

Kardiyak Anomalili Fetüslerde Kromozomal Mikro dizin Analizinin Tanıdaki Etkinliği: Kohort Araştırması

The Effectiveness of Chromosomal Microarray Analysis in Diagnosis of Fetuses with Cardiac Anomalies: Cohort Research

^{1b} Hilal ŞENTÜRK^{a,b}, ^{1b} Bilge ÖZSAİT SELÇUK^a, ^{1b} Tuğba SARAÇ SİVRİKOZ^c, ^{1b} Tuğba KALAYCI^a,
^{1b} Rukiye Nurten ÖMEROĞLU^d, ^{1b} Gülnihal BULUT^{a,b}, ^{1b} İbrahim H. KALELİOĞLU^c, ^{1b} Recep HAS^c,
^{1b} Atıl YÜKSEL^c, ^{1b} Seher BAŞARAN^a, ^{1b} Birsen KARAMAN^{a,e}, ^{1b} Evrim KÖMÜRCÜ BAYRAK^a

^aİstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD, İstanbul, Türkiye

^bİstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

^cİstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Perinatoloji BD, İstanbul, Türkiye

^dİstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, İstanbul, Türkiye

^eİstanbul Üniversitesi Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Pediatrik Temel Bilimleri ABD, İstanbul, Türkiye

Bu çalışma, 15. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi'nde (9-13 Kasım 2022) sözlü olarak sunulmuştur.

ÖZET Amaç: Bu çalışmada, fetal olgularda konjenital kalp anomalileri (KKA) sıklığı, malformasyonun tipi/dağılımı ve sitogenetik ve moleküler sitogenetik tanı yöntemlerinin KKA'nın prenatal tanısındaki etkinliğinin araştırılması amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** 2014-2021 yılları arasında, fetal ultrasonografide (USG) çeşitli patolojiler sebebiyle karyotip analizi, 22q11.2 delesyon sendromuna özgü prob kullanılarak (N25/D22S75, ARSA, Aquarius-Cytocell) floresan in-situ hibridizasyon [fluorescence in-situ hybridization (FISH)] incelemesi ve kromozomal mikro dizin (KMD) çalışması yapılan 951 fetal olgu arasında KKA saptanan 192'si bu çalışmada değerlendirildi. Olguların fetal hücrelerinden genomik DNA izolasyonu kit protokolüne göre (MagNA Pure LC DNA İzolasyon Kit i) yapılarak KMD (180K, Agilent SurePrint G3 Hmn CGH+SNP) uygulandı. **Bulgular:** KKA'lı 192 fetal olgunun soy geçmişlerinde, kardiyak anomaliler için gebelik öyküsü veya 1. derece akrabalarında benzer patolojik bulguların varlığı %9,9 oranında saptandı. KKA'lı olguların 23'üne konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemleriyle tanı konuldu (23/192, %12). Olguların 11'i karyotip ve KMD (11/23, %47,8), 3 olguda (3/23, %13) FISH incelemesi, 9 olguda ise (9/23, %39,1) KMD analizi ile anomali saptandı. Genetik tanı alan olgular, birden fazla kardiyak anomali (kompleks) ve/veya diğer organ tutulumlarına sahipti. Bu teknikler ile herhangi bir patoloji saptanmayan 169 olgunun 21'inde (%12,4) USG'de tek bir kardiyak anomali (izole) saptanırken, kompleks kardiyak anomali olan olgu sayısı 44 (%26) idi. Yüz dört olguda ise (%61,5), kardiyak anomalinin yanı sıra minör/majör multisistemik tutulumlar mevcuttu. **Sonuç:** KKA'lı olguların erken prenatal tanısı, gebelik sürecinin yönetimi ve genetik danışmada önem taşımaktadır. Bu çalışmada, fetal USG'de KKA saptanan olgularda (izole, kompleks, multisistemik tutulumlu) genetik etiolojisinin aydınlatılmasına diğer sitogenetik teknikleri ile birlikte KMD analizinin katkısı %12 olarak bulundu. USG'de izole kardiyak bulgu olsa dahi tüm KKA'lı olgulara KMD analizi önerilebilir.

ABSTRACT Objective: In this study, we aimed to investigate the frequency of congenital heart anomalies (CHA), the type/distribution of malformations and the effectiveness of conventional genetic diagnosis methods in the prenatal diagnosis of CHA in fetal cases. **Material and Methods:** In this study, CHA was detected in 192 of 951 cases in which karyotype analysis, fluorescence in-situ hybridization (FISH) examination using 22q11.2 deletion syndrome specific probe (N25/D22S75, ARSA, Aquarius-Cytocell) and chromosomal microarray (CMA) study were performed due to various pathologies in fetal ultrasonography (USG) between 2014 and 2021. Genomic DNA isolation from fetal cells of the cases was performed according to the kit protocol (MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I) and CMA (180K, Agilent SurePrint G3 Hmn CGH+SNP) was performed. **Results:** In the family history of 192 fetal cases with CHA, pregnancy history for cardiac anomalies or presence of similar pathological findings in their first degree relatives was found in 9.9%. Twenty-three of the CHA cases were diagnosed by conventional cytogenetic and molecular cytogenetic methods (23/192, 12%). Anomaly was detected by karyotyping and CMA in 11 cases (11/23, 47.8%), by FISH in 3 cases (3/23, 13%), and by CMA analysis in 9 cases (9/23, 39.1%). The cases with genetic diagnosis had more than one cardiac anomaly (complex) and/or other organ involvement. Of the 169 cases whose pathology was not detected by these techniques, a single heart anomaly (isolated) was detected on USG in 21 of them (12.4%) and complex heart anomaly was found in 44 of them (26%). In 104 cases (61.5%), there were minor/major multisystemic involvements as well as cardiac anomaly. **Conclusion:** Early prenatal diagnosis of CHA cases is important in the management of pregnancy process and genetic counseling. In this study, the contribution of CMA analysis in combination with other cytogenetic techniques to elucidate the genetic etiology of cases (isolated, complex, multisystemic involvement) with CHA was determined as 12%. CMA analysis can be recommended for all patients with CHA, even if there is isolated cardiac finding on USG.

Anahtar Kelimeler: Konjenital kalp anomalileri; kromozomal mikro dizin; karyotip; floresan in-situ hibridizasyon

Keywords: Congenital heart anomalies; chromosomal microarray; karyotype; fluorescence in-situ hybridization

Correspondence: Hilal ŞENTÜRK

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD, İstanbul, Türkiye

E-mail: hilallsenturk@hotmail.com



Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences.

Received: 02 Dec 2022

Received in revised form: 25 Apr 2023

Accepted: 15 Jun 2023

Available online: 17 Jul 2023

2146-9040 / Copyright © 2023 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Konjenital kalp anomalileri (KKA), kalbin veya büyük damarların yapısal anomalilerinin oluşturduğu heterojen bir grubu temsil eder. Yenidoğanlarda gözlenen en yaygın doğumsal defektlerdir ve her 1.000 canlı yenidoğanın yaklaşık 7'sinde saptanmaktadır. KKA'nın yenidoğan ölümlerinin %30-50'sinden sorumlu olduğu bilinmektedir.¹ KKA'ların etiolojisinde genetik ve nongenetik faktörler rol oynamaktadır. Nongenetik faktörler arasında viral enfeksiyonlar, teratojen maruziyeti gibi çevresel etmenler, genetik etiolojide ise kromozomal anomaliler, mikrodelesyonlar ve gen düzeyindeki varyasyonların rolü bilinmektedir.^{2,3} Günümüzde tanıya yönelik yapılan tüm çalışmalarla KKA'nın ancak %20-25'inin etiolojisi aydınlatılabilmektedir.⁴ KKA'nın genetik temelini açıklanması, risk ve tedavi olanaklarının değerlendirilmesine, prognoz ve tekrarlama risklerinin belirlenmesine ve böylece ailelere etkin bir genetik danışma verilmesine önemli katkılar sağlar. Bu nedenle özellikle fetal dönemde, doğru genetik testler ile erken tanı önem taşımaktadır. Günümüzde, karyotip analizi, hedefe yönelik floresan in-situ hibridizasyon [fluorescence in-situ hybridization (FISH)] incelemeleri ve kromozomal mikrodizinin (KMD) analizleri, KKA'lı fetüslerde submikroskopik değişimler dâhil kromozomal anomalilerinin araştırılmasında kullanılan başlıca yöntemlerdir.¹

Karyotip analizi ile tüm genom incelenerek sayısal değişimleri (anöploidileri) ve 5-10 Mb'den büyük yapısal kromozomal anomalileri saptamak mümkündür. KKA ilişkili tanımlanan ilk genetik temelli anomaliler anöploidilerdir ve tüm KKA'ların %13-18'ini oluşturmaktadır.^{5,6} FISH, kromozom üzerinde hedeflenen DNA/RNA dizilerinin floresan işaretli probalar ile hibridizasyonu sonucunda ışımaya özelliğinden yararlanarak özgün bölgelerin görüntülenebilmesi sağlayan bir moleküler sitogenetik yöntemdir. Prenatal dönemde sık görülen 13, 18, 21, X ve Y kromozom anöploidilerinin hızlıca tanılmasında ve ayırıcı tanıda mikrodelesyon/duplikasyon sendromu düşünülen olguların tanısında yaygın olarak kullanılmaktadır.⁶ FISH incelemeleri ile rutin karyotip analizi ile gözden kaçabilen mikrodelesyonlar tespit edilebilmektedir. Kardiyak anomali grubunda en yaygın görülen 22q11.2 delesyon sendromunun

(OMIM: 188400) prevalansı fetüslerde 1:992, düşüklüklerde 1:1500, yenidoğanlarda ise 1:2500-1:4000 olarak verilmektedir. Bu mikrodelesyon, majör kardiyak anomalilerin yanı sıra immün yetmezlik, hipoparatiroidizm ve çeşitli derecelerde öğrenme bozuklukları ile karakterize oldukça heterojen bir klinik spektruma sahiptir. Değişken fenotip nedeniyle prenatal tanıda 22q11.2 delesyonları fenotip-genotip korelasyonu yapılamadığından CATCH22 (DiGeorge/velokardiyofasiyal/Shprintzen) sendromu olarak adlandırılmaktadır.⁷

Yüksek çözünürlüğe (1 kb'a kadar) sahip, tüm genomun tek bir testte kısa sürede incelenebilmesini sağlayan KMD analizi ile çok sayıda farklı genomik lokustaki kopya sayısı değişiklikleri (Copy Number Variations, CNV) analiz edilebilmektedir. Tüm KKA'ların %3-15'lik kısmı patojenik CNV'ler ile ilişkilendirilmiş mikrodelesyon/duplikasyon sendromlarını oluşturmaktadır.⁸ CNV'ler, KKA'lı olguların yaşam kalitesi hatta yaşam beklentisi üzerinde etkili olabileceğinden, KMD analizi çoğu gelişmiş ülkede prenatal tanıda birinci basamak olarak uygulanan bir testtir.⁹

Bu retrospektif çalışmada, 2014-2021 yılları arasında patolojik ultrasonografi (USG) bulgusu saptanan 951 prenatal olgudan genetik tanı için temin edilen amniyotik sıvı (AS), kordonsentez (KS), Koryonik Villus Örnekleme [Chorionic Villi Sampling (CVS)] veya postmortem fetal deri örneklerinin karyotip analizi ve KMD sonuçları değerlendirildi. Bu çalışmanın amacı, prenatal dönemde tespit edilen 192 KKA'lı olgunun kardiyak anomaliler için alt tiplerinin dağılımının belirlenmesi, kullanılan konvansiyonel genetik tanı yöntemlerinin (karyotip, FISH, KMD) KKA'ların prenatal tanısındaki etkinliğinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

2014-2021 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, Perinataoloji Bilim Dalında yapılan II. düzey fetal USG'de patolojik bulgu saptanması nedeniyle tıbbi genetik ana bilim dalına başvuran olgular geriye dönük olarak değerlendirildi. Bu çalışmada, karyotip analizi, paralel ya da takiben KMD

uygulanmış 951 olgudan, KKA olan 192 fetal olgunun genetik tanı sonuçları ve klinik bulguları değerlendirildi. Ayrıca fetal USG değerlendirmesinde, belirgin kardiyak anomalilerin yanı sıra perikardiyal effüzyon, triküspit regürjitasyon, duktus venozusta ters A dalgası, ventrikülde hiperekojen kardiyak odak gibi kardiyak anomali açısından şüpheli patojenik bulgular da değerlendirmeye alındı. Genetik danışmada endikasyona ve gebelik haftasına uygun test ve invaziv girişim seçenekleri hakkında aileye bilgi verildi. Bilgilendirilmiş onam alındıktan sonra USG altında yapılan invaziv girişimle elde edilen AS (n=78), KS (n=56), CVS (n=32) örnekleri veya postmortem fetal deri (n=26) örnekleri, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD, ilk aşamada sitogenetik laboratuvarında incelendi. Fetal deri, KS ve CVS dokusunda direkt, AS'de ise kültür hücrelerinden genomik DNA izolasyonu kit protokolüne göre (MagNA Pure LC DNA İzolasyon Kiti I, Roche) gerçekleştirildi.

Fetal örneklerden dokuya özgün standart tekniklerle kültür edilerek veya spontan mitotik aktivitesi olan CVS dokusunda direkt preparasyonla elde edilen kromozomlar, Giemsa bantlama tekniği kullanılarak ışık mikroskopunda (Olympus BX61, Olympus, Tokyo, Japonya) 100X büyütme ile incelendi. Metafaz evresinde kromozomlar 550-600 bant düzeyinde analiz edilerek sayısal ve büyük yapısal anomalili olgular çalışmaya dâhil edilmedi.¹⁰ Mozaisizmi dışlamak için minimum 30 hücre analiz edildi. Olguların fetal USG incelemesinde, yarık damak gibi kraniofasiyal anomaliler, mikrognati, göz anomalileri, konotrunkal KKA, timüs aplazi/hipoplazisi, hipokalsemi ve immün yetmezliğe yol açan paratiroid bezi, kas-iskelet anomalileri saptandığı durumlarda 22q11.2 delesyonu açısından değerlendirildi. Bu tip bulgulara sahip olgularda AS, KS ve CVS materyalinde direkt ya da kültür edildikten sonra 22q11.2 bölgesinde yaklaşık 2 Mb'lık alana özgü prob (N25/D22S75, ARSA, Aquarius-Cytocell, Cambridge, Birleşik Krallık) kullanılarak FISH incelemesi yapıldı. FISH incelemesi, Pinkel ve ark.nın tanımladığı şekilde gerçekleştirildi.¹¹ Hibridizasyon ve uygulama, üretici protokollerine uygun olarak yapıldı. 4',6-diamidino-2-fenil-indol, FITC ve rodamin floresan sinyalleri, uygun filtre kombinasyonları

(Pinkel #1, Chroma Technology) kullanılarak floresan mikroskopunda analiz edildi. Dijital görüntüler, kamera sistemi (COHU Cooled CCD Camera Applied Imaging, Newcastle, Birleşik Krallık) ile donatılmış, floresan mikroskobu (Nikon Eclipse E600, Japonya) kullanılarak elde edildi.

Çalışmaya dâhil edilen tüm olgulara (n=192) 180K çözünürlükte Agilent SurePrint G3 Hmn CGH+SNP kiti ile KMD uygulandı. Bu teknik, 2 farklı floresan boya ile etiketlenmiş hasta (Cy5) ve referans (Cy3) DNA'sının cam bir slayt üzerine immobilize edilmiş oligonükleotidler ile hibridizasyonuna dayanmaktadır. CNV analizleri için CytoGenomics v.3.0.6.6 (versiyon yıllar içinde aralıklarla güncellenmiştir) yazılımı (Agilent Technologies Inc.) kullanıldı. CNV sınıflandırmaları "American College of Medical Genetics and Genomics" varyasyon kılavuzuna göre yapıldı.¹² Verilerin analizinde DGV (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>), OMIM (<https://www.omim.org/>), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), DECIPHER (<https://www.deciphergenomics.org/>) ve HGMD Pro (<https://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) in silico veri tabanlarından yararlanıldı.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından (tarih: 19 Kasım 2021, no: 2021/1905) onaylanmıştır. Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uygun olarak gerçekleştirildi.

BULGULAR

Fetal USG incelemesi yapılarak prenatal tanı nedeniyle başvuran ve karyotip analizi ve KMD incelemesi yapılmış toplam 951 olgudan kardiyak anomali bulgusu gözlenen 192 olgu geriye dönük olarak klinik ve genetik sonuçlarıyla birlikte değerlendirildi (%20,2, 192/951). KKA saptanan 192 olgunun soy geçmişleri detaylı olarak incelendiğinde, ailede kardiyak anomaliler için gebelik öyküsü veya birinci derece akrabalarında benzer patolojik bulguların varlığı %9,9 oranında saptandı. Ayrıca etiyolojik olarak KKA'dan bağımsız olarak bu ailelerde, %42,3 spontan abortusların ve/veya ani bebek ölümlerinin olduğu gözlemlendi. Olguların 90'ı kız (%46,9), 102'si ise erkekti (%53,1). Tanı anındaki ortalama anne yaşı 31, ortalama gebelik haftası 22 idi.

Anatomik, klinik ve gelişimsel sürece bakıldığında oldukça heterojen bir hastalık grubu olması nedeniyle bu çalışmada incelenen 192 fetal olgu, kardiyak bulgularına göre klinik alt gruplarına ayrılarak değerlendirildi: Araştırma olguları, literatürde sıklıkla kullanılan sistematige göre siyanotik ve asiyanotik olarak 2 temel gruba ayrıldı.^{13,14} Siyanotik kalp defektlerinde sistemik venöz kanın, sistemik arteriyel kana karışması sonucunda sağ-sol şant oluşmakta ve bunun sebep olduğu sistemik arteriyel desaturasyona bağlı siyanoz oluşmaktadır. Bu gruba, fallot tetralojisi [tetralogy of fallot (TOF)], büyük arter transpozisyonu (BAT), trunkus arteriyozus, triküspit atrezi, pulmoner atrezi, hipoplastik sol kalp sendromu, çift çıkışlı sağ ventrikül [double outlet right ventricle (DORV)], total pulmoner venöz dönüş anomali ve tek ventrikül patolojileri girmektedir. Volüm ve basınç yüküne sebep olan kalp defektlerini içeren asiyanotik kalp defektleri grubunda ise atriyal septal defekt, ventriküler septal defekt (VSD), atriyoventriküler septal defekt, patent duktus arteriyozus, aort koarktasyonu, asiyanotik kalp defektleri yer almaktadır. KKA'lı olguların bu 2 gruba göre dağılımları Tablo 1'de verilmektedir. Ayrıca KKA'lı 192 olgunun karyotip analizi, KMD ve 22q.11.2 delesyon sendromunu araştırmak amacıyla yapılan FISH inceleme sonuçlarına göre klinik sınıflandırmaları Şekil 1'de verilmektedir. Buna göre fetal USG bulgularına bakılırsa tek bir kardiyak anomali bulunması (izole), 2 ya da daha fazla sayıda kardiyak anomalilerin bu-

lunması (kompleks), kardiyak anomali yanı sıra eşlik eden minör veya majör farklı sistemik tutulumların bulunması (multisistemik tutulum) durumuna göre 3 grupta değerlendirildi. Şekil 1'de izole KKA olgu sayısının 22, kompleks KKA'ya sahip olan olgu sayısının ise 51 olduğu belirlendi.

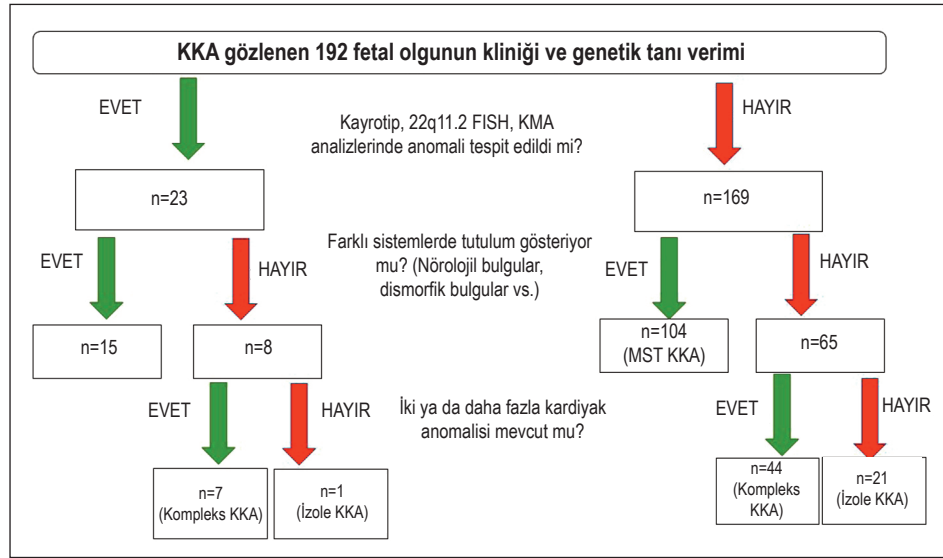
Fetal USG'de sadece kardiyak bulguları olan vakaların dışında kalan 119 olguda ise kardiyak anomaliye eşlik eden diğer sistemlerdeki tutulumlar Tablo 2'de verilmekte olup, en sık iskelet sistemindeki ek bulguların varlığı dikkat çekmektedir. Multi-sistemik tutulumlu olguların intrauterin gelişme retardasyonu (IUGR), hidrops fetalis, diyafragma hernisi, tubüler kemiklerde kısalık, brakisefali, hidronefrozu, yarı damak dudak, hipertelorizm, nazal kemik hipoplazisi, holoprozensefali, artmış ense pilişi, hiperekojen bağırsak, ventrikülomegali, çeşitli renal ve gastrointestinal sistemdeki anomaliler gibi ek minör veya majör anomalilere sahip oldukları belirlendi. Ayrıca sitogenetik ve moleküler sitogenetik testler ile genetik etiyojisi belirlenemeyen olgulardaki (n=169), izole majör kardiyak anomalili olgu sayısının 21 (%12,4), kompleks KKA grubundaki olgu sayısının 44 (%26), geriye kalan 104 (%61,5) olguda ise kardiyak anomaliye eşlik eden multisistemik tutulum olduğu belirlendi (Şekil 1).

Çalışma kapsamında değerlendirilen KKA'lı olguların 23'ünde, karyotip analizi, KMD ve endikasyon dâhilinde 22q.11.2 delesyonu araştırmak

TABLO 1: Fetal USG'de tespit edilen konjenital kalp anomalilerinin dağılımı.

Konjenital kalp anomalileri (n=192)					
Asiyanotik kalp defektleri	n	%	Siyanotik kalp defektleri	n	%
Sol-sağ şantlı;					
VSD	95	49,5	TOF	28	14,6
ASD	-		Pulmoner atrezi,	2	1,04
AVSD	9	4,7	Triküspid atrezisi	3	1,7
PDA	-		HLHS	10	2,1
Obstrüktif defektler					
AS	5	2,6	TA	4	5,2
PS	13	6,8	TAPVD	1	0,5
Aort koarktasyonu	5	2,6	BAT	9	4,7
			Tek ventrikül	1	0,5
			DORV	11	5,7

USG: Ultrasonografi; VSD: Ventriküler septal defekt; ASD: Atriyal septal defekt; AVSD: Atriyoventriküler septal defekt; PDA: Patent duktus arteriyozus; AS: Aort stenozu; PS: Pulmoner stenoz; TOF: Fallot tetralojisi; HLHS: Hipoplastik sol kalp sendromu; TA: Trunkus arteriyozus; TAPVD: Total pulmoner venöz dönüş anomali; BAT: Büyük arter transpozisyonu; DORV: Çift çıkışlı sağ ventrikül.



KKA: Konjenital kalp anomalisi; FISH: Floresan in-situ hibridizasyon; MST: Multisistemik tutulum.

TABLO 2: Fetal USG'de kardiyak anomaliye eşlik eden multisistemik tutulumların dağılımı.

	n	%
Renal anomali	10	8,4
İskelet anomali	42	35,3
Nörolojik bulgular	27	22,7
Gastrointestinal sistem anomalileri	25	21
Yarı damak/dudak	7	5,9
Ambigus genitalya	4	3,4
Hidrops fetalis	16	13,4
İntrauterin gelişme geriliği	7	5,9
Holoprozensefali	2	1,7
Ense pilisinde artış	16	13,4
Ürogenital anomaliler	3	2,5
Hipertelorizm	4	3,4

USG: Ultrasonografi.

amacıyla yapılan FISH incelemesinde, kromozomal anomali ve patojenik bir CNV tespit edildi (Tablo 3). Olgular kardiyak bulgularına göre Tablo 3'te siyanotik ve asiyanotik olarak gruplandırıldı. Başvuru gebelik haftası ileri olan ve hızlı tanı verme zorunluluğu nedeniyle 3 olguya (olgu 17, 21 ve 22) karyotip analizi ile eş zamanlı olarak KMD uygulandı. Ayrıca karyotip analizinde anomali saptanan 7 olguda (olgu 1, 5, 8, 11, 15, 16, 20) olası submikroskopik delesyon/duplikasyon varlığını araştırmak amacıyla uygulanan KMD analizinde patojenik CNV tespit edildi (Tablo 3). Bu olgulardan olgu 20'ye ait karyotip ana-

lizinde saptanan dengeli bir resiprokal translokasyon Şekil 2a'da gösterilmektedir. Bu olguların 2'sinde ise (olgu 1 ve 5) karyotip analizinde 22. kromozomun dâhil olduğu derivatif bir kromozom saptandı. Derivatif kromozomun aydınlatılması amacıyla bölgeye özgü yapılan FISH incelemesinde 22q11.2 bölgesinde delesyon saptandı. Derivatif kromozomların parental kökenini araştırmak amacıyla yapılan incelemelerde olgu 1'deki değişimin de novo olduğu, olgu 5'te ise annedeki dengeli resiprokal translokasyonun dengesiz ürünü olarak kalıtıldığı gösterildi (Tablo 3).

Karyotip analizi normal sonuçlanan 10 olgunun 3'ünde (olgu 4, 6 ve 10) FISH incelemesi ile 4'ünde (olgu 2, 3, 7 ve 14) KMD analizi ile 22q11.2 delesyonu saptandı. FISH analizinde saptanan anomalinin büyüklüğünün, içerdiği genlerin ve kırık noktalarının araştırılması amacıyla bu olgulara KMD uygulandı. Olgu 10'a ait 22q11.2 FISH incelemesine ait fluoresan mikroskop görüntüsü Şekil 2b'de ve KMD analizinin sonucu Şekil 2c'de gösterilmektedir. Karyotip analizinde kromozomal anomali saptanmayan bir olgunun (olgu 23) KMD analizinde ise 17p12 bölgesinde patojenik CNV tespit edildi. Ayrıca KMD analizi yapılan 2 olguda (olgu 9 ve 13) kromozomal kopya sayısı değişikliği saptanmasa da 15q11.2-q13 bölgesinde heterozigosite kaybı [loss of heterozygosity (LOH)] tespit edildi. Çalışmamızda 22q11.2 de-

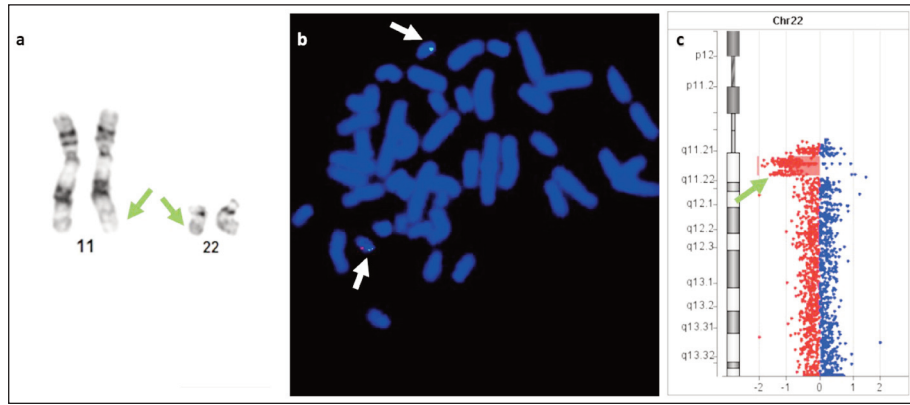
TABLO 3: Sitogenetik ve moleküler sitogenetik testler ile kromozom anomalisi tespit edilen olguların genetik ve klinik özellikleri.

Olgu	MY	GH	M	Kardiyak endikasyon	Ek klinik tutulumları	Kromozom analizi	Parental kromozom analizi	22q11.2 FISH	Kromozomal mikrodizin analizi	Büyüklüğü
Siyenotik kalp defektleri										
1	27	21 ²	AS	TOF	Displastik böbrek, sağ ayakta talipes >22qter)	45,X,-22,der(Y) (Ypter->Yq11.2?::22q12.1?>22qter)	46,XY	ish del(22)(q11.2;q11.2) (D22S75-N85A3+),Yp11.3 (SRY+DXZ1+)	arr[GRCh37] 22q11.1q11.21 (17041345_18866940)x1, 22q11.21 (20721146_21667260)x1, Yq11.22q21.23 (19953242_28713571)x1 dn	1,8 Mb ve 8,7 Mb büyüklüğünde delesyon
2	32	21+	AS	TOF A/T; DiGeorge?	-	46,XX	-	-	arr[GRCh37] 22q11.21(18729944_21505417)x1	2,7 Mb büyüklüğünde delesyon
3	32	21*	AS	TOF A/T; DiGeorge?	-	46,XY	-	-	arr[GRCh37] 22q11.21(18729944_21505417)x1	2,7 Mb büyüklüğünde delesyon
4	29	25	KS	TOF	Hidronefroz, çift toplayıcı sistem öyküsü gebelik	46,XX	-	ish del(22)(q11.2;q11.2) (D22S75-N85A3+)	arr[GRCh37] 22q11.21(18729944_21589480)x1	2,8 Mb büyüklüğünde delesyon
5	30	23*	KS	TOF, Trans DORV	TUA, sağ renal agenezi, Anhidramnios, IUGR	46,XY,-22,+der (20)(20:22)(q12.1;q13)	46,XX,t(20:22)(q12.1;q13)	ish del(22)(q11.2;q11.2) (D22S75-N85A3+)	arr[GRCh37] 20p13p11.1(60747_26312663)x3, 22q11.1q11.21 (16915658_20311763)x1	26,2 Mb büyüklüğünde duplikasyon ve 3,3 Mb büyüklüğünde delesyon
6	30	21	AS	TOF A/T; DiGeorge?	-	46,XY	-	nuc. ish del(22)(q11.2;q11.2) (D22S75-N85A3+)	arr[GRCh37] 22q11.21(18729944_21440514)x1	2,7 Mb büyüklüğünde delesyon
7	31	27	KS	TOF	Timus aplazisi	46,XY	-	-	arr[GRCh37] 22q11.21(18894835_21505417)x1	2,6 Mb büyüklüğünde delesyon
8	26	23 ³	KS	TA, pulmoner atrezili TOF	Dismorfizm, holoprozensefali, Hipoplastik başparmak	46,XY,2q-	-	-	arr[GRCh37]2q35q36.3 (218587863_226644293)x1	8Mb büyüklüğünde delesyon
9	29	16*	CVS	DORV	Kistik higroma (10 mm)	46,XY	-	-	arr[GRCh37]15q11.2q13.1 (23706111_30230355)x2 hmz	6,5 Mb büyüklüğünü kapsayan LOH
10	37	19*	AS	Perimembranöz VSD, DORV	İAY	46,XY	-	ish del(22q11.2) (D22S75-N85A3+)	arr[GRCh37] 22q11.21(18661724_21589480)x1	2,9 Mb büyüklüğünde delesyon
11	24	17*	CVS	BAT, hipoplastik sağ ventrikül	-	46,XX,20p-	-	-	arr[GRCh37] 20p13p12.1(4709272_14175391)x1	9,5 Mb büyüklüğünde delesyon
12	32	Postmortem	Fetal deri	VSD, BAT	Radyal ışın defekti, Dismorfizm	-	-	-	arr[GRCh37] 18p11.3118q23 (4130428_78012829)x3	60 Mb büyüklüğünde duplikasyon
13	28	Postmortem	Fetal deri	HLHS	-	46,XX	-	-	arr[GRCh37] 15q11.2q13.1 (23706111_29590493)x2 hmz	5,8 Mb büyüklüğünü kapsayan LOH

TABLO 3: Sitogenetik ve moleküler sitogenetik testler ile kromozom anomalisi tespit edilen olguların genetik ve klinik özellikleri (devamı).

Olgu	MY	GH	M	Kardiyak endikasyon	Ek klinik tutulumları	Kromozom analizi	Parental kromozom analizi	22q11.2 FISH	Kromozomal mikrodizin analizi	Büyüklüğü
Asiyenotik kalp defektleri										
14	34	22*	KS	İnlet VSD, aort koarktasyonu	-	46,XY		-	arr[GRCCh37]22q11.21 (18661724_21440514)x1	2,8 Mb büyüklüğünde delesyon
15	25	22 ⁻⁰	AS	İnlet VSD	Polihidramnios, bilateral PEV-TUA	46,XX,8q+		-	arr[GRCCh37]8q11.23q21.11 (54501030_76181668)x3	21,68 Mb büyüklüğünde duplikasyon
16	35	24*	KS	Malalignment VSD	Holoprozensefali, hipotelorizm, tek burun deliği	46,XY,18p-	46,XX 46,XY	-	arr[GRCCh37]18p11.32p11.21 (148963_14757041)x1	14,6 Mb büyüklüğünde delesyon
17	39	22 ⁻¹	AS	VSD	NF'de artış (19,8 mm), dilate jugular sac, İAY	47,XY,+21		-	arr[GRCCh37]21q11.2q22.3 (14671461_48090317)x3	33,4 Mb büyüklüğünde duplikasyon
18	35	23*	KS	VSD	Mega sistema magna, rizomelik kısıklık, mikropenis, dismorfizm	Üreme yok	46,XY,t(10;11)8q26.11;q24.1 46,XX	-	arr[GRCCh37]10q26.11q26.3 (121656968_135377532)x1,11q24.1q25 (123670789_134934196)x3 pat	13,7 Mb ve 11,3 Mb büyüklüğünde duplikasyon
19	37	17*	CVS* ve AS**	AVSD	IUGR, HEB, EIF	*mos 46,XX/46,XX,21q+ [48/4] **mos 46,XX/47,XX,+17 [22/45]	46,XX 46,XY	-	*arr[GRCCh37]17p13.3q25.3 (1693_81044553)x3	58,8 Mb büyüklüğünde duplikasyon
Diğer										
20	30	225*	KS	Triküspit kapak regürjitasyonu	NF'de artış (9 mm), ince bağırsak dilatasyonu	46,XY,t(11;22)(q24;q12)	46,XX,t(11;22)(q24;q12)	-	arr(1-22)x2,(X,Y)x1	Kopya sayısı değişikliği saptanmadı
21	31	25*	KS	Ventriküde hiperekojen kardiyak odak	Sol-sağ ayak clubbing	47,XXX		-	arr[GRCCh37](X)x3	47,XXX
22	31	17 ⁻¹	CVS	Duktus venozusta ters A dalgası	TUA, AMV azalmış	47,XX,+15		-	.arr[GRCCh37]15q11.1q26.3 (20416244_98779953)x3	78,3 Mb büyüklüğünde duplikasyon
23	40	13 ⁻¹	CVS	Duktus venozusta ters A dalgası	Nazal kemik izlenmemesi	46,XX		-	arr[GRCCh37]17p12(14111772_15442066)x1	1,3 Mb büyüklüğünde delesyon

MY: Maternal yaş; GH: Gebelik haftası; M: Materyal; Mb: Megabaz; FISH: Floresan in-situ hibridizasyon; AS: Amniyotik sıvı; KS: Kordosentez; CVS: Koryon villus biyopsi; TOF: Fallot tetralojisi; A/T: Ayrırcı İtani; DORV: Çift çıkışı sağ ventrikül; TA: Trunkus arteriyozus; VSD: Ventriküler septal defekt; BAT: Büyük arter transpozisyonu; HLHS: Hipoplastik sol kalp sendromu; AVSD: Atriyoventriküler septal defekt; TUA: Tek umbilikal arter; IUGR: İntrauterin gelişme retardasyonu; İAY: İleri anne yaşı; PEV: Pes ekinovarius; NF: Nüksal fold; HEB: Hiperekojen bağırsak; EIF: Ekojenik intrakardiyak odak; AMV: Amniyotik mayı volümü; LOH: Heterozigosite kaybı.



ŞEKİL 2: Olgu 20'ye ait karyotip analizi (a), olgu 10'a ait 22q11.2 FISH incelemesi (b) ve kromozomal mikrodizin analiz (c) görüntüleri. FISH: Floresan in-situ hibridizasyon.

lesyon sendromu saptanan 9 olgunun 7'sinde TOF olmak üzere konotrunkal anomaliler mevcuttu (Tablo 3). İncelenen olguların 2'sinde birinci basamak test olarak KMD uygulanmıştır. Olgu 18'de KS hücre kültüründe üreme olmadığı için karyotip analizi yapılamadığından fetal kordon kanından izole edilen DNA örneğinde KMD analizi ile patojenik CNV belirlenebildi. Olgu 12'den postmortem alınan deri örneğinden ise kültür yapılması mümkün olmadığından direkt KMD uygulandı ve anomali tespit edildi. Ayrıca başka bir olgunun (olgu 19) CVS hücrelerinin metafazlarında düşük oranlı mozaik yapısal kromozom anomalisinin (mos 46,XX/46,XX,21q+[48/4]) farklı bir fetal hücre kaynağı olan AS hücre kültüründen yapılan karyotip analizinde, mozaik trizomi 17 (mos 46,XX/47,XX,+17 [22/45]) saptandı. Kromozomal anomalisi oluşumuna hücre kültürü etkisinin belirlenmesi amacı ile CVS materyalinden elde edilen DNA örneğinden yapılan KMD analizinde trizomi 17 (arr[GRCh37]17p13.3q25.3x3) gösterildi (Tablo 3). Sonuç olarak olgunun CVS hücrelerinden yapılan karyotip analizinde trizomi 17'nin tespit edilmemesi ve düşük oranlı 21q duplikasyonu saptanması, fetüsten alınan hücre kaynağı veya hücrelerin kültürde üremesiyle ilgili faktörlerden kaynaklı olabileceği şeklinde değerlendirildi.

TARTIŞMA

KKA gibi hayatta kalmak için erken müdahale gerektiren malformasyonların prenatal dönemde saptanması, multidisipliner değerlendirmelerle postnatal

cerrahi prosedürlerin planlanmasına olanak sağlayarak, KKA mortalitesini önemli ölçüde azaltılmasına olanak sağladığı gibi KKA'ya eşlik eden bulgularında mevcut olduğu sendromların erken prenatal tanısı da gebelik sürecinin değerlendirilmesine önemli katkılar sunmaktadır. Bu çalışmada, KKA'lı fetal olguların erken tanısında konvensiyonel tanı yöntemlerinin etkinliğinin belirlenerek en uygun tanı yaklaşımlarının belirlenmesine yardımcı olabilecek veriler retrospektif olarak değerlendirildi. Çalışma kapsamında, 8 yıllık periyotta, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalına patolojik fetal USG bulguları ile başvurarak karyotip analizi ile birlikte KMD analizi yapılmış 951 olguda KKA sıklığı %20,2 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki bu sonuç, bildirilen retrospektif çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.¹⁵ Çalışmalar, KKA'ların antenatal dönemde saptanan malformasyonlar içinde en yaygın anomaliler olduğunu göstermektedir.^{5,15}

Tek bir tersiyer merkezde invaziv prenatal teste tabi tutulan 1.005 fetüsün, retrospektif olarak değerlendirildiği kohort çalışmasında, kardiyak anomali tespit edilen olguların %61'inde, ek yapısal malformasyonların varlığı gösterilmektedir. En yaygın malformasyonlar, yüz boyun ve iskelet anomalileri olarak belirtilmektedir.¹⁵ Çalışmamızda olguların %61,9'unda (119/192) kardiyak anomalilerin diğer yapısal malformasyonlarla birlikteliği gözlemlendi. İskelet anomalisi en yaygın malformasyon olup, bunu nörolojik anomaliler izlemektedir. Ayrıca çalışma-

mızda literatür bilgisi ile paralel olarak septal defektler tanımlanan en yaygın kalp anomalileriydi.

Genetik laboratuvarlarında kullanılan karyotip analizi ile tüm genom incelenebilse de karyotip analizinin düşük çözünürlüğe sahip olması ve 5 Mb'den daha küçük kromozomal değişimleri tespit edememesi dezavantajlarındandır. Çalışmalar, prenatal tanıda KMD tekniğinin, normal karyotipe sahip olgularda %1,7 ile %9 arasında, ultrasonda ek bir patolojik bulgu saptanan fetüslerde ise yaklaşık %10 tanı verimine katkı sağladığını göstermektedir.¹⁶⁻¹⁸ Çalışmamızda normal karyotip sonucu olan KKA'lı fetüslerde yapılan KMD analizinde %6,6'sında (12/182) patojenik olarak değerlendirilen bir CNV tespit edilmiştir. Jansen ve ark.nın 1.131 prenatal KKA olgusunun dâhil edildiği metaanaliz çalışmasında, anöploidi ve 22q11.2 delesyon olguları dışlandığında KMD tekniğinin patojenik CNV'leri saptamada %7 oranında tanı verimini artırdığı, bu oranın 22q11.2 delesyon olguları dâhil edildiğinde ise %12'ye çıktığı belirtilmiştir.¹⁹ Çözünürlük, kullanılan platform ve prob aralığına bağlı olsa da KMD yöntemi kilobazlar düzeyindeki özellikle submikroskopik kromozom anomalilerinin tanısında geleneksel karyotiplemeden çok daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. FISH, kliniğin bilinen bir mikrodelesyon sendromuna işaret ettiği durumlarda patojenik CNV'lerin hızlıca tanımlanmasında kullanılan önemli bir yöntemdir. Ancak FISH problemlerinin proksimalinde veya distalinde atipik veya daha küçük delesyonlar/duplikasyonlar yanlış negatif sonuçların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle normal bir FISH sonucu, mikrodelesyon sendromlarını kesin olarak dışlayamamaktadır. Bu açıdan KMD, CNV'lerin teşhisi için altın standart olmaya devam etmektedir.²⁰ Bu çalışmada da sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemlerle tanı alan olgu grubunda 22q11.2 delesyonu en yaygın görülen patoloji olarak belirlendi. 22q11.2 delesyon sendromunun FISH incelemesi ile saptanabiliyor olsa dahi bu olgulara ayrıca anomalinin boyutu, içerdiği genler ve kırık noktalarının kesin olarak belirlenmesi amacıyla KMD uygulanması önem taşımaktadır. Bu çalışmada, KMD ile belirlenen delesyon boyutunun 1,8 Mb ile 3,3 Mb arasında değiştiği gösterildi. Literatürde bu genomik varyasyonların farklı fenotiplere neden ol-

duğu gösterilmektedir.²¹ Ek olarak çalışmamızda, erken prenatal tanıda, özellikle ileri gebelik haftası veya klinik bulguların ciddiyetinin fazla olduğu durumlarda, karyotip analizi ile paralel olarak uygulanan KMD analizinin maliyeti daha fazla olsa da hızlı sonuç alınmasına imkân verdiği için tanı verimi daha yüksek olduğu belirlendi.

22q11.2 delesyon sendromunda konotrunkal anomaliler (TOF, TA, DORV, BAT) yaygın olarak görülmekte olup, ilk sırada TOF yer almaktadır (%29-42).²²⁻²⁴ Sarac Sivriköz ve ark.nın, 22q11.2 delesyonlu olguların dâhil edildiği çalışmada, sitogenetik/moleküler testler ve postmortem veya postnatal dönemdeki klinik bulgular değerlendirilmektedir. Çalışmalarındaki fetal olgularda, KKA %94, konotrunkal anomaliler %54 ve TOF %44,4 oranında belirlenmiştir.²¹ Çalışmamızdaki KKA'lı olgularda, 22q11.2 delesyon saptanan 8 olgunun 7'sinde (%87,5) TOF olduğu gözlemlendi. Çalışmamızda, karyotip analizi ile 22. kromozomun dâhil olduğu derivatif bir kromozom saptanan 22q11.2 delesyonu sendromlu 2 olguda parental kökeni bu çalışmada araştırılmış olup, bir olguda değişimin de novo olduğu, diğer olguda ise annedeki dengeli resiprokal translokasyona bağlı olarak kalıtıldığı gösterildi. Dengeli taşıyıcıların dengesiz gamet verme olasılığı olduğundan yapısal kromozom anomalisi saptanan olgularda ailevi taşıyıcılık olasılığı nedeniyle parental analizlerin yapılması önem taşımaktadır. Ayrıca anomalinin kırık noktaları, olası submikroskopik delesyon/duplikasyon varlığı ve bu bölgelerde yer alan genler KMD analizi ile belirlenebilmektedir. Bu çalışmada da bir olguda KMD analizi ile 22. kromozomda saptanan delesyon bölgesinin klasik 22q11.2 delesyon sendromu ile ilişkili tüm genleri içermediği ancak *LZTR1* genini kapsadığı gösterildi. Kurahashi ve ark.nın çalışmasında, *LZTR1* geninin 22q11.2 delesyon sendromundaki gelişimsel anomaliler ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.²⁵

KMD yöntemi, dengeli kromozomal yeniden düzenlemeleri, triploidi ve düşük oranlı mozaizm tanısında dezavantajlara sahiptir.⁸ Çalışmamızda, parental karyotip analizinde dengeli görünen t(11;22) resiprokal translokasyonu annesinden kalıtıldığı belirlenen aynı translokasyona sahip olguda (olgu 20) kırık noktalarına ya da genomun başka bir yerindeki

olası genomik dengesizliklere bağlı muhtemel etkilerin belirlenebilmesi için yapılan KMD analizinde, klinik olarak anlamlı kopya sayısı değişikliği saptanmamıştır. Bir başka olguda (olgu 19), CVS hücrelerinden analiz edilen metafazlarda, mozaik yapısal bir anomali saptanmıştır. Fetal doku incelemesi amacıyla amniyosentezden başlatılan hücre kültüründe farklı kromozom yapısı saptandı. CVS ve AS hücre kültürlerinde görülen farklı kromozomal bulgular nedeniyle CVS materyalinden yapılan KMD çalışmasında, mozaik trizomi 17 ile uyumlu sonuç saptanmıştır. Bu sonuç, fetüste gerçek mozaizm olduğunu gösterirken CVS hücre kültüründeki düşük oranlı mozaik kromozomal anomalinin kökeni aydınlatılmamış olup, bu durumun hücre kültür efektine bağlı bir değişim olabileceği düşünülmüştür. Hücre kültürlerinde in vitro koşullarda, anomalili hücrelerin üreyememesi ya da kültüre bağlı yeni anomalilerin oluşabilmesi gibi olasılıklar mevcut olduğundan fetal hücrelerden doğrudan DNA izole edilebilerek KMD analizi yapılabiliyor olması konfirmasyon gerektiren durumlarda önem taşımaktadır. Sonuçta teknik kısıtlılıkların ve avantajların da göz önüne alınarak, bu 2 tekniğin eş zamanlı olarak uygulanması genetik etiolojinin aydınlatılmasında önem taşımaktadır.

Çalışma grubumuzda normal karyotip sonuçlu 2 olguda (olgu 9 ve 13) olası submikroskopik mikrodelesyon/duplikasyonların araştırılması amacıyla uygulanan KMD analizinde klinik olarak anlamlı herhangi bir kromozomal kopya sayısı değişikliği tespit edilmemiş, ancak 15. q11.2q13.1 bölgesinde içeriğinde *MKRN3*, *MAGEL2*, *NDN*, *PWRN2*, *PWRN1*, *NPAP1*, *SNRPN*, *SNORD116-1*, *IPW*, *SNORD115-1*, *UBE3A*, *ATP10A*, *GABRB3*, *GABRA5*, *GABRG3*, *OCA2*, *HERC2*, *APBA2*, *TJP1* genlerinin olduğu bir LOH saptanmıştır. Bu bölgedeki heterozigotluk kayıplarının Prader-Willi/Angelman sendromları ile ilişkili olduğu bilinmekle birlikte klinik ilişkisinin metilasyon spesifik testlerle doğrulanması gerekmektedir.

Yirminci kromozomun kısa kolundaki delesyonların konjenital kalp tutulumunun sık görüldüğü Alagille sendromu ile uyumlu olduğu bildirilmektedir.²⁶ Çalışmamızda, fetal USG’de saptanan BAT ve hipoplastik sağ ventrikül bulguları olan bir fetal olguda (olgu 11), KMD analizi ile saptanan 20p13p12.1 delesyonunun, sitogenetik lokalizasyonu

20p12.2 olan *JAG1* geni ile ilişkili Alagille sendromuna (OMIM: 118450) neden olabileceği gösterilmiş oldu.

KMD analizinde, olgu 16’da saptanan 18. kromozomun p11 bölgesinde 14,6 Mb büyüklüğünde bir delesyonun fetal USG’de tespit edilen “Malalignment” VSD, holoprozensefali, hipotelorizm ve tek burun deliği bulguları ile ilişkili olabileceği belirlendi. Bu delesyon bölgesinde yer alan *TGIF* geni (sitogenetik lokalizasyonu: 18p11.31) holoprozensefali (OMIM: 142946) ile ilişkili olup, fetal olgudaki USG bulgularını açıklamaktadır. Olgu 23 için yapılan KMD analizinde 17. kromozomun p12 bölgesinde 1,3 Mb büyüklüğünde bir delesyon saptandı. Literatürde 17p12 bölgesi frajil bölge olup (OMIM: 136660) bu bölge delesyonları, herediter basınca duyarlı nöropati sendromuyla (OMIM: 162500) ilişkili olduğu bildirilse de olgulardaki kardiyak anomaliler ile ilişkisi hâlen bilinmemektedir.²⁷

Çalışmalar, ekstra kardiyak malformasyonlu olgulardaki tanı veriminin izole KKA olgularına göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.^{18,28} Wimalasundera ve Gardiner, kromozomal anomalisi olan KKA’dan etkilenen fetüslerin %98’inin en az bir ekstra kardiyak anomaliye sahip ve önemli ölçüde daha kötü prognoza sahip olduğunu belirtmektedir.²⁹ Ek olarak Wang ve ark.nın çalışması da izole KKA olgularında patojenik CNV’lerin tespit oranlarının diğer yapısal anomalilerle ilişkili olgulardan önemli ölçüde düşük olduğunu ortaya koymaktadır.³⁰ Çalışmamızda konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik yöntemlerle kromozomal anomali tespit edilen olguların, sadece birinde KKA izole iken, diğer 22 olguda birden fazla kardiyak anomali ve/veya multisistemik anomaliler mevcuttu.

SONUÇ

Bu çalışmada, sadece karyotip analizi ile tanı alabilecek olgular dışında kalan geniş bir fetal olgu grubunda konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik tanı yöntemlerinin birlikte kullanımlarının, KKA ve ilgili sendromlarının prenatal tanısında %12 oranında verim sağladığı gösterildi. Sonuç olarak genetik tanı laboratuvarlarında rutin olarak kullanılan karyotip ve KMD analizlerinin tüm KKA

olgularında ilk basamak test olarak uygulanması önemli olup, KKA'nın genetik etiolojisinin belirlenebilmesi için yeni nesil dizileme teknolojileri gibi daha ileri tekniklere gereksinim duyulmaktadır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üye-

liği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Seher Başaran, Birsen Karaman, Evrim Kömürücü Bayrak; **Tasarım:** Birsen Karaman, Evrim Kömürücü Bayrak, Hilal Şentürk; **Denetleme/Danışmanlık:** Birsen Karaman, Evrim Kömürücü Bayrak; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Hilal Şentürk, Tuğba Saraç Sivrikoz, Bilge Özsaıt Selçuk, Gülnihal Bulut; **Analiz ve/veya Yorum:** Hilal Şentürk, Bilge Özsaıt Selçuk, Gülnihal Bulut; **Kaynak Taraması:** Hilal Şentürk; **Malzemenin Yazımı:** Hilal Şentürk; **Eleştirel İnceleme:** Birsen Karaman, Evrim Kömürücü Bayrak; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Birsen Karaman; **Malzemeler:** Tuğba Saraç Sivrikoz, Rukiye Nurten Ömeroğlu, Tuğba Kalaycı, Recep Has, İbrahim H. Kalelioğlu, Atıl Yüksel.

KAYNAKLAR

1. Qiao F, Hu P, Xu Z. Application of next-generation sequencing for the diagnosis of fetuses with congenital heart defects. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2019;31(2):132-8. [Crossref] [PubMed]
2. Nora JJ. Multifactorial inheritance hypothesis for the etiology of congenital heart diseases. The genetic-environmental interaction. *Circulation.* 1968;38(3):604-17. [Crossref] [PubMed]
3. Williams K, Carson J, Lo C. Genetics of Congenital Heart Disease. *Biomolecules.* 2019;9(12):879. [Crossref] [PubMed] [PMC]
4. Chung WK. Genetic basis of congenital heart disease. In: Ginsburg G, Willard H, Woods CW, Tsallik EL, eds. *Genomic and Precision Medicine.* 3rd ed. London: Elsevier; 2018. p.221-34. [Crossref] [PubMed]
5. Qiao F, Wang Y, Zhang C, Zhou R, Wu Y, Wang C, et al. Comprehensive evaluation of genetic variants using chromosomal microarray analysis and exome sequencing in fetuses with congenital heart defect. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021;58(3):377-87. [Crossref] [PubMed]
6. Huber D, Voith von Voithenberg L, Kaigala GV. Fluorescence in situ hybridization (FISH): History, limitations and what to expect from micro-scale FISH? *Micro and Nano Engineering.* 2018;1:15-24. [Crossref]
7. Yonehara Y, Nakatsuka T, Ichioka S, Sasaki N, Kobayashi T. CATCH 22 Syndrome. *J Craniofac Surg.* 2002;13(5):623-6. [Crossref] [PubMed]
8. Nacheva EP, Grace CD, Bittner M, Ledbetter DH, Jenkins RB, Green AR. Comparative genomic hybridization: a comparison with molecular and cytogenetic analysis. *Cancer Genet Cytogenet.* 1998;100(2):93-105. [Crossref] [PubMed]
9. van Nisselrooij AEL, Lugthart MA, Clur SA, Linskens IH, Pajkrt E, Rammelo LA, et al. The prevalence of genetic diagnoses in fetuses with severe congenital heart defects. *Genet Med.* 2020;22(7):1206-14. [Crossref] [PubMed] [PMC]
10. Rooney DE, Czepulkowski BH. *Human Cytogenetics: A Practical Approach.* Vol. II. 2nd ed. Oxford: IRL Press; 1992.
11. Pinkel D, Straume T, Gray JW. Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1986;83(9):2934-8. [Crossref] [PubMed] [PMC]
12. Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, et al. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med.* 2020;22(2):245-57. Erratum in: *Genet Med.* 2021;23(11):2230. [Crossref] [PubMed] [PMC]
13. Saenz RB, Beebe DK, Triplett LC. Caring for infants with congenital heart disease and their families. *Am Fam Physician.* 1999;59(7):1857-68. [PubMed]
14. Çetiner N, Çeliker A. Konjenital kalp hastalıklarında epidemiyoloji, genetik yöner, fetal değerlendirme ve sınıflandırma. Üzüm K, editör. *Konjenital Kalp Hastalıkları.* 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.1-5. [Link]
15. Wójtowicz A, Madetko-Talowska A, Wójtowicz W, Szewczyk K, Huras H, Bik-Multanowski M. Cardiovascular anomalies among 1005 fetuses referred to invasive prenatal testing—a comprehensive cohort study of associated chromosomal aberrations. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(16):10019. [Crossref] [PubMed] [PMC]
16. Wapner RJ, Martin CL, Levy B, Ballif BC, Eng CM, Zachary JM, et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *N Engl J Med.* 2012;367(23):2175-84. [Crossref] [PubMed] [PMC]
17. Grande M, Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Odibo AO, Haak MC, et al. Genomic microarray in fetuses with increased nuchal translucency and normal karyotype: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;46(6):650-8. [Crossref] [PubMed]
18. Lund IC, Christensen R, Petersen OB, Vogel I, Vestergaard EM. Chromosomal microarray in fetuses with increased nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(1):95-100. [Crossref] [PubMed]
19. Jansen FA, Blumenfeld YJ, Fisher A, Cobben JM, Odibo AO, Borrell A, et al. Array comparative genomic hybridization and fetal congenital heart defects: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(1):27-35. [Crossref] [PubMed]
20. Rachamadugu SI, Miller KA, Lee IH, Ying S. Zou, Genetic detection of congenital heart disease, *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine.* 2022;2(3):109-23. [Crossref]

21. Sarac Sivriköz T, Basaran S, Has R, Karaman B, Kalelioglu IH, Kirgiz M, et al. Prenatal sonographic and cytogenetic/molecular findings of 22q11.2 microdeletion syndrome in 48 confirmed cases in a single tertiary center. *Arch Gynecol Obstet.* 2022;305(2):323-42. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Besseau-Ayasse J, Violle-Poirsier C, Bazin A, Gruchy N, Moncla A, Girard F, et al. A French collaborative survey of 272 fetuses with 22q11.2 deletion: ultrasound findings, fetal autopsies and pregnancy outcomes. *Prenat Diagn.* 2014;34(5):424-30. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
23. Noël AC, Pelluard F, Delezoide AL, Devisme L, Loeuillet L, Leroy B, et al. Fetal phenotype associated with the 22q11 deletion. *Am J Med Genet A.* 2014;164A(11):2724-31. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Bretelle F, Beyer L, Pellissier MC, Missirian C, Sigaudy S, Gamberre M, et al. Prenatal and postnatal diagnosis of 22q11.2 deletion syndrome. *Eur J Med Genet.* 2010;53(6):367-70. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Kurahashi H, Akagi K, Inazawa J, Ohta T, Niikawa N, Kayatani F, et al. Isolation and characterization of a novel gene deleted in DiGeorge syndrome. *Hum Mol Genet.* 1995;4(4):541-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
26. Kamath BM, Thiel BD, Gai X, Conlin LK, Munoz PS, Glessner J, et al. SNP array mapping of chromosome 20p deletions: genotypes, phenotypes, and copy number variation. *Hum Mutat.* 2009;30(3):371-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
27. Attarian S, Fatehi F, Rajabally YA, Pareyson D. Hereditary neuropathy with liability to pressure palsies. *J Neurol.* 2020;267(8):2198-206. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Hartman RJ, Rasmussen SA, Botto LD, Riehle-Colarusso T, Martin CL, Cragan JD, et al. The contribution of chromosomal abnormalities to congenital heart defects: a population-based study. *Pediatr Cardiol.* 2011;32(8):1147-57. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Wimalasundera RC, Gardiner HM. Congenital heart disease and aneuploidy. *Prenat Diagn.* 2004;24(13):1116-22. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
30. Wang Y, Cao L, Liang D, Meng L, Wu Y, Qiao F, et al. Prenatal chromosomal microarray analysis in fetuses with congenital heart disease: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(2):244.e1.e17. Erratum in: *Am J Obstet Gynecol.* 2018. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]