grubunda 22q11.2 delesyon sıklığı kontrol 2 grubundan anlamlı derecede fazla idi. Delesyon saptanan olguların 5 tanesinin anne ve babası 22q11.2 delesyonu için tarandı ancak delesyon bulunamadı (0/10). Bu çalışma sonucunda KTKD kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan hasta grubu ile KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan kontrol-1 grubunda 22q11.2 delesyon sıklığının yüksek oranda ve birbirine benzer bir değerde bulunması ile, 22q11.2 delesyon sendromlarının tanısında, KTKD varlığı kadar bu sendroma özgü dismorfik bulguların doğru tanımlanmasının önemli olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler : DiGeorge Sendromu, Velocardiofacial Sendrom, FISH ve Cayler kardiofacial Sendrom,

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından T-546/21102004 no'lu proje olarak desteklemiştir.

ABSTRACT

Kaya O. Chromosome 22q11.2 deletion in children with conotruncal heart defects and dysmorphic features by FISH.

Istanbul University, Institute of Health Science, Genetics Common Programme, Istanbul, 2006

Conotruncal heart defects (CTHD) that represent 10-15% of congenital heart defects are the cardiac outflow tract defects. The prevalence of 22q11.2 deletion in patients with conotruncal heart defect is 12.8-30%. This rate is 12-17% in patients with only CTHD while it increased to 30% in patients with dysmorphic findings.

The aim of this study is to determine the incidence of 22q11.2 deletion in patients with CTHD and dysmorphic findings, to research if there is a significant difference between this group, the patients with not have CTHD but have dysmorphic findings (control group-1) and patients with CTHD but not have dysmorphic findings (control group-2).

In the present study for defining 22q11.2 deletions; FISH analyses were performed by using one of the locus specific probe (DiGeorge/VCFS TUPLE 1 probe) to the group of patients (23 patients group, 10 patients in control group-1 and 13 patients in control group-2) that can not be defined 22q11.2 deletion with Giemsa-trypsin banding method and karyotyping. The prevalence of 22q11.2 deletion in patients with CTHD and dysmorphic findings is 26% (6/23), and the group of patients with not have CTHD but have dysmorphic findings (control group-1) is 30% (3/10). In our results, no significant difference between the patients group and control group-1 was seen. No deletion was determined in the control group-2 (0/13). The prevalence of 22q11.2 deletion in the patients' and control-1 group is higher than the control-2 group. There was no deletion in the parents (0/10) of 5 patients with 22q11.2 deletion. In this study, with the similar and high prevalence of 22q11.2 deletion in the patient and control-1 group, "dysmorphic clinical features are also important as CTHD in the diagnosis of 22q11.2 deletion syndromes" is emphasized.

Key Words: Conotruncal Heart Defects, DiGeorge Syndrome, Velocardiofacial Syndrome and FISH.

This study was supported by The Research Support Unit of İstanbul University as the project no T-546/21102004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Konotrunkal kalp defektleri (KTKD) trunkus arteriosus (TA), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), Fallot tetralojisi (TOF), ventriküler septal defekt (VSD), pulmoner stenoz/ subpulmonik darlık, pulmoner atrezi (PA), aortik pulmoner kollateral arterler, aort koarktasyonu/ subaortik darlık, aortik ark interrüpsiyonu tip B (IAA tip B)'yi kapsayan anomalilerdir (80,81,94). KTKD'leri izole olarak bulunabileceği gibi, minör ve majör malformasyonlara eşlik edebilir ve özellikle 22q11.2 bölgesinin mikrolelesyon sendromu (22q11DS) ile ilişkilidir (42,76). KTKD'li hastalarda yapılan geniş serilerde, 22q11.2 delesyon prevalansı %12-30 olarak bildirilmiştir (19,42,72). Aortik ark malformasyonları gibi ek kardiyak anomalilerin bulunmasının delesyon pozitifliği oranını artırdığı yapılan çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (19,42,83). Erken süt çocukluğu döneminde olduğu gibi minör anomalilerin ve dismorfik bulguların çok kolaylıkla ayırt edilemediği vakalarda özellikle eşlik eden KTKD'leri varsa, kromozom 22q11.2 delesyonunu araştırmak için floresan *in-situ* hibridizasyon (FISH) analizinin yapılması gerektiği birçok çalışmada gösterilmiştir (6,19,111).

Kromozom 22q11.2 bölgesinin mikrolelesyonu sonucunda DiGeorge Sendromu (DGS), Velocardiofacial Sendrom (VCFS) (Shprintzen Sendromu), Konotrunkal anomali yüz Sendromu (CAFS), otozomal dominant Opitz G/BBB Sendromu ve Cayler kardiofacial Sendromu fenotipleri ortaya çıkmaktadır (8,24,35,43,75). İlk kez 1990'lı yılların başlarında, 22q11.2 delesyonunun DGS, VCFS ve CTAFS ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (8,24,98). DGS, doğumsal kalp hastalığı, hipoparatiroidizm ve immün yetmezlikle 1965'te; VCFS, yarık damak, doğumsal kalp hastalığı, belirgin yüz görünümü, ve öğrenme güçlükleri ile 1978'te; CAFS, 1976 yılında konotrunkal doğumsal kalp hastalığı, belirgin yüz görünümü ve hiper-nazal ses ile karakterize edilmiştir (22,40,41,54,102). Daha önceleri, del22q11.2'nin neden olduğu klinik sonuçları ve patolojileri içeren klinik spektrum; "CATCH 22 fenotipi" (cardiac anomaly, abnormal facies, thymic hypoplasia, cleft palate, hypocalcemia) olarak adlandırılırken, son yıllarda "kromozom 22q11.2 delesyon sendromu" (22q11.2DS) olarak tanımlanmıştır (9,29,119).

Kromozom 22q11.2 delesyon sendromu (22q11.2DS) hemen tüm sistemleri çeşitli oranlarda etkileyebilir. Ryan ve ark.'nın [1997] 22q11.2 delesyonu olan 558 hasta ile yapmış olduğu çalışmada, hastaların yaklaşık %75'inde özellikle KTKD tipinde kardiyovasküler anomaliler, %49'unda otolaringeal anomaliler, %36'sında genitoüriner anomaliler, %60'ında hipokalsemi, %2'sinde ağır immünolojik bozukluk, %36'sında büyüme bozukluğu, %33'ünde işitmede azalma, %62'sinde hafif öğrenme problemleri gösterilmiştir. Yaşları 3-18 arasında değişen 252 çocuğun %9'unda davranışsal veya psikiyatrik problemler bulunmuştur (97).

DGS, VCFS veya diğer 22q11.2 mikrodelsyon sendromu fenotipine sahip olan hastalarda yaklaşık %90'ı 3 Mb , %8'i 1.5 Mb büyüklüğünde olan 22q11.2 delesyonunu klasik bantlama teknikleriyle görüntülemek zordur (65). Yüksek rezolüsyonlu bantlama tekniği (HRBT) ve floresan in situ hybridization tekniği, 22q11.2 delesyonlu hastaların tanımlanabilmesine olanak sağlamıştır (124). Moleküler genetik ve sitogenetik arasında bir köprü oluşturan Floresan İn Situ Hibridizasyon tekniği (87), kromozomların belli bölgelerine özgün DNA dizilerinin, radyoaktif veya nonradyoaktif maddelerle işaretlenerek sitolojik preparatlar, metafaz yada interfaz kromozomları ile hibridizasyonuna dayanan bir yöntemdir (15). FISH tekniği, klasik bantlama yöntemleri ile tanımlanamayan kromozom anomalilerinin (submikroskopik delesyon ve duplikasyonlar, inversiyonlar, insersiyonlar, marker kromozomlar, vb.) aydınlatılmasında ve genlerin kromozomal lokalizasyonlarının araştırılmasında kullanılmaktadır (69).

Bu çalışmanın amacı,

1- Konotrunkal kalp anomalisi ve dismorfik bulguları olan çocuklarda FISH yöntemi ile 22q11.2 delesyon sıklığının saptanması, bu grup hastalarla Konotrunkal dışı kalp anomalisi/dismorfik bulguları olan çocuklar (kontrol grubu-1) ve Konotrunkal kalp anomalisi olup dismorfik bulgusu olmayan çocuklar (kontrol grubu-2) daki 22q11.2 delesyon sıklığı arasında anlamlı bir fark olup olmadığının araştırılmasıdır.

2- Çalışmamızdaki diğer bir amacı ise, FISH yöntemi ile delesyon bulunan olguların ebeveynlerinde 22q11.2 delesyon varlığının araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Konotrunkal Kalp Anomalileri:

Doğumsal kalp anomalileri (DKA), tüm canlı doğanlarda yaklaşık olarak 8/1000 oranında görülür (28). Konotrunkal kalp anomalileri tüm DKA'nın %10-15'ini oluşturur ve sıklıkla 22q11.2 mikrolelesyonları ile bağlantılıdır (27,42,66,71,73,81,97). KTKD'li hastalarda yapılan geniş serilerde, 22q11.2 delesyon prevalansı %12-30 olarak bildirilmiştir (19,20,43,72).

Anormal nöral krest gelişimi sonucu ortaya çıkan KTKD'leri; trunkus arteriosus (TA), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), Fallot tetralojisi (TOF), ventriküler septal defekt (VSD), pulmoner stenoz/ subpulmonik darlık, pulmoner atrezi (PA), aort koarktasyonu/ subaortik darlık, aortik pulmoner kollateral arterler, aortik ark interrüpsiyon tip B (IAA tip B)'yi içerir (5,103).

Goldmuntz ve ark. (42) nın 1998 yılında 251 KTKD olan hasta ile yaptığı çalışmada %17.9 oranında 22q11.2 mikrolelesyonu saptamıştır. Delesyonlar en çok DGS'de sık rastlanan kardiyak defektler olan IAA tip B, TA, TOF ve PMVSD'li hastalarda görülmüştür. Bu oranlar IAA'lı hastaların %50'si, TA'lu hastaların %34.5'i, TOF'lu hastaların %15.9'u ve PMVSD'li hastaların %33.3'ü şeklindedir (42).

Araştırmacılar, 22q11.2DS fenotipinin çok çeşitlilik gösterdiğini, özellikle erken yaşlarda tipik manifestasyonun hafif eksprese olacağının gözardı edilmemesi gerektiğini ve ayrıca ırksal heterojeniteden dolayı yüz anomalilerinin saptanmasının zor olacağını vurgulamaktadır (6). Örneğin bazı hastalar, VCFS'ye ait, doğumda belirgin olmayan, sadece ileriki yaşlarda farkedilebilen konuşma güçlükleri, öğrenme bozuklukları ve ayırıcı yüz bulguları taşıyabilirler (43). Bu sebeplerden dolayı, 22q11.2DS tanısı gecikmekte veya gözden kaçabilmektedir (19).

Klinik çalışmalar; DKA olan del22q11.2'li hastaların hemen hepsinde, bu sendromun bir veya daha fazla klinik bulgusunun ya da diğer kalp dışı anomalilerin olduğunu göstermiştir (3,6,18). Bunun sonucunda, sadece ilave fenotipik bulgular gösteren bireylerin test edilmesi gerektiği önerilirken, diğer taraftan, del22q11.2'nin çok nadiren izole DKA ile birlikte olabileceğini gösteren bazı çalışmalar da bulunmaktadır (19,42,72,120).

Goldmuntz ve ark. tarafından 1993 yılında yapılan çalışmada, trunkus arteriosus, aortik ark interrüpsiyonu ve fallot tetralojisi bulunan ve sendromik olmayan 17 hastanın 5'inde (%29) del22q11.2 bulunmuştur (43). Trainer ve ark. [1996], fallot tetralojisi olan 33 hastanın 7'sinde 22q11.2 delesyonu tespit etmiş; fakat bu delesyonlu hastaların 3'ünün dismorfik olmayıp konoturunkal kalp defekti olarak sadece fallot tetralojisi gösterdikleri bildirilmiştir (113).

Derbent ve ark. (19), konotrunkal kalp defekti olarak DORV (çift çıkımlı sağ ventrikül), TGA (büyük arterlerin transpozisyonu), TOF (fallot tetralojisi), VSD (ventriküler septal defekt) ve TA (turunkus arteriosus)'lu hastaların bulunduğu 30 kişilik grupta yaptıkları çalışmada, %30 oranında del 22q11.2 tespit etmiştir. Delesyon saptanan hastaların ikisinden birinde dismorfik bulgu olarak sadece sakral dimple bulunurken diğerinde hiçbir dismorfik bulguya rastlanmamıştır (19).

Giray ve ark. (36), doğumsal kalp anomalisi olan 36 hastada yaptıkları FISH analizleriyle %19.4 oranında 22q11.2 delesyonu saptamışlardır. Bu oran izole konoturunkal kalp defektlilerin %14.2'si ve tüm KTKD'lilerin %30.4'ü şeklindedir (36).

KTKD'leri izole olarak bulunabileceği gibi, minör ve majör malformasyonlara eşlik edebilir ve özellikle 22q11.2 bölgesinin mikrolelesyon sendromu (22q11.2DS) ile ilişkilidir. Kromozom 22q11.2 mikrolelesyonu olan hastalarda çok geniş bir spektrumda yer alan ve sendromik olarak tanımlanamayan majör ve minor anomalilerin yanısıra DGS, VCFS, Cayler kardiofasial sendromu, CAFS, otozomal dominant Opitz G/BBB mikrolelesyon sendromlarının fenotipleri görülebilir.

2.2 22q11.2 DELESYON SENDROMU

2.2.1 Tanım

Kromozom 22q11.2 mikrolelesyon sendromu (22q11.2DS); doğumsal kalp anomalileri, damak ile ilgili anomaliler, fasiyal dismorfizm, gelişimsel gecikme, bağışıklık sistemi ve kalsiyum homeostazında anormallikler ile karakterizedir. Genitorüriner sistem anomalileri gibi diğer sistemlerde de çeşitli anomali ve hastalıklara neden olabilir. Fizik bulgular oldukça değişkendir ve en yaygın olarak görülen kardiyak anomaliler KTKD'leridir (97,111).

Doğumsal kalp anomalileri 22q11.2 mikrolelesyonu olan hastaların %75'inde bulunur ve bunların çoğu konotrunkal kalp defekti tipindedir (5,20,97,109). McDonald-McGinn ve ark.'nın 1999 yılında, 22q11.2 delesyonu olan 250 hastanın %74'ünde kardiyak anomali saptanmıştır (76). En sık görülen kalp anomalisi TOF (fallot tetralojisi) (%22) olup, diğerleri ise IAA tip B (aortik ark interrüpsiyonu tip B) (%15), VSD (ventriküler septal defekt) (%13) ve TA (trunkus arteriosus) (%7) şeklindedir (69). ASD, AVSD, izole vasküler ring, hipoplastik sol kapak sendromu, heterotaksi, aortik veya triküspit kapak hipoplazisi ve tetraküspit aortik kapak da, bu hastalarda daha az sıklıkta görülen kalp defektleridir (75,97).

İlk kez 1990'lı yılların başlarında, 22q11.2 delesyonunun DGS, VCFS ve CTAFS ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (8,24,98). DGS, doğumsal kalp anomalileri, hipoparatiroidizm ve immün yetmezlikle 1965'te; VCFS, yarık damak, DKA, belirgin yüz görünümü, ve öğrenme güçlükleri ile 1978'te; CAFS, 1976 yılında konotrunkal DKA, belirgin yüz görünümü ve hiper-nazal ses ile karakterize edilmiştir (22,40,41,54,102). DiGeorge sendromu/velo-kardiyo-fasiyal sendrom (DGS/VCFS) ve CATCH 22 (Cardiac anomaly, Abnormal facies, Thymic hypoplasia, Cleft palate, Hypocalcemia) fenotipi, 22q11.2DS'nun kapsadığı klinik tabloyu tanımlamak için önceki yıllarda kullanılan terimlerdir (119). Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda, bazı Opitz G/BBB sendromlu veya Cayler kardiofasial sendromlu hastaların da 22q11.2 delesyonuna sahip olduğu gösterilmiş ve 22q11.2 ile bağlantılı klinik spektrumun "CATCH 22" teriminden daha da geniş olduğu, bu nedenle "CATCH 22" teriminin klinik olarak kullanımda yetersiz kalabileceği bildirilmiştir (9). Bu nedenle, 1990'lı yılların başında, bu delesyonla birlikte klinik özelliklerin tüm spektrumu, "kromozom 22q11.2 delesyon sendromu" başlığı altında toplanmıştır (10,111). Son yıllarda "CATCH 22 sendromu" teriminin kullanılması terkedilmiştir (124).

Çok nadiren, eşlik eden herhangi bir anomaliye ve fasiyal dismorfizme sahip olmayan izole KTKD'li bazı hastalarda da 22q11.2 delesyonu olduğu gösterilmiştir (19,111,113,120).

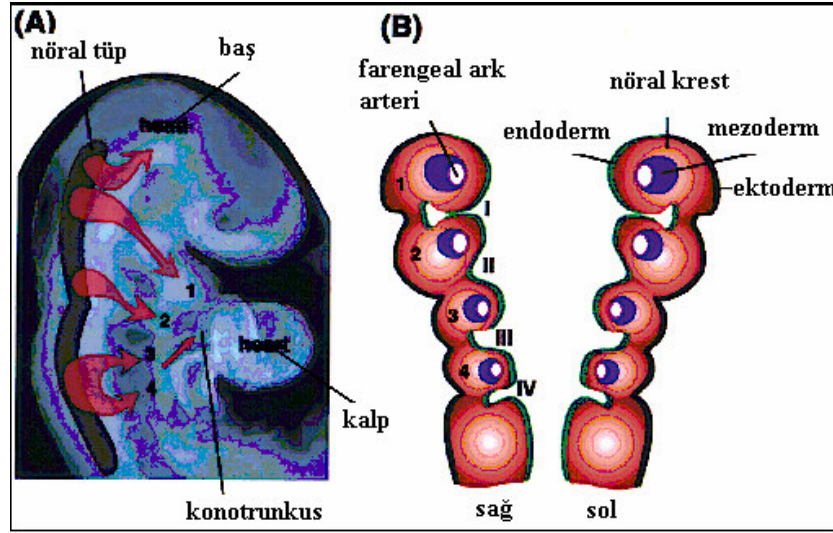
2.2.2 Sıklık:

Kromozom 22q11.2 delesyon sendromu 4000-5000 canlı doğumda 1 görülür (28,107). İnsanlarda bilinen en yaygın mikrolelesyon sendromudur (37,106,111). Tüm kalp anomalili yenidoğanların %5' inde ortaya çıkan 22q11.2 mikrolelesyonu, Down Sendromundan sonra kalp malformasyonunun en önemli sebebidir.

2.2.3 Gelişim biyolojisi

KTKD patogeneğinde nöral krest hücrelerinin migrasyonundaki defektler rol oynamaktadır ve bunu kontrol eden en önemli faktör 22q11.2 bölgesindeki genlerdir (72,96,103,110). Nöral krest hücre migrasyonu; normal konotrunkus, kardiyak septa, kranium ve yüz kemikleri ile timus ve paratiroid gelişimi için kritik öneme sahiptir (55,105).

Farengal arklar anteryör-posteriyör eksen boyunca segmental bölge içinde gelişen ve çok sayıda farklı embriyonik hücre tipinden oluşan bilateral simetrik yapılardır (44). Her ark, dıştan saran bir ektoderm (siyah), içten saran bir endoderm (yeşil) ve merkezde farengal ark arterine bitişik paraxial mezoderme (mavi) sahiptir (Şekil 2-1). Sefalik nöral krest hücreleri, farengal ark arterlerini ve mezodermal iç kısmı kuşatan mezenşim tabakasını oluşturmak üzere, caudal hindbraindeki nöral katlantıdan her bir farengal arka göç eder. Nöral krest kökenli mezenşim, kardiyovasküler yapıların ve yüzün iskelet yapılarının oluşumuna katkıda bulunurken, mezoderm de yüz ve boyun kaslarının oluşumunu sağlar. Endoderm kökenli epitel katmandan şekillenen farengal poşlar, timus ve paratiroid bezlerini içeren kranyofasiyal organları oluşturur. Ektoderm kökenli epitel katmandan şekillenen farengal yarıklar ise, epidermis ve gangliyonlarla bağlantılı arkların duysal nöronlarını oluşturur (65,124).



Şekil 2-1: Farengial ark yapılarının gelişimi.

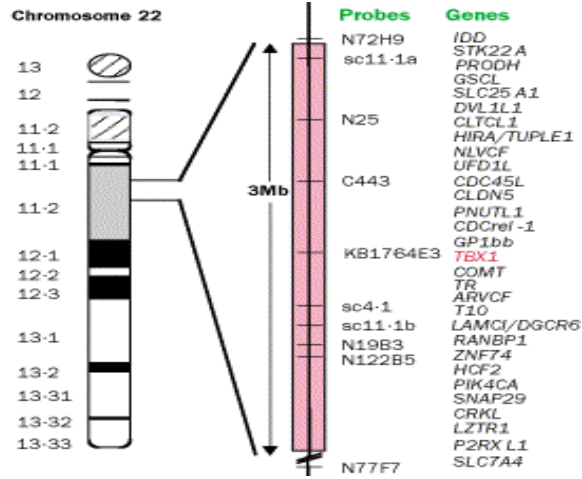
(A) fare embriyosunun embriyonik (E) 9.5 günde sağ lateral görünümü. (yaklaşık 28 günlük insan embriyosuna denktir). Oklar, nöral tübün dorsal tarafından çıkan sefalik nöral krest hücrelerinin, baş, farengial arklar ve kalbin konotrunkal bölgesine göçünü göstermektedir. (B) Farengial arkların koronal bölünmesi (Fare embriyosunda E9.5-10.5 veya tavuk embriyosunda safha 16-18.) 1'den 4'e kadar numaralar farengial arkları, Roma rakamları I. den 4.'ye farengial poşları (keseleri) temsil etmektedir. Birinci ve ikinci farengial ark defektleri minör yüz anomalilerine ve damak yarığına, üçüncü ve dördüncü poş defektleri timus ve paratiroid bezlerinin hipoplazisine, üçüncü ve dördüncü ark arter defektleri aortik ark defektlerine, ve konotrunkal bölgedeki defektler ise Fallot tetralojisi gibi doğumsal kalp defektlerine öncülük eder.

Tavuk embriyolarında yapılan çalışmalarda, sefalik nöral krest hücrelerinin nöral katlantıdan göçünden önce çıkarılması sonucu 22q11.2DS'nun başlıca bulgularına ait fenokopi gözlemlendiği bildirilmiştir (124).

Farelerde nöral krest gelişiminde rolü olan *Pax3* ve *endotelin-1* gibi genlerdeki mutasyonların da benzeri şekilde 22q11.2DS'nu anımsatan malformasyonlara yol açtığı bildirilmiştir (65,124). Bu gözlemlere dayanarak, 22q11.2DS'nun başlıca sebebinin, kalbin konotrunkal bölgesinin, farengial arkların ve onların arterlerinin oluşumundan sorumlu nöral krest hücrelerinin anormal gelişimi olduğu sonucuna varılmıştır (124).

2.2.4 Etiyoloji ve Genetik:

Ortak delesyon bölgesi (DiGeorge kritik bölgesi; DGCR olarak da adlandırılır) içerisindeki *TBX1* geninin, sendromun fenotipik özelliklerinden geniş ölçüde sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (Şekil 2-2) (122).



Şekil 2-2: İnsan kromozom 22q11.2 bölgesindeki (DGCR; DiGeorge kritik bölgesi) genler ve problemlerin lokalizasyonları.

TBX1 geni, transkripsiyon faktörlerinden T-box ailesi içinde yer alır (13). T-box ailesi genleri, erken vertebra ve invertebraların gelişimine, mezoderm ve endoderm spesifikasyonuna ve kalp ve ekstremit morfogenezine katılırlar (90). Mezodermde TBX1 ekspresyon düzeyi, farengial arklardaki nöral krest migrasyonunda etkilidir ve bu gen, farengial ark arterlerinin erken gelişimi ve yeniden düzenlenmesi ve normal kulak gelişimi için gereklidir (13,106).

Jerome ve Pappaoannou (50) birbirlerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda, homozigot TBX1 mutasyonlu farelerin, konoturunkal defektler, anormal yüz bulguları, yarı damak, timus ve paratiroid bez hipoplazisi gibi 22q11DS bulguları gösterdiklerini ve perinatal dönemde öldüklerini bildirmişlerdir. Heterozigot TBX1 mutasyonlu farelerde ise, 22q11.2DS'nin tüm fenotipik spektrumunu yansıtmamalarına karşın, sadece düşük penetranslı aortik ark anomalileri ile sonuçlanan 4. farengial ark arterlerinin yokluğunun saptandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, TBX1 geninin 22q11.2DS'nin etyolojisinde başlıca genetik belirleyici olması yönünde kanıt sağlamıştır (50,64,77).

Bunlara ek olarak, deney hayvan modelleri kullanımı ile yapılan çalışmalar birkaç aday gene dikkat çekmektedir (Şekil 2-2). *HIRA* geni memeli ortoloğu olan maya Hir1p ve Hir2p proteinlerini kodlar. Bu proteinler, hücre siklusuna bağımlı histon gen regülasyonunun korepresörleridir; ve tavuk ve fare embriyolarındaki benzer dokularda olduğu gibi, nöral krest kökenli dokularda eksprese olurlar (59,96,118).

Tavuk kardiyak nöral krest hücrelerindeki Hira geninin antisens oligonükleotidlerle embriyonik attenüasyonu sonucu PTA'nın insidansının yükseldiği bildirilmiştir (26).

Hira geni biyokimyasal olarak, nöral krest gelişimine katılan bir homedomein protein olan Pax3 geni ile etkileşime girer (68).

UFD1L (ubiquitin füzyon degradasyon 1 (Ufd1)-like) geni, ubiquitin aracılı protein degradasyonuna katılan bir maya geninin ortoloğudur. Bu gen, aynı zamanda tavuk ve fare embriyolarında farengeal arklarda, baş bölgesinde ve ekstremite köklerinde eksprese olur (64,121). Ufd1I, bHLH transkripsiyon faktörünün alt grup geni, dHAND, olarak tanımlanmıştır. Farengeal ark hipoplazisi ve kardiyak çıkış yolu defektleri gösteren dHAND-null fare embriyolarında “downregüle” edilmiştir (123). Bu saptamalar, HIRA ve UFD1L'nin 22q11.2DS fenotipinin bazı yönlerine katkıda bulunabileceğini desteklemektedir. *Crkol* (insanda CRKL) büyüme faktörü yanıtı ve fokal adezyon sinyalizasyonuna katılan SH2-SH3-SH3 adaptör proteinini kodlar ve gelişim boyunca, nöral krest hücrelerinden kökenlenen dokularda eksprese olur (48). *Crkol*' un homozigot yokluğu farede embriyonik dönemde letaldir; CRKL' nin 22q11.2DS fenotipinde olası rolünü destekler şekilde, konoturunkal ve aortik ark defektleri, timus ve kranyofasyal anormallikleri içeren 22q11.2DS fenotipine benzer fenotip gelişmesine neden olduğu bildirilmiştir (48). *Crkol* mutasyonu yönünden heterozigot fareler normaldir ve yaşayabilirler (124).

Katekol-O-metiltransferazı kodlayan *COMT* ve prolin dehidrogenazı kodlayan *PRODH* genleri, 22q11DS'nin davranışsal ve psikiyatrik fenotipinde rolü bulunmaktadır (38,39,47). *Comt* mutant farelerde, emosyonel davranışta bozukluk gözlenmiştir. *Prodh* mutant farelerde, verilen uyarılara odaklanmaya izin veren sensörimotor girişte defisite görülür ve bazı psikiyatrik bozukluğu olan bireylerde bu gen etkilenmiştir (124).

Sendromdaki klinik heterojeniteye rağmen, 22q11.2 mikrolelesyonu olan olguların yaklaşık %90'ı aynı, 30 geni kapsayan ve kalıtıldığında değişmeden kalan ~3 Mb'lık delesyona (DGCR) sahiptir; fakat aynı aile içinde fenotip farklılıklar gösterebilir. Bunun yanı sıra, olguların %8'inde ise 24 geni kapsayan 1,5 Mb'lık daha küçük delesyonlar bulunur ancak bu, daha küçük delesyonun daha hafif semptomlara neden olacağı anlamına gelmez. Bu durum genotip-fenotip korelasyonunun yapılmasını zorlaştırmıştır (23,49,65,106). Değişken fenotipe fetal gelişim evresinde çevresel

faktörler, farklı mutasyonlar, değişken penetrans ve ekspresivite yol açabilir. Erken insan ve fare embriyosunun yüksek konsantrasyonlarda A vitaminine maruz bırakılması durumunda DGS fenokopisi oluşturduğu ve fetal alkol sendromlu olgularda 22q11.2DS fenotipi görüldüğü bildirilmiştir (58).

Kromozom 22q11.2 mikrolelesyon sendromu en sıklıkla (%90-94) *de novo* olarak görülür ve %5-10 oranında otozomal dominant olarak kalıtılır (29,124). Delesyondan etkilenmiş bir bireyin, delesyonu bir sonraki kuşağa aktarma riski %50'dir (111). Ailesel vakalarda, etkilenmiş ebeveyn çoğunlukla annedir. Daha önceki çalışmalarda, özellikle DiGeorge fenotipi olan 22q11.2 mikrolelesyonu tespit edilen çocukların anne-babasinda hafif VCFS fenotipi olduğu bilinmektedir (52). Bu yüzden, bir çocukta delesyon saptandığında anne ve babanın araştırılması gerekir (97,111). Delesyon, dengeli bir ebeveynden dengesiz bir translokasyon şeklinde de kalıtılabilir. Anne ve babanın normal kromozomlu olup kardeşlerde rekürrensini görüldüğü durumları açıklamak için gonadal mozaizm de öne sürülmüştür. De novo delesyonun saptanması halinde, bir sonraki çocuk için tekrarlama riski çok düşüktür (111).

2.2.5 22q11.2 Delesyon Sendromu Klinik Bulguları:

Delesyon 22q11.2 ye bağlı klinik bulgular oldukça yaygındır ve hastadan hastaya çeşitlilik gösterir. Başlıca klinik bulguları; DKA, karakteristik yüz görünümü, timüs hipoplazisine bağlı immün yetmezlik, yarı damakla beraber/ ayrı velofarengial disfonksiyon, hipoparatiroidizme bağlı hipokalsemi, gelişimsel ve davranışsal problemler ve yetişkinlikte psikiyatrik bozukluklardır. Ayrıca renal anomaliler, kısa boy, anal atrezi, inguinal herni, hipospadyas, şaşılık, fasiyal sinir felci, skolyoz ve trombositopeni gibi 180' in üzerinde minör anomalinin 22q11.2DS ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (124).

2.2.5.1 Karakteristik yüz görünümü:

Genelde bütün hastalar şu yüz bulgularına sahiptir: iç kantusların lateral yer değiştirmesi, dar palpebral fissür, şişkin gözkapakları, küçük ağız, hipoplastik mandibül, deforme kulak memesi, yassı nazal köprü ve hipoplastik ala naziye bağlı kare burun (67,74). Mikrosefali, bireylerin %40'ında mevcuttur. Yüz görünümü çocukluk çağında daha çok belirgindir, ve neonatal dönemde ve yetişkinlikte bazen belli olmayabilir.

2.2.5.2 Timüs hipoplazisine bağlı immün yetmezlik:

İmmün yetmezlik, timüs hipoplazisinin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Timusun fonksiyonel T hücre olgunlaşmasına dayanan rolünden dolayı, T hücre sayısında ve fonksiyonunda azalma ana defektlerden biridir (106).

DGS'deki timüs tutulumu şiddetine rağmen, erken çocukluk döneminde timüs yada kemik iliği transplantasyonu ile immün rekonstrüksiyona gerek duyulan şiddetli T hücre immün yetmezliği, 22q11.2DS'li olguların yalnızca %5' ten az bir kısmında görülür (97). Bununla beraber, mediastinal timüs doku kaybına öncülük eden timüs hatalı gelişimi, olguların %50' sinden daha fazlasında görülür ve yaygındır. Bu olgularda, periferik kanda azalmış T hücre sayısı ve yaşla birlikte T hücre popülasyonunda yavaş düşüş gözlenmiştir (49).

Kromozom 22q11.2DS'li olgularda, bronkopnömani ve otitis media gibi tekrarlayan enfeksiyonlar da oldukça yaygındır, fakat bunlar spesifik immünolojik laboratuvar bulgularıyla az da olsa ilişkilidir. Bu enfeksiyonlar, içkulaktaki velofarengeal disfonksiyon ve/veya yapısal anomalilere bağlı yanlış aspirasyonla bağlantılı olabilir (124).

2.2.5.3 Yarı damakla beraber/ayrı velofarengeal disfonksiyon:

Velofarengeal yetmezlik çeşitli sebeplerden dolayı ortaya çıkabilir. 22q11.2DS'li olguların yaklaşık %10' unda yarı damak görülür (97). Fonksiyonel velofarengeal yetersizlik, geniş spektrum gösteren şiddette, 22q11.2DS'li hastaların %30'undan fazlasında görülmektedir (30,97,114).

Velofarengeal disfonksiyon yaşa bağlı birçok probleme öncülük eder (114). Erken çocukluk döneminde, büyük oranda beslenme problemine ve artmış frekansta aspirasyon pnömonisine öncülük eder. Büyük çocuklarda ise hipernazalitiye, konuşma geriliğine neden olur.

Kromozom 22q11.2DS'li olgularda, seröz otitis medianın bir sonucu olarak yineleyen otitis media ve işitme kaybı yaygın olarak görülür (30,97).

2.2.5.4 Hipoparatiroidizme bağı hipokalsemi:

Kromozom 22q11.2DS'li olguların yaklaşık %70'i, düşük serum paratiroid hormon (PTH) seviyelerini yansıtan, değişken derecelerde hipokalsemi gösterir (33,97). Daha ağır olgularda, hipokalsemi konjenitaldir; klinik manifestasyonlar ve aktif vitamin D ve/veya kalsiyum seviyesi sürekli müdahale ve idare gerektirir (124).

Kromozom 22q11.2DS'li olgularda, latent hipoparatiroidizm, semptomatik hipokalsemiden daha yaygındır (16,46). Birçok hastada yaşamın ilk yılında geçici neonatal hipokalsemi görülür ve çocukluk çağında veya adolesansda tekrarlayabilir. Latent hipoparatiroidizmi olan olgularda, paratiroid sekresyon bazal şartlar altında yeterlidir, fakat hipokalsemik strese artamaz ve bu duruma cevapta yetersiz kalır, bu nedenle de hipokalsemiye öncülük eder. Bu tür hipokalsemik stres, bebeklik, adolesans ve gebelik sırasında olduğu gibi, özellikle hızlı iskelet gelişiminden dolayı yüksek miktarda kalsiyuma gerek duyulduğu dönemlerde yetersiz kalsiyum alımından kaynaklanabilir (46,101,108).

2.2.5.5 Gelişimsel ve psikiyatrik problemler:

Kromozom 22q11.2DS'li olguların çoğunda öğrenme güçlüklerinden mental retardasyona kadar uzanan bilişsel gerilikler görülür (97). Düşük zeka seviyesi (IQ) yaklaşık 75'tir, ancak ağır mental retardasyon nadirdir (85,107). Erken çocuklukta, yavaş dil gelişimi ve gelişim geriliği yaygındır. Öğrenme güçlükleri, dikkat ve konsantrasyon eksikliği karakteristik özelliklerdir. Olguların çoğu düzenli okula gidebilirken, okul öncesi gelişim ve erken eğitimsel girişim her birey için tavsiye edilmektedir. Bu eğitimsel girişimler dil, kendini ifade edebilme, okuma, kavrama, motor beceriler, genel matematiksel eğitim, dikkat ve sosyal becerileri ve gerekirse konuşma terapileri eğitimini kapsamaktadır (124).

Daha önceki çalışmalarda, 22q11.2DS'li hastaların %10-22'sinde, çoğunlukla adolesan veya genç erişkin dönemde, en sıklıkla paranoid şizofreni olmak üzere psikiyatrik bozukluklar geliştiği bildirilmiştir (97).

2.2.1.1 DiGeorge Sendromu:

DiGeorge ve ark. (20) 1965 yılında, hipoparatiroidizm ve tekrarlayan enfeksiyonlar görülen bir olgu ile birlikte, timus ve paratiroid bezi aplazisi gösteren 3

otopsi olgusu bildirmişler, daha sonra bu sendromun fenotipi, DKA ve dismorfik yüz bulguları ile genişletilerek DiGeorge Sendromu olarak adlandırılmıştır (119).

DiGeorge sendromu (DGS), üçüncü ve dördüncü farangeal poşun gelişimsel defekti sonucu ortaya çıkan, timus ve paratiroid aplazisi/ hipoplazisi, konotrunkal kardiyak malformasyonlar ve dismorfik yüz bulguları ile karakterizedir (58). Bu sendroma sahip olan hastaların %90-95'inde 22. kromozomun kısa kolunda 11.2 bölgesinin hemizigot delesyonu (del22q11.2) vardır (106).

DiGeorge fenotipi daha nadir olarak 10p13p14 delesyonu (45,57,84), 4q21.3-q25 delesyonu (31) gibi kromozom anomalilerinde, ayrıca fetal alkol ve fetal izotretionin (4,56) gibi teratojenler ve maternal diabet (58) olgularında bildirilmiştir.

DGS'de (DGS;OMIM 188400), tetani ve konvülziyonlarla ortaya çıkan paratiroid bezinin hipoplazisinden kaynaklanan neonatal hipokalsemi ve T hücre yetersizliğinden kaynaklanan enfeksiyon eğilimi görülür. İmmün yetersizlik, timus bezindeki hipoplazi yada aplaziden kaynaklanır. Kardiyak malformasyonlar özellikle akım çıkış yolunu etkilemektedir. Bunlar, Fallot tetralojisi, tip B interrupted aortik ark, truncus arteriosus, sağ arkus aorta, aberan sağ subklavyan arterdir. Süt çocukluğunda mikrognati görülür. Düşük ve küçük kulaklar, anormal kıvrımlı pinna, kısa palpebral fissürler ve telecantus görülür. Gözler aşağı/yukarı çekiktir. Filtrum kısa ve ağız küçüktür. Daha büyük çocuklarda görülen bulgular, bulböz burun, kare burun ucu, submukoz veya belirgin damak yarığı ile birlikte olan hipernazal konuşma bulgularının varlığı nedeniyle Schprintzen sendromuyla (Velokardiyofasiyal sendrom) örtüşmektedir. Daha geç fark edilen olgular daha hafif kardiyak defekte sahip olma eğilimindedir ve kardiyak bulgu olarak en sık ventriküler septal defekt görülmektedir.

Kısa boy ve hafiften ortaya değişkenlik gösteren öğrenme güçlükleri oldukça yaygındır. Değişken psikiyatrik bozukluklar ve majör depresif hastalıklar görülür. Daha nadir olarak görülen klinik bulgular ise hipoparatiroidizm, yarık dudak ve sağırlıktır.

2.2.1.2 Velokardiyofasiyal Sendrom:

Velokardiyofasiyal Sendrom (VCFS;MIM 192430), 4000 canlı doğumda 1 görülen genetik bir hastalıktır (99). Bir çok VCFS olgusu sporadiktir, delesyonların %10-25'i otozomal dominant olarak kalıtılır. VCFS'li hastaların yaklaşık %80'inde del22q11.2 mevcuttur (98).

Bu sendrom doğumsal kalp danomalisi, yarık damak, öğrenme güçlükleri ve hafif yüz dismorfolojisi (uzun yüz, dar palpebral fissür, belirgin burun, geniş ve yüksek burun kökü, retrognati) ve silendirik uzun parmaklar ile karakterizedir (10,11,98).Kalp anomalilerinin % 62'si VSD, %52 sağ arcus aorta,% 21 TOF ve aberan sağ subklavian arter şeklindedir. VCFS' u 1978 yılında Shprintzen ve arkadaşları (102) tarafından tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan araştırmalarda, hipokalsemi, kan-damar anomalileri, trombositopeni, mental retardasyon ve hipotoni gibi 40 tan fazla fiziksel anomalinin bu sendromla bağlantılı olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (41).

Ayrıca olgularda, yetişkin dönemde, ağır psikiyatrik bozukluk gelişiminin VCFS ile bağlantılı bir bulgu olduğu bildirilmiştir (14,41).

VCFS'nun klinik bulguları, DGS ile anlamlı derecede örtüşmektedir (22). DGS, VCFS unun anomalilerini içermekle birlikte DGS lu hastalar aynı zamanda, timus aplazisi veya hipoplazisi ve ağır hipokalsemi bulguları gösterir (40,104).

2.2.1.3 Konotrunkal Anomali Yüz sendromu:

1976 yılında, Kinouchi ve arkadaşları (54) tarafından, çeşitli kardiyak çıkış yolu defektleri ve hipertelorizm, inner kantinin lateral yerleşim bozukluğu, nazal ses, yassı burun kökü, dar palpebral fissürler, şişkin gözkapakları,küçük ağız ve minör kulak anomalileri ile belirgin yüz bulguları gösteren bir fenotip olarak bildirilmiştir. Bu bulgular nazal ses (yarık damak/submukozal yarık damak/bifid uvula ile bağlantılı olarak), hafif mental retardasyon (gelişim geriliği ile bağlantılı olarak) ve kardiyovasküler anomaliler ile bağlantılı olarak ortaya çıkar.

Konotrunkal anomali yüz sendromlu olgularda görülen kardiyovasküler anomaliler ise; fallot tetralojisi, pulmoner atrezi, double-outlet sağ ventrikül, trunkus arteriosus communis ve aortik ark anomalilerini içerir. Ayrıca bazı olgularda, özellikle neonatal dönemde (bazen hipoparatiroidizmle bağlantılı olarak) hipokalsemi, ve timus aplazisi veya hipoplazisi görülmüştür (74).

2.2.1.4 Cayler Kardiyofasyal Sendrom:

Aynı zamanda “Asymmetric crying facies sendromu” olarak da bilinen Cayler kardiyofasiyal sendromu (OMIM;125520), nadir görülen bir sendrom olup DKA ve ağzın tek tarafındaki depresör anguli oris kasının (DAOM; alt dudağın hareketlerini kontrol eden kas) konjenital agenezisi yada hipoplazisi ile karakterize edilmektedir. Sendrom konjenitaldir ve ilk olarak, bebek ağladığında veya güldüğünde fark edilir (1).

1969 yılında, Cayler (12), DAOM hipoplazisi ve doğumsal kalp anomalileri arasında bir bağlantı olduğunu bildirmiş ve “Kardiyofasyal sendromu” terimini kullanmıştır.

Sendromla bağlantılı olarak kardiyak, ürogenital, kas-iskelet, respiratör, servikofasyal ve endokrin defektler de bildirilmiştir (56). Bazı olgularda, mikrosefali, mikrognatı ve/veya mental retardasyon görülür (121).

Kardiyovasküler anomaliler ise; ventriküler septal defekt, atriyal septal defekt, patent duktus arteriosus, fallot tetralojisi, sağ aortik ark, iki taraflı aortik ark, pulmonik stenoz, aort koarktasyonu, triküspit atrezi, kalpte tek sağ ventrikül, hipoplastik pulmoner arterler ve biküspit aortik valvi içermektedir. Cayler kardiyovasküler sendromu, aileseldir ve otozomal dominant olarak kalıtılır (OMIM;125520).

2.2.1.5 Otozomal Dominant Opitz G/BBB Sendromu:

1965 ve yine 1969 yılında, Opitz, Smith ve Summitt (88,89) daha önce BBB sendromu olarak adlandırılan bu sendromla ilgili, hastalıktan etkilenmiş erkeklerde belirgin oküler hipertelorizm ve hipospadias, etkilenmiş dişilerde ise sadece hipertelorizm görülen 3 aile bildirmiş ve G sendromu olarak tanımlamışlardır.

Sedano ve Gorlin 1988 yılında, BBB ve G sendromlarının tek ve aynı olduklarını belirtmiş ve “Opitz okulogenitolarengeal sendromu” ifadesini önermişlerdir.

G, Opitz-G yada BBB sendromu olarak da bilinen otozomal dominant Opitz G/BBB sendromu (OMIM; 145410) klinik bulguları, hipertelorizm yada telekantus; laringotrakeözofageal yarık; dudak, damak ve uvula yarıkları; yutma güçlüğü ve kaba ağlama; özellikle erkeklerde hipospadias ve dişilerde labia majörlerde siliklik şeklinde görülen genitoüriner defektler; mental retardasyon; ve doğumsal kalp anomalileri şeklindedir.

2.2.6 Tanısal Metodlar:

2.2.6.1 Kromozom Eldesi:

Kromozomlar, teorik olarak, bölünme özelliğini yitirmemiş ve nukleus içeren tüm hücrelerden elde edilebilir. Bu amaçla en sıklıkla kullanılan dokular kan, kemik iliği, amniyon sıvısı, trofoblastlar ve deri fibroblast dokusudur (15).

Kemik iliği hücreleri yada trofoblastların stotrofoblastları gibi spontan bölünebilen dokularda, kromozom eldesi için direkt yöntem uygulanırken, diğer doku ve hücrelere kültür yöntemi uygulanır. Kültür yönteminde kullanılan özel besi yerleri, hücrelerin ihtiyacı olan protein, vitamin, hormon, mineraller gibi maddelere ek olarak, hücreleri bölünmeye uyaran Fitohemaglitünün, L-glutamin gibi maddeleri de içerir (15).

2.2.6.2 HRBT (High Resolution Bantlama Tekniği):

High Resolution Bantlama Tekniği, 1976 yılında Yunis ve ark. ları (125) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, metotraksat (MTX) ile lenfosit hücre kültürü senkronize edilmesi ve kromozomların daha az kondanse oldukları , mitozun erken evresinde (profaz yada prometafaz) elde edilmesi temeline dayanır. Bu yöntemde amaç, hücre siklusunun erken bir evresinde DNA sentezinin MTX ile bloke edilmesi, artırılan hücre sayısını takiben bloğun timidin ilavesiyle kaldırılarak tüm hücrelerin eş zamanlı DNA sentezine girmeleri ve belli inkübasyon süresini takiben , kısa süreli kolsemid uygulamasıyla prometafaz, erken metafaz aşamalarında durdurulması sağlanır. Bu teknik, özellikle, ince yapısal kromozom anomalisi beklendiğinde yararlı olmaktadır. Standart metafaz preparasyonlarında kromozomlar 450 bant gösterirken, high resolution bantlama tekniğiyle kromozomları 550-850 bant seviyesinde görmek mümkün olmaktadır. Bu tekniğin kullanımıyla mikrolelesyon-mikroduplikasyon sendromları (Prader Willi/Angelman Sendromu, Miller Dieker Sendromu, DiGeorge Sendromu gibi) tanımlanabilir hale gelmiştir.

2.2.6.3 FISH (Fluoresan İn Situ Hibridizasyon):

İzotopik yada non-izotopik olarak işaretlenmiş nükleik asit dizilerinin, fikse edilmiş sitolojik preparatlarda hedef DNA ile oluşturduğu hibrid ürünlerinin mikroskopta görüntülenmesi in situ hibridizasyon (ISH) tekniği olarak adlandırılır.

Teknik, ilk kez 1969'da Gall ve Pardue (32) ve onlardan bağımsız olarak çalışan John ve arkadaşları (51) tarafından geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda, probler radyoaktif izotoplarla işaretlenerek, denatüre edilmiş sitolojik preparatlar üzerindeki hedef hücre DNA' sı ile hibridize edilmiş ve otoradyografiyi takiben hibridizasyon bölgelerinin gümüş partiküllerle işaretlendiği gösterilmiştir.

1980'li yılların başlarına kadar, DNA problemlerini işaretlemeye 125I, 3H, 35S gibi radyoizotoplar kullanılmaktaydı. Fakat, radyoaktif maddelerin zararlı olması, işaretli probun raf ömrünün kısa olması, otoradyografinin birkaç hafta sürmesi gibi sorunlar nedeniyle nükleik asitler, floresan yada enzimatik tepkimelerle yani non-izotopik olarak işaretlenmeye başlanmıştır (7). Böylece problemlerin hem enzimatik hem de kimyasal olarak aracı moleküllerle modifiye edilmesi ve hibrid moleküllerin amaca uygun şekilde görüntülenebilmesi sağlanmıştır (63). Sonuç olarak, otoradyografik tekniklerin yerini, analizlerin daha kısa zamanda, yüksek rezolüsyonda ve daha güvenli yapılmasını sağlayan non-izotopik işaretleme teknikleri almıştır (79).

1977 yılında klonlama yöntemleriyle elde edilen problemlerin, radyoaktif ve non-radyoaktif moleküllerle işaretlenmesini sağlayan nick translasyon yöntemi Rigby ve ark. (95) tarafından geliştirilmiştir. 1981'de ise Langer, nick translasyon yöntemi ile biotin kullanarak gerçek anlamda ilk radyoaktif olmayan işaretlemeyi gerçekleştirmiştir (60,61). Daha sonraları biotinün yanı sıra digoksijenin, sulfonat ve floresin gibi işaretleme molekülleri de kullanılmaya başlanmıştır. In situ hibridizasyon tekniği, 1991 yılında floresanlanmış nükleotid analoglarının kullanılmaya başlanmasıyla Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) Tekniği adını almıştır.

FISH tekniğinin duyarlılığı ve etkinliğinin yanı sıra hem interfaz hücrelerinde, hem de metafaz kromozomlarında uygulanabilirliği, bu yöntemin kullanım alanını genişletmiştir (Tablo 2-1).

Tablo 2-1 : FISH tekniğinin kullanım alanları

Diagnostik:	Araştırma:
Interfaz hücrelerinde anöploidi tanısı	Gen haritalaması
Klinik sitogenetik ve prenatal tanı	Tümör biyolojisi
Mikrodelesyon sendromlarının tanısı	Gen ekspresyon analizi
Dokularda enfeksiyon ajanlarının tanısı	Mikrobiyoloji-Viroloji
Kanser sitogenetiği	Mayoz-Mitoz analizleri

FISH tekniğinde izlenen başlıca basamaklar:

- Probun işaretlenmesi,
- Hibridizasyona girecek materyalin fikse edilerek preparatlara yayılması,
- Hedef DNA'nın (metafaz kromozomları veya interfaz nukleusu) denatürasyonu,
- Prob denatüre edildikten sonra hedef DNA ile hibridizasyonu,
- Hibridizasyon sonrası yıkamalar,
- Prob DNA ile hedef DNA' dan oluşan hibrid molekülün görüntülenmesi.

2.2.6.3.1 Problar

Hedef DNA/RNA molekülüne komplementer işaretli nükleik asit dizisine prob denir. Belirli bir kromozomal bölgenin veya DNA kesiminin FISH yöntemi ile görünür hale gelebilmesi için o bölgeye spesifik bir probun kullanılması gerekir.

Problar spesifik DNA parçasının plazmid, bakteriyofaj, kozmid veya YAC gibi bir vektör içerisine yerleştirilerek bakteri veya maya gibi konakçı hücrelerde ya da PCR ile çoğaltılması ile elde edilirler (7).

2.2.6.3.2 Probların İşaretlenmesi

Problar, non-radyoaktif yöntemlerle direkt ve indirekt olmak üzere iki türlü işaretlenebilir.

-Direkt işaretlemede aracı molekül direkt olarak proba bağlanır ve hibridizasyon sonrası mikroskopta görüntülemeye geçilir. Bu yöntemin en önemli kısmı, prob ile aracı molekül arasındaki bağın, ağır hibridizasyon ve sonrasındaki yıkama aşamalarına dayanabilmesidir. Aynı zamanda, aracı molekülün hibridizasyon verimliliğini düşürmemesi gerekmektedir (116).

- İndirekt yöntemde ise aracı molekül enzimatik ya da kimyasal olarak proba bağlanır ve immünohistokimyasal afinite reaksiyonları ile görünür hale getirilir. Direkt yöntemde göre daha hassastır ve prob boyunca bağlanan haptin miktarı daha fazla olduğundan dolayı daha güçlü sinyal elde edilir (62). İndirekt yöntemde en sık biotin-avidin (60), biotin-streptavidin, digoxigenin ve dinitrofenol kullanılır (86).

2.2.6.3.3 Prob Çeşitleri

İn situ hibridizasyon tekniğinde, kromozom anomalilerini saptamak amacıyla kullanılan problemler çok çeşitlidir. Hedef dizilerine göre problemler başlıca 3 sınıfa ayrılırlar;

1. Lokusa özgü problemler,
2. Kromozomun belirli bir yapısal bölgesine özgü, tekrarlayan dizilerden oluşan problemler,
3. Kromozomun tümünü veya belirli bir bölgesini boyayan problemler (92).

2.2.6.3.3.1 Lokusa özgü problemler

İnterfaz nukleusunda ya da metafaz kromozomlarında bir gene veya genin içindeki bir bölgeye ait özgün DNA dizilerinden oluşan problemlerdir (90). Bu problemler spesifik DNA dizilerinin faj yada YAC vektörüne klonlanması ve DNA'nın PZR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması sonucu oluşturulurlar (15). Özellikle mikrodilesyon sendromlarının (DiGeorge Sendromu, Miller-Dieker Sendromu, Prader Willi/Angelman Sendromu gibi) araştırılmasında kullanılmaktadır. İnsan Genom Projesinin ilerlemesiyle artış gösteren lokusa özgü problemler çeşitli vektörlere klonlanarak kullanıma sunulmaktadır (15).

2.2.6.3.3.2 Tekrarlayan Dizi (Satellit) Problemleri

Total insan DNA'sının %10-20'si satellit DNA'sı ve tekrarlayan diziler oluşturur. Kromozomların sentromerik ya da perisentromerik bölgelerinde $10^5 - 10^6$ baz çifti uzunluğunda tekrar dizileri vardır. Bunlar alfa-satellit, beta-satellit ya da diğer satellit DNA dizilerinden oluşur ve çoğu her kromozom için spesifiktir (70).

Bu dizilerden en iyi incelenmiş olanı alfa-satellit DNA sıdır ve tüm insan kromozomlarının sentromer bölgesinde bulunur. Her bir kromozomun boyuna uzunluğunun %2-5'ni kaplar ve 171 bp lik tekrarlardan oluşur (117).

2.2.6.3.3.3 Kromozomun Tümünü Boyayan (Painting) Problemler

Belli bir kromozomun farklı bölgelerine özgün DNA dizilerinden oluşturulan prob karışımı kullanılarak o kromozomun p terminalinden q terminaline kadar tümünün işaretlenmesi/boyanması sağlanır (whole chromosome painting/wcp) problemler, flow sitometri yardımıyla tek tek izole edilen kromozomların PCR ile çoğaltılmasıyla, monokromozomal hücre hibritlerinden ve kromozom kütüphaneleri kullanılarak elde edilir (15,92). Bu problemler, marker ve derivatif kromozomların kökeninin belirlenebilmesi veya ring kromozomlarda ökromatik kromozom parçasının bulunup bulunmadığının araştırılmasında kullanılır.

2.2.6.3.3.4 22q11.2 delesyon problemleri ve tanısal değeri

Kromozom 22q11.2 mikrolelesyonunu belirlemek için rutin genetik testler 1993-1994 yıllarında kullanılır hale gelmiştir. Böylelikle bu sendrom daha iyi tanınmış ve bu sendroma sahip hasta sayısı hızlı biçimde artış göstermiştir (124).

Kromozom 22q11.2 delesyon sendromunun tanısında başlıca sitogenetik ve floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemleri kullanılır. Vakaların çoğunda submikroskopik delesyonlar bulunduğundan, yüksek rezolüsyonlu kromozom analizi (HRBT) delesyonların sadece yaklaşık %20 sini belirleyebilir (106,120). DiGeorge kritik delesyon bölgesine özgü problemler sayesinde FISH, mikrolelesyonları saptamada sitogenetik analize kıyasla çok daha duyarlıdır (87,106). FISH yöntemi ile 22q11.2 delesyonlarının %95'ine tanı konabilir (76). TUPLE1 (TUP-like enhancer of split gene-1) ve N25 ticari olarak satın alınabilen kullanıma açık problemlerdir. DiGeorge/VCFS N25 probu yaklaşık 90Kb büyüklüğündedir. DiGeorge/VCFS TUPLE 1 bölge probu yaklaşık 120Kb büyüklüğündedir ve 22q11.2DS'undan sorumlu olan genlerden TUPLE

1 genini içerir. Prob karışımında kontrol probu, kromozom 22q'nun uçlarını (22qter) yeşile boyar; kırmızı renk veren prob ise 22q11.2 bölgesinin varlığını göstermektedir. Tek bir kırmızı 22q11.2 sinyalinin görülmesi, diğer kromozomda 22q11.2 mikrolelesyonu olduğunu ifade eder.

Klinik olarak DGS yada 22q11.2DS tanısı alan hastaların yaklaşık %5'inde FISH analizleriyle 22q11.2 delesyonu saptanamamaktadır. Bu %5'lik grup, 22q11.2'den daha küçük delesyonlar veya nokta mutasyonları şeklindedir (76).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereç

3.1.1 Hasta ve Kontrol Grubu

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Kardiyoloji Polikliniğinde doğumsal kalp anomalisi nedeniyle takip edilen ve dismorfik bulguları nedeniyle genetik konsültasyon istenen olgulardan; konotrunkal kalp anomalisi ve dismorfik bulguları olan 23 çocuk hasta grubunu, konotrunkal dışı kalp anomalisi olan ve dismorfik bulguları olan 10 çocuk kontrol grubu-1'i oluşturdu. Konotrunkal kalp anomalisi olan ve dismorfik bulgusu olmayan 13 çocuk kontrol grubu-2' olarak seçildi.

Trunkus arteriosus (TA), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), Fallot tetralojisi (TOF), ventriküler septal defekt (VSD), pulmoner stenoz/ subpulmonik darlık, pulmoner atrezi (PA), aortik pulmoner kollateral arterler, aort koarktasyonu/ subaortik darlık, aortik ark interrüpsiyonu tip B (IAA tip B)'li olan hastalar KTKD'li olarak kabul edildi. Aortik ark anomalileri olan olgular da hasta grubuna dahil edildi.

Dismorfik bulgusu olan gruplarda 22q11.2 delesyon sendromları dışında bilinen bir sendrom tanısı alan hastalar çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

FISH yöntemi ile 22q11.2 delesyon tanısı konan olguların sadece 5'inin anne/babasına ulaşılabildiğinden bu 10 anne/baba 22q11.2 delesyon sendromu bulguları açısından muayene edildi ve 22q11.2 delesyonu için FISH analizleri yapılabildi.

Olgulara ait periferik kandan elde edilen metafaz kromozomları HRBT (Yüksek Rezolüsyonlu Bantlama Tekniği)/ GTG bantlama ve 22q11.2 delesyon probu kullanılarak FISH yöntemi (Fluoresan İn Situ Hibridizasyon) ile incelendi.

3.1.2 Kullanılan Aletler

Etüv (Heraeus)

Laminal Air Flow

Zaman Ayarlı Mikrosantrifüj (Heraeus)

Mikrosantrifüj (Heraeus)

İnverted Mikroskop (Nikon)

Işık-Fluoresan Mikroskop (Nikon)

HyBrite cihazı (Heraeus)

Vortex

Hassas Terazı

Deep freeze

Mikropipet (Eppendorf)

pH metre

Su banyosu

Heparinli tüp

Enjektör

Fluoresan mikroskop filtreleri

3.2.2.1 Cam Malzeme

Lam

Lamel

Şale

Mavi kapaklı şişe (100 ml)

Beher

Mezür

Santrifüj tüpü

Pastör pipeti

3.2.3 Kimyasal Maddeler

3.2.3.1 Standart Periferik Kan Lenfosit Kültürü Solüsyonları

PB-MAX Karyotyping Medium (Gibco) (hazır medyum) (100 ml) -20 de saklanır

Chromosome Medium B (Biochrom) (hazır medyum) (100 ml) -20 de saklanır.

Colşemid (Biological Industries) (10mikrogram/ml) +4 de saklanır.

Hipotonik Solüsyon: (0,075M) KCl

5,6 g KCl (Merck) 1000 ml'ye distile su ile tamamlanır.

Carnoy Fiksatif : 3:1 v/v Metanol (Merck): Asetik asit (Merck)

3.2.3.2 GTG Bantlama Solüsyonları :

Giemsa (Merck) :

95 ml A+B Fosfat tamponu ve 5 ml Giemsa

Sörensen Tampon Çözeltisi :

A = 0,454 gr KH_2PO_4

B = 1,246 gr Na_2HPO_4

Tripsin Solüsyonu :

0,04 gr Tripsin ve 0,9 gr NaCl

3.2.3.3 FISH Solüsyonları

20XSSC (Standart Saline Citrate) Stok Solüsyonu

87,66 g NaCl (Merck), 44,116 g Nasitrat distile su ile 1000 ml ye tamamlandı ve 5M lık HCl ile pH sı 7.0'a ayarlandı.

2 X SSC: (20 X SSC nin 1/10 dilüsyonu)

20XSSC stok solusyonundan 10 ml alındı ve 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

0,4 X SSC: (20 X SSC nin 1/50 dilüsyonu)

20XSSC stok solusyonundan 2 ml alındı ve 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Oda ısısındaki %70, %85, ve %100 lük alkol serisi

NP40

0,4XSSC + % 0,3 NP40: 20XSSC stok solusyonundan 2 ml, 300 µl NP40 çözeltisi alındı 100ml'ye distile su ile tamamlandı.

2XSSC + % 0,1 NP40: 20XSSC stok solusyonundan 10 ml, 100 µl NP40 çözeltisi alındı 100ml'ye distile su ile tamamlandı.

Prob

Çalışmada, CYTOCELL firmasına ait lokusa özgü prob olan DiGeorge/VCFS TUPLE1 probu direkt olarak kullanıldı. DiGeorge/VCFS bölge probu yaklaşık 120 Kb lık TUPLE1 geni ve ona bağlı DNA'yı içermektedir. DiGeorge sendromu ve 22q11.2 mikrodelsiyonuyla ilişkili sendromların tanımlanması için tasarlanmıştır. Periferik kan hücre kültüründe interfaz hücrelerinde ve metafaz kromozomlarında FISH analizine olanak sağlar. Prob karışımında, 22qter subtelomer spesifik prob (clone N85A3), kontrol probudur; 22qter'i yeşile boyayarak bu kromozomun belirlenmesini sağlar. Kırmızı renk veren prob ise 22q11.2 bölgesinin varlığını göstermektedir. Tek bir kırmızı 22q11.2 sinyalinin görülmesi, diğer kromozomda 22q11.2 mikrodelsiyonu olduğunu ifade eder.

3.2 Yöntemler

3.2.1 Senkronize Etme Yöntemi İle Periferik Kan Lenfosit Kültürü

PB-MAX yada Chromosome medium B den 5 ml alındı, steril kültür tüplerine konuldu. Hastadan alınan yaklaşık 2 ml heparinize kandan 5 damla ilave edildi ve tüpün ağzı kapatıldıktan sonra 37 °C'lik etüvde 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında tüplere yaklaşık 2 damla 10M'lık MTX (Methotrexate) damlatıldı. MTX ilavesini takip eden 17. saatin sonunda 2 damla Timidin (10^{-5} M) konuldu. Timidin ilavesinden 5.5 saat sonra 2 damla kolşemid eklendi ve etüvde 37 °C'de yarım saat beklendi. Bu sürenin sonunda tüpler etüvden çıkartılıp kromozom eldesine geçildi.

3.2.2 Kromozom Eldesi:

Etüvden çıkartılan tüpler, 1200 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi ve sonrasında süpernatant atıldı. Çöken hücrelerin üzerine, 37 °C’de ısıtılmış 7 ml hipotonik solüsyon(0.075 M KCl)’dan vorteks eşliğinde eklendi. Hipotonik solüsyonda 15-20 dk bekletildikten sonra, 1200 rpm’de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve çöken hücrelerin üzerine yine vorteks yardımı ile yavaş damlalar halinde taze hazırlanarak buzdolabında bekletilmiş Carnoy fiksatifli eklenerek yıkama yapıldı. Fiksatifle yıkama işlemi 3 defa tekrarlanır. Üçüncü yıkama sonunda, hücrelerin üzerinde 0.5 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant boşaltıldı ve kalan sıvı ile hücreler pipetle karıştırılarak homojen hale getirildi. Homojenattan 2-3 damla, önceden temizlenmiş lamlara damlatıldı. Daha sonra lamalar, yayma kalitesi ve mitotik indeks açısından inverted mikroskop altında kontrol edilerek istenilen kaliteye ulaşılan örneklerden yeterli sayıda preparat hazırlandı.

3.2.3 GTG Bantlama

Hazırlanan preparatlar 37 °C’lik etüvde bekletilerek yaşlandırıldı. Yaşlandırılan preparatlar, 10-20 saniye kadar kısa bir süre tripsin çözeltisinde tutuldu. İdeal süre belirleninceye kadar her olguya ait 1 preparat kullanıldı. Daha sonra preparatlar, iki kez distile su ile yıkandı ve %5’lik Giemsa boyasında 5 dk boyandı. İki kez daha distile su ile yıkanan preparatlar daha sonra açıkta kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlar ışık mikroskopunda kontrol edildi. Kromozomların morfolojisi bozulmamış ve koyu-açık bantlar çok iyi ayırt edilebiliyor ise kalan diğer preparatlar da bantlandı. Daha sonra preparatlar *Entellan* ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda 100Xlük objektifle incelendi. Her olgu, en az 20 metafaz bant analizi (550 bant düzeyinde) ile değerlendirildi ve bunlardan en az 5 tanesinin görüntü analiz sistemi (PSI) ile karyotipi yapıldı.

3.2.4 Probların Kullanımı

3.2.4.1 Ön İşlem

- 1) Periferik kan lenfosit kültürü ile elde edilen hücre pelleti, temizlenmiş lamalar üzerine bir damla olacak şekilde tam ortasına damlatıldı.
- 2) Preparatların kuruma işlemi bittikten sonra faz kontrast mikroskopunda kaliteli ve yeterli metafaz ve interfaz olup olmadığı kontrol edildi.
- 3) Daha sonra bu preparatlar 2 X SSC solusyonunda 37 °C’de , 45 dk bekletildi.

- 4) 2 X SSC solusyonundan çıkarılan preparatlar , distile su ile yıkandı.
- 5) Daha sonra preparatlar oda ısısında, sırasıyla % 70, % 85 ve %100 etanol serisinde 3 er dk bekletilerek dehidrate edildi ve kurumaya bırakıldı.
- 6) Kuruyan preparatların üzerlerine, 5 µl prob damlatıldı. Preparatların üstleri lamelle kapatılarak parafilm ile kaplandı.

3.2.4.1.1 Denatürasyon

Prop damlatılan preparatlar, ilk olarak 73⁰C'de 5 dk'a bekletilerek Prob ve hedef DNA hibridizasyonu için denatürasyon sağlandı. sağlandı.

3.2.4.1.2.Hibridizasyon

Denatürasyondan sonra preparatlar, 37 ⁰C'de nemli ve karanlık bir kutu içinde bir gece bekletilerek hibridize edildi.

3.2.4.2 Hibrizasyon sonrası yıkama

- 1) Yıkama için preparatların üzerinden parafilmmler kaldırıldı, lameller çekildi.
- 2) 0,4 x SSC + % 0,3 NP40 solüsyonunda 5 dakika yıkandı.
- 3) Ardından oda sıcaklığında 2 x SSC + %0,1 NP40 lı ortamda 30 saniye 1 dakika bekletildi.

3.2.4.3 Hibrid sinyallerinin görüntülenmesi

- 1) Preparatlar yıkama solüsyonundan çıkarılıp distile sudan geçirildikten sonra karanlık bir ortamda kurumaya bırakıldı .
- 2) Kuruyan preparatların üzerine 10 µl DAPI-Antifade damlatılarak ve lamelle kapatıldı.
- 3) En az 10 dakika alüminyum folyoya sarılı bir biçimde - 20 C da buzdolabında bekletildi.
- 4) Floresan mikroskobunda preparatlar taranarak uygun metafaz ve interfaz alanları otomatik görüntüleme sisteminde fotoğraflandı .
- 5) Sinyallerin değerlendirilmesi DAPI bantları ile her 22. kromozomda da sinyaller değerlendirilebilene kadar metafaz sayısı artırıldı.

3.2.5 İstatistiksel metotlar:

Hasta ve kontrol gruplarında delesyon sıklığının arasındaki farkın anlamlılığının saptanmasında Ki-Kare ve Fisher'in kesin Ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR

4.1 KTKD ve dismorfik bulgusu olan olguların incelenmesi:

Hasta grubu olarak aldığımız KTKD ve dismorfik bulgusu olan 23 olgunun yaş, cinsiyet, kalp anomali, dismorfik bulgular, diğer sistem bulguları ve sitogenetik sonuçları Tablo 4.1’ de görülmektedir. GTG bantlaması ile 500 bant düzeyinde yapılan sitogenetik değerlendirmede normal kromozom yapısı saptanan bu olguların 6’sında FISH tekniği ile 22q11.2 delesyonu saptandı. Bu altı olgudan 4’ü klinik olarak 22q11.2 delesyon sendromlarından DiGeorge sendromu, 2’si Velo-kardiyo-fasiyal sendromu ile uyumluydu.

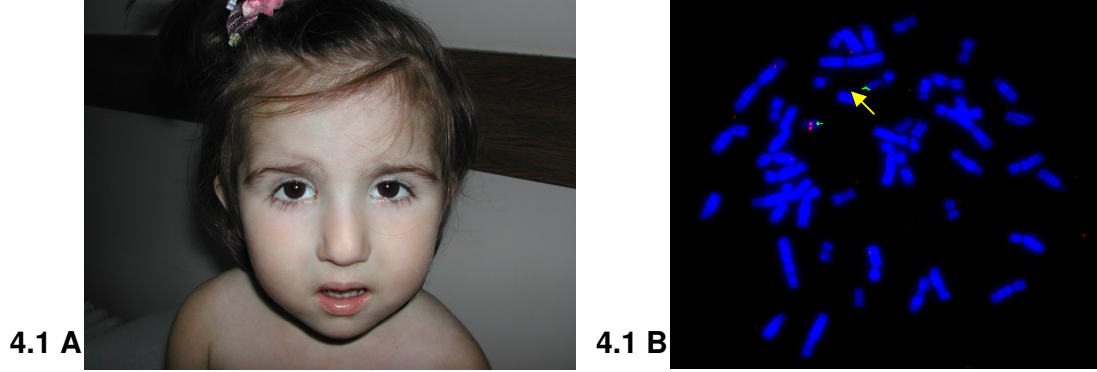
Tablo 4-1 : Hasta grubunun (Konotrunkal kalp anomali ve dismorfik bulguları olan çocuklar) klinik ve sitogenetik bulguları. 22q11.2DS’lu olgular koyu işaretlenmiştir.

	HASTA	CİNS./ YAŞ	KALP ANOMALİLERİ	DİSMORFİK BULGULAR	DİĞER BULGULAR	GTG KARYOTİP	FISH
1	Y.V.	K/5 hafta	sağ arkus aorta	Burun kökü geniş,yüksek damak,mikrognati,palpebral fissür dar,ağız küçük,alın belirgin, DiGeorge sendromu	Timus aplazisi,hipok alsemi	46,XX	(+)
2	G.Ç	K/10 yaş	TOF,sağ arkus aorta VSD,hafif PY	Yüksek dar damak,palpebral fissür darlığı,hafif MR (puan 85)		46,XX	(-)
3	Z.D	K/ 6 ay	Subaortik geniş VSD,pulmoner arterde artmış akım	Mikrosefali,mikrognati,simian +/,filtrum uzun,burun kökü basık	Timus normal	46,XX,9qh+,16q h+,21ps+	(-)
4	B.S	K/ 9 ay	TOF,PDA(ince), fonksiyone sol BT şant	Hafif antimongoloid aks,düğme burun,burun kökü geniş,filtrum kısa,yüksek damak,pes ekinovalgus,kepçe kulak,solda simian (+), II. ayak parmağı proksimale lokalize,hafif MR (VCFS)		46,XX	(+)
5	B.G	K/ 3 ay	Opere TOF, pulmoner kapak yokluğu	Burun kökü geniş, düğme burun,uzun yüz,parmaklar silindirik,büyüme gelişme geriliği		46,XX	(-)
6	G.T	E/12 yaş	TOF	Mikrosefali,myopi,uzun yüz,hafif- orta MR		46,XY	(-)

	CİNS./ HASTA	YAŞ	KALP ANOMALİLERİ	DİSMORFİK BULGULAR	DİĞER BULGULAR	GTG KARYOTİP	FISH
7	B.Y	E/ 2 gün	Outlet VSD,ASD,PH	Burun kökü geniş,mikroretrognati,damak yüksek, sağ elde sydney, tipisimian(+),DiGeorge sendromu	Ca=N, Timus agenezisi	46,XY	(+)
8	Ş.A	K/ 5 ay	Pulmoner atrezi (opere), TOF (opere), AP kollateraller	Palpebral fissür dar,burun kökü basık, sağ kulak kıkırdağı hipoplazik, damak yüksek, eller ince uzun, ayak parmakları ince uzun, simian -/-	Timus normal	46,XX	(-)
9	B.Ç	E/ 1 gün	TOF, pulmoner kapak yokluğu, (pulmoner stenoz+ pulmoner yetersizlik)	Gözler derinde, belirgin alın, ağız köşeleri aşağı dönük, mikrognati.DiGeorge sendromu		46,XY	(+)
10	A.K	E/ 7 ay	VSD(perimembranö z outlet), PFO, Aort % 20 Dekstrapoze	Alın belirgin, mongoloid aks, hipertelorizm, ÖF: 6x7 (geniş), kaşlar seyrek, mikrognati, göğüs çıkık, meme başları silik, solda atipik simian çizgisi, sakral sinüs ağzı(+),Motor gerilik	IgA: 7,35 (düşük) IgM: 25,2 (düşük) IgG: 385 (düşük)	46,XY	(-)
11	G.Ö	E/ 2 yaş	VSD (outlet,5,5 mm), Pulmoner stenoz (valvuler)	Saçlar sarı seyrek, ön fontanel kapalı, telekantus (bilateral), strabismus (bilateral), mikrognati, yüksek damak, Mikrosefali.		46,XY	(-)
12	Ö.Ö	E/ 6 yaş	TOF	Hipertelorizm, ağız köşeleri aşağı bakıyor, mikroretrognati, opere damak yarığı, göğüste deformite		46,XY	(-)
13	H.Ç	E/ 1 yaş	Aort dönüşünde anomali	Belirgin hipertelorizm, hafif antimongoloid aks, ÖF:2x2 cm, burun kökü geniş-yüksek, filtrum uzun,dudak ince, damak yüksek, sağ ön kolda geniş nevüs, şal skrotum, kriptorşidizm,sağ omuz cafe outlait 1,5x1 cm, transvers çizgi +/-, elde 2- 3-4-5. kamptodaktili, el başparmak geniş, sağ metatars odduktus, pes valgus, ayak başparmağı geniş, 2. parmakta klinodaktili. Opitz-BBG sendromu		46,XY	(-)
14	Y.K	E/ 1 gün	TOF	OF: 2x2 cm açık, burun kökü yüksek, sağ tarafta yarık dudak, damak normal.		46,XY	(-)

	HASTA	CİNS/ YAŞ	KALP ANOMALİLERİ	DİSMORFİK BULGULAR	DİĞER BULGULAR	GTG KARYOTİP	FISH
15	D.C	K/ 13 ay	Opere fallot pentalojisi	Hipertelorizm, ön fontanel:6x4 cm, burun kökü geniş- düğme burun, sakral sinüsü , hipermobilité,motor gerilik		46,XX	(-)
16	H.C	E/ 4 yaş	TOF	Mikrosefali, hipotelorizm, kulaklar büyük, hafif mikroretrognathi, uzun yüz, hipospadias, bilateral inmemiş testis, parmaklar tam açılmıyor.		46,XY	(-)
17	O.Y.Y	E/ 11 ay	TOF	Mikrosefali, hipotelorizm, mikroretrognati, ambiguous genitalia, kulaklar büyük, penil klitoris, hipospadias, renal agenezi, motor gelişim geri.		46,XY	(-)
18	E.G	E/ 11 yaş	Opere TOF,pulmoner atrezi	Damak dar yüksek, hipermobilité El boyu: normal, MMR		46,XY	(-)
19	F.K	E/ 1 yaş	TOF	Burun kökü basık, sağ kulakta heliks yok, kıkırdak ince, sol kulak heliksi hipoplazik, yarık damak, pectus karinatus, sağda transvers çizgi (+)	Tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, timus mevcut	46,XY	(-)
20	S.P.A	E/ 1 yaş	TOF, ASD	MMR, BGG, mikrosefali, simian çizgi (+/+), damak yüksek		46,XY	(-)
21	B.D	E/ 7 gün	VSD (subaortik), Pulmoner atrezi, subaortik stenoz, DA açıklığı, Aortopulmoner kollateraller (ince), PFO	Hafif hipertelorizm, mikrognati,simian çizgi (sağda),sakral dimple		46,XY	(-)
22	Ö.Ş	E/ 6 yaş	Opere TA+Aort yetersizliği(hafif)+ PS (valvuler)+patent foramen ovale	Burun kökü yüksek-geniş, damak hafif yüksek, eller uzun.VCFS		46,XY	(+)
23	B.Ü	E/ 1 gün	Fallot Pentalojisi	Burun kökü basık,düğme burun, hafif mikrognati,DiGeorge sendromu		46,XY	(+)

Resim 4.1 (A)'da KTKD grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan DiGeorge sendromlu hastamızda (Tablo 4.1, Olgu 1) DiGeorge fenotipi ile uyumlu yüz bulguları, Resim 4.1 (B)'de ise bu hastaya ait metafaz plağında 22q11.2 delesyonu görülmektedir.

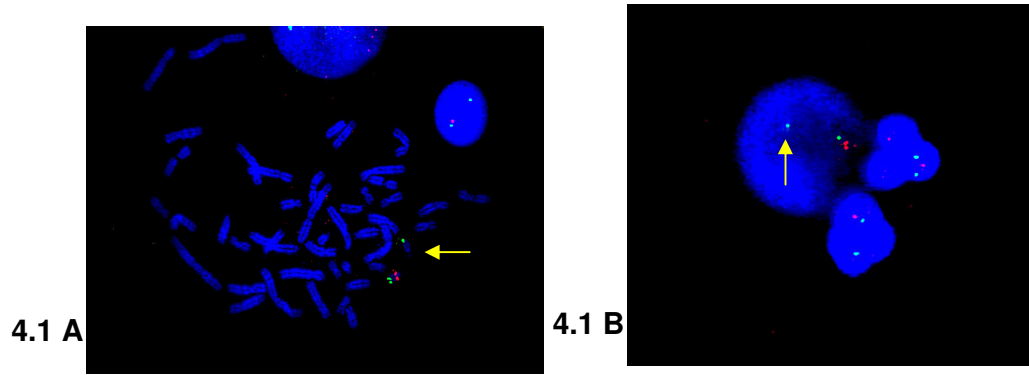


Resim 4.1: (A) KTKD grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan DiGeorge sendromlu hastamızın yüz bulguları (Tablo 4.1 Olgu 1, Y.V.). Hiperteleorizm, burun kökü geniş, mikrognați, dar palpebral fissür, küçük ağız, alın belirgin. (B) Aynı hastanın metafaz plağında 22q11.2 delesyon pozitifliği. Yeşil boyalı 22qter kontrol probudur ve 22q'nun uçlarını yeşile boyar. Kırmızı işaretli prob 22q11.2 bölgesini göstermektedir. Tek bir kırmızı 22q11.2 olması diğer kromozomda 22q11.2 mikrolelesyonunu ifade eder.

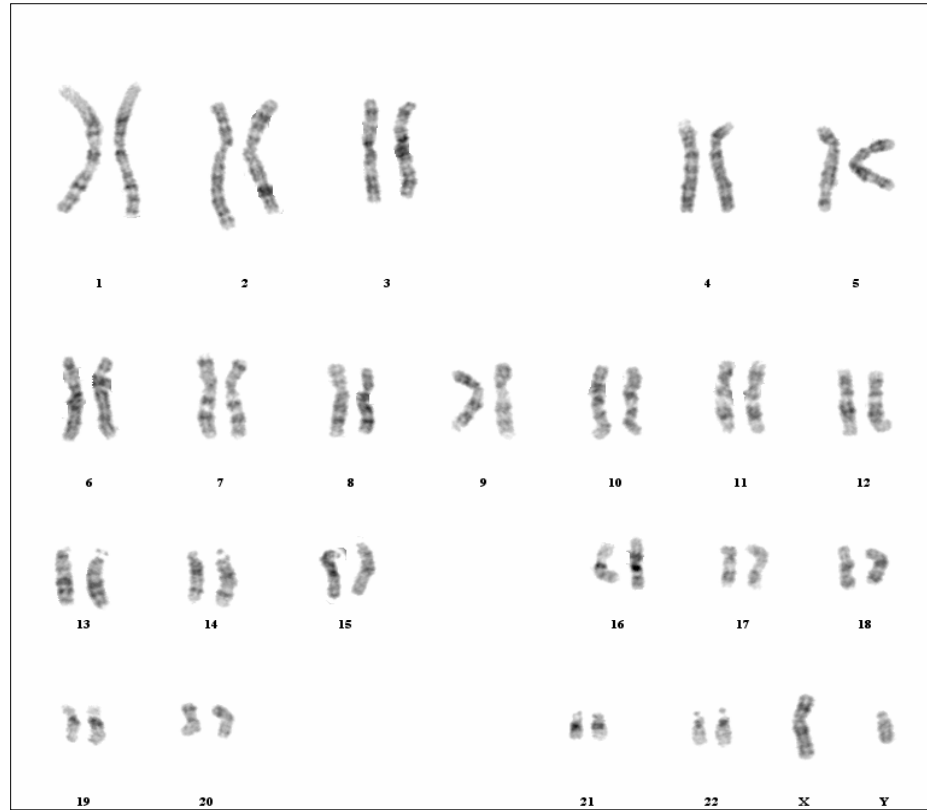
Resim 4.2 (A)'da KTKD grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan hastamızda (Tablo 4.1, Olgu 4) VCFS ile uyumlu yüz bulguları, Resim 4.2 (B)'de ise el bulguları görülmektedir. Şekil 4.1 (A) ve (B)'de ise aynı hastaya ait metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu görülmektedir.



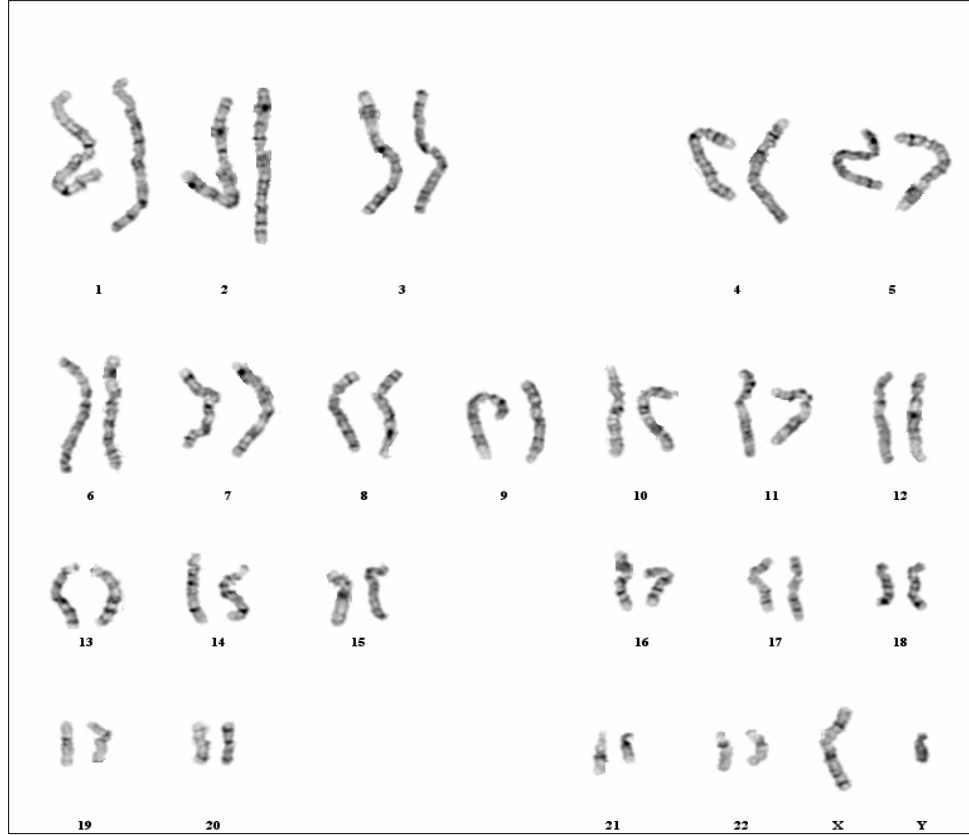
Resim 4.2: KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan VCFS'lu hastamızda (Tablo 4.1 Olgu 4, B.S.) uzun yüz, hiperteleorizm, hafif antimongoloid aks, düğme burun, filtrum kısa, kepçe kulak ve silindirik parmaklar.



Şekil 4.1: FISH yöntemiyle Tablo 4.1- Olgu 4, B.S.'in metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu pozitifliği.



Şekil 4.2 : KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan VCFS'lu hastamızın (Tablo 4.1 Olgu 22, Ö.Ş.) karyotipi.



Şekil 4.3 : KTKD grubundaki 22q11.2DS'lu bulunan DGS'lu hastamızın (Tablo 4.1 Olgu 23, B.Ü.) karyotipi.

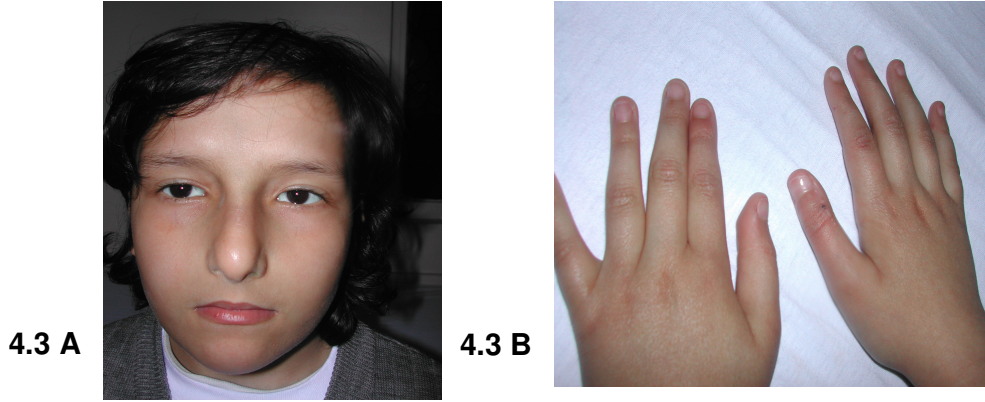
4.2 KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan olguların (kontrol-1) incelenmesi:

Kontrol-1 grubu olarak aldığımız konotrunkal dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan 10 olgunun yaş, cinsiyet, kalp anomalisi, dismorfik bulgular, diğer sistem bulgularına göre dağılımı Tablo-4-2 de görülmektedir. GTG bantlaması ile 500 bant düzeyinde yapılan sitogenetik değerlendirmede normal kromozom yapısı saptanan bu olguların 3'ünde FISH tekniği ile 22q11.2 delesyonu saptandı. Bu üç olgudan 1'i klinik olarak 22q11.2 delesyon sendromlarından DiGeorge sendromu, 1'i Velo-kardiyo-fasiyal sendromuydu. Üçüncü olgunun ise ilginç olarak tek atrium tek ventrikül, tek A.V. kapak şeklinde kalp anomalisi, yüksek damak, mikrognat, pes equinovarus gibi 22q11.2 mikrolelesyon sendromlarına tipik ekstrakardiyak bulgularından farklı fenotipi vardı.

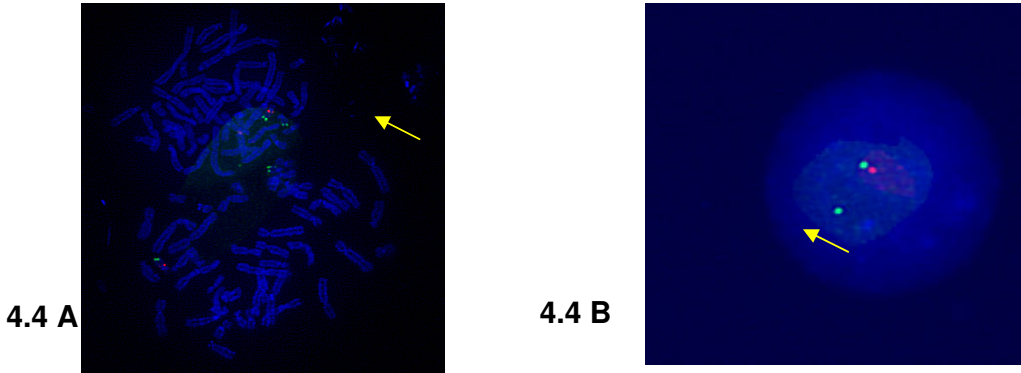
Tablo 4-2 : Kontrol-1 grubunun (Konotrunkal dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulguları olan çocuklar) klinik ve sitogenetik bulguları. 22q11.2DS'lu olgular koyu işaretlenmiştir.

	HASTA	CİNS/ YAŞ	KALP ANOMALİLERİ	DİSMORFİK BULGULAR	DİĞER BULGULAR	GTG KARYOTİP	FISH SONUCU
1	A.Ç	E/1 ay	Sekundum ASD, hafif valvuler PS	Simian +/-, balık ağızı,mikroretrognati,burun kökü basık,üst dudak önde, yarık damak,dolikosefali,	hipoparatiroidizm	46,XY	(-)
2	T.D.D	K/5 yaş	Opere PDA, VSD (perimembranöz, küçük), VSA, subaortik darlık, aort yetersizliği (hafif)	Opere damak yarığı, Mikrosefali		46,XX	(-)
3	N.T	K/8 yaş	VSD (perimembranöz), VSA (triküspit poşu), ASD (sekundum, küçük), LPVCS (sol persistan vena cava superior)	Telekantus +/-, kaşlar seyrek, dişler çürük, opere damak yarığı, parmaklar fusiform,hallux valgus, MMR, opere inguinal herni, VCFS.		46,XX	(+)
4	S.A	K/2,5 yaş	VSD(müsküler, küçük) PFO (açıklığı +)	Her iki göz çevresi şiş,epikantus+/-, telekantus +/-, burun kökü geniş, kulaklar kıkırdak, hipoplazik, damak hafif yüksek, transvers çizgi +/-, yarık damak.		46,XX	(-)
5	K.Y	K/1 ay	ASD (sekundum)	Hipertelorizm, burun kökü basık-geniş, kulaklarda heliksler yapışık, ağız küçük, dudaklar ince,damak yüksek, mikrognatizm, rektus diastazi (+) ayaklarda bilateral 2.ve 4. parmaklar geriden yerleşimli.DiGeorge sendromu	CD3= % 44 (N> %50) Hücresel immün yetmezlik Timus USG: Timus aplazisi	46,XX	(+)
6	G.K	E/4,5 y	ASD (high venosum, küçük) PDA (ince)	Hafif hipertelorizm, OF:2x2 cm, burun kökü basık, geniş, ağız köşeleri aşağı düşük.	CD3=% 7,15 (düşük) CD4= % 4,16 (düşük) CD8: %2,92 (düşük) (Hücrese l immün yetmezlik (+))	46,XY	(-)
7	B.Y	K/2 gün	Tek atrium, tek ventrikül, tek AV kapak.	Yüksek damak, mikrognati, ayaklarda dışa deviasyon, ellerde 6. parmak.		46,XX	(+)
8	M.Ç	K/4 ay	VSD	Bilateral epikantus, burun kökü basık, filtrum belirgin, yüksek damak		46,XX	(-)
9	G.Y	E/12 yaş	Sistemik venöz dönüş anomalisi	Yüksek damak, kısa boyun, pektus karinatus, eller ince uzun, mental retardasyon.		46,XY	(-)
10	B.A	K/3 gün	Geniş ASD, hafif PS, sol persistan VCS, 3/6 sistolik üfürüm.	Yarık damak, alın belirgin, hipertelorizm, mavi sklera, ağız köşeleri aşağı düşük, filtrum kısa, dudak ince, mikrognati, boyun kısa, bilateral klinodaktili.		46,XX	(-)

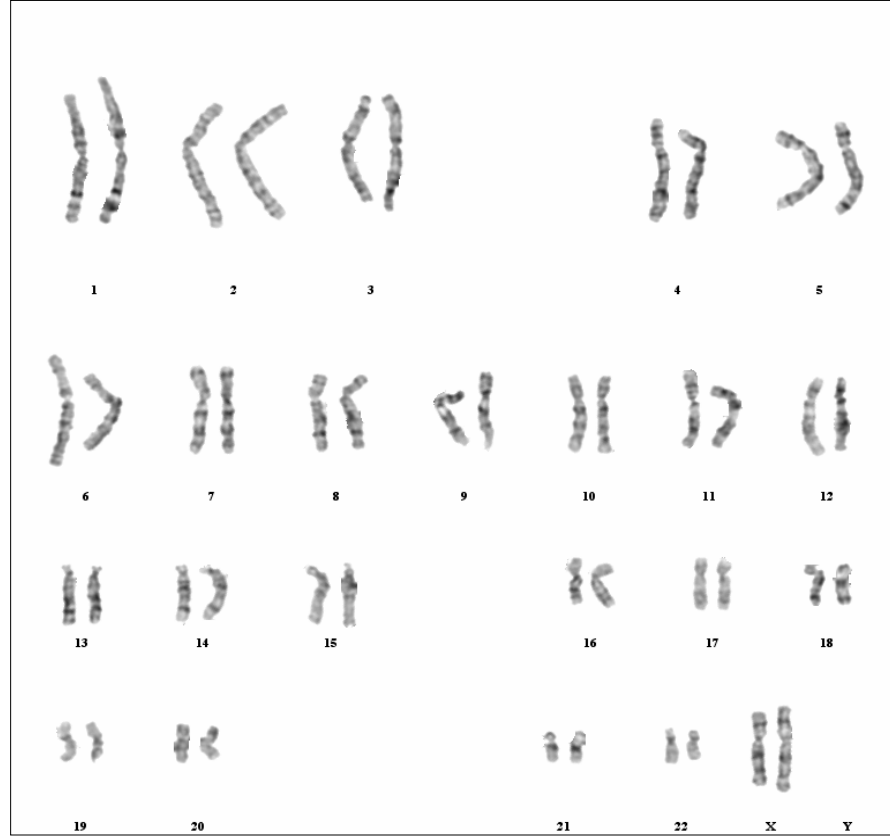
Resim 4.3 (A)'da kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan hastamızda (Tablo 4.2, Olgu 4) VCFS ile uyumlu yüz bulguları, Resim 4.3 (B)'de ise el bulguları görülmektedir. Şekil 4.2 (A) ve (B)'de ise aynı hastaya ait metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu görülmektedir.



Resim 4.3: Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif bulunan VCFS'lu hastamızda (Tablo 4.2 Olgu 4, N.T.) uzun yüz, hipertelorizm, kaşlar seyrek, parmaklar fusiform.

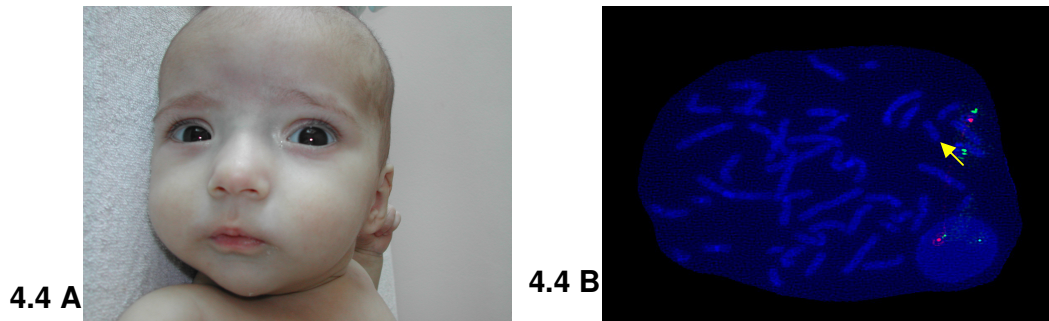


Şekil 4.4. (A) ve (B)'de Kontrol-1 grubundaki Olgu 4, N.T.'in metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu pozitifliği.

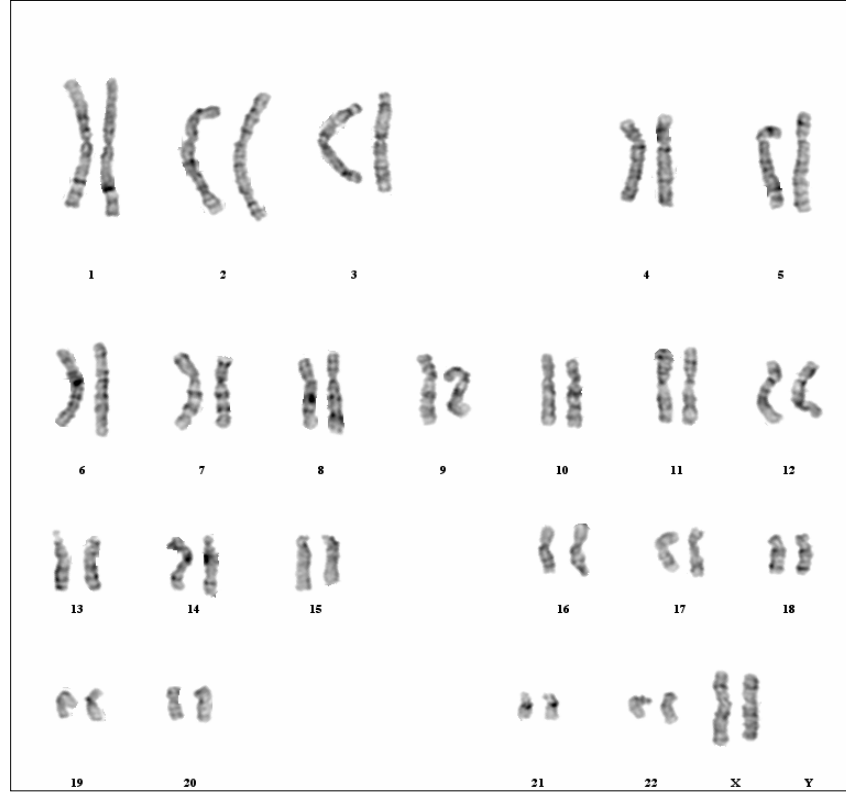


Şekil 4.5 : Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif bulunan VCFS’lu hastamızın (Tablo 4.2 Olgu 4, N.T.) karyotipi.

Resim 4.4 (A)’da Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu pozitif olan DiGeorge sendromlu hastamızda (Tablo 4.2, Olgu 6) DiGeorge fenotipi ile uyumlu yüz bulguları, Resim 4.4 (B)’de ise bu hastaya ait metafaz plağında 22q11.2 delesyonu görülmektedir.



Resim 4.4: (A) Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu bulunan DGS’lu hastanın (Tablo 4.2 Olgu 6, K.Y.) yüz görünümü: Hipertelorizm, mavi sklera, burun kökü basık-geniş, kulaklarda heliksler yapışık, ağız köşeleri aşağı dönük üst dudak ince, mikrognat. (B) Aynı hastanın metafaz ve interfaz plağında 22q11.2 delesyonu pozitifliği.



Şekil 4.6 : Kontrol-1 grubundaki 22q11.2 delesyonu bulunan DGS’lu hastanın (Tablo 4.2 Olgu 6, K.Y.) karyotipi.

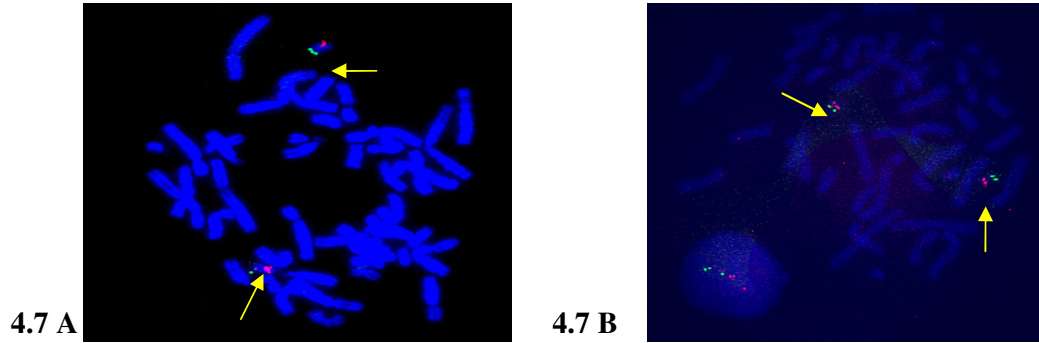
4.3 KTKD olan dismorfik bulgusu olmayan olguların (kontrol-2) incelenmesi:

Kontrol-2 grubu olarak aldığımız kalp anomalisi olan ve dismorfik bulgusu olmayan 13 olgunun yaş, cinsiyet, kalp anomalisi, dismorfik bulgular, diğer sistem bulgularına göre dağılımı Tablo 4-3 de görülmektedir. GTG bantlaması ile 500 bant düzeyinde yapılan sitogenetik değerlendirmede normal kromozom yapısı saptanan bu olguların hiçbirinde FISH ile 22q11.2 delesyonu saptanmadı.

Tablo 4-3 : Kontrol-2 grubu klinik ve sitogenetik bulguları.

	HASTA	CİNS./ YAŞ	KALP ANOMALİLERİ	İMMUN SİSTEM	GTG KARYOTİP	FISH SONUCU
1	B.Ü	E/12 yaş	Opere TOF, pulmoner yetmezlik, triküspit yetmezlik	Normal	46,XY	(-)
2	A.K	E/ 17 yaş	TOF	Normal	46,XY	(-)
3	E.Ü	E/ 8 yaş	TOF	Normal	46,XY	(-)
4	G.Ç	K/ 14 yaş	Opere TOF	Normal	46,XX	(-)
5	A.K	E/ 8 yaş	TOF	Normal	46,XY	(-)
6	E.A	E/ 16 yaş	Opere TOF	Normal	46,XY	(-)
7	A.K	E/ 3,5 yaş	Opere TOF, pulmoner yetmezlik	Normal	46,XY	(-)
8	H.K	E/ 8 yaş	Opere TOF	Normal	46,XY	(-)
9	B.Ç	E/ 5 yaş	Opere TOF	Normal	46,XY	(-)

10	E.Ş	E/ 10 yaş	TOF	Normal	46,XY	(-)
11	C.Ö	K/ 7 yaş	Opere TOF	Normal	46,XX	(-)
12	A.U	E/ 5 ay	VSD(perimembranöz-outlet küçük), ASD, Duktus arteriosus açıklığı, pulmoner hipertansiyon	Normal	46,XY	(-)
13	Ö.E.Y	E/ 20 ay	Opere kesintili arkus aorta, VSD	Normal	46,XY	(-)



Şekil 4.7 Kontrol-2 grubundaki (A) Olgu 2, A.K. ve (B) Olgu 8, H.K.'un 22q11.2 delesyonu negatifliği

4.4 Delesyon pozitif olan olguların anne/babalarının 22qdelesyon varlığının araştırılması:

FISH yöntemi ile delesyon gösterilen dokuz olgudan beşinin anne-babasına ulaşılabildi. Ebeveynlerin kalp anomalisi, dismorfik bulguları Tablo 4.4 de görülmektedir. Ebeveynlerde, GTG bantlaması ile 500 bant düzeyinde yapılan sitogenetik değerlendirmede normal kromozom yapısı saptandı ve FISH tekniği ile 22q11.2 delesyonu saptanmadı.

Tablo 4-4 : Del22q11.2 saptanan olguların ebeveynlerinin klinik ve sitogenetik bulguları.

	HASTA	KALP ANOMALİLERİ	DİSMORFİK BULGULAR	GTG KARYOTİP	FISH SONUCU
1	T.V baba(Tablo 4.1, Olgu 1 Y.V.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XY	(-)
2	H.V anne (Tablo 4.1, Olgu 1 Y.V.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XX	(-)
3	R.S baba(Tablo 4.1, Olgu 4 B.S.'nin)	NORMAL	NORMAL	46,XY	(-)
4	B.S anne (Tablo 4.1, Olgu 4 BS.'nin)	NORMAL	NORMAL	46,XX	(-)
5	T.Y baba (Tablo 4.1, Olgu 7 B.Y.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XY	(-)
6	F.Y anne(Tablo 4.1, Olgu 7 B.Y.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XX	(-)

7	S.Ç baba(Tablo 4.1, Olgu 9 B.Ç.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XY	(-)
8	T.Ç anne(Tablo 4.1, Olgu 9 B.Ç.'in)	NORMAL	NORMAL	46,XX	(-)
9	E.Ş anne(Tablo 4.1, Olgu22 Ö.Ş.'nin)	NORMAL	NORMAL	46,XX	(-)
10	A.Ş baba(Tablo 4.1, Olgu 22 Ö.Ş.'nin)	NORMAL	NORMAL	46,XY	(-)

4.5 Hasta grubu ve kontrol gruplarında delesyon sıklığı arasındaki farkın incelenmesi:

Hasta grubu ile kontrol-1 grubu arasında delesyon sıklığı açısından anlamlı bir fark bulunmazken (Tablo 4-5), gerek hasta grubunda gerekse kontrol-1 grubundaki delesyon sıklığı kontrol-2 grubundan anlamlı derecede yüksekti (Tablo 4-6 ve Tablo 4-7).

Tablo 4-5 : Hasta grubuyla kontrol-1 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından karşılaştırılması.

	Hasta	Kontrol-1	Toplam	
Delesyon +	6	3	9	
Delesyon (-)	17	7	24	P:0.45>0.05
T	23	10	33	

Tablo 4-6 : Hasta grubuyla kontrol-2 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından karşılaştırılması.

	Hasta	Kontrol-2	Toplam	
Delesyon +	6	0	6	
Delesyon (-)	17	13	30	P<0.05
T	23	13	36	

Tablo 4-7 : Kontrol-1 grubuyla kontrol-2 grubunun 22q11.2 delesyon sıklığı açısından araştırılması.

	Kontrol-1	Kontrol-2	Toplam	
Delesyon +	3	0	3	
Delesyon (-)	7	13	20	P<0.05
T	10	13	23	

4. TARTIŞMA

Konotrunkal kalp defektleri (KTKD) diğer kalp anomalileri gibi izole olarak bulunabileceği gibi, minör ve majör malformasyonlara eşlik edebilir ve özellikle 22q11.2 bölgesinin mikrolelesyon sendromu ile ilişkilidir (42,76). KTKD'li hastalarda yapılan geniş serilerde, 22q11.2 delesyon prevalansı %12-30 olarak bildirilmiştir (19,42,72). Konotrunkal kalp defektleri (KTKD) trunkus arteriosus (TA), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), Fallot tetralojisi (TOF), ventriküler septal defekt (VSD), pulmoner stenoz/ subpulmonik darlık, pulmoner atrezi (PA), aortik pulmoner kollateral arterler, aort koarktasyonu/ subaortik darlık, aortik ark interrüpsiyonu tip B (IAA tip B)'yi kapsayan anomalilerdir (80,81,94). Aortik ark malformasyonları gibi ek kardiyak anomalilerin bulunmasının 22q11.2 delesyon pozitifliği oranını artırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (19,42,83).

Devriednt ve ark. (20), konotrunkal kalp anomalisi saptanan 150 olguda del22q11.2 oranını %12,8 olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada büyük arterlerin transpozisyonuna sahip olgular bu gruba dahil edilmemiştir. Goldmuntz ve arkadaşları (42), kardiyak bulgu olarak interrupted aortik ark (IAA) (tip A, B veya C), trunkus arteriosus (TA), Fallot tetralojisi (TOF), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), double- outlet sağ veya sol ventrikül (DORV, DOLV) ve posterior yerleşimli ventriküler septal defekt (PMVSD) görülen 251 kişilik çalışma grubunda yaptıkları FISH analizlerinde 45 olguda (%17,9) 22q11.2 bölgesinde delesyon saptamışlardır. Delesyonun, DiGeorge sendromunda en sık görülen üç kardiyak defektten birine sahip olgularda daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Bu tespit; IAA' lı olguların %50'si (12/24), TA' lu olguların %34,5'i (10/29) ve TOF' lu olguların %15,9' (20/126) şeklindedir. Bu iki çalışma izole KTKD olgularda yapılmıştır ve bulunan 22q11.2 delesyon sıklığı %12 ile %17 oranındadır.

Hastalarda KTKD yanısıra dismorfik bulguların varlığında 22q11.2 delesyon sıklığının %30 kadar çıkabileceği bildirilmiştir (19). Erken süt çocukluğu döneminde minör anomalilerin çok kolaylıkla ayırt edilemediği vakalarda özellikle eşlik eden KTKD'leri varsa, kromozom 22q11.2 delesyonunu araştırmak için floresan in-situ hibridizasyon (FISH) analizinin yapılması gerektiği birçok çalışmada gösterilmiştir (6,19,111). Yüksek rezolüsyonlu kromozom analizi delesyonların sadece yaklaşık

%20'sini belirleyebildiğinden, delesyon bölgesine özgü problemler sayesinde FISH, mikrodelesyonları saptamada sitogenetik analize kıyasla daha duyarlıdır (87,106,120).

Çalışmamızda KTKD ve dismorfik bulguları olan hasta grubunda 22q11.2 delesyon oranı %26 (6/23) iken kontrol-2 grubu olarak seçtiğimiz sadece KTKD olup dismorfik bulgusu olmayan hastalarda ise delesyon saptanmamıştır (0/13).

Ülkemizde KTKD'li olgularda 22q11.2 delesyon sıklığını araştıran yayınlanmış 3 çalışma bulunmaktadır. Bunlardan biri Alikashiöğlu ve ark.(2) tarafından, Fallot tetralojisi, trunkus arteriosus, outlet ventriküler septal defekt, büyük arterlerin transpozisyonu, pulmoner atrezi ve vasküler ring şeklinde kardiyak anomaliler ve dismorfik bulgusu olan 32 olguda yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmada 22q11.2 delesyonu %6,3 oranında idi ve bizim bulduğumuz delesyon pozitifliği oranına göre oldukça düşüktü.

Giray ve ark. (36), doğumsal kalp anomalisi olan 36 hastada yaptıkları FISH analizleriyle %19.4 oranında 22q11.2 delesyonu saptamışlardır. Bu oran izole konotrunkal kalp defektlilerin %14.2'si ve tüm KTKD'lilerin %30.4'ü şeklindedir (36).

Derbent ve ark. (19) tarafından yapılan çalışmada, dismorfik bulgusu olup double-outlet sağ ventrikül (DORV), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), Fallot tetralojisi (TOF), ventriküler septal defektler (VSD) ve trunkus arteriosus gibi KTKD olan 30 olgu 22q11.2 açısından incelenmiştir. LSI DiGeorge/VCFS bölgesi probu ile yapılan FISH analizlerinde 9 olguda (30) 22q11.2 bölgesinde delesyon tespit edilmiştir. Bu grupta tespit edilen delesyon oranının (%30), daha önce yapılan çalışmalarda bildirilen delesyon oranlarından (%12,8- %17,8) daha yüksek olmasının nedeni, hastalarda dismorfik bulguların olmasının yanısıra pulmoner arter ve aortik ark anomalilerinin de fazla olması ile açıklanmıştır. Çünkü 22q11.2 mikrodelesyonu KTKD'de iki anomali varlığında daha sık oranda görülmektedir (19,42,82,83).

Hasta grubumuzda 22q11.2 delesyon sıklığının bu çalışmadaki orana benzemesinin nedeni hasta seçim şeklinin benzer olması ve delesyon saptanan olgularımızda Fallot tetralojisi (TOF), aort ark anomalisi, pulmoner kapak yokluğu, pulmoner atrezi, ve trunkus arteriosus tip II gibi kardiyak bulgular olmasıdır.

Momma ve ark. 1996 yılında KTKD'li hastalarda yaptıkları çalışmada 22q11.2 delesyonlu vakalarda TOF ve pulmoner atreziye ek kardiyak bulgu olarak aortik ark anomalileri, DA, ve pulmoner arterlerin 22q11.2 delesyonu olmayanlara oranla daha yaygın olduğunu bildirmişlerdir (82).

Khositseth ve ark. (53) TOF, pulmoner atresi/ventriküler septal defekt (PAVSD), çift çıkımlı sağ ventrikül (DORV), büyük arterlerin transpozisyonu (TGA), trunkus arteriosus (TA), subpulmoner ventriküler septal defekt (SPVSD), aortik ark interrüpsiyonu (IAA) bulunan 61 KTKD'li hastada FISH yöntemi ile yaptıkları çalışmada, %14.8 oranında 22q11.2 delesyonu saptamışlardır. Bu oran IAA'ların %100'ü, TA'ların %50'si, SPVSD'lerin %33.3'ü, PAVSD'lerin %33.3'ü ve TOF'lu hastaların %3.1'i şeklindedir (53). DORV ve TGA'lı hastalarda 22q11.2 delesyonu saptanmamıştır. Delesyon saptanan tüm hastalarda 22q11.2 sendromlarına ait en az bir fenotipik bulgu veya eşlik eden anomali olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada ortaya çıkan değerli bir diğer bulgu, delesyon sıklığının KTKD tipi ile ilişkili olarak; aort ark anomalilerinde sık iken TOF'lu hastalarda daha düşüktür (%3). Kontrol-2 grubu olarak seçtiğimiz sadece KTKD olan dismorfik bulgusu olmayan hastalarda hiç delesyon saptamamızın nedenini bu grup hastalarda KTKD olarak sadece TOF lu hastaların olması ve hasta sayısının az olması şeklinde açıklayabiliriz.

Webber ve ark. (115) hastaların 26'sında (%52) dismorfik bulgusu olan ve bu grubun içindeki 19 hastanın da 22q11.2 delesyon sendromu fenotipik bulgusuna sahip olduğu 36'sı TOF/PA veya yalnız TOF'lu 50 hastadan yaptıkları çalışmada 22q11.2 delesyonu araştırmışlardır. Yapılan FISH analizleriyle 22q11.2 delesyon sendromu fenotipik bulgusuna sahip 19 hastanın 8'inde 22q11.2 delesyonu tespit edilmiştir. Dismorfik bulgusu olmayan hastalarda ise 22q11.2 delesyonu saptanmamıştır (115).

Kalp dışı anomalilerden dismorfik bulgu ve eşlik eden klinik sorunların varlığı del22q11.2 pozitifliği için önemlidir. Çünkü delesyon pozitif olan hemen her hastanın kalp dışı bir bulgusu (fasiyal dismorfizm gibi) vardır. Ryan ve ark.'nın (97) 22q11.2 delesyonu olan 558 hasta ile yapmış olduğu çalışmada, hastaların yaklaşık %75'inde özellikle KTKD tipinde kardiyovasküler anomalilere ek olarak, hastaların %49'unda otolaringeal anomaliler, %36'sında genitoüriner anomaliler, %60'ında hipokalsemi, %2'sinde ağır immünolojik bozukluk, %36'sında büyüme bozukluğu, %33'ünde işitmede azalma, %62'sinde hafif öğrenme problemleri gösterilmiştir. Yaşları 3-18

arasında değişen 252 çocuğun %9'unda davranışsal veya psikiyatrik problemler bulunmuştur (97).

Dismorfik bulguların 22q11.2 delesyonu tanısındaki değerini test etmek amacı ile çalışmamızda KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan 10 hastadan (kontrol-1) 22q11.2 delesyon sıklığı aradık ve hastaların üçünde (%30) 22q11.2 delesyon pozitif bulduk. Bu oran hasta grubuna benzerdi. Burada delesyon pozitif olan ilk olgu klinik fenotipi ile DiGeorge sendromu olup kalp anomalisi KTKD grubundan olmayan ASD idi, ikinci olgu ise VSD ve ASD si olan ve klinik olarak VCFS ile uyumlu olan bir hasta idi. Üçüncü olgu ise tek atrium tek ventrikülü olup kısa sürede kaybedilen ve dismorfik bulguları olan bir hasta idi. Bu kompleks kalp anomalisinde 22q11.2 delesyonu bugüne dek bildirilmemiştir. Bu grupta delesyon sıklığı hasta sayısının azlığı nedeniyle biraz fazla gözüксе de, bu sonuç bize KTKD dışı kalp anomalilerinin varlığında da dismorfik bulguların doğru tanımlanmasının bu mikrolelesyon sendromlarının tanısında ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Literatürde bu özellikteki hasta grubunda 22q11.2 delesyon sıklığı bugüne dek ayrıca değerlendirilmemiştir.

Kromozom 22q11.2 mikrolelesyon sendromu %90-94 *de novo* olarak görülür, %5-10 oranında otozomal dominant olarak kalıtılır (29,124). Ailesel vakalarda, etkilenmiş ebeveyn çoğunlukla annedir (%87). Daha önceki çalışmalarda, özellikle DiGeorge fenotipi olan 22q11.2 mikrolelesyonu tespit edilen çocukların anne-babasinda hafif VCFS fenotipi olduğu bilinmektedir (52). Bu yüzden, bir çocukta delesyon saptandığında anne ve babanın araştırılması gerekir (97,111). FISH yöntemi ile 22q11.2 delesyon tanısı konan olgularımızın anne-babası bu sendrom bulguları açısından muayene edildi ancak sadece 10 anne/babanın 22q11.2 delesyonu için FISH analizleri yapılabildi. Anne/babaların hiçbirinde VCFS klinik bulgusu yoktu, FISH analizi yapılabilen 10 anne/baba da delesyon saptanmadı.

Sonuç olarak bu çalışma ile KTKD kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan hasta grubunda 22q11.2 delesyon sıklığı %26 ile literatüre göre yüksek oranda bulundu. KTKD dışı kalp anomalisi ve dismorfik bulgusu olan kontrol-1 grubunda 22q11.2 delesyon sıklığının %30 gibi yüksek oranda ve hasta grubuna yakın bir değerde bulunmuştur. Bu sonuç ile, kontrol-1 grubunda değerlendirilen hasta sayısı az da olsa,

yine de, 22q11.2 delesyon sendromlarının tanısında, KTKD varlığı kadar bu sendroma özgü dismorfik bulguların doğru tanımlanmasının da önemli olduğu gösterilmiştir.

4. KAYNAKLAR

1. Akçakuş M, Güneş T, Kurtoğlu S, Çetin N, Özkul Y, Narin N, Atabek ME, Uğraş R. Asymmetric crying facies associated with congenital hypoparathyroidism and 22q11 deletion. *Turk J Pediatr* 2004; **46**:191-193.
2. Alikashiöğlu M, Malkoç N, Ceviz N, Özme Ş, Uludoğan Ş, Tunçbilek E: Microdeletion of 22q11 (CATCH 22) in children with conotruncal heart defect and extracardiac malformations. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2000; **42**: 215-218.
3. Amati F, Mari A, Digilio MC, Mingarelli R, Marino B, Giannotti A, Novelli G, Dallapiccola B. 22q11 deletions in isolated and syndromic patients with tetralogy of Fallot. *Hum Genet.* 1995;**95**:479-482.
4. Ammann AJ, Wara DW, Cowan MF, Banett DJ, Stiehm ER. The DiGeorge syndrome and the fetal alcohol syndrome. *AJDC* 1982; **136**: 986-988.
5. Anaclerio S, Ciommo DV, Michielon G, Digilio MC, Formigari R, Picchio MF, Gargiulo G, Donato DR, Ioris MAD, Marino B: Conotruncal heart defects: impact of genetic syndromes on immediate operative mortality. *Ital Heart J* 2004;**5**:624-628.
6. Borgmann S, Luhmer I, Arslan-Kirchner M, Kallfelz HC, Schmidtke J. A search for chromosome 22q11.2 deletions in a series of 176 consecutively catheterized patients with congenital heart disease: no evidence for deletions in non-syndromic patients. *Eur J Pediatr.* 1999;**158**:958-963.
7. Bray-Ward P.:FISH probes and labelling techniques in FISH "A practical approach" (Mai S, Beatty BG, Squire JA., edited). *Oxford Univ. Pres*; pp 5-29, 2002.
8. Burn J, Takao A, Wilson D, Cross I, Momma K, Wadey R, Scambler P, Goodship J. Conotruncal anomaly face syndrome is associated with a deletion with chromosome 22q11. *J Med Genet* 1993; **30**: 822-824.
9. Burn J: Closing time for CATCH22. *J Med Genet* 1999; **36**: 737-738.
10. Carlson C, Papolos D, Pandita RK, Faedda GL, Veit S, Goldberg R, Shprintzen R, et al. Molecular analysis of velo-cardio-facial syndrome patients with psychiatric disorders.*Am J Hum Genet* 1997;**60**:851-859.
11. Carlson C, Sirotkin H, Pandita R, GoldbergR, McKie J, Wadey R, Patanjali SR, Weissman SM, Anyane-Yeboah K, Warburton D, et al: Molecular definition of

- 22q11 deletions in 151 velocardio-facial syndrome patients. *Am J Hum Genet* 1997; **61**: 620–629.
12. Cayler GG. Cardiofacial syndrome: congenital heart disease and facial weakness, a hitherto unrecognized association. *Arch Dis Child* 1969; **44**: 69-75.
 13. Chapman DL, Garvey N, Hancock S, Alexiou M, Agulnik SI, Gibson-Brown JJ, Cebra-Thomas J, Bollag RJ, Silver LM, Papaioannou VE: Expression of the T-box family genes, Tbx1-Tbx5, during early mouse development. *Dev Dyn* 1996; **206**: 379–390.
 14. Chow EW, Bassett AS, Weksberg R. Velo-cardio-facial syndrome and psychotic disorders: implications for psychiatric genetics. *Am J Med Genet* 1994;**54**: 107-112.
 15. Collins FS, Gelehrter TD, Ginsburg D, Principles of medical genetics. Williams and Wilkins Company, Baltimore, 2nd Edition, 1998.pp:153-162.
 16. Cuneo BF, Langman CB, Ilbawi MN, Ramakrishnan V, Cutilletta A, Driscoll DA: Latent hypoparathyroidism in children with conotruncal cardiac defects. *Circulation* 1996; **93**: 1702– 1708.
 17. Daw SC, Taylor C, Kraman M, Call K, Mao J, Schuffenhauer S, Meitinger T, Lipson T, Goodship J, Scambler P: A common region of 10p deleted in DiGeorge and velocardiofacial syndromes. *Nat Genet* 1996; **13**: 458–460
 18. Debrus S, Berger G, De Meeus A, Sauer U,Guillamont S, Voisin M, Bozio A, Demczuk S, Aurias A, Bouvagnet P. Familial non-syndromic conotruncal defects are not associated with a 22q11 microdeletion. *Hum Genet.* 1996;**97**:138-144.
 19. Derbent M, Yılmaz Z, Baltacı V, Saygılı A, Varan B, Tokel K. Chromosome 22q11.2 deletion and phenotypic features in 30 patients with conotruncal heart defects. *Am J Hum Genet* 2003; **116A**: 129-135.
 20. Devriendt K, Eyskens B, Fryns JP. The incidence of a deletion in chromosome 22q11 in sporadic and familial conotruncal heart disease. *Eur J Pediatr* 1996; **155**:721.
 21. Devriendt K, Fryns J-P, Mortier G, Van Thienen M-N, Keymolen K. The annual incidence of DiGeorge/ velocardiofacial syndromes. *J Med Genet* 1998; **35**: 789-790.
 22. DiGeorge AM: Discussion on a new concept of the cellular basis of immunology. *J Pediatr* 1965; **67**: 907.

23. Digilio MC, Marino B, Capolino R, Angioni A, Sarkozy A, Roberti MC, Conti E, de Zorzi A, Dallapiccola B. Familial recurrence of nonsyndromic congenital heart defects in first degree relatives of patients with deletion 22q11.2. *Am J Med Genet* A. 2005;**134**:158-164.
24. Driscoll DA, Budarf ML, Emanuel BS. A genetic etiology for Di-George syndrome: consistent deletions and microdeletions of 22q11. *Am J Hum Genet* 1992; **50**: 924-933.
25. Driscoll DA. Prenatal Diagnosis of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med*. 2001;**3**:14-18.
26. Farrell MJ, Stadt H, Wallis KT, Scambler P, Hixon RL, Wolfe R, Leatherbury L, Kirby ML: HIRA, a DiGeorge syndrome candidate gene, is required for cardiac outflow tract septation. *Circ Res* 1999; **84**: 127–135.
27. Ferencz C, Loffredo CA, Correa-Villasenor A, Wilson PD. Genetic and environmental risk factors of major cardiovascular malformations. The Baltimore-Washington Infant Study 1981-1989. Mount Kisco, NY: Futura Publishing Company 1997.
28. Ferencz C, Rubin JD, McCarter RJ, et al. Congenital heart disease: prevalence at livebirth. *Am J Epidemiol* 1985;**121**:31-36.
29. Fernhoff PM. The 22q11.2 deletion syndrome: more answers but more questions. *J Pediatr* 2000; **137**: 145-147.
30. Ford LC, Sulprizio SL, Rasgon BM: Otolaryngological manifestations of velocardiofacial syndrome: a retrospective review of 35 patients. *Laryngoscope* 2000; **110**: 362–367.
31. Fukushima Y, Ohashi H, Wakui K, Nishida T, Nakamura Y, Hoshino K, Ogawa K, Ohishi T. DiGeorge syndrome with del (4) (q21.3q25): Possibility of the fourth chromosome region responsible for DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet* 1992; **51**: A80.
32. Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1969 Jun;**63**(2):378-83.
33. Garabedian M: Hypocalcemia and chromosome 22q11 micro-deletion. *Genet Couns* 1999; **10**: 389–394.
34. Gardner Mckinlay RJ, Sutherland GR, Chromosome abnormalities and genetic counseling. Oxford Univ. Pres, pp: 3-20,2004.

35. Giannotti A, Digilio MC, Marino B, Mingarelli R, Dallapicola B. Cayler cardiofacial syndrome and del 22q11: part of the CATCH22 phenotype. *Am J Med Genet* 1994; **30**:807-812.
36. Giray Ö, Ülgenalp A, Bora E, Saylam S.G, Ünal N, Meşe T, Hüdaoglu S, Erçal D. Congenital cardiac defects with 22q11 deletion. *Turk J Pediatr* 2003; **45**: 217-220.
37. Glover TW. CATCHing a break on 22. *Nat Genet* 1995; **10**: 257-258.
38. Gogos JA, Morgan M, Luine V, Santha M, Ogawa S, Pfaff D, Karayiorgou M: Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 9991–9996.
39. Gogos JA, Santha M, Takacs Z, Beck KD, Luine V, Lucas LR, Nadler JV, Karayiorgou M: The gene encoding proline dehydrogenase modulates sensorimotor gating in mice. *Nat Genet*
40. Goldberg R, Marion R, Borderon M, Wiznia A, Shprintzen RJ. Phenotypic overlap between velo-cardio-facial syndrome and the DiGeorge sequence. *Am J Hum Genet Suppl* 1985; **37**: A54.
41. Goldberg R, Motzkin B, Marion R, Scambler PJ, Shprintzen RJ. Velo-cardio-facial syndrome: a review of 120 patients. *Am J Med Genet* 1993; **45**: 313-319.
42. Goldmuntz E, Clark BJ, Mitchell LE, Jawad AF, Cuneo BF, Reed L, McDonald-McGinn D, Chien P, Feuer J, Zackai EH, et al: Frequency of 22q11 deletions in patients with conotruncal defects. *J Am Coll Cardiol* 1998; **32**: 492-498.
43. Goldmuntz E, Driscoll D, Budarf ML, Zackai EH, McDonald-McGinn DM, Biegel JA, Emanuel BS. Microdeletions of chromosomal region 22q11 in patients with congenital conotruncal cardiac defects. *J Med Genet* 1993; **30**: 807-812.
44. Graham A, Smith A: Patterning the pharyngeal arches. *Bioessays* 2001; **23**: 54–61.
45. Greenberg F, Elder FFB, Haffner P, Northrup H, Ledbetter DH. Cytogenetic findings in a prospective series of patients with DiGeorge anomaly. *Am J Hum Genet* 1988; **43**: 605-611.
46. Greig F, Paul E, DiMartino-Nardi J, Saenger P: Transient congenital hypoparathyroidism: resolution and recurrence in chromosome 22q11 deletion. *J Pediatr* 1996; **128**: 563–567.
47. Grossman MH, Emanuel BS, Budarf ML: Chromosomal mapping of the human catechol-O-methyltransferase gene to 22q11.1–q11.2. *Genomics* 1992; **12**: 822–825.

48. Guris DL, Fantes J, Tara D, Druker BJ, Imamoto A: Mice lacking the homologue of the human 22q11.2 gene CRKL phenocopy neurocristopathies of DiGeorge syndrome. *Nat Genet* 2001; **27**: 293–298.
49. Jawad AF, McDonald-McGinn DM, Zackai E, Sullivan KE: Immunologic features of chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *J Pediatr* 2001; **139**: 715–723.
50. Jerome LA, Papaioannou VE: DiGeorge syndrome phenotype in mice mutant for the T-box gene, Tbx1. *Nat Genet* 2001; **27**: 286-291.
51. John H, Birnstiel ML, Jones KN. RNA-DNA hybrids at the cytological level. *Nature* 1969; **223**: 582-587.
52. Kenneth J.L. Shiprintzen Syndrome. In: Smith's Recognizable patterns of human malformation. WB Saunders Company, 5th Ed., 1997; pp. 266-267.
53. Khositseth A, Tocharoentanaphol C, Khowsathit P, Ruangdaraganon N. Chromosome 22q11 deletions in patients with conotruncal heart defects. *Pediatr Cardiol* 2005; **26(5)**: 570-573.
54. Kinouchi A, Mori K, Ando M, Takao A: Facial appearance of patients with conotruncal anomalies. *Shonika (Pediatr Jpn)* 1976; **17**: 84.
55. Kirby ML, Gale TF, Stewart DE. Neural crest cells contribute to normal aortopulmonary septation. *Science* 1983; **220**: 1059-1061.
56. Lahat E, Heyman E, Barkay A, Goldberg M. Asymmetric crying facies and associated congenital anomalies: prospective study and review of the literature. *J Child Neurol* 2000; **15**: 808-810.
57. Lai MMR, Seriven PN, Ball C, Berry AC. Simultaneous partial monosomy 10p and trisomy 5q in a case of hypoparathyroidism. *J Med Genet* 1992; **29**: 586-588.
58. Lammer EJ, Opitz JM, The DiGeorge anomaly as a developmental field defect. *Am J Med Genet* 1986; **29**: 113-127.
59. Lamour V, Lecluse Y, Desmaze C, Spector M, Bodescot M, Aurias A, Osley MA, Lipinski M: A human homolog of the *S. cerevisiae* HIR1 and HIR2 transcriptional repressors cloned from the DiGeorge syndrome critical region. *Hum Mol Genet* 1995; **4**: 791–799.
60. Langer Pr, Waldrop AA, Ward DC: Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides: Novel Nucleic Acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 78 1981, **11**: 6633-6637.

61. Langer-Safer PR, Levine M, Ward DC: Immunological method for mapping genes on drosophila polytene chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;**79**:4381-4385.
62. Lichter P, Boyle AL, Cremer T, Ward DC. Analysis of genes and chromosomes by nonisotopic in situ hybridization. *GATA* 1991; **8**(1): 24-35.
63. Lichter P, Cremer T, Borden J, Manuelidis L, Ward DC: Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by in situ suppression hybridization using recombinant DNA libraries. *Hum Genet* 1988; **80**: 224-234.
64. Lindsay EA, Vitelli F, Su H, Morishima M, Huynh T, Pramparo T, Jurecic V, Ogunrinu G, Sutherland HF, Scambler PJ, et al: Tbx1 haploinsufficiency in the DiGeorge syndrome region causes aortic arch defects in mice. *Nature* 2001; **410**: 97-101.
65. Lindsay EA: Chromosomal microdeletions: dissecting del22q11 syndrome. *Nat Rev Genet* 2001; **2**: 858-868.
66. Lurie IW, Kappetein AP, Loffredo CA, Ferencz C. Non-cardiac malformations in individuals with outflow tract defects of the heart: Baltimore- Washington Infant Study 1981-1989. *Am J Med Genet* 1995; **59**:76-84.
67. Maeda J, Yamagishi H, Matsuoka R, Ishihara J, Tokumura M, Fukushima H, Ueda H, Takahashi E, Yoshida S, Kojima Y: Frequent association of 22q11.2 deletion with tetralogy of Fallot. *Am J Med Genet* 2000; **92**: 269-272.
68. Magnaghi P, Roberts C, Lorain S, Lipinski M, Scambler PJ: HIRA, a mammalian homologue of *Saccharomyces cerevisiae* transcriptional co-repressors, interacts with Pax3. *Nat Genet* 1998; **20**: 74-77.
69. Mai S, Beatty BG, Squire JA.(ed): FISH “ A Practical Approach” Oxford Univ. Press, 2002.
70. Manuelidis L: Chromosomal localization of complex and simple repeated human DNAs. *Chromosoma (Berl.)* **66**:23-32, 1978.
71. Marino B, Digilio MC, Toscano A, et al. Anatomic patterns of conotruncal defects associated with deletion 22q11. *Genet Med* 2001; **3**: 45-48.
72. Marino B, Digilio MC, Toscano A, Giannotti A, Dallapiccola B. Congenital heart defects in patients with DiGeorge/velocardiofacial syndrome and del22q11. *Genet Couns.* 1999;**10**:25-33.

73. Marino B, Digilio MC. Congenital heart disease and genetic syndromes: specific correlation between cardiac phenotype and genotype. *Cardiovasc Pathol* 2000; **9**:303-315.
74. Matsuoka R, Kimura M, Scambler PJ, Morrow BE, Imamura S, Minoshima S, Shimizu N, Yamagishi H, Joh-o K, Watanabe S, et al: Molecular and clinical study of 183 patients with conotruncal anomaly face syndrome. *Hum Genet* 1998; **103**: 70–80.
75. McDonald-McGinn DM, Driscoll DA, Bason L, Christensen K, Lynch D, Sullivan K, Canning D, Zavod W, Quinn N, Rome J, Paris Y, Wainberg P, Clark BJ, Emanuel BS, Zackai EH. Autosomal dominant “Opitz” GBBB syndrome due to a 22q11.2 deletion. *Am J Med Genet* 1995; **59**:103-113.
76. McDonald-McGinn DM, Kirschner R, Goldmuntz E, Sullivan K, Eicher P, Gerdes M, Moss E, Solot C, Wang P, Jacobs I, Handler S, Knightly C, Heher K, Wilson M, Ming JE, Grace K, Driscoll D, Pasquariello P, Randall P, Larossa D, Emanuel BS, Zackai EH. The Philadelphia story: 22q11.2 deletion: report on 250 patients. *Genet Couns* 1999; **10**:11-24.
77. Merscher S, Funke B, Epstein JA, Heyer J, Puech A, Lu MM, Xavier RJ, Demay MB, Russell RG, Factor S, et al: TBX1 is responsible for cardiovascular defects in velo-cardio-facial/DiGeorge syndrome. *Cell* 2001; **104**: 619–629.
78. Miller JO, Therman E. Human Chromosomes: Chromosome Bands. 4th ed. Springer-Verlag, New York; 2001.pp. 79-92.
79. Miller JO, Therman E. Human Chromosomes: In situ hybridization. 4th ed. Springer-Verlag, New York; 2001.pp. 107-121.
80. Momma K, Ando M, Matsuoka R. Trunkus arteriosus communis associated with chromosome 22q11 deletion. *J Am Coll Cardiol* 1997;**30**:1067-1071.
81. Momma K, Kondo C, Ando M, Matsuoka R, Takao A. Tetralogy of Fallot associated with chromosome 22q11 deletion. *Am J Cardiol* 1995; **76**: 618-621.
82. Momma K, Kondo C, Matsuoka R. Tetralogy of Fallot with pulmonary atresia associated with chromosome 22q11 deletion. *J Am Coll Cardiol* 1996; **27(1)**: 198-202.
83. Momma K, Matsuoka R, Takao A. Aortic arch anomalies associated with chromosome 22q11 deletion (CATCH 22). *Pediatr Cardiol.* 1999;**20**:97-102.

84. Monaco G, Pignata C, Rossi E, Mascellaro O, Coccozza S, Ciccimarra F. DiGeorge anomaly associated with 10p deletion. *Am J Med Genet* 1991; **39**: 215-216.
85. Moss EM, Batshaw ML, Solot CB, Gerdes M, McDonald-McGinn DM, Driscoll DA, Emanuel BS, Zackai EH, Wang PP: Psychoeducational profile of the 22q11.2 microdeletion: A complex pattern. *J Pediatr* 1999; **134**: 193–198.
86. Muhlegger K, Huber E, von der Eltz H, Ruger R, Kessler C. 1990. Non-radioactive labelling and detection of nucleic acids. IV. Synthesis and properties of digoxigenin-modified 2'-deoxyuridine-5'-triphosphates and a photoactivatable analog of digoxigenin (photodigoxigenin), *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, **371**: 953-965.
87. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Thompson and Thompson genetics in medicine. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 6th Edition, 2001.pp: 137-140.
88. Opitz JM, et al. The G syndrome of multiple congenital anomalies. *Birth Defects* 1969; **5**: 95.
89. Opitz JM, Smith DW, Summitt RL. Hypertelorism and hypospadias (abs.) *J Pediatr* 1965; **67**: 968.
90. Papaioannou VE, Silver LM: The T-box gene family. *Bioessays* 1998; **20**: 9–19.
91. Philip J, Bryndorf T, Christensen B. Prenatal aneuploidy detection in interphase cells by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Prenatal Diagnosis* 1994, Vol. **14**:1203-1215.
92. Pinkel D, Landegent J, Collins C, Fuscoe J, Segraves R, Lucas J, Gray J. Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: Detection of trisomy 21 and translocations of chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; **85**: 9138-9142.
93. Puech A, Saint-Jore B, Merscher S, Russell RG, Cherif D, Sirotkin H, Xu H, Factor S, Kucherlapati R, Skoultschi AI: Normal cardiovascular development in mice deficient for 16 genes in 550 kb of the velocardiofacial/DiGeorge syndrome region. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 10090–10095.
94. Rauch R, Rauch A, Koch A, Zink S, Kaulitz R, Girish M, Singer H, Hofbeck M. Laterality of the aortic arc and anomalies of the subclavian artery-reliable indicators for 22q11.2 deletion syndromes? *Eur J Pediatr* 2004;163:642-645.
95. Rigby PWJ, Diechmann M, Rhodes C, Berg P: Labelling deoxyribonucleic acid to high specific activity in vitro by nick translation with DNA polymerase I, *J Mol Biol* 1977; **113**: 237-251.

96. Roberts C, Daw SC, Halford S, Scambler PJ: Cloning and developmental expression analysis of chick Hira (Chira), a candidate gene for DiGeorge syndrome. *Hum Mol Genet* 1997; **6**: 237–245.
97. Ryan AK, Goodship JA, Wilson DI, Philip N, Levy A, Seidel H, Schuffenhauer S, Oechsler H, Belohradsky B, Prieur M, Aurias A, Raymond FL, Clayton-Smith J, Hatchwell E, McKeown C, Beemer FA, Dallapicola B, Novelli G, Hurst JA, Ignatius J, Gren AJ, Winter RM, Brueton L, Brondum-Nielsen K, Stewart F, Van Essen T, Patton M, Paterson J, Scambler PJ. Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J Med Genet* 1997; **34**:798-804.
98. Scambler PJ, Kelly D, Lindsay E, Williamson R, Goldberg R, Shprintzen R, Wilson DI, Goodship JA, Cross IE, Burn J: Velocardio-facial syndrome associated with chromosome 22 deletions encompassing the DiGeorge locus. *Lancet* 1992; **339**:1138-1139.
99. Scambler PJ: The 22q11 deletion syndromes. *Hum Mol Genet* 2000; **9**: 2421-2426.
100. Scattone A, Caruso G, Marzullo A, Piscitelli D, Gentile M, Bonadonna L, Balducci G, Digilio MC, Jenkner A, Camassei FD, Boldrini R, Nazzaro P, Pollice L, Serio G. Neoplastic disease and deletion 22q11.2: a multicentric study and report of two cases. *Pediatr Pathol Mol Med* 2003; **22**: 323-341.
101. Scire G, Dallapicola B, Iannetti P, Bonaiuto F, Galasso C, Mingarelli R, Boscherini B: Hypoparathyroidism as the major manifestation in two patients with 22q11 deletions. *Am J Med Genet* 1994; **52**: 478–482.
102. Shprintzen RJ, Goldberg RB, Lewin ML, Sidoti EJ, Berkman MD, Argamaso RV, Young D: A new syndrome involving cleft palate, cardiac anomalies, typical facies, and learning disabilities: velo-cardio-facial syndrome. *Cleft Palate J* 1978; **15**:56-62.
103. Srivastava D. Developmental and genetic aspects of congenital heart disease. *Curr Opin Cardiol* 1999; **14**:263-268.
104. Stevens CA, Carey JC, Shigeoka AO. DiGeorge anomaly and velo-cardio-facial syndrome. *Pediatrics* 1990; **85**: 526-530.
105. Stottmann RW, Choi M, Mishina Y, Meyers EN, Klingensmith J. BMP receptor IA is required in mammalian neural crest cells for development of the cardiac outflow tract and ventricular myocardium. *Development* 2004; **131**: 2205-2218.

106. Sullivan KE: The clinical, immunological, and molecular spectrum of chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2004; **4**:505-512.
107. Swillen A, Devriendt K, Legius E, Eyskens B, Dumoulin M, Gewillig M, Fryns JP: Intelligence and psychosocial adjustment in velocardiofacial syndrome: a study of 37 children and adolescents with VCFS. *J Med Genet* 1997; **34**: 453–458.
108. Sykes KS, Bachrach LK, Siegel-Bartelt J, Ipp M, Kooh SW, Cytrynbaum C: Velocardiofacial syndrome presenting as hypocalcemia in early adolescence. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997; **151**:745-747.
109. Takahashi K, Kido S, Hoshino K, Ogawa K, Fukushima Y. Frequency of a 22q11 deletion in patients with conotruncal cardiac malformations: a prospective study. *Eur J Pediatr*. 1995; **154**: 878-881.
110. Thomas IT, Frias JM. The heart in selected congenital malformations. A lesson in pathogenetic relationships. *Ann Clin Lab Sci* 1987; **17**: 207-210.
111. Thomas JA, Graham JM. Chromosome 22q11 deletion syndrome: an update and review for the primary pediatrician. *Clin Pediatr* 1997; **36**: 253-266.
112. Thomas NS, Durkie M, Potts G, Sandford R, Van Zyl B, Youings S, Dennis NR, Jacobs PA. Parental and chromosomal origins of microdeletion and duplication syndromes involving 7q11.23, 15q11-q13 and 22q11. *Eur J Hum Genet* 2006; **14**(7): 831-837.
113. Trainer AH, Morrison N, Dunlop A, Wilson N, Tolmie J. Chromosome 22q11 microdeletions in tetralogy of Fallot. *Arch Dis Child*. 1996; **74**:62-63.
114. Vantrappen G, Rommel N, Cremers CW, Devriendt K, Frijns JP: The velocardio-facial syndrome: the otorhinolaryngeal manifestations and implications. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol* 1998; **45**: 133–141.
115. Webber SA, Hatchwell E, Barber JC, Daubeney PE, Crolla JA, Salmon AP, Keton BR, Temple IK, Dennis NR. Importance of microdeletions of chromosomal region 22q11 as a cause of selected malformations of the ventricular outflow tracts and aortic arch: a three-year prospective study. *J Pediatr* 1996; **129**(1): 26-32.
116. Wilkonson DG (ed) *In situ Hybridization, A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, 1992.
117. Willard HF. Centromeres of mammalian chromosomes. *Trends Genet*. 1990. Dec; **6**(12):410-416.

118. Wilming LG, Snoeren CA, van Rijswijk A, Grosveld F, Meijers C: The murine homologue of HIRA, a DiGeorge syndrome candidate gene, is expressed in embryonic structures affected in human CATCH22 patients. *Hum Mol Genet* 1997; **6**: 247–258.
119. Wilson DI, Burn J, Scambler P, Goodship J: DiGeorge syndrome: part of CATCH 22. *J Med Genet* 1993; **30**: 852-856.
120. Wilson DI, Goodship JA, Burn J, Cross IE, Scambler PJ. Deletions within chromosome 22q11 in familial congenital heart disease. *Lancet*. 1992;**340**:573-575.
121. www.universityhealth.org
122. Yagi H, Furutani Y, Hamada H, Sasaki T, Asakawa S, Minoshima S, Ichida F, Joo K, Kimura M, Imamura S, Kamatani N, Takao A, Nakazawa M, Shimizu N, Matsuoka R. Role of TBX1 in human del22q11.2 syndrome. *Lancet*. 2003;**362**:1366-1373.
123. Yamagishi H, Garg V, Matsuoka R, Thomas T, Srivastava D: A molecular pathway revealing a genetic basis for human cardiac and craniofacial defects. *Science* 1999; **283**: 1158–1161.
124. Yamagishi H. The 22q11.2 deletion syndrome. *Keio J Med* 2002. Jun;**51**(2):77-88.
125. Yunis JJ. High resolution of human chromosomes. *Science* 1976; **191**: 1268-1270.

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU

Çalışmanın Kapsamı:

Yapılması planlanan genetik incelemeler için sizden öncelikle 10 ml periferik kan örneği alınacaktır. Alınan kan örneğinde DNA materyaliniz izole edilerek saklanacaktır. Oluşturulan bu bankada kişi isimleri kullanılmayacak, örnekler numaralı olarak korunacaktır.

Araştırılacak olan hastalığa neden olduğu düşünülen gende mutasyon, polimorfizm taraması yapılacaktır. Böylece, hastalığın ilgili gendeki mutasyonlarla muhtemel ilişkisi araştırılmış olacaktır.

Araştırmadan beklenen tıbbi yarar, hastalığın erken tanısının ve ailesel genetik taramaların mümkün olabileceğidir.

Araştırma kapsamında yapılan çalışmaların süresi kesin değildir ve sonucunda tedaviye yönelik cevap elde edilmeyebilir.

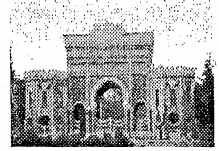
Araştırma sırasında genetik test sonuçlarının sizi ve ailenizin psikolojik veya diğer bir yönden etkileyeceğini düşünmeniz durumunda, araştırmadan isteğiniz üzere ayrılabilirsiniz.

Elde edilen genetik bilgi sonuçları şifre korumalı bir bilgisayar programında korunacak olup, sadece size ve hekiminize bildirilecek, üçüncü şahıslara aktarılmayacaktır.

Yapılması planlanan genetik incelemeler için sizden maddi destek talep edilmeyecektir.

ETİK KURUL KARARI

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
DEKANLIĞI**



Sayı : 7625

İstanbul, ...07.Nisan.2005/

Konu :

Dahili Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

İLGİ: 07.03.2005 tarihli, 1146 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Anabilim Dalı Başkanı **Prof.Dr. BEYHAN TÜYSÜZ**'ün yöneticiliğinde Yüksek Lisans öğrencisi **ÖZLEM KAYA** tarafından yürütülen "Konotrunkal Kalp Anomalisi ve dismorfik bulguları olan çocuklarda FISH yöntemi kullanılarak 22q11.2 delesyon sıklığının araştırılması" isimli tezi hakkındaki ilgi yazınız ve ekler **05 NİSAN 2005** tarihinde toplanan Fakültemiz Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini saygılarımla rica ederim.

EKE:
1 dosya

Prof.Dr. Ayhan BARLAS
Dekan Yardımcısı ve Etik
Kurul Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Özlem	Soyadı	Kaya
Doğ.Yeri	Erzurum	Doğ.Tar.	14.04.1980
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	26866176406
Email	ozkaya80@yahoo.com	Tel	05327230248

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Genetik Programı	2006
Lisans	İ.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2001
Lise	Çemberlitaş Kız Lisesi	1997

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

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

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

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı	57	55	55
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
microsoft office	iyi