

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

22q11.2 DELESYON SENDROMLU HASTALARIN
KLİNİK VE MOLEKÜLER DEĞERLENDİRMESİ VE
GENOTİP – FENOTİP KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI

Dr. Tuğba ALARCON MARTİNEZ

UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

ANKARA

2016

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**22q11.2 DELESYON SENDROMLU HASTALARIN
KLİNİK VE MOLEKÜLER DEĞERLENDİRMESİ VE
GENOTİP – FENOTİP KORELASYONUNUN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Tuğba ALARCON MARTİNEZ

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Gülen Eda UTİNE**

ANKARA

2016

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her basamağında engin tecrübe ve bilgisi ile yanımda olan,
mükemmel bir hoca olmasının yanı sıra insani ve ahlaki yönüyle de örnek aldığım
çok sevdiğim değerli tez danışmanım

Prof. Dr. Gülen Eda UTİNE'ye,

Tez çalışmam süresince desteklerini esirgemeyen,

bana yol gösteren değerli hocalarım

Doç. Dr. Pelin Özlem ŞİMŞEK KİPER, Prof. Dr. Mehmet ALİKAŞİFOĞLU,

Prof. Dr. Koray BODUROĞLU'na

Uzmanlık eğitimin süresince bana yol gösteren değerli hocalarıma,
beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma,

Beraber çalışmaktan büyük zevk aldığım, her sorunuma çözüm bulan, ailem
kadar yakın hissettiğim sevgili Genetik bölümü çalışanlarına,

Tezimin laboratuvar çalışmaları aşamasındaki büyük emeği için değerli Bio.
Serkan KABAÇAM'a,

Hayatımdaki en büyük desteğim canım aileme,

Her zaman yanımda olamasa da her konuda desteğini ve sevgisini yürekten
hissettiğim sevgili eşim Luis ALARCON MARTİNEZ'e

ve

Bu hayattaki en büyük şansım canım kızım Eva ALARCON DEMİRCİ'ye
sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Tuğba ALARCON MARTINEZ

Ankara, 2016

ÖZET

Alarcon Martinez, Tuğba, 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastaların Klinik ve Moleküler Değerlendirmesi ve Genotip–Fenotip Korelasyonunun Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi. Ankara, 2016.

22q11.2 delesyon sendromu konotrunkal konjenital kalp hastalıkları (KKH), velofaringeal bulgular, hipoparatiroidi, kraniyofasiyel bulgular, immün yetmezlik ve kognitif bozukluklar ile karakterize genetik hastalıktır. 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı değişikliklerinin (copy number variations-CNV) tanısında kromozom analizi ve fluoresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi kullanılır. Ancak atipik delesyon ve duplikasyonlar bu yöntemlerle tanımlanamaz. Bu çalışmada 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı değişikliklerinde genotip-fenotip ilişkisini araştırmak amacıyla FISH analizi pozitif olan 45 hastamızdan 30’unda ve klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmiş ancak FISH negatif olan 52 hastada (toplam 82 hasta) 22q11.2 bölgesi, multipleks ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) yöntemi ile incelenmiştir. FISH analizi pozitif 30 hastadan 27’sinde (%90) tipik 3 Mb delesyon, ikisinde 1,5 Mb delesyon, son hastada ise (%3,4) LCRA bölgesinde delesyon ve kardeşinde aynı bölgede duplikasyon görülmüştür. FISH negatif olan 52 hastanın birinde tipik 3 Mb delesyon için mozaikizm, birinde TBX1 geninde duplikasyon, ikisinde TBX1 geninde delesyon ve dördünde PRODH geninde duplikasyon bulunmuştur. FISH analizi negatif olan sekiz hastada (%15,3) MLPA yöntemi ile CNV saptanması, MLPA yönteminin FISH’e kıyasla daha duyarlı olduğunu kanıtlamaktadır. 22q11.2 delesyonu FISH analizi ile gösterilmiş olan 45 hastada en sık dismorfik bulgular (%97), KKH (%62), hipokalsemi (%22), palatal bulgular (%24) ve öğrenme güçlüğü (%33) izlenmiştir. 22q11.2 bölgesinde duplikasyon ve atipik delesyon saptanan hastaların klinikleri çok farklıdır. Hasta sayısının az olması nedeniyle genotip-fenotip korelasyonu istatistiksel olarak incelenememiştir. Hastaların çoğunda benzer delesyon saptanmasına karşın bulgularının çeşitli olması, pediatristlerin bu hastalıkla ilgili farkındalığının artırılmasının önemini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: 22q11.2 delesyon sendromu, MLPA, 22q11.2 kopya sayısı değişiklikleri

ABSTRACT

Alarcon Martinez, Tuğba, Clinical and Molecular Aspects of 22q11.2 Deletion Syndrome and Analysis of Genotype–Phenotype Correlations, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Thesis in Pediatrics. Ankara, 2016.

22q11.2 deletion syndrome is a genetic disorder characterized with multisystemic manifestations including conotruncal congenital heart defects, velopharyngeal insufficiency, hypoparathyroidism, immunodeficiency, craniofacial features and cognitive deficits. The traditional molecular diagnostic procedure for CNVs of 22q11.2 is chromosomal analysis coupled with fluorescence *in situ* hybridization (FISH). However, atypical deletions and duplications may be missed by these methods. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) was herein investigated as an alternative to FISH for more precise delineation of CNVs at 22q11.2 to evaluate presence of possible genotype-phenotype correlations. MLPA analysis was performed in a total of 82 patients. Of these, 30 patients had FISH-confirmed 22q11.2 deletion (30 out of 45) and 52 patients had clinical diagnoses previously not supported by FISH. Among 30 patients, 27 (90%) showed typical 3 Mb deletion while 2 (6.6%) displayed proximal 1.5 Mb deletion. One patient (3.4%) had a deletion encompassing LCRA, while her sister exhibited duplication in the same region. MLPA analysis of 52 patients with negative FISH results revealed mosaic 3 Mb deletion in one, *TBX1* duplication in one, *TBX1* deletion in two and *PRODH* duplication in four patients. MLPA is more sensitive than FISH in molecular diagnosis and delineation of CNVs at 22q11.2, with a yield in the current study of 15.3 % (8/52) in patients with previously negative results. The most common clinical findings in our FISH positive patients (45 patient) were dysmorphism (%97), congenital heart defects (%62), hypocalcemia (%22), palatal findings (%24) and learning disability (%33). Moreover, patients with duplications and atypical deletions showed different clinical characteristics. However, establishing the genotype-phenotype correlations would require a larger patient group. Since patients with same deletions present with a wide range of clinical manifestations, this study shows the importance of pediatricians' awareness.

Keywords: 22q11.2 deletion syndrome, MLPA, 22q11.2 copy number variations

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLolar	ix
ŞEKİLLER.....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tanımı.....	3
2.2. 22q11.2 Delesyon Sendromu İsimlendirmesi ve Tarihçesi	3
2.3. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Prevalans ve İnsidansı	5
2.4. 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Klinik Bulgular	5
2.4.1. 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Major Klinik Bulgular	6
2.4.2. 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Minör Klinik Bulgular.....	9
2.5. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Özellikleri	17
2.5.1. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Sitogenetik Özellikleri	17
2.5.2. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Moleküler Genetiği	19
2.5.3. 22q11.2 Bölgesinde Tanımlanmış Genler	20
2.5.4. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Kalıtımı	21
2.6. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Etkilenen Embriyolojik Yapılar	22
2.7. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tanı.....	23
2.7.1. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Klinik Tanı	23
2.7.2. 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Tanısı.....	24
2.7.3. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Ayırıcı Tanı	26
2.8. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tanı Sonrası İleri Değerlendirme	28
2.9. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tedavi ve İzlem Yönetimi.....	29
2.10. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Genetik Danışma	30
2.11. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Prenatal Tanı.....	31
2.12. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Genotip-Fenotip İlişkisinin İncelenmesi	32
3 GEREÇ VE YÖNTEM	35

3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi	35
3.2. Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem	35
3.2.1. Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu ve DNA Kalite Analizi ...	36
3.2.2. Multipleks Ligasyon-bağımlı Prob Amplifikasyonu (MLPA).....	36
4. BULGULAR.....	38
4.1. 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastaların Demografik Özellikleri.....	38
4.2. 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastaların Klinik Özellikleri.....	39
4.2.1. 22q11.2 Delesyon Sendrom Hastalarında Major Klinik Bulgular	39
4.2.2. 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda İzlenen Minör Klinik Bulgular	45
4.3. 22q11.2 Delesyonu FISH ile Saptanmamış Olan Hastaların Klinik Özellikleri.....	47
4.4. MLPA Analiz Sonuçları	48
4.4.1. 22q11.2 delesyonu FISH ile gösterilmiş olan hastaların MLPA analiz sonuçları.....	48
4.4.2. 22q11.2 delesyonu FISH ile saptanmamış olan hastaların MLPA analiz sonuçları.....	50
4.5. 22q11.2 Bölgesindeki Kopya Sayısı Değişikliklerinde Genotip-Fenotip İlişkisinin İncelenmesi.....	51
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR.....	68
7. KAYNAKLAR	71
8. EKLER.....	83
EK 1. HASTA DÖKÜMÜ	
EK 2. MLPA KİT ÖZELLİKLERİ	

SİMGELER VE KISALTMALAR

ASD	Atrial septal defekt
CATCH22	<i>C</i> ardiac defects, <i>A</i> bnormal facial features, <i>T</i> hymic hypoplasia, <i>C</i> left palate, and <i>H</i> ypocalcemia
CGH	<i>Comparative genomic hybridization</i> ; Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
CHD7	Chromodidomain Helicase DNA binding protein 7
CNVs	<i>Copy number variations</i>
CSP	<i>Cavum septum pellucidum</i>
COMT	(Catechol-O-methyltransferase)
DGS	DiGeorge sendromu
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FISH	Fluoresan <i>in situ</i> hibridizasyon
IGF-1	<i>Insulin-like growth factor-1</i> ; insülin benzeri büyüme faktörü-1
JIA	Juvenil idiyopatik artrit
KKH	Konjenital kalp hastalıkları
LCR	<i>Low copy repeat</i>
MLPA	<i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i>
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
OAVS	Oküloaurikülovertebral sendrom
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> ; polimeraz zincir reaksiyonu
PFO	<i>Patent foramen ovale</i>
RNA	Ribonükleik asit
TOF	Tetralogy of Fallot (Fallot tetralojisi)
VACTERL	Vertebral anomaliler (V), Anal atrezi (A), Kardiyovasküler defekt (C), Trakeal ve özefagial anomaliler (TE), Renal agenezi (R), Parmak anomalileri
VFY	Velofaringeal yetmezlik
VKFS	Velokardiyofasiyel sendrom
VSD	Ventriküler septal defekt

TABLolar**Sayfa**

Tablo 2.1.	22q11.2 Delesyon Sendromunda Genel Fenotipik Özellikler	6
Tablo 4.1.	22q11.2 Delesyon Sendromu Hastalarının Major Klinik Özelliklerine İlişkin Bilgiler	42
Tablo 4.2.	22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda İzlenen Majör Dismorfik Bulguların Dağılımı	44
Tablo 4.3.	22q11.2 Bölgesinde MLPA Yöntemi ile Gösterilen Kopya Sayısı Değişiklikleri	50
Tablo 4.4.	22q11.2 Bölgesinde Atipik Delesyon ve Duplikasyonu Saptanan Hastaların Major Klinik Özellikleri ve Kopya Sayısı Değişikliklerine İlişkin Bilgiler	52

ŞEKİLLER**Sayfa**

Şekil 2.1.	FISH Analizinde 22q11.2 Delesyonu.....	25
Şekil 4.1.	22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda Yüz Görünümü	43
Şekil 4.2.	22q11.2 Bölgesinden MLPA Analiz Örnekleri. Normal MLPA (A) ve 22q11.2 bölgesinde tipik 3 Mb (LCR A-C) delesyonunu gösteren MLPA örnekleri sunulmaktadır.....	48
Şekil 4.3.	22q11.2 Bölgesinde MLPA Yöntemi ile Saptanan Kopya Sayısı Değişiklerinden Örnekler. Cat eye regiondan başlayan ve LCR A'ya uzanan 1449kb delesyon (28 numaralı hasta) (A) ve aynı bölgede duplikasyonu izlenen kardeşinin (46 numaralı hasta) (B) MLPA örnekleri sunulmaktadır	49

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Klinik özellikleri açısından birbirinden bazı farklılıklar gösteren ve genellikle sendromu ilk tanımlayan kişinin adıyla isimlendirilmiş olan DiGeorge Sendromu (DGS), Shprintzensendromu (Velokardiyofasiyal sendrom-VKFS), CATCH22 (*C*ardiac defects, *A*bnormal facial features, *T*hymic hypoplasia, *C*left palate, and *H*ypocalcemia) ve konotrunkal anomali yüz sendromunun etiyolojilerinin, genetik alanındaki tanısal metodlardaki gelişmeler sonrasında, ortak temele dayandığı tespit edilmiştir. Bu sendromların hepsi 22.kromozomun uzun kolunda q11.2 bölgesindeki delesyon sonucunda meydana gelmektedir. Bu nedenle günümüzde hepsi tek çatı altında 22q11.2 delesyon sendromu olarak adlandırılmaktadır¹.

22q11.2 delesyon sendromu, insanlarda en sık görülen genetik bozukluklardan biri olup 4000 doğumda bir izlenmektedir. 22q11.2 delesyon sendromu hastalarında vücuttaki birçok sistemi tutabilen farklı anomaliler görülür. En önemli bulguları konjenital kalp hastalığı (özellikle konotrunkal anomaliler), karakteristik yüz görünümü, damak anomalileri, immün yetmezlik, kognitif ve davranışsal bozukluklardır. Tüm organ ve sistemleri içeren 180'den fazla klinik bulgusu olan 22q11.2 delesyonu sendromu için klinik tanı kriterleri mevcut değildir². Kesin tanı moleküler çalışma yöntemleri ile konulmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan genetik tanı yöntemi floresan *in situ* hibridizasyondur (FISH).

FISH yüksek güvenilirliğe sahip bir yöntem olmasına rağmen, 22q11.2 bölgesindeki 40kb'den küçük delesyon ve duplikasyonları saptayabilecek kadar duyarlı ve yüksek çözünürlüklü değildir. Ayrıca FISH ile kopya sayısı değişikliklerinin genomik büyüklüğü de saptanamaz. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada kopya sayısı değişikliklerini saptamada oldukça duyarlı ve güvenilir olan multipleks ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) yöntemi ile, karyotip ve FISH analizi normal olan ancak fenotipik olarak şüphe uyandıran hastalarda 22q11.2 bölgesinde daha nadir görülen delesyonlar ve duplikasyonlar tespit edilmiştir³.

Literatürde 22q11.2 bölgesindeki genetik değişiklikler ile meydana gelen fenotip arasındaki ilişkinin incelendiği çalışma sayısı azdır^{4,5}. 22q11.2 delesyon sendromundan etkilenmiş Türk hastaların popülasyonu da genotip-fenotip açısından

daha önce incelenmemiştir. Kopya sayısı değişiklikleri ile fenotipik korelasyon saptanması halinde hastalara genetik danışma ve sağlık hizmetleri kişiselleştirilmiş biçimde ve daha etkin olarak verilebilir. Aynı zamanda hastalara daha doğru moleküler tanının konulması klinik prognozunu, başvurulabilecek tedavi seçeneklerinin ve ailede hastalığın önlenmesi konusunda önerilecek yöntemlerin belirlenebilmesi açısından da oldukça önemlidir.

Bu nedenlerle bu çalışma iki kısım halinde planlanmıştır. Birincisi, klinik olarak 22q11.2 sendromundan şüphelenilen ve FISH analizi ile 22q11.2 bölgesinde delesyon bulunduğu gösterilmiş olan 30 hastada multipleks ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) yöntemiyle delesyon büyüklüğünün belirlenmesidir. İkincisi ise, klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilen ancak FISH analizi negatif olan 52 hastanın MLPA ile moleküler incelemelerinin yapılmasıdır. Daha sonra MLPA ile delesyon büyüklükleri saptanan her iki gruptaki tüm hastaların klinik bulgularının ayrıntılı incelenmesi planlanmıştır, farklı delesyon çeşitlerinin saptanması durumunda genotip-fenotip korelasyonunun araştırılması amaçlanmıştır. Genotip-fenotip ilişkisinin saptanabilmesinin hastalara tanı, izlem ve genetik danışma yönünden kişiselleştirilmiş bakım verilebilmesini sağlayacağı ve nadir görülen bu genetik durumların klinik dokümentasyonunda, hastaların klinik izleminde görevli pediatri ve klinik genetik doktorları için mesleki uygulamalarda yol gösterici olacağı düşünülmüştür.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Tanımı

22q11.2 mikrolelesyon sendromu insanlarda en sık görülen genetik hastalıklardan biri olup, 22.kromozomun uzun kolunun 11.2 bölgesindeki delesyon sonucunda meydana gelmektedir. Fenotipik özellikleri açısından aralarında bazı farklılıklar izlenen ve genellikle sendromu ilk tanımlayan kişinin adıyla isimlendirilmiş olan DiGeorge Sendromu (DGS), Shprintzen sendromu (Velokardiyofasiyal sendrom-VKFS), CATCH22 ve konotrunkal anomali yüz sendromunun tümünün genetik etiyolojilerinin, tanı yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde 22q11.2 delesyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Ortak temele dayandığı tespit edilen bu sendromların hepsi günümüzde tek çatı altında 22q11.2 delesyon sendromu olarak adlandırılmaktadır¹.

22q11.2 delesyonu olan hastalar birbirinden çok farklı fenotipik bulgular taşımaktadırlar. Hastalarda erken çocukluk döneminde tıbbi desteğe ihtiyaç duyulan gelişimsel gerilik, kardiyak anomaliler, immün yetmezlik ve damak anomalileri gibi ağır fenotipik özelliklere ek olarak renal anomaliler, hipokalsemi, beslenme sorunları, kognitif ve davranışsal bozukluklar, işitme kaybı, kas ve iskelet sistemi anomalileri izlenebilmektedir².

2.2 22q11.2 Delesyon Sendromu İsimlendirmesi ve Tarihçesi

İlk olarak 1965 yılında İtalyan pediatrik endokrinolog Angelo DiGeorge, timusun immünitete önemli bir rolü olduğunu göstererek, bazı hastalarda hipoparatiroidizm, timik hipoplazi ve tekrarlayan enfeksiyon bulgularının birlikteliğini tanımlamıştır. Bu birliktelik daha sonra ‘DiGeorge sendromu’ olarak adlandırılmıştır⁶. Bu yıllarda Takao ve arkadaşları da konotrunkal kardiyak anomalileri ve dismorfik yüz bulguları olan hastalarda ‘konotrunkal anomali yüz sendromu’nu tanımlamışlardır⁷. Son olarak 1978 yılında Shprintzen çıkık burun, yarık damak, mandibüler retraksiyon, kardiyovasküler anomaliler ve öğrenme güçlüğü bulunan vakalarını ‘Shprintzen sendromu’ (velokardiyofasiyel sendrom (VKFS)) olarak isimlendirmiştir. Genel olarak bakıldığında, ‘Takao sendromu’ olarak da bilinen konotrunkal anomali yüz sendromunda asıl bulgular kardiyak

malformasyonlar iken; DiGeorge sendromunda T hücre yetmezliği ve hipokalsemi, Shprintzen sendromunda ise kraniyofasiyel ve palatal bulgulardır.

Bu üç sendrom uzun yıllar farklı sendromlar olarak anılsa da zamanla üçünün birbiriyle örtüşen özellikleri fark edilmiştir. Bu üç sendromun aynı ailenin farklı bireylerinde izlenmesi ve hepsinde 22q11.2 delesyonu saptanması üzerine 1993'de Wilson ve arkadaşları CATCH22 (*C*ardiac defects, *A*bnormal facial features, *T*hymic hypoplasia, *C*left palate, and *H*ypocalcemia) akronimi fikrini ortaya atmışlardır⁸. Ancak Shprintzen VKFS'nin DGS gibi heterojen bir hastalık grubu olmadığını öne sürerek aynı kategori altında anılmalarına karşı çıkmıştır⁹. Aynı yıllarda Driscoll ve arkadaşları VKFS hastalarının sadece %68'inde 22q11.2 delesyonu olduğunu göstererek heterojen bir hastalık grubu olduğunu öne sürmüştür¹⁰. Ancak Shprintzen kendi hasta grubunda 22q11.2 delesyonunun %100 görüldüğünü bildirmiş ve Driscoll'un çalışmasında 22q11.2 delesyonu oranının %68 olarak saptanma nedenini, incelemenin farklı klinisyenler tarafından değerlendirilen hasta grubunda yapılmasına bağlamıştır⁹.

CATCH22 akroniminin yaratıcılarından biri olan Burn 1999'da bu isimlendirme tartışmasını değerlendirerek, CATCH22 genellemesinin çok uygun olmadığını bildirmiştir. Timik hipoplazi, hipokalsemi ile neonatal başlangıçlı olan vakaların DGS, palatal yetmezlik nedeni ile nazone konuşması olan hastaların VKFS olarak isimlendirilmesini önermiştir. CATCH22'nin sendrom ismi gibi değil, kardiyak anomali, T hücre yetmezliği, yarık damak ve hipokalsemisi olan hastalardaki 'CATCH fenotipi'ni tanımlamak için kullanılmasının daha uygun olduğunu savunmuştur¹¹. Ancak daha sonra bu benzer fenotipe sahip hastalıkların 22q11.2 delesyon sendromu çatısı altında toplanması uygun görülmüştür.

Sonuç olarak günümüzde 22q11.2 delesyonunu taşıdığı gösterilen hastalar için 22q11.2 delesyon sendromu tanımı kullanılır iken, 22q11.2 delesyonunu taşıyan veya taşımayan, ancak kardiyak defekt, immün yetmezlik ve hipokalsemi triadı izlenen hastalar DGS olarak adlandırılmaktadır¹².

2.3 22q11.2 Delesyon Sendromunun Prevalans ve İnsidansı

En sık görülen mikrodelesyon sendromu olan 22q11.2 delesyon sendromunun prevalansı 1/4000-1/6000 arasında değişmektedir¹³. Ancak 22q11.2 delesyon sendromunda değişken klinik bulgular izlenmesi nedeni ile sendromun gerçek insidansının tahmin edilenden daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

İsveç'te yapılan ve geniş bir popülasyonun incelendiği bir çalışmada, 22q11.2 delesyonunun ortalama yıllık insidansı 100.000 doğumda 14,1 olarak saptanmıştır¹⁴. Amerika'da yapılan bir çalışmada ise hastalığın insidansı beyaz, Afro-Amerikan ve sarı ırklarda 1/6000- 1/6500 iken, Hispaniklerde 1/3800 olarak bulunmuştur¹⁵.

Seçilmiş gruplarda prevalans daha yüksek bulunabilir. Örneğin gelişme geriliği ve çoklu spontan abortus gibi endikasyonlar nedeni ile kan örneklerinin gönderildiği iki referans laboratuvarından yapılan bir çalışmada 30.153 hasta mikrodizin analizi ile değerlendirilmiş ve bu vakalardan 274'ünde 22q11.2 delesyonu saptanmıştır¹⁶. Kromozomal mikrodizin analizinin yaygın kullanıma geçmesi ile daha küçük atipik delesyonlar artık tanımlanabilmekte ve böylece 22q11.2 delesyonunun prevalansı da artmaktadır.

2.4 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Klinik Bulgular

22q11.2 delesyon sendromunda vücuttaki birçok sistem ile ilgili farklı anomaliler izlenebilir. Hastalardaki en önemli bulgular özellikle konotrunkal tipte olan konjenital kalp hastalığı, karakteristik yüz görünümü, damak yarığı, timus hipoplazisine bağlı immün yetmezlik, kognitif ve davranışsal bozukluklardır. Ayrıca gelişme geriliği, öğrenme güçlüğü, beslenme problemleri, trombositopeni, neonatal hipokalsemi, böbrek anomalileri, işitme kaybı, kas ve iskelet sistemi anomalileri eşlik edebilir¹⁷. Dikkat eksikliği ve otistik spektrum bozukluğu hastalıkları da sık olarak görülmektedir. Aynı zamanda bu hastalarda yaşamlarının ileri dönemlerinde şizofreni, depresyon, anksiyete bozuklukları ve bipolar hastalık gelişim riski yüksektir¹⁸.

Bulguların tümü hastaların hepsinde bulunmayabilir. Klinik özelliklerin penetransı farklılık göstermekte ve tek bir fenotip hastaların hepsinde izlenmemektedir. Aynı ailenin 22q11.2 delesyonu taşıyan bireylerinde dahi farklı

fenotipler görülebilmektedir¹⁹. 22q11.2 delesyon sendromunda izlenen genel fenotipik özellikler Tablo 2.1’de sunulmuştur.

Tablo 2.1. 22q11.2 Delesyon Sendromunda Genel Fenotipik Özellikler.

Kardiye anomal	İmmün Yetmezlik	Palatal Defekt	Dismorfik görünüm	Hipokalsemi	Mental Gerilik	Renal Anomaliler	Gastrointestinal Bulgular	Merkezi Sinir Sistemi	İskelet sistemi	Endokrin	İşitme	Davranış ve nöropsikiyatrik bulgular
Fallot tetralojisi	T hücre lenfopeni	Velofarengal yetmezlik	Bulböz burun		Gelisme geriliği	Yapısal Anomaliler	Beslenme problemleri	Konvülsiyon	İnce uzun parmaklar	Hipotiroidizm	İletim tipi	DEHB
Ventriküler septal defekt	IgG üretiminde azalma	Submukozal damak yarığı	Tübüler burun		Öğrenme güçlüğü	Renal Agenezi	İntestinal malrotasyon	Yapısal SSS anomalileri	Aksiyal polidaktili	Büyüme hormonu	Sensörinöral	Bipolar bozukluk
Interrupted aort arkı	Timik aplazi	Damak yarığı	Mikroretrognati			Displastik böbrek	Hirschprung	Miyelomeningosel	Vertebra anomalisi			Otistik spektrum hastalıkları
Trunkus arteriosus		Damak-dudak yarığı	Heliks anomalisi			Hipoplastik böbrek	Trakeoözofageal fistül	Polimikrogria				Şizofreni/şizoafektif bozukluklar
Vasküler ring			Periorbital dolgunluk			Hidronefroz	Özofageal atrezi	Mikrosefali				
			Dar palpebral aralıklar				Özofageal dismotilite					
			Fasiyal asimetri									

2.4.1 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Major Klinik Bulgular

2.4.1.1 22q11.2 Delesyon Sendromunda Kraniofasial Bulgular

22q11.2 delesyon sendromunda izlenen dismorfik bulgular, hastalarda tanı aşamasında yardımcı olabilecek ilk ipuçlarıdır. Yenidoğan bebeklerde mikrognati, düşük yerleşimli kulaklar, auriküler deformiteler, dar palpebral fissürler, telekantus gibi karakteristik bir fasiyal dismorfizm izlenmekle beraber diğer sendromlar ile kıyaslandığında tipik bulgular bazen çok dikkat çekici olmayabilir. Hastalarda en sık görülen dismorfik özellik, yaşla birlikte daha da belirginleşen uzun yüz ve tübüler burundur. Ayrıca hastalarda bulböz burun, badem göz, hafif hipertelorizm, küçük ağız, dar palpebral fissürlerin yanı sıra alt göz kapağının ödemli, üst göz kapağı cildinin bol ve gevşek olduğu izlenimini veren bir görünüm olabilir. Kısa filtrum, bifid uvula, yüksek damak, yarık damak ve dudak, asimetric ağlama yüzü, malar düzleşme ve kraniosinostoz diğer dismorfik bulgulardandır. Daha büyük çocuklarda submukozal veya tam palatal yarık ile ilişkili hipernazal konuşma izlenebilir. Ancak bu dismorfik bulguların varlığı hastadan hastaya değişkendir. Bazı hastalarda dismorfik bulgular tanı açısından ipucu oluşturmamaktadır²⁰.

2.4.1.2 22q11.2 Delesyon Sendromunda Kardiyolojik Sistem Bulguları

22q11 sendromundaki ana morbidite ve mortalite nedeni konjenital kalp hastalıklarıdır. Bir vaka serisinde 22q11.2 sendromu olan ve yaşamın ilk altı ayı içinde ölen 44 hastadan 43'ünün mortalite nedeninin kalp sorunları olduğu gösterilmiştir²¹. Genel olarak 22q11.2 delesyonu olan hastaların %75'inde kalp malformasyonu bulunmaktadır. En sık aortik ark anomalileri ve kardiyak çıkım anomalileri görülmekle birlikte hastalardaki konjenital kalp hastalıkları çok çeşitlidir. Fallot tetralojisi (TOF), pulmoner atrezi, tip B kesintili aortik ark, trunkus arteriyozus, sağ aortik ark, aberran sağ subklaviyen arter ve ventriküler septal defekt (VSD) sık olarak bildirilmiştir²².

2.4.1.3 22q11.2 Delesyon Sendromunda İmmunolojik Sistem Bulguları

22q11.2 sendromunda immün yetmezlik timus hipoplazisi veya aplazisine bağlı gelişmektedir. T hücrelerin matürasyon yeri timus olduğu için, 22q11.2 delesyonu olan hastalarda primer sorun T hücre üretimindedir. T hücre fonksiyon bozukluklarına ve antikör eksikliklerine daha az rastlanmaktadır²³.

22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda T hücre yetmezliği, timusun etkilenme düzeyine göre normal T hücre sayısı ve fonksiyonundan, T negatif ağır kombine immün yetmezliğe kadar farklı klinik bulgular ile izlenebilmektedir. Tüm hastaların %1'inden azını oluşturan bir grupta timus hiç gelişmez ve bu nedenle ağır lenfopeni ve kombine immün yetmezlik fenotipi izlenir. Timositlerin tam yokluğunda erken tanı önemlidir. Hastaların çoğu fırsatçı enfeksiyonlar, ısrarcı viral solunum yolu veya bağırsak enfeksiyonları, dissemine BCG (Bacille Calmette-Guérin) ve gelişme geriliği ile başvururlar. Akciğer grafilerinde timus gölgesi izlenmez²⁴.

22q11.2 delesyon sendromu hastalarının büyük çoğunluğunu kapsayan parsiyel immün yetmezlik grubunda timus hipoplaziktir ve hastalarda klinik olarak lenfopeninin yanı sıra sıklıkla atopik bulgular izlenmektedir. Erken çocuklukta ilk bulgu olarak tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar görülmektedir. Hastaların T lenfosit sayısı düşüktür. Fakat T hücre alt gruplarının hepsi eşit oranda etkilenmemektedir. Naiv T lenfosit sayısındaki azalma daha ön plandadır. Ayrıca

yapılan bazı çalışmalarda parsiyel olgularda bir yaşından sonra T lenfosit sayısında artış olduğu gösterilmiştir^{25,26}.

22q11.2 delesyon sendromu hastalarında ağır enfeksiyon bulguları olmasa da immunolojik inceleme yapılmalıdır. 22q11.2 delesyonu saptanmış olan 60 çocuğun incelendiği bir çalışmada, hastaların %77'sinde klinik bulgularından bağımsız olarak immün yetmezlik tanısı konulmuştur. Hastaların %67'sinde T hücre gelişiminde bozukluk, %19'sunda T hücre fonksiyon bozukluğu, %23'ünde humoral bozukluklar ve %13'ünde IgA eksikliği saptanmıştır²⁷.

22q11.2 delesyonu olan hastalarda üst solunum yolu enfeksiyonları sık olarak görülmektedir. Ancak enfeksiyonların sıklığı ile T hücre sayısı arasında bir ilişki saptanmamıştır. T hücre sayısında sınırda eksiklik olan hastalarda çok ciddi enfeksiyonlar izlenmemektedir. Bu hastalarda sık olarak görülen palatal yetmezlik, gastroözefageal reflü, östaki tüpü disfonksiyonu gibi anatomik defektlerin sık solunum yolu enfeksiyonları ile birlikteliği gösterilmiştir. Özellikle konjenital kalp hastalıkları olan grupta bu anatomik defektlerin birlikteliği tekrarlayan aspirasyon pnömonilerine zemin oluşturmaktadır²⁸. Ayrıca disfajinin beslenme yetersizliğine yol açarak hücrel immüniteyi bozduğu düşünülmektedir. Daha büyük çocuklarda ve erişkin yaş grubunun %25-33'ünde tekrarlayan sinüzit veya otitis media, %4-7'sinde tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonlarının olduğu saptanmıştır²⁶. Ancak okul çağı çocuklarında immün yetmezliğe yönelik aktif takip ve tedavi gereksinimi çok azdır.

22q11.2 delesyonu olan hastaların immünglobulin seviyeleri genellikle normal aralıklardadır. Hastaların az bir kısmında parsiyel ve alt grup eksiklikleri tanımlanmıştır. Hayatın ilk bir yılında gözlenen hipogamaglobulinemi zamanla düzelirken, beş yaşında genellikle hipergamaglobulinemi gelişir. Etkilenmiş çocukların çoğunda antikor fonksiyonları ve aviditeleri normal olmasına rağmen, bazılarında fonksiyonel antikor bozuklukları izlenebilir. Tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonları mevcut olan hastalarda sıklıkla immünglobulin bozuklukları, özellikle de pnömokok polisakkarit aşısına cevapsızlık saptanır²³. Selektif IgA eksikliği delesyonu olan hastaların %10'unda görülebilir. Özellikle juvenil romatoid artriti

olan 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda selektif IgA eksikliği sık olarak tanımlanmıştır²⁹.

2.4.1.4 22q11.2 Delesyon Sendromunda Hipokalsemi

22q11.2 delesyonu olan bireylerin %17-60'ında paratiroid bezlerin hipoplazisine bağlı hipokalsemi izlenmektedir. Özellikle yenidoğan döneminde hipokalsemi çok ciddi seyredebilir ve karakteristik bir bulgu olan tetani ve konvülsiyonlar yenidoğanda ilk başvuru nedeni olabilir. Hipokalsemi genellikle yaşamın ilk iki haftasında görülürken, yaşla birlikte paratiroid bezlerin hipertrofisi ile düzeltilmektedir. Ancak latent hipoparatiroidizme bağlı geç çocukluk döneminde tekrarlayan hipokalsemi atakları izlenebilir. Bu hipokalsemi atakları en sık hastalık, puberte ve gebelik dönemlerinde görülür³⁰. Dirençli hipokalsemi çok nadir vakada bildirilmiştir ve bu olgularda yaşam boyu kalsiyum desteği gerekmektedir. Bazı durumlarda infantil hipokalsemi nedeniyle takipli olan hastalarda 22q11.2 delesyonu tanısı okul dönemine kadar atlanabilir³¹.

2.4.1.5 22q11.2 Delesyon Sendromunda Palatal Defektler

22q11.2 delesyon sendromunda hastaların %69'unda palatal anomaliler, özellikle velofaringeal yetmezlik, submukozal veya tam damak yarığı ve bifid uvula gibi bulgular bildirilmiştir. Bu defektler beslenme yetersizliği ve konuşma kalitesinin bozulmasına yol açmaktadır. Bazı hastalarda palatal defektin yanı sıra musküler güçsüzlük de bulunabilir. Bu durum yutma ve konuşma sırasında nazofarenksin yetersiz kapanmasına, bebeklerde sıvı gıda alımı sırasında nazal regürjitasyona ve burundan konuşmaya (hipernazal konuşma) neden olur. Submukozal damak yarığı ve nadir olarak izlenen dudak yarığı hastalar için genellikle yaşam tehdit edici olmamasına rağmen, ailelere beslenme ile ilişkili sorunlar yaşatabilmektedir³².

2.4.2 22q11.2 Delesyon Sendromunda İzlenen Minör Klinik Bulgular

2.4.2.1 22q11.2 Delesyon Sendromunda Büyüme Geriliği

22q11.2 delesyonu olan hastalarda erken çocukluk döneminde büyüme geriliği sık olarak izlenmesine rağmen, hastaların erişkin boyları genellikle normal

aralıkta olmaktadır. 22q11.2 delesyonu olan 1-15 yaş arası 95 çocuğun incelendiği bir çalışmada hastaların %41'inin boyu 5 persentil altında izlenmiştir. Bu hastalardan dördü çok belirgin olarak 5 persentil altında iken, 5 persentil altında olan hastaların hepsinde IGF1 ve IGFBP3 değerleri düşük olarak saptanmıştır. Hastaların üçünde büyüme hormonu eksikliği tanısı konulmuş ve kraniyel MRG incelemelerinde hipofiz bezi küçük olarak izlenmiştir. Hastalardan ikisi büyüme hormonu tedavisine yanıt vermiştir³³.

Son yıllarda yapılan bir çalışmada 22q11.2 delesyonu olan hastalar için özel büyüme eğrileri düzenlenmiştir³⁴. Tarquinio ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada 22q11.2 delesyonu olan 86 erkek ve 102 kız hastanın kilo, boy ve baş çevresi ölçüm takipleri retrospektif olarak incelenmiştir. Sonuç olarak, 22q11.2 delesyonlu hastaların %25-50'sinin normal büyüme eğrilerinde 2 persentil altında yer aldığı bulunmuştur.

2.4.2.2 22q11.2 Delesyon Sendromunda Göz Bulguları

22q11.2 delesyon sendromunda çok farklı göz bulguları izlenebilir. 22q11.2 delesyon sendromlu 33 hastanın göz bulguları açısından incelendiği bir prospektif çalışmada, hastaların %41'inde üst göz kapaklarında "hooding", %9'unda ptozis, %6'sında alt göz kapaklarında "hooding", %3'ünde epikantal katlantılar ve %3'ünde distikiazis (kirpiklerin meibomian bezlerinin orifisinden anormal büyümesi) izlenmiştir. Diğer bulgular posterior embriyotokson (%69), izole korneal sinirler (%3), sklerokornea (%3), derin iris kriptleri (%10), retinal damarlarda tortiyosite (%58), küçük optik sinir (%7) ve "tilted" disk (%3) olarak tanımlanmıştır. Hastaların %13'ünde strabismus ve %6'sında ambliyopi gözlenmiştir. Posterior embriyotokson kontrol hastalarının %12-32'sinde izlenirken, 22q11.2 delesyonu olan hastalarda Alagille sendromunda olduğu kadar yüksek oranda (%69) izlenmiştir. Astigmatizm, myopi ve hipermetropi genel popülasyonla benzer oranda saptanmıştır. Az sayıdaki hastada katarakt ve kolobom tespit edilmiştir³⁵.

Forbes ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada 22q11.2 delesyonu saptanmış olan 90 hasta ayrıntılı göz muayenesi ile değerlendirilmiştir³⁵. Hastaların %49'unda posterior embriyotokson, %34'ünde retinal damarlarda tortiyosite,

%20'ında göz kapaklarında “hooding”, %18'inde strabismus, %4'ünde ptozis, %4'ünde göz tembelliği gösterilmiştir. Hastaların büyük çoğunluğunda göz ile ilgili bulgular saptanması nedeni ile, göz ile ilgili semptomları olmasa da, 22q11.2 delesyonu tanılı hastaların ayrıntılı göz muayenesi ile değerlendirilmesi önerilmektedir.

2.4.2.3 22q11.2 Delesyon Sendromunda Kulak-Burun-Boğaz Bulguları

22q11.2 delesyon sendromlu vakalarda, kulak deformiteleri, aşırı katlanmış veya kareleşmiş heliksler, normalden küçük, belirgin veya kepçe kulaklar, preauriküler *pit* veya *taglar* ve dar dış kulak yolu izlenebilmektedir. Kalıcı işitme kaybı az sayıda vakada tanımlanmış olmakla birlikte işitme sorunlarının %75'i iletim tipi, %15'i sensörinöral tiptir³⁶. Konuşma sorunlarının olduğu bu hastalıkta işitme kaybı hemen tanınıp mümkün olduğunca hızla tedavi edilmesi gereken önemli bir sorundur.

Hastalarda belirgin burun kökü, bülböz burun ucu, hipoplastik ala nasi, nazal gamze veya bifid burun ucu sıktır³⁷. Kronik otitis media ve kronik sinüzit sık olarak izlenir. Vasküler halkaya bağlı stridor, laringomalazi, laringeal *web*, laringeal atrezi ve subglottik stenoz olabilir. Ayrıca bazı vakalarda trakeoözefagial fistül ve özefagial atrezinin 22q11.2 delesyonu ile birlikteliği rapor edilmiştir³⁸.

2.4.2.4 22q11.2 Delesyon Sendromunda Gastrointestinal Sistem Bulguları

22q11.2 delesyon sendromu olan hastalarda erken bebeklik döneminde beslenme sorunları sıklıkla izlenmektedir. Hastaların %36'sında nazogastrik tüp ile beslenmeyi veya gastrostomi tüpü yerleştirilmesini gerektiren ağır beslenme güçlüğü görülür. Beslenme güçlükleri kalp defektleri ve palatal anomalilerden bağımsızdır. Bu çocukların ayrıntılı incelemesinde sıklıkla nazofaringeal reflü, krikofaringeal kas belirginliği, anormal krikofaringeal kapanma ve/veya divertikulum saptanır. Hastalardaki beslenme güçlüğü'nün ana nedeni, 3 ve 4. faringeal ceplerden gelişen faringoözefagial alanın dismotilitesidir. Ayrıca bu hastalarda dil, farenks ve özofagus kaslarının koordinasyonu da yetersizdir. Aspirasyon tekrarlayan akciğer enfeksiyonları ve reaktif havayolu hastalığının başlıca nedenlerinden biridir³⁹.

Konstipasyon hastaların çoğunda kronik bir bulgudur. Ek olarak imperfore anüs, intestinal malrotasyonlar, konjenital diyafragmatik herni, özefageal atrezi, trakeözefageal fistül, Hirschsprung hastalığı gibi yapısal anomaliler belirgin yutma ve beslenme bozukları ile konstipasyona yol açabilir^{38,40}.

2.4.2.5 22q11.2 Delesyon Sendromunda Ürogenital Sistem Bulguları

22q11.2 delesyon sendromlu hastaların üçte birinde üriner sistem anomalileri izlenmektedir. En sık görülen anomaliler tek böbrek, multikistik böbrek ve çift toplayıcı sistemdir. Üriner sistem anomalisi olan hastaların çok az bir kısmı tıbbi desteğe ihtiyaç duymaktadır. 22q11.2 delesyon sendromlu 80 hastanın renal ultrasonografi ile incelendiği bir prospektif çalışmada, hastaların önceden bilinen üropati öyküleri olmamasına rağmen %31’inde renal veya diğer genitoüriner sistem anomalileri saptanmıştır. Bunlar tek böbrek, ekojenik böbrek, multikistik displastik böbrek/küçük böbrek, mesane duvar kalınlaşması, at nalı böbrek, duplike toplayıcı sistem, renal tübüler asidoz, hidronefroz ve enürezisdir. Ek olarak hipospadias, inmemiş testis ve uterus anomalileri de bildirilmiştir⁴¹.

Bir başka çalışmada 22q11.2 delesyonu izlenen 859 hasta renal anomaliler, tek umbilikal arter, polihidroamnios ve genitoüriner anomaliler açısından değerlendirilmiştir. Genitoüriner sistem değerlendirilmesi yapılabilen 677 hastanın %45’inde umbilikal herni, inguinal herni, kordae, fimosiz, inmemiş testis ve hipospadias izlenmiştir. Renal verileri olan 530 hastanın %24.5’inde ise hidronefroz ve unilateral renal agenezi bildirilmiştir⁴².

2.4.2.6 22q11.2 Delesyon Sendromunda İskelet-Kas Sistemi Bulguları

22q11.2 delesyonu olan 106 hastanın iskelet anomalilerinin incelendiği bir çalışmada, hastaların %6’sında pre- veya postaksiyel polidaktili gibi üst ekstremitte anomalileri ve %15’inde de postaksiyel polidaktili, ekin deformitesi, üst üste binen parmaklar, 2-3.ayak parmakları arasında sindaktili gibi alt ekstremitte anomalileri izlenmiştir⁴³. 22q11.2 delesyonu olan 63 hastanın akciğer filmleri incelendiğinde ise %19’unda kelebek vertebra, hemivertebra ve koronal kleftler gibi vertebral

anomaliler; %19'unda sıklıkla fazla yada eksik kosta ve %1.5'inde hipoplastik skapula görülmüştür⁴³.

22q11.2 delesyon sendromlu 79 hastanın incelendiği prospektif bir çalışmada hastaların %50'sinde belirgin servikal vertebra anomalileri, %21'inde blok vertebra olmaksızın C2-C3 vertebrada posterior füzyon anomalisi, %75'inde C1'de hipoplazi veya anormallik, %59'unda C2'de dismorfik görünüm, %13'ünde C2-C3 blok vertebra ile posterior füzyon saptanmıştır. Ek olarak servikal vertebra anomalisi olan hastaların %56'sında fleksiyon-ekstansiyon grafisinde instabilite, %33'ünde birden fazla vertebral seviyede artmış hareket ve bu hastaların dördünün servikal bilgisayarlı tomografi ve/veya MRG ile yapılan ileri incelemesinde spinal kanalda darlık ile birlikte artmış C2-C3 segmental hareket tespit edilmiştir⁴⁴.

22q11.2 delesyonu olan hastalarda ayrıntılı iskelet sistemi muayenesi yapılması ve gerekli durumlarda radyolojik incelemeler ile değerlendirme önemlidir.

2.4.2.7 22q11.2 Delesyon Sendromunda Santral Sinir Sistemi Bulguları

22q11.2 delesyonu olan hastaların çoğunda gevşek bebek ve öğrenme güçlüğü öyküsü olmasına rağmen, özel nörolojik bulgular sık olarak izlenmemektedir. Bazı çalışmalarda etkilenmiş bireylerin %50'sinde mikrosefali saptanmıştır⁴⁵. Ancak mikrosefali merkezi sinir sisteminin yapısal ve fonksiyonel defektlerine eşlik etmiyor ise klinik olarak önemli değildir. Hastalarda ayrıca hipokalsemiye bağlı nöbetler sık olarak tanımlanmış olmakla beraber, hipokalsemi olmadan da nöbet öyküsü olan vakalar bildirilmiştir. Çalışmalardan birinde 383 vakadan 27'sinde (%7) tetiklenmemiş nöbet olduğu rapor edilmiştir⁴⁶.

Son yapılan fonksiyonel MR çalışmaları yaş ve cinsiyet eşleştirmeli kontrol grubuna kıyasla 22q11.2 delesyonu olan hastalarda posterior beyin hacimlerinin azalmış olduğunu göstermiştir. Özellikle sol oksipital lob ve sol parietal bölgede belirgin beyaz cevher kaybı saptanmıştır^{47,48}. Beyin yapısındaki bu değişiklikler, hastalarda izlenen çalışma hafızasındaki zayıflık, konuşma, görsel-uzaysal ve matematik performanslarındaki düşüklükleri açıklayabilir.

22q11.2 delesyon sendromlu vakalarda bildirilen bir diğer bulgu ataksi ve serebellum atrofisidir. Nadir olarak görülen diğer SSS anomalileri multikistik beyaz cevher lezyonları, perisilvian displazi, hipoplastik pituiter bez ve polimikrogridir. Sonuç olarak SSS anomalileri çok geniştir ve hastalarda Opitz G/BBB sendromlu vakalarda izlenen bulgular izlenebilir⁴⁸⁻⁵⁰.

2.4.2.8 22q11.2 Delesyon Sendromunda Gelişme Geriliği ve Psikiyatrik

Hastalıklar

22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda gelişimsel gecikmenin derecesi çok değişkendir. 22q11.2 delesyonu olan farklı yaş gruplarındaki çocukların kognitif ve davranışsal profillerinin incelendiği vaka serilerinde gelişimsel gecikme seviyesinin, konjenital kalp hastalığı ve yarık damak gibi anomalilerin varlığından bağımsız olduğu gösterilmiştir⁵¹.

Ebeveynleri tarafından hastalarda en sık ve ilk olarak, motor gecikme tanımlanmaktadır. Küçük çocuklarda motor beceriler orta düzeyde etkilenirken; görsel-algısal yetenekler, planlama ve dil gelişimindeki gerilik daha belirgindir. 22q11.2 delesyon sendromu bulunan hastaların ortalama konuşma yaşı 30 aydır. Hastalarda ortalama IQ 75'tir ve 50-100 arasında değişmektedir. Genellikle normal zekâ ile orta düzey gerilik arasında bir dağılım gösteren hastaların sözel, okuma ve ezber becerileri; matematik, görsel-uzaysal bellek ve soyut düşünme becerilerinden daha iyidir⁵².

Gelişimsel gerilik olan hastalarda genel olarak davranış sorunları ve psikiyatrik bozukluklar daha sık görülür. 22q11.2 delesyonu olan bireylerin davranış tutumları çok değişkendir. Hastaların bir kısmında disinhibisyon ve dürtüsellik görülürken, diğer kısmında utangaçlık ve çekinme izlenebilmektedir⁵².

22q11.2 delesyonu izlenen hastalarda dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, obsesif kompulsif bozukluk, fobiler, anksiyete, otizm ve otistik spektrum hastalıkları sık olarak görülmektedir. Aynı zamanda hastalarda şizofreni, bipolar bozukluklar ve depresyon riski artmış durumdadır^{53,54}. En belirgin risk normal popülasyona kıyasla 30 kat fazla olan şizofreni hastalığındadır⁵⁵. Bu psikiyatrik

hastalıkların 22q11.2 delesyon sendromundaki prevalansı ve prognozu yakın zaman araştırma konularıdır.

Çalışmaların çoğu 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda yapılan retrospektif çalışmalar olmakla birlikte erişkinlerde yapılan bir çalışmada psikiyatrik hastalıkları olan bireylerde 22q11.2 delesyonu araştırılmış ve sonuç olarak 100 şizofreni hastasının ikisinde 22q11.2 delesyonu saptanmıştır⁵⁶. Bir diğer çalışmada 22q11.2 sendromlu adolesan ve erişkinlerde psikotik hastalık gelişme riskinin normal popülasyona kıyasla %25 daha yüksek olduğu gösterilmiştir⁵⁷. Usiskin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çocukluk çağında şizofreni tanısı alan 47 hastanın üçünde 22q11.2 delesyonu olduğu gösterilmiş ve bu hastaların üçünde dil, motor ve sosyal gelişim bozukluğu izlenmiştir⁵⁸. Ayrıca şizofreni ve bipolar hastalıktan sorumlu gen lokusunun araştırıldığı birçok çalışmada 22q11-q12 bölgesinde pozitif lodlar saptanmıştır. Stone ve arkadaşları, 3391 şizofreni hastası ve 3181 kontrol vakasının katıldığı geniş genom bazlı çalışmalarında kopya sayısı değişikliklerini incelemiş ve bu hastalarda en sık 22q11.2 delesyonu olduğunu göstermişlerdir⁵⁹.

Hastalardaki davranış değişiklikleri genellikle erken yaşlarda başlamaktadır. Bu nedenle 22q11.2 delesyonu olan hastaların 10 yaşından önce psikiyatrik hastalıklar açısından taranması, erken tedavi ve yaklaşım açısından faydalı olacaktır⁵³. Ayrıca bu sendromun diğer sistemik bulgularında olduğu gibi nöropsikiyatrik fenotiplerinin de aynı delesyona sahip olan vakalar arasında farklılık gösterebileceği unutulmamalıdır.

2.4.2.8.1 22q11 Delesyon Sendromunda Nörogörüntüleme Çalışmaları

22q11.2 delesyonu sendromu olan hastalarda yapılan nörogörüntüleme çalışmalarında, bu hastalarda normal bireylere kıyasla anatomik farklılıklar olduğu gösterilmiştir. Bulgular global serebral hacim kaybı, parietal lobda hacim kaybı, parietal ve frontal korteksde kortikal kalınlıkta azalma, serebellar vermis hemisfer boyutunda azalma, girus yapılarında bozukluk, beyaz cevherde sinyal değişiklikleridir⁶⁰⁻⁶². Ek olarak çalışmalar 22q11.2 delesyon sendromunda şizofreni birlikteliği ile birlikte *cavum septum pellucidum* (CSP) ve *cavum vergae* sıklığında artış olduğunu göstermiştir^{63,64}.

Cavum septum pellucidum ve beyaz cevher hiperintensitesi klinik açıdan önemi kesin olarak bilinmeyen ve sıklıkla insidental olarak saptandığı düşünülen bulgulardır. İnsidental bulguların toplumda rastlanma oranı %3-%85 arasında değişen geniş bir aralıkta tanımlanmıştır^{65,66}. Yapılan son çalışmalardan birinde CSP normal popülasyonda %10 oranında saptandığı ve bu bulgunun psikotik semptomlar ile beraber olduğu gösterilmiştir⁶⁷.

Schmitt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 22q11.2 delesyon sendromu olan 58 hastanın kraniyel MRG incelemesi sonucunda %47'sinde insidental bulgular görülmüştür. CSP ve beyaz cevher sinyal değişikliği en sık görülen bulgular olarak rapor edilmiştir. Normal popülasyona kıyasla radyolojik bulgular bu hasta grubunda dört kat daha fazla izlenmiştir. CSP izlenen 11 hastanın üçünde şizofreni tanısı mevcut iken, beyaz cevher sinyalinde değişiklik olan altı hastanın üçünde psikotik semptomlar olduğu rapor edilmiştir. Psikoza olan hastaların hepsinde CSP veya beyaz cevherde sinyal değişikliği gibi insidental bulgular saptanmıştır⁶⁸.

2.4.2.9 22q11.2 Delesyon Sendromunda Otoimmün Hastalıklar

22q11.2 delesyon sendromu hastalarında otoimmün hastalıklar sık olarak izlenmektedir. Otoimmüniteye hangi tolerans mekanizmalarındaki bozulmanın neden olduğu tam olarak bilinmemekle birlikte, timus gelişim bozukluğuna bağlı, santral veya periferik toleransın veya her ikisinin birlikte bozulması sonucu geliştiği düşünülmektedir²⁸.

22q11.2 delesyonu olan hastaların erişkin yaşlarında T hücre sayıları normal sınırlarda olmasına rağmen, naiv alt gruplarda kısa telomer uzunluğu, oligoklonal T lenfosit ekspansiyonu ve T hücre farklılaşmasındaki değişiklikler bu bireylerde periferik toleransın bozukluğunu göstermektedir. Hastaların bir kısmında erken çocukluk döneminde immün yetmezlik bulguları gözlenmemesi nedeniyle, bu hastalardaki immün sistem değişiklikleri ve bozulmuş immün dengenin uzun dönem sonuçları bilinmemektedir. Yakın dönemde Martinez ve arkadaşları, 22q11.2 delesyonlu on asemptomatik hastanın immünolojik parametrelerini kontrol grubu ile karşılaştırdığında, T hücre sayılarının düşük, ancak naiv CD4 T hücre gruplarının proliferasyon kapasitelerinin yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca 22q11.2

delesyonu olan hastalarda, *self* toleransın düzenlenmesinde önemli rol alan T regülatuvar hücre sayıları düşük olarak izlenmiştir. Bu çalışmadaki tüm veriler beraber değerlendirildiğinde 22q11.2 delesyon sendromundaki artmış otoimmün hastalık riskinin, immünolojik periferik dengenin bozulması ve T regülatuvar hücrelerin baskılayıcı etkisinin azalmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür⁶⁹.

22q11.2 delesyonu olan hastalarda normal popülasyona kıyasla poliartiküler juvenil idiyopatik artrit (JIA) gelişme riski 20 kat daha yüksektir. JIA başlama yaşı genellikle 17 ay ile 5 yaş arasında değişmektedir. Bu hastalarda JIA sıklıkla poliartiküler ve tedaviye dirençlidir. JIA gelişimine yatkınlık oluşturan HLA tipleri 22q11.2 delesyonu olan hastalarda sık olarak izlenmektedir.⁷⁰

22q11.2 delesyon sendromu ile ilişkili diğer otoimmün hastalıklar idiyopatik trombositopenik purpura, hipertiroidizm (Graves Hastalığı), hipotiroidizm, vitiligo, hemolitik anemi, otoimmün nötrojeni, aplastik anemi ve çölyak hastalığıdır^{26,29,71}.

2.4.2.10 22q11.2 Delesyon Sendromu ile Birlikteliği Gösterilmiş Olan Diğer Bulgular

Literatürde 22q11.2 delesyon sendromu hastalarında anormal akciğer lobasyonu⁷², Bernard Soulier sendromu⁷³, hepatoblastom⁷⁴, renal hücreli karsinom⁷⁵, Wilms tümörü⁷⁶, nöroblastom gibi malign hastalıkların eşlik ettiği gösterilmiştir. Hastalarda hepatoblastom riskinin yüksek olması delesyon bölgesinde yer alan *COMT* geninin çevresel karsinojenlerin detoksifikasyonunda görevli olmasına bağlanmaktadır⁷⁶.

2.5 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Özellikleri

2.5.1 22q11.2 Delesyon Sendromunun Sitogenetik Özellikleri

İlk olarak de la Chapelle 1981'de DiGeorge sendromlu bir ailenin bireylerinde t(20;22) saptayarak, DGS'nin genetik temelinde kromozom 22'deki delesyonun veya kromozom 20p'deki parsiyel duplikasyonunun yattığı hipotezini öne sürmüştür. Bu ailenin DGS bulguları olan dört bireyinde 22pter-q11 monozomisi ve 20p trizomisi gösterilmiştir⁷⁷. DGS'de 22q11 monozomisinin olabileceği savı

1982’de Kelley ve arkadaşlarının üç hastada 22q11 bölgesinin farklı kromozomlara translokasyonunu göstermesi ile güçlenmiştir⁷⁸.

1984’de Greenberg, tip1 trunkus arteriozus ve DGS dismorfik bulguları olan iki aylık bir hastada dengesiz t(4;22) nedeniyle oluşan 22q monozomisini göstermiştir. T hücre sayısında kısmi azalma görülen asemptomatik annesinde ise proksimal 22q11 delesyonu ile aynı dengesiz translokasyon görülmüştür⁷⁹. Augusseau 1986’da telekantus, mikroretrognati, hipoplastik sol aortik arkla birlikte ağır aort koarktasyonu ve hafif neonatal hipokalsemi izlenen bir hastada ve bu hastanın semptomu olmayan annesinde ve teyzesinde aynı translokasyonu saptamıştır. Annesinin özgeçmişinde prenatal USG’de saptanan kardiyak ve diğer anomaliler nedeniyle olan bir abortus öyküsü de tanımlanmıştır. Delesyon bölgesinin sekans analizinde bu translokasyonun nedensel olduğu kanıtlanmıştır⁸⁰.

Wilson 1992’de DGS bulunan 36 hastanın 30’unda yüksek rezolusyonlu bant göstermiş ve bunların dokuzunda 22q11.2 bölgesinde interstisyel delesyon saptamıştır⁸¹. Delesyon alanından oluşturulan proplar ile yapılan FISH ve moleküler analizler sonucunda, Carey ve arkadaşları karyotip analizi normal olan 22 vakanın 21’inde bu delesyonu göstermiştir⁸².

Sonuç olarak gelişen teknik yöntemler ile yıllar içinde 22q11 bölgesindeki delesyonun tanımlanma sıklığı artmıştır. DGS hastalarının %90’ında 22q11 delesyonu saptanmış ancak bu hastalarda diğer kromozomal bozuklukların birlikteliği de bildirilmiştir. Greenberg 1988’de hastalarının birinde 10p13 delesyonu, bir diğerinde 18q21.33 delesyonu göstermiştir⁸³. Fukushima 1992’de 4q21.3-q25 delesyonu olan bir süt çocuğunda kesintili aortik ark, VSD, ASD, PDA, timus hipoplazisi ve T hücre yetmezliği, korpus kallozum agenezisi ve dismorfik bulgular tanımlamıştır⁸⁴. Nöral krestmigrasyonunda DGS patogenezinin sorumlu olan birçok moleküler bozukluk bulunabilir, ancak bu tip vakalarda 22q11.2 bölgesinin tespit edilememiş submikroskopik delesyonları da söz konusu olabilmektedir.

Pinto-Escalante 1998’de 22.kromozomda mozaik monozomisi olan bir prematüre erkek hasta sunmuşlardır⁸⁵. Hastanın yüzünde DGS ile uyumlu dismorfik

bulgular, hipertonsite, büyük eklemlerde hareket kısıtlılığı ve tüm parmaklarında fleksiyon kontraktürü tanımlanmıştır. Literatürdeki monozomi 22 vakaları karşılaştırıldığında birbirinden farklı fenotipik özellikler gösterebildikleri, ancak en sık yüz ve eklemlerde bulgularının olduğu tespit edilmiştir.

Gotliebb 1998’de beş DiGeorge sendromu hastasının 10. kromozomunda delesyon göstermişlerdir. Hastaların hepsinde 10p bölgesinde aynı delesyon izlenmemesi üzerine 10p bölgesindeki farklı delesyonların DGS fenotipine yol açabileceğini savunmuşlardır. En ağır delesyona sahip olan hastanın en hafif klinik bulgulara sahip olması nedeniyle de delesyonun büyüklüğü ile fenotipik bulgular arasında ilişki olmadığını düşünmüşlerdir⁸⁶.

2.5.2 22q11.2 Delesyon Sendromunun Moleküler Genetiği

22q11.2 mikrodelesyon sendromu, 22.kromozomun uzun kolunun 11.2 lokalizasyonundaki delesyon sonucunda meydana gelmektedir. 22q11.2 delesyonunun mekanizmasını incelemek amacı ile yapılan genetik çalışmalar sonucunda delesyonu olan hastaların anne ve babalarında 22q11 bölgesinde artmış mayotik olaylar izlenmesi, delesyon nedeninin eşitsiz *cross over* nedeni ile olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca 22q11 bölgesinin fiziksel haritalamasında birçok hastada sadece bu bölgede *low copy repeat* (LCR) gösterilmiştir⁸⁷. İnterstisyel delesyonların kırılma noktalarının daha detaylı analizleri sonucunda farklı düşük kopya tekrar grupları tanımlanmıştır. Tipik delesyon kırılma noktalarındaki tekrarlar 200 kb büyüklüğüne ulaşabilmekte ve GGT, BCRL, V7-rel, POM121-like ve GGT-rel sekanslarını içermektedir. Tekrarlar görsel olarak iki blokta aynı ise bu noktalarda delesyon büyük olasılıkla intrakromozomal homolog rekombinasyon sonucu oluşmaktadır. Sonuç olarak 22q11.2’deki delesyonlar senkron replikasyon sonrasında izlenen nonallelik homolog rekombinasyon ile oluşan LCR bölgelerinde meydana gelmektedir⁸⁸.

Hastaların %85’inde LCR-A ve LCR-D ile sınırlanmış kırılma noktalarından oluşan yaklaşık 3 Mb’lık tipik delesyon mevcuttur. İkinci bir delesyon çeşidi olarak hastaların %10-12’sinde tipik delesyon bölgesindeki LCR-A ve LCR-B ile sınırlanmış proksimal 1.5 Mb’lık delesyon izlenmiştir⁵. Az sayıdaki hastada ise son

yıllarda bu bölgede geniş fluoresan *in situ* hibridizasyon (FISH) problemleri ve mikrodizinin teknolojisinin kullanılması ile tipik delesyon bölgesiyle örtüşen ya da örtüşmeyen daha küçük LCR veya alternatif kırılma noktaları ile oluşan farklı atipik delesyonlar tanımlanmıştır⁸⁹.

Resiprokal LCR ile ilişkili olaylar sonucunda duplikasyon ve delesyon oluşma ihtimali eşit olmasına rağmen 22q11.2 bölgesinde az sayıda duplikasyon görülmektedir. 22q11.2 delesyonu yaklaşık 4000-6000 doğumda bir izlenirken, bu bölgede meydana gelen duplikasyon ve tripplikasyonların frekansı bilinmemekle birlikte tahmin edildiğinden daha sık olduğu düşünülmektedir⁹⁰.

2.5.3 22q11.2 Bölgesinde Tanımlanmış Genler

22q11.2 bölgesi İnsan Genom Projesi'nde ilk incelenen bölgelerden biridir. Günümüzde birçok araştırmacı 22q11.2 delesyon bölgesindeki genlerin pozisyonel klonlanması üzerine çalışmaktadır. 22q11.2 delesyonu olan hastaların %85-90'ında var olan 3 Mb delesyon bölgesinde 30 civarında gen bulunurken, 1,5 Mb büyüklüğünde daha küçük mikrodèlesyonlar içeren bölgede yaklaşık 25 kadar gen tanımlanmıştır².

Bu delesyon dışında, 22q11.2 delesyon sendromu klinik bulgularını bulunduran hastalarda, kromozom 22q11.2'nin LCR-A-B bölgesinde yerleşmiş *TBX1* geninin mutasyonları da sıklıkla görülmektedir. *T-box* transkripsiyon ailesinin bir üyesi olan *TBX1*, farengial arkların gelişimini düzenlemektedir. *TBX1* ekspresyonundaki azalmanın, yüz anomalilerine, timus ve paratiroid bezinin gelişim bozukluklarına neden olduğu gösterilmiştir. *TBX1*'in en önemli rolünün kalp çıkımı ve sağ ventrikül gelişiminde olduğu bilinmektedir. Özellikle delesyon saptanmayan ancak kardiyak anomalileri olan vakalarda *TBX1* mutasyonu gösterilmiştir. Bu genin homozigot mutasyonu DGS'nin tüm fenotipik özelliklerini gösteren ölümcül bir klinik tabloya yol açarken, heterozigot mutasyonları farklı penetrans gösteren daha hafif bir kliniğe yol açmaktadır⁹¹. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda retinoik asitin *TBX1* ekspresyonunu baskıladığı, bu nedenle fetal izotretinoin temasının 22q11.2 delesyon sendromuna benzer kliniğe neden olduğu gösterilmiştir⁹².

Sadece *TBX1* genindeki mutasyonların 22q11.2 delesyon sendromundaki bulguların hepsini açıklayabildiği bildirilse de, bunun tersini gösteren kanıtlar da

bildirilmiştir. *TBX1* bölgesini içermeyen atipik delesyonu olan bireylerde de TOF, kesintili arkus aorta, trunkus arteriozus gibi tipik konotrunkal kardiyak defektlerin görülmesi, farklı alt yolakların veya *CRKL* geninin etkilendiğini düşündürmektedir⁹³.

CRKL büyüme faktörü sinyal yolağında adaptör proteini kodlamaktadır. *CRKL* nöral krest hücrelerinden köken alan dokularda eksprese edilmektedir. Bu genin *knock out* olduğu farelerde timusun gelişmediği bilinmektedir. Ayrıca atipik delesyonu saptanan bazı hastalarda *CRKL* gen delesyonunun kalp anomalilerine neden olduğu gösterilmiştir⁹⁴. Ancak *CRKL*'nin heterozigot kaybı anormal klinik bulgulara yol açmamaktadır. *TBX1* ve *CRKL*'nin bileşik heterozigotluğunun DGS fenotipine yol açtığı düşünülmektedir.

Tipik konotrunkal kalp anomalilerini içeren 22q11.2 klinik özellikleri izlenmesine rağmen delesyon veya *TBX1* mutasyonu saptanamayan hastaların bir çoğunda *CHD7* (Chromodomain Helicase DNA binding protein 7) mutasyonu gösterilerek CHARGE sendromu (*Coloboma*, *Heart defect*, *Atresia choanae*, *Retarded growth and development*, *Genital abnormality*, and *Ear abnormality*) tanısı konmuştur. DGS fenotipi ve tam timus yokluğu bu sendromun parçası olabilir, ancak farklı klinik bulgular bir arada izlenebilmektedir. Faringeal arklarda eksprese edilen *CHD7* diğer genlerin transkripsiyonunu düzenlemektedir. Faringeal arklardan oluşan yapıların normal gelişimi için *CHD7* ve *TBX1* genlerinin birlikte ekspresyonu önemlidir. Bu nedenle CHARGE sendromunda DGS fenotipi görülebilmektedir⁹⁵.

22q11.2 delesyon sendromunda *COMT* (Catechol-O-methyltransferase) geninin yetersiz ekspresyonunun davranışsal, psikiyatrik sorunlar ve maligniteye artmış yatkınlık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *TBX1* geni tarafından kodlanan transkripsiyon faktörünün beyin mezenkiminde eksprese edildiğinin gösterilmesi de, 22q11.2 delesyon sendromunda izlenen davranışsal, bilişsel ve nöropsikiyatrik bulguların açıklanmasına katkı sağlamıştır⁹⁶.

2.5.4 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Kalıtımı

22q11.2 delesyonu hastaların %93'ünde *de novo* olarak oluşurken, %7'sinde 22q11 delesyonu bulunan bir ebeveynden otozomal dominant kalıtım ile aktarılır. 22q11.2 delesyonunun dominant kalıtımı ve farklı fenotipik özelliklerinin görüldüğü

ilk aile 1991’de Wilson tarafından yayınlanmıştır. Bu ailede annede sadece minör dismorfik bulgular görülürken, üç çocuğun birinde aort koarktasyonu, birinde VSD ve diğerinde de DGS fasiyal bulguları izlenmiştir⁸.

Carelle Carmen ve arkadaşları 2009’da yaptıkları bir çalışmada, 22q11.2 delesyonu olan vakaların %6-28’inde delesyonun kalıtsal olarak kazanıldığını göstermişlerdir. Aynı çalışmada DGS tanısı alan bir hastanın annesinde ve babasında yapılan genetik incelemeler sonucunda babasının her iki 22q11.2 bölgesinde farklı bir yeniden düzenlenme saptamışlar; 22. kromozomun bir kopyasında 22q11.2 delesyonu, diğer kopyasında 22q11.2 resiprokal duplikasyonu göstermişlerdir. Bu genetik kompanzasyon babanın semptomsuz olmasını sağlamıştır. Bu bilgiler ışığında bu hastalıkta genetik danışmanın önemli olduğunu vurgulamışlardır⁹⁷.

Delio ve arkadaşları, 2013’de 22q11.2 delesyonundan etkilenmiş ailelere ait 389 DNA örneğinin genetik incelemesini yaptıkları çalışmalarında, hastalarda izlenen *de novo* mutasyonların %56’sının maternal kökenli ve %44’nün paternal kökenli olduğunu saptamışlardır⁹⁸. Bu çalışma ve bu konu ile ilgili diğer çalışmalar beraber değerlendirildiğinde 22q11.2 delesyonunun daha çok maternal kökenli olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca literatürde 22q11.2 bölgesindeki rekombinasyon hızının kadınlarda erkeklere kıyasla 1,6 kat daha fazla olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bunlar görülen *de novo* mutasyonların daha sık maternal kökenli olmasını açıklar nitelikte bulgulardır⁹⁹.

2.6 22q11.2 Delesyon Sendromunda Etkilenen Embriyolojik Yapılar

Embriyonel gelişimin 3. haftasının sonu ile 4. haftasının başında embriyo kraniyokaudal ve lateral yönde katlanır. Bu katlantılar sonucunda boyun bölgesinde iki taraflı uzanan faringeal ark ve cepler oluşur. Her faringeal ark, dıştan yüzey ektodermi, içten endoderm ve ortasında mezodermden oluşur. 22q11.2 delesyon sendromunun klinik özellikleri bu faringeal arkların gelişiminin erken dönemde etkilenmesinden kaynaklanmaktadır. Primer olarak etkilenen yapılar brankiyal ark ve faringeal cep sisteminin türevleri olan timus, paratiroid bezi, brankiyal ark arterleri ve yüzdür¹⁰⁰.

Timus ve paratiroid bezleri 3. ve 4. faringeal arkta intrauterin dönemin 6-8. haftasında epitelyal invazyon ile gelişmektedir. Timus epitelinin gelişimi *Forkhead box protein N1* (FoxN1) transkripsiyon faktörünün kontrolü altındadır ve bu faktörün ekspresyonu ile timus üçüncü cebin ventralindeki endodermden gelişir. Ayrıca timusun bağ dokusu mesoderm ve nöral krest hücrelerinden gelişmektedir. Embriyonel gelişimin 8.haftasında kemik iliği kökenli T hücre prekürsörleri timusa göç etmektedir. Timusun ileri gelişimi bu lenfoid hücreler ile timusun stromasının etkileşimine bağlıdır. Paratiroid bezlerin gelişimi de aynı bölgeden olmaktadır. Timus ve paratiroid bezi bu şekilde gelişirken aynı dönemde dudak filtrumu, kulak tüberkülü ve aortik ark farklılaşması da olmaktadır.

22q11.2 delesyonunda embriyolojik olarak 3. ve 4. faringeal arklar dışında, 4. 5. ve 6. faringeal arklar da etkilenebilmektedir. Bu nedenle hastalarda etkilenen alana bağlı olarak değişik klinik bulgular ortaya çıkmaktadır¹⁰⁰. Etkilenen dokuların her birine embriyogenez sürecinde rostral nöral krestten hücre göçü olmaktadır. Göç öncesinde krest hücrelerinin bloke edildiği çalışmalarda 22q11.2 delesyon fenotipinin ana hatlarının başarılı bir şekilde oluşturulduğu saptanmıştır¹⁰¹. Nöral krest gelişiminde rol oynayan *ERK2* ve *CRKL* gibi genlerin mutasyonunun 22q11.2 delesyon sendromu fenotipine yol açtığı gösterilmiştir¹⁰². Bu çalışmalar sonucunda 22q11.2 delesyonunun rostral nöral krest hücreleri veya onların etkileşimde olduğu diğer hücreleri etkilediği hipotezi ortaya atılmıştır.

2.7 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tanı

2.7.1 22q11.2 Delesyon Sendromunda Klinik Tanı

Hastalarda kuvvetle 22q11.2 delesyonu düşündüran bulgular özellikle konotrunkal tipte konjenital kalp hastalıkları, velofaringeal yetmezlik ve damak yarığı gibi palatal anomaliler, hipokalsemi, immün yetmezlik, öğrenme güçlükleri ve karakteristik yüz görünümüdür. Daha az görülen bulgular ise büyüme hormonu eksikliği, trombositopeni, juvenil romatoid artrit, Graves hastalığı, vitiligo, nötropeni, hemolitik anemi gibi otoimmün hastalıklar, sensörinöral veya iletim tipi işitme kaybı, ağır disfaji, psikiyatrik hastalıklar ve otizmdir.

Tanıya katkıda bulunan diğer önemli bulgular ellerde preaksiyel veya postaksiyel polidaktili, ayaklarda postaksiyel polidaktili, kosta anomalileri, hemivertebral, sagittal veya lambdoid kraniosinostoz gibi iskelet bulguları ve renal agenezi, hidronefroz, multistik ve displastik böbrekler, at nalı böbrek, uterus yokluğu, hipospadias, inguinal herni ve kriptorşidizm gibi genitoüriner anomalileridir. Ayrıca hastalarda vasküler halka, laringeal *web*, laringotrakeal malazi, subglottik stenoz gibi laringotrakeoözefagial anomaliler; retinal damarlarda tortiyosite, pitozis, posterior embriyotokson, sklerokornea, kolobom, katarakt, anoftalmi ve strabismus gibi oftalmolojik bulgular; serebellar atrofi, polimikrogri, genişlemiş silvian fissürler, nöral tüp defektleri, *tethered* kord, nöbet, ağırlıkta yüzde asimetri gibi sinir sistemi bulguları; öne yerleşimli imperfore anüs, özefageal atrezi, jejunal atrezi, aksesuar dalak, umbilikal herni, diyafragmatik herni, intestinal malrotasyon ve Hirschsprung hastalığı gibi gastrointestinal anomaliler ve hepatoblastom, renal hücreli karsinom, Wilms tümörü ve nöroblastom gibi maligniteler izlenebilir.³²

Bu kadar geniş fenotipik bulgular sergileyebilen, tüm organ ve sistemleri içeren 180'den fazla klinik bulgusu olan 22q11.2 delesyon sendromunda belirli tanısal kriterler mevcut değildir. Klinik bulguları Noonan, Alagille, Goldenhar, Smith-Lemli-Opitz ve CHARGE sendromları ile VACTERL assosiasyonu gibi diğer genetik hastalıklarla örtüşmektedir¹². Bu nedenle 22q11.2 delesyon sendromunun tanısı çoğunlukla klinisyenin tecrübesine dayanmaktadır ve klinik tanı yanlış olabilmektedir. 22q11.2 delesyon sendromunun kesin tanısı moleküler çalışma yöntemleri ile konmaktadır.

2.7.2 22q11.2 Delesyon Sendromunun Genetik Tanısı

22q bölgesini içeren translokasyonları saptamak için standart karyotiplendirme ve multipleks FISH kullanılırken, 22q11.2'deki delesyon ve kopya sayılarında değişiklikleri içeren yeniden düzenlemelerin tespitinde en sık kullanılan genetik tanı yöntemi bu bölgeye yönelik FISH'tir. İlk olarak 1992 yılında rutin kullanıma giren sitogenetik bir tanı yöntemi olan FISH yönteminde kromozom 22'ye özgü prob kullanılır. İlk prob sadece ilgilenilen kromozom ile hibridize olurken

ikinci prob sıklıkla delesyon olasılığı düşünölen bölge ile hibridize olur. İkinci probun hibridize olamaması delesyonu gösterir (bkz Şekil 2.1). 22q11.2 FISH analizi için ticari olarak iki tane FISH analizi probu mevcuttur. Bu iki probun FISH analizindeki başarı oranı aynıdır. Ancak bu iki probda 22q11.2 bölgesindeki 40kb'dan daha küçük delesyonları saptamada yeteri kadar duyarlı değildir. Sadece LCR A-D bölgesini içeren tipik delesyonları gösterebilir. Ayrıca FISH yüksek güvenilirliğe sahip olmasına rağmen, pahalı ve zahmetli bir yöntemdir. Toplumdaki 22q yeniden düzenlemelerinin yüksek prevalansı göz önüne alındığında, güvenilir, hızlı, duyarlı ve daha ucuz bir tanı yöntemi gerekmektedir. Son yıllarda bu amaçla polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemine dayanan bir teknik olan multipleks ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA), çeşitli genetik hastalıklardaki delesyonları ve duplikasyonları göstermek için kullanılmaktadır. MLPA 50 kadar farklı genomik DNA veya RNA dizisindeki normal olmayan kopya sayılarının tespitini sağlayan bir multipleks PCR yöntemidir.



Şekil 2.1. FISH analizinde 22q11.2 delesyonu. Yeşil işaretli prob 22.kromozom sentromerine, kırmızı işaretli prob 22q11.2 bölgesine hibridize olmaktadır.

22q11.2 bölgesi MLPA yöntemi ile incelenebilmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada MLPA'nın 22q11.2 bölgesindeki kopya tekrar değişikliklerini saptamada oldukça duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğu gösterilmiştir³. MLPA yöntemi ile 22q11 bölgesinde 35 kopya sayısı değişikliği lokusu taranmaktadır. Bu yöntemle hastalardaki tipik delesyonlara ek olarak, bazı hastalarda 22. kromozomda ve diğer bazı kromozomlarda farklı ve yeni bozukluklar da saptanabilmektedir. Karyotip ve FISH analizi normal olan ancak fenotipik olarak şüphe uyandıran hastalarda sık görülmeyen delesyonlar MLPA ile tespit edilmiştir¹⁰³. MLPA yöntemi günümüzde sıklıkla kullanılan FISH analizine kıyasla daha hızlı ve daha iyi bir yöntemdir. FISH yönteminde delesyonların büyüklüğü saptanamazken bu yöntem ile belirlenebilmektedir.

Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (*comparative genomic hybridization*; CGH) ve SNP mikrodizin analiz teknikleri de birçok laboratuvarında, FISH yönteminin yerini almıştır. Ancak bu yöntemler diğer yöntemlere kıyasla hem çok pahalı hem de çok zahmetlidir.

2.7.3 22q11.2 Delesyon Sendromunda Ayırıcı Tanı

22q11.2 delesyonu ile ilişkili olan bulguların hepsi normal bireylerde izole anomaliler olarak izlenebilir. Submukozal yarıkları da içeren izole yarık damak vakalarının %11'inde 22q11.2 delesyonu saptanmıştır¹⁰⁴. Bu nedenle yarık damağın en sık sendromik nedeni 22q11.2 delesyonudur. 22q11.2 delesyonu aynı zamanda konjenital velofaringeal yetmezliğin en sık genetik nedenidir.

22q11.2 delesyon sendromu ile ortak klinik bulguları olan hastalıklar ayırıcı tanıda düşünülmelidir.

Smith-Lemli-Opitz Sendromu, *DHCR7* genindeki mutasyon nedeniyle oluşan, otozomal resesif kalıtılan, artmış serum 7-dehidroksi kolesterol veya artmış 7-dihidroksikolesterol-kolesterol oranı ile karakterize bir metabolik hastalıktır¹⁰⁵. 22q11.2 delesyonunda izlenebilen polidaktili, mikrognati ve yarık damak bulguları bu sendromda da sık olarak görülmektedir.

Alagille Sendromu safra kanal azlığı ve buna bağlı gelişen kolestaz, hepatomegali, sarılık ile karakterize; %10-15 mortalite oranına sahip bir hastalıktır. Otozomal dominant kalıtılan sendromun klinik tanısal kriterlerine uyan vakalarının %88'inde *JAG1* geninin mutasyonu gösterilmiştir. Hastaların %7'sinde FISH yöntemi ile tüm *JAG1* genini kapsayan 20p12 bölgesinin delesyonu saptanmaktadır. Alagille sendromu olan hastaların %1'inden azında *NOTCH2* mutasyonu izlenmektedir¹⁰⁶. Alagille sendromlu hastalarda hepatik bulgulara ek olarak 22q11.2 delesyon sendromunda izlenen kelebek vertebra, konjenital kalp hastalığı ve posterior embriyotokson izlenmesi nedeni ile bu sendrom 22q11.2 delesyon sendromu ayırıcı tanısında düşünülmelidir.

VACTERL assosiasyonu, vertebral anomaliler (V), anal atrezi veya imperfore anüs (A), kardiyovasküler defekt (sıklıkla ventriküler septal defekt) (C), trakeal ve özefagial anomaliler (TE), renal agenezi (R), parmak anomalileri (L) ile kendini gösteren bir assosiasyondur. Etiyolojisi bilinmeyen assosiasyonun tanısı diğer tüm sendromlar dışlandıktan sonra konulmaktadır¹⁰⁷. 22q11.2 delesyon sendromuna benzer konjenital kalp hastalığı, vertebra, renal ve ekstremitte anomalileri olması nedeniyle 22q11.2 delesyon sendromu ayırıcı tanısında düşünülmelidir.

Oküloaurikülovertebral sendrom (OAVS, Goldenhar sendromu) birinci ve ikinci brankiyal arkın gelişim anomalisi sonucu oluşan hemifasiyal mikrozomi, göz, kulak ve vertebra anomalileri ile karakterize bir sendromdur. Kardiyak, ürogenital, iskelet ve santral sinir sistemi anomalileri bu sendroma eşlik edebilmektedir. OAVS genellikle sporadik bir durumdur. Hemifasiyal mikrozomi, kulak anomalileri, vertebral defektler, kalp hastalıkları, renal anomaliler gibi 22q11.2 delesyon sendromu ile ortak bulguları olması nedeniyle 22q11.2 delesyon sendromunun ayırıcı tanısında düşünülmelidir.

CHARGE sendromu konjenital kalp hastalığı, palatal yetmezlik, kolobom, koanal atrezi, renal anomaliler, büyüme geriliği, kulak anomalileri/işitme kaybı, fasiyel paralizi, genitoüriner anomaliler ve immün yetmezlik bulguları ile tanımlanır. Etkilenmiş bireylerin %65-70'inde *CHD7* geni mutasyonu vardır. Vakaların çoğu sporadik olmakla birlikte, aslında kalıtımı otozomal dominanttır⁹⁵. Konjenital kalp hastalığı, palatal yetmezlik, renal anomaliler, büyüme geriliği, kulak

anomalileri/işitme kaybı, immün yetmezlik gibi bulguları nedeniyle 22q11.2 delesyon sendromu ayırıcı tanısında yer almaktadır.

DGS'nin genetik olmayan assosiasyonlarından biri fetusun retinoik aside maruz kalması sonucu oluşan embriyopatidir. Hastalarda mikrognati, yarık damak, konotrunkal kalp hastalıkları ve timüs defektleri gibi DGS fenotipi izlenmektedir¹⁰⁸. Bunun nedeni retinoik asitin *TBX1* ekspresyonu üzerine olan etkisidir. Ayrıca *TBX1*'in de retinoik asit metabolizmasını düzenleyici etkisi bulunmaktadır. Fetal alkol sendromu ve maternal diyabet de DGS fenotipine yol açabilmektedir. Maternal diyabette nöral krest ve mezenkimal hücrelerin göçü engellendiği için benzer fenotipik özelliklerin ortaya çıktığı düşünülmektedir.

FISH analizi normal olan ancak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilen vakalarda 22q11.2 kromozomun A-B bölgesini içermeyen atipik delesyonlar veya 10p13-p14 gibi diğer kromozomal bölgeleri içeren kromozom anomaliler incelenmelidir. Kromozom 10p'deki interstisyel delesyonlarda konjenital kalp hastalıkları ve timüs hipoplazisi gibi DGS benzeri klinik bulgular olabilir¹⁰⁹. Ancak çoğunlukla 10p delesyonlarındaki klinik bulgular, 22q11.2 delesyon sendromundakileri klinik bulgular ile tam olarak örtüşmez. Sensörinöral işitme kaybı ve zihinsel yetersizlik 10p delesyonunda sık olarak izlenirken, 22q11.2 delesyonunda nadirdir. Aynı zamanda renal anomaliler ve genel büyüme geriliği 10p delesyonunda daha sıktır. Ayrıca 10p delesyonları 200.000'de bir izlenir ve 22q11 delesyonlarından 50 kat daha nadirdir.

2.8 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tanı Sonrası İleri Değerlendirme

22q11.2 delesyon sendromunda birçok sistem ile ilgili bulgular olabilir. Bu nedenle tanı alan hastalarda ayrıntılı klinik değerlendirme planlanmalıdır^{57,110}.

1. Akciğer grafisi, elektrokardiyografi ve ekokardiyogram ile temel değerlendirme yapılmalı; vasküler halka şüphesi varsa göğüs MRG ek tetkik olarak düşünülmelidir.
2. Hipoparatiroidizm açısından iyonize kalsiyum ve paratiroid hormon düzeyi ölçülmeli ve bozukluk saptanması durumunda hasta endokrinoloji bölümüne yönlendirilmelidir.

3. TSH değeri görülmelidir.
4. Tam kan sayımı bakılmalı, absolü lenfosit sayısı düşük saptanması durumunda T ve B hücre alt grupları görülmeli ve immunoloji bölümünce değerlendirilmelidir.
5. Sık enfeksiyon öyküsü olan hastalarda akım sitometri, immünoglobulinler ve T hücre fonksiyon çalışmalarını içeren immünolojik değerlendirme yapılmalıdır.
6. Yapısal böbrek defektleri açısından renal ultrasonografi istenmelidir.
7. Göz muayenesi yapılmalıdır.
8. İşitme testi yapılmalıdır.
9. Torasik vertebral anomaliler açısından göğüs direkt grafisi çekilmelidir.
10. Dört yaşından sonra servikal grafi (fleksiyon, ekstansiyon, ön-arka, lateral, kafa tabanı) ile subluksasyon riski açısından değerlendirme yapılmalıdır.
11. Beslenme ve konuşma problemlerine yol açabileceği için damak anomalileri açısından ayrıntılı muayene yapılmalıdır.
12. Gastroözefageal reflü, emme ve yutma bozuklukları, kusma ve kabızlık gibi gastrointestinal sistem problemleri açısından ayrıntılı değerlendirilmelidir.
13. 22q11.2 delesyonu olan hastaların büyük bir çoğunluğunda konuşmada gecikme olmasından dolayı bir yaşında muhakkak konuşma açısından değerlendirilmeli ve erken yaklaşım stratejileri uygulanmalıdır. Ayrıca bir yaşında yapılan muayene ile damak anomalileri ve velofaringeal yetmezlik bulguları var ise erken dönemde tespit edilmiş olacaktır.

Ayrıca gerekli durumlarda boy kısalığı belirgin olan bireylerde (2 persentil altında) büyüme hormonu tedavisi açısından endokrinolojik değerlendirme; anksiyete, davranış bozuklukları, duygu durum hastalıkları ve psikoz bulguları varlığında psikiyatrik değerlendirme; morarma veya kanama bozukluğu tanımlanması durumunda hematolojik değerlendirme planlanmalıdır.

Sonuç olarak 22q11.2 delesyon sendromlu hastalara multidisipliner yaklaşım gerekmektedir. Alerji, odyoloji, kardiyoji, kalp damar cerrahisi, gelişimsel pediatri,

psikiyatri, diş hekimliği, endokrinoloji, kulak-burun-boğaz, gastroenteroloji, oftalmoloji, genel cerrahi, immünoloji, tıbbi genetik, nöroloji, nöroşirürji, ortopedi, plastik cerrahi bölümlerinin hastaların klinik bulgularına göre takibi gerekebilir. Hastalarda özel eğitim ve konuşma terapisi ihtiyacı doğabilir.

2.9 22q11.2 Delesyon Sendromunda Tedavi ve İzlem Yönetimi

İmmün yetmezliği olan hastalarda nadiren profilaktik antibiyotik tedavisi, IVIG uygulaması ve timus transplantasyonu bildirilmiştir. Psikiyatrik hastalıkların erken tanı ve tedavisi uzun dönem prognozu olumlu etkilemektedir¹¹¹. Lenfosit problemleri olan hastalarda canlı aşılar ile immünizasyon önerilmemektedir. Bu nedenle aşılama öncesi çocukların immünolojik durumlarının değerlendirilmesi ve aşılanmalardan sonra antikor cevabının kontrolü gerekmektedir. İmmün sistemin tüm değerlendirmeleri yapılana kadar ışınlanmış kan ürünlerinin kullanılması tavsiye edilir. Hipokalsemik nöbetlerin önlenmesi için ameliyat öncesi ve sonrası kan kalsiyum değerlerinin bakılması gerekir. Cerrahi işlemlerden önce karotid arterlerin görüntülenmesi ve adenoidektomi öncesi konuşma üzerine olabilecek etkilerin gözden geçirilmesi bir diğer önerilerdir. Ameliyat öncesi hiperekstansiyon olacak durumlarda servikal anomaliler açısından inceleme ve yine ameliyat öncesi trombosit sayısı ve fonksiyonu açısından değerlendirme gereklidir. Büyüme hormonu tedavisi gereksinimi genel popülasyonla benzer şekildedir¹¹².

Takiplerinde yıllık tam kan sayımı, serum kalsiyum ve tiroid fonksiyonları kontrolü; okula başlamadan önce göz ve işitme muayenesi, nazal konuşma değerlendirmesi; skolyoz takibi; rutin diş sağlığı muayenesi ve genel gelişim değerlendirilmesi yapılmalıdır¹¹².

Hipokalsemisi olan hastalarda karbonatlı içecekler ve alkol, hipokalsemiyi derinleştirebileceği için dikkatli tüketilmelidir. Kafeinli içecekler anksiyetelerini arttırabilir.

2.10 22q11.2 Delesyon Sendromunda Genetik Danışma

22q11.2 delesyon sendromu otozomal dominant kalıtılan bir ardışık gen delesyon sendromudur. Hastaların %93'ünde delesyon *de novo* olarak oluşurken,

%7'sinde 22q11 delesyonu olan ebeveynden aktarılır. 22q11.2 delesyonu olan birey %50 ihtimalle hastalığı çocuklarına kalıtır. Aile öyküsü olan riskli gebeliklerde ve prenatal ultrasonlarında konjenital kalp hastalığı ve yarık damak, polidaktili, diyafram hernisi, renal anomaliler ve polihidroamnios gibi ek bulgular saptanan vakalarda prenatal tanı için çalışmalar yapılabilir¹¹³.

Hasta bireyin anne ve babası FISH veya MLPA yöntemi ile değerlendirilebilir. Çünkü çok hafif etkilenmiş ya da etkilenmemiş olup somatik mozaizizm görülen ve bu şekilde tanı alan bireyler tanımlanmaktadır. Etkilenmiş bireyin kardeşindeki riski anne ve babasında delesyon olup olmaması belirler. Eğer anne veya babada 22q11.2 delesyonu gösterilmişse, kardeşlerinin 22q11.2 delesyonu olma ihtimali %50'dir. 22q11.2 delesyonu olan bireyin anne ve babasında delesyon mevcut değil ise, kardeşlerinde delesyon görülme riski düşüktür. Ancak normal popülasyona kıyasla, anne ve babada germ hücre mozaizimi veya düşük seviyede somatik mozaizimler olabileceği için biraz daha yüksektir. 22q11.2 delesyonu olan hastanın diğer aile bireylerinde hastalık görülme riskini gene anne ve babanın genetik yapısı belirler. Eğer anne veya babada delesyon mevcut ise ailesinin diğer bireyleri de risk altındadır¹¹³.

2.11 22q11.2 Delesyon Sendromunda Prenatal Tanı

22q11.2 delesyonunun başlıca prenatal sonografik bulgusu konjenital kalp hastalıklarıdır. Diğer bir bulgusu timusun görülememesidir. Özellikle konotrunkal malformasyonlarda, aile öyküsünün velokardiyofasiyel sendrom veya velofaringeal yetmezlik gibi minor bulgular açısından ayrıntılı sorgulanması ve anlamlı öykü saptanması durumunda 22q11.2 delesyonu açısından FISH analizi ile birlikte kromozom analizi yapılması planlanabilir. Prenatal sonografi bulgusu olarak renal ve serebral anomalileri olan vakalarda da 22q11.2 delesyonu rapor edilmiştir. Çok nadir olarak nöral tüp defekti olan ve yapılan prenatal incelemeler sonucunda 22q11.2 delesyonu saptanan hastalar da bilinmektedir.

Prenatal olarak 22q11.2 delesyonu tanısı konulması sonrasında multidisipliner yaklaşım gerekir. Genetik danışma sonrasında aile tarafından terminasyon kararı verilebilir. Terminasyon sonrasındaki postmortem inceleme

yapılarak prenatal USG ile saptanmış ve/veya saptanamamış olan fenotipik bulgular tam olarak belirlenir¹¹⁴.

Literatürde 22q11.2 delesyonu ile ilişkili fetal fenotip net olarak tanımlanmamıştır. Fetal fenotipin bilinmesi antenatal bakımın geliştirilmesi ve ilişkili bulguları olan bebeklerde yenidoğan taraması açısından yarar sağlayacaktır. Nöel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada prenatal 22q11.2 delesyonu gösterilmiş ve termine edilmiş olan 74 fetusun tanısal süreçleri ve patolojik incelemeleri sunulmuştur¹¹⁵. Fetusların %82.4'ünde USG ile malformasyonlar tespit edilmiş ve kırkında 22q11.2 delesyonu tanısı terminasyon öncesi konulmuştur. Özellikle 20. haftada yapılan ayrıntılı USG'de 56 fetusda KKH, 13 hastada renal agenezi ve 4 fetusta nörolojik anomaliler saptanmıştır. Sadece fetusların ikisinde timus izlenememiştir. İzlenen diğer anomaliler iki fetusta ekin deformitesi, iki fetusta yarık damak, bir omfalosel, bir kısa nazal kemik, bir imperfore anüs ve bir anormal genital gelişim olarak tanımlanmıştır. Sekiz fetus aile öyküsü yardımı ile tanı almıştır. Postmortem incelemelerde izlenen dismorfik bulgular küçük ağız, belirgin nazal köprü, retrognati, anoti veya küçük kulak gibi kulak deformiteleri, kısa ve geniş boyun, yarık damak, ekstremité defektleri, kamptodaktili, polidaktili, klinodaktili ve uzun parmaklardır. Kardiyolojik olarak konotrunkal anomaliler en sık izlenirken fetusların on dokuzunda trunkus arteriozus, on üçünde TOF, dokuzunda pulmoner atrezi ile VSD birlikteliği, yedisinde kesintili aortik ark, yedisinde aort koarktasyonu ve sadece birinde ASD saptanmıştır. Fetusların %86'sında timus defekti görülmüştür. %53'ünde timus agenezisi, %46'sında hipoplazi şeklindedir. Prenatal USG'de timus defektlerini saptamak çok zordur. Prenatal ultrasonografide timus yokluğunun izlenmesi ve eş zamanlı KKH olması 22q11.2 delesyonu açısından büyük şüphe uyandırmalıdır¹¹⁶.

2.12 22q11.2 Delesyon Sendromunda Genotip-Fenotip İlişkisinin İncelenmesi

22q11.2 bölgesindeki farklı nokta mutasyonları, dengeli translokasyon kırılma noktaları ve delesyon çakışmalarının en kısa bölgeleri, 22q11.2 delesyon sendromundaki fenotiplerden sorumlu genleri tanımlamak amacı ile incelenmiştir. 22q11.2 delesyon sendromundan sorumlu genleri belirlemek amacı ile yapılan

çalışmalarda 22.kromozom üzerindeki *TBX1* geninin kaybının, sendromun karakteristik bulguları olan kalp defektleri, yarık damak, karakteristik yüz görünümü, işitme kaybı ve düşük kalsiyum seviyelerinden sorumlu olduğu düşünölmektedir⁹¹.

Diğer bir gen *COMT* ise davranışsal problemler ve mental hastalıklar ile ilişkili bulunmuřtur¹¹⁷. Ancak literatürde bu bölgedeki delesyonlar ve duplikasyonlar ile meydana gelen genotip-fenotip ilişkisinin incelendiği çalışma sayısı azdır. Örneğin yakın zamanda Çin’de yapılan bir çalışmada, VKFS hastalarına MLPA yöntemi ile ileri moleküler incelemeler yapılmış ve sonuç olarak 3 Mb ve 1,5 Mb delesyonları olan gruplar arasında fenotipik bulgular açısından belirgin bir farklılık görölmemiştir. Bu nedenle 3 Mb kısmın içinde olan 1,5 Mb delesyon bölgesinin hastalık için kritik bölge olduğu düşünölmüştür. Bu bölgedeki birçok gen incelenmiştir ve bunlar arasında hastalıktan sorumlu olduğu düşünölen *TBX1* geninin hastaların sadece bir kısmında mutasyonu saptanmıřtır¹¹⁸.

Rauch ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada 22q11.2 bölgesindeki örtüşmeyen delesyonların fenotipleri karşılaştırılmış ve TDR (typically deleted region) bölgesinin tümünü içeren veya 1,5 Mb segmentte izlenen delesyonlarda *TBX1* eksikliğinden dolayı konotrunkal kardiyak anomaliler ve tipik VKFS izlenirken, distalde yerleşen *CRKL*’yi içeren delesyonlarda kardiyolojik tutulumun olmadığı, gelişme geriliği ve mental bozuklukların hakim olduğu daha hafif fenotipik özellikler izlenmiştir. Aynı zamanda TDR bölgesinin yanında yer alan ancak bölgeyi içermeyen distal delesyonlu hastalarda atipik kardiyak anomaliler ve 22q11.2 delesyon sendromunda sık görölmeyen koanal atrezi saptanmıřtır⁴.

Michaelovsky ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 22q11.2 delesyonu olan 142 hasta MLPA yöntemi ile incelenmiş ve bu çalışma grubunda genotip-fenotip korelasyonu saptanmamıřtır⁵. Yapılan çalışmalarda tüm klinik bulgulardan sorumlu olabilecek tek bir gen gösterilememektedir. Spesifik fenotipik özelliklerin hangi gen ile ilişkili olduğunu tanımlayabilmek için delesyon olan alanlarla ilgili detaylı moleküler incelemeler gerekmektedir.

Chung ve arkadaşları birinde TOF, psikotik ataklar ve anksiyete; diğerinde ise sadece juvenil romatoid artrit bulgusu olan 22q11.2 delesyonu saptanmış iki hastayı

tüm ekzom dizileme analizi ile incelemiřlerdir¹¹². Tüm ekzom analizinde ilk hastada 22q11.2 bölgesindeki *COMT*, *PRODH* genlerinde sık görülen varyantlar ile davranış ve nörokognitif ilişkili genlerde ise protein yapısında değişikliğe yol açan nadir değişkenler saptanmıştır. İkinci hastada ise TOF ile ilişkisi olan *ZFPM2*'de daha önce rapor edilmemiş bir tek nükleotid değişikliği izlenmiş ve bunun koruyucu bir değişiklik olabileceği dşnlmştr. Son çalışmalarda, hastaların 22q11.2 bölgesindeki delesyonlarının benzer olmasına rağmen fenotiplerinin birbirinden çok farklı olması, 22q11.2 bölgesinin diğer allelinde veya 22q11.2 bölgesinin dışında bulunan varyantların fenotip farklılıklarına yol aması hipotezi ile açıklanmaktadır.



3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Planı ve Hasta Seçimi

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı'nda 22q11.2 delesyonundan şüphelenilen ve FISH analizi yapılarak delesyonu saptanan 45 hastanın klinik özellikleri incelenmiştir. Kırk beş hastadan çalışmaya katılmayı ve DNA vermeyi kabul eden 30'una MLPA analizi yapılarak delesyon çeşitleri belirlenmiştir. Ayrıca 22q11.2 delesyonundan şüphelenilen ancak FISH analizinde delesyon saptanmayan 52 ayrı hastanın da klinik özellikleri incelenip, MLPA yöntemi ile ileri genetik inceleme yapılmıştır. Hastaların 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı değişikliğinin büyüklüğü ile klinik özellikleri arasındaki genotip-fenotip korelasyonunun araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışma 26 Kasım 2014 tarihinde Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından uygun bulunmuştur (GO 14/517). Çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinasyonu tarafından THD-2015-5310 kodlu hızlı destek projesi olarak desteklenmiştir.

3.2 Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem

Çalışmaya kabul edilen hastaların tümü kliniğimizde değerlendirilmiş olan hastalardır. Genetik inceleme yapılan hastalardan yazılı onam alınmıştır. Hastaların geçmiş tıbbi bilgileri, hastane kayıtlarından, arşiv dosyalarından ve Hacettepe Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi enformasyon sisteminden incelenmiştir.

Kaydedilmiş bilgilerden yararlanarak ve fizik muayeneleri yapılarak hastalar konjenital kalp hastalığı, karakteristik yüz görünümü, damak yarığı, timüs hipoplazisine bağlı immün yetmezlik, hipokalsemi, kognitif ve davranışsal bozukluklar açısından ayrıntılı değerlendirilmiştir. Bulböz burun, tübüler burun, mikroretrognati, heliks anomalisi, periorbital dolgunluk, dar palpebral aralıklar, fasiyel asimetri, ince uzun parmaklar gibi 22q11.2 delesyon sendromunda sık görülen dismorfik bulgulardan beş kategoriden en az ikisinde (göz, burun, çene, yüz ve el bulgusu) pozitif bulgusu olan hastalar dismorfik olarak kabul edilmiştir.

3.2.1 Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu ve DNA Kalite Analizi

Araştırmaya katılacak hastaların ailelerinden onam alınarak EDTA'lı tüplere 5-10 cc periferik venöz kan alınmıştır. DNA izolasyonu amonyum asetat tuzuyla çöktürme yöntemiyle yapılmıştır.

Genomik DNA konsantrasyonunun ve saflığının ölçümü için laboratuvarımızda bulunan NanoDrop® ND-1000 UV-Vis Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA'nın miktar ve saflığı, spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen değerlerden belirlenmektedir. DNA'nın temizliği için A260/280 ve A260/230 değerlerine bakılmaktadır. Çünkü DNA 260, protein 280 ve karbonhidratlar da 230 nm dalga boylarında zirve (en yüksek değer) yapmaktadır. Temiz bir DNA'da A260/280 oranı 1,8 ile 2,0 arasında ve A260/230 oranı ise 2'den büyük olmalıdır. Bu ölçümle 1,8'in altında elde edilen A260/280 değeri protein kontaminasyonunu, 2'nin üzerinde elde edilen A260/280 değeri de RNA kontaminasyonunu işaret etmektedir.

3.2.2 Multipleks Ligasyon-bağımlı Prob Amplifikasyonu (MLPA)

Genomik DNA kullanılarak 22q11.2 bölgesinde bir kopya sayısı değişikliği olup olmadığını test etmek amacıyla MLPA işlemi yapılmıştır.

MLPA işlemi teknik olarak aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:

1. DNA'nın denatürasyonu ve SALSA problemleri ile hibridizasyonu: Uygun konsantrasyondaki (50-100 ng/μL) DNA örneği 98°C'de denatüre edilecektir. Bundan sonra 25°C'ye soğutulularak 1,5 μL SALSA prob karışımı ve 1,5 μL MLPA tamponu ile karıştırılarak 95°C'de bir dakika boyunca birlikte denatüre edilecek ve 60°C'de 16-20 saat arası hibridizasyona bırakılacaktır.

2. Ligasyon reaksiyonu: Hibridizasyon süresinin sonunda 54°C'de 1 dk inkübasyon sonrası 54°C'deki örneklerin üzerine 32 μL Ligaz karışımı (25 μL dH₂O + 3 μL Ligaz tampon A + 3 μL Ligaz tampon B + 1 μL Ligaz-65 enzimi) eklenecektir. Onbeş dakika boyunca 54°C'de inkübe edildikten sonra 5 dk boyunca 98°C'de tutulacak, sıcaklığı 20°C'ye düşürülen örnekler PCR basamağına alınacaktır.

3. PCR: Önceki basamakta elde edilen karışımların üzerine oda sıcaklığında 10 μL polimeraz karışımı (7,5 μL dH₂O, 2 μL SALSA PCR primer karışımı ve 0,5

μ L SALSA polimeraz) eklenecek ve PCR yapılacaktır. PCR 95°C’de denatürasyon (30 sn), 60°C’de hibridizasyon (30 sn) ve 72°C’de elongasyon (60 sn) basamaklarından oluşan 35 döngü sonrasında 72°C’de 20 dk inkübasyon ve örnek sıcaklıklarının 15°C’ye düşürülmesi ile son bulacaktır.

4. Amplifikasyon ürünlerinin kapiller elektroforezle ayrılması ve miktarlarının belirlenmesi: Bu aşamada 0,7 μ L PCR ürününe 0,3 μ L ROX–500 ve 9 μ L deiyonize formamide eklenecektir. ABI-3130 dizi analizi cihazında 36 cm kapillerlerde yürütülecek ve uygun yazılım (Coffalyser.Net, MRC-Holland b.v.) kullanılarak veri analizi yapılacaktır.

MLPA işlemi, SALSA MLPA® probemix P324-A2 22q11 kiti kullanılarak (MRC-Holland, Amsterdam, Netherlands) ve firmanın önerdiği protokole uyularak yapılmıştır (MLPA® DNA Detection / Quantification Protocol (MRC-Holland b.v.)). Daha sonra örnekler ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar üretici firmanın önerisi doğrultusunda Coffalyser.Net® programı kullanılarak analiz edilmiştir.

SALSA MLPA® probemix P324-A2 22q11 kiti, uzunlukları 130-474 nt arasında değişen 45 prob içermektedir. On ikisi *TBX1* geninde olmak üzere 22q11.2 bölgesi için toplam prob sayısı otuz dördtür. Geri kalan on prob farklı kromozomal bölgelere düzenlenmiş olan referans problemleridir. Kullanılan P324-A2 MLPA kitinin özellikleri ekte sunulmuştur.

4 BULGULAR

4.1 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastaların Demografik Özellikleri

Klinik şüphe sonrası 22q11.2 delesyonu FISH analizi ile gösterilmiş olan hastalar 26 erkek, 19 kız olmak üzere toplam 45 hastadır. Hastaların tanı yaşları 4 gün ile 37 yaş arasında değişmektedir (ortalama yaş 80 ay).

Hastaların bölümümüze başvuru ve yönlendirilme nedenleri incelendiğinde en sık başvuru nedeninin KKH olduğu görülmüştür (21 hasta, %46). Yirmi bir hastadan dokuzu sadece KKH, beşi KKH ve hipokalsemi, beşi KKH ve dismorfik görünüm, ikisi KKH ve konuşma bozukluğu nedeniyle yönlendirilmiştir.

Konjenital kalp hastalıklarından sonraki ikinci en sık başvuru ve yönlendirilme nedeni hastaların dismorfik bulgularıdır (13 hasta, %28). On üç hastadan beşi KKH ve dismorfik görünüm, üçü sadece dismorfik görünüm, biri sık enfeksiyon geçirme ve dismorfik görünüm, biri dismorfik görünüm ve hipokalsemi, biri dismorfik görünüm ve öğrenme güçlüğü, biri dismorfik görünüm ve büyüme geriliği, biri dismorfik görünüm, KKH ve hipokalsemi nedeniyle başvurmuştur. Üçüncü en sık değerlendirilme nedeni hipokalsemi olarak saptanmıştır (9 hasta, %20). Hipokalsemisi olan hastalardan ikisi sadece hipokalsemi, biri sık enfeksiyon ve hipokalsemi nedeni ile danışılmıştır. Hipokalsemi nedeni ile değerlendirilen diğer altı hastanın beşinde KKH ve hipokalsemi, birinde de dismorfik görünüm ve hipokalsemi mevcuttur.

KKH, hipokalsemi veya dismorfik görünümü nedeni ile değerlendirilen hastaların dışında kalan 12 hastadan dördü velofaringeal yetmezlik, dördü konuşmada gecikme, biri öğrenme güçlüğü, biri konuşma bozukluğu ve yarık damak, biri yarık damak ve sık enfeksiyon ve bir diğeri ses kısıklığı ve mikrooftalmi şikayetleri nedeniyle yönlendirilmiştir.

Kırk beş hastanın 36'sı (%80) halen sağdır. Hayatta olan hastaların yaşları 2 ve 44 arasında değişmektedir (ortalama yaş 13,1). Eksitus olan 9 hastanın (%20) (Tablo 2.1'deki 1, 2, 4, 5, 6, 11, 13, 20, 21 numaralı hastalar) ölüm yaşları 4 gün ile 24 ay arasında değişmektedir (ortalama yaş 8,8 ay). Ölen hastaların hepsinde konjenital kalp hastalığı bulunmaktadır. Dokuz hastadan dördünde TOF (1, 4, 6, 11 numaralı hastalar) bir hastada TA (5 numaralı hasta), bir hastada kesintili aorta (13

numaralı hasta), bir hastada pulmoner atrezi (20 numaralı hasta), bir hastada VSD ve parsiyel pulmoner venöz dönüş anomali (21 numaralı hasta), bir hastada ASD ve VSD (2 numaralı hasta) saptanmıştır. Hastaların tümü konjenital kalp hastalıkları nedeni ile kaybedilmiştir. Dokuz hastadan sekizinde (%89) dismorfik bulgular (dar palpebral aralık, silindirik burun, heliks anomali, el ve ayak parmaklarında uzunluk, mikrogati) izlenmiştir. Dokuz hastanın beşinde (%55) KKH'ye ek olarak hipokalsemi (1, 2, 4, 5, 6 numaralı hastalar) ve bu dört hastanın ikisinde (%22) immün yetmezlik tanımlanmıştır; 2 numaralı hastada timus aplazisi, 1 numaralı hastada lenfopeni izlenmiştir. Sonuç olarak KKH, hipokalsemi, immün yetmezlik ve dismorfik özellikler gibi tipik DGS bulgularının tamamı eksitüs olan dokuz hastadan ikisinde (1 ve 2 numaralı hastalar) (%22) görülmüştür.

4.2 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastaların Klinik Özellikleri

22q11.2 delesyon sendromunda izlenen temel klinik özellikler konjenital kalp hastalıkları, immün yetmezlik, hipokalsemi, palatal defektler ve tipik dismorfik görünümdür. FISH analizi ile 22q11.2 delesyonu gösterilmiş olan 45 hasta ilk olarak bu beş temel özellik açısından incelenmiştir. Hastaların başlıca klinik bulgularının dökümü Tablo 4.1'de sunulmuştur.

4.2.1 22q11.2 Delesyon Sendrom Hastalarında Major Klinik Bulgular

Kırk beş hastanın 28'inde KKH saptanmıştır (%62), 17 hastada kardiyak tutulum izlenmemiştir (%38). KKH bulunan 28 hastanın onunda konotrunkal kalp anomali (%35,7), dördünde aortik ark anomali (%14,2) izlenmiştir. Konotrunkal kalp hastalığı olan hastaların dokuzunda TOF (%91) (1, 4, 6, 9, 11, 12, 14, 15, 41 numaralı hastalar) birinde (5 numaralı hasta) trunkus arteriozus (%9) tanımlanmıştır. Aortik ark anomali iki hastada (13 ve 16 numaralı hastalar) kesintili aorta (%50), diğer iki hastada (%50) sağ aortik ark (bir hastada (17 numaralı) sağ aortik ark ve ASD, diğerinde (8 numaralı) sağ aortik ark, VSD ve PFO) olarak tanımlanmıştır. Konotrunkal ve aortik ark defektleri dışında altı hastada (2, 19, 23, 24, 26, 27 numaralı hastalar) VSD ve ASD (%21), üç hastada (22, 25, 28 numaralı hastalar) VSD (%10,5), bir hastada (21 numaralı) VSD ve PFO (%3,5), bir hastada (3 numaralı) ASD ve PFO (%3,5), bir hastada (20 numaralı) VSD, PS ve PFO (%3,5),

bir hastada PFO (45 numaralı) (%3,5), bir hastada PDA (18 numaralı) (%3,5) tanımlanmıştır.

Kırk beş hastadan 13'ünde (%29) sık enfeksiyon öyküsü mevcuttur. Bu hastaların birinde (2 numaralı hasta) timus aplazisine bağlı ağır immün yetmezlik bulguları tanımlanmıştır. Hastanın kan kültürlerinde *Stenotrophomonas maltophilia*, idrar kültüründe *Klebsiella pneumoniae* üremesi izlenmiş ve nazal sürüntüsünde CMV PCR pozitif saptanmıştır. Anne ve kardeşinde hepatit B taşıyıcılığı, babasında İTP hastalığı olması ve başka vericinin bulunmaması nedeniyle kemik iliği transplantasyonu yapılamamıştır. Hastaya timus transplantasyonu yapılması planlanmış, ancak hasta bu dönemde eksitus olmuştur.

Ayrıca on hastada (1, 3, 8, 10, 12, 17, 24, 31, 33, 39 numaralı hastalar) tam kan sayımı, kantitatif immünglobulin tayini ve lenfosit alt kümeleri gibi immünolojik tetkikler sonucunda bir hastada parsiyel IgA düşüklüğü (17 numaralı), bir hastada lenfopeni (8 numaralı) ve iki hastada CD4 düşüklüğü (1 ve 3 numaralı hastalar) saptanmış ve timus aplazisi olan hasta (2 numaralı) ile birlikte toplam 5 hastada immün yetmezlik saptanmıştır (%11).

Hipokalsemi 45 hastadan onunda (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 39, 40 numaralı hastalar) görülmüştür (%22). Hastaların yedisinde (1, 2, 3, 4, 5, 6, 39 numaralı hastalar) hipokalsemi yenidoğan döneminde fark edilmiştir (%70). Bu yedi hastadan ikisinde (1 ve 3 numaralı) yenidoğan döneminde hipokalsemiye bağlı konvülsiyonlar izlenmiştir. Yenidoğan döneminde hipokalsemisi olan yedi hastadan beşi (1, 2, 4, 5, 6 numaralı hastalar) eksitus olmuştur (%71). Diğer iki hastadan biri (3 numaralı) halen dokuz yaşındadır ve kalsiyum desteği almaktadır, diğer hasta (39 numaralı) ise üç yaşından beri ilaçsız izlenmektedir. Ayrıca yenidoğan döneminde bulgusu olmayan üç hasta 11 (10 numaralı hasta), 13 (40 numaralı hasta) ve 37 (7 numaralı hasta) yaşlarında hipokalsemi tanısı almıştır. On üç yaşında tanı alan hastanın (40 numaralı hasta) nöbet şikayeti ile başvurusu esnasında hipokalsemisi tespit edilmiştir. Otuz yedi yaşında olan hasta (7 numaralı hasta) çocukluk döneminden itibaren epilepsi nedeni ile antiepileptik tedavisi almakta iken yapılan incelemelerinde hipokalsemisi saptanmış ve daha sonra kalsiyum tedavisi altında nöbetleri tekrarlamamıştır. Bu üç hastada halen kalsiyum desteği almaktadır.

Hastalar palatal bulgular açısından değerlendirildiğinde 45 hastanın on dördünde (Tablo 4.1) palatal defekt saptanmıştır (%31). Hastalarda en sık velofaringeal yetmezlik (12 hasta, %85) ve takibinde yarık damak izlenmiştir (4 hasta (10, 30, 33, 35 numaralı), %28). İki hastada (10 ve 30 numaralı) yarık damak ve velofaringeal yetmezlik birlikte tanımlanmıştır. Velofaringeal yetmezliği olan hastaların dördünde (10, 36, 37, 38 numaralı hastalar) (%33) bifid uvula izlenmiştir. Velofaringeal yetmezliği olan sekiz hastada (9, 29, 30, 32, 35, 36, 37, 38 numaralı hastalar) (%66) konuşma bozukluğu ve konuşmada gecikme şikayeti mevcuttur. Bebeklik döneminde değerlendirdiğimiz ve velofaringealtespit edilmiş olan diğer hastada (8 numaralı hasta) ana şikayet yediklerinin burnundan gelmesidir.

Hastalarda hastalığın majör bulgularının birlikteliği de incelenmiştir. Hipokalsemi, immün yetmezlik ve konotrunkal kalp hastalıkları triadı ile tanımlanmış olan DGS bulgularının tamamı bir hastada (1 numaralı hasta) izlenmiştir (Tablo 4.1). Konotrunkal kardiyak anomali olmamakla birlikte ASD ve VSD bir hastada (2 numaralı hasta) timus aplazisi, hipokalsemi ve dismorfik bulgular birlikteliğine eşlik etmektedir (Tablo 4.1). Palatal bulgular, konjenital kalp hastalığı ve dismorfik görünüm ile karakterize olan VKFS'nin bu üç kriterini ise iki hasta (9, 26) taşımaktadır. On iki hastada (13, 16, 18-25, 27, 28 numaralı hastalar) konotrunkal dışı konjenital kalp hastalığı ve dismorfik görünüm, on hastada palatal bulgular ve dismorfik görünüm (29-38 numaralı hastalar), dört hastada konotrunkal kalp hastalığı ve dismorfik görünüm (11, 12, 14, 15 numaralı hastalar), dört hastada sadece dismorfik bulgular (42, 43, 44, 45 numaralı hastalar), iki hastada (4 ve 6 numaralı hastalar) konotrunkal kalp defekti, dismorfik görünüm ve hipokalsemi, iki hastada (39 ve 40 numaralı hastalar) hipokalsemi ve dismorfik görünüm, iki hastada (2 ve 3 numaralı hastalar) konotrunkal tipte olmayan kalp hastalığı, immün yetmezlik, hipokalsemi ve dismorfizm, iki hastada konotrunkal tipte olmayan kalp hastalığı, hipokalsemi ve dismorfizm (5 ve 7 numaralı hastalar), bir hastada (10 numaralı) palatal bulgular, hipokalsemi ve dismorfik görünüm, bir hastada (41 numaralı) sadece konotrunkal kalp hastalığı, bir hastada (8 numaralı) KKH, palatal bulgular, immün yetmezlik ve dismorfizm, bir hastada (17 numaralı) KKH, dismorfik bulgular ve immün yetmezlik gibi ana bulguların olması nedeni ile klinik olarak 22q11.2 delesyonu sendromu düşünülmüştür (Tablo 4.1). Hastalarda

hipokalsemi, immün yetmezlik, KKH, palatal defektler ve dismorfik görünüm gibi ana klinik bulgulara ek olarak, en sık tanımlanmış olan klinik özellik öğrenme güçlüğüdür.

Tablo 4.1 22q11.2 Delesyon Sendromu Hastalarının Major Klinik Özelliklerine İlişkin Bilgiler.

Hasta numarası	Konjenital Kalp Hastalığı	Hipokalsemi	İmmün Yetmezlik	Palatal Bulgular	Dismorfizm	Öğrenme güçlüğü
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						
31						
32						
33						
34						
35						
36						
37						
38						
39						
40						
41						
42						
43						
44						
45						

 Konotrunkal Kalp Hastalığı; Yarık Damak

4.2.1.1 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda İzlenen Dismorfik Bulgular

22q11.2 delesyon sendromu tanısında en önemli ipucunun hastalardaki dismorfik görünüm olduğu görülmüştür. Çünkü 45 hastanın 44'ünde 22q11.2 delesyon sendromunda sık görülen dismorfik göz, burun, çene, yüz, kulak bulgularından oluşan beş kategoriden en az ikisinde pozitif bulgular saptanmıştır. Tek bir hastada (41 numaralı hasta) heliks anomalisine ek olarak yüksek alın,

metopik s    rde belirginlik, yüksek damak, hafif malar hipoplazi gibi bulguların olması nedeni ile, dismorfik görünümü 22q11.2 delesyon sendromu ile uyumlu olarak değerlendirilmemiştir. Tipik dismorfik bulguları olan hastalarımızdan örnek fotoğraflar şekil 4.1’de sunulmuştur.



şekil 4.1. 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda Yüz Görünümü. Hastalarda dar palpebral aralıklar, tübüler burun ve mikrognati izlenmektedir.

Hastalarda en sık tanımlanmış dismorfik bulgu kulak şekli bozukluklarıdır (27 hasta, %60). Tarif edilen heliks anomalileri on beş hastada kulak kepçesi   ne dönük, beş hastada kalın heliks katlantısı, üç hastada küçük kulak, üç hastada kulağın arkaya rotasyonu, iki hastada düzleşmiş heliks, iki hastada düşük yerleşimli kulak şeklindeyir. Burun özelliği olarak 22 hastada tübüler burun, dört hastada bulböz burun tanımlanmıştır (26 hasta, %57). Ayrıca, yedi hastanın burun kökü basık, dört hastanın burun kökü belirgin, dört hastanın burun kanatları hipoplazik olarak değerlendirilmiştir. Mikroretrognati 20 hastada izlenmiştir (%44). G  z yapısındaki tipik bulgular olan periorbital dolgunluk ve dar palpebral aralıklar 11 hastada tanımlanmıştır (%24). Fasiyel asimetri altı hastada (3, 12, 21, 27, 35, 44 numaralı hastalar) izlenmiştir (%13). İnce uzun parmak yapısı 15 hastada (%33) tanımlanmış olmakla birlikte en sık olarak yenidoğan döneminde tanı alan hastalarda fark edilen bir bulgu olması dikkat çekmiştir.

22q11.2 delesyonu olan hastalardaki majör dismorfik bulguların birlikteliği Tablo 4.2’de sunulmaktadır. Hastalarda en sık görülen tipik bulgular arasında sayılan göz (dar palpebral aralık ve periorbital dolgunluk), burun (tübüler veya bulböz burun), çene (mikroretrognati), yüz (fasiyel asimetri, uzun yüz) ve kulak (heliks şekil veya yerleşim anomalileri) bulgularının birlikteliği incelendiğinde, 45 hastadan 32’sinde (%71) en az iki organda dismorfik bulguizlenmiştir. Bu 32 hastada en sık

görülen dismorfik görünüm tübüler burun ve heliks deformitelerinin birlikteliğidir (16 hasta, %50). Burunda ve kulakta dismorfik bulgu birlikteliği 7 hastada (%21,9), burun, göz ve kulak ile ilgili dismorfik bulguların birlikteliği 4 hastada (%12,5), kulak, çene ve burun ile ilgili dismorfik bulgu birlikteliği 3 hastada (%9,4), göz, burun, kulak ve çene bulgularının birlikteliği ise 2 hastada (%6,25) izlenmiştir. Kırk beş hastanın geriye kalan 13'ünde (%29) göz, kulak, yüz, burun, çene ile ilgili tipik bulgular tek tek izlenmiş, ancak bunlara 22q11.2 delesyonunda daha nadir görülen diğer dismorfik bulguların eşlik ettiği görülmüştür.

Tablo 4.2. 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda İzlenen Majör Dismorfik Bulguların Dağılımı.

Hasta numarası	AURİKÜLER DEFORMİTE	DAR PALPEBRAL ARALIK- PERIORBITAL DOLGUNLUK	MİKRORETROGNATİ	TÜBÜLER VEYA BÜLBÖZ BURUN	FASİYELASİMETRİ
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					

4.2.2 22q11.2 Delesyon Sendromlu Hastalarda İzlenen Minör Klinik Bulgular

Hastalardaki en sık şikayetlerden birinin öğrenme güçlüğü olduğu görülmüştür (16 hasta (Tablo 4.1), %33). On altı hastadan on birine psikometrik değerlendirme yapılmış ve dokuz hastada (10, 12, 19, 24, 32, 35, 37, 38, 40 numaralı hastalar) hafif, iki hastada (17 ve 28 numaralı hastalar) orta dereceli zihinsel yetersizlik saptanmıştır. Öğrenme güçlüğü ile başvuran hastalarda 22q11.2 delesyonu bakılmasının ana nedeni dismorfik görünümleridir. Bir hastada (43 numaralı hasta) öğrenme güçlüğü ve dismorfik görünüm dışında sistemik tutulum görülmemiştir. Öğrenme güçlüğü olan hastalarda en sık olarak velofaringeal yetmezlik (7 hasta (10, 30, 32, 34, 36-38 numaralı hastalar); %44) ve konjenital kalp hastalıkları (5 hasta (12, 17, 19, 24, 28 numaralı hastalar); %31) izlenmiştir. Hipokalsemi ve öğrenme güçlüğü birlikteliği üç hastada (10, 39 ve 40 numaralı hastalar) tanımlanmıştır (%19).

Doktora başvuruda sık görülen bir diğer neden konuşma bozukluğu ve konuşmada gecikmedir. Konuşma bozukluğu ve konuşmada gecikme şikayeti olan 13 hastadan (9, 17, 29-33, 35-38, 41, 43 numaralı hastalar) (%29) sekizinde (9, 29, 30, 32, 35-38 numaralı hastalar) (%61,5) velofaringeal yetmezlik tespit edilmiştir. Tüm hastaların 10'unda (9, 29, 30, 31, 32, 34-38 numaralı hastalar) ise muayene esnasında nazone konuşma fark edilmiştir (%22).

Mikrosefali hastaların 14'ünde (1, 3, 5, 8, 12, 20-22, 26, 27, 29, 31, 32, 42 numaralı hastalar) görülmüştür (%31). Makrosefali (36 numaralı hasta) sadece bir hastada tanımlanmıştır ve ailesel olduğu düşünülmüştür. Birer hastada trigonosefali (18 numaralı hasta) ve dolikosefali (33 numaralı hasta) izlenmiştir. Sekiz hastada (1, 3, 7, 19, 23, 32, 40, 44 numaralı hastalar) (%17,7) nöbet öyküsü mevcuttur. Sekiz hastanın dördünde (1, 3, 7, 40 numaralı hastalar) (%50) nöbet etiyolojisinin hipokalsemi olduğu saptanmıştır.

Hastaların on üçüne (3, 17, 18-19, 22, 23, 32, 35-39, 45 numaralı hastalar) gelişme geriliği nedeni ile kraniyal MRG incelemesi yapılmıştır. Sonuç 7 hastada (19, 22, 23, 32, 37, 38 ve 45 numaralı hastalar) normal bulunmuş, ancak bir hastada trigonosefali (18 numara), bir hastada ince korpus kallozum (35 numara), bir hastada sol serebellar araknoid kist, sağ talamik milimetrik kistik lezyon, sol hipokampüste minimal hacim kaybı (45 numara), bir hastada (3 numara) ekstraserebral BOS mesafesinde genişleme, bir hastada bazal gangliyonlarda kalsifikasyon (36 numara),

bir hastada (39 numara) sağ sentrum ovalette nonspesifik hiperintens lezyonlar saptanmıştır.

Endokrinolojik sistem bulguları açısından incelendiğinde 15 hastanın (1, 8, 9, 18, 20, 22, 26, 31-33, 36-38, 42, 43 numaralı hastalar) boy ölçümü 3 persentilin altında saptanmıştır (%33). Hastalardan birinde (33 numara) büyüme hormonu eksikliği saptanmıştır ve büyüme hormonu tedavisi altında pediatrik endokrinoloji bölümü takibindedir. Üç hasta (7, 36, 44 numaralı hastalar) obez olarak saptanmıştır. İki hasta (7 ve 41 numaralı hastalar) (%4,4) hipotirodi nedeni ile ilaç tedavisi kullanmaktadır. Hipotiroidisi olan hastaların birinde (7 numara) ayrıca hipokalsemi öyküsü mevcuttur.

Kırk beş hastadan on birinde (%24,4) genitoüriner sistem anomalisi saptanmıştır. Üç hastada (36, 39, 44 numaralı hastalar) kriptorşidizm, üç hastada (14, 20, 33 numaralı hastalar) hidrosel, iki hastada (5 ve 26 numaralı hastalar) renal agenezi, iki hastada (5 ve 21 numaralı hastalar) hidroüreteronefroz, bir hastada (31 numara) hipospadias ve bir hastada (40 numara) üreteropelvik darlık görülmüştür. Dörder hastada (%8,8) görülen inguinal herni (8, 12, 18, 33 numaralı hastalar) ve umbilikal herni (2, 18, 30, 44 numaralı hastalar) en sık görülen bulgulardır.

Hastaların 15'inde (%33) ince ve uzun parmak yapısı tanımlanmıştır. Diğer iskelet sistemi bulguları açısından incelendiğinde beş hastada (2, 12, 13, 21, 23 numaralı hastalar) baş parmakların proksimalden çıkışı, dört hastada (16, 17, 25, 27 numaralı hastalar) ayak parmaklarında üst üste binme, dört hastada (16, 17, 38, 40 numaralı hastalar) klinodaktili, üç hastada (31, 36, 44 numaralı hastalar) pes planus, iki hastada (30, 33 numaralı hastalar) göğüs deformitesi, bir hastada (20 numaralı hasta) polidaktili, bir hastada (11 numaralı hasta) kamptodaktili, bir hastada (11 numaralı hasta) halluks valgus ve bir hastada skolyoz (43 numaralı hasta) izlenmiştir.

Göz muayenesinde birer hastada lökokori, mikrooftalmi ve mikrooftalmi ile lökokori birlikteliği görülmüştür. Kırk beş hastadan altısında (%13) ayrıntılı göz muayenesi sonrası iki hastada (24, 30 numaralı hastalar) strabismus, bir hastada (17 numaralı hasta) ekzotropya, bir hastada (21 numaralı hasta) korneal opasite ve iris atrofisi, bir hastada (18 numaralı hasta) prematüre retinopatisi, bir hastada (26 numaralı hasta) korneada incelme ve kriptooftalmi saptanmıştır. İşitme kaybı dört

hastada (19, 23, 37, 38 numaralı hastalar) (%8,8) izlenmiştir. Bu hastaların tümünde iletim tipi işitme kaybı saptanmıştır.

Dikkat eksikliği (19, 35, 43 numaralı hastalar) üç hastada tanımlanmıştır. Birer hasta (19 numara) depresyon ve (10 numara) anksiyete bozukluğu nedeni ile Çocuk Ruh Sağlığı bölümünce takip edilmektedir. Bipolar ve şizoaftif psikiyatrik hastalıklar hasta grubumuzda tanımlanmamıştır.

4.3 22q11.2 Delesyonu FISH ile Saptanmamış Olan Hastaların Klinik Özellikleri

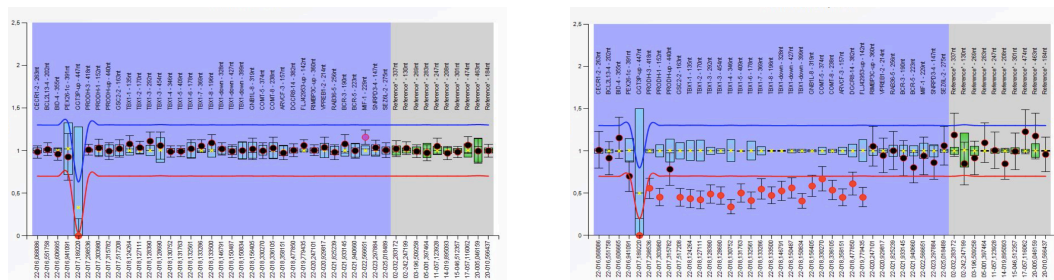
Klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmiş ancak yapılan FISH analizinde delesyon saptanmamış olan 52 hastadan 15'i KKH nedeni ile çalışmaya seçilmiştir. Bunların dokuzunda konotrunkal tipte kalp hastalığı veya aort ark anomalisi (5 hastada TOF, 3 hastada aort koarktasyonu, 1 hastada hemitrunkus) mevcuttur. Aort koarktasyonu olan hastaların birinde yarı damak ve dismorfik görünüm, bir diğerinde immün yetmezlik bulguları da eşlik etmektedir. Hemitrunkusu bulunan hastada ise ek olarak dismorfik yüz görünümü ve öğrenme güçlüğü bulunmaktadır. KKH olan diğer altı hastanın ikisinde pulmoner atrezi ve triküspit atrezisi vardır. Bu hastalarda hipokalsemi, immün yetmezlik ve dismorfik görünümde eşlik etmektedir. Hastaların birinde yarı damak bulgusu da vardır. Bir hastada pulmoner stenoza ek olarak hipokalsemi ve dismorfik görünüm mevcuttur. Diğer üç hastadan ikisinde ASD ve VSD vardır, ayrıca birine yarı damak ve dismorfik görünüm, diğerine ise kosta anomalileri eşlik etmektedir. Son hastada ise ASD ve Pierre Robin sekansı saptanmıştır.

On üç hasta 22q11.2 delesyon sendromuna uyan dismorfik görünimleri ve palatal bulguları nedeni ile çalışmaya seçilmiştir. Bu 13 hastanın 10'unda yarı damak, ikisinde yarı damak ve dudak, birinde velofaringeal yetmezlik bulunmaktadır. Bunların üçünde öğrenme güçlüğü vardır. Ayrıca 12 hasta öğrenme güçlüğü ve dismorfik görünüm, altı hasta özellikle dil alanındaki gelişme geriliği ve dismorfik görünüm, üç hasta immün yetmezlik ve dismorfik görünüm, iki hasta şizofreni, bir hasta yarı damak ile birlikte kromozom analizinde halka kromozom 22 saptanması nedeni ile MLPA yöntemiyle ileri genetik incelemeye seçilmiştir.

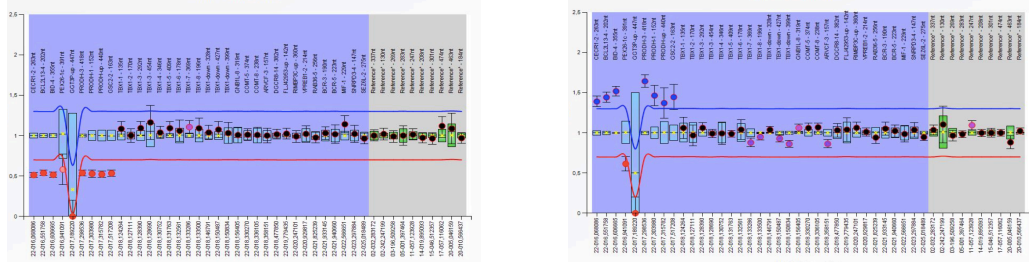
4.4 MLPA Analiz Sonuçları

4.4.1 22q11.2 delesyonu FISH ile gösterilmiş olan hastaların MLPA analiz sonuçları

22q11.2 delesyonu FISH analizi ile saptanmış 45 hastadan 30'unda MLPA yöntemi ile ileri genetik inceleme yapılarak delesyon tipleri saptanmıştır. FISH analizi ile delesyon gösterilmiş olan hastaların hepsinde MLPA yöntemi ile pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Otuz hastanın 27'sinde (Tablo 4.3) (%90) 3 Mb LCRA-C bölgesini içeren tipik delesyon saptanmıştır. Diğer üç hastadan (%10), monozigotik ikiz eşi olan 2 hastada (37, 38 numaralı hastalar) (%6,6) LCRA-B bölgesini içeren 1,5 Mb delesyon izlenmiş, bir hastada (28 numara) (%3,3) ise diğer hastalardan çok farklı olarak 22q11.2 bölgesi dışındaki *cat eye region*dan başlayan ve LCRA'ya uzanan 1449 kb delesyon görülmüştür. Bu hastanın kendisinden çok farklı klinik özellikler gösteren kardeşinde (46 numaralı hasta) ise FISH analizi ile 22q11.2 duplikasyonu saptanmıştır. Duplikasyonu bilinen bu kardeş MLPA yöntemi ile incelendiğinde, *cat eye region*dan başlayan ve LCRA'ya uzanan bu aynı bölgede duplikasyon olduğu görülmüştür. İki kardeşte gösterilen ve daha önce tanımlanmamış olan bu bölgedeki delesyon ve duplikasyon, ailenin kromozom analizi incelemesi sonrasında, karyotipi 46,XX,t(13;22)(q12.1;q12.1) olan annenin dengeli translokasyon taşıyıcısı olması ile açıklanmıştır.



Şekil 4.2. 22q11.2 Bölgesinden MLPA Analiz Örnekleri. Normal MLPA (A) ve 22q11.2 bölgesinde tipik 3 Mb (LCR A-C) delesyonunu gösteren MLPA örnekleri sunulmaktadır.



Şekil 4.3. 22q11.2 Bölgesinde MLPA Yöntemi ile Saptanan Kopya Sayısı Değişikliklerinden Örnekler. *Cat eye* regiondan başlayan ve LCR A'ya uzanan 1449kb delesyon (28 numaralı hasta) (A) ve aynı bölgede duplikasyonu izlenen kardeşinin (46 numaralı hasta) (B) MLPA örnekleri sunulmaktadır.

Tablo 4.3. 22q11.2 Bölgesinde MLPA Yöntemi ile Gösterilen Kopya Sayısı Değişiklikleri.

Hasta numarası	CAT EYE REGION				LCRA		LCR22-A														LCR22-C	LCR22-D	LCR22-E	LCR22-F	LCR22-G							
	CECR1	BCL2L13	BID-4	PEX26-1c	GGT3P	PRODH-3	PRODH-1	PRODH-up	GSC2-2	TBX1-1	TBX1-2	TBX1-3	TBX1-4	TBX1-5	TBX1-6	TBX1-7	TBX1-8	TBX1-down	TBX1-down	TBX1-down	GNB1L-8	COMT-5	COMT-8	ARVCF-3	DGCR8-14	FLJ2953-up	VPREB1-2	RAB36-5	BCR-3	BCR-5	MIF-1	SNRPD3-4
17																																
29																																
12																																
30																																
31																																
7																																
33																																
39																																
24																																
25																																
26																																
43																																
36																																
41																																
16																																
44																																
15																																
27																																
40																																
45																																
34																																
35																																
42																																
2																																
6																																
1																																
10																																
37																																
38																																
28																																
46																																
47																																
48																																
49																																
50																																
51																																
52																																
53																																
54																																

Delesyon

Duplikasyon

4.4.2. 22q11.2 delesyonu FISH ile saptanmamış olan hastaların MLPA analiz sonuçları

Klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmiş ancak yapılan FISH analizinde delesyon saptanmamış olan 52 hastaya MLPA analizi yapılmıştır. Sonuç olarak 52 hastadan birinin (49 numaralı hasta) LCRA-C bölgesinde tipik 3 Mb büyüklüğündeki delesyon için mozaik olduğu, birinde (50 numaralı hasta) *TBX1* geninde 32,1 kb duplikasyon bulunduğu, iki hastada (47, 48 numaralı hastalar) *TBX1* geninde 9,2 kb büyüklüğünde bir bölgede delesyon bulunduğu ve dört hastada (51-54 numaralı hastalar) ise LCR-A bölgesinde bulunan *PRODH* genine ait problemleri ilgilendiren 17,2 kb büyüklüğünde duplikasyon olduğu görülmüştür (Tablo 4.3). Böylece validasyon çalışmaları devam etmekle birlikte, FISH analizi normal olan toplam 8 hastada (%15,3) MLPA yöntemi ile kopya sayısı değişikliği gösterilmiştir.

MLPA sonucunda 22q11.2 bölgesindeki tipik delesyon için mozaiklik saptanan hastanın FISH analizi tekrarlanarak 100 alanda sayım yapılmış, ancak periferik kandan yapılan bu çalışmada mozaisizm gösterilememiştir. MLPA yöntemi mozaisizmi göstermede daha duyarlı olduğu için bulgunun güvenilir olduğu düşünülmüş, bu hastada bir diğer FISH probu ile inceleme yapılması ve negatif çıkması durumunda fibroblast kültüründe çalışmanın tekrarlanması planlanmıştır.

TBX1 geninde duplikasyonu saptanmış olan hastanın mikrodizin CGH yöntemiyle de duplikasyonu doğrulanmıştır. MLPA yöntemi ile *TBX1* delesyonu saptanan iki hastanın ve *PRODH* duplikasyonu görülen dört hastanın sonuçlarının qPCR yöntemi ile doğrulanması planlanmıştır.

4.5 22q11.2 Bölgesindeki Kopya Sayısı Değişikliklerinde Genotip-Fenotip İlişkisinin İncelenmesi

22q11.2 delesyonu FISH ile saptanmış olan 30 hastadan sadece üçünde diğerlerinden farklı büyüklükte bir delesyon izlenmiş olması nedeni ile genotip-fenotip ilişkisi istatistiksel olarak incelenememiştir. MLPA ile 1,5 Mb delesyon saptanan ve monozygotik ikiz eşi olan hastalarımızın 2 yaşından beri izlendikleri, tipik 22q11.2 delesyonun tipik bulgularını göstermemeleri nedeniyle farklı tanımlar aldıkları ve 16 yaşında tekrar başvurularında öğrenme güçlüğü ve velofaringeal yetmezlik nedeniyle FISH yapılarak 22q11.2 delesyon sendromu tanısı aldıkları saptanmıştır.

Cat eye region ve LCRA bölgesinin proksimalinde delesyonu saptanan hastamızda (28 numaralı hasta) ise tübüler burun, heliks anomalisi gibi tipik dismorfik bulgular, VSD ve öğrenme güçlüğü bulguları izlenmiştir. Aynı bölgede duplikasyon saptanan kardeşinde (46 numaralı hasta) ise, 22q11.2 delesyonu olan hasta grubumuzda hiç görmediğimiz ekstremité defektleri, yarı dudak ve alın bölgesinde hipertrikozis, hipertelorizm, epikantal katlantı ve preauriküler *pit* gibi farklı dismorfik bulgular izlenmiştir. Hastada hafif zihinsel yetersizlik tanımlanmıştır. Mikrodizin analizi ve MLPA yöntemi ile *TBX1* bölgesinde duplikasyonu saptanan hastada (50 numaralı hasta), 22q11.2 delesyonundan farklı olarak ağır zihinsel yetersizlik saptanmıştır. Duplikasyonları birbirinden farklı bölgelerde olan bu iki hastanın klinik özellikleri de birbirinden çok farklıdır.

5 TARTIŞMA

22q11.2 delesyon sendromu toplumda en sık görülen mikrodelesyon sendromudur. Sıklığı 4000’de bir olan sendromun birçok sistem ile ilgili 180’den fazla klinik bulgusu vardır¹¹². Bu nedenle başta çocuk doktorları olmak üzere tüm hekimler 22q11.2 delesyon sendromlu hastalar ile günlük pratikte karşılaşmaktadır.

Tüm hastalarda olduğu gibi 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda da tanının erken konulması, hastalığın takibi, prognozu ve genetik danışma açısından önemlidir. Çalışmamızda 22q11.2 delesyon sendromlu hastaların ortalama tanı yaşları 80 ay, erişkin hastalar çıkarıldığında ise 62 ay olarak saptanmıştır. Literatürde 22q11.2 delesyon sendromu vaka serilerinde ortalama tanı yaşı bizim bulgumuza benzer aralıklarda, ortalama 49-96 ay arasında bildirilmiştir¹¹⁹. Tanının daha erken konulamamasının ana nedeni tipik bulguların hepsini taşıyan hasta sayısının az olması ve hastaların çok farklı klinik bulgular ile başvurabilmeleridir. Örneğin, çalışma grubumuzda DiGeorge sendromunun temel bulguları olan konotrunkal kalp hastalığı, hipoparatiroidi ve T hücre yetmezliği sadece bir hastada birlikte izlenmiştir. Genel olarak 22q11.2 delesyon sendromunun çocuk hekimleri ve diğer hekimlerce yeterince tanınmıyor olması da bu gecikmeyi açıklayabilir. Hastaların hekime ilk başvurusu farklı gerekçelerle olabileceği için bu hastalığa tanı koymada sadece çocuk hekimlerinin değil, diğer branş hekimlerinin de bilgi ve farkındalık düzeyleri önem kazanmaktadır.

Hastaların başvuru ve genetik bölümüne danışılma nedenleri yaş gruplarına göre farklılıklar göstermektedir. Yenidoğan dönemi ile 2 yaş arasında başvuran hastalardaki temel şikayet konjenital kalp hastalığı, hipokalsemi ve dismorfik bulgular iken, 3-19 yaş arasında öğrenme güçlüğü ve gelişme geriliği ön plana çıkmaktadır. Erişkin hastalarda literatürde 22q11.2 delesyonundan en sık şüphe nedeni minör dismorfik bulgular, nazal konuşma ve hipokalsemi olarak tanımlanmıştır¹²⁰. Bizim erişkin yaş grubunda tanı alan hasta sayımız ikidir. Erişkin hastalarımızdan biri, kendi çocuğu tanı aldıktan sonra dismorfik görünümü, nazone konuşması ve hafif zihinsel yetersizlik bulguları fark edilmesi üzerine tanı almıştır. Diğer hastamızda ise hipokalsemi ve çocukluk çağındaki KKH öyküsünden şüphelenerek genetik inceleme yapılmıştır.

22q11.2 delesyon sendromundaki majör klinik bulgulardan biri konjenital kalp hastalıklarıdır. Genel olarak 22q11.2 delesyonu olan hastaların %75'inde kalp malformasyonu bulunmaktadır²². Bizim hasta grubumuzda 28 hastada (%62) KKH tanımlanmıştır. 22q11.2 delesyon sendromunda en sık olarak aortik ark anomalileri ve kardiyak çıkım anomalileri görülmekle birlikte, her türlü KKH izlenebilir. Hasta grubumuzda en sık görülen konotrunkal kalp hastalığı, diğer vaka serilerindeki gibi TOF'dur (10 hasta, %35)⁹³. Ventriküler septal defekt de, aortik ark anomalilerinden ve kardiyak çıkım anomalilerinden sonra ikinci sıklıkta bildirilen KKH'dır. Bizim hasta grubumuzda da 11 hastada (%39) bildirilmiştir. Konjenital kalp hastalıkları, 22q11.2 delesyon sendromunda ana morbidite ve mortalite nedenidir. Hastaların ilk altı ayındaki mortalite nedenleri incelendiğinde, %97'sinde mortalite nedeni olarak KKH saptanmıştır⁷. Bizim serimizde de eksitus olan dokuz hastanın hepsi KKH nedeniyle bağlı kaybedilmiştir. Hastaların ölüm yaşları ortalama 8,8 aydır.

22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda T hücre yetmezliği, timusun etkilene düzeyine göre değişmektedir. Tüm hastaların %1'inden azını oluşturan bir grupta timus hiç gelişmez ve bu nedenle ağır lenfopenik, kombine immün yetmezlik fenotipi izlenir. Hastaların çoğu fırsatçı enfeksiyonlar, ısrarcı viral solunum yolu veya bağırsak enfeksiyonları, dissemine BCG (Bacille Calmette-Guérin) ve gelişme geriliği ile başvururlar²⁴. Bizim hasta grubumuzda da sadece bir hastada (2 numaralı hasta) timus aplazisi ve buna bağlı fırsatçı enfeksiyonlar izlenmiştir.

22q11.2 delesyonu olan hastalarda üst solunum yolu enfeksiyonları sık olarak görülmektedir. Ancak enfeksiyonların sıklığı ile T hücre sayısı arasında bir ilişki saptanmamıştır. 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda sık olarak görülen palatal yetmezlik, gastroözefageal reflü, östaki tüpü disfonksiyonu gibi anatomik defektlerin sık solunum yolu enfeksiyonları ile birlikteliği gösterilmiştir²⁶. Bizim hasta grubumuzda da sık ÜSYE öyküsü olan hastaların %50'sinde palatal defekt mevcuttur. Özellikle konjenital kalp hastalıkları olan grupta bu anatomik defektlerin birlikteliği tekrarlayan aspirasyon pnömonilerine zemin oluşturmaktadır²⁸. Aspirasyon pnömonisi tanımlanan üç hastamızda KKH nedeni ile ameliyat öyküsü mevcuttur. Ayrıca, çalışma grubumuzda sık enfeksiyon öyküsü olan 13 hastanın immünolojik incelemesinde bir hastada lenfopeni ve iki hastada T hücre sayısı düşüklüğü tespit edilmiştir. Bir diğer hastada parsiyel IgA eksikliği saptanmıştır.

22q11.2 delesyonu olan bireylerin %17-60'ında paratiroid bezlerin hipoplazisine bağlı olarak genellikle yaşamın ilk iki haftasında hipokalsemi izlenmektedir³⁰. Bizim grubumuzda da benzer olarak, hastaların %20'sinde hipokalsemi saptanmış ve bu hastaların %70'i yenidoğan döneminde tanımlanmıştır. Özellikle yenidoğan döneminde hipokalseminin çok ciddi seyrettiği ve karakteristik bir bulgu olan tetani ve konvülziyonların yenidoğanda ilk başvuru nedeni olabildiği bilinmektedir. Yenidoğan döneminde hipokalsemi tanısı alan yedi hastamızdan ikisinde konvülziyon izlenmiştir. Yenidoğan döneminde tanı alan hastalarımızdan beşi eksitus olmuştur. Yenidoğan döneminde izlenen hipokalsemi kötü prognoz kriterlerindendir³⁰. Bunun nedeni, grubumuzda da gözlemlediğimiz üzere hipokalsemisi olan hastalarda sıklıkla ağır konjenital kalp hastalıkları ve immün yetmezliğin eşlik etmesidir. Bu hastalarda 3-4. faringeal arklardan gelişen tüm yapılar etkilenmekte ve DiGeorge sendromunun klinik özellikleri izlenmektedir.

Yaşla birlikte paratiroid bezlerin hipertirofisi ile hipokalsemi genellikle düzeltilmektedir. Dirençli hipokalsemi çok nadir vakada bildirilmiştir ve bu hastalarda yaşam boyu kalsiyum desteği gerekmektedir¹²¹. Yenidoğan döneminde konvülziyon ile hipokalsemi tanısı alan hastalarımızdan biri halen dokuz yaşındadır ve kalsiyum tedavisi ile izlenmektedir. Bu hastada yenidoğan döneminde hipokalsemi ve CD4 T hücre sayısında düşüklük saptanmış, ancak konotrunkal tipte olmayan kalp hastalığı izlenmiştir (ASD ve PFO). T hücre sayısı halen normal olan bu hasta parsiyel DiGeorge sendromu kliniği göstermiştir. Parsiyel DiGeorge sendromlu hastalarda anormal lokalizasyonlu veya küçük hacimli bir timus zamanla büyüyebilmektedir ve normal T hücre immünitesi kazanılmaktadır²⁹. İmmünolojik sorunun düzelmesi ve kalsiyum desteğine ihtiyacının devam etmesi, bu hastada paratiroid bezi aplazisi olduğunu düşündürmektedir.

Ancak 22q11.2 delesyonu olan bazı vakalarda latent hipoparatiroidizme bağlı geç çocukluk ve erişkinlik döneminde tekrarlayan hipokalsemi atakları tanımlanmıştır³⁰. Bizim çalışma grubumuzda yenidoğan döneminde bulgusu olmayan üç hasta 11, 13 ve 37 yaşlarında hipokalsemi tanısı almıştır. On üç yaşında tanı alan hastanın nöbet şikayeti ile başvurusu esnasında hipokalsemisi tespit edilmiştir. Çocukluk döneminden itibaren epilepsi nedeni ile antiepileptik tedavisi kullanan 37

yaşındaki erişkin hastamızda rutin doktor kontrolünde hipokalsemi saptanmış ve halen kalsiyum tedavisi alan hastanın nöbetleri tekrarlamaması üzerine antiepileptik tedavisi kesilmiştir. Literatürde erişkin yaşlarda hipokalsemik ataklar ile başvurarak 22q11.2 delesyonu tanısı alan az sayıda hasta bildirilmiştir¹²². Bizim hastamızda dahiliye doktoru, hastanın çocukluk döneminde KKH nedeni ile operasyon öyküsü ve dismorfik görünümü olması üzerine hipokalsemi bulgusunu 22q11.2 delesyonuna bağlamış ve genetik bölümüne yönlendirmiştir. Bu hasta ayrıntılı öykü ve fizik muayenenin önemini vurgulamakta ve günlük hayatta sık görülebilen genetik hastalıkların klinik özelliklerinin doktorlar tarafından bilinmesinin gerekliliğini göstermektedir. Literatürde benzer bir vaka Maalouf ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. On dört yaşına kadar hipokalsemi semptomları olmayan hastada antikonvülzan tedavi sonrasında hipokalsemi şikayeti gelişmiş ve 18 yıl boyunca antikonvülzanlara bağlı hipokalsemisi olduğu düşünülen hastada 32 yaşında 22q11 delesyonundan şüphelenilerek FISH analizi sonrası tanı konulmuştur¹²².

22q11.2 delesyon sendromunda hastaların %69'unda palatal anomaliler özellikle velofaringeal yetmezlik, submukozal veya tam damak yarığı ve bifid uvula gibi bulgular bildirilmiştir³⁶. Bizim hasta grubumuzda on hastada velofaringeal yetmezlik, dört hastada yarık damak görülmüştür. İki hastada velofaringeal yetmezlik ve yarık damak beraber izlenmiştir. Velofaringeal yetmezlik yutma ve konuşma sırasında nazofarenksin yetersiz kapanmasına, hastalarda burundan konuşmaya (hipernazal konuşma) neden olur. Hastalarımızın %22'sinin fizik muayenesinde nazone konuşma fark edilmiştir. Velofaringeal yetmezliğin bebeklerdeki bulgusu ise sıvı gıda alımı sırasında nazal regürjitasyondur. Bu şikayetle başvuran ve ek olarak sağ arkus aorta ve VSD bulunması üzerine tanı alan hastamız vardır. Velofaringeal yetmezliğe bağlı beslenme güçlüğü bulunan bu hastanın yaşamın ilk dört ayında üç kez aspirasyon pnömonisi öyküsü vardır. Dudak yarığı 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda nadir olarak bildirilmiştir³⁶. Submukozal damak yarığı ve dudak yarığı bizim hasta grubumuzda tanımlanmamıştır.

22q11.2 delesyon sendromlu hastaların karakteristik bir fasiyal fenotipleri vardır. Ancak diğer sendromlarla kıyaslandığında tipik bulgular çok dikkat çekici olmayabilir. Özellikle yenidoğan döneminde dismorfik bulgular çok sildir. Bu

nedenle, bebeklikte yarı damak ve konotrunkal kalp hastalıklarının birlikteliği özellikle kuşku uyandırıcıdır. Bizim hasta grubumuzda yarı damak olan vaka sayımız az olmakla birlikte (%6), yenidoğan döneminde hastaların en sık danışılma nedeninin konjenital kalp hastalıkları olduğu tespit edilmiştir. Hastalarda en sık görülen dismorfik bulgular uzun yüz ve tübüler olarak değerlendirilen, kökü ve ucu geniş olmadığı halde köprüsünün üzeri dolgun olan burun görünümüdür. Mikroretrognati ve gözlerde hafif hipertelorizm, dar palpebral aralıklar ve üst göz kapağının cildinin bol ve gevşek olduğu izlenimini veren bir görünüm mevcuttur. Kulakların yerleşim ve şekil anomalileri sık görülür²¹. Çalışmamızda, 45 hastanın 44'ünde 22q11.2 delesyon sendromunda sık görülen beş dismorfik bulgu kategorisinden en az ikisinde (göz, burun, çene, yüz, kulak) pozitif bulgu saptanmıştır. Tek bir hastamızda heliks anomalisine ek olarak yüksek alın, metopik sütte belirginlik, yüksek damak, hafif malar hipoplazi gibi bulguların olması nedeni ile, dismorfik görünümü 22q11.2 delesyon sendromu ile uyumlu olarak değerlendirilmemiştir. Özellikle kardinal klinik bulguları olmayan hastalarda dismorfik görünüm tanıdaki en büyük ipucudur. Bizim 22q11.2 delesyon sendromlu hasta grubumuzda özellikle öğrenme güçlüğü ve konuşmada gecikme şikayetleri ile başvuran hastalarımızda klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenmemizi sağlayan ana bulgu dismorfik bulguları olmuştur.

22q11.2 delesyon sendromunda çok farklı göz bulguları izlenebilir. Bizim 22q11.2 delesyon sendromu hastalarımızın altısında (%13) pozitif bulgu saptanmıştır. Bunlar iki hastada strabismus, bir hastada prematüre retinopatisi, bir hastada ekzotropeya, bir hastada korneal opasite ve iriste atrofi, bir hastada korneada incelme ve kriptooftalmidir. Hastalarımızın hepsinde ayrıntılı göz muayenesi yapılamamış olması nedeni ile göz bulguları diğer vaka serilerindeki kadar ayrıntılı incelenememiştir. Hastalarımızdan birinde 22q11.2 delesyon sendromunda nadir olarak rapor edilmiş mikrooftalmi, kriptooftalmik glob, stafilmom, sklerokornea tespit edilmiştir. Göz bulgularına ek olarak renal agenezi ve VSD bulunan bu hasta daha önce rapor edilmiştir¹²³. Literatürde benzer göz bulgusu olan vakalar Binenbaum ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır¹²⁴. Çalışmalarında 22q11 delesyonu olan yedi hastanın beşinde bilateral sklerokornea, birinde mikrooftalmi, birinde ağır anterior segment disgenezisi ve birinde iridokorneal adezyon tanımlayarak, 22q11.2

bölgesinin anterior segment embriyogenezinde önemli olduğunu ve sklerokornea bulgusunun 22q11 delesyon sendromunun klinik bulguları arasına alınması gerektiğini öne sürmüşlerdir.

22q11.2 delesyon sendromunda kalıcı işitme kaybı az sayıda vakada tanımlanmış olmakla birlikte işitme sorunlarının %75'i iletim tipi, %15'i sensörinöral tiptedir³⁶. Konuşma sorunlarının olduğu bu hastalıkta işitme kaybı hemen tanınip mümkün olduğunca hızla tedavi edilmesi gereken önemli bir sorundur. Çalışma grubumuzda da dört hastada iletim tipi işitme kaybı saptanmıştır. İşitme kaybı olan hastalardan üçünde hafif zihinsel yetersizlik ve dördünde konuşmada gecikme (ortalama konuşma yaşları 4,2 yıl) tanımlanmaktadır. Bu hastalarda erken dönemde işitme kayıplarının tespiti, konuşma sürecindeki bu gecikmeyi kısaltacaktır.

22q11.2 delesyon sendromundaki nörolojik sistem bulguları incelendiğinde bazı çalışmalarda etkilenmiş bireylerin %50'sinde mikrosefali saptanmıştır⁴⁵. Bizim çalışmamızda mikrosefali hastaların 14'ünde görülmüştür (%31). Ancak mikrosefali merkezi sinir sisteminin yapısal ve fonksiyonel defektlerine eşlik etmiyor ise klinik olarak önemli değildir. Hastalardaki bir diğer nörolojik sistem bulgusu nöbetlerdir. 22q11.2 delesyon sendromunda hipokalsemiye bağlı nöbetler sık olarak tanımlanmış olmakla beraber, hipokalsemi olmadan da nöbet öyküsü olan vakalar bildirilmiştir. Çalışmalardan birinde, 22q11.2 delesyonu olan 383 vakadan 27'sinde (%7) tetiklenmemiş nöbet olduğu rapor edilmiştir⁴⁶. Hasta grubumuzda yedi hastada (%15,5) nöbet öyküsü mevcuttur. Yedi hastanın beşinde (%71) nöbet etiyolojisinin hipokalsemi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak grubumuzdaki tetiklenmemiş nöbet yüzdesi %4,4 olarak saptanmış ve literatürdeki çalışmalara yakın sonuç elde edilmiştir.

22q11.2 delesyon sendromlu hastalardaki en sık şikayetlerden biri öğrenme güçlüğüdür. Hastalardaki görsel-algısal yetenekler, planlama ve dil gelişimindeki gerilik daha belirgindir. Hastalarda ortalama IQ 75'tir ve 50-100 arasında değişmektedir. Genellikle normal zekâ ile orta düzey gerilik arasında bir dağılım izlenmektedir. Hasta grubumuzda öğrenme güçlüğü şikayeti bulunan 16 hastadan (%33) on birine psikometrik değerlendirme yapılmış ve dokuz hastada hafif, iki hastada orta dereceli zihinsel yetersizlik saptanmıştır. Öğrenme güçlüğü ile başvuran

hastalarda 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmesindeki temel ipucu dismorfik görünümleridir. Bu nedenle öğrenme güçlüğü ve zihinsel yetersizlik şikayetleri ile başvuran hastaların dismorfik muayenelerinin ayrıntılı olarak yapılması çok önemlidir.

22q11.2 delesyonu olan hastalarda dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu, obsesif kompulsif bozukluk, fobiler, anksiyete, otizm ve otistik spektrum hastalıkları sık olarak görülmektedir. Aynı zamanda hastalarda şizofreni, bipolar bozukluklar ve depresyon riski artmış durumdadır^{53,54}. En belirgin risk normal popülasyona kıyasla 30 kat fazla olan şizofreni hastalığındadır⁵⁵. Hasta grubumuzda üç hastada dikkat eksikliği, bir hastada anksiyete bozukluğu ve bir hastada depresyon tanımlanmıştır. Bipolar ve şizofreni gibi psikiyatrik hastalıklar hasta grubumuzda tanımlanmamıştır. Hasta yaş grubumuzun genellikle pediatrik yaş grubu olması nedeni ile bu tip psikiyatrik hastalıklar izlenmemiş olabilir. Ancak 22q11.2 delesyonu olan hastaların psikiyatrik hastalıklar açısından yakın takibi önerilmektedir. Hastalardaki davranış değişiklikleri genellikle erken yaşlarda başlaması nedeniyle 22q11.2 delesyonu olan hastaların 10 yaşından önce psikiyatrik hastalıklar açısından taranması, erken tedavi ve yaklaşım açısından faydalı olacaktır⁵³.

Literatürde 22q11.2 delesyonu ve şizofreni birlikteliğinin incelendiği birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, Usiskin ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çocukluk çağında şizofreni tanısı alan 47 hastanın üçünde 22q11.2 delesyonu olduğu gösterilmiş ve bu hastaların üçünde de dil, motor ve sosyal gelişim bozukluğu izlenmiştir⁵⁸. Bir diğer çalışmada 100 şizofreni hastasının ikisinde 22q11.2 delesyonu saptanmıştır. 22q11.2 delesyonu FISH ile gösterilmiş olan hasta grubumuzda şizofreni rahatsızlığı mevcut olmamakla birlikte FISH analizi negatif olan iki şizofreni hastamız 22q11.2 delesyonu açısından MLPA yöntemi ile incelenmiş, ancak ikisinde de 22q11.2 bölgesinde kopya sayısı değişikliği saptanmamıştır. 22q11.2 bölgesindeki özellikle atipik delesyonların psikiyatrik hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiştir. Bu nedenle şizofreni ve diğer psikiyatrik hasta gruplarının MLPA yöntemi ile 22q11.2 bölgelerinin ayrıntılı incelendiği geniş çalışmalar literatüre büyük katkı sağlayacaktır.

22q11.2 delesyon sendromlu hastaların üçte birinde üriner sistem anomalileri izlenmektedir. En sık görülen anomaliler tek böbrek, multikistik böbrek ve çift toplayıcı sistemdir¹²⁰. Bizim çalışma grubumuzda da hastaların (%26,6) GÜS ile ilgili anomali saptanmıştır. Üç hastada kriptorşidizm, üç hastada hidrosel, iki hastada hidroüreteronefroz, iki hastada renal agenezi, bir hastada hipospadias ve bir hastada üreteropelvik darlık görülmüştür. 22q11.2 delesyon sendromu tanısı alan hastaların ayrıntılı genital muayene ve üriner ultrasonografi ile değerlendirilmesi önemlidir.

22q11.2 delesyon sendromlu hastaların iskelet anomalileri açısından ayrıntılı incelendiği çalışmalarda hastalarda en sık preaksiyel ve postaksiyel polidaktili gibi üst ekstremité anomalileri ve ekin deformitesi, üst üste binen parmaklar, 2-3. ayak parmakları arasında sindaktili gibi alt ekstremité anomalileri izlenmiştir⁴³. Bizim çalışmamızda da literatürdeki yayınlara benzer özellikte baş parmakların proksimalden çıkışı (beş hasta), ayak parmaklarında üst üste binme (dört hasta), klinodaktili (üç hasta), pes planus (üç hasta), göğüs deformitesi (iki hasta), polidaktili (bir hasta), kamptodaktili (bir hasta), halluks valgus (bir hasta) ve skolyoz (bir hasta) tanımlanmıştır.

22q11.2 delesyon sendromu hastalarında otoimmün hastalıklar sık olarak izlenmektedir. Otoimmüniteye hangi tolerans mekanizmalarındaki bozulmanın nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte timus gelişim bozukluğuna bağlı, santral veya periferik toleransın veya her ikisinin birlikte bozulması sonucu otoimmünitenin geliştiği düşünülmektedir. Hasta grubumuzda otoimmün hastalık gözlenmemiştir.

22q11.2 delesyon sendromlu hastaların %93'ünde delesyon *de novo* olarak oluşurken, %7'sinde 22q11 delesyonu olan ebeveynden otozomal dominant kalıtım ile aktarılır. 22q11.2 delesyonunun dominant kalıtımı ve farklı fenotipik özelliklerinin görüldüğü ilk aile 1991'de Wilson tarafından yayınlanmıştır. Bu ailede annede sadece minör dismorfik bulgular görülürken, üç çocuğun birinde aort koarktasyonu, birinde VSD ve bir diğerinde de DiGeorge sendromu fasiyal bulguları izlenmiştir⁸. Çalışma grubumuzda 22q11.2 delesyonu saptanan hastalardan sadece birinde (%2,2) hastalık babadan kalıtılmıştır. Gebeliğin 32. haftasında prematür doğum öyküsü olan bu hastada, yutma disfonksiyonu ve buna bağlı aspirasyon pnömonisi ve dismorfik görünüm olması nedeni ile yapılan FISH analizi sonucu 22q11.2 delesyonu tanısı konmuştur. Sonuç verilirken görülen babasının dismorfik

görünümü fark edilerek genetik inceleme yapılmış ve babada da 22q11.2 delesyonu gösterilmiştir. Hastamız halen gelişme geriliği bulguları ile takip edilmektedir. Oysaki babası 34 yaşına kadar herhangi bir sağlık sorunu yaşamamıştır. Ailenin ayrıca 28 haftalık nedeni bilinmeyen intrauterin eksitus olan bebek öyküsü mevcuttur. Ancak bu bebeğe herhangi bir genetik inceleme yapılmamıştır. Bu ailede, literatürdeki diğer vaka raporlarında tanımlandığı gibi 22q11.2 delesyonunda aynı aile içinde dahi farklı fenotipik özelliklerin izlenebildiğini kanıtlamaktadır. Otozomal dominant kalıtım ile ebeveynlerden aktarılan 22q11.2 delesyonlu vaka sayımızın düşük olması, ebeveynlerin klinik bulgularının ve dismorfik görünümünün 22q11.2 delesyon sendromu açısından ayrıntılı incelenmemiş olmasına bağlı olabilir. Çalışma sürecinde görüştüğümüz ailelerden birinde anneye dismorfik görünümü, birinde babaya fasiyel asimetrisi nedeni ile FISH analizi yapılmış ancak delesyon saptanmamıştır.

22q11.2 delesyonunun majör prenatal sonografik bulgusu konjenital kalp hastalıklarıdır. Diğer bir bulgusu timusun görülememesidir¹¹⁵. Özellikle konotrunkal malformasyonlarda, aile öyküsünün velokardiyofasiyel sendrom veya velofaringeal yetmezlik gibi minor bulgular açısından ayrıntılı sorgulanması ve anlamlı öykü saptanması durumunda 22q11.2 delesyonu açısından FISH analizi ile birlikte kromozom analizi yapılması planlanabilir. Hasta grubumuzda prenatal sonografik bulgulardan şüphelenilerek 22q11.2 delesyonu açısından genetik tetkik yapılan hasta bulunmamaktadır.

Çalışmamızda 22q11.2 delesyonu FISH analizi ile gösterilmiş olan 30 hasta ve klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmiş ancak FISH analizi negatif olan 52 hasta olmak üzere toplam 82 hastada 22q11.2 bölgesi MLPA yöntemi ile incelenmiştir. Genetik inceleme için MLPA yöntemini seçmemizin nedeni son yıllarda yapılan birçok çalışmada MLPA'nın 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı tekrar değişikliklerini saptamada oldukça duyarlı ve güvenilir bir yöntem olduğunun gösterilmesidir³. Karyotip ve FISH analizi normal olan ancak fenotipik olarak şüphe uyandıran hastalarda sık görülmeyen delesyonlar MLPA ile tespit edilmiştir¹⁰³. Ayrıca FISH yönteminde delesyonların büyüklüğü saptanamazken bu yöntem ile belirlenebilmektedir.

Çalışmamızda ilk olarak 22q11.2 delesyonu FISH analizi ile saptanmış 45 hastadan 30'unda MLPA yöntemi ile ileri genetik inceleme yapılarak delesyon tipleri saptanmıştır. FISH analizi ile delesyon gösterilmiş olan hastaların hepsinde MLPA yöntemi ile pozitif sonuçlar elde edilmiştir. 30 hastanın 27'sinde (%90) 3 Mb LCR A-C bölgesini içeren tipik delesyon saptanmıştır. Monozigotik ikiz eşleri olan iki hastada (%6,6) LCR A-B bölgesini içeren 1,5 Mb delesyon izlenmiştir. Çalışmamızdaki bu yüzdeler 22q11.2 delesyon tiplerinin incelendiği birçok çalışma ile uyumludur¹¹⁸. 22q11.2 delesyon sendromundaki genotip-fenotip ilişkisinin incelendiği çalışmalarda 3 Mb ve 1,5 Mb delesyonları olan gruplar arasında fenotipik bulgular açısından belirgin bir farklılık görülmemiştir. Bu nedenle 3 Mb kısmın içinde olan 1,5 Mb delesyon bölgesinin hastalık için kritik bölge olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda 22q11.2 delesyonu FISH ile saptanmış olan 30 hastada inceleme yapabilmesi ve bu hastaların sadece üçünde farklı delesyon izlenmiş olması nedeni ile genotip-fenotip ilişkisi istatistiksel olarak incelenememiştir. Ancak 1,5 Mb delesyon saptanan monozigotik ikiz eşi olan hastalarımızın 2 yaşından beri takip edilmesine rağmen 22q11.2 delesyonun tipik bulgularını göstermemeleri nedeni ile farklı tanımlar ile izlenmiş olmaları ve 16 yaşında tekrar başvurularında öğrenme güçlüğü ve velofaringeal yetmezlik bulgularından şüphelenilerek yapılan FISH analizi ile tanı almaları dikkat çekicidir. 22q11.2 delesyon sendromunda genotip-fenotip ilişkisinin incelenebilmesi çok daha geniş çaplı vaka serilerinde değerlendirme gerekmektedir.

1,5 Mb delesyon gösterdiğimiz monozigotik ikiz eşlerinde öğrenme güçlüğü, dismorfik görünüm ve velofaringeal yetmezlikten oluşan klinik bulgular birbiriyle tamamen aynıdır. Literatürde monozigotik ikiz eşleri olmasına rağmen farklı fenotipik özellikler gösteren vakalar tanımlanmıştır. Örneğin, Goodship bir vaka raporunda monozigotik ikiz olan kardeşlerde 22q11 delesyonu saptamış, ancak iki kardeşten birinde TOF varken diğerinin kardiyak malformasyonu bulunmaması ve biri 12 aylıkken yürümeye başlamasına rağmen diğerinin 24. ayda sıralamaya başlaması nedeniyle farklı fenotipik özellikler tanımlamıştır¹⁹. Bu bulgular ışığında delesyon boyutu ile modifiye eden gen lokuslarının tüm fenotipik farklılıklardan sorumlu

olmadığını öne sürmüştür. Ayrıca son çalışmalarda 22q11.2 delesyon sendromlu hastalarda bizim çalışma grubumuzda da saptadığımız gibi 22q11.2 bölgesindeki delesyonların benzer olmasına rağmen fenotiplerin birbirinden çok farklı olması, 22q11.2 bölgesinin diğer allelinde veya 22q11.2 bölgesinin dışında bulunan variantların fenotip farklılıklarına yol açması hipotezi ile açıklanmaktadır¹²⁵.

22q11.2 delesyonu FISH ile gösterilmiş olan hasta grubumuzda sadece bir hastamızda (%3,3) diğer hastalardan farklı olarak 22q11.2 bölgesi dışındaki *cat eye region*dan başlayan ve LCR A'ya uzanan delesyon görülmüştür. Bu hastanın kardeşinde FISH analizi ile 22q11.2 duplikasyonu saptanmıştır. MLPA yöntemi ile de *cat eye region*dan başlayan ve LCRA'ya uzanan aynı bölgede duplikasyon doğrulanmıştır. İki kardeşin bu bölgedeki daha önce tanımlanmamış olan kopya sayısı değişiklikleri, karyotipi 46,XX,t(13;22)(q12.1;q12.1) olan annenin dengeli translokasyon taşıyıcısı olması ile açıklanmıştır. Aynı bölgede delesyonu ve duplikasyonu izlenen bu iki hastanın kopya sayısı değişikliğinin büyüklüğü, MLPA kitimizde *cat eye region* öncesi için problemler bulunmaması nedeni ile tam olarak bilinmemektedir. Ayrıca hastalardaki 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı değişiklikleri annenin dengeli translokasyon taşıyıcılığına bağlı olduğu için, bu hastaların 13. kromozomunda da kopya sayısı değişikliklerinin olması mümkündür. Bu nedenle bu hastaların hem 22. kromozomdaki hem de 13. kromozomdaki kopya sayısı değişikliklerinin belirlenmesi için mikrodizsin CGH yöntemi ile değerlendirilmesi planlanmaktadır.

Atipik delesyon ve duplikasyon saptanan iki kardeşin fenotipi birbirinden çok farklıdır. Delesyon olan hastamızda tübüler burun, heliks anomalisi gibi 22q11.2 delesyonlarında izlenen tipik dismorfik bulgular ile VSD ve öğrenme güçlüğü mevcut iken, aynı bölgede duplikasyonu saptanan kardeşinde 22q11.2 delesyonu olan hasta grubumuzda hiç görmediğimiz ekstremité defektleri, yarık dudak ve alın bölgesinde hipertrikozis, hipertelorizm, epikantal katlantı ve preauriküler *pit* gibi 22q11.2 delesyonunda gözlemlediğimizden farklı dismorfik bulgular izlenmiştir. Ancak bu iki hastanın da fenotipik özelliklerini 13. kromozomlarındaki kopya sayısı değişikliği ve 22. kromozomlarındaki kopya sayısı değişikliği büyüklüğünü tam olarak bilmediğimiz için 22q11.2 delesyonu ve duplikasyonu ile açıklamak mümkün değildir. 13. kromozomlarındaki kopya sayısı değişikliklerinin bu fenotipik farklılara

yol açma ihtimali yüksektir. Delesyon ve duplikasyon alanı *TBX1* genini içermeyen iki kardeşle de konotrunkal kalp anomalileri, hipokalsemi ve immün yetmezlik gibi DGS triadı izlenmemiştir.

Literatürde 22q11.2 bölgesinde tanımlanan atipik delesyonlar genelde distalde lokalizedir. Bu atipik *CRKL* genini içeren delesyonlarda daha hafif, kardiyolojik tutulumun olmadığı, gelişme geriliği ve mental bozuklukların hakim olduğu fenotipik özellikler tanımlanmaktadır⁹⁰. Ayrıca atipik distal delesyonlu hastalarda, atipik kardiyolojik anomaliler ve 22q11.2 delesyon sendromunda sık görülmeyen koanal atrezi sık olarak bildirilmiştir⁴. Çalışma grubumuzda distal bölgeye lokalize atipik delesyonlar izlenmemiştir.

Çalışmamızda FISH analizi negatif olan sekiz hastada (%15,3) MLPA yöntemi ile 22q11.2 bölgesinde kopya sayısı tekrar değişiklikleri saptamamız, MLPA yönteminin FISH'e kıyasla daha duyarlı olduğunu gösteren diğer çalışmaları destekler niteliktedir. Sonuç olarak 52 hastadan, bir hastada LCR A-C bölgesindeki tipik 3Mb delesyon için mozaizizm, bir hastada *TBX1* geninde duplikasyon, iki hastada *TBX1* geninde delesyon ve dört hastada LCR A bölgesinde bulunan *PRODH* bölgesinde duplikasyon saptanmıştır.

TBX1 bölgesinde duplikasyonu olan hastada MLPA ile 32.1 kb büyüklüğünde *TBX1* ve *GNIL8* genlerini içeren duplikasyon gösterilmiştir. Bu hastanın mikrodizin CGH analizi ile 22q11.21 bölgesinde *TBX1* genini içeren bölümde 368 kb büyüklüğünde duplikasyonu doğrulanmıştır. Bu kopya sayısı değişikliği genetik veri tabanlarında sağlıklı bireylerde tanımlanmamıştır. Literatürde bir ailenin üç bireyinde hastamız ile aynı bölgede 437 kb duplikasyon tanımlanmıştır¹²⁶. Bu hastaların kliniği mikrosefali, global gelişme geriliği bulguları ile hastamızın kliniğine benzerdir. Hastamızın 18 yaşında eksitus olan ablasında da mikrosefali ve zihinsel yetersizlik öyküsü mevcuttur. Aile kızlarının Rett sendromu tanısı ile takip edildiğini ancak genetik tetkik yapılmadığını bildirmektedir. Eksitus olan bu kardeşle de benzer genetik değişikliğin olmuş olması olasılığı yüksektir. Ancak DNA ayrılmamış olması nedeni ile genetik çalışma yapılamamaktadır. Anne ve babada ileri genetik inceleme yapılması ve buna göre genetik danışma verilmesi planlanmıştır. Mikrodizin CGH ve MLPA yöntemi ile *TBX1* bölgesinde duplikasyonu saptanan bu hastada 22q11.2

delesyon hastalarımızda çok sık görmediğimiz ağır zihinsel yetersizlik mevcuttur. Hastada ek bir kardiyak anomali ve diğer sistem tutulumları izlenmemiştir.

22q11.2 bölgesindeki 3 Mb tipik delesyon için MLPA sonucunda mozaiklik saptanan hastanın FISH analizi tekrarlanarak 100 alanda sayım yapılmış, ancak periferik kandan yapılan bu çalışmada mozaizim gösterilememiştir. MLPA yöntemi mozaizmi göstermede daha duyarlı olduğu için bu hastada bir diğer FISH probu ile inceleme yapılması ve negatif çıkması durumunda fibroblast kültüründe çalışmanın tekrarlanması planlanmıştır. Literatürde 22q11.2 delesyon mozaizimin bildirildiği vaka sayısı çok azdır. Bu vakalarda da bizim hastamızdaki gibi 22q11.2 delesyonundan şüphelendirecek immün yetmezlik, konotrunkal kalp hastalıkları veya hipokalsemi bulgularından en az biri mevcuttur¹²⁷. Mozaik olarak saptanan hastamızda konotrunkal kalp anomalileri ve hipokalsemi öyküsü olmamasına rağmen, T hücre immün yetmezliği ve dismorfik görünümü olması nedeni ile klinik olarak kuvvetle 22q11.2 delesyon sendromundan şüphelenilmiştir.

MLPA yöntemi ile *TBX1* delesyonu saptanan iki hasta ve *PRODH* duplikasyonu gösterilen dört hastanın sonuçlarının qPCR yöntemi ile doğrulanması planlanmıştır. Validasyon çalışmaları devam eden *TBX1* bölgesinde delesyonu saptanan hastalardan birinde konjenital kalp hastalığı (pulmoner atrezi), immün yetmezlik, hipokalsemi ve yarı damak gibi 22q11.2 delesyon sendromundaki ana bulgulardan hepsi izlenmektedir. *TBX1*'de delesyonu olan diğer hasta ise dismorfik görünümü ve immün yetmezliği olması nedeni ile MLPA yöntemi ile tekrar incelenmeye seçilmiştir. 22q11.2 delesyon sendromundan sorumlu genleri belirlemek amacı ile yapılan çalışmalarda 22.kromozom üzerindeki *TBX1* geninin kaybının, sendromun karakteristik bulguları olan kalp defektleri, yarı damak, karakteristik yüz görünümü, işitme kaybı ve düşük kalsiyum seviyelerinden sorumlu olduğu gösterilmiştir⁹¹. Bu nedenle hastalarımızdaki *TBX1* delesyonları bir diğer yöntemle doğrulanması halinde hastaların klinik bulgularını açıklayacak patojenik değişiklikler olarak kabul edilecektir.

LCR-A bölgesinde yer alan *PRODH* genindeki duplikasyonu olan dört hastadan üçünde yarı damak, gelişme geriliği ve sırasıyla PFO, PDA, ASD gibi minör KKH gibi ortak bulgular izlenmiştir. *PRODH* duplikasyonu izlenen diğer hastada aort koarktasyonu ve immün yetmezlik tanımlanmıştır. Literatürde *PRODH*

genini içeren daha büyük kopya sayısı değişikliklerinin şizofreni gibi psikiyatrik hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiştir¹²⁸. *PRODH* geninde, bunun dışında hastalarımızdaki klinik bulguları açıklayacak patojenik değişiklik şimdiye kadar rapor edilmemiştir. Genetik veri tabanlarında sağlıklı bireylerde *PRODH* gen bölgesini kapsayan daha büyük alanlarda duplikasyonların tanımlanmış olması hastalarımızdaki bulgunun sık görülen bir varyant olabileceğini düşündürmektedir. Ancak seksen iki hastadan dördünde bu değişikliğin saptanmış olması nedeni ile MLPA kiti ile ilgili bir sorun olma ihtimaline karşın qPCR ile validasyon çalışması planlanmıştır.

22q11.2 delesyonu ile ilişkili olan bulguların hepsi normal bireylerde izole anomaliler olarak izlenebilir. Submukozal yarıkları da içeren izole yarık damak vakalarının %11'inde 22q11.2 delesyonu saptanmıştır¹⁰⁴. Bu nedenle yarık damağın en sık sendromik nedeni 22q11.2 delesyonudur. Bu nedenle çalışmamızda FISH analizi negatif olan ancak palatal defekt bulgusu ve dismorfik görünümü olan on üç hasta MLPA yöntemi ile incelenmiştir. Bu hastalardan üçünde *PRODH* gen bölgesinde duplikasyon saptanmıştır. Hastaların hiçbirinde delesyon izlenmemiştir.

Çalışmamızdaki başlıca kısıtlılık, tıbbi arşivleme ve belgeleme sistemlerimizdeki yetersizlikler nedeniyle, hastalara ilişkin retrospektif özellikteki verilere tam olarak ulaşamamızdır. Eksitus olan ve genetik incelemeye katılmak istemeyen vakalarımızın klinik bulgular açısından detaylı incelemesi yapılamamıştır. Bunun dışında hasta sayımızın 22q11.2 delesyon sendromu ile ilgili genotip-fenotip ilişkisinin istatistiksel anlamlılığını değerlendirmek için yetersiz olması da çalışmamızın önemli bir kısıtlılığı olmuştur.

Çalışmamızdaki en önemli sonuçları, 22q11.2 delesyonu sendromu tanısı alan hastaların fenotipik bulgularının geniş bir yelpazede dağıldığının görülmesi ve tipik bulgulara sahip olsalar bile oldukça az sayıda hastanın sendromun tüm bulgularını bir arada bulundurmasıdır. Bu nedenle oldukça sık görülen bu hastalığın tanınması için klinisyenlerin şüphe katsayılarını yüksek tutmaları gerektiği görülmüştür. Daha önce literatürde 22q11.2 bölgesinde tanımlanmamış olan delesyon ve duplikasyon vakaları ve iki kardeşle resiprokal kopya sayısı değişikliğine yol açan maternal dengeli translokasyon çalışmamızın ilginç sonuçları arasındadır. Ayrıca klinik olarak 22q11.2 delesyon sendromundan şüphelenilen ancak FISH analizi negatif olan 52

hastada MLPA yöntemi ile 22q11.2 bölgesinde farklı kopya sayısı değişikliklerinin saptanması (8 hasta, %15), MLPA'nın FISH analizine kıyasla daha duyarlı bir yöntem olduğunu göstermiştir. FISH analizi negatif olan ancak MLPA ile pozitif bulgular saptanan bu hastalara tanı, prognoz ve etkin genetik danışma açısından büyük yarar sağlanacaktır.

22q11.2 delesyon sendromunun, erken dönemde tanınması hastaların takibi, tedavisi ve ailelere doğru genetik danışma verilmesi açısından önemlidir. 22q11.2 delesyon sendromunun tanısında rutin olarak kullanılan FISH analizine ek olarak klinik olarak kuvvetli şüphe uyandıran hastalarda MLPA yöntemi ile değerlendirilme yapılması, hastalara tanı açısından büyük yarar sağlayacak ve hastaları, ailelerini ve hekimleri birçok gereksiz ileri tetkik ve değerlendirmeden kurtaracaktır. Toplumda sık olarak izlenen 22q11.2 delesyon sendromu ile ilgili hekimlerin farkındalık düzeyi arttıkça hastanemize klinik ve moleküler tanı amacıyla sevk edilen hasta sayısı artacak, böylelikle hastalığın klinik seyrini ve genotip-fenotip ilişkisini incelemek ve daha ileri çalışmalar yapmak mümkün olacaktır.

Sonuç olarak 22q11.2 delesyon sendromlu hastaların genotip ve fenotip olarak incelendiği çalışmamızda hastaların büyük çoğunluğunda benzer delesyonlar saptanmasına rağmen klinik özelliklerinin birbirinden çok farklı olduğu görülmüştür. Toplumda sık görülen 22q11.2 mikrodelesyonunun klinik özelliklerinin tüm branş hekimleri tarafından bilinmesi, hastalara tanı, izlem ve genetik danışma açısından büyük yarar sağlayacaktır. Bu çalışmada klinik olarak birbirinden farklı özellikler taşıyan 22q11.2 delesyon sendromu hastalarının dökümü, özellikle peditristlerin bu sendrom ile ilgili farkındalığının artması gerektiğini göstermiştir. Hastaların çoğunun sadece KKH, hipokalsemi, immün yetmezlik bulguları ile başvurmadığı; ayrıntılı dismorfik muayene ve hastalığa eşlik edebilecek tüm sistem tutulumları açısından ayrıntılı incelemelerinin yapılması gerektiği anlaşılmıştır.

6 SONUÇLAR

Çalışmamızda şu sonuçlara ulaşılmıştır:

- 1 Klinik şüphe sonrası FISH analizi ile 22q11.2 delesyonu sendromu tanısı alan 45 hastamızın (26 erkek, 19 kız) tanı yaşları 4 gün ile 37 yaş arasında değişmektedir (ortalama yaş 80 ay).
- 2 22q11.2 delesyon sendromu saptanan hastaların bölümümüze ek sık başvuru ve yönlendirilme nedenleri konjenital kalp hastalıkları (%46), dismorfik görünüm (%28) ve hipokalsemi (%20) olarak saptanmıştır.
- 3 22q11.2 delesyonu olan kırk beş hastanın dokuzu (%20) eksitus olmuştur. Ölüm yaşları dört gün ile 24 ay arasında değişmekte olan (ortalama yaş 8.8 ay) hastaların hepsinde ana mortalite nedeni konjenital kalp hastalıklarıdır.
- 4 22q11.2 delesyonu olan kırk beş hastanın 28'inde (%62) konjenital kalp hastalığı saptanmıştır. KKH olan hastaların onunda konotrunkal kalp anomalisi (%35.7), dördünde aortik ark anomalisi (%14) izlenmiştir. Literatürdeki vaka serileri ile uyumlu olarak hastalarda en sık görülen konotrunkal kalp hastalığı TOF (9 hasta hasta), konotrunkal olmayan kalp hastalığı ventriküler septal defektir (11 hasta).
- 5 22q11.2 delesyonu olan kırk beş hastanın on üçünde (%28) sık enfeksiyon öyküsü mevcuttur. Bir hastada timus aplazisi, bir hastada lenfopeni, iki hastada CD4 T hücre sayısında düşüklük ve bir hastada parsiyel IgA eksikliği olmak üzere toplam 5 hastada immün yetmezlik saptanmıştır.
- 6 22q11.2 delesyonu olan kırk beş hastanın onunda (%22) hipokalsemi saptanmıştır. Hastaların yedisinde hipokalsemi yenidoğan döneminde fark edilmiştir (%70). Hipokalsemi şikayeti tanımlanan sağ beş hastadan dördü günlük kalsiyum desteği almaktadır.
- 7 22q11.2 delesyonu olan kırk beş hastanın on dördünde (%31) palatal defekt görülmüştür. Hastalarda en sık velofaringeal yetmezlik (12 hasta, %85) ve takibinde yarı damak izlenmiştir (4 hasta, %28). İki hastada yarı damak ve VFY birlikte tanımlanmıştır.
- 8 22q11.2 delesyonu sendromu olan hastalarda en sık görülen göz (dar palpebral aralık, periorbital dolgunluk), burun (tübüler veya bülböz burun), çene (mikroretrognati), yüz (fasiyel asimetri, uzun yüz), kulak (heliks şekil ve yerleşim anomalileri) bulguları beraber incelendiğinde, 45 hastanın 32'sinde (%71) en az iki alanda dismorfik görünüm izlenmiştir.

- 9 22q11.2 delesyonu saptanan hasta grubumuzdaki en sık şikayetlerden biri öğrenme güçlüğüdür (16 hasta, %33). On altı hastadan on birine psikometrik değerlendirme yapılmış, dokuz hasta hafif MR, iki hasta orta MR olarak değerlendirilmiştir.
- 10 22q11.2 delesyonu FISH analizi ile saptanmış olan 45 hastadan 30'unda MLPA yöntemi ile ileri genetik inceleme yapılmıştır. 30 hastanın 27'sinde (%90) 3 Mb LCR A-C bölgesini içeren tipik delesyon, monozigotik ikiz eşleri olan 2 hastada (%6.6) LCR A-B bölgesini içeren 1.5 Mb delesyon ve bir hastada (%3.3) 22q11.2 bölgesi dışındaki *cat eye region*dan başlayan ve LCR-A'ya uzanan 1449kb büyüklüğünde atipik delesyon saptanmıştır.
- 11 Atipik delesyon izlenen hastanın kardeşinde MLPA incelemesi sonucunda, *cat eye region*dan başlayan ve LCR-A'ya uzanan aynı bölgede duplikasyon saptanmıştır. İki kardeşin daha önce tanımlanmamış olan bu bölgedeki delesyon ve duplikasyonları, ailenin kromozom analizi incelemesi sonucunda karyotipi 46,XX,t(13;22)(q12.1;q12.1) olan annenin dengeli translokasyon taşıyıcısı olması ile açıklanmıştır.
- 12 Klinik olarak 22q11.2 delesyonundan şüphelenilmiş ancak yapılan FISH analizinde delesyon saptanmamış olan 52 hastaya yapılan MLPA analizinde: bir hastada LCR A-C bölgesindeki tipik 3 Mb delesyon için mozaikizm, bir hastada TBX1 geninde 32.1 kb duplikasyon, iki hastada TBX1 geninde 9.2 kb bir bölgede delesyon ve dört hastada LCR-A bölgesinde bulunan PRODH bölgesinde 17.2 kb duplikasyon saptanmıştır. Validasyon çalışması devam etmekle birlikte, FISH analizi normal olan toplam 8 hastada (%15.3) MLPA yöntemi ile genetik bozukluk gösterilmiştir.
- 13 MLPA yöntemi ile FISH analizi negatif olan (8 hasta, %15) hastalarda 22q11.2 bölgesinde farklı kopya sayısı değişikliklerinin saptanması, MLPA'nın FISH analizine kıyasla daha duyarlı bir yöntem olduğunu göstermiştir.
- 14 22q11.2 delesyonu FISH ile saptanmış olan 30 hastanın sadece üçünde farklı delesyon izlenmiş olması nedeni ile 22q11.2 delesyon sendromunda genotip-fenotip ilişkisi istatistiksel olarak incelenememiştir.

- 15 Çalışmamızda atipik delesyon ve duplikasyon saptanan hastalarımızın klinik bulguları birbirinden çok farklı olmakla birlikte, hasta sayımızın az olması nedeniyle 22q11.2 bölgesindeki kopya sayısı değişikliklerinde genotip-fenotip ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.
- 16 22q11.2 delesyonu olan hastaların büyük çoğunluğunda benzer delesyonlar saptanmasına rağmen klinik özelliklerinin birbirinden çok farklı olduğu görülmüştür.
- 17 Klinik olarak birbirinden farklı özellikler taşıyan 22q11.2 delesyon sendromu hastalarının dökümü, özellikle pediatristlerin bu sendrom ile ilgili farkındalığının artması gerektiğini göstermiştir.
- 18 22q11.2 delesyonu olan hastaların çoğunun sadece KKH, hipokalsemi, immün yetmezlik bulguları ile başvurmadığı, ayrıntılı dismorfik muayene ve hastalığa eşlik edebilecek tüm sistem tutulumları açısından ayrıntılı incelemelerinin yapılması gerektiği anlaşılmıştır.

7 KAYNAKLAR

1. Scambler, P. J. The 22q11 deletion syndromes. *Hum. Mol. Genet.***9**, 2421–2426 (2000).
2. Hacıhamdioğlu, B., Hacıhamdioğlu, D. & Delil, K. 22q11 deletion syndrome: current perspective. *Appl. Clin. Genet.***8**, 123–132 (2015).
3. Cho, E. H., Park, B. Y. N., Cho, J. H. & Kang, Y. S. Comparing two diagnostic laboratory tests for several microdeletions causing mental retardation syndromes: multiplex ligation-dependent amplification vs fluorescent in situ hybridization. *Korean J. Lab. Med.***29**, 71–76 (2009).
4. Rauch, A. *et al.* Systematic assessment of atypical deletions reveals genotype–phenotype correlation in 22q11.2. *J. Med. Genet.***42**, 871–876 (2005).
5. Michaelovsky, E. *et al.* Genotype-phenotype correlation in 22q11.2 deletion syndrome. *BMC Med. Genet.***13**, 122 (2012).
6. DiGeorge, A. M. in *Bergsma D, ed. Birth defects original article series* **Vol.4**, (1968).
7. Takao, A. in *Etiology and Morphogenesis of Congenital Heart Disease* 253–269 (Mount Kisco, N. Y.: Futura Publishing Company, 1980).
8. Wilson, D. I. *et al.* DiGeorge syndrome with isolated aortic coarctation and isolated ventricular septal defect in three sibs with a 22q11 deletion of maternal origin. *Br. Heart J.***66**, 308–312 (1991).
9. Shprintzen, R. J. Velocardiofacial syndrome and DiGeorge sequence. *J. Med. Genet.***31**, 423–424 (1994).
10. Driscoll, D. A. *et al.* Prevalence of 22q11 microdeletions in DiGeorge and velocardiofacial syndromes: implications for genetic counselling and prenatal diagnosis. *J. Med. Genet.***30**, 813–817 (1993).
11. Burn, J. Closing time for CATCH22. *J. Med. Genet.***36**, 737–738 (1999).
12. Donna M. McDonald-McGinn. 22q11.2 Deletion Syndrome. (2013). Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1523/>.

13. Devriendt, K., Fryns, J. P., Mortier, G., van Thienen, M. N. & Keymolen, K. The annual incidence of DiGeorge/velocardiofacial syndrome. *J. Med. Genet.***35**, 789–790 (1998).
14. Oskarsdóttir, S., Vujic, M. & Fasth, A. Incidence and prevalence of the 22q11 deletion syndrome: a population-based study in Western Sweden. *Arch. Dis. Child.***89**, 148–151 (2004).
15. Botto, L. D. *et al.* A population-based study of the 22q11.2 deletion: phenotype, incidence, and contribution to major birth defects in the population. *Pediatrics***112**, 101–107 (2003).
16. McDonald-McGinn, D. Chromosome 22q11.2 ‘B-D’ Deletion – New Diagnosis or More of the Same? (2010).
17. McDonald-McGinn, D. M. & Sullivan, K. E. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Medicine (Baltimore)***90**, 1–18 (2011).
18. Jonas, R. K., Montojo, C. A. & Bearden, C. E. The 22q11.2 deletion syndrome as a window into complex neuropsychiatric disorders over the lifespan. *Biol. Psychiatry***75**, 351–360 (2014).
19. Goodship, J., Cross, I., Scambler, P. & Burn, J. Monozygotic twins with chromosome 22q11 deletion and discordant phenotype. *J. Med. Genet.***32**, 746–748 (1995).
20. McDonald-McGinn, D. M. *et al.* The 22q11.2 deletion in African-American patients: an underdiagnosed population? *Am. J. Med. Genet. A.***134**, 242–246 (2005).
21. Ryan, A. K. *et al.* Spectrum of clinical features associated with interstitial chromosome 22q11 deletions: a European collaborative study. *J. Med. Genet.***34**, 798–804 (1997).
22. Young, D., Shprintzen, R. J. & Goldberg, R. B. Cardiac malformations in the velocardiofacial syndrome. *Am. J. Cardiol.***46**, 643–648 (1980).

23. Gennery, A. R. Immunological features of 22q11 deletion syndrome. *Curr. Opin. Pediatr.***25**, 730–735 (2013).
24. Davies, E. G. Immunodeficiency in DiGeorge Syndrome and Options for Treating Cases with Complete Athymia. *Front. Immunol.***4**, 322 (2013).
25. Zemble, R. *et al.* Secondary immunologic consequences in chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Clin. Immunol. Orlando Fla***136**, 409–418 (2010).
26. Jawad, A. F., McDonald-McGinn, D. M., Zackai, E. & Sullivan, K. E. Immunologic features of chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *J. Pediatr.***139**, 715–723 (2001).
27. Smith, C. A. *et al.* Increased prevalence of immunoglobulin A deficiency in patients with the chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Clin. Diagn. Lab. Immunol.***5**, 415–417 (1998).
28. Haskoloğlu, Z. Ş. Chromosome 22q11.2 Deletion Syndrome (DiGeorge Syndrome/Velocardiofacial Syndrome). *Turk. J. Immunol.***2(3)**, 57–66 (2014).
29. Sullivan, K. E. The clinical, immunological, and molecular spectrum of chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.***4**, 505–512 (2004).
30. Fujii, S. & Nakanishi, T. Clinical manifestations and frequency of hypocalcemia in 22q11.2 deletion syndrome. *Pediatr. Int. Off. J. Jpn. Pediatr. Soc.***57**, 1086–1089 (2015).
31. Kapadia, C. R., Kim, Y. E., McDonald-McGinn, D. M., Zackai, E. H. & Katz, L. E. L. Parathyroid hormone reserve in 22q11.2 deletion syndrome. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.***10**, 224–228 (2008).
32. McDonald-McGinn, D. M. *et al.* The Philadelphia story: the 22q11.2 deletion: report on 250 patients. *Genet. Couns. Geneva Switz.***10**, 11–24 (1999).
33. Weinzimer, S. A. *et al.* Growth hormone deficiency in patients with 22q11.2 deletion: expanding the phenotype. *Pediatrics***101**, 929–932 (1998).

34. Habel, A., McGinn, M.-J., Zackai, E. H., Unanue, N. & McDonald-McGinn, D. M. Syndrome-specific growth charts for 22q11.2 deletion syndrome in Caucasian children. *Am. J. Med. Genet. A*. **158A**, 2665–2671 (2012).
35. Forbes, B. J. *et al.* Ocular findings in the chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *J. AAPOS Off. Publ. Am. Assoc. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus Am. Assoc. Pediatr. Ophthalmol. Strabismus* **11**, 179–182 (2007).
36. Vieira, T. P. *et al.* Clinical Features in Patients With 22q11.2 Deletion Syndrome Ascertained by Palatal Abnormalities. *Cleft Palate-Craniofacial J. Off. Publ. Am. Cleft Palate-Craniofacial Assoc.* **52**, 411–416 (2015).
37. Gripp, K. W. *et al.* Nasal dimple as part of the 22q11.2 deletion syndrome. *Am. J. Med. Genet.* **69**, 290–292 (1997).
38. Digilio, M. C., Marino, B., Bagolan, P., Giannotti, A. & Dallapiccola, B. Microdeletion 22q11 and oesophageal atresia. *J. Med. Genet.* **36**, 137–139 (1999).
39. Eicher, P. S. *et al.* Dysphagia in children with a 22q11.2 deletion: unusual pattern found on modified barium swallow. *J. Pediatr.* **137**, 158–164 (2000).
40. Kilic, S. S., Gurpinar, A., Yakut, T., Egeli, U. & Dogruyol, H. Esophageal atresia and tracheo-esophageal fistula in a patient with Digeorge syndrome. *J. Pediatr. Surg.* **38**, E21–23 (2003).
41. Wu, H.-Y. *et al.* Genitourinary malformations in chromosome 22q11.2 deletion. *J. Urol.* **168**, 2564–2565 (2002).
42. Amlie-Wolf, L. Renal anomalies, polyhydramnios, and single umbilical artery as prenatal clues to the diagnosis of 22q11.2 deletion syndrome. in (2012).
43. Ming, J. E. *et al.* Skeletal anomalies and deformities in patients with deletions of 22q11. *Am. J. Med. Genet.* **72**, 210–215 (1997).
44. Ricchetti, E. T. *et al.* Radiographic study of the upper cervical spine in the 22q11.2 deletion syndrome. *J. Bone Joint Surg. Am.* **86-A**, 1751–1760 (2004).

45. Kobrynski, L. J. & Sullivan, K. E. Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2 deletion syndromes. *Lancet Lond. Engl.***370**, 1443–1452 (2007).
46. Kao, A. *et al.* Increased prevalence of unprovoked seizures in patients with a 22q11.2 deletion. *Am. J. Med. Genet. A***129A**, 29–34 (2004).
47. Barnea-Goraly, N. *et al.* Investigation of white matter structure in velocardiofacial syndrome: a diffusion tensor imaging study. *Am. J. Psychiatry***160**, 1863–1869 (2003).
48. Bearden, C. E. *et al.* Regional brain abnormalities in 22q11.2 deletion syndrome: association with cognitive abilities and behavioral symptoms. *Neurocase***10**, 198–206 (2004).
49. Neri, G., Genuardi, M., Natoli, G., Costa, P. & Maggioni, G. A girl with G syndrome and agenesis of the corpus callosum. *Am. J. Med. Genet.***28**, 287–291 (1987).
50. MacDonald, M. R., Schaefer, G. B., Olney, A. H., Tamayo, M. & Frías, J. L. Brain magnetic resonance imaging findings in the Opitz G/BBB syndrome: extension of the spectrum of midline brain anomalies. *Am. J. Med. Genet.***46**, 706–711 (1993).
51. Swillen, A. *et al.* Intelligence and psychosocial adjustment in velocardiofacial syndrome: a study of 37 children and adolescents with VCFS. *J. Med. Genet.***34**, 453–458 (1997).
52. Swillen, A. *et al.* Neuropsychological, learning and psychosocial profile of primary school aged children with the velo-cardio-facial syndrome (22q11 deletion): evidence for a nonverbal learning disability? *Child Neuropsychol. J. Norm. Abnorm. Dev. Child. Adolesc.***5**, 230–241 (1999).
53. Vorstman, J. A. S. *et al.* The 22q11.2 deletion in children: high rate of autistic disorders and early onset of psychotic symptoms. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry***45**, 1104–1113 (2006).

54. Niklasson, L., Rasmussen, P., Oskarsdóttir, S. & Gillberg, C. Neuropsychiatric disorders in the 22q11 deletion syndrome. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.***3**, 79–84 (2001).
55. Bassett, A. S. & Chow, E. W. C. Schizophrenia and 22q11.2 Deletion Syndrome. *Curr. Psychiatry Rep.***10**, 148–157 (2008).
56. Karayiorgou, M. *et al.* Schizophrenia susceptibility associated with interstitial deletions of chromosome 22q11. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.***92**, 7612–7616 (1995).
57. Bassett, A. S. *et al.* Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. *J. Pediatr.***159**, 332–339.e1 (2011).
58. Usiskin, S. I. *et al.* Velocardiofacial syndrome in childhood-onset schizophrenia. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry***38**, 1536–1543 (1999).
59. Stone, J. L. *et al.* Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia. *Nature***455**, 237–241 (2008).
60. Eliez, S., Schmitt, J. E., White, C. D. & Reiss, A. L. Children and adolescents with velocardiofacial syndrome: a volumetric MRI study. *Am. J. Psychiatry***157**, 409–415 (2000).
61. Gothelf, D., Schaer, M. & Eliez, S. Genes, brain development and psychiatric phenotypes in velo-cardio-facial syndrome. *Dev. Disabil. Res. Rev.***14**, 59–68 (2008).
62. Schaer, M. *et al.* Abnormal patterns of cortical gyrification in velo-cardio-facial syndrome (deletion 22q11.2): an MRI study. *Psychiatry Res.***146**, 1–11 (2006).
63. van Amelsvoort, T. *et al.* Structural brain abnormalities associated with deletion at chromosome 22q11: quantitative neuroimaging study of adults with velo-cardio-facial syndrome. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.***178**, 412–419 (2001).
64. Beaton, E. A. *et al.* Increased incidence and size of cavum septum pellucidum in children with chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Psychiatry Res.***181**, 108–113 (2010).

65. Katzman, G. L., Dagher, A. P. & Patronas, N. J. Incidental findings on brain magnetic resonance imaging from 1000 asymptomatic volunteers. *JAMA***282**, 36–39 (1999).
66. Seki, A. *et al.* Incidental findings of brain magnetic resonance imaging study in a pediatric cohort in Japan and recommendation for a model management protocol. *J. Epidemiol. Jpn. Epidemiol. Assoc.***20 Suppl 2**, S498–504 (2010).
67. Gur, R. E. *et al.* Incidental findings in youths volunteering for brain MRI research. *AJNR Am. J. Neuroradiol.***34**, 2021–2025 (2013).
68. Schmitt, J. E. *et al.* Incidental radiologic findings in the 22q11.2 deletion syndrome. *AJNR Am. J. Neuroradiol.***35**, 2186–2191 (2014).
69. Ferrando-Martínez, S. *et al.* Low Thymic Output, Peripheral Homeostasis Deregulation, and Hastened Regulatory T Cells Differentiation in Children with 22q11.2 Deletion Syndrome. *J. Pediatr.***164**, 882–889 (2014).
70. Keenan, G. F., Sullivan, K. E., McDonald-McGinn, D. M. & Zackai, E. H. Arthritis associated with deletion of 22q11.2: more common than previously suspected. *Am. J. Med. Genet.***71**, 488 (1997).
71. Kawame, H. *et al.* Graves' disease in patients with 22q11.2 deletion. *J. Pediatr.***139**, 892–895 (2001).
72. McDonald-McGinn, D. M., Emanuel, B. S. & Zackai, E. H. Autosomal dominant 'Opitz' GBBB syndrome due to a 22q11.2 deletion. *Am. J. Med. Genet.***64**, 525–526 (1996).
73. Budarf, M. L. *et al.* Identification of a patient with Bernard-Soulier syndrome and a deletion in the DiGeorge/velo-cardio-facial chromosomal region in 22q11.2. *Hum. Mol. Genet.***4**, 763–766 (1995).
74. Patrone, P. M., Chatten, J. & Weinberg, P. Neuroblastoma and DiGeorge anomaly. *Pediatr. Pathol. Affil. Int. Paediatr. Pathol. Assoc.***10**, 425–430 (1990).
75. Scattone, A. *et al.* Neoplastic disease and deletion 22q11.2: a multicentric study and report of two cases. *Pediatr. Pathol. Mol. Med.***22**, 323–341 (2003).

76. McDonald-McGinn, D. M. *et al.* Malignancy in chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Am. J. Med. Genet. A.***140**, 906–909 (2006).
77. de la Chapelle, A., Herva, R., Koivisto, M. & Aula, P. A deletion in chromosome 22 can cause DiGeorge syndrome. *Hum. Genet.***57**, 253–256 (1981).
78. Kelley, R. I. *et al.* The association of the DiGeorge anomaly with partial monosomy of chromosome 22. *J. Pediatr.***101**, 197–200 (1982).
79. Greenberg, F. *et al.* Familial DiGeorge syndrome and associated partial monosomy of chromosome 22. *Hum. Genet.***65**, 317–319 (1984).
80. Augusseau, S., Jouk, S., Jalbert, P. & Prieur, M. DiGeorge syndrome and 22q11 rearrangements. *Hum. Genet.***74**, 206 (1986).
81. Wilson, D. I., Goodship, J. A., Burn, J., Cross, I. E. & Scambler, P. J. Deletions within chromosome 22q11 in familial congenital heart disease. *Lancet Lond. Engl.***340**, 573–575 (1992).
82. Carey, A. H. *et al.* Molecular genetic study of the frequency of monosomy 22q11 in DiGeorge syndrome. *Am. J. Hum. Genet.***51**, 964–970 (1992).
83. Greenberg, F., Elder, F. F., Haffner, P., Northrup, H. & Ledbetter, D. H. Cytogenetic findings in a prospective series of patients with DiGeorge anomaly. *Am. J. Hum. Genet.***43**, 605–611 (1988).
84. Fukushima, Y. DiGeorge syndrome with del(4)(q21.3q25): possibility of the fourth chromosome region responsible for DiGeorge syndrome. *Am J Hum Genet* (1992).
85. Pinto-Escalante, D., Ceballos-Quintal, J. M., Castillo-Zapata, I. & Canto-Herrera, J. Full mosaic monosomy 22 in a child with DiGeorge syndrome facial appearance. *Am. J. Med. Genet.***76**, 150–153 (1998).
86. Gottlieb, S. *et al.* Characterization of 10p deletions suggests two nonoverlapping regions contribute to the DiGeorge syndrome phenotype. *Am. J. Hum. Genet.***62**, 495–498 (1998).

87. Halford, S. *et al.* Low-copy-number repeat sequences flank the DiGeorge/velo-cardio-facial syndrome loci at 22q11. *Hum. Mol. Genet.***2**, 191–196 (1993).
88. Edelmann, L., Pandita, R. K. & Morrow, B. E. Low-copy repeats mediate the common 3-Mb deletion in patients with velo-cardio-facial syndrome. *Am. J. Hum. Genet.***64**, 1076–1086 (1999).
89. Burnside, R. D. 22q11.21 Deletion Syndromes: A Review of Proximal, Central, and Distal Deletions and Their Associated Features. *Cytogenet. Genome Res.***146**, 89–99 (2015).
90. Molck, M. C. *et al.* Atypical copy number abnormalities in 22q11.2 region: report of three cases. *Eur. J. Med. Genet.***56**, 515–520 (2013).
91. Gao, S., Li, X. & Amendt, B. A. Understanding the role of Tbx1 as a candidate gene for 22q11.2 deletion syndrome. *Curr. Allergy Asthma Rep.***13**, 613–621 (2013).
92. Yutzey, K. E. DiGeorge syndrome, Tbx1, and retinoic acid signaling come full circle. *Circ. Res.***106**, 630–632 (2010).
93. Momma, K. Cardiovascular anomalies associated with chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Am. J. Cardiol.***105**, 1617–1624 (2010).
94. Breckpot, J. *et al.* Congenital heart defects in a novel recurrent 22q11.2 deletion harboring the genes CRKL and MAPK1. *Am. J. Med. Genet. A.***158A**, 574–580 (2012).
95. Jyonouchi, S., McDonald-McGinn, D. M., Bale, S., Zackai, E. H. & Sullivan, K. E. CHARGE (coloboma, heart defect, atresia choanae, retarded growth and development, genital hypoplasia, ear anomalies/deafness) syndrome and chromosome 22q11.2 deletion syndrome: a comparison of immunologic and nonimmunologic phenotypic features. *Pediatrics***123**, e871–877 (2009).
96. Cioffi, S. *et al.* Tbx1 regulates brain vascularization. *Hum. Mol. Genet.***23**, 78–89 (2014).
97. Carelle-Calmels, N. *et al.* Genetic compensation in a human genomic disorder. *N. Engl. J. Med.***360**, 1211–1216 (2009).

98. Delio, M. *et al.* Enhanced maternal origin of the 22q11.2 deletion in velocardiofacial and DiGeorge syndromes. *Am. J. Hum. Genet.***92**, 439–447 (2013).
99. Demczuk, S. *et al.* Excess of deletions of maternal origin in the DiGeorge/velo-cardio-facial syndromes. A study of 22 new patients and review of the literature. *Hum. Genet.***96**, 9–13 (1995).
100. Schoenwolf et al. *Larsen's Human Embryology*. (Church Livingstone Elsevier).
101. Bockman, D. E., Redmond, M. E., Waldo, K., Davis, H. & Kirby, M. L. Effect of neural crest ablation on development of the heart and arch arteries in the chick. *Am. J. Anat.***180**, 332–341 (1987).
102. Moon, A. M. *et al.* Crkl Deficiency Disrupts Fgf8 Signaling in a Mouse Model of 22q11 Deletion Syndromes. *Dev. Cell***10**, 71–80 (2006).
103. Vorstman, J. a. S. *et al.* MLPA: a rapid, reliable, and sensitive method for detection and analysis of abnormalities of 22q. *Hum. Mutat.***27**, 814–821 (2006).
104. Prabodha, L. B. L. *et al.* Evaluation of 22q11.2 deletion in Cleft Palate patients. *Ann. Maxillofac. Surg.***2**, 121–126 (2012).
105. Nowaczyk, M. J. M. & Irons, M. B. Smith-Lemli-Opitz syndrome: phenotype, natural history, and epidemiology. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.***160C**, 250–262 (2012).
106. Sheflin-Findling, S. *et al.* Partial internal biliary diversion for Alagille syndrome: case report and review of the literature. *J. Pediatr. Surg.***47**, 1453–1456 (2012).
107. Solomon, B. D. *et al.* Clinical geneticists' views of VACTERL/VATER association. *Am. J. Med. Genet. A.***158A**, 3087–3100 (2012).
108. Coberly, S., Lammer, E. & Alashari, M. Retinoic acid embryopathy: case report and review of literature. *Pediatr. Pathol. Lab. Med. J. Soc. Pediatr. Pathol. Affil. Int. Paediatr. Pathol. Assoc.***16**, 823–836 (1996).

109. Schuffenhauer, S. *et al.* DiGeorge syndrome and partial monosomy 10p: case report and review. *Ann. Génétique***38**, 162–167 (1995).
110. Fung, W. L. A. *et al.* Practical guidelines for managing adults with 22q11.2 deletion syndrome. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.***17**, 599–609 (2015).
111. Clarke, M. & O’Callaghan, E. Is earlier better? At the beginning of schizophrenia: timing and opportunities for early intervention. *Psychiatr. Clin. North Am.***26**, 65–83 (2003).
112. Caterina Cancrini, P. P. Clinical Features and Follow-Up in Patients with 22q11.2 Deletion Syndrome. *J. Pediatr.***164**, (2014).
113. McDonald-McGinn, D. M. *et al.* Phenotype of the 22q11.2 deletion in individuals identified through an affected relative: cast a wide FISHing net! *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.***3**, 23–29 (2001).
114. Driscoll, D. A. Prenatal diagnosis of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet. Med.***3**, 14–18 (2001).
115. Noël, A.-C. *et al.* Fetal phenotype associated with the 22q11 deletion. *Am. J. Med. Genet. A.***164A**, 2724–2731 (2014).
116. Manji, S. *et al.* Prenatal diagnosis of 22q11.2 deletion when ultrasound examination reveals a heart defect. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.***3**, 65–66 (2001).
117. Armando, M., Papaleo, F. & Vicari, S. COMT implication in cognitive and psychiatric symptoms in chromosome 22q11 microdeletion syndrome: a selective review. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets***11**, 273–281 (2012).
118. Wu, D. *et al.* Characteristic face: a key indicator for direct diagnosis of 22q11.2 deletions in Chinese velocardiofacial syndrome patients. *PloS One***8**, e54404 (2013).
119. Poirsier, C. *et al.* A French multicenter study of over 700 patients with 22q11 deletions diagnosed using FISH or aCGH. *Eur. J. Hum. Genet.* (2015). doi:10.1038/ejhg.2015.219

120. Bassett, A. S. *et al.* Clinical features of 78 adults with 22q11 Deletion Syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*. **138**, 307–313 (2005).
121. Weinzimer, S. A. Endocrine aspects of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet. Med.* **3**, 19–22 (2001).
122. Maalouf, N. M., Sakhaee, K. & Odvina, C. V. A Case of Chromosome 22q11 Deletion Syndrome Diagnosed in a 32-Year-Old Man with Hypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 4817–4820 (2004).
123. Tarlan, B., Kiratli, H., Kılıç, E., Utine, E. & Boduroğlu, K. A Case of 22q11.2 Deletion Syndrome with Right Microphthalmia and Left Corneal Staphyloma. *Ophthalmic Genet.* **35**, 248–251 (2014).
124. Binenbaum, G. *et al.* Sclerocornea associated with the chromosome 22q11.2 deletion syndrome. *Am. J. Med. Genet. A*. **146A**, 904–909 (2008).
125. Chung, J. H. *et al.* Whole-Genome Sequencing and Integrative Genomic Analysis Approach on Two 22q11.2 Deletion Syndrome Family Trios for Genotype to Phenotype Correlations. *Hum. Mutat.* **36**, 797–807 (2015).
126. Weisfeld-Adams, J. D., Edelmann, L., Gadi, I. K. & Mehta, L. Phenotypic heterogeneity in a family with a small atypical microduplication of chromosome 22q11.2 involving TBX1. *Eur. J. Med. Genet.* **55**, 732–736 (2012).
127. Halder, A., Jain, M., Kabra, M. & Gupta, N. Mosaic 22q11.2 microdeletion syndrome: diagnosis and clinical manifestations of two cases. *Mol. Cytogenet.* **1**, 1–7 (2008).
128. Jacquet, H. *et al.* PRODH mutations and hyperprolinemia in a subset of schizophrenic patients. *Hum. Mol. Genet.* **11**, 2243–2249 (2002).

8 EKLER

EK 1. HASTA DÖKÜMÜ

Hasta numarası	Hasta Adı	Genetik Dosya No	Cinsiyet	Tanı Yaşı (ay)	Yaş (yıl)	Konjenital Kalp Hastalığı	Hipokalsemi	İmmün Yetmezlik	Palatal Bulgular	Dismorfizm	Öğrenme güçlüğü
1	A.Y	68009	kız	19	eksitus-10ay						
2	S.K	39470	kız	3	eksitus-3ay						
3	Z.B	48401	kız	1	8						
4	R.E.A	52856	kız	0	6						
5	M. A	54485	kız	3	eksitus-4ay						
6	M.A.D	66553	erkek	0	eksitus-10gun						
7	S.Ö	51750	kız	444	44						
8	E.S.U	53963	erkek	4	6						
9	U.E.D	30709	erkek	132	17						
10	B.K	52598	kız	192	23						
11	B.A	53699	erkek	1	eksitus-1ay						
12	Z.Y	52139	kız	120	18						
13	B.A	44598	kız	0	eksitus-2ay						
14	Ö.F.G	59154	erkek	1	4						
15	H.A	68181	erkek	21	3						
16	Z.A	67884	kız	2	2						
17	H.O.K	42174	erkek	144	12						
18	A.B	60590	erkek	17	5.5						
19	A.A	40075	kız	192	27						
20	A.Y	57135	erkek	8	eksitus-2yaş						
21	İ.K	46414	erkek	4	eksitus-16 ay						
22	A.G	41540	kız	30	14						
23	M.U	48972	kız	7	8						
24	E.E	44961	erkek	28	15						
25	A.İ	53591	kız	5	7						
26	U.T	56945	erkek	24	7						
27	M.S	59443	erkek	5	6						
28	Y.V	57296	erkek	72	14						
29	Ü.B	62669	erkek	156	16						
30	A.O.T	62058	erkek	156	16						
31	U.T	55161	erkek	84	10						
32	B.K	58025	erkek	84	11						
33	M.K.Ş	57331	erkek	36	8						
34	A.A	65391	erkek	420	35						
35	R.T.Ç	60200	erkek	72	10						
36	M.A.D	66161	erkek	144	13						
37	N.Y	48116	kız	192	17						
38	Y.Y	48116	kız	192	17						
39	O.T	49881	erkek	150	20						
40	M.O.S	67874	erkek	168	14						
41	E.D	68231	kız	1	12						
42	B.Y	38572	kız	78	13						
43	T.G	62582	kız	144	15						
44	A.P	69092	erkek	48	4						
45	S.E.A	65391	erkek	9.5	3						

SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11

Lot A2-0511: as compared to the previous lot A1-0508 (version A1), the 88 and 96 nt control fragments have been replaced and two control fragments at 100 and 105 nt have been included (QDX2).

Two SALSA® MLPA® probemixes are available for analysis of the DiGeorge syndrome region on 22q11. A limited number of probes are present in the P023 probemix. SALSA® MLPA® P250 DiGeorge probemix contains a larger number of probes in 22q11, and in other regions that may cause a DiGeorge-like phenotype. We recommend the use of the P250 MLPA probemix as a primary test for DiGeorge syndrome.

This P324 MLPA probemix contains additional probes for the 22q11 region including 12 probes for the TBX1 gene. This P324 probemix is **not intended for primary screening** of DiGeorge syndrome but might be useful for some **research** applications. Please note that the high density 22q11 MLPA probe set that was used in Jalali GR *et al.*, 2008, *Hum.Mutation* 29: 433-440 is the P250 probemix and not this P324 probemix.

Microdeletions/duplications in the 22q11 region cause a variety of disorders, including DiGeorge syndrome (DGS; MIM 188400), Velocardiofacial syndrome (VCFS; MIM 192430) and Cat Eye syndrome (CES; MIM 115470). The high frequency of 22q11 copy number changes is due to the presence of several copies of a repeat sequence (LCR22). The extent of 22q11 deletions is variable, although 87% extend from the first (LCR22-A) till the fourth (LCR22-D) repeat.

The database of genome variants mentions several copy number changes of this genomic region in healthy individuals (see <http://projects.tcag.ca/variation/>).

This P324-A2 22q11 probemix contains probes for 34 different sequences in the 22q11 region, among which 12 probes for the TBX1 gene. In addition, 10 reference probes are included in this probemix, detecting sequences on different autosomal chromosomal locations.

This SALSA® MLPA® probemix is designed to detect deletions/duplications of one or more sequences in the above mentioned chromosomal region in a DNA sample. Heterozygous deletions of probe recognition sequences should give a 35-50% reduced relative peak area of the amplification product of that probe. Note that a mutation or polymorphism in the sequence detected by a probe can also cause a reduction in relative peak area, even when not located exactly on the ligation site! In addition, some probe signals are more sensitive to sample purity and small changes in experimental conditions. Therefore, deletions and duplications detected by MLPA should always be confirmed by other methods. Not all deletions and duplications detected by MLPA will be pathogenic; users should always verify the latest scientific literature when interpreting their findings. Finally, note that small (point) mutations will not be detected by this SALSA® MLPA® test.

SALSA® MLPA® probemixes are sold by MRC-Holland for research purposes and to demonstrate the possibilities of the MLPA technique. This probemix is not CE/FDA certified for use in diagnostic procedures. Purchase of the SALSA® MLPA® test probemixes includes a limited license to use these products for research purposes.

The use of this SALSA® MLPA® probemix requires a thermocycler with heated lid and sequence type electrophoresis equipment. Different fluorescent PCR primers are available. The MLPA technique has been first described in Nucleic Acid Research 30, e57 (2002).

Related SALSA® MLPA® probemixes

- P023 DiGeorge syndrome: contains a limited number of probes in the 22q11 region.
- P250 DiGeorge syndrome: Primary screening of the 22q11 region.
- P258 SMARCB1: Mutations in SMARCB1 on 22q11.23 are associated with malignant rhabdoid tumours.

More information

Website : www.mlpa.com
 E-mail : info@mlpa.com (information & technical questions); order@mlpa.com (for orders)
 Mail : MRC-Holland bv; Willem Schoutenstraat 6, 1057 DN Amsterdam, the Netherlands

Data analysis

The P324-A2 22q11 probemix contains 45 MLPA probes with amplification products between 130 and 474 nt. In addition, it contains 9 control fragments generating an amplification product smaller than 120 nt: four DNA Quantity fragments (Q-fragments) at 64-70-76-82 nt, three DNA denaturation control fragments (D-fragments) at 88-92-96 nt, one X-fragment at 100 nt and one Y-fragment at 105 nt. More information on how to interpret observations on these control fragments can be found in the MLPA protocol.

Data generated by this probemix can first be normalised intra-sample by dividing the peak area of each probe's amplification product by the total area of only the reference probes in this probemix (block normalisation). Secondly, inter-sample normalisation can be achieved by dividing the intra-normalised probe ratio in a sample by the average intra-normalised probe ratio of all reference samples. Please note that this type of normalisation assumes no changes occurred in the genomic regions recognised by the reference probes.

Data normalisation should be performed within one experiment. Only samples purified by the same method should be compared. Confirmation of most exons deletions and amplifications can be done by e.g. Southern blotting, long range PCR, qPCR, FISH.

Note that Coffalyser, the MLPA analysis tool developed at MRC-Holland, can be downloaded free of charge from our website www.mlpa.com.

Many copy number alterations in healthy individuals are described in the database of genomic variants: <http://projects.tcag.ca/variation>. For example, a duplication of a complete gene might not be pathogenic, while a partial duplication or a deletion may result in disease. For some genes, certain in-frame deletions may result in a very mild, or no disease. Copy number changes of reference probes are unlikely to be the cause of the condition tested for. Users should always verify the latest scientific literature when interpreting their findings.

This probemix was developed at MRC-Holland.

Info/remarks/suggestions for improvement: info@mlpa.com.

Description version 07; 24-12-2012

Table 1. SALSA MLPA P324-A2 22q11 probemix

Length (nt)	SALSA MLPA probe	Chromosomal position	
		Reference	22q11 (hg18) # nt to P-telomere
64-70-76-82	Q-fragments: DNA quantity; only visible with less than 100 ng sample DNA		
88-92-96	D-fragments: Low signal of 88 or 96 nt fragment indicates incomplete denaturation		
100	X-fragment: Specific for the X chromosome		
105	Y-fragment: Specific for the Y chromosome		
130	Reference probe 02781-L02223	2q37	
135	TBX1 probe 09404-L09690		18.124264
142 ◇	FLJ42953 probe 06317-L10754		19.779435
147	SNRPD3 probe 08482-L08493		23.297884
152 ±	PRODH probe 07485-L07143		17.303979
157	ARVCF probe 05465-L10755		18.358151
163 »	GSC2 probe 05461-L04864		17.517208
170 §	TBX1 probe 05408-L04859		18.127115
178	TBX1 probe 09409-L10756		18.132561
184	Reference probe 05993-L05418	20p12	
190	BCR probe 09400-L09686		21.933145
196	TBX1 probe 09411-L10879		18.133500
202	BCL2L13 probe 03193-L02546		16.551763
208	Reference probe 05765-L05203	14q11	
214	VPREB1 probe 09403-L09689		20.929817
223	BCR probe 09401-L10880		21.940660
229	MIF probe 01070-L00099		22.566651
238	COMT probe 07490-L10757		18.336105
247	Reference probe 08189-L08083	11q12	
256	RAB36 probe 08485-L08496		21.825239
263	CECR1 probe 05777-L10758		16.068084
269	Reference probe 09045-L09299	3q29	
276	SEZ6L probe 05929-L05810		25.018489
283 ±	Reference probe 01126-L00684	5p15	
292	TBX1 probe 09406-L09692		18.128390
301	Reference probe 02471-L01915	15q21	
319	GNB1L probe 07487-L07145		18.156405
328	TBX1 probe 07055-L10759		18.146791
337	Reference probe 07132-L06741	2p22	
346	TBX1 probe 09407-L10760		18.130761
355	BID probe 01233-L00904		16.606665
360 ◇	RIMBP3C probe 06321-L05796		20.247101
369	TBX1 probe 09410-L10764		18.133292
374	COMT probe 07489-L10761		18.330270
382	DGCR8 probe 08476-L10765		18.477850
391 *	PEX26 probe 05459-L04862		16.941091
399	TBX1 probe 09413-L09699		18.150834
409	TBX1 probe 09408-L09694		18.131767
418	PRODH probe 07486-L07144		17.298536
427	TBX1 probe 09412-L09698		18.150495
440 ◇	PRODH probe 06323-L10881		17.315782
447 ± ◇	GGT3P (GGT2) probe 07059-L05797		17.189220
454	TBX1 probe 07053-L10763		18.128690
463 ±	Reference probe 03956-L10752	20p13	
474	Reference probe 08586-L08587	17q23	

§ The 170 nt TBX1 probe in P324 detects the same sequence as the 172 nt probe in the P250.

± SNP could influence the probe signal. The 447 nt GGT3P probe generates a signal in less than 50% of samples.

Description version 07; 24-12-2012

» This probe is located within, or close to, a very strong CpG island. A low signal of this probe can be due to incomplete sample DNA denaturation, e.g. due to the presence of salt in the sample DNA

◊ The name of the gene targeted by this probe has been changed. The previous name can be found within brackets in Table 2.

* This probe is unreliable due to a very low signal.

Note: Exon numbering used here may differ from literature! Please notify us of any mistakes. The identity of the genes detected by the reference probes is available on request: info@mlpa.com.



Description version 07; 24-12-2012

Table 2. 22q11 probes in P324 & P250 arranged to chromosomal location

Length (nt) P324 / P250	SALSA MLPA probe	Gene	Distance to P- telomere (nt)	Partial sequence (24 nt adjacent to ligation site)	Distance to next probe
Centromere region / Cat eye region					
335	01082-L15012	IL17RA	15.959672		108.4 kb
263	05777-L10758	CECR1	16.068084	CTGGTGAGGAAT-GTCACCTACAGG	355.2 kb
142	05457-L07613	SLC25A18	16.423313		128.5 kb
202	03193-L02546	BCL2L13	16.551763	CACACTTCTCCA-GTGTTTCAGCCCT	54.9 kb
355	01233-L00904	BID	16.606665	AAAGCTGTTCTG-ACAACAGCTTCC	0.1 kb
357	01767-L07389	BID	16.606684		98.0 kb
178	05458-L04861	MICAL3	16.704655		236.4 kb
226	07528-L04863	USP18	17.012924		176.3 kb
LCRA region					
447 ±	07059-L05797	GGT3P (GGT2; LCRA)	17.189220	ACGTGCCCCGTAA-ACACCTTTCTGA	109.3 kb
418	07486-L07144	PRODH	17.298536	ACTACAGGGCCT-TCGGTGTGAGCG	5.4 kb
152 ±	07485-L07143	PRODH	17.303979	CAGAGGCTTTGA-GAAGCCAGTGGG	11.8 kb
440	06323-L10881	PRODH (LCRA)	17.315782	GGACTCCTTCCA-TTCTCCCACTTG	201.4 kb
Start DiGeorge region; LCR22-A					
163	05461-L04864	GSC2	17.517208	GCTTTTCGTGCA-GAACCAGTATCC	104.4 kb
191	05462-L05809	CLTCL1	17.621597		77.4 kb
160	01214-L02328	HIRA	17.699015		148.5 kb
465 ◇	05463-L05808	CDC45 (CDC45L)	17.847478		43.8 kb
196	01218-L06270	CLDN5	17.891318		200.2 kb
208	05464-L10114	GP1BB	18.091521		32.7 kb
135	09404-L09690	TBX1	18.124264	AGGGAGGGAGGA-ACACTTGCCGCG	2.8 kb
170 §	05408-L04859	TBX1	18.127115	CCGGGTGAAGCT-TCGCTGGCTGCC	1.3 kb
172 §	05408-L07614	TBX1	18.127115		
292	09406-L09692	TBX1	18.128390	AGCTCTCGCATT-TCTGCGACGTTG	0.3 kb
454	07053-L10763	TBX1	18.128690	GAACGCGAAGGT-GGCCGTTGTGAG	2.1 kb
346	09407-L10760	TBX1	18.130761	TCCCACCTTCCA-AGTGAAGCTCTT	1.0 kb
409	09408-L09694	TBX1	18.131767	GCACTGGATGAA-GCAAACTCGTGTC	0.8 kb
178	09409-L10756	TBX1	18.132561	AAACCTTTGTGT-TCGAGGAGACAC	0.7 kb
245	10810-L14347	TBX1	18.133292		
369	09410-L10764	TBX1	18.133292	TCCCTTCGCGAA-AGGCTTCCGGGA	0.2 kb
196	09411-L10879	TBX1	18.133500	CGGCACGGAGAA-AGGTAGGGCCGG	13.3 kb
328	07055-L10759	TBX1	18.146791	AGAAGTGGAGCT-TCTGAGGGATGC	3.7 kb
427	09412-L09698	TBX1	18.150495	TGAGTCCCTGAG-ACCACCACACTG	0.3 kb
399	09413-L09699	TBX1	18.150834	AAGTCAGGAGGT-CAAGTGTGCATG	5.6 kb
319	07487-L07145	GNB1L	18.156405	CGGGATCGCCGA-GGTCACGATCCG	109.8 kb
238 ◇	01223-L05814	TXNRD2 (KIAA1652)	18.266225		64.0 kb
374	07489-L10761	COMT	18.330270	TTGACACCTACT-GCGAGCAGAAGG	5.8 kb
238	07490-L10757	COMT	18.336105	GTGCGCCAGACT-TCCTAGCACACG	22.0 kb
157	05465-L10755	ARVCF	18.358151	CAGCTGGAGCGT-GCCCAGCAGCCT	95.5 kb
148	08475-L08486	DGCR8	18.453612		24.2 kb
382	08476-L10765	DGCR8	18.477850	GACTCAGCGACT-GCACCAGTGGCA	601.6 kb
LCR22-B					
202	05927-L07395	ZNF74	19.079428		93.9 kb
283	01227-L05815	KLHL22	19.173307		93.4 kb
316 ◇	01231-L15877	MED15 (PCQAP)	19.266745		305.3 kb
LCR22-C					
373	01235-L00773	SNAP29	19.572014		107.2 kb
418	01521-L00951	LZTR1	19.679191		100.2 kb
142	06317-L10754	FLJ42953 (LCRD)	19.779435	TGAAATCTTGTA-GAGTACAGACAG	350.0 kb
LCR22-D; end of the commonly-deleted DiGeorge region					

Description version 07; 24-12-2012

Length (nt) P324 / P250	SALSA MLPA probe	Gene	Distance to P- telomere (nt)	Partial sequence (24 nt adjacent to ligation site)	Distance to next probe
308	13302-L15009	HIC2	20.130631		117.7 kb
360	06321-L05796	RIMBP3C (LCRD)	20.247101	CTGGGCCCAAGG-CCTAATAGGTGA	132.6 kb
130	07529-L04870	PPIL2	20.379687		273.3 kb
292	13299-L14649	TOP3B	20.652996		276.8 kb
214	09403-L09689	VPREB1	20.929817	CTGAGCCACTCA-GCATCTCCTGGT	804.2 kb
LCR22-E					
261	08484-L09139	RTDR1	21.734047		61.3 kb
215	08478-L17067	GNAZ	21.795392		17.1 kb
454	08479-L08490	RTDR1	21.812539		5.0 kb
342	05932-L04872	RAB36	21.817561		7.7 kb
256	08485-L08496	RAB36	21.825239	AAGGCCACCATT-GGGGTGGACTTT	107.9 kb
190	09400-L09686	BCR	21.933145	GGAGATGAGAAA-ATGGGTCTCTGTC	7.5 kb
223	09401-L10880	BCR	21.940660	CAATGCTCAGTT-TGCAGAAATCTC	518.7 kb
LCR22-F					
220	05928-L07969	SMARCB1	22.459370		47.0 kb
400	05933-L05812	SMARCB1	22.506362		60.3 kb
229	01070-L00099	MIF	22.566651	CATGCCGATGTT-CATCGTAAACAC	717.1 kb
LCR22-G					
166	08481-L08492	SNRPD3	23.283701		14.2 kb
147	08482-L08493	SNRPD3	23.297884	GGAAGAGGACGT-GGAATGGGACGT	1720.6 kb
276	05929-L05810	SEZ6L	25.018489	ACAGTCGGCGGA-AGTGTGGGCGA	

± SNP could influence the probe signal. The 447 nt GGT3P probe generates a signal in less than 50% of samples.

§ The 170 nt TBX1 probe in P324 detects the same sequence as the 172 nt probe in the P250.

◇ The name of the gene targeted by this probe has been changed. The previous name can be found within brackets.

Note: Exon numbering might be different as compared to literature! Complete probe sequences are available on request: info@mlpa.com. Please notify us of any mistakes: info@mlpa.com.

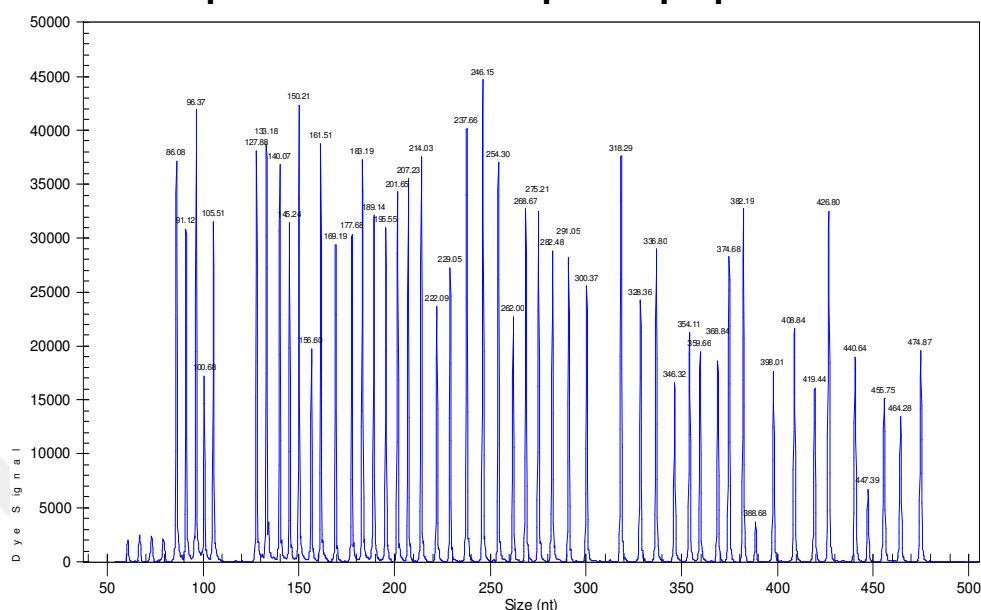
SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11 sample pictures

Figure 1. Capillary electrophoresis pattern from a sample of approximately 50 ng human male control DNA analysed with SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11 (lot A2-0511). The old MLPA buffer (replaced in December 2012) was used. Vials with the old MLPA buffer have a white label.

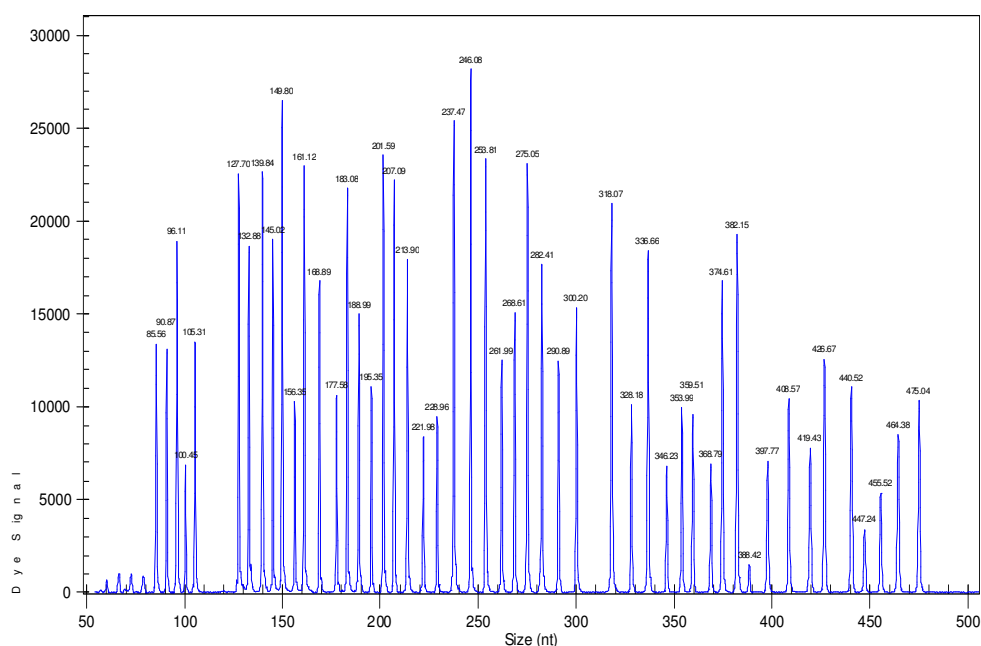


Figure 2. Capillary electrophoresis pattern from a sample of approximately 50 ng human male control DNA analysed with SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11 (lot A2-0511). The new MLPA buffer (introduced in December 2012) was used. Vials with the new MLPA buffer have a yellow label.

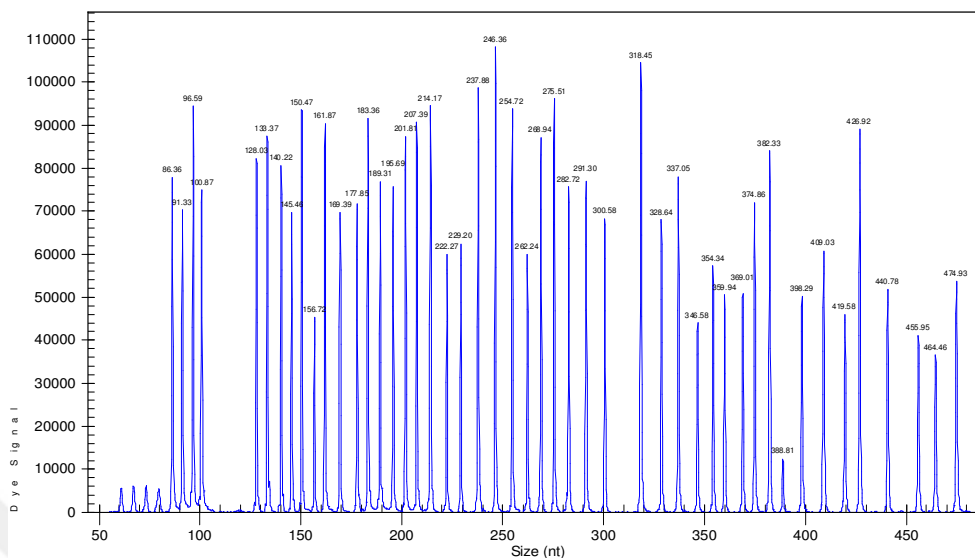


Figure 3. Capillary electrophoresis pattern from a sample of approximately 50 ng human female control DNA analysed with SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11 (lot A2-0511). Please note that the 447 nt peak for LCRA gene is often missing, please disregard. The old MLPA buffer (replaced in December 2012) was used. Vials with the old MLPA buffer have a white label.

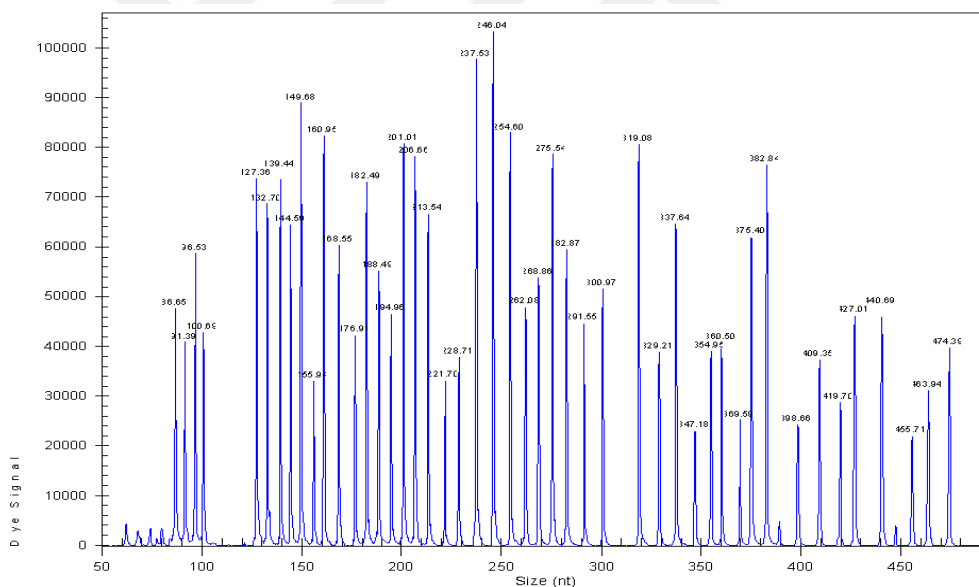


Figure 4. Capillary electrophoresis pattern from a sample of approximately 50 ng human female control DNA analysed with SALSA MLPA probemix P324-A2 22q11 (lot A2-0511). Please note that the 447 nt peak for LCRA gene is often missing, please disregard. The new MLPA buffer (introduced in December 2012) was used. Vials with the new MLPA buffer have a yellow label.

Implemented Changes – compared to the previous product description version(s).
Version 07 (48)

- Electropherogram pictures using the new MLPA buffer (introduced in December 2012) added.

Version 06 (48)

- Small changes of probe lengths in Table 1 and 2 in order to better reflect the true lengths of the amplification products.
- The gene name has changed for the following probes: 465 nt (05463-L05808), 238 nt (01223-L05814) and 316 nt (01231-L15877).
- The text "Many copy number alterations in healthy individuals are described in..." added to page 2.
- Various minor textual changes.

Version 05 (46)

- Product description adapted to a new product version (version number changed, lot number added, small changes in Table 1 and Table 2, new pictures included).
- Warning added for the 389 nt probe (05459-L04862).

Version 04 (46)

- Various minor textual and layout changes.
- Small changes of probe lengths in Table 1 and 2 in order to better reflect the true lengths of the amplification products.
- Warning added in Table 1, 152 nt probe (07485-L07143), 163 nt probe (05461-L04864), 283 nt probe (01126-L00684) and 474 nt probe (08586-L08587).
- The gene name has changed for the following probes: 447 nt (07059-L05797) 440 nt (06323-L10881), 142 nt (06317-L10754) and 360 nt (06321-L05796).

Version 03 (44)

- Various minor textual changes on page 1.
- Minor changes in the data analysis section on page 2.
- Data analysis – paragraph 'When only a small...' has been changed.