

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI



**EPİLEPSİ HASTALARINDA KROMOZOMAL KOPYA SAYISI  
DEĞİŞİKLİKLERİNİN (CNV) aCGH YÖNTEMİ İLE RETROSPEKTİF OLARAK  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

Dr. Burcu ALBUZ

**TEZ DANIŞMANI**

Prof. Dr. Fatma SILAN

Çanakkale/2019

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

**EPİLEPSİ HASTALARINDA KROMOZOMAL KOPYA SAYISI  
DEĞİŞİKLİKLERİNİN (CNV) aCGH YÖNTEMİ İLE RETROSPEKTİF OLARAK  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

Dr. Burcu ALBUZ

**TEZ DANIŞMANI**

Prof. Dr. Fatma SILAN

Çanakkale/2019

T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Tıpta uzmanlık  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Dr. Burcu ALBUZ'un **Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/12/2019

**TEZ KONU BAŞLIĞI**  
EPILEPSİ HASTALARINDA KROMOZOMAL KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİNİN  
(CNV) aCGH YÖNTEMİ İLE RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma SILAN

Tez Jürisi Üyeleri:

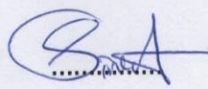
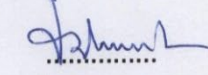
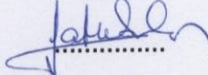
Adı Soyadı

Prof. Dr. Fatma SILAN

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Dr. Öğr. Üyesi Sinem ATİK YALÇINTEPE

İmzası



ONAY:

Bu tez Anabilim/Bilim Dalı Akademik Kurulunca belirlenen yukarıdaki  
jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim  
Kurulunun 12.12.2015 tarih ve 1.63.10.7. sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Tamer DEMİR

.....Dekan.....

Dekan

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımda olan ve aynı zamanda manevi desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Fatma SILAN ve Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e; bu süreçte bana destek olan, pozitif enerjileri ile güç veren başta Dr. Menekşe ÖZTÜRK olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma; bugünlere gelmemde büyük emek harcayan aileme ve uzakta olsa da her anımda yanımda hissettiren biricik eŐim BarıŐ ALBUZ'a çok teşekkür ederim.

**Dr. Burcu ALBUZ**

# EPİLEPSİ HASTALARINDA KROMOZOMAL KOPYA SAYISI DEĞİŞİKLİKLERİNİN (CNV) aCGH YÖNTEMİ İLE RETROSPEKTİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

## ÖZET

**GİRİŞ ve AMAÇ:** Epilepsi tekrarlayıcı nöbetler ile karakterize kronik bir beyin hastalığıdır ve dünyada 50 milyondan fazla insanı etkilediği tahmin edilmektedir. Hastalığın yaşam boyu insidansı %3, prevalansı ise yaklaşık %1 olarak bildirilmiştir. Epilepsi, toplumda sık görülen hastalıkların çoğu gibi poligenik ve multifaktoriyel bir hastalıktır. Epilepsi etiyolojisinde genetik faktörler başta gelmekte ve tüm epilepsilerin %40-60'ında genetik nedenlerin majör rol oynadığı düşünülmektedir. Kopya sayısı varyantları (copy number variation-CNV'ler) genomda değişken boyutlardaki artış veya azalmalardır. Bu değişimler, çeşitli genetik analizler ile tespit edilebilmekte olup array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH) yöntemi bunlar arasında sık kullanılanlarından biridir. Yapılan çalışmalarda kopya sayısı değişimleri farklı epilepsi tiplerine sahip hastaların yaklaşık %5-12'sinde bildirilmiştir. Çalışmamızda; epilepsi tanılı hastalarda aCGH verilerinin retrospektif olarak incelenerek; aCGH'in bu hasta grubundaki tanısal veriminin belirlenmesi ve epilepsi etiyolojisindeki yeni aday gen ve CNV'lerin ortaya konması amaçlanmıştır.

**YÖNTEM:** Araştırmamıza, 1 Nisan 2019 tarihine kadar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğine epilepsi tanısıyla başvurup aCGH analizleri yapılmış hasta verileri dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen 80 hastanın sosyodemografik, klinik ve laboratuvar bulguları retrospektif olarak incelenmiş ve bu hastaların aCGH ham verileri, retrospektif olarak güncel literatür verileri ışığında yeniden analiz edilmiştir.

**BULGULAR:** Araştırmaya dahil edilen 80 hastanın 16'sında patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanmış olup 14'ünde (%17,5) bu CNV epilepsi fenotipi ile

ilişkilendirilmiştir. Bunun haricinde 14 ayrı kromozomal bölgede yer alan, 16 tane epilepsi ile ilişkili olabilecek klinik önemi bilinmeyen varyant-VUS CNV tespit edilmiştir.

**SONUÇ:** Araştırmamızda, epilepsi hastalarındaki aCGH analizinin tanısal verimi güncel literatür verilerinden yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni, çalışma grubumuzun küçük olması, olguların %56,3'ünde mental retardasyon/global gelişim geriliği fenotipinin eşlik etmesi, %53,8'inde ailede epilepsi tanılı birey öyküsünün bulunması ve özellikle CNV yorumlamasında boyut filtrelemesi yapmamamız olabilir. Dört olguda (%5) 100kb'dan küçük boyutta epilepsi ile ilişkili CNV saptanmış olup bu CNV'ler çalışmamızdaki epilepsi ile ilişkili tüm CNV'lerin %13,3'ünü oluşturmaktadır. Olgularda saptanan epilepsi ile ilişkili patojenik/muhtemel patojenik CNV'ler içerisinde en sık 15q11.2 ve 16p13.3 bölgelerinde duplikasyon ile 16p11.2 bölgesinde delesyon (her biri için %14,2) tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda 16 adet VUS CNV saptanmıştır. MACROD2, ADGRB3 (BAI3), SOX8, HIP1, PARK2 (PRKN) ve TFAA2 (FAM19A2) genleri potansiyel epilepsi ile ilişkili gen olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca NEDD9, RASAL2 ve TNR genlerinin de epilepsi ile ilişkisine dair daha çok çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Bunlara ek olarak çalışmamızdaki veriler, mikrodelesyonları epilepsi ile güçlü şekilde ilişkilendirilen 15q13.3 bölgesinin duplikasyonlarının da epilepsi fenotipi ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir. Epilepsi hastalarında genetik etiyolojinin aydınlatılması oldukça zor ve karmaşıktır. Çalışmamız, aCGH'in epilepsi hastalarında tanı veriminin yüksek olduğunu göstermiş olup yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla epilepsi hastalarında genetik etiyolojide yer alan genlerin aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

**ANAHTAR KELİMELER:** aCGH, epilepsi, kopya sayısı değişimi, mikroarray, nöbet.

**THE RETROSPECTIVE INVESTIGATION OF CHROMOSOMAL COPY  
NUMBER VARIATIONS (CNV) WITH aCGH METHOD IN EPILEPSY  
PATIENTS**

**ABSTRACT**

**INTRODUCTION and AIM:** Epilepsy is a chronic brain disease characterized by recurrent seizures and is estimated to affect more than 50 million people worldwide. The lifetime incidence of the disease is reported to be 3% and its prevalence is approximately 1%. Epilepsy is a polygenic and multifactorial disease, as the most common disease in the community. Genetic factors are leading in the etiology of epilepsy and genetic causes play a major role in 40-60% of all epilepsies. Copy number variations (CNVs) are gains or losses in variable sizes in the genome. These changes can be detected by various genetic analyzes, and the array-based comparative genomic hybridization (aCGH) method is one of the most commonly used. In studies, copy number variations have been reported in approximately 5-12% of patients with different types of epilepsy. In our study; we aimed to determine the diagnostic yield of the aCGH in this patient group and to reveal new candidate genes and CNVs in the etiology of epilepsy by analyzing aCGH data retrospectively in patients with epilepsy.

**METHODS:** The data of the patients who referred to Çanakkale Onsekiz Mart University Medical School Medical Genetics department with the diagnosis of epilepsy until April 1 2019, and performed aCGH were included in our study. The sociodemographic, clinical and laboratory findings of the 80 patients included in the study were examined retrospectively and the raw data of aCGH of these patients were retrospectively reanalyzed in the light of current literature data.

**RESULTS:** Pathogenic/likely pathogenic CNVs were detected in 16 of 80 patients included in the study and 14 of these CNVs (17.5%) were associated

with epilepsy phenotype. In addition, 16 CNVs in 14 different chromosomal loci that were evaluated as the variant of unknown clinical significance (VUS), which may be associated with epilepsy was identified.

**CONCLUSION:** In our study, the diagnostic yield of aCGH analysis in epilepsy patients was found to be higher than the current literature. This may be due to our small group, the accompaniment of mental retardation/global development delay phenotype in 56.3% and a family history of epilepsy diagnosis in 53.8% of the cases, and especially not filtering for size in the interpretation of CNVs. Four cases (5%) had CNVs less than 100kb associated with epilepsy and these CNVs accounted for 13.3% of all CNVs associated with epilepsy in our study. Among the pathogenic/likely pathogenic CNVs associated with epilepsy, duplications in the 15q11.2 and 16p13.3 regions and the deletions in the 16p11.2 region (14.2% for each) were detected most. In addition, 16 VUS CNVs were detected in our study. MACROD2, ADGRB3 (BAI3), SOX8, HIP1, PARK2 (PRKN) and TAF2 (FAM19A2) genes were evaluated as potential epilepsy-related genes. Furthermore more studies are needed to investigate the association of NEDD9, RASAL2 and TNR genes with epilepsy. In addition, the data in our study support that duplications of the 15q13.3 region whose microdeletions are strongly associated with epilepsy may also be associated with the epilepsy phenotype. The genetic etiology of epilepsy patients is difficult and complex to elucidate. Our study showed that the diagnostic efficiency of aCGH in epilepsy patients is high and with more comprehensive studies, it will contribute to the elucidation of genes involved in genetic etiology in epilepsy patients.

**KEYWORDS:** aCGH, epilepsy, copy number variation, microarray, seizure.



# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	iii
ÖZET .....	iv
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	x
TABLolar .....	xii
ŞEKİLLER .....	xiii
<b>1.GİRİŞ ve AMAÇ.....</b>	<b>1</b>
<b>2.GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Nöbet ve Epilepsi .....</b>	<b>4</b>
2.1.1 Nöbet Tanımı .....	4
2.1.2 Epilepsi Tanımı .....	5
2.1.3 Epilepsi Epidemiyolojisi .....	8
2.1.4 Epilepsi Sınıflandırması .....	13
2.1.5 Epilepsi Mortalitesi.....	14
2.1.6 Epilepsi Tedavisi.....	15
<b>2.2 Epilepsi Etiyolojisi .....</b>	<b>16</b>
2.2.1 Yapısal Nedenler .....	17
2.2.2 Enfeksiyöz Nedenler.....	18
2.2.3 Metabolik Nedenler.....	18
2.2.4 İmmün Nedenler .....	18
2.2.5 Genetik Nedenler .....	19
<b>2.3 Epilepsi Etiyolojisinde CNV'ler .....</b>	<b>25</b>
2.3.1 CNV Nedir? .....	25
2.3.2 CNV Tespitinde Kullanılan Yöntemler.....	26
2.3.3 Epilepsi Etiyolojisinde CNV'lerin Rolü.....	28

<b>3.GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1 Hasta Seçimi</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2 Gereçler</b> .....	<b>32</b>
3.2.1 Kullanılan Aletler.....	32
3.2.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	32
<b>3.3 Yöntem</b> .....	<b>33</b>
3.3.1 DNA İzolasyonu.....	33
3.3.2 Etiketleme Öncesi gDNA Hazırlığı.....	34
3.3.3 Array CGH Metodu ve Uygulanması.....	34
<b>3.4 CNV Analizi</b> .....	<b>45</b>
3.4.1 Yazılımda Saptanan CNV'yi Anlamlı Kabul Etme Kriterleri.....	45
3.4.2 Saptanan CNV'lerin Sınıflandırılması .....	46
<b>3.5 İstatiksel Analiz</b> .....	<b>48</b>
<b>4.BULGULAR</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1 Olguların Demografik Özellikleri</b> .....	<b>49</b>
<b>4.2 Olguların Klinik Özellikleri</b> .....	<b>51</b>
<b>4.3 Olguların CNV Değerlendirmesi</b> .....	<b>55</b>
<b>4.4 Hasta Verilerinin aCGH Sonuçları Açısından Karşılaştırılması</b> .....	<b>64</b>
<b>5.TARTIŞMA</b> .....	<b>71</b>
<b>5.1 Olgularda Saptanan CNV'ler</b> .....	<b>76</b>
<b>6.SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	<b>123</b>
<b>7.KAYNAKLAR</b> .....	<b>126</b>
<b>8.EKLER</b> .....	<b>142</b>
<b>EK 1.Etik Kurul Onayı</b> .....	<b>142</b>
<b>9.ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>143</b>

## KISALTMALAR VE SİMGELER

<b>aCGH</b>	Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
<b>ANCL</b>	Otozomal dominant erişkin nöronal seroid lipofusinozis
<b>ASD</b>	Anti-konvulzan ilaç (anti-seizure drug)
<b>CMA</b>	Kromozomal mikroarray
<b>CMV</b>	Sitomegalovirüs
<b>CNV</b>	Kopya sayısı değişimi (copy number variation)
<b>ÇOMÜ-SUAH</b>	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi
<b>DECIPHER</b>	DatabasE of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources
<b>DGV</b>	The Database of Genomic Variants
<b>DS</b>	DiGeorge sendromu
<b>DZ</b>	Dizigotik
<b>EE</b>	Epileptik ensefalopati
<b>EEG</b>	Elektroensefalografi
<b>FISH</b>	Floresan in situ hibridizasyon
<b>GGG</b>	Global gelişim geriliği
<b>GJE</b>	Genetik jeneralize epilepsi
<b>ID</b>	Entellektüel yetersizlik (intellectual disability)
<b>ILAE</b>	International League Against Epilepsy
<b>İJE</b>	İdiyopatik jeneralize epilepsi
<b>JME</b>	Juvenil miyoklonik epilepsi
<b>JTK</b>	Jeneralize tonik-klonik
<b>kb</b>	Kilobaz
<b>Mb</b>	Megabaz
<b>MLPA</b>	Multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu
<b>MR</b>	Mental retardasyon
<b>MRG</b>	Manyetik rezonans görüntüleme
<b>MSS</b>	Merkezi sinir sistemi

<b>mTOR</b>	Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (Mammalian target of rapamycin)
<b>MZ</b>	Monozigotik
<b>NGS</b>	Yeni nesil dizileme (Next Generation Sequencing)
<b>NMDA</b>	N-metil-D-aspartat
<b>OMIM</b>	Online Mendelian Inheritance in Man
<b>OSB</b>	Otizm spektrum bozukluğu
<b>qPCR</b>	Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu
<b>RE</b>	Rolandik epilepsi
<b>SNP</b>	Tek nükleotid polimorfizm
<b>SSE</b>	Sıcak su epilepsisi
<b>SUDEP</b>	Epilepside ani beklenmeyen ölüm (Sudden unexpected death in epilepsy)
<b>TH</b>	Tiroid hormonu
<b>VUS</b>	Klinik önemi bilinmeyen varyant ( the <b>V</b> ariant of <b>U</b> nknown clinical <b>S</b> ignificance)
<b>WES</b>	Tüm ekzom dizileme
<b>WGS</b>	Tüm genom dizileme
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü

## TABLULAR

Tablo 2.1.Nöbet rekürrensi için risk sınıflandırması .....	6
Tablo 2.2.Tablo 2.1'deki risk gruplarına göre 1, 3 ve 5 yıllık süreçteki nöbet olasılıkları-.....	7
Tablo 2.3.Epilepsi prevalansı için toplu tahmin değerleri- .....	9
Tablo 2.4.Epilepsi insidansı için toplu tahmin değerleri.....	11
Tablo 2.5.Epilepsiler için bildirilmiş majör bağlantı lokusları.....	29
Tablo 3.1.Mikroarray başına gerekli gDNA hacmi ve miktarı. ....	34
Tablo 3.2.Kesim karışımının hazırlanışı. ....	35
Tablo 3.3.Kesim için kullanılan ısı döngüsü programı. ....	35
Tablo 3.4.Termal Cycler kullanarak DNA denatürasyonu ve fragmentasyonu. ....	36
Tablo 3.5.Etiketleme karışımının hazırlanışı. ....	36
Tablo 3.6.DNA etiketlemesinin ısı döngü programı.....	36
Tablo 3.7.Gerekli spesifik aktivite ve ürün miktar değerleri. ....	37
Tablo 3.8.Hibridizasyon Karışımı. ....	38
Tablo 3.9.Hibridizasyon öncesi ısı döngü protokolü.....	39
Tablo 3.10.Yıkama aşamasında gerekli olan bufferlar ve koşulları. ....	41
Tablo 3.11.Enzimatik etiketlemenin kalite kontrol eşik değerleri. ....	44
Tablo 3.12. CNV'nin patojenitesinin değerlendirilmesi .....	48
Tablo 4.1.Olgularda saptanan epilepsi ile ilişkili patojenik CNV'ler ve içerdikleri genler. ....	62
Tablo 4.2.Epilepsi ile ilişkili patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan olguların klinik özellikleri .....	63
Tablo 4.3. Olguların aCGH sonuçlarının MR/GGG saptanma durumuna göre karşılaştırılması. ....	68
Tablo 4.4. Olguların aCGH sonuçları ile dizi analizi sonuçlarının karşılaştırılması. ....	70

## ŞEKİLLER

Şekil 2.1.Ükelere göre aktif epilepsi prevalansları .....	12
Şekil 2.2.ILAE'nin 2017 epilepsi sınıflandırması.....	14
Şekil 2.3.Başlangıç yaşı ve fenoplerine göre epilepsi genleri.....	21
Şekil 2.4.Epilepside hücresel fonksiyonlar ve yolaklar .....	22
Şekil 2.5. Epilepsi sendromlarının genetik nedenleri.....	23
Şekil 3.1. 8x60K mikroyarray için kullanılan gasket slide (soldaki) ve hibridizasyon chamber. ....	39
Şekil 3.2. Agilent hibridizasyon fırını ve hibridizasyon chamber.....	40
Şekil 3.3. aCGH yöntemi basamakları. ....	43
Şekil 3.4.aCGH(4x180K) kalite kontrol rapor örneği.....	44
Şekil 3.5. aCGH değerlendirmesinde, hastada saptanan CNV'lerin referans DNA'ya göre karşılaştırılmasını gösteren aCGH görüntüsü. ....	45
Şekil 4.1.Olguların polikliniğimize ilk başvurularındaki desimal yaşlarının hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı.....	50
Şekil 4.2.Olguların ebeveynlerinin köken aldıkları memleketlerinin parental ayrımla harita üzerinde sayısal dağılımı.....	51
Şekil 4.3.Araştırmaya dahil edilen olgulara ait epileptik nöbet tipleri ve sıklıkları. ....	52
Şekil 4.4.Olguların epilepsi kliniğine yönelik özellikleri. ....	53
Şekil 4.5.Olguların epilepsi dışındaki klinik özellikleri ve soygeçmiş verilerinin % dağılımı. ....	54
Şekil 4.6.Olgularda saptanan CNV'lerin sınıflandırma gruplarına göre dağılımı. ....	55
Şekil 4.7.Olgularımızın aCGH sonuçları.....	56
Şekil 4.8.Olgularda saptanan tüm CNV'lerin boyutlarına ve CNV tipine göre dağılımı. ....	57
Şekil 4.9.Olgularda saptanan CNV'lerin patojenitelerine ve CNV tiplerine göre boyutlarının dağılımı.....	58
Şekil 4.10.Benign ve muhtemel benign CNV'lerin CNV tipine göre kromozomal dağılımı. ....	59

Şekil 4.11. Patojenik, muhtemel patojenik ve VUS CNV'lerin CNV tipine göre kromozomal dağılımı.....	60
Şekil 4.12.Olgularda saptanan CNV'lerin patojenitesi ve CNV tipine göre kromozomal dağılımı.....	61
Şekil 4.13.Olguların aCGH sonuçlarının aCGH çözünürlüğüne göre karşılaştırılması.....	64
Şekil 4.14.Olguların aCGH sonuçlarının epilepsi başlangıç yaşına göre karşılaştırılması.....	65
Şekil 4.15.Olguların aCGH sonuçlarının nöbet tipi göre karşılaştırılması.....	66
Şekil 4.16.Olguların aCGH sonuçlarının intrakraniyal anomali saptanma durumuna göre karşılaştırılması.....	67
Şekil 4.17.Olguların aCGH sonuçlarının antiepileptik ilaçlara direnç durumuna göre karşılaştırılması.....	68
Şekil 4.18. Olguların aCGH sonuçlarının aile öyküsüne göre karşılaştırılması.	69
Şekil 5.1. Mercimek-Mahmutoğlu ve ark.(43)'nin çalışmasında epilepsi genetik tanı algoritması ve sonuçları.....	73
Şekil 5.2.P-2473 no'lu hastadaki 5q13.2 delesyonunun aCGH görüntüsü.....	77
Şekil 5.3. O'Donnell-Luria ve ark. (68)'nin çalışmasında KMT2E geni ile çakışan CNV'ler ve olgumuzda saptanan CNV'nin lokalizasyonu.....	81
Şekil 5.4.O'Donnell-Luria ve ark. (68)'nin çalışmasında KMT2E geni ile çakışan CNV saptanan olguların klinik bulguları.....	81
Şekil 5.5.P-5104-K1 no'lu hastada MACROD2 genindeki parsiyel delesyonun aCGH görüntüsü.....	82
Şekil 5.6.DGV veri tabanında MACROD2 geni bölgesinde bildirilen CNV'ler..	83
Şekil 5.7.Kushima ve ark. (69)'nin çalışmasında MACROD2 geninde saptanan CNV'ler.....	84
Şekil 5.8.P-5424 no'lu hastadaki 6q12-q13 duplikasyonun aCGH görüntüsü. .	87
Şekil 5.9.RABEP1 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği.....	89
Şekil 5.10.P-5574 (pembe) ve P-5701(yeşil) no'lu hastalarda 6p24.2-p24.1 bölgesindeki heterozigot delesyonların aCGH görüntüsü.....	90
Şekil 5.11.NEDD9 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği.....	91
Şekil 5.12. RASAL2 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği.....	93

Şekil 5.13. P-5866 no'lu hastada 16p13.3 bölgesindeki SOX8 genini içeren duplikasyonun aCGH görüntüsü. ....	93
Şekil 5.14. SOX8 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği .....	94
Şekil 5.15.P-6195 no'lu hastada 22q11.21 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü. ....	96
Şekil 5.16. 15q11.2 bölgesi BP1-BP5 kırılma noktaları ve bu bölgelerde yer alan genler .....	98
Şekil 5.17.Mohan ve ark.'larının çalışmasında 15q11.2 delesyon ve duplikasyonu saptanan bireylerin fenotipik değerlendirmesi .....	100
Şekil 5.18.P-6572 no'lu hastada 7q11.23 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü. ....	102
Şekil 5.19.P-6632 no'lu hastada 3p25.3 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü. ....	104
Şekil 5.20.P-6887 no'lu hastada PARK2 (PRKN) gen bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü. ....	105
Şekil 5.21.P-6887 no'lu hastada PARK2 (PRKN) geninde 2. ekzonda heterozigot delesyonu (kırmızı ok) gösteren MLPA görüntüsü. ....	105
Şekil 5.22.P-7271 no'lu hastada 9p24.3 bölgesindeki delesyonu gösteren aCGH görüntüsü. ....	107
Şekil 5.23.P-7297 no'lu hastada 5p13.2 bölgesindeki duplikasyonu gösteren aCGH görüntüsü. ....	108
Şekil 5.24. P-7362 (pembe) ve P-7362-K1 (yeşil) no'lu hastalarda 12q14.1 bölgesindeki duplikasyonların aCGH görüntüsü.....	111
Şekil 5.25.TAFA gen ailesi üyelerinin insan dokularındaki rölatif mRNA ekspresyonları.....	112
Şekil 5.26. P-7643 (turuncu) no'lu hasta ile annesi (yeşil) ve P-7992 (mor) no'lu bireylerde 16p11.2 bölgesindeki heterozigot delesyonun aCGH görüntüsü...	114
Şekil 5.27.P-8253 no'lu hastada TSC2 genindeki parsiyel duplikasyonu gösteren aCGH görüntüsü. ....	115
Şekil 5.28.P-8693 no'lu hastada CNTNAP2 genindeki parsiyel delesyonu gösteren aCGH görüntüsü. ....	116
Şekil 5.29. CNTNAP2 geninde saptanan intragenik CNV'ler .....	118



Şekil 5.30.P-8693 no'lu hastamızda CNTNAP2 genindeki intragenik delesyonun gen üzerinde lokasyonunu gösteren aCGH görüntüsü..... 118



## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

Epilepsi en sık görülen kronik beyin hastalığıdır ve dünya çapında 50 milyondan fazla insanı etkilemektedir. Hastalığın prevalansı yaklaşık %1, yaşam boyu insidansı ise %3 olarak bildirilmiştir (1-3). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre bu hastaların yaklaşık % 80'inin düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşadığı bilinmektedir. Epilepsi her yaş grubunda ortaya çıkabilmekle birlikte çocukluk çağında daha sık gözlenmektedir.

Epilepsili kişilerde farklı tipte epilepsi nöbetlerinin olduğunun fark edildiği 18. yüzyılda nöbetlerin tiplerinin ve sendromlarının sınıflanması gerektiği anlaşılmıştır. Ancak sınıflama çalışmaları sistematik olarak ilk kez 1964 yılında yapılmaya başlanmış olup o zamandan bugüne International League Against Epilepsy (ILAE) sınıflama çalışmaları devam etmektedir (4). ILAE verilerine göre epilepsiler; tipleri (jeneralize, fokal, kombine jeneralize-fokal, bilinmeyen); nöbet başlangıç yaşı, spesifik nöbet çeşitleri ve EEG özellikleri dikkate alınarak epilepsi sendromları şeklinde (neonatal/infantil, çocukluk, ergen/erişkin, herhangi bir yaş grubu) ve etiyojilerine (genetik, yapısal, metabolik, immun, enfeksiyöz, nedeni bilinmeyen) göre sınıflanabilmektedir (3).

Epilepsi, toplumda sık görülen hastalıkların çoğu gibi poligenik ve multifaktoriyel bir hastalıktır. Farklı etiyojistik mekanizmalar içerisinde genetik faktörler başta gelmekte ve tüm epilepsilerin %40-60'ının etiyojisinde genetik faktörlerin majör rol oynadığı düşünülmektedir (5). Epilepsi kalıtımında; bir veya daha fazla gen ile çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu gelişen kompleks kalıtım modeli ön plana çıkmaktadır. Aynı zamanda otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı dominant, X'e bağlı resesif ve mitokondrial kalıtım paterni ile uyumlu epilepsi hastalıkları da mevcuttur. Birden fazla genin epilepsi gelişimine yol açabilmesi, bu genlerin çevresel faktörlerden etkilenebilmesi, aynı epilepsi

sendromuna birden çok genin neden olabilmesi veya bir genin farklı epilepsi fenotipleri ile ortaya çıkabilmesi nedeni ile epilepside genetik etiyojijiyi aydınlatmak oldukça zordur. Etkilenen bireylerin birinci derece akrabalarında 20 yaşından itibaren epilepsi riski, probandin kardeş ve çocukları için %4,1 (çalışmanın yapıldığı genel popülasyonun 3 katı) olduğu bildirilmiştir (6).

Kopya sayısı değişiklikleri (copy number variation-CNV), DNA'daki artış veya kayıpları tanımlamaktadır. CNV bölgeleri bir veya daha fazla gen içerebilir veya hiç gen içermeyebilir. Özellikle gen içermeyen CNV'ler sağlıklı bireylerde de gözlenebilmektedir. Bir CNV'nin patojenitesinin belirlenmesinde; CNV'nin boyutu, lokalizasyonu (ekzonik, intronik veya intergenik), tipi (kopya sayısında azalma/artış), varsa içerdiği genler (bu genlerin içerisinde imprinted gen bulunup bulunmadığı, genlerin kalıtım paterni, genin diğer allelinde patojenik nokta mutasyonu olup olmadığı), mozaiklik durumu önem arz etmektedir. Aynı CNV içerisinde yer alan genlerin kopya sayısında artış ya da kayıp olmasına göre klinik değişebilmektedir.

CNV tespitinde; kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), floresan in situ hibridizasyon (FISH), multipleks ligasyon bağımlı prob amplifikasyonu (MLPA) ve mikroarray gibi yöntemler kullanılabilir. Rutin karyotip analizi veya FISH yöntemleri ile saptanamayacak düzeydeki submikroskopik CNV'leri tespit edebilmesi, mozaikliği saptayabilmesi, aynı anda tüm genomdaki CNV'leri gösterebilmesi gibi avantajları nedeni ile günümüzde, kromozomal mikroarray (CMA) analizleri CNV tespitinde başarılı biçimde kullanılmaktadır.

Epilepsinin genetik etiyojijisinde CNV'lerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda; parsiyel ve jeneralize nöbetler, epileptik ensefalopatiler (EE'ler), atipik rolandik epilepsi (RE), absans epilepsi gibi hastalıklarda nadir CNV'lerin rol oynadığı bildirilmiştir. Bu konudaki kapsamlı

çalışmalardan birisinde, CMA yapılmış epilepsi veya nöbet tanılı 805 hastanın 323'ünde (%40,1) bir CNV saptanmış olup en az 40 hastada (%5) hastanın fenotipi, saptanan CNV ile ilişkilendirilmiştir (7). Mefford ve arkadaşlarının 517 epilepsi hastasında yaptığı mikroarray çalışmasında, hastaların %8,9'unda 2493 kontrol bireyde bulunmayan en az bir nedensel CNV saptanmıştır (2). Özellikle mental retardasyon gibi ek hastalık veya konjenital anomalileri olan epilepsi hastalarında CMA ile tanı oranları daha da artmaktadır.

İlk kez mental retardasyonlu hastalarda tanımlanan 15q13.3 mikrolelesyonu, epilepsi hastalarında en sık rastlanan CNV'dir ve idiyopatik jeneralize epilepsilerin %1'inde gösterilmiştir (8). Bununla birlikte 16p13.11 ve 15q11.2 delesyonları da epilepsili hasta gruplarında sık olarak bildirilmiştir (9).

Çalışmamızda; epilepsi tanılı hastalarda array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH) verilerinin retrospektif olarak yeniden analiz edilerek; aCGH'in bu hasta grubundaki tanısal veriminin belirlenmesi ve epilepsi etiyolojisindeki yeni aday gen ve CNV'lerin ortaya konması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1 Nöbet ve Epilepsi

#### 2.1.1 Nöbet Tanımı

Epileptik nöbet, beyindeki anormal aşırı veya senkron nöronal aktiviteden dolayı oluşan geçici semptomlar bütünüdür. Bir epileptik nöbet; objektif (tonik-klonik kasılma, bilinç kaybı, vs.) veya subjektif semptomlar (farkındalık kaybı, karından göğüse doğru yükselen bir his, yanık lastik kokusu veya deja vu gibi) ile ortaya çıkabilen bir davranış değişikliğidir.

Nöbetler tetiklenmiş=provoke (akut semptomatik) veya tetiklenmemiş (provoke edilmemiş) şekilde olabilmektedir. Akut semptomatik nöbet; metabolik, toksik, yapısal nedenler, enfeksiyon veya inflamasyon nedeniyle merkezi sinir sisteminde (MSS'nde) meydana gelen ve bu nedenlerle aralarında zamansal ilişki (ilk yedi günde) bulunan akut, geçici nöbetlerdir ve nöbet gelişim zamanı altta yatan nedene bağlı olarak değişmektedir (10). Tetiklenmemiş nöbetler ise bir presipitan faktör olmadan meydana gelen nöbetlerdir ve statik bir hasar veya progresif bir hasar nedeniyle ortaya çıkabilmektedir. Tetiklenmemiş nöbetler tek veya rekürren (epilepsi) olabilir. Tetiklenmemiş nöbet, herhangi bir uyaran olmadığında kullanılabilen bir terim olmasına rağmen hiç bir zaman tetikleyen faktörün olmadığı kesin olarak bilinmemektedir.

Nöbetler fokal veya jeneralize şekilde başlayabilir. Fokal nöbetlerde anormal nöronal aktivite; bir veya daha fazla lokalize beyin bölgesinde ortaya çıkmaktadır. Jeneralize nöbetlerde ise anormal nöronal aktivite, her iki beyin yarım küresi üzerinde yaygın bir dağılımda başlamaktadır. Epilepsili bireylerin ~%60'ı fokal olarak sınıflandırılmaktadır (11). Epileptik nöbetin başlangıç şekli; klinik semptomlar, elektroensefalografi (EEG) ve nörogörüntüleme bulgularına dayanarak belirlenmektedir.

### 2.1.2 Epilepsi Tanımı

Epilepsi; tekrarlayıcı epileptik nöbetler ve buna bağlı bilişsel, psikolojik ve sosyal sonuçlara yol açan kronik nörolojik bir hastalıktır.

Epilepsi, yaygın ve ciddi nörolojik bir bozukluk olup dünya genelinde prevalansının %1 olduğu bilinmektedir (12).

Epilepsi tanısı aşağıda belirtilen maddeler varlığında söylenebilir (13):

1. En az 24 saat ara ile meydana gelen, en az iki tetiklenmemiş (veya refleks) nöbet olması,
2. Tetiklenmemiş bir nöbet (veya refleks nöbet) ve önümüzdeki 10 yıl içinde tekrarlayan nöbet görülmesi olasılığının %60'dan fazla olması,
3. Epilepsi sendromu tanısı olması.

İlk kez, provoke edilmemiş, ateşsiz epileptik nöbet geçirenlerin ~%50-60'ında tekrar nöbet gözlenmemektedir. Ancak en az iki epileptik nöbet sonrasında tekrarlama riski %60-90'a yükselmektedir (14).

Bu tanı kriterlerindeki 2. madde; bazı klinisyenlerin nüks riskinin yüksek olmasından dolayı, tek bir provoke nöbetten sonra epilepsi varmış gibi hastaları yönettiği durumları kapsamaktadır. Bu risk için eşik değer %60 olarak alınmıştır. Yüksek risk değerlendirmesi için böyle bir eşik değer belirlenmesi fazlaca kesin bir yaklaşım olmakla birlikte; yapılan çalışmalarda bunun önemi ortaya konmaktadır. The MRC Multicentre trial for Early Epilepsy and Single Seizures (MESS) çalışmasında; düşük risk kategorisindeki bir bireyde (sadece bir kez nöbet öyküsü olup EEG ve nörolojik anormalliği olmayan) hemen tedavi başlanması ile tedavinin geç başlanması durumları arasında 3 ve 5 yıllık dönemde nöbet rekürrensi açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Buna karşılık; yüksek risk grubundaki hastalarda tedaviye hemen başlandığında 3 ve 5 yıllık

dönemlerde nöbet rekürrensi riski %50 iken tedaviye geç başlandığında nöbet rekürrensi riskinin 3 yıl içerisinde ortalama %65 ve 5 yıl içerisinde ortalama %70 olduğu bildirilmiştir (15).

**Tablo 2.1.Nöbet rekürrensi için risk sınıflandırması- Kim ve ark. (15)'ndan alınmıştır.**

<b>Başlangıç Değer</b>	<b>Prognostik İndeks</b>
✓ Başvurudan önce bir nöbet	0
✓ Başvurudan önce iki veya üç nöbet	1
✓ Başvurudan önce dört veya daha fazla nöbet	2
<b>Varsa ekleyin</b>	
✓ Nörolojik bozukluk veya defisit, öğrenme güçlüğü, gelişme geriliği	1
✓ Anormal EEG	1
<b>Nöbet Rekürrensi için Risk Sınıflandırma Grupları</b>	<b>Son Puan</b>
Düşük risk	0
Orta Risk	1
Yüksek risk	2-4

**Tablo 2.2. Tablo 2.1'deki risk gruplarına göre 1, 3 ve 5 yıllık süreçteki nöbet olasılıkları- Kim ve ark. (15)'nden alınmıştır. Yüksek risk grubundaki epilepsi hastalarında 3 ve 5 yıllık dönemlerde tedavi hemen başlanan ve geç başlanan hastalar arasında nöbet rekürrens olasılığındaki artış gösterilmiştir (sarı daire).**

	Tedavi Tahsisi	1 yıllık Nöbet Olasılığı	3 yıllık Nöbet Olasılığı	5 yıllık Nöbet Olasılığı
Düşük Risk	Hemen başlanan	0.26	0.35	0.39
	Geç başlanan	0.19	0.28	0.30
Orta Risk	Hemen başlanan	0.24	0.35	0.39
	Geç başlanan	0.35	0.50	0.56
Yüksek Risk	Hemen başlanan	0.36	0.46	0.50
	Geç başlanan	0.59	0.67	0.73

Tek bir nöbet öyküsüne ek olarak nörolojik lezyon veya ek epileptiform EEG olmasının, epilepsi için öngörülen bu kriterleri otomatik olarak karşılamadığına dikkat etmek önemlidir, çünkü veriler farklı çalışmalarda ve spesifik klinik durumlarda değişebilmektedir. Örneğin; Hollanda Epilepsi Çalışması'nda, ilk nöbetten sonra epileptiform EEG paterni olan çocukların 2 yıllık nüks riski %71 iken, Shinnar ve arkadaşlarının çalışmasında ilk idiyopatik nöbet geçiren ve anormal EEG paterni olan çocukların 2 yıllık nüks riski %54 olarak bildirilmiştir (16,17).

Sonuç olarak; tetiklenmemiş iki nöbet geçiren bireyin epilepsisi olduğu konusunda ortak bir görüş hakimdir. Böyle bir bireyde üçüncü bir nöbet riski, yaklaşık 4'te 3'tür, ancak % 95 güven aralığında bu oran % 60-90 arasında değişmektedir. Bu nedenle, benzer bir riske sahip bir kişinin, ilk tetiklenmemiş nöbetinden sonra epilepsi olarak kabul edilmesi gerekliliği konusunda fikirbirliği



oluşmaktadır. %60< oranının da keskin bir sınırdan ziyade bir kılavuz olması amaçlanmaktadır (13).

### **2.1.3 Epilepsi Epidemiyolojisi**

Epilepsi, dünya çapındaki nüfusun 20 yaşta ~% 1'ini, 75 yaşta ise % 3'ünü etkilemektedir (11). Tek ve rekürren epileptik nöbetlerin 80 yaşına kadarki kümülatif insidansı yaklaşık %8'dir. Buna akut semptomatik nöbetler de dahil edildiğinde insidans %10'a çıkmaktadır ki bu da insanların %10'unun yaşamları boyunca en az bir kez nöbet deneyimi yaşadığı anlamına gelmektedir (1,18). 1980'de yaşa göre düzeltilmiş epilepsi insidansı 100 000 kişi-yılda 44 iken; 1985-2013 yılları arasındaki çalışmaların dahil edildiği bir meta-analizde epilepsi insidansı 100 000 kişi-yılda 61,44 olarak bildirilmiştir (1,19).

Epilepsi prevalansının dünyada %1 olduğu öngörülmektedir (12). 1980'de yaşa göre düzeltilmiş aktif epilepsi prevalansı ise 1000 kişi başına 6,8 iken yakın zamanda yapılmış bir meta-analizde aktif epilepsi prevalansı 1000 kişi başına 6,38 olarak bildirilmiştir (1,19).

**Tablo 2.3.Epilepsi prevalansı için toplu tahmin değerleri- Fiest ve ark. (19)'ndan alınmıştır.**

	Alt Gruplar	Meta-analize Dahil Edilen Tahmin Sayıları	1000'de Tahmin Değerleri (%95 güven aralığı)
<b>Aktif Nokta Prevalansı</b>			
Genel		67	<b>6.38(5.57-7.30)</b>
Cinsiyete göre	Erkek	27	7.31 (6.06-8.81)
	Kadın	28	6.85 (5.55-8.47)
Yaşa göre	0-9	12	5.19 (3.54–7.62)
	10-19	12	8.86 (6.58–11.92)
	20-29	12	9.14 (7.17–11.64)
	30-59	12	7.94 (6.20–10.15)
	60+	12	7.17 (4.67–11.01)
Ülkelere göre	Düşük ve orta	50	6.68 (5.45–8.18)
	Yüksek	13	5.49 (4.16–7.26)
Nöbet tipine göre	Aktif jeneralize	10	4.33 (2.55–8.32)
	Aktif fokal nöbetler	10	2.99 (1.39–6.42)
	Aktif bilinmeyen nöbetler	7	0.81 (0.28–2.32)
Epilepsi etiyolojisine göre	Tahminen genetik	5	<b>1.70 (0.75–3.90)</b>
	Yapısal/Metabolik	5	2.70 (1.12–3.81)
	Bilinmeyen orjin	3	3.15 (2.57–3.87)

**Tablo 2.3 (devam).Epilepsi prevalansı için toplu tahmin değerleri- Fiest ve ark. (19)'ndan alınmıştır.**

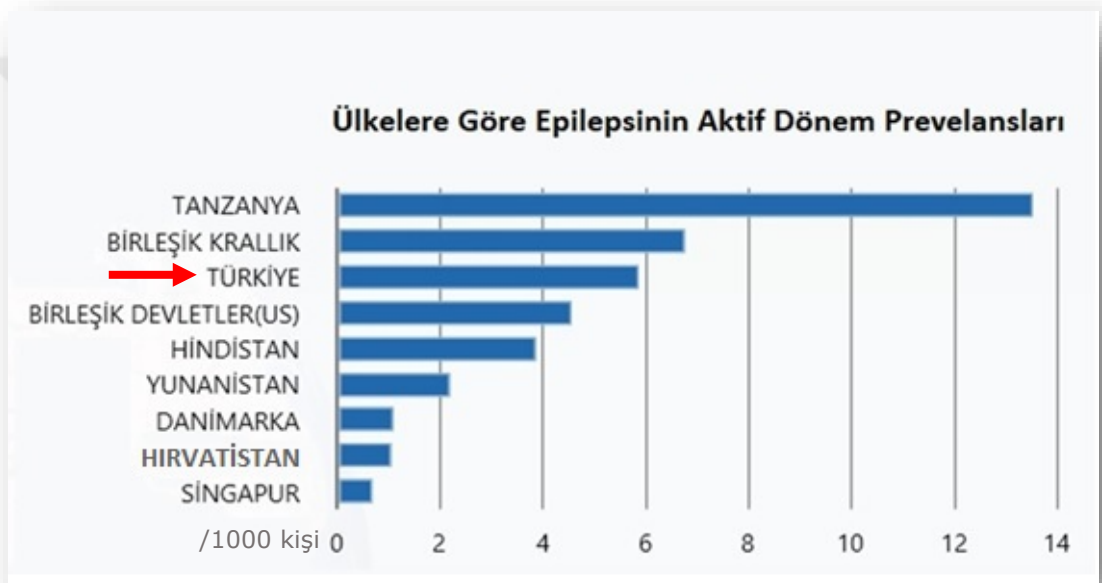
	Alt Gruplar	Meta-analize Dahil Edilen Tahmin Sayıları	Her 100 000'de Tahmin Değerleri (%95 güven aralığı)
<b>Aktif Periyot Prevalansı</b>			
Genel		11	2.83 (1.53–5.26)
Cinsiyete göre	Erkek	6	3.47 (1.22–9.84)
	Kadın	6	2.92 (1.36–6.26)
Yaşa göre	<18	22	4.80 (4.17–5.52)
	19+	22	5.43 (3.93–7.50)
Ülkelere göre	Düşük ve orta	3	<b>6.79 (2.77–16.65)</b>
	Yüksek	8	2.06 (1.00–4.25)
<b>Yaşamboyu Prevalans</b>			
Genel		56	7.6 (6.17–9.38)
Cinsiyete göre	Erkek	20	6.99 (5.3–9.20)
	Kadın	18	7.62 (5.52–10.50)
Yaşa göre	<18	30	7.24 (5.9.14)
	19+	24	8.59 (5.92–12.46)
Ülkelere göre	Düşük ve orta	41	<b>8.75 (7.23–10.59)</b>
	Yüksek	15	5.18 (3.75–7.15)

**Tablo 2.4.Epilepsi insidansı için toplu tahmin değerleri- Fiest ve ark.(19)'ndan alınmıştır.**

	Alt Gruplar	Meta-analize Dahil Edilen Tahmin Sayıları	Her 100 000'de Tahmin Değerleri (%95 güven aralığı)
<b>Kümülatif İnsidans</b>			
Genel		14	67.77 (56.69–81.03)
Cinsiyete göre	Erkek	10	58.13 (43.94–81.55)
	Kadın	8	55.78 (41.09–75.72)
Yaşa göre	<18	5	85.29 (59.54–122.19)
	19+	3	64.81 (13.90–302.24)
Ülkelere göre	Düşük ve orta	9	65.19 (41.65–102.02)
	Yüksek	5	70.24 (57.51–85.78)
<b>İnsidans Oranı</b>			Her 100 000 kişi-yılda Tahmin Değerleri (%95 güven aralığı)
Genel		13	61.44 (50.75–74.38)
Cinsiyete göre	Erkek	8	63.97 (47.96–85.32)
	Kadın	8	57.43 (41.60–79.29)
Yaşa göre	<18	1	46.90 (42.29–52.01)
	19+	2	34.63 (28.38–42.25)
Ülkelere göre	Düşük ve orta	4	<b>138.99 (69.45–278.16)</b>
	Yüksek	9	48.86 (39.05–61.13)

En yaygın epilepsi tipleri, akkiz ve akkiz olmayan erişkin fokal epilepsiler, lezyon olmayan genetik jeneralize epilepsiler(GJE) ve lezyon olmayan çocukluk çağı fokal rolandik epilepsileridir (20).

Hem epilepsi insidansı hem de prevalansının erkeklerde kadınlardan daha fazla olduğu bildirilmiş olmakla birlikte genel anlamda cinsiyete özgü insidans ve prevalansta aradaki fark önemsiz düzeydedir (21). Buna karşılık bazı çalışmalarda erkeklerdeki epilepsi prevalansı kadınlardan açık ara yüksek (sırasıyla 6,8/1000 ve 2,9/1000) bulunmuş olup bu durumun, o popülasyondaki (Hindistan) kadınların mevcut hastalıkları nedeni ile evlenememe kaygıları taşıyarak epilepsi tanılarını veya semptomlarını gizleme eğiliminde olduklarına bağlı olduğu düşünülmüştür (21,22).



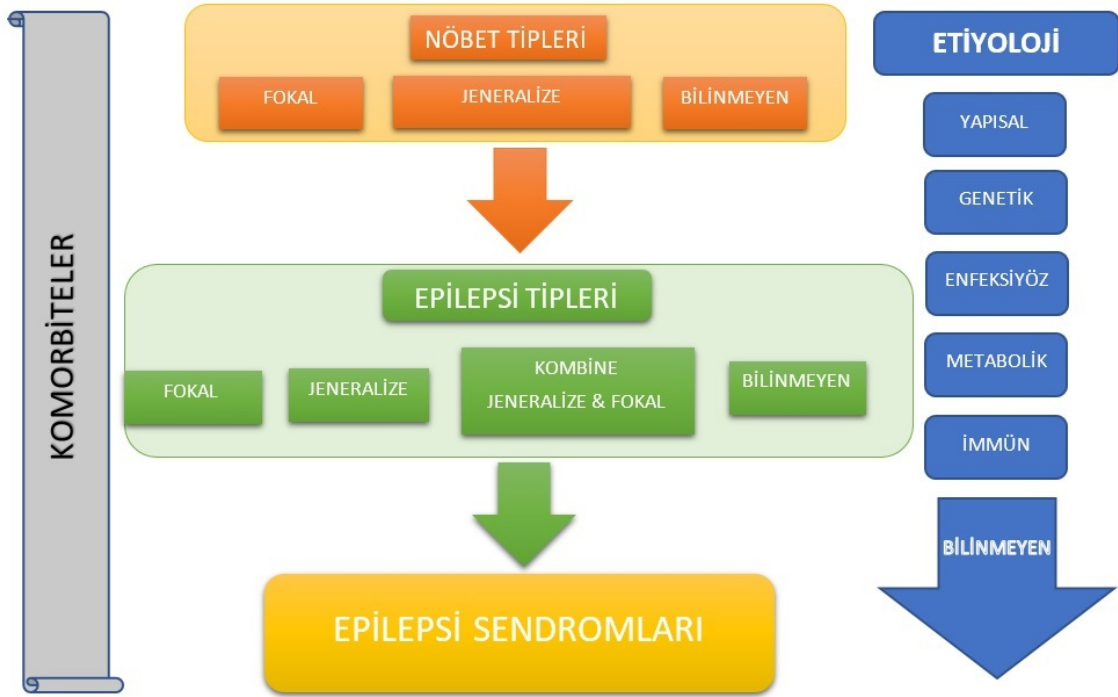
**Şekil 2.1. Ülkelere göre aktif epilepsi prevalansları - Fiest ve ark. (19)'ndan alınmıştır. Epilepsi için 1000 kişideki aktif dönem prevalanslarının ülkelere göre grafiği gösterilmektedir.**

Dünya Sağlık Örgütü 2019 verilerine göre epilepsi hastalarının yaklaşık %80'inin düşük ve orta gelirli ülkelerde yaşadığı bilinmektedir (23). Bu durumun, hem bu ülkelerdeki akraba evliliklerinin yoğun olması nedeni ile genetik kökenli epilepsilerin sayısının fazlalığına, hem de epilepsi etiyolojisinde yer alan kaza, doğum travması veya enfeksiyöz nedenlerin yoğunluğuna bağlı olabileceği düşünülebilir.

#### 2.1.4 Epilepsi Sınıflandırması

Epilepsili bireylerde farklı tipte epilepsi nöbetlerinin olduğunun fark edildiği 18. yüzyılda nöbetlerin ve epilepsi sendromlarının sınıflanması gerekliliği anlaşılmıştır. Ancak sınıflama çalışmaları sistematik olarak ilk kez 1964 yılında yapılmıştır. O zamandan bugüne ILAE epilepsi sınıflama çalışmaları devam etmektedir.

ILAE'nin 2017 yılında revize ettiği epilepsi sınıflandırması; nöbet öyküsü olan bireylerin tanısında anahtar rol oynamaktadır. Bu sınıflandırma; non-epileptik durumların dışlandığını varsayarak öncelikle epilepside nöbet tipinin belirlenmesi ile başlamaktadır. Buna göre epileptik nöbetler fokal başlangıçlı, jeneralize başlangıçlı veya başlangıcı bilinmeyen olarak sınıflandırılmaktadır. İkinci aşamada; EEG ve görüntüleme bulgularına dayanarak, bir epilepsi tipi tanısına varılır. Epilepsi tipi, klinisyenin bir epilepsi sendromu tanısı koyamadığı durumlarda ulaşılabilecek son teşhis seviyesi olabilir. Bu sınıflandırma içerisinde fokal, jeneralize, kombine(fokal-jeneralize) ve bilinmeyen grupları yer almaktadır. Jeneralize epilepside; absans, miyoklonik, atonik, tonik ve tonik-klonik nöbetler gibi çeşitli nöbet tipleri olabilir. Epilepsi sendromu (birlikte spesifik bir klinik bozukluğu tanımlayan klinik ve elektriksel bulgular bütünü); nöbet tipleri, EEG ve birlikte ortaya çıkma eğiliminde olan görüntüleme bulgularını içeren bir dizi özellik anlamına gelmektedir. Ayrıca, EEG ve görüntüleme çalışmalarında spesifik bulgular ile birlikte entelektüel ve psikiyatrik disfonksiyon gibi belirgin komorbiditeler de içerebilir. Etiyolojik, prognostik ve tedavi sonuçlarıyla da ilişkili olabilir (3).



**Şekil 2.2.ILAE'nin 2017 epilepsi sınıflandırması -Scheffer ve ark.(3)'dan alınmıştır.**

Tanıya giden yolda her noktada klinisyen, hastanın epilepsisinin etiyojisini göz önünde bulundurmalı ve hastada depresyon, otizm spektrum bozukluğu (OSB), öğrenme güçlüğü dahil olmak üzere olası psikiyatrik bozukluklar gibi komorbiditelerin olup olmadığına dikkat etmelidir.

### 2.1.5 Epilepsi Mortalitesi

Nüfus temelli çalışmalarda, epilepsili kişilerde genel popülasyona kıyasla erken ölüm riskinin arttığı bildirilmiştir. Standart ölüm oranları; yapısal/metabolik nedenli epilepsisi olanlarda, tedaviye dirençli olgularda ve konvülsif nöbet geçirenler arasında ve 50 yaş altındaki epilepsili kişilerde özellikle yüksektir (24).

Epilepside ani beklenmeyen ölüm (SUDEP), çocuklarda ve yetişkinlerde epilepsi ile ilişkili ölümlerin en sık nedenlerinden birisidir. SUDEP insidansının yaklaşık 1,2/1000 kişi-yıl olduğu tahmin edilmektedir; ancak bu oran demografik ve hastalığa özgü faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Çocuklarda tahmini SUDEP insidansı yetişkinlere göre anlamlı derecede düşük (0,22/1000 kişi-yıl) gibi görünmekle birlikte çocuklarda yapılan son araştırmalarda (>12 yaş) yetişkinlerdeki ile benzer insidans gösterdiği saptanmıştır (25). Yakın zamanda İzlanda'da yapılan bir çalışmada; 20 yıllık bir periyotta genel popülasyon için SUDEP insidansı 100 000 kişi-yılda 0,6 olarak saptanmış ve bu oranın erkeklerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Epilepsi popülasyonunda ise tahmini SUDEP insidansı 1000 kişi-yılda 1,3 olarak bulunmuştur (26).

### **2.1.6 Epilepsi Tedavisi**

Epilepsi için ilk seçenek tedavi, anti-konvulzan ilaçlardır (ASD=anti-seizure drugs). FDA (The Food and Drug Administration) ve EMA (European Medicines Agency) tarafından 20'den fazla ASD onaylanmıştır (27). Ancak bu konuda yapılmış çalışmalarda, optimal ilaç tedavisine rağmen nöbetsiz hale gelemeyen fokal epilepsili bireylerin oranının %20 ila %70 arasında değişmekte olduğu bildirilmiştir (28). Epileptojenik bölge lokalize edilebiliyorsa, cerrahi rezeksiyon yaşam kalitesinde artışla birlikte kür şansı sunmaktadır. Ancak, ilaca dirençli epilepsi hastalarının sadece az bir kısmı epilepsi cerrahisi için uygun adaylardır. Bu hastalar için nörostimülasyon cihazları, diyet terapileri veya yeni ASD'lerin klinik deneyleri alternatif seçeneklerdir.

Epilepsiye neden olan patojenik varyantları ortaya çıkarmak, yeni tedavi seçenekleri için olanak sağlamaktadır. Örneğin; DEPDC5 mutasyonlu bireylerin; displastik lezyonları olan tuberoskleroz, OSB ve zihinsel yetersizlik (ID) gibi diğer mTORopatileri (mTOR- rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi) olan hastalarla benzer özellikleri paylaştığı ve DEPDC5 mutasyonlu hastalarda rapamisin ve ilgili moleküllerin nöbetleri ve nöropsikiyatrik komorbiditeleri hafifletmek için değerlendirilebileceği bildirilmiştir (29).



Benzer şekilde tüm epilepsilerin %60'ını oluşturan fokal epilepsi; iyon kanallarını kodlayan ve hücre büyümesini düzenleyen genler de dahil olmak üzere birçok gendeki mutasyonlardan kaynaklanabilmektedir. Bu gen grubunda TSC1, TSC2, mTOR ve GATOR1 (Gap Activity TOWard Rags 1) kompleks genleri DEPDC5, NPRL2 ve NPRL3 gibi özellikle mTOR yolağının yani rapamisinin mekanik hedefi ile ilişkili genler de bulunmaktadır (27).

Dravet sendromunda, % 80'den fazla vakada SCN1A geninde mutasyona bağlı fonksiyon kaybı mevcuttur. Bunun gibi haployetmezlik (haploinsufficiency) sonucu ortaya çıkan hastalıklarda normal genin ekspresyonunun artırılması da cazip bir tedavi seçeneği olabilir.

Yaşa bağlı epilepsi sendromu olan ancak mevcut hali ile o yaş dönemini geçen bireyler ve son 5 yılında ASD kullanmamak kaydı ile son 10 yıldır nöbet geçirmeyen bireylerde epilepsinin iyileşmiş olduğu düşünülmektedir (13).

## **2.2 Epilepsi Etiyolojisi**

Epilepsi, toplumda sık görülen hastalıkların çoğu gibi poligenik ve multifaktoriyel bir hastalık olup birçok hastada epilepsinin kesin etiyolojisi aydınlatılamamaktadır. Epileptik nöbetler beyin işlevini bozan hemen her durumun sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir. Hastada ilk epileptik nöbet sonrasında klinisyen, öncelikle nöbetin etiyolojisini aydınlatmaya odaklanmalıdır.

Epilepsi etiyolojisi; yapısal, genetik, enfeksiyöz, metabolik, immun ve bilinmeyen (idiyopatik) nedenler olarak gruplandırılabilir. Ancak bir epilepsi hastasında birden fazla etiyolojik faktörün rol oynayabileceği unutulmamalıdır. Örneğin; tuberosklozu olan bir hastanın epilepsi etiyolojisinde hem yapısal hem de genetik faktörler yer almakta olup; yapısal etiyoloji epilepsi cerrahisi için kritik

bir öneme sahipken; genetik etioloji, genetik danışmanlık ve yeni hedef tedavilerin değerlendirilmesi için anahtar rol oynamaktadır (3).

Epilepsi etiolojisini aydınlatmak için ilk araştırma nörogörüntüleme, mümkünse manyetik rezonans görüntüleme (MRG) olmalıdır. Bu araştırma, klinisyenin, hastanın epilepsisi için yapısal bir etioloji olup olmadığına karar vermesini sağlamaktadır.

### **2.2.1 Yapısal Nedenler**

Yapısal etioloji; görüntüleme bulgularında hastada saptanan anormalliğin, hastanın nöbetlerinin olası nedeni olduğu konusunda bir çıkarım sağlayan yapısal nörogörüntüleme anormalliklerini ifade etmektedir.

Yapısal etiolojiler; hipoksik-iskemik ensefalopati, inme, travma, enfeksiyon gibi akkiz (çevresel); kortikal gelişimin birçok malformasyonu gibi genetik veya hem genetik hem akkiz birlikte de olabilmektedir (3,30).

ILAE Pediatrik Nörogörüntüleme Alt Kurulu'nun yeni tanı almış epilepsili çocukların değerlendirilmesinde nörogörüntülemenin yararını ve endikasyonlarını incelediği çalışmada; lokalizasyonla ilişkili yeni başlayan nöbet(ler)i olan çocuklarda bireysel görüntüleme çalışmalarının yaklaşık %50'sinin anormal olduğu, %15-20'sinde görüntülemenin etioloji veya nöbet odağı hakkında faydalı bilgiler sunduğu ve % 2-4'ünde tıbbi yönetimi potansiyel olarak değiştirebilecek bilgiler sağladığı bildirilmiştir. Ek olarak bu çalışmada; çocukluk çağı absans epilepsisi, juvenil absans epilepsi, juvenil miyoklonik epilepsi (JME) ve sentrotemporal diken dalgalı benign çocukluk epilepsisinde (BECTS) görüntüleme çalışmalarının önemli yapısal anormallikleri tanımlamadığı tespit edilmiştir (31).

Epilepsilerde; iyi tanımlanmış ilişkili yapısal etiyojiler de bulunabilmektedir. Buna; hipokampal skleroz ile birlikte sık rastlanan mesial temporal lob nöbetleri örnek olarak verilebilir. Bu ilişkilerin tanımlanması, hastanın görüntülemesinin belirli bir yapısal anormallik açısından dikkatle incelenmesini sağlamak için önemlidir.

### **2.2.2 Enfeksiyöz Nedenler**

Epilepsinin, enfeksiyonun bir sonucu olarak ortaya çıkması, dünyadaki en yaygın etiyojiktir. MSS enfeksiyonları, epilepsi için majör bir risk faktörüdür. Gelişmiş ülkelerdeki MSS enfeksiyonlarından sağ kalanların popülasyon temelli kohortlarında, provoke edilmemiş nöbet riski %6,8 ile 8,3 arasında bildirilmiş olup yoksul ülkelerde bu oran çok daha yüksektir (32).

Dünyanın belirli bölgelerinde yaygın örnekler arasında; tüberküloz, HIV, serebral sıtma, subakut sklerozan panensefalit (SSPE), serebral toksoplazmoz ve Zika virüsü, CMV gibi konjenital enfeksiyonlar bulunmaktadır (3).

### **2.2.3 Metabolik Nedenler**

Metabolik epilepsi kavramı; nöbetlerin, doğrudan hastalığın temel semptomu olan metabolik bir bozukluktan kaynaklanıyor olmasıdır. Bir dizi metabolik bozukluk epilepsi ile ilişkilidir ve ortaya çıkan fenotipik spektrumun daha iyi anlaşılmasıyla bu alan giderek genişlemektedir (3).

Metabolik nedenlere; porfiriya, üremi, aminoasidopatiler veya piridoksin bağımlı nöbetler örnek verilebilir. Birçok durumda metabolik bozukluk, genetik bir nedene bağlıdır, ancak bazıları serebral folat eksikliği gibi akkiz de olabilmektedir.

### **2.2.4 İmmün Nedenler**

İmmün epilepsi kavramı, nöbetlerin doğrudan hastalığın temel semptomu olduğu bir bağışıklık hastalığından kaynaklanmasıdır. Otoimmün ensefalitler için

tanı oranı, özellikle antikor testlerine erişimin artmasıyla birlikte hızla yükselmektedir. Bu gruba anti-NMDA (N-metil-D-aspartat) reseptör ensefaliti ve anti-LGI1 ensefaliti örnek olarak verilebilir.

Diğer etiyolojiler hariç tutulduğunda; nöral otoantikorların tespiti ve/veya beyin omurilik sıvısı veya MRG'de enflamatuvar değişikliklerin bulunması, epilepsili bir hastada otoimmün etiyolojiyi düşündürmelidir. Bu hastalarda, mevcut otoimmün epilepsi sendromuna özgü immünoterapi oldukça etkili olabilmektedir (33).

### **2.2.5 Genetik Nedenler**

20 yıl öncesine kadar epilepside genetik etiyoloji nadiren dikkate alınmaktayken, epilepsi ile ilişkili birçok yeni genin keşfi ile bu görüş değişmeye başlamıştır. Etiyolojik mekanizmalar içerisinde genetik faktörler başta gelmekte ve tüm epilepsilerin yaklaşık %40-60'ının etiyolojisinde rol oynadığı düşünülmektedir. Etiyolojik bakış açısıyla tek gen hastalıkları, otozomal veya X'e bağlı kalıtımın %9, kromozom anomalilerinin %0,5-7, poligenik/multifaktöryel kalıtımın ise %90 oranında etkili olduğu düşünülmektedir (5).

Epilepsi genetiğindeki temel gelişmeler, ailesel monogenik hastalıklarda olmuştur. Nöbet semptomu gözlenebilen fenilketonüri, tüberoskleroz gibi yapısal ve metabolik birçok Mendelyen hastalığın moleküler temeli artık günümüzde çok daha iyi anlaşılmıştır ve bu hastalıklar nispeten nadir olmakla birlikte bunların moleküler temelini aydınlatılması ile farmakoterapi ve cerrahi tedavi seçeneklerinin kullanımına olanak sağlanmıştır. Fakat benign familyal neonatal epilepsi gibi yapısal ve metabolik belirteçlerin olmadığı Mendelyen epilepsilerin varlığı da uzun zamandır bilinmektedir (34).

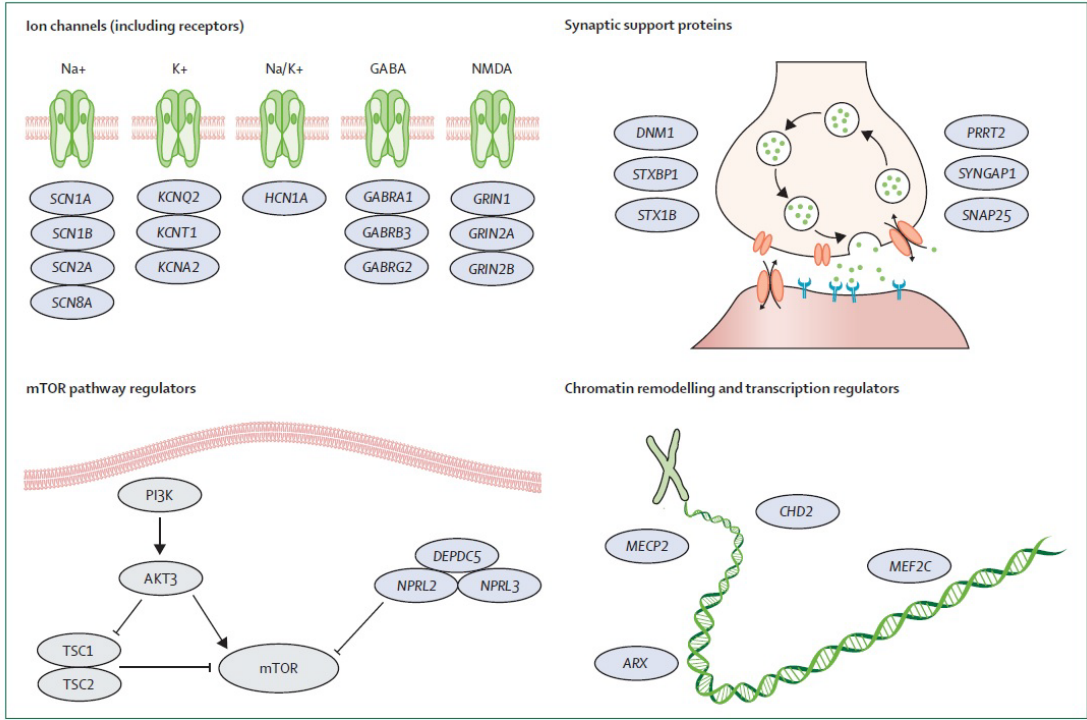
Bunlara karşılık GJE ve ailesel temporal lob epilepsisi gibi ailesel epilepsilerin çoğunluğu Mendelyen kalıtım göstermemektedir. Aksine, kalıtım paternleri komplekstir ve fenotipin belki de çevresel faktörlerle etkileşime girerek birden fazla gen tarafından belirlendiğini göstermektedir (35,36).

İkiz çalışmaları, epilepsinin kalıtım derecesinin ~%25-70 olduğunu ve yaşla birlikte arttığını göstermektedir. Yapılan ikiz çalışmalarında, monozigotik (MZ) çiftlerin %94'ünde ve dizigotik (DZ) çiftlerin ise %71'inde her iki ikizde de aynı majör epilepsi sendromu saptandığı bildirilmiştir (37). Ayrıca idiyopatik jeneralize epilepside (İJE) MZ ikizlerde konkordans oldukça yüksekken, fokal epilepside MZ ikizlerde bile konkordansın düştüğü gösterilmiştir (38).

Epilepsi genetiğinde giderek artan sayıda gen tanımlanmaktadır. CMA ve yeni nesil dizileme (NGS-Next Generation Sequencing) tekniklerinin kullanıma girmesi ve yaygınlaşması da bu süreci oldukça desteklemektedir. Wang ve arkadaşlarının yaptığı kapsamlı çalışmada; 84 gen epilepsi geni, 536 gen epilepsi ile ilişkili gen ve OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) veri tabanında yer almayan 284 gen potansiyel epilepsi ilişkili gen olarak listelenmiştir (39).

Phenotype (in order of the onset age)	Inheritance	Gene
<b>Neonatal</b>		
Pyridoxamine 5'-phosphate oxidase deficiency (PNPOD)	AR	<i>PNPO</i>
Pyridoxine-dependent epilepsy (EPD)	AR	<i>ALDH7A1</i>
Benign familial neonatal seizures (BFNS)	AD	<i>KCNQ2, KCNQ3</i>
<b>Infantile and childhood</b>		
Familial infantile myoclonic epilepsy (FIME)	AR	<i>TBC1D24</i>
Benign familial infantile seizures (BFIS)	AD	<i>PRRT2, SCN2A, SCN8A</i>
Amish infantile epilepsy syndrome (AIES)	AR	<i>ST3GAL5</i>
Early infantile epileptic encephalopathy (EIEE)	AD	<i>CACNA1A, GABRA1, GABRB3, KCNQ2, KCNT1, SCN2A, SCN8A</i>
	AR	<i>AARS, ARV1, DOCK7, FRRS1L, GUF1, ITPA, NECAP1, PLCB1, SLC12A5, SLC13A5, SLC25A12, SLC25A22, ST3GAL3, SZT2, TBC1D24, WWOX</i>
	XLD	<i>CDKL5</i>
	XL	<i>ARHGEP9</i>
	XL	<i>ALG3, PCDH19</i>
	UN	<i>DNM1, EEF1A2, FGF12, GABRB1, GNAO1, GRIN2B, GRIN2D, HCN1, KCNA2, KCNB1, SIK1, SLC12A2, SPTAN1, STXB1, UBA5</i>
Dravet syndrome (DS)	AD	<i>SCN1A, SCN9A<sup>b</sup></i>
Familial febrile seizures (FFS)	AD	<i>GABRG2, GPR98, SCN1A, SCN9A</i>
	AR	<i>CPA6</i>
Generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFS+)	AD	<i>GABRD, GABRG2, SCN1A, SCN1B, SCN9A, STX1B</i>
Generalized epilepsy and paroxysmal dyskinesia (GEPD)	AD	<i>KCNMA1</i>
Myoclonic-atonic epilepsy (MAE)	AD	<i>SLC6A1</i>
Childhood-onset epileptic encephalopathy (COEE)	AD	<i>CHD2</i>
Focal epilepsy and speech disorder (FESD) with or without mental retardation	AD	<i>GRIN2A</i>
Childhood absence epilepsy (CAE)	AD	<i>GABRG2</i>
	UN	<i>CACNA1H, GABRA1, GABRB3</i>
<b>Juvenile and later</b>		
Juvenile absence epilepsy (JAE)	AD	<i>CLCN2<sup>a</sup>, EFHC1</i>
Juvenile myoclonic epilepsy (JME)	AD	<i>CACNB4, CLCN2<sup>a</sup>, EFHC1, GABRD</i>
	UN	<i>GABRA1</i>
Idiopathic generalized epilepsy (IGE)	AD	<i>CACNB4, CLCN2<sup>a</sup>, GABRD, SLC12A5, SLC2A1</i>
	UN	<i>CACNA1H, CASR</i>
Familial adult myoclonic epilepsy (FAME)	AD	<i>ADRA2B</i>
	AR	<i>CNTN2</i>
Familial temporal lobe epilepsy (FTLE)	AD	<i>CPA6, GAL, LGI1</i>
<b>Not specific</b>		
Progressive myoclonic epilepsy (PME)	AD	<i>KCNC1</i>
	AR	<i>CERS1, CSTB, EPM2A, GOSR2, KCTD7, LMNB2, NHLRC1, PRDM8, PRICKLE1, SCARB2</i>
Nocturnal frontal lobe epilepsy (NFLE)	AD	<i>CHRNA2, CHRNA4, KCNT1</i>
	UN	<i>CHRN2</i>
Familial focal epilepsy with variable foci (FFEVF)	AD	<i>DEPDC5</i>

**Şekil 2.3.**Başlangıç yaşı ve fenotiplerine göre epilepsi genleri - Wang ve ark.(39)'ndan alınmıştır.

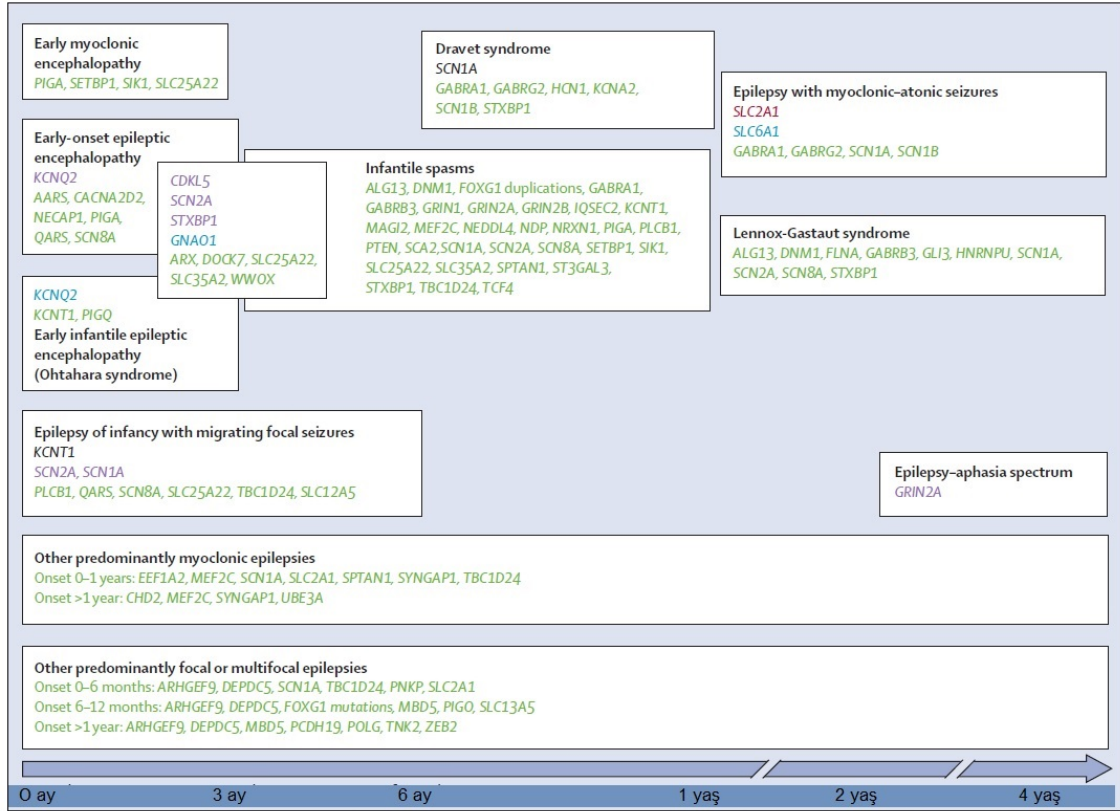


**Şekil 2.4.Epilepside hücresel fonksiyonlar ve yollar -Ellis ve ark.(40)'ndan alınmıştır.**

Gen keşfindeki ilerlemeler, epilepsinin potansiyel nörobiyolojik mekanizmalarının çeşitliliğini ortaya koymuştur. Sinaptik fonksiyonu, hücre büyümesi ve çoğalmasını, kromatin yeniden düzenlemesini ve diğer hücresel fonksiyonları düzenleyen proteinleri kodlayan genler, artık iyon kanalları ve nörotransmitter reseptörleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu bulgular, epilepsinin potansiyel nörobiyolojik mekanizmalarının kapsamını genişletmiş ve bu yolların modülasyonu için yeni tedavi yaklaşımları için olanaklar sunmuştur (40).

Tüm ekzom dizileme (WES), nörojenetik vakaların %25'inde tanısallık olabilmektedir. Benzer şekilde, tüm genom dizileme (WGS), çeşitli hastalıkları olan yetişkinler ve çocuklarda %27'lik bir tanısallık verime sahiptir (41). Literatürde 35-265 gen içeren paneller ile epilepsi için hedeflenen NGS çalışmalarında; %10

ila %48,5 arasında değişen tanı verimi rapor edilmiş olup buradaki düşük tanısal verim olasılığı, bu panellerde az sayıda gen yer almasına ve bu çalışmalara çok sayıda hasta dahil edilmesine bağlı olabileceği bildirilmiştir (41-43). Tersine, moleküler genetik çalışmalar ile çoğunlukla de novo ortaya çıkan çok sayıda epilepsi geninde, ağır gelişimsel ve epileptik ensefalopatili bebeklerin %30-50'sinde nedensel mutasyonun tanımlandığı bildirilmiştir (3,44).



Sadece birden fazla vaka bildirilen genler dahil edilmiştir. Siyah renk, vakaların en az % 50'sini, mor renk vakaların % 10-50'sini ve kırmızı renk vakaların % 5-10'unu oluşturan genleri belirtmektedir. Mavi renk, vakaların % 5'inden azını oluşturan genleri belirtirken, yeşil renk, vakaların bilinmeyen bir yüzdesini oluşturan genleri belirtmektedir.

**Şekil 2.5. Epilepsi sendromlarının genetik nedenleri - McTague ve ark.(44)'ndan alınmıştır.**

Epilepsi genetiğinde çoğu mutasyon, genomun yaklaşık %1,5'ini oluşturan protein kodlayan ekzonlarda meydana gelmesine rağmen ailevi yetişkin



miyoklonik epilepside bildirilen intronik tekrar sayısı artışları gibi kodlanmayan bölgelerde de mutasyonlar tanımlanmıştır (45).

Bazı hastalıklarda ilişkili genin epilepsi fenotipine etkisi iyi tanımlanmışken bazı genlerin epilepsi fenotipine etkisi oldukça değişken olabilmektedir. En iyi bilinen örnek, hastaların %80'inden fazlasında SCN1A geninde patojenik bir varyanta bağlı ortaya çıkan Dravet sendromudur. Monogenik bir etiolojinin, Dravet sendromu, febril nöbetlerle birlikte jeneralize epilepsi ve ailesel febril nöbetler gibi hafiften ağıra değişken bir spektrumda epilepsiye neden olabileceği dikkate değerdir (46).

Normal beyinlerde yüksek düzeyde mozaisizm bulunmakta olup bu durum epilepsinin genetik nedenlerini araştırırken önem arz etmektedir. Lodato ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; her bir kortikal nöronun; 1458 ila 1580 arasında somatik tek nükleotid varyantı barındırdığı ve bu sayede oldukça farklı genomlar içerdiği bildirilmiştir (47). Özel moleküler çalışmalar yapılmadığı sürece düşük oranda mozaisizm (<%20) geleneksel Sanger dizi analizi ile tespit edilememektedir. Bu nedenle mozaik patojenik mutasyonlar atlanabilmektedir. Dravet sendromuna neden olan SCN1A genindeki kalıtsal patojenik mutasyonlarda; mutasyonun kalıtıldığı ebeveynin kanındaki mozaisizm oranının %0,04 ila %85 gibi çok geniş bir aralıkta değiştiği bildirilmiştir (48). Bazı durumlarda ise mutasyon, sadece beyin dokusunda sınırlı olabilir ve kan veya diğer dokularda tespit edilemeyebilir. Gonadlara sınırlı mozaisizm ise, bir ailede epilepsinin tekrarlama riskini önemli ölçüde arttırabilmektedir.

Diğer bir potansiyel genetik mekanizma da, DNA metilasyonundaki değişimlerin gen transkripsiyonunu etkilediği epigenetik değişikliklerdir. Buna ek olarak, gelecekteki araştırmalar için kritik bir hedef olan çevresel etkenlerin, gen ekspresyonu üzerindeki etkileri hakkında da çok az şey bilinmektedir (27).

Genetik bir etiyoloji olması, çevresel faktörlerin katkısını dışlamamaktadır. Çevresel faktörlerin, nöbet oluşumuna katkıda bulunduğu kabul edilen bir görüştür. Örneğin, epilepsili birçok kişinin uyku yoksunluğu, stres ve hastalık ile nöbet geçirme olasılığı daha da yükselmektedir (3).

Sonuç olarak epilepsi hastalarında genetik etiyolojiyi aydınlatmak; hastalığın yönetimi ve gelecekteki tedavi yaklaşımları açısından büyük önem arz etmektedir.

## **2.3 Epilepsi Etiyolojisinde CNV'ler**

### **2.3.1 CNV Nedir?**

Kopya sayısı varyantları (copy number variation) yani CNV'ler, referans insan genomuyla karşılaştırıldığında DNA'nın bir kısmının kazanımı veya kaybı olarak tanımlanmaktadır. Son 10 yılda araştırmacılar, genomumuzun çeşitli büyüklüklerde CNV'ler içerdiğini saptamışlardır ki bu CNV'ler, genomumuz ile referans insan genomu arasında %1,2 düzeyinde farklılığa yol açmaktadır (49). CNV'lerin büyüklükleri bir kilobazdan (kb) birkaç megabaza (Mb) veya hatta bütün bir kromozoma (trizomiler ve monozomiler) kadar değişebilir. Bu değişimler, bir veya daha fazla gen içerebileceği gibi hiç gen de içermeyebilir.

Tanısal CNV yorumlamasında yaygın (muhtemel benign) CNV'ler ile nadir (muhtemel patojenik) CNV'ler arasında ayırım yapmak için sağlıklı kontrol kohortlarından gelen frekans bilgileri kullanılmaktadır. CNV'ler; çok sayıdaki etkilenmemiş bireyde (~>%1) benzer CNV'ler bulunduğu benign olarak sınıflandırılabilir. Bir CNV'nin yorumlanmasında; CNV'nin tipi (kopya sayısında kayıp veya artış), boyutu, lokalizasyonu (ekzonik, intronik veya intergenik), varsa içerdiği genler (bu genlerin içerisinde imprinted gen bulunup

bulunmadığı, genlere bağlı hastalıkların kalıtım paterni, genin diğer allelinde patojenik mutasyon olup olmadığı), mozaiklik durumu önem arz etmektedir (50).

Özelikle bir veya daha fazla genin kopya sayısı artışında, kopya sayısı kaybına göre daha hafif fenotip gözleendiği veya hiç fenotip ortaya çıkmadığı bildirilmiştir (51). Genel bir kural olarak, 1 Mb'dan daha büyük CNV'lerin patojenik olma olasılığı daha yüksekken, <200 kb büyüklüğündeki küçük CNV'lerin benign olma olasılığı daha yüksek olarak bildirilmektedir (52). 500 kb'dan daha büyük bir CNV oranı zihinsel engelli hastalarda yaklaşık %25 iken genel popülasyonda bu oran sadece %8'dir (53). Ayrıca bir CNV içerisinde yer alan genlerin kopya sayısında artış ya da kayıp olmasına göre klinik bulgular da değişebilmektedir. Bu durum için; PMP22 geninin kontrast dozaj etkileri nedeniyle, 17p12 duplikasyon ve delesyonlarının, sırasıyla Charcot-Marie-Tooth hastalığı tip 1A (CMT1A) ve Ailesel Basınca Duyarlılık Nöropatisi (HNPP) ile sonuçlanması örnek gösterilebilir.

### 2.3.2 CNV Tespitinde Kullanılan Yöntemler

**a) Standard karyotip analizi (G bantlama):** G-bantlama karyotip analizi, birçok laboratuvarında insan kromozomlarını tanımlamak için kullanılan bir tekniktir. GTG (Giemsa kullanılarak tripsin tarafından G bantları) olarak da bilinen bu teknikte, boyanan her bir kromozom çifti, mikroskop altında diğer kromozomlardan ayırt edilebilen karakteristik bant (açık ve koyu) paterni sergilemektedir. Bu yöntemle mikroskopik düzeydeki CNV'leri saptamak mümkündür.

**b) Floresan in situ hibridizasyon (FISH):** Moleküler sitogenetik, özellikle FISH tekniği, lokusa spesifik DNA probları kullanılarak belli bir CNV bölgesinin doğrudan analizi için kullanılmaktadır. FISH yaklaşımının önemli bir kısıtlaması, lokusa özgü prob büyüklüğünün 10 kb'dan büyük olmasının gerekmesidir. İkinci zorluk ise FISH analizi ile mikroduplikasyon tanısının, mikrodelesyon tanısına göre daha zor olmasıdır. Ancak bu engel, interfaz nükleuslarının analizi ve sinyal yoğunluk ve boyutunun ölçümü ile aşılabilmektedir (51).

**c) Kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR):** Daha çok gen ekspresyonu değerlendirmesinde kullanılan qPCR, CNV tespitinde de kullanılmaktadır. Bu yöntemin dezavatajı mozaiklik veya dengeli yeniden düzenlenmeleri gösterememesidir. Aynı zamanda doğru primer çiftlerini bulmak ve PCR koşullarını optimize etmek de önem arz etmektedir (51).

**d) Multipleks Ligasyon Bağımlı Prob Amplifikasyonu (MLPA):** MLPA, yönlendirilmiş multipleks PCR esaslı bir yöntemdir. Sadece hedef sekanslara hibridize olan primerler amplifiye edilmektedir.

**e) Kromozomal Mikroarray Analizi (CMA):** CNV tespitinde iki çeşit mikroarray kullanılmaktadır:

- Array temelli karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH)
- Tek nükleotid polimorfizm (SNP) tabanlı mikroarray

Her iki arrayde de solid bir desteğe fikse edilmiş insan DNA segmentleri kullanılmaktadır. aCGH analizinde, bir referans DNA ile numuneden izole edilen DNA, farklı floresan boylarla etiketlenip, eşit miktarda karıştırılmakta ve diziyeye hibridize edilmektedir. Kontrol örneğiyle karşılaştırıldığında, iki floresan boya oranındaki değişiklikler, test örneğindeki farklı DNA miktarlarını göstermekte ve bu değişiklikler de CNV yerlerine karşılık gelmektedir.

SNP arrayde ise, polimorfik nükleotidleri içeren problemler kullanılmaktadır. SNP'ler genomda doğal olarak bulunur ve şimdiye kadar insan genomunda yaklaşık 85 milyon SNP tanımlanmıştır (54). Genellikle klinik laboratuvarlarda 750,000 SNP'e kadar olan arrayler kullanılmaktadır. Bu teknikte referans DNA kullanılmaz. Hesaplama algoritmaları ile sinyal yoğunluğu, numunede bulunan SNP genotip(ler)in yanı sıra kopya sayısına dönüştürülür. CNV'lere ek olarak, SNP dizilerindeki genotip bilgileri uniparental dizomi, parental orjinin belirlenmesi ve maternal hücre kontaminasyonu gibi klinik olarak faydalı diğer bilgileri de

tanımlayabilmektedir. Buna ek olarak, triploidi aCGH ile tespit edilemezken, SNP dizileri üzerindeki allel modelleri değerlendirilerek kolayca tespit edilebilmektedir (54).

Herhangi bir mikroarrayin çözünürlüğü problemleri tarafından belirlenir. CMA, öncelikle submikroskopik delesyon ve duplikasyonlar için daha yüksek duyarlılığa sahip olduğundan, açıklanamayan genel gelişim geriliği (GGG)/mental retardasyon(MR), OSB veya multipl konjenital anomalili bireylerde G-bant karyotipe göre (Down sendromu ve diğer tanımlanabilir kromozomal sendromlar hariç yaklaşık %3), çok daha yüksek bir tanısal verime (%15-%20) sahip olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle bu grup hastalarda ilk sıra test olması önerilmektedir (50,55).

### **2.3.3 Epilepsi Etiyolojisinde CNV'lerin Rolü**

Özellikle bebeklik ve çocukluk döneminde başlayan epilepsilerin çoğunda belirgin bir genetik zemin bulunmaktadır. Son yıllarda birçok epilepsi tipi ve epilepsi sendromunda tek gen mutasyonlarını saptayan sayısız NGS, WES ve WGS çalışmaları yayınlanmıştır. Ancak CNV'lerin epilepsilere, özellikle de komorbiditelerle komplike olanlara olan katkısı daha az araştırılmıştır.

Epilepside risk faktörü ya da epilepsi nedeni olarak CNV'ler, farklı epilepsi tiplerine sahip hastaların yaklaşık %5-12'sinde bildirilmiştir (56). Epilepsi hastalarında patojenik bir CNV riskinin, dismorfik özellikler gibi diğer komorbiditelerle birlikte de arttığı rapor edilmiştir (57). Özellikle ID olan epilepsili hastalarda yapılan çalışmalarda bu oran %28'e yükselmektedir (58).

Epilepsili 517 birey ve 2493 kontrol ile yapılan bir çalışmada, hastaların %8,9'unun kontrollerde bulunmayan bir veya daha fazla CNV taşıdığı gösterilmiştir. Hastaların % 2,9'unda, bu CNV'lerin daha önce ID, otizm ve

şizofreni ile ilişkili genomik sıcak noktalar olan 15q11.2, 15q13.3 veya 16q13.11 lokuslarında olduğu bildirilmiştir (2). Farklı çalışmalarda bu lokuslar dışında da epilepsi ile ilişkili bölgeler tespit edilmiştir.

15q13.3 mikrolelesyonu, ilk kez MR'li hastalarda tanımlanmış olup epilepsi hastalarında en sık rastlanan CNV'dir ve İJE'lerin %1'inde gösterilmiştir (8). Bununla birlikte 16p13.11 ve 15q11.2 delesyonları da epilepsili hasta gruplarında sık olarak bildirilmiştir (9). 15q13.3, 15q11.2 ve 16p13.11 mikrolelesyonları, GJE'li hastaların %0,5 ila %1'inde bulunmaktayken, etkilenmemiş kontrollerde nadirdir (58).

**Tablo 2.5.Epilepsiler için bildirilmiş majör bağlantı lokusları -Chen ve ark. (11)'dan alınmıştır.**

Lokasyon	Gen	Epilepsi Sendromu
2q24	SCN3A	Ailesel Benign İnfantil Konvülsiyonlar
2q24	SCN1A	*GEFS+
2q24	SCN2A	*GEFS+
2q24	SCN9A	*GEFS+
2q34		Genetik Jeneralize Epilepsi
3q26		Benign Mesial Temporal Lob Epilepsisi
5q34		Ailesel Genetik Jeneralize Epilepsi Sendromu Spektrumu
5q14-q15		Febrile Nöbetler ve Epilepsi
6p12		Jüvenil Miyoklonik Epilepsi
6p21.3	TAP-1	Jüvenil Miyoklonik Epilepsi
6p21.3	BRD2	Jüvenil Miyoklonik Epilepsi
6q24	EPM2A	Lafora Progresif Miyoklonik Epilepsi
7p12.1 7q11.22	KCTD7	Progresif Miyoklonik Epilepsi

7q32		Fotosensitivite İlişkili Miyoklonik Epilepsi
8q24	KCNQ3	İdiyopatik Jeneralize Epilepsi
8q24	KCNK9	Çocukluk Çağı Absans Epilepsi
10q24		Parsiyel Epilepsi
		İşitsel Özelliklere Sahip Otozomal Dominant Parsiyel Epilepsi
10q22-24	LGI1	İşitsel Özelliklere Sahip Otozomal Dominant Parsiyel Epilepsi
10q25-q26		Jeneralize Tonik-Klonik Nöbet
13q31.3		Genetik Jeneralize Epilepsi
15q14		Rolandik Epilepsi
16p13	TBC1D24	Ailesel Otodominant Resesif İnfantil Miyoklonik Epilepsi
19q13	SCN1B	*GEFS+
22q11-12	DEPDC5	Değişken Odaklı Ailesel Parsiyel Epilepsi
22q13.11	TBC1D22A	Febril Nöbetli Resesif Genetik Epilepsi
<b>*GEFS+: Febril nöbetli resesif genetik jeneralize epilepsi</b>		

Araştırmamızda, polikliniğimize başvuran epilepsi hastalarında tanısal amaçlı yapılan aCGH ham verilerinin retrospektif olarak yeniden incelenerek, bu testin epilepsi hastalarındaki tanısal veriminin saptanması ve epilepsi ile ilişkili olabilecek olası aday gen ve CNV'lerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

### 3.GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1 Hasta Seçimi

Çalışmamızda, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğimize “epilepsi” tanısıyla başvuran hastaların aCGH yöntemiyle elde edilen verileri retrospektif olarak değerlendirilerek aCGH’in bu hasta grubundaki tanısal veriminin belirlenmesi ve epilepsi etiyojisindeki yeni aday gen ve CNV’lerin ortaya konması planlanmıştır. Çalışmanın etik açıdan uygunluğu Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 08.05.2019 tarihinde 2019-10 karar no’lu etik kurul kararı ile onaylanmıştır (Bkz. EK 1). Bu amaçla, 1 Nisan 2019 tarihine kadar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğine “epilepsi” tanısıyla başvuran ve aCGH çalışılan 80 olgunun klinik ve laboratuvar bulguları polikliniğimizdeki hasta dosyaları ve hastane bilgi sistemi (MIA-Med) üzerinden retrospektif olarak elde edilerek araştırma kapsamına alınmıştır. Bu süreçte hastaların yaşı, prenatal, natal ve neonatal bilgileri, epilepsi tipi, kullandığı ilaçlar, ilaçlara direnç varlığı ve mental retardasyon başta olmak üzere eşlik eden diğer klinik ve demografik bulguları kaydedilmiştir. Bu olgulara çalışılan aCGH’in çözünürlüğü, hastalara önceden tanısal amaçla yapılmış olan kromozom analizleri ve varsa diğer moleküler genetik analizleri (epilepsi NGS, MLPA, FISH,.. vs) not edilmiştir. Aynı zamanda retrospektif olarak hastalara ait anamnezler ve aile ağaçları değerlendirilmiş ve varsa anne-baba-kardeş aCGH verileri de değerlendirilmiştir.

Araştırmaya dahil edilen olgulara ait yapılan tüm tanısal testler ve bu testlerin analizleri ile ilgili gerekli görülen bilgilendirilmiş onam formları mevcuttur. Bu çalışma için hastalara ek test yapılmamıştır. Hastalar; polikliniğimizdeki hasta dosya numaraları ile ve numaranın başına P harfi konularak (Patient-Hasta) kodlanmış olup aynı ailede hasta/sağlıklı ebeveyn veya kardeş aCGH verileri varsa bu bireylere ait veriler; hasta bireye yakınlığına göre kodlanmıştır (Annesi için: P-Hasta dosya numarası-A; Babası için:P-Hasta dosya numarası-B; Kardeşi



için:P-Hasta dosya numarası-K; Çocuğu için:P-Hasta dosya numarası-Ç). Hastanın, çalışmamıza alınan kardeş veya çocukları birden fazla ise bu kodun sonuna ek bir rakamla belirtilmiştir. Örneğin; poliklinik dosya numarası 5244 olan bir hasta, P-5244 olarak; kardeşi P-5244-K1; diğerkardeşi P-5244-K2 şeklinde kaydedilmiştir.

### **3.2 Gereçler**

#### **3.2.1 Kullanılan Aletler**

- ✓ AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner
- ✓ Vakum konsantrator cihazı (Christ RVC 2-18 CD Plus Vacuum Concentrator)
- ✓ Nanofotometre (implen P330)
- ✓ Slide Holder
- ✓ Kapak ısıtmalı termal cyclers
- ✓ Hibridizasyon Chamber
- ✓ Agilent hibridizasyon fırını
- ✓ 2 adet Manyetik Karıştırıcı

#### **3.2.2 Kullanılan Kimyasal Maddeler**

- ✓ AgilentCGH Wash Buffer 1
- ✓ AgilentCGH Wash Buffer 2
- ✓ 1.5 mL'lik Eppendorf tüpleri
- ✓ 0.2 mL'lik PCR tüpleri
- ✓ Oligo aCGH Hybridization Kit
- ✓ Hybridization gasket slides
- ✓ Referans DNA-Male ve Female (250 ng/uL)
- ✓ Asetonitril
- ✓ SurePrint G3 Human CGH Bundle
- ✓ Oligo aCGH Wash Buffer 1 and Oligo aCGH Wash Buffer 2
- ✓ TBE Buffer
- ✓ SureTag DNA Labeling Kit Purification Columns
- ✓ Agilent 8×60K ve 4x180K Gasket Slide

- ✓ Human Cot-1 DNA
- ✓ SureTag Complete DNA Labeling Kit

### **3.3 Yöntem**

#### **3.3.1 DNA İzolasyonu**

Her hastanın periferik kan örneği Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda DNA izolasyon kiti ile izole edildikten sonra kayıt altına alınmıştır. Periferik kan örneklerinden DNA elde edilmesinde Roche® High Pure PCR Template Preparation Kit (genomik DNA için) kullanılmıştır. DNA izolasyonu için üretici firmanın önerdiği protokol aynen uygulanmıştır.

#### **İzolasyon protokolü**

- 1,5 mL'lik eppendorf tüplere 200 µl kan, 200 µl Binding Buffer 40 µl Proteinaz K eklendikten sonra pipetaj yapılarak karışması sağlanmıştır. Ardından eppendorf tüpler yüksek hızda vortekslenmiştir.
- Daha sonra bu karışım, 10 dakika 70°C'de inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyondan sonra her bir tüpe 100 µl isopropil alkol eklenmiştir.
- Tüpün içindeki karışım filtreli kolona aktarılıp 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Kolonun dibindeki filtratlı tüp atıldıktan sonra filtre yeni bir tüpe aktarılmıştır.
- Filtreye Removal Buffer'dan 500 µl miktarında konulduktan sonra 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- Kolonun dibindeki filtrat atılıp filtre yeni bir tüpe alınmıştır.
- Bu filtreye Wash Buffer 500 µl konulup 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
- Kolonun dibindeki filtrat atılıp filtre yeni bir tüpe alınmıştır. Bu filtreye Wash Buffer 500 µl konulup 10000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
- Kolon 1,5 mL'lik eppendorfun içine konulmuştur.
- Her birine 100 µl elution buffer eklenmiştir.
- Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edildikten sonra 1 dakika boyunca 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir.

- Kolon atılarak ve ependorfun içindeki DNA -20°C'de muhafaza edilmiştir.

### 3.3.2 Etiketleme Öncesi gDNA Hazırlığı

Genomik DNA'nın izole edildikten sonra hasta DNA'ları ve referans DNA örnekleri (Agilent) ve hepsi Nanofotometre(Nanodrop impen P330) cihazında ölçümler yapılarak 50 ng olacak şekilde ayarlanmıştır. 60K aCGH lamı 8 örneklilik olduğu için, 8 hasta gDNA'sı ve 8 referans gDNA'sı toplam 16 tüpte; 180K aCGH lamı 4 örneklilik olduğu için, 4 hasta gDNA'sı ve 4 referans gDNA'sı toplam 8 tüpte hazırlanarak işlemler gerçekleştirilmiştir.

**Tablo 3.1.Mikroarray başına gerekli gDNA hacmi ve miktarı.**

Mikroarray Formatı	Gerekli gDNA Miktarı (µg)	Kesimli gDNA Hacmi (µL)
8 x mikroarray	0.2-0.5	10.1
4 x mikroarray	0.5-1.0	20.2

### 3.3.3 Array CGH Metodu ve Uygulanması

#### 1) Enzimatik Etiketleme Kiti ile Restriksiyon Kesimi

Reaksiyon tüpüne her bir örnek için 4xmikroarray(180K) çalışmasında 5,8µl; 8xmikroarray(60K) çalışmasında 2,9µl master mix konulmuştur. Her bir örnek DNA'sı, master mix ile birlikte 4xmikroarray(180K) çalışmasında toplam 26µl, 8xmikroarray(60K) çalışmasında toplam 13µl olacak şekilde hazırlanmıştır. Önce 2 saat 37°C'de ve ardından 20 dakika 65°C'de olacak şekilde PCR programı uygulanmıştır.

**Tablo 3.2.Kesim karışımının hazırlanışı.**

Komponentler	4xmikroarray(180K)		8xmikroarray(60K)	
	için		için	
	1	16	1	16
	Reaksiyon için (µl)	Reaksiyon için(µL)	Reaksiyon için (µl)	Reaksiyon için(µL)
Distile su	2.0	34	1	17
10x Enzim kesim buffer	2.6	44.2	1.3	22.1
BSA	0.2	3.4	0.1	1.7
Alu I	0.5	8.5	0.25	4.25
Rsa I	0.5	8.5	0.25	4.25
Toplam Son Hacim	5.8	98.6	2.9	49.3

**Tablo 3.3.Kesim için kullanılan ısı döngüsü programı.**

Kademe	Sıcaklık	Süre
1. Kademe	37°C	2 saat
2. Kademe	65°C	20 dakika
3. Kademe	4°C	∞

## 2) gDNA'nın Floresan İşaretlenmesi

4xmikroarray(180K) için 26 µL gDNA içeren her bir PCR tüpüne 5 µL; 8xmikroarray(60K) için 13 µL gDNA içeren her bir PCR tüpüne 2.5 µL rastgele primer (random primer) eklenerek toplam hacim sırasıyla 31 µL ve 15.5 µL'ye tamamlanmıştır. 98°C'de 3 dakikalık bir PCR yapılmıştır. Sonrasında tüpler buz içerisinde bekletilmiştir.

**Tablo 3.4. Termal Cykler kullanarak DNA denatürasyonu ve fragmantasyonu.**

Kademe	Sıcaklık	Süre
1. Kademe	98°C	3 dakika
2. Kademe	4°C	∞

Cyanin-3(Mavi/Referans) ve Cyanin-5(Pembe/Hasta) için iki ayrı reaksiyon mixi hazırlanmıştır. Her bir hastanın PCR ürününe 4xmikroarray(180K) için 19µl etiketleme master mix; 60K 8xmikroarray için 9.5µl etiketleme master mix toplam hacim sırasıyla 50 µl ve 25 µl olacak şekilde dağıtılmıştır. 2 saat 37°C'de ve ardından 10 dakika 65°C'de olmak üzere PCR işlemi yapılmıştır. PCR işleminden sonra elde edilen ürün -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

**Tablo 3.5. Etiketleme karışımının hazırlanışı.**

Komponentler	4xmikroarray(180K) için		8xmikroarray(60K) için	
	1 Reaksiyon için (µl)	4 Reaksiyon için(µL)	1 Reaksiyon için (µl)	8 Reaksiyon için(µL)
5xReaksiyon Buffer	10.0	42.5	5.0	42.5
10x dNTP	5.0	21.25	2.5	21.25
Cyanin-3 dUTP veya Cyanin-5 dUTP	3.0	12.75	1.5	12.75
Exo(-) Klenow	1.0	4.25	0.5	4.25
Toplam Son Hacim	19.0	80.75	9.5	80.75

**Tablo 3.6. DNA etiketlemesinin ısı döngü programı.**

Kademe	Sıcaklık	Süre
1. Kademe	37°C	2 saat
2. Kademe	65°C	10 dakika
3. Kademe	4°C	∞

### 3) Etiketlenmiş gDNA'nın Pürifikasyonu

Her bir reaksiyon tüpüne 1x TE Buffer 430 µl konulmuştur (pH 8.0). Tüplerin içerisine kolonlar yerleştirildikten sonra kolonların içerisine örnekler yüklenmiştir. 10 dakika 14000 rpm santrifüjlendikten sonra alttaki sıvı atılıp aynı işlem 480 µl TE Buffer eklenip tekrar uygulanmıştır ve altta kalan kısım tekrar atılmıştır. Kolonlar yeni 2 mL'lik tüpler ters çevirilip konulduktan sonra 1 dakika 1000 rpm santrifüjlenmiştir.

### 4) Ürün Miktarı ve Spesifik Aktivite Hesaplanması

Daha sonra elde ettiğimiz örneklerin işaretlenmesi yapılmıştır ve ardından spesifik aktiviteleri ölçülmüştür. Bunun için; "DNA Konsantrasyonu (ng/µL) x Örnek hacmi (µL) /1000 ng/µg=Ürün (µg)" formülü kullanılmıştır.

Spesifik Aktivite = (µLboya başına pmol )/(µL gDNA başına µg)

**Tablo 3.7.Gerekli spesifik aktivite ve ürün miktar değerleri.**

Başlangıç gDNA(µg)	Ürün Miktarı(µg)	Cyanin-3/ Cyanin 5 işaretilerin spesifik aktivite değeri (pmol/µg)
0.2	3-6	15-50
0.5	8-13	20-60
1	9-14	20-60

### 5) Örneklerin Kurutulması

Her bir işaretlenmiş hasta ve referans DNA'ları birleştirilerek 1,5 µl RNAase free tüplere konulmuştur. Tüpler toplam hacim 4xmikroarray(180K) için 39 µL, 8xmikroarray(60K) için 16 µL olacak şekilde vakum konsantratör cihazında 1 saat boyunca 55°C'de buharlaştırılmıştır.

## 6) gDNA'nın Hibridizasyona Hazırlanması

Önce kullanılacak 10x Blocking Agent, 1.350 µl saf su ve liyofilize halde olan 10x aCGH Blocking Agent'a eklenerek hazırlanmış ve ardından 60 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Vorteksledikten sonra -20°C'de muhafaza edilmiştir.

## 7) Mikroarray Hibridizasyonu

Önce hibridizasyon karışımı hazırlanmıştır.

**Tablo 3.8.Hibridizasyon Karışımı.**

Komponentler	4xmikroarray(180K) için		8xmikroarray(60K) için	
	1 Reaksiyon için (µl)	8 Reaksiyon için(µL)	1 Reaksiyon için (µl)	8 Reaksiyon için(µL)
Cot-1 DNA(1.0mg/ml)	5	42.5	2	17
10xaCGH bloklama ajanı	11	93.5	4.5	38.25
2HI-RPM Hibridizasyon buffer	55	467.5	22.5	191.25
Toplam Son Hacim	71	603.5	29	246.5

Oluşan her örnek için üzerine hibridizasyon karışımından 4xmikroarray(180K) için 71 µL, 8xmikroarray(60K) için 29 µL eklenerek toplam hacim sırasıyla 110 µL ve 45 µL olan yeni tüplere aşağıdaki PCR programına göre konulmuştur.

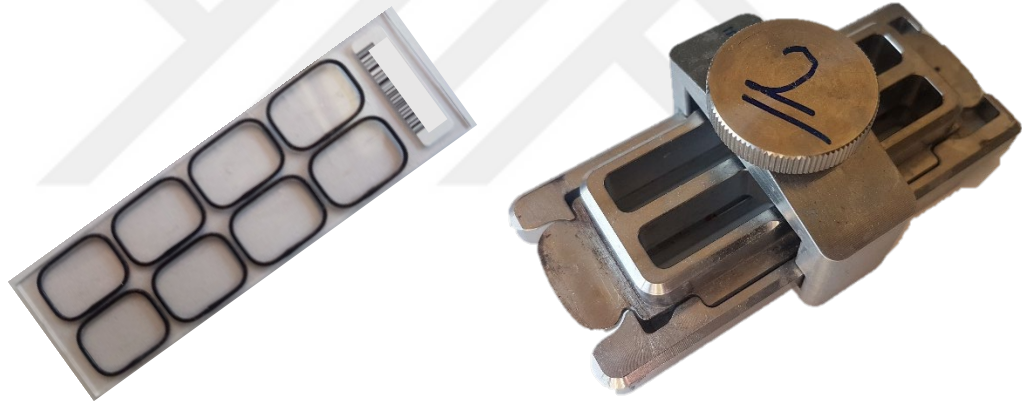
2xHI-RPM Hibridizasyon Buffer'ın vizkozitesi yüksek olması nedeniyle en son olarak pipetaj yapılarak dağıtılmıştır. Önce 98°C'de 3 dakika, ardından 37°C'de 30 dakika denatürasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra 1 dakika santrifüjlenmiştir.

**Tablo 3.9.Hibridizasyon öncesi ısı döngü protokolü.**

Kademe	Sıcaklık	Süre
1. Kademe	98°C	3 dakika
2. Kademe	37°C	30 dakika

### 8) Hibridizasyon Örneklerinin Array Slaytlarına Yüklenmesi

8x60K ve 4x180K mikrodizinleri, cam lam üzerine yazılmıştır. Lamın örneklerin yüklenecek tarafı doğru bir şekilde seçilmelidir. Örnekler; kullanılacak olan array platformu SurePrintG3 ISCA V2 CGH 8x60K için 40 µl, SurePrintG3 ISCA V2 CGH 4x180K için 100 µl hacimde gasket slide üzerindeki sırasıyla 8 ve 4 bölgeye yüklenmiştir.



**Şekil 3.1. 8x60K mikroarray için kullanılan gasket slide (soldaki) ve hibridizasyon chamber.**

Sonrasında probalar lamın "Agilent" etiketli yüzüne basılı olduğu için bu yüz aşağıda olacak şekilde gasket slide üzerine yerleştirilmiştir. Hibridizasyon Chamber'ı kapatılıp mandal döndürülerek sıkılmıştır.



Chamber döndürülerek lamlar tamamen karışım ile temas ettirilerek baloncukların hareketi kontrol edilmiştir. Baloncukların hareket etmemesi durumunda problemlerin hibridizasyonu gerçekleşmemektedir. Kapatılmış hibridizasyon chamber, Agilent hibridizasyon fırınına yerleştirilip 67°C'de dakikada 20 devir dönecek şekilde 24 saat boyunca bırakılmıştır. Aynı zamanda ertesi gün kullanılacak olan Wash Buffer 2 hazırlığı yapılmıştır.



**Şekil 3.2. Agilent hibridizasyon fırını ve hibridizasyon chamber (sarı ok).**

## 9) Yıkama

Hibridizasyon sonrası yıkama işlemlerinin gerçekleştirileceği malzemeler asetonitril solüsyonu ile yıkanmıştır. Asetonitril ile yıkanmış olan malzemeler distile sudan geçirilerek malzemeler asetonitrilden uzaklaştırılmıştır.

**Tablo 3.10.Yıkama aşamasında gerekli olan bufferlar ve koşulları.**

Kap Numarası	Wash Buffer numarası	Koşul	Süre	Sıcaklık
1	1			Oda sıcaklığı
2	1	Manyetik karıştırıcı üzerinde	5 dakika	Oda sıcaklığı
3	2	Manyetik karıştırıcı üzerinde	1 dakika	37°C

Yıkama aşaması için AgilentOligo aCGH/ChIP on CHIP Wash Buffer 1 ve 2 kullanılmıştır. 37°C'ye ayarlı manyetik karıştırıcı üzerine ısı kaybını engellemek amacıyla bir cam kap içerisine sıcak su konularak içinde Wash Buffer 2 olan kap bu kabın içine yerleştirilmiştir. Wash Buffer 2, bir gece önce 37°C'ye ayarlanmış etüve cam kap içerisinde bırakılmıştır.

Hibridizasyon fırınından alınan kapatılmış lam hazne içindeki array slaytı ve gasket slide 1. kap içerisindeki sıvıya yerleştirildikten sonra bu sıvı içerisinde gasket slaytla array slaytı pens yardımı ile birbirinden ayrılmıştır. Gasket slayt 1. kabın içerisinde bırakılarak SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8×60K/4x180K slayt, oda sıcaklığındaki Wash Buffer 1'in bulunduğu 2. kap içerisine konulmuştur. Ardından 5 dk bu sıvı içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra array slaytının olduğu şale Wash Buffer 1 içinden çıkarılıp Wash Buffer 2 içine konulmuştur. Burada 1 dk bekletilip ardından Wash Buffer 2'den de çıkarılmıştır.

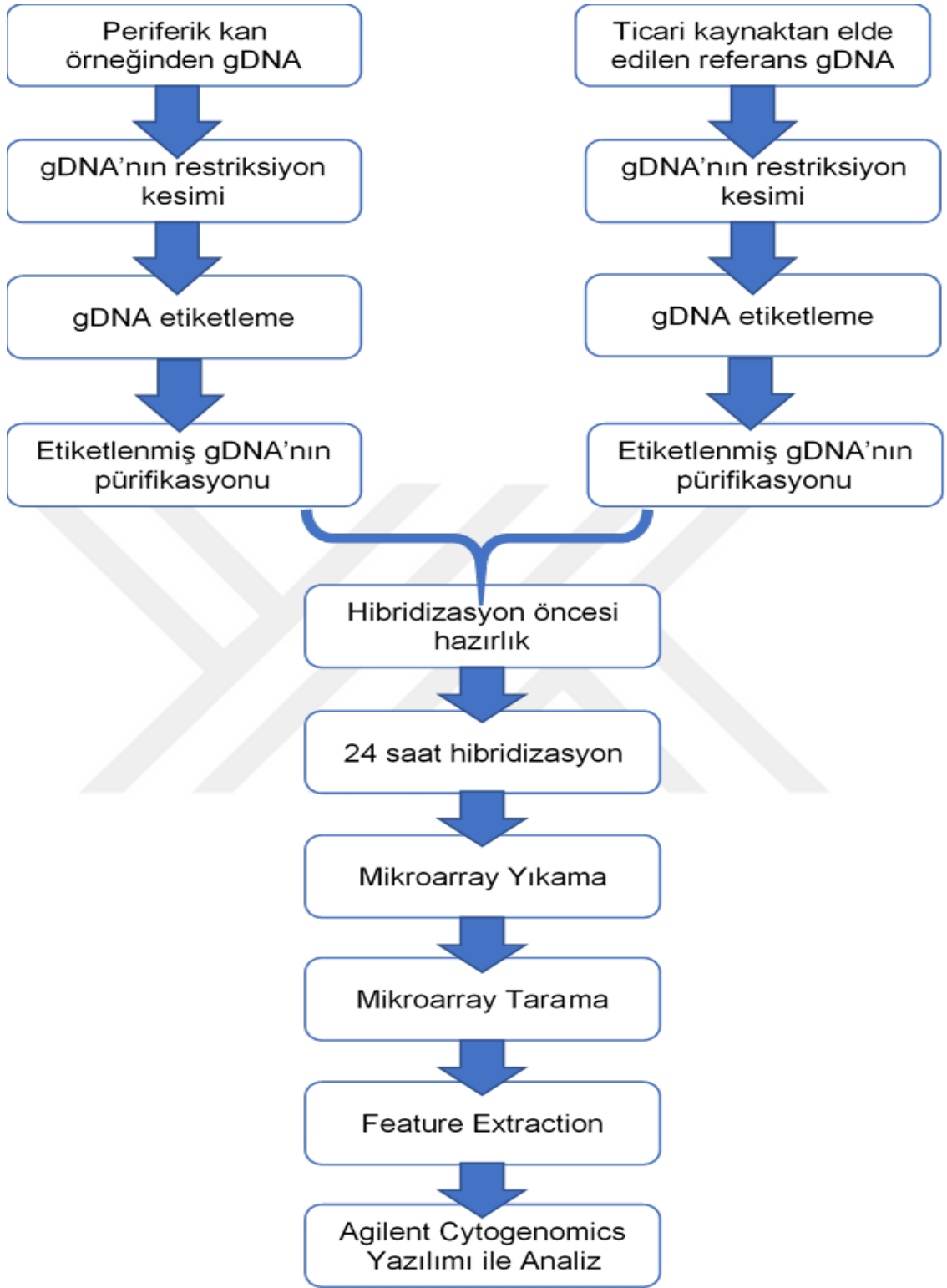
Yıkama aşamasındaki birinci yıkama işlemi yüzeysel bir yıkama sağlamaktadır. 2. ve 3. yıkama işlemlerinin uygun sıcaklık ve dalgada olmasına dikkat edilerek ozondan mümkün olduğunca daha az etkilenmesi sağlanmıştır.

Array slaytı, lam tutucusuna "Agilent" yazısı üst tarafa bakacak şekilde konularak ozon bariyer lam kapağı slaytın üzerine uygun şekilde yerleştirilip slayt tutucusu kapatılmıştır.

Tarama aşamasından önce slayt tutucu içerisine yerleştirilen slayt, bilgisayardan verilen komutla açılan tarayıcı kasetler içerisine yerleştirilmiştir.

#### **10) Mikroarray Taraması**

Bilgisayar üzerinden "Agilent Microarray Scan Control" yazılımıyla tarama yapılması sağlanmıştır.



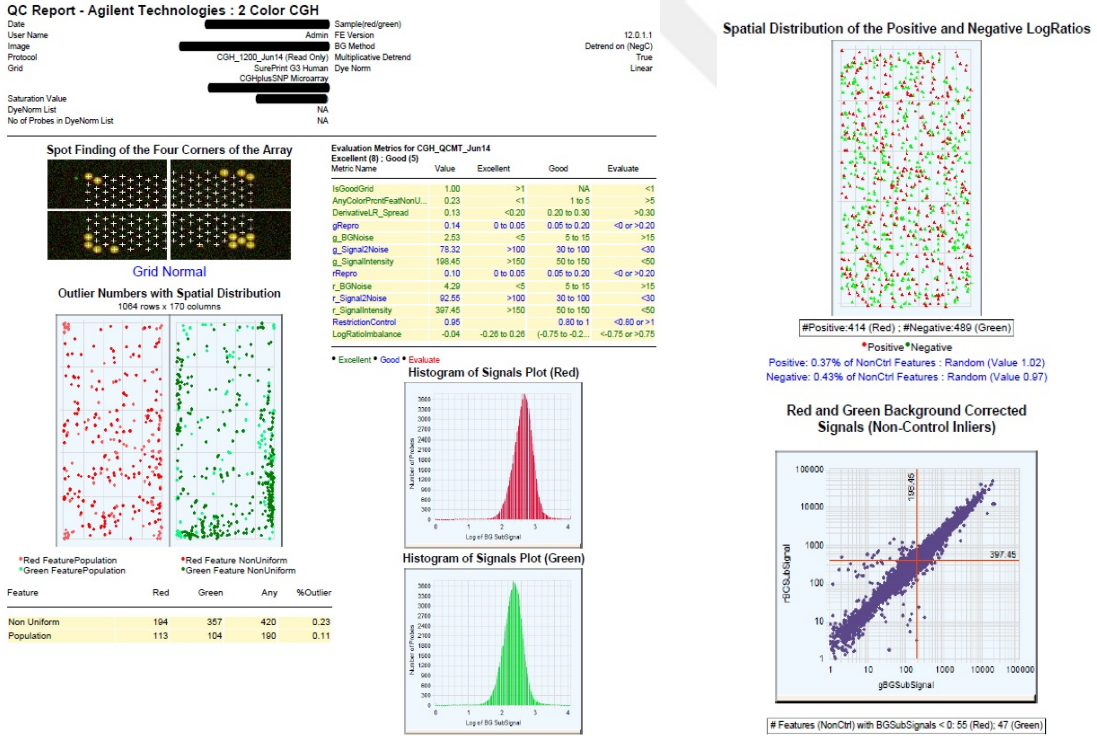
Şekil 3.3. aCGH yöntemi basamakları.

## 11) TIFF Dosyalarının Analizi

Tarama işlemi bittikten sonra .tiff dosyasından ve log oranlarına dönüştürme işlemini yapmak amacıyla Feature Extraction 12.0 yazılımı kullanılmıştır. Bu yazılım deneyin kalitesi ile ilgili kalite kontrol raporu vermektedir.

**Tablo 3.11. Enzimatik etiketlemenin kalite kontrol eşik değerleri.**

	Mükemmel	İyi	Şüpheli
<b>Tekrarlanabilirlik</b>	<0.05	0.05-0.2	>0.2
<b>Sinyal/Gürültü</b>	>100	30 - 100	<30
<b>Arka Plan Gürültüsü</b>	<10	10 - 20	>20
<b>Sinyal yoğunluğu</b>	>150	50 - 150	<50
<b>DerivativeLRSpread</b>	<0.2	0.2 - 0.3	>0.3



**Şekil 3.4.aCGH(4x180K) kalite kontrol rapor örneği.**

## 12) Analizde kullanılan Yazılım

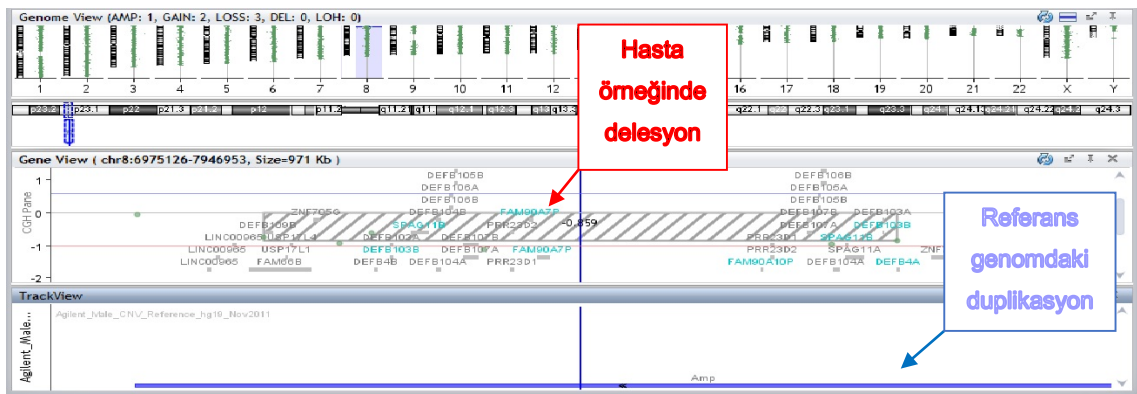
Analizde Agilent CytoGenomics 5.0.1.6 yazılımı kullanılmıştır.

### 3.4 CNV Analizi

#### 3.4.1 Yazılımda Saptanan CNV'yi Anlamlı Kabul Etme Kriterleri

Herhangi bir CNV'nin değerlendirilebilmesi için en az 3 ardışık probun ortalama log ratiosu duplikasyon açısından  $>0,5$  ve delesyon açısından  $<-0,5$  olması dikkate alınmıştır. Her hastada saptanan değişiklikler; aynı çalışma içerisinde bizim çalışma grubumuza dahil olmayan en az 2 örnek ile birlikte değerlendirilerek bu bölgeler açısından probtan kaynaklı hatalar önlenmeye çalışılmıştır.

aCGH çalışmalarında yöntemin çalışma prensibi gereği örnek DNA'sı, bir referans DNA ile kopya sayısı açısından karşılaştırılarak veri elde edilmektedir. Bu nedenle bizim çalışmamızda üretici firma tarafından gönderilen referans DNA'daki (her iki cinsiyet için ayrı ayrı) bilinen kopya sayısı artışı veya kayıplarından kaynaklı olarak örnek DNA'nın analizinde ortaya çıkan CNV'ler gözardı edilmiştir.



Şekil 3.5. aCGH değerlendirmesinde, hastada saptanan CNV'lerin referans DNA'ya göre karşılaştırılmasını gösteren aCGH görüntüsü.

Analiz sırasında bu kriterleri karşılayan tüm CNV'ler değerlendirmeye alınmış olup array analizinde her ne kadar >200 kb'lık değişimlerin değerlendirmeye alınması konusunda bildirimler olsa da epilepsi etiyojisine yönelik olası lokus veya genleri tespit etmeyi amaçlayan bu çalışmada CNV'ler, boyut açısından filtrelenmemiştir (52).

### **3.4.2 Saptanan CNV'lerin Sınıflandırılması**

Saptanan CNV'ler öncelikle CNV tipi (delesyon/duplikasyon), içerdikleri genler ve boyutları açısından değerlendirilmiştir. CNV bölgesindeki genlerin OMIM veri tabanında bulunup bulunmadığı, bulunuyorsa herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilip ilişkilendirilmediği ve varsa bu hastalığın fenotipe etkileri ve kalıtım paterni değerlendirilmiştir. OMIM'de herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmeyen veya OMIM'de tanımlanmayan genler Pubmed ve Genatlas veri tabanlarında araştırılarak hangi dokularda eksprese oldukları kaydedilmiş ve varsa literatürde bu bölgelerin epilepsi ile ilişkilendirildiğine dair yayınlar taranmıştır. Daha sonra bu CNV'ler ile benzer kırık noktaları olan yapısal varyasyonların, The Database of Genomic Variants(DGV) veri tabanında bulunup bulunmadığı not edilmiştir. DGV veri tabanı, insan genomundaki yapısal çeşitliliğin kapsamlı bir özetini sağlayan ve sadece sağlıklı kontrol örneklerindeki verilerin bulunduğu bir veri tabanıdır. Ardından olgumuzdaki CNV, ClinVar ve DatabasE of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (DECIPHER) veri tabanlarında araştırılmıştır. Hastamızdaki ile benzer gen bölgelerini içeren olgular ve bu olguların fenotipleri ile ilgili veriler kaydedilmiş, kendi hastamız ile karşılaştırılmıştır.

Hastalarda saptanan CNV'ler 4 kategoride (klinik ile ilişkili patojenik, klinik ile ilişkisiz patojenik, klinik önemi bilinmeyen varyant-VUS, Benign) değerlendirilmiş olup VUS kategorisi kendi içerisinde 3 alt kategoride (Muhtemel patojenik, VUS, Muhtemel benign) değerlendirilmiştir (52,53).

1. **Benign varyantlar:** Saptanan CNV; normal popülasyonda sıkça (~ >%1) bulunan, birçok hakemli yayında bildirilmiştir. Ayrıca belirgin bir fenotipi olan bireylerde tanımlanmamıştır. Gen içermeyen ve 200 kb'dan küçük olan CNV'ler de bu gruba dahil edilmiştir.
2. **Patojenik varyantlar:** Saptanan CNV'nin penetrans ve ekspresyonunun değişken olduğu biliniyor olsa bile, çok sayıda hakemli yayında klinik olarak anlamlı olduğu belgelenmiştir (örneğin mikrodelyasyon-mikrodüplikasyon sendromları,..vb).
3. **Klinik ile ilişkisiz patojenik varyantlar:** Klinik önemi olan bir CNV saptanmıştır ancak hastanın başvuru kliniği ile ilişkisizdir. Bu CNV'ler yatkınlık ve olası şüpheli lokuslar içerebilir.
4. **Klinik önemi bilinmeyen varyantlar (Variants of uncertain significance-VUS):** Daha önce bildirilmemiş olan veya bildirilmişse bile kesin klinik önemi için yeterli kanıt bulunmayan CNV'leri tanımlamaktadır. Patojenik veya benign olarak sınıflandırılmayan tüm CNV'ler bu gruba dahil edilmiştir. VUS CNV'ler üç alt kategoriye ayrılmıştır:
  - (a) **Muhtemel patojenik VUS:** CNV daha önce benzer bir fenotipli tek bir olguda tanımlanmış ya da bu CNV daha önce bildirilen az sayıdaki etkilenmiş bireydeki CNV'ler ile kısmen örtüşüyor ve ilişkili gen net olarak bilinmemektedir ya da bu CNV daha önce bildirilmemiştir fakat içindeki bir gen, hastanın kliniği ile ilgili bir işleve sahiptir.
  - (b) **Sınıflandırılmayan VUS:** CNV, gen içermekte, ancak genlerin dozaj duyarlı olup olmadığı ve işlevleri hakkında çok az veri bulunmaktadır (52).
  - (c) **Muhtemel benign VUS:** CNV gen içermemektedir, fakat boyutları açısından raporlama kriterlerini (>200 kb) karşılamaktadır yada içerdiği genin sadece intronik kısımlarını kapsamaktadır yada CNV daha önce bildirilmemiştir ve görünürde sağlıklı bir ebeveynden kalıtılmıştır yada CNV az sayıdaki normal bireyde gözlenmiş veya tek bir çalışmada normal kişilerde gözlemlendiği bildirilmiştir. Hastalarda morbid OMIM geni içeren heterozigot delesyon saptanan ancak o genlerle ilişkilendirilen hastalığın otozomal resesif kalıtım paterni olduğu ve hastanın kliniği ile uyum sağlamadığı durumlarda da saptanan CNV muhtemel benign olarak değerlendirilmiştir.



**Tablo 3.12. CNV'nin patojenitesinin değerlendirilmesi -Miller ve ark. (55)'dan alınmıştır.**

CNV'nin patojenitesinin değerlendirilmesi <sup>a</sup>		BENİGN	PATOJENİK
<b>Birincil Kriterler</b>			
1	a. Saptanan CNV sağlıklı bir ebeveynden kalıtılmış <sup>b</sup>	X	
	b. Bir ebeveynden kalıtılmış CNV nin değişmesi veya genişlemesi		X
	c. Saptanan CNV etkilenmiş bir ebeveynden kalıtılmış		X
2	a. Sağlık bir akrabada benzer bir CNV saptamak	X	
	b. Etkilenmiş bir akrabada benzer bir CNV saptamak		X
3	Yüksek rezolüsyonlu teknoloji tarafından tanımlanmış sağlıklı bireylerin olduğu CNV veri tabanında hastanın genomik dengesizliğini tamamen içeren bir CNV saptanması	X	
4	Saptanan CNV, yüksek çözünürlük teknolojisi ile tanımlanan bir CNV veritabanında MR / GG, OSB veya MKA'lı hastalar için tanımlanan genetik bir dengesizlik ile örtüşürse		X
5	Saptanan CNV, bilinen bir genomik dengesizlik sendromu için örtüşmekteyse (yani önceden tanımlanmış delesyon veya duplikasyon sendromu)		X
6	Saptanan CNV morbid OMİM genlerini içermekteyse <sup>c</sup>		X
7	a.Saptanan CNV genden zengin bir bölgedeysse		X
	b.Saptanan CNV genden fakir bir bölgedeysse	X	
<b>Genel Bulgular<sup>d</sup></b>			
1	a. Saptanan CNV bir delesyonsa		X
	b. Saptanan CNV bir homozigot bir delesyonsa		X
2	a. Saptanan CNV bir duplikasyon (bilinen dozaj-duyarlı genler yok)	X	
	b.CNV bir amplifikasyon (1 kopyadan daha fazla artış)		X
3	Saptanan CNV, bilinen düzenleyici elementleri içermiyorsa	X	
<p>a Tekli kopya sayı değişikliği</p> <p>b Etkilenmemiş bir ebeveynden kalıtılan resesif bir morbid OMİM genindeki delesyon, diğer ebeveynden kalıtılan trans alel üzerinde bir nokta mutasyonu ile birlikte patojenik olabilir.</p> <p>c CNV, OMİM hastalığına neden olduğu bilinen mutasyon tipinin ayırıcısına neden olmalıdır (örneğin bir heterozigot delesyon, genellikle bir heterozigot inaktive edici mutasyonun neden olduğu bir OMİM hastalığına neden olabilir) ve ortaya çıkan bu fenotip bu OMİM hastalığı için beklenen bir durum olmalıdır.</p> <p>d Her durumun istisnaları görülmüştür.</p>			

### 3.5 İstatiksel Analiz

Veriler IBM SPSS Statistics Paket Program 25 sürümü ile analiz edilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında Independent T test ve Ki Kare testleri kullanılmıştır. Independent T testi öncesi normallik testi yapılmıştır.

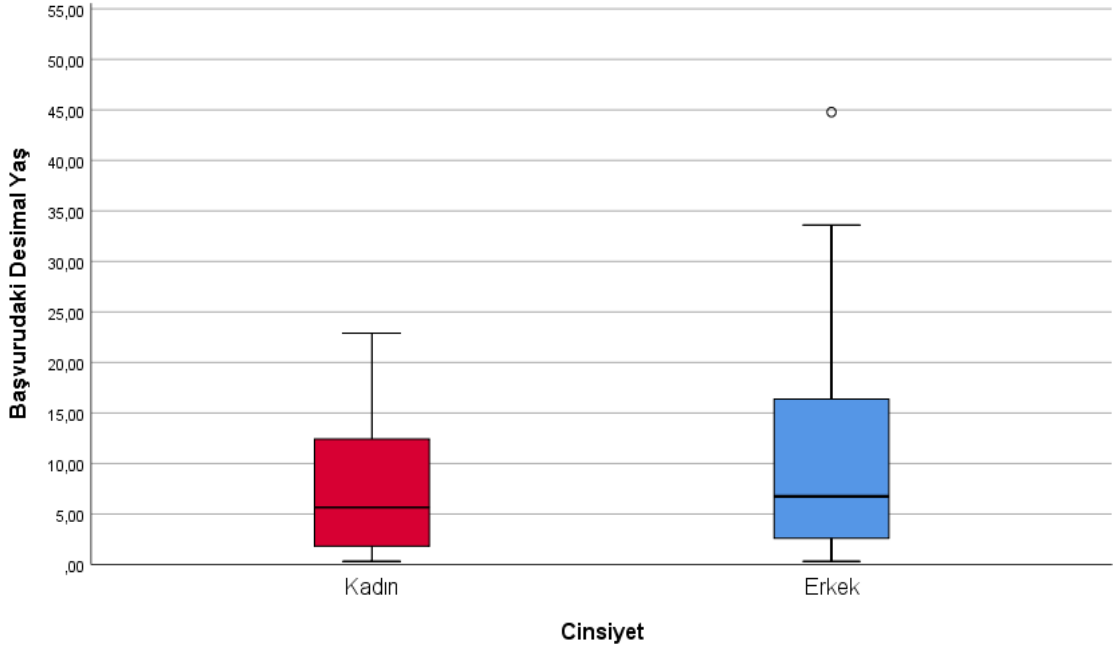
## 4.BULGULAR

Çalışmamız; 1 Nisan 2019 tarihine kadar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi (ÇOMÜ-SUAH) Tıbbi Genetik polikliniğine “epilepsi” tanısı ile başvurup ve aCGH yöntemi ile moleküler karyotipleme yapılmış hastalardan oluşmaktadır. Çalışmamıza, retrospektif hasta dosyaları ve kayıtların incelenmesi ile toplam 80 hasta dahil edilmiştir. Çalışmamıza dahil edilen beş hasta; grubumuzdaki dört bireyin birinci derece akrabalarından oluşmaktadır (P-5104-K1, P-5244-Ç1, P-5244-Ç2, P-7362-K1 ve P-7586-K1).

Hastaların aCGH yöntemi ile elde edilen ham verileri Agilent Cytogenomics 5.0.1.6 yazılımı ile tekrar analiz edilmiştir. Aynı zamanda hastaların sosyodemografik bilgileri, klinik ve laboratuvar bulguları için Tıbbi Genetik polikliniği hasta dosyaları ve ÇOMÜ-SUAH hastane MIA-Med sistem kayıtları incelenmiştir. Hastaların ÇOMÜ-SUAH Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda çalışılmış olan diğer genetik test sonuçları da kayıt edilmiştir.

### 4.1 Olguların Demografik Özellikleri

Çalışmamıza dahil edilen 80 epilepsi hastasının 36'sı (%45) kadın, 44'ü (%55) erkektir. Hastaların polikliniğimize başvuru sırasındaki yaş aralığı 3 ay ile 44 yıl arasında değişmekte olup hastaların desimal yaş ortalaması 9,45 ve ortancası 6,05 'tir. Bu durum, araştırmaya dahil edilen kadınlarda 3 ay-22 yaş ve ortalama desimal yaş 7,70 iken, erkeklerde 3 ay-44 yaş ve ortalama desimal yaş 10,90 olarak tespit edilmiştir.



**Şekil 4.1.Olguların polikliniğimize ilk başvurularındaki desimal yaşlarının hastaların cinsiyetlerine göre dağılımı. Kadın hastaların desimal yaşları 0,31-22,90 arasında değişmekte iken, erkeklerin desimal yaşları 0,31-44,78 yaş aralığında tespit edilmiştir.**

Hastalarımızın ebeveynlerinin köken olarak memleket bilgilerine bakıldığında; büyük çoğunluğunda memleket Çanakkale olmasına rağmen yurt genelinden ve yurtdışından da hastamız mevcuttu. 13 anne ve 11 babanın memleket bilgilerine ulaşılamamıştır.

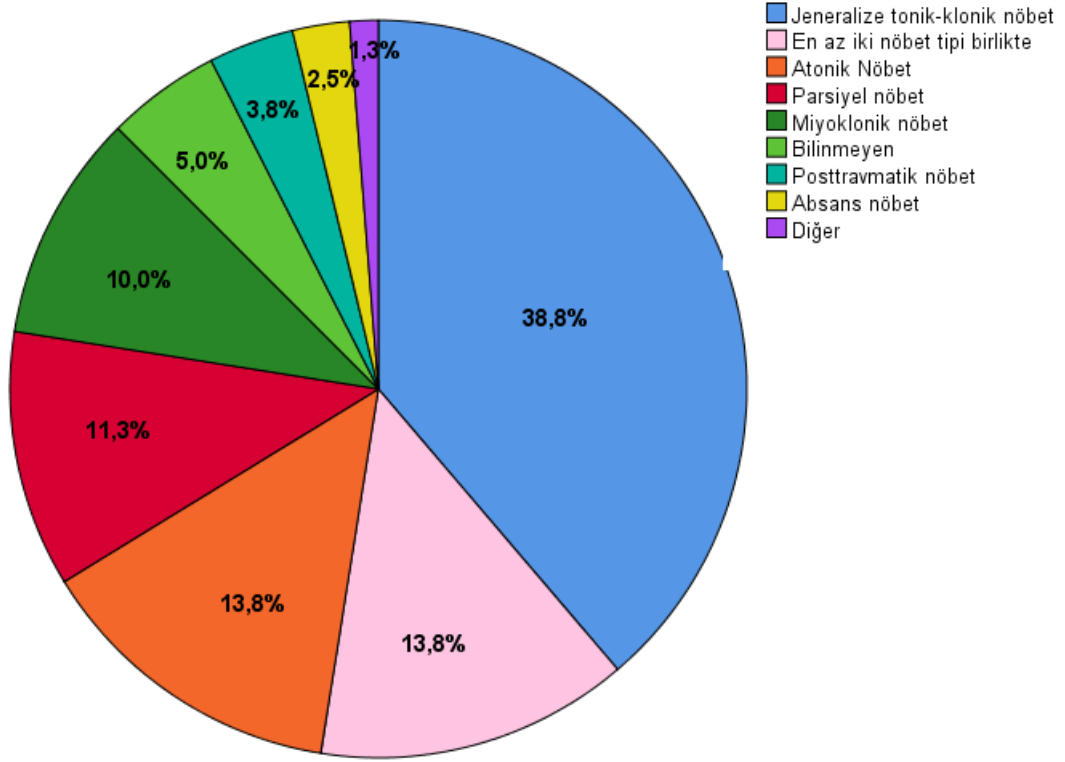


**Şekil 4.2.Olguların ebeveynlerinin köken aldıkları memleketlerinin parental ayrımla harita üzerinde sayısal dağılımı. Turuncu renk, o lokasyon kökenli anne sayısını; mavi renk, o lokasyon kökenli baba sayısını göstermektedir.**

Hastalarımızın 12'sinde (%15) ebeveynleri arasında en fazla üçüncü kuzen olmak üzere akrabalık mevcutken, 6'sında (%7,5) ebeveynler aynı veya yakın köyden köken almaktadır.

#### 4.2 Olguların Klinik Özellikleri

Hastalarımızın 31'inde (%38,8) jeneralize tonik tonik-klonik(JTK), 11'inde (%13,8) atonik, 9'unda (%11,3) parsiyel, 8'inde (%10,0) miyoklonik, 3'ünde (%3,8) posttravmatik ve 2'sinde (%2,5) absans tipte nöbet mevcuttur. Hastaların 11'inde (%13,8) en az iki nöbet tipi birlikte görülmektedir. Bir hastamızda distonik tipte nöbet (Diğer; %1,3) mevcutken, 4 hastada (%5) nöbet tipi ile ilgili veriye ulaşamadık.



**Şekil 4.3.Araştırmaya dahil edilen olgulara ait epileptik nöbet tipleri ve sıklıkları.**

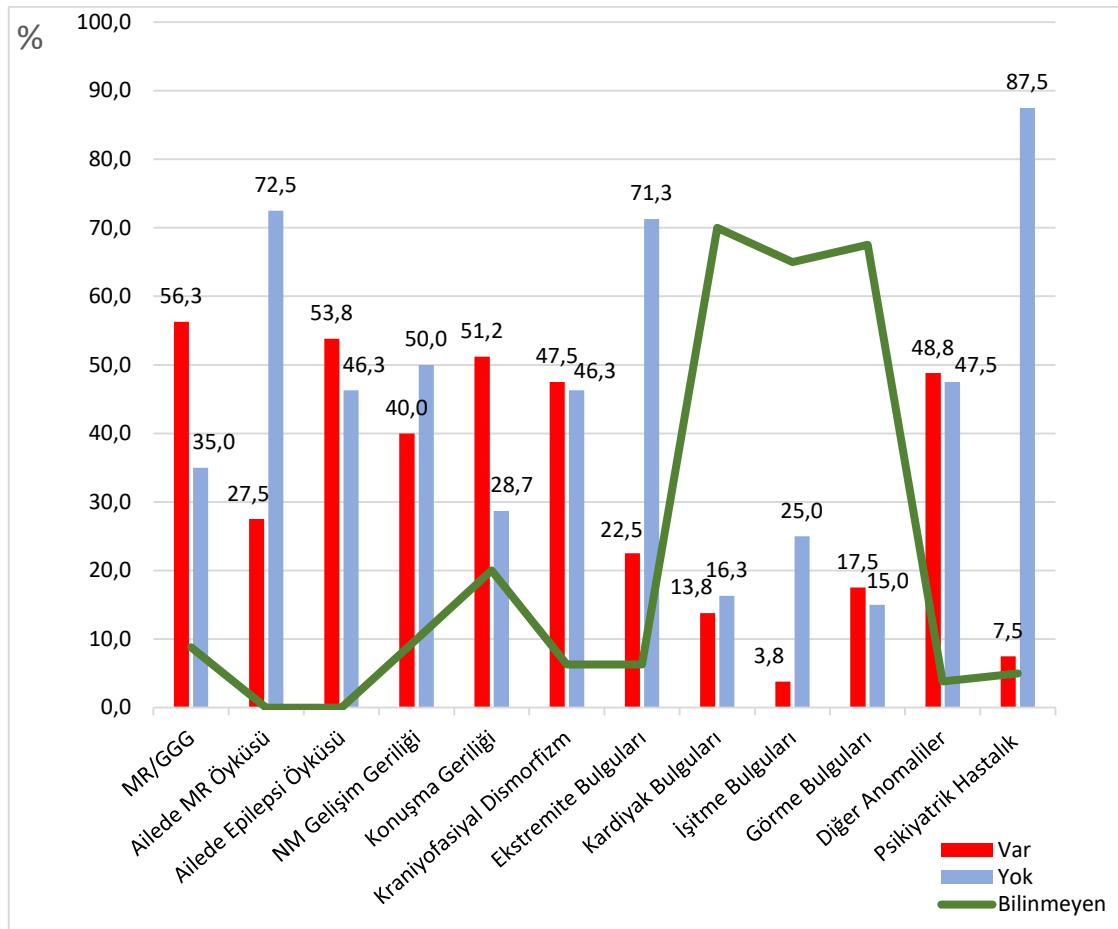
Şekil 4.4'te görüldüğü üzere; hastalarımızda, epilepsi başlangıç yaşı, nöbet tipi, nöbetlerin febril olup olmadığı, tedavi sürecinde en fazla kaç antiepileptik ilaç kullandıkları, antiepileptik tedaviye dirençlerinin olup olmadığı ve ailede epilepsi/nöbet öyküsü bulunup bulunmadığına dair veriler hasta dosyaları ve ÇOMÜ-SUAH hastane MIA-Med sistem kayıtları üzerinden taranmıştır. Olguların 55'inde (%68,9) epilepsi başlangıcı 5 yaşın altındadır. Hastaların büyük çoğunluğunda (%81,3) epileptik nöbetler afebril olarak ortaya çıkmaktadır. Olguların 49'unda (%61,3) tek antiepileptik ilaç ile nöbetler kontrol altına alınabiliyorken, 13 hastada (%16,3) dirençli epilepsi mevcuttur.

		Sayı	%
<b>Epilepsi Başlangıç Yaşı</b>	Yenidoğan	1	1,3
	<1 yaş	27	33,8
	1-5 yaş	27	33,8
	5-18 yaş	21	26,3
	>18 yaş	3	3,8
	Bilinmeyen	1	1,3
<b>Febril-Afebril Nöbet Varlığı</b>	Febril	2	2,5
	Afebril	65	81,3
	Febril ve Afebril birlikte	10	12,5
	Bilinmeyen	3	3,8
<b>Kullanılan Antiepileptik İlaç Sayısı</b>	Hiç ilaç kullanmayan	1	1,3
	Sadece 1 antiepileptik ilaç	49	61,3
	2 antiepileptik ilaç	13	16,3
	En az 3 antiepileptik ilaç	12	15,0
	Bilinmeyen	5	6,3
<b>Antiepileptik İlaçlara Direnç Varlığı</b>	Var	13	16,3
	Yok	62	77,5
	Bilinmeyen	5	6,3
<b>Ailede Epilepsi/Nöbet Tanılı Birey Öyküsü</b>	Var	43	53,8
	Yok	37	46,3

**Şekil 4.4.Olguların epilepsi kliniğine yönelik özellikleri. Sarı renkli sütunlar; o klinik özelliğin, tüm hastalar içerisindeki yüzde oranının grafiğini göstermektedir.**

Hastalarımızın 45'inde (%56,3) MR veya GGG; 38'inde (%47,5) kraniyofasiyal dismorfizm; 18'inde (%22,5) ekstremite anomalisi (genu varum, parmaklarda klinodaktili, el/ayak parmaklarında kısalık, simian çizgisi, clubfoot, parmaklarda pozisyon anomalisi, sivri parmak, halluks valgus, pes

planovalgus, vb); 11'inde (%13,8) kardiyak bulgular (kalpte üfürüm, konjenital kalp anomalileri); 3'ünde (%3,8) işitme azlığı/kaybı; 14'ünde (%17,5) görme bozukluğu (strabismus, ambliyopi, konjenital katarakt, miyopi, prematüre retinopatisi, göz kapağında düşüklük, vb); 39'unda (%48,8) diğer anomali veya hastalıklar (bronkomalazi, hipo/hiperpigmente cilt lezyonları, cafe'u lait lekeleri, hipotiroidi, renal anomali veya hastalıklar, genital anomaliler, vb) mevcuttu. Olguların soygeçmişleri değerlendirildiğinde; ailede MR veya GGG olan birey öyküsü oranı %27,5 iken, ailede epilepsi öyküsü olma oranı %53,8'e çıkmaktadır.



**Şekil 4.5.**Olguların epilepsi dışındaki klinik özellikleri ve soygeçmiş verilerinin % dağılımı. Kırmızı sütunlar, o klinik özelliğin var olduğu hasta %'sini; mavi sütunlar, o klinik özellik bulunmayan hastaların %'sini göstermektedir. Yeşil renkli çizgi ise o klinik özelliğin olup olmadığına dair veriye ulaşılamayan hasta %'sini göstermektedir.

### 4.3 Olguların CNV Değerlendirmesi

Çalışmamızdaki 80 epilepsi hastasının 29'unda (%36,3) 60K, 51'inde (%63,8) ise 180K çözünürlüğündeki aCGH ham verileri yeniden analiz edilerek güncel literatür bilgileri ışığında değerlendirilmiştir.

Hastalarımızda toplamda 223 CNV tespit edilmiştir. Saptanan CNV'ler; yöntem bölümünde belirtilen şekilde benign, muhtemel benign, patojenik, muhtemel patojenik ve klinik önemi bilinmeyen varyant-VUS olarak sınıflandırılmıştır.

CNV Sınıflandırması	Delesyon		Duplikasyon		TOPLAM
	Sayı	%	Sayı	%	
Benign / Muhtemel benign CNV	114	59,7%	77	40,3%	191
VUS CNV	10	62,5%	6	37,5%	16
Patojenik / Muhtemel patojenik CNV	9	56,3%	7	43,8%	16
TOPLAM	133	59,7%	90	40,3%	223

**Şekil 4.6.Olgularda saptanan CNV'lerin sınıflandırma gruplarına göre dağılımı. Kırmızı renkli sütunlar, delesyon tipi CNV'lerin kendi alt gruplarındaki toplam CNV sayısına göre %'sini; mavi renkli sütunlar, duplikasyon tipi CNV'lerin kendi alt gruplarındaki toplam CNV sayısına göre % grafiğini göstermektedir.**

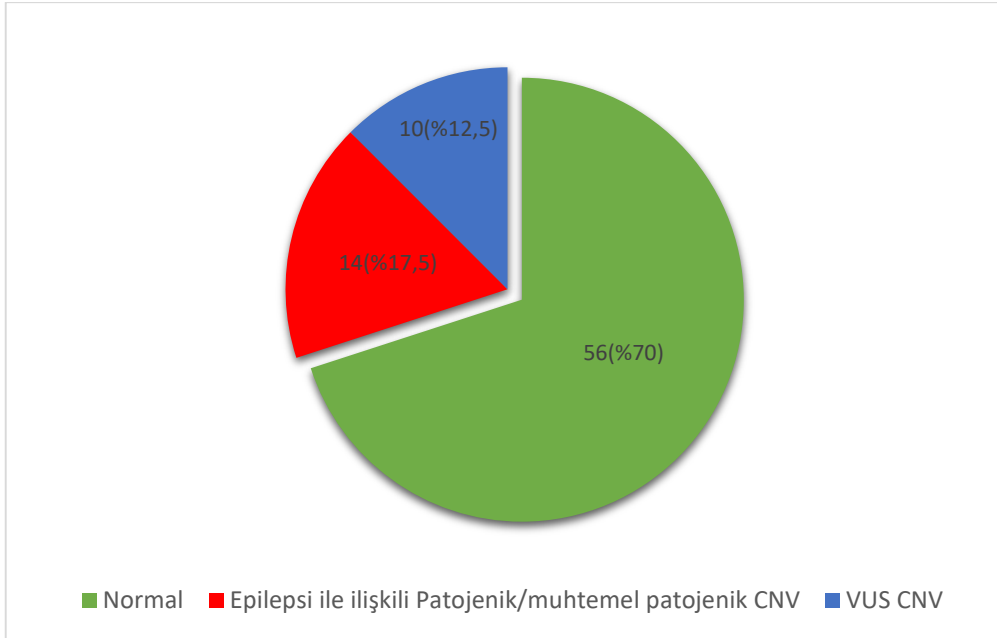
Olgularda saptanan CNV'lerin 133'ü (%59,7) delesyon, 90'ı (%40,3) duplikasyonlardan oluşmaktadır. Olguların 75'inde (%93,8) en az bir benign veya muhtemel benign CNV saptanmış olup toplamda 191 benign veya muhtemel benign CNV tespit edilmiştir.

Olguların 16'sında (%20) patojenik/muhtemel patojenik bir CNV saptanmış olup bunlardan 14'ünde (%17,5) saptanan CNV hastanın epilepsi kliniği ile ilişkili



olarak değerlendirilmiştir. 2 hastada (P-5244 ve P-6490) saptanan CNV'ler ise patojenik/muhtemel patojenik olarak değerlendirilmesine rağmen hastadaki epilepsi kliniğini açıklamadığından "Klinik ile ilişkisiz patojenik CNV" olarak değerlendirilmiştir.

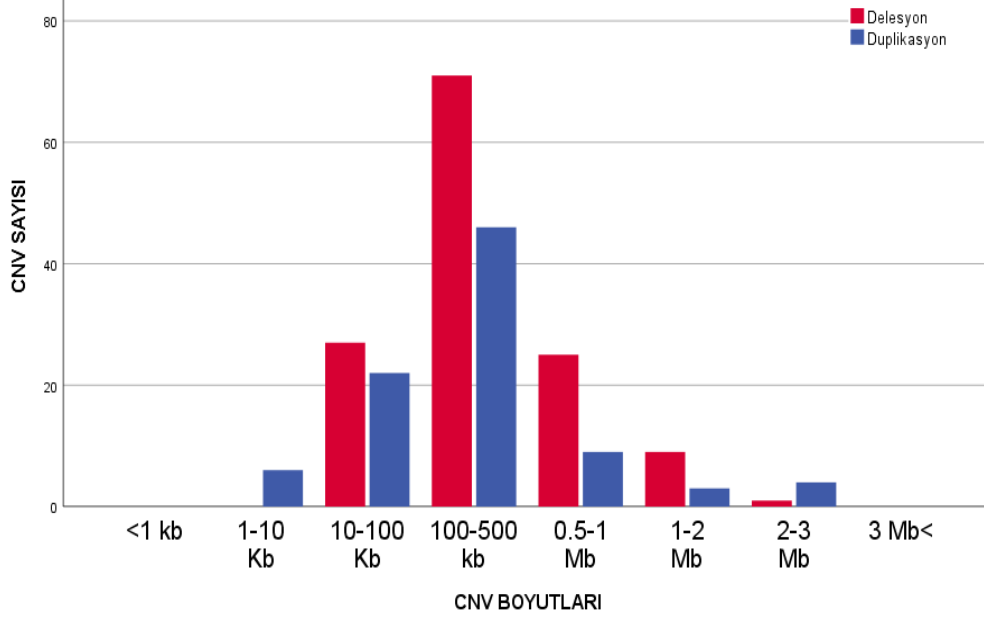
Olguların 12'sinde (%15) en az bir VUS CNV tespit edilmiştir. Bu hastaların ikisinde, bir patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanırken 4 hastada ise en az 2 VUS CNV gözlenmiştir.



#### Şekil 4.7.Olgularımızın aCGH sonuçları.

Hastalarımızda saptanan toplamda 223 CNV'nin büyüklük ortalaması 379,02 kb iken ortancası 218 kb idi.

Saptanan CNV'ler, büyüklüklerine göre değerlendirildiğinde; hem delesyon hem duplikasyonların 100-500 kb aralığında yoğunlaştığı gözlenmiştir.



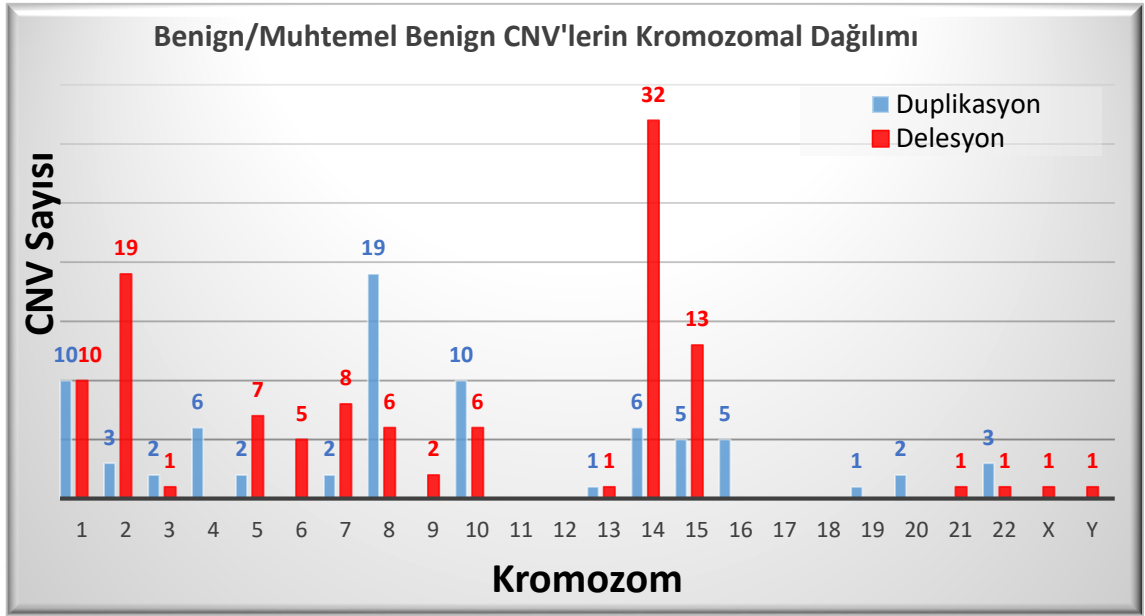
**Şekil 4.8.** Olgularda saptanan tüm CNV'lerin boyutlarına ve CNV tipine göre dağılımı. Kırmızı renkli sütunlar, delesyon tipi CNV'lerin sayısını; mavi renkli sütunlar ise duplikasyon tipi CNV'lerin sayısını göstermektedir.

CNV'lerin büyüklükleri, CNV'nin patojenitesi ile birlikte değerlendirildiğinde ise; benign/muhtemel benign CNV'ler ile VUS CNV'ler, hem delesyon hem duplikasyon açısından 100-500 kb aralığında yoğunlaşmaktadır. Buna karşın patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerde, duplikasyonlar çoğunlukla 100-500 kb aralığında iken delesyonların büyük kısmı 0,5-1 Mb aralığındadır. Yani delesyon tipindeki patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin, daha büyük boyutlarda olduğu tespit edilmiştir.

	DELESYON			CNV BOYUTU	DUPLİKASYON		
	Benign/ M. benign CNV	Patojenik/ M. patojenik CNV	VUS CNV		Benign/ M. benign CNV	Patojenik/ M. patojenik CNV	VUS CNV
Sayı	0	0	0	<1 Kb	0	0	0
%	0,0%	0,0%	0,0%		0,0%	0,0%	0,0%
Sayı	0	0	0	1-10 Kb	5	1	0
%	0,0%	0,0%	0,0%		6,5%	14,3%	0,0%
Sayı	24	2	1	10-100 Kb	21	1	0
%	21,1%	22,2%	9,1%		27,3%	14,3%	0,0%
Sayı	60	3	8	100-500 Kb	39	3	4
%	52,6%	33,3%	81,8%		50,6%	42,9%	66,7%
Sayı	21	4	0	0.5-1 Mb	5	2	2
%	18,4%	44,4%	0,0%		6,5%	28,6%	33,3%
Sayı	8	0	1	1-2 Mb	3	0	0
%	7,0%	0,0%	9,1%		3,9%	0,0%	0,0%
Sayı	1	0	0	2-3 Mb	4	0	0
%	0,9%	0,0%	0,0%		5,2%	0,0%	0,0%
Sayı	0	0	0	3 Mb<	0	0	0
%	0,0%	0,0%	0,0%		0,0%	0,0%	0,0%
Sayı	114	9	10	Toplam	77	7	6
%	100,0%	100,0%	100,0%		100,0%	100,0%	100,0%

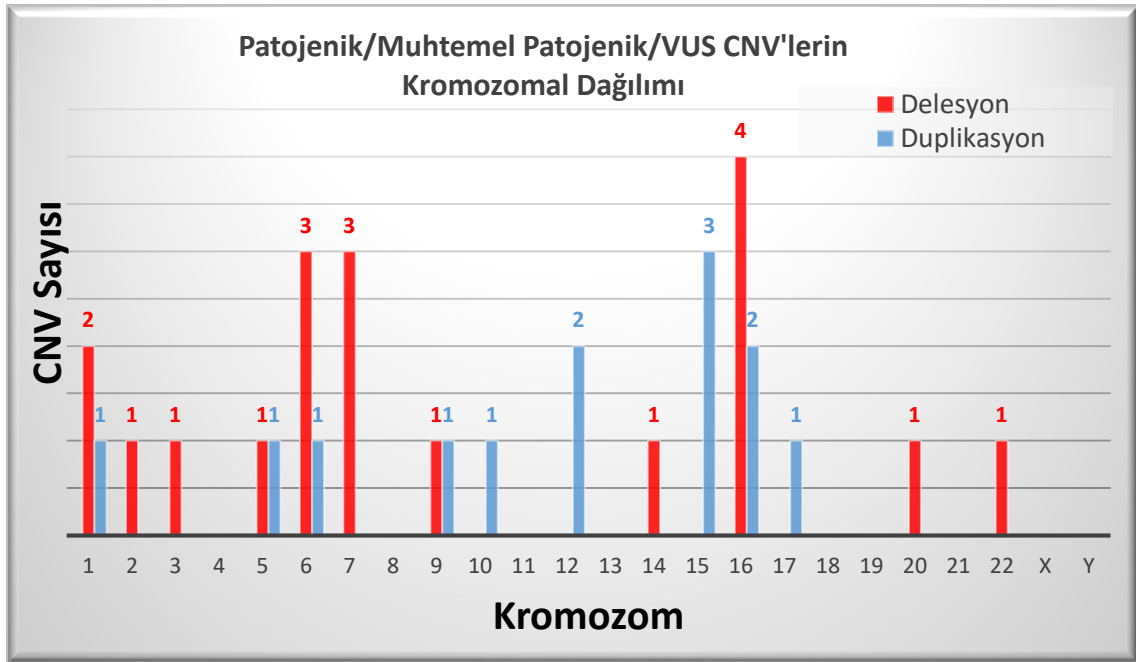
**Şekil 4.9.** Olgularda saptanan CNV'lerin patojenitelerine ve CNV tiplerine göre boyutlarının dağılımı. Yeşil yatay sütunlar, benign/muhtemel benign CNV'lerin kendi içerisinde boyutlarına göre dağılımlarındaki %'sini; kırmızı yatay sütunlar, patojenik/muhtemel patojenik CNV'lerin kendi içerisinde boyutlarına göre dağılımlarındaki %'sini; mavi yatay sütunlar ise VUS CNV'lerin kendi içerisinde boyutlarına göre dağılımlarındaki %'sini göstermektedir. Siyah oklar; CNV'lerin patojenite alt gruplarına göre; en yoğun gözlemlendiği boyut aralığını göstermektedir.

Hastalarımızda saptanan CNV'lerin kromozomal dağılımına bakıldığında; benign/muhtemel benign CNV'lerde delesyonların en sık 14. kromozomda (özellikle 14q11.2 bölgesinde) gözlemlendiği ve bunu 2. kromozomdaki delesyonların (özellikle 2q37.3 bölgesi) takip ettiği gözlemlenmiştir. Duplikasyonlar ise en sık 8. kromozomda (özellikle 8p11.1 bölgesinde) saptanmıştır.



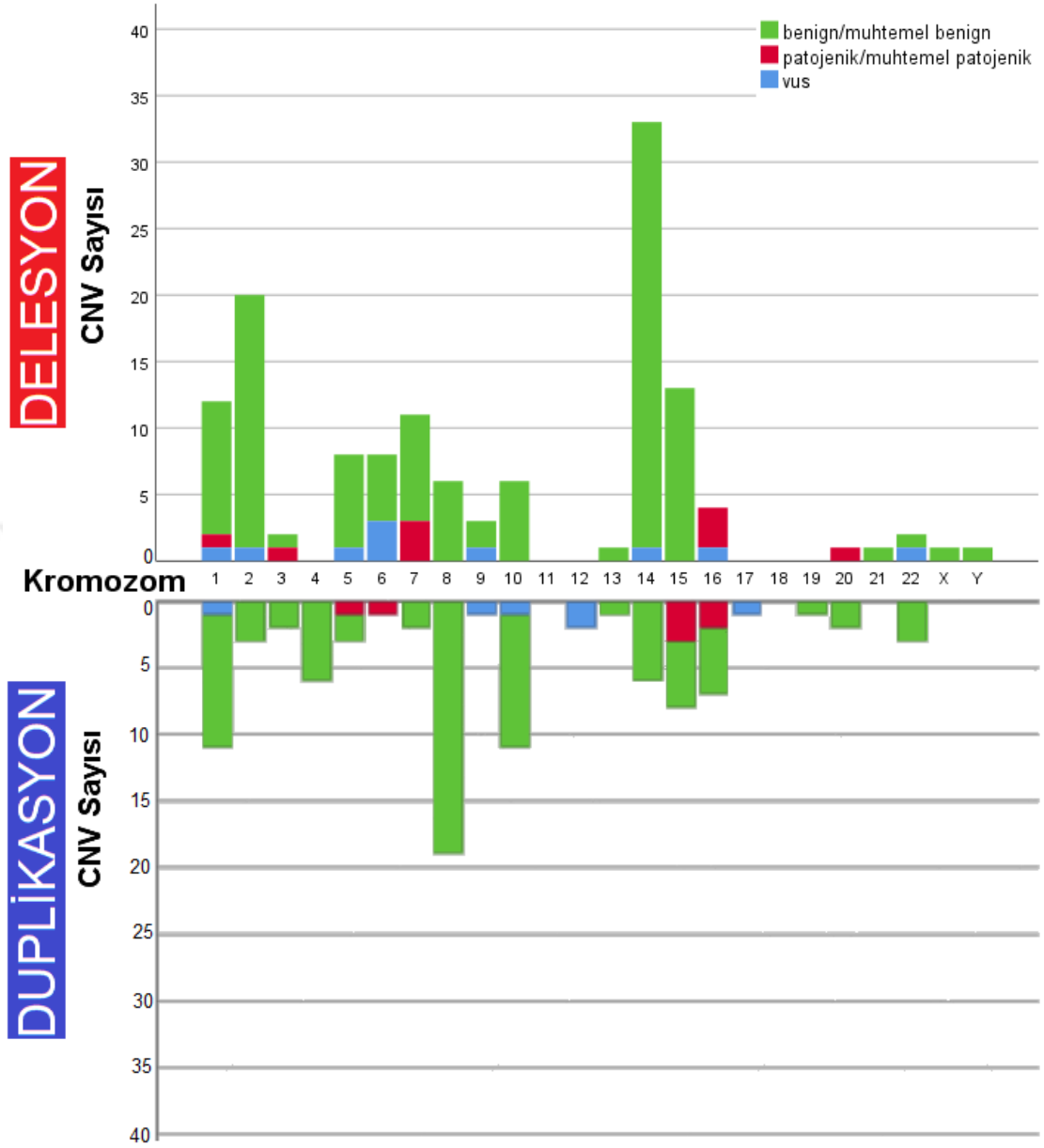
**Şekil 4.10. Benign ve muhtemel benign CNV'lerin CNV tipine göre kromozomal dağılımı.**

Patojenik/muhtemel patojenik ve VUS CNV'lerin kromozomal dağılımına bakıldığında ise; delesyonların en sık 16. kromozomda, duplikasyonların ise 15. kromozomda saptandığı gözlenmiştir. Genel olarak CNV yükü açısından değerlendirildiğinde ise 16. kromozomda (4 delesyon, 2 duplikasyon) olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.11. Patojenik, muhtemel patojenik ve VUS CNV'lerin CNV tipine göre kromozomal dağılımı.**

CNV'lerin kromozomal dağılımı, patojeniteleri ile birlikte değerlendirildiğinde ise; 11 ve 18. kromozomlarda CNV saptanmadığı gözlenmiştir. 4, 8, 13, 19, 21. kromozom ve cinsiyet kromozomlarında ise sadece benign/muhtemel benign CNV tespit edilmiştir. Ancak 16. kromozomda benign/muhtemel benign delesyon gözlenmezken; üç patojenik/muhtemel patojenik ve bir VUS delesyon saptanmıştır. Duplikasyonlarda ise; 6, 9, 12, 17. kromozomlarda hiç benign/muhtemel benign duplikasyon gözlenmezken sadece patojenik/muhtemel patojenik veya VUS duplikasyon tespit edilmiştir.



Şekil 4.12.Olgularda saptanan CNV'lerin patojenitesi ve CNV tipine göre kromozomal dağılımı. Yeşil sütunlar, benign/muhtemel benign CNV sayısını; mavi sütunlar, VUS CNV sayısını; kırmızı sütunlar, patojenik/muhtemel patojenik CNV sayısını göstermektedir. X eksenindeki kromozom numaraları hem delesyon hem duplikasyon grafiği için ortaktır.

**Tablo 4.1.Olgularda saptanan epilepsi ile ilişkili patojenik CNV'ler ve içerdikleri genler.**

Sayı	Hasta No	Kromozom Bölgesi	CNV Tipi	CNV Boyutu(Kb)	Morbid OMIM Genleri	Diğer OMIM Genleri	OMIM Dışı Genler	aCGH Çözünürlüğü
1	P-6632	3p25.3	Delesyon	451 kb	SETD5	SRGAP3	SRGAP3-AS2 SRGAP3-AS3 SRGAP3-AS4 THUMP3 THUMP3-AS1	180K
2	P-7297	5p13.2	Duplikasyon	184 kb	NIPBL	.	NIPBL-AS1	180K
3	P-5424	6q12q13	Duplikasyon	917 kb	LMBRD1	ADGRB3 COL19A1	.	60K
4	P-6572	7q11.23	Delesyon	84 kb		HIP1	.	180K
5	P-5104	7q22.2q22.3	Delesyon	803 kb	KMT2E PUS7 RINT1	LHFPL3 SRPK2	LHFPL3-AS2 LINC01004 KMT2E-AS1 EFCAB10 ATXN7L1	60K
6	P-8693	7q35	Delesyon	136 kb	CNTNAP2	.	.	180K
7	P-6273	15q11.2	Duplikasyon	330 kb	NIPA1	TUBGCP5 CYFIP1 NIPA2	LOC283683	60K
8	P-8459	15q11.2	Duplikasyon	601 kb	NIPA1	TUBGCP5 CYFIP1 NIPA2	HERC2P2 GOLGA8J GOLGA8IP WHAMMP3 LOC283683 GOLGA6L22 GOLGA6L1 GOLGA8DP	180K
9	P-8861	15q13.3	Duplikasyon	470 kb	OTUD7A CHRNA7	LOC100288637	.	180K
10	P-7643	16p11.2	Delesyon	533 kb	KIF22 PRRT2 ALDOA TBX6	SPN,QPRT ZG16,MAZ, PAGR1,MVP CDIPT,SEZ6L2 KCTD13,TAOK2 HIRIP3, DOC2A FAM57B,PPP4C YPEL3, GDPD3 MAPK3	C16orf54 CDIPT-AS1 ASPHD1 TMEM219 INO80E C16orf92 LOC101928595	180K
11	P-7992	16p11.2	Delesyon	533 kb	KIF22 PRRT2 ALDOA TBX6	SPN,QPRT ZG16,MAZ, PAGR1,MVP CDIPT,SEZ6L2 KCTD13,TAOK2 HIRIP3, DOC2A FAM57B,PPP4C YPEL3, GDPD3 MAPK3	C16orf54 CDIPT-AS1 ASPHD1 TMEM219 INO80E C16orf92 LOC101928595	180K
12	P-5866	16p13.3	Duplikasyon	4,2 kb	.	SOX8	.	60K
13	P-8253	16p13.3	Duplikasyon	12 kb	TSC2	.	.	60K
14	P-5104-K1	20p12.1	Delesyon	159 kb	.	MACROD2	.	180K

**Tablo 4.2.Epilepsi ile ilişkili patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanan olguların klinik özellikleri**

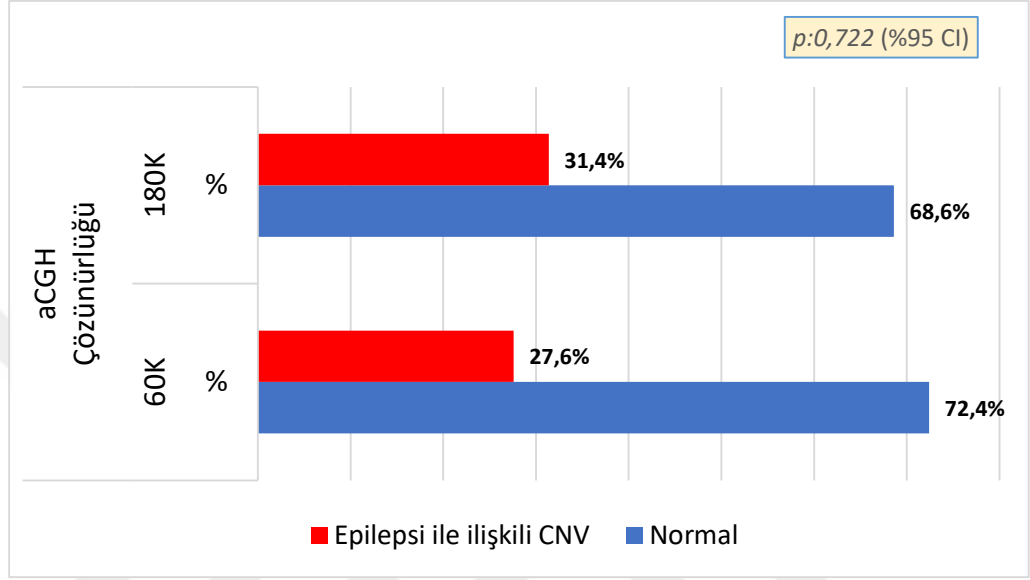
Hasta No	P-5104	P-5104-K1	P-5424	P-5866	P-6273	P-6572	P-6632	P-7297	P-7643	P-7992	P-8253	P-8459	P-8693	P-8861
Cinsiyet	Kadın	Kadın	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek	Erkek	Erkek	Kadın	Kadın	Kadın	Kadın	Erkek	Kadın
Saptanan CNV	7q22.2q22.3 DEL	20p12.1 DEL	6q12q13 DUP	16p13.3 DUP	15q11.2 DUP	7q11.23 DEL	3p25.3 DEL	5p13.2 DUP	16p11.2 DEL	16p11.2 DEL	16p13.3 DUP	15q11.2 DUP	7q35 DEL	15q13.3 DUP
Karyotip Sonucu	normal	normal	normal	9qh+	9qh+	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal	normal
Epilepsi Başlangıç Yaşı	1-5 yaş	1-5 yaş	<1 yaş	5-18 yaş	5-18 yaş	5-18 yaş	<1 yaş	5-18 yaş	<1 yaş	1-5 yaş	1-5 yaş	1-5 yaş	1-5 yaş	1-5 yaş
Nöbet Tipi	JTK	JTK Atonik	JTK	JTK Absans	Miyoklonik	JTK	JTK	JTK	JTK	JTK	Atonik	JTK	JTK	Parsiyel JTK
Antiepileptik İlaçlara Direnç	yok	yok	yok	yok	var	yok	var	yok	yok	?	yok	var	yok	yok
MR/GGG varlığı	MR/GGG	MR/GGG	MR/GGG	yok	MR/GGG	MR/GGG	MR/GGG	MR/GGG	yok	yok	?	MR/GGG	MR/GGG	yok
Anne-Baba Akrabalık Durumu	var	var	yok	yok	aynı köy	yok	yok	aynı köy	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Ailede Epilepsi/Nöbet Öyküsü	var	var	yok	var	var	yok	yok	yok	var	yok	yok	var	var	yok
Ailede MR Öyküsü	var	var	yok	yok	yok	yok	yok	var	yok	var	yok	yok	yok	var
Prenatal Öykü	özelliik yok	özelliik yok	özelliik yok	özelliik yok	?	Annede prenatal travma	özelliik yok	özelliik yok	özelliik yok	özelliik yok	GDM, HT	?	özelliik yok	özelliik yok
Doğum Şekli	NSVY	NSVY	NSVY	C/S	?	NSVY	NSVY	NSVY	C/S	NSVY	NSVY	NSVY	C/S	NSVY
Prematurite	yok	yok	yok	var	?	yok	yok	yok	yok	yok	var	yok	yok	var
Asfiksi/YDYB ihtiyacı	yok	yok	yok	yok	?	var	var	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok
Yenidoğan sarılığı öyküsü	yok	yok	yok	yok	?	?	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok
YDYB yatış öyküsü	yok	yok	yok	var	?	?	yok	yok	yok	yok	var	yok	yok	var
Nöromotor Gelişim	Normal	Geri	Geri	Normal	?	Geri	Geri	Geri	Normal	Normal	?	Geri	Geri	Geri
Konuşma	?	Geri	Geri	Normal	?	Geri	Geri	Geri	Normal	Geri	?	Geri	Geri	Geri
Kraniyofasiyal dismorfizm	var	var	var	yok	yok	var	var	var	yok	yok	yok	yok	var	var
Ekstremitte Bulguları	varus deformitesi	sağda daha belirgin genu varum deformitesi	yok	yok	yok	yok	yok	dışa basarak yürüme	yok	yok	yok	Kısa-künt el ve ayak parmakları	el 5. parmaklarda klinodaktili	yok
Kardiyak Bulgular	1-2/6 sistolik üfürüm	?	yok	?	?	yok	Kalpde üfürüm	?	?	?	?	?	yok	yok
İştme Bulguları	yok	yok	?	?	?	yok	?	?	?	yok	yok	?	yok	yok
Görme Bulguları	yok	?	Strabismus	yok	?	Strabismus	Ambliyopi	?	?	?	ROP	?	Strabismus	yok
Diğer Bulgular	yok	Sırtta hiperpigmente lezyon	yok	*Multiple cafe'u lait lekeleri *Bilateral kriptorşidizm	Minimal sol renal dilatasyon	Obezite	yok	yok	yok	yok	*Hipotiroidi *Vücutta hiperpigmente alan	yok	yok	yok
Psikiyatrik bozukluk öyküsü (MR/otizm dışında)	yok	yok	yok	yok	?	Atipik duygudurum bozukluğu	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok
EEG	anormal	anormal	?	anormal	anormal	normal	?	normal	normal	normal	anormal	anormal	normal	anormal
Kraniyal Görüntüleme (MRG,TFUSG)	normal	?	?	normal	normal	?	anomali var	normal	normal	normal	anomali var	normal	normal	normal

DEL:Delesyon; DUP:Duplikasyon; JTK:Jeneralize tonik-klonik ; MR:Mental Retardasyon; GGG:Global Gelişim Geriliği; ROP:Premature Retinopatisi GDM:Gestasyonel Diabetes Mellitus; HT:Hipertansiyon; NSVY:Normal Spontan Vajinal Yol; C/S:Cesarean Section; YDYB:Yenidoğan Yooğun Bakım; MRG:Manyetik Rezonans Görüntüleme; TFUSG:Transfontanel Ultrasonografi; ?:Bilinmiyor



#### 4.4 Hasta Verilerinin aCGH Sonuçları Açısından Karşılaştırılması

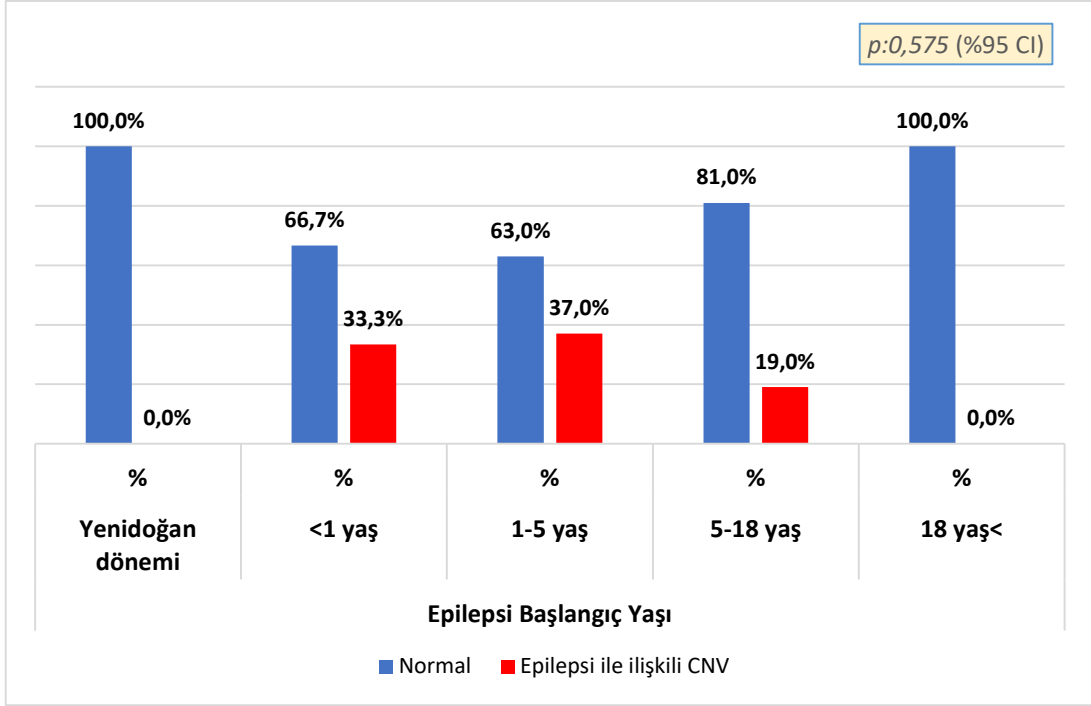
Epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanan olgular; çalışılan aCGH çözünürlüğüne göre karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p:0,722; %95 CI).



Şekil 4.13.Olguların aCGH sonuçlarının aCGH çözünürlüğüne göre karşılaştırılması.

Olgularımız, epilepsi başlangıç yaşına göre karşılaştırıldığında; epilepsisi yenidoğan döneminde ve 18 yaş üstünde başlayan hastalarda epilepsi ile ilişkili CNV gözlenmemiş olmakla birlikte gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p:0,575; %95 CI).

Epilepsi başlangıç yaşına göre hastalar; <5 yaş, 5-18 yaş ve 18 yaş< olarak gruplandırıldığında da epilepsi ile ilişkili CNV açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p:0,288; %95 CI).



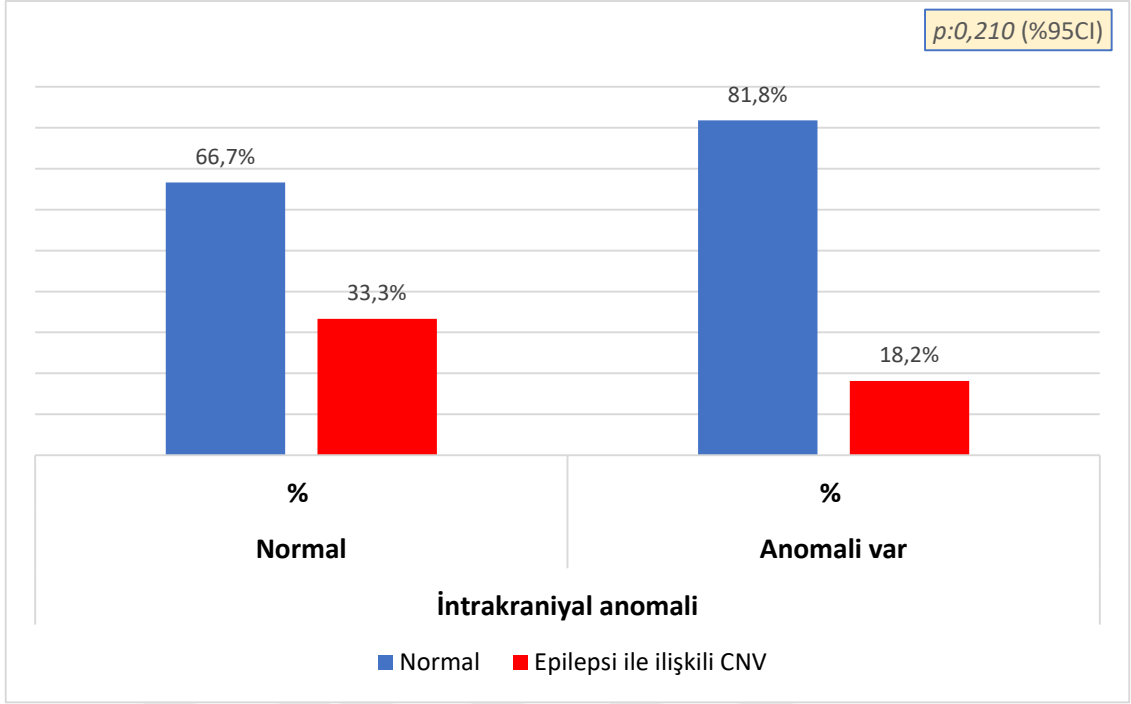
**Şekil 4.14.Olguların aCGH sonuçlarının epilepsi başlangıç yaşına göre karşılaştırılması.**

Olgularımızda saptanan epilepsi ile ilişkili CNV sayısı, nöbet tiplerine göre karşılaştırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p:0,604; %95 CI).

		Normal	Epilepsi ile ilişkili CNV	Toplam
Jeneralize tonik-klonik nöbet	Sayı	20	11	31
	%	64,5%	35,5%	100,0%
Parsiyel nöbet	Sayı	7	2	9
	%	77,8%	22,2%	100,0%
Miyoklonik nöbet	Sayı	5	3	8
	%	62,5%	37,5%	100,0%
Atonik Nöbet	Sayı	10	1	11
	%	90,9%	9,1%	100,0%
Absans nöbet	Sayı	1	1	2
	%	50,0%	50,0%	100,0%
Posttravmatik nöbet	Sayı	3	0	3
	%	100,0%	0,0%	100,0%
En az iki nöbet tipi birlikte	Sayı	7	4	11
	%	63,6%	36,4%	100,0%
Diğer	Sayı	1	0	1
	%	100,0%	0,0%	100,0%
Bilinmeyen	Sayı	2	2	4
	%	50,0%	50,0%	100,0%

**Şekil 4.15.Olguların aCGH sonuçlarının nöbet tipi göre karşılaştırılması. Kırmızı yatay sütunlar, epilepsi ile ilişkili CNV saptanma %'sini; mavi yatay sütunlar ise aCGH analizinde epilepsi ile ilişkili CNV saptanmama %'sini göstermektedir.**

Hastalarımızda saptanan CNV'ler, hastanın kraniyal görüntülemesinde anomali olup olmadığına göre değerlendirildiğinde (58/80 olgu); intrakraniyal anomali olanların %18,2'sinde epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanırken intrakraniyal anomali olmayanlarda ise bu oran %33,3 olarak saptanmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p:0,210;%95 CI)



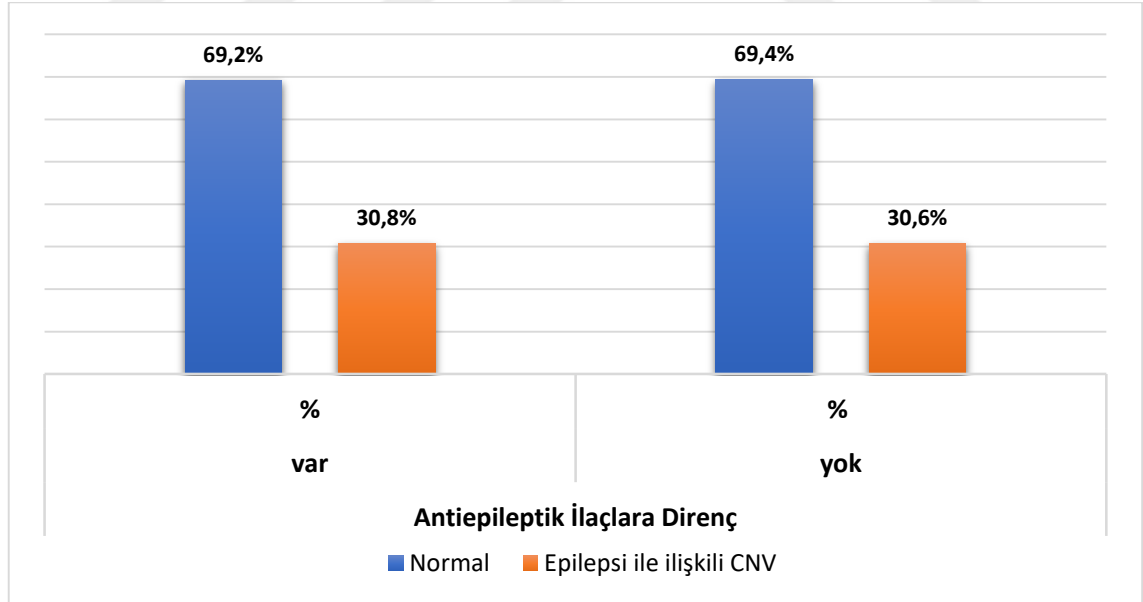
**Şekil 4.16.Olguların aCGH sonuçlarının intrakraniyal anomali saptanma durumuna göre karşılaştırılması.**

Epilepsiye ek olarak MR/GGG kliniği olan 45 hastanın 31'inde (%68,9) aCGH analiz sonuçları normal iken, 14'ünde (%31,1) en az bir epilepsi ile ilişkili patojenik, muhtemel patojenik veya VUS CNV saptanmıştır. Hastaların 7'sinde MR/GGG kliniği ile ilgili veri elde edilememiş olup aslında bu hastaların 5'inde en az bir patojenik, muhtemel patojenik veya VUS CNV tespit edilmiştir. Bu hastaların 6'sının başvuru sırasında bir yaşından küçük olduğu ve kalan bir hastanın da mental retardasyonu olan P-7362 no'lu hastanın kız kardeşi olduğu gözlenmiştir. Ancak kendisinin MR/GGG kliniği olup olmadığına dair veri elde edilememiştir. Hastalarda MR/GGG fenotipi varlığı ile aCGH sonuçları karşılaştırıldığında, epilepsi ile ilişkili CNV saptanma durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p:0,210$ ; %95 CI).

**Tablo 4.3. Olguların aCGH sonuçlarının MR/GGG saptanma durumuna göre karşılaştırılması.**

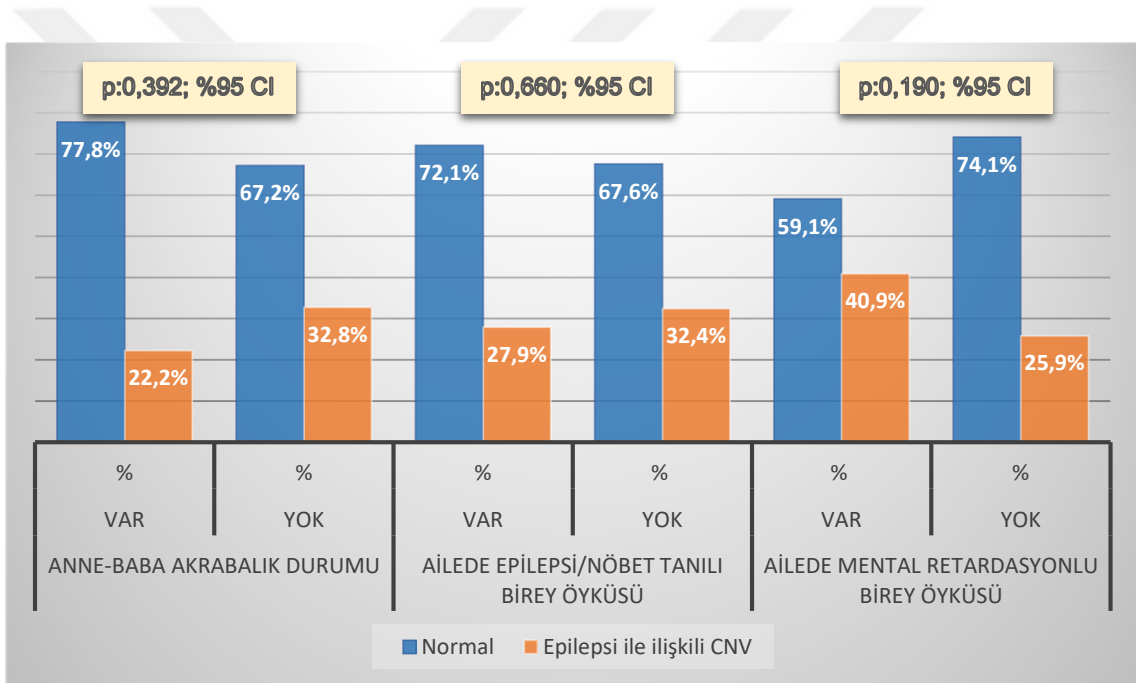
		Normal	Epilepsi ile ilişkili CNV	TOPLAM
MR/GGG	var	31 (68,9%)	14 (31,1%)	45 (100%)
	yok	22 (82,1%)	5 (17,9%)	28 (100%)
	bilinmeyen	2 (28,5%)	5 (71,4%)	7 (100%)
	TOPLAM	55 (74,0%)	24 (26,0%)	80 (100%)

Olgularımızın 75/80'inde antiepileptik ilaçlara direnç olup olmadığı ile ilgili veri elde edilmiş olup toplamda 13 hastada dirençli epilepsi olduğu görülmüştür. Dirençli epilepsisi olan olguların %30,8'inde epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanırken, dirençli epilepsi olmayan grupta bu oran %30,6'dır ve bu iki grup arasında epilepsi ile ilişkili CNV saptanma durumu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.



**Şekil 4.17. Olguların aCGH sonuçlarının antiepileptik ilaçlara direnç durumuna göre karşılaştırılması.**

Olgularımızda saptanan aCGH sonuçları, hastaların aile öykülerine göre değerlendirildiğinde; 61/79 olgunun anne-babası arasında akrabalık yoktu. Anne-babası arasında en fazla üçüncü kuzen akrabalık olan veya köken olarak aynı veya yakın köyden olan bireylerin %22,2'sinde epilepsi ile ilişkili CNV saptanırken, bu oran anne-babası akraba olmayan grupta %32,8 olarak tespit edilmiştir. Ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir (p:0,392; %95 CI). Ailesinde epilepsi/nöbet tanılı birey öyküsü olan olguların %27,9'unda; ailesinde MR tanılı birey öyküsü olan olguların %40,9'unda epilepsi ile ilişkili CNV saptanmıştır. Ancak aile öyküsü ile ilgili verilerde, aCGH sonuçları açısından kendi alt gruplarında (var/yok) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.



**Şekil 4.18. Olguların aCGH sonuçlarının aile öyküsüne göre karşılaştırılması.**

Aynı zamanda laboratuvarımızda hastalarımıza yapılmış diğer sitogenetik ve moleküler testlere ait veriler de kaydedilmiştir. Bu verilere göre; çalışmamıza dahil edilen olguların 25'inde dizi analizi yöntemlerinden biri çalışılmıştır. Bu olguların 16'sına epilepsi NGS paneli veya WES analizi; 9'una ise hastanın kliniği

ile ilişkili olabileceği düşünölen tek gen dizi analizi çalışılmıştır. Bu çalışmalarda; aCGH analizi normal saptananların %36,8'sinde dizi analizi yöntemleri ile patojenik/VUS bir nokta mutasyon saptanmıştır. Epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanmış olan bir olguda ise (P-8964) epilepsi NGS paneli testinde ALG13 geninde c.2278G>T varyantı heterozigot saptanmış olup bu varyant da muhtemel benign-VUS olarak değerlendirilmiştir.

**Tablo 4.4. Olguların aCGH sonuçları ile dizi analizi sonuçlarının karşılaştırılması.**

			Dizi Analizi Sonuçları				Toplam
			Epilepsi NGS / WES Analizi		Tek Gen Analizi		
			Normal	Patojenik/ VUS	Normal	Patojenik/ VUS	
aCGH Sonuçları	Normal	Sayı	8	5	4	2	19
		%	42,1%	26,3%	21,1%	10,5%	
	Epilepsi ile ilişkili CNV	Sayı	2	1	3	0	6
		%	33,3%	16,7%	50,0%	0,0%	100,0%
	Toplam	Sayı	10	6	7	2	25
		%	40,0%	24,0%	28,0%	8,0%	100,0%

## 5.TARTIŞMA

Epilepsi, tekrarlayan epileptik nöbetlerle karakterize yaygın bir epizodik nörolojik hastalıktır ve etiolojisinde genetik nedenler önemli rol oynamaktadır. Bağlantı çalışmaları, epilepsiye duyarlılık genlerini barındırabilen çoklu lokusları lokalize etmiş ve mutasyon analizleri ile idiyopatik epilepsili hastalarda birçok gende bir dizi mutasyon saptanmıştır.

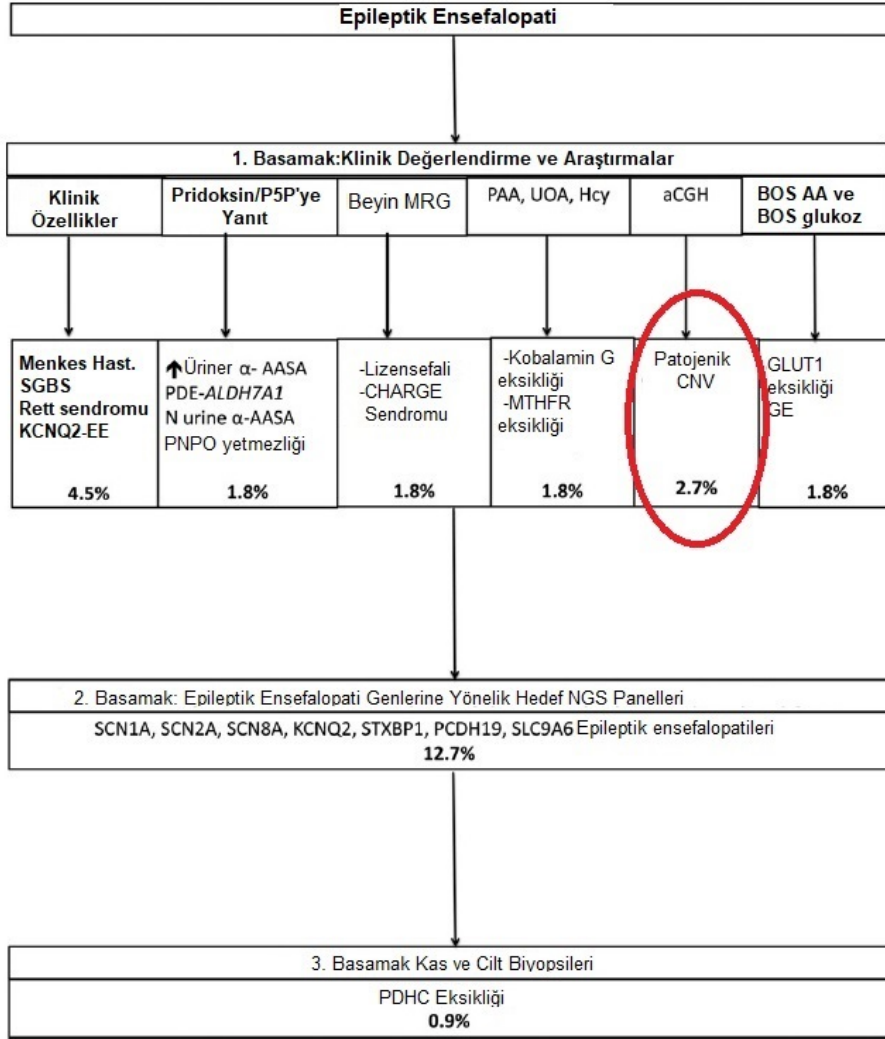
Farklı epilepsi tiplerine sahip hastalarda epilepside risk faktörü ya da epilepsi nedeni olarak CNV'ler, olguların yaklaşık % 5-12'sinde bildirilmiştir (56). Çalışmamızda, 80 hastanın 14'ünde (%17,5) epilepsi kliniği ile ilişkili bir patojenik veya muhtemel patojenik CNV tespit edilmiş olup bu oran literatürdeki bildirimlerden yüksektir.

Mefford ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 517 epilepsi hastasının %8,9'unda, 2493 kontrol bireyde bulunmayan en az bir nedensel CNV saptandığı bildirilmiştir (2). Epilepsi ve ilerleyici bilişsel bozukluk ile karakterize epileptik ensefalopati tanılı 315 hastada yapılan bir çalışmada ise; hastaların %7,9'unda kontrollerde saptanmayan bir veya daha fazla CNV saptanmıştır. Hastaların %4,1'inde saptanan CNV(ler)in patojenik veya muhtemel patojenik olduğu bildirilmiştir. Ek olarak 12 hastada kontrollerde saptanmayan ancak klinik önemi bilinmeyen bir veya daha fazla CNV tespit edilmiştir (59). Epilepsi veya nöbet tanılı 805 hastanın alındığı bir CMA çalışmasında, hastaların 323'ünde (%40,1) bir CNV saptanmış olup en az 40 hastada (%5) hastanın fenotipi, saptanan CNV ile ilişkilendirilmiştir (7). Epilepside CNV'lerin rolü üzerine yapılmış büyük çalışmalardan birinde Lal ve arkadaşları, 1366 GJE hastası ve 5234 kontrol grubunda yaptıkları SNP array çalışmasında, kontrol grubuna (%4) kıyasla GJE grubunda (%7,3) mikrolelesyon açısından belirgin artış saptandığı bildirilmiştir. Özellikle bilinen 7 genomik hotspot bölgedeki (1q21.1, 15q11.2, 15q13.3, 16p13.11, 16p12, 16p11.2, 22q11.2) rekürren mikrolelesyonların, GJE grubunda saptanan tüm delesyonların %36,9'unu oluşturduğu ve bu bölgedeki



delesyonların kontrollere göre 7,5 kat daha fazla tespit edildiği raporlanmıştır. Ayrıca sadece GJE hastalarında bulunan mikrodelsyonların, daha önce epilepsi ve nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkilendirilmiş çok sayıda gen (NRXN1, RBFOX1, PCDH7, KCNA2, EPM2A, RORB, PLCB1) barındırdığı tespit edilmiştir (60).

Mercimek-Mahmutoğlu ve arkadaşlarının dirençli epilepsi, GGG ve bilişsel işlev bozukluğu olan hastalarda yaptığı çalışmada; çalışmaya alınan 110 hastanın %28'inde genetik neden tespit edilmiştir. Hastaların %7'sinde kalıtsal metabolik bozukluk ve %21'inde diğer genetik nedenler (%75'inde otozomal dominant, % 20'sinde X'e bağlı ve % 12,5'inde otozomal resesif kalıtım paterni) saptanmıştır. Bu çalışmada tüm hastaların %2,7'sinde aCGH ile patojenik CNV ve % 12,7'sinde NGS analizi ile genetik neden tespit edilmiştir. Tanı alan hastaların %45'inde EE NGS panelleri ile genetik tanıya gidildiği bildirilmiştir. Özellikle hastaların %4,5'inin tedavi edilebilir bir kalıtsal metabolik hastalığı olması oldukça dikkat çekicidir (43).



P5P: piridoksal-5-Fosfat; PAA: plazma amino asidi; UOA: idrar organik asitleri; Hcy: homosistein; aCGH: dizi karşılaştırmalı genomik hibridizasyon; MRG: manyetik rezonans görüntüleme; BOS: beyin omurilik sıvısı; AA: aminoasit; alfa-AASA: alfa amino adipik semialdehit SGB: Simpson Golabi-Behmel; MTHFR: metilentetrahidrofolat redüktaz; GE: glisin ensefalopatisi PDE-ALDH7A1: piridoksin bağımlı epilepsi (PDE) PNPO: piridoks(am)ine-5-fosfat oksidaz; PDHC: piruvat dehidrojenaz kompleksi.

**Şekil 5.1. Mercimek-Mahmutoğlu ve ark.(43)'nin çalışmasında epilepsi genetik tanı algoritması ve sonuçları. Kırmızı daire, çalışmada aCGH ile patojenik CNV saptanma oranını göstermektedir.**

Borlot ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 143 açıklanamayan çocukluk çağı başlangıçlı epilepsi ve ID olan hastaların 23'ünde (%16,1) patojenik veya muhtemel patojenik CNV saptandığı bildirilmiştir (61).

Çalışmamızdaki olgularda epilepsi için nedensel bir CNV saptama oranımız literatürdeki çalışmalardan yüksek bulunmasının nedeni, çalışma grubumuzun küçük, olguların %56,3'ünde MR/GGG fenotipinin eşlik etmesi, %53,8'inde ailede epilepsi tanılı birey öyküsünün bulunması ve özellikle CNV yorumlamasında boyut filtrelemesi yapmamamız olabilir.

Ailede epilepsi tanılı birey bulunması genetik değerlendirmede önem arz etmektedir. Çünkü kalıtım derecesi tüm epilepsi tipleri için %32, fokal epilepsiler için %23 ve fokal olmayan epilepsi için %36 olarak bildirilmiştir (11,14).

Vadlamudi ve arkadaşlarının 534 etkilenmiş ikizle yaptığı çalışmada; DZ ikizlere göre MZ ikizlerde; İJE (MZ:%77; DZ:%35), febril nöbetli genetik epilepsi (MZ:%85; DZ:%25) ve fokal epilepsi (MZ:%40; DZ:%3) açısından daha yüksek oranda konkordans tespit edilmiştir. Belirtilen oranlar değerlendirildiğinde İJE'de MZ ikizlerde konkordans oldukça yüksekken, fokal epilepside MZ ikizlerde bile konkordansın düştüğü görülmektedir. Ayrıca bu çalışmada, test edilen 384 ikiz bireyin %10,9'unda bilinen epilepsi genlerinde büyük etkiye sahip mutasyonlar veya doğrulanmış duyarlılık allelleri saptanmıştır (38).

Buna karşın olgularımız içerisinde her ikisinde de epilepsiye eşlik eden MR/GGG fenotipi olan iki kardeşte (P-5104 ve P-5104-K1) farklı kromozomal bölgelerde patojenik/ muhtemel patojenik CNV saptanmıştır. Bu gibi durumlarda her ne kadar hastamızda epilepsi kliniği ile ilişkili CNV saptanmış olsa da; epilepsi hastalığının poligenik ve multifaktöriyel bir hastalık olduğu unutulmamalı ve hastalar özellikle fenotipe katkı sağlayabilecek olası nokta mutasyonlar açısından da değerlendirilmelidir.

Olgularımızın 45'inde epilepsiye eşlik eden MR/GGG fenotipi mevcut olup MR/GGG'li olanların %31,1'inde epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanırken, MR/GGG fenotipi olmayanlarda bu oran %17,9'dur. Ayrıca MR/GGG durumu bilinmeyen 7 hastanın 5'inde (%71,4) epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanmış olup bu hastaların 6'sının başvuru sırasında bir yaşından küçük olması aslında epilepsi hastalarında olası MR/GGG fenotipi saptanmadan önce epilepsi etiyojisine yönelik yapılan aCGH'nin erken tanı açısından verimini göstermektedir.

Epilepsi, entelektüel yetersizlikli kişilerde en sık görülen nörolojik hastalık olup, genel popülasyondaki (%0,4-1) ile karşılaştırıldığında, prevalansı daha yüksek (% 22,2) olarak bildirilmiştir (62). Ayrıca genel popülasyona göre MR'li kişilerde epilepsi fenotipi daha ağır, tanısı ve tedavisi daha zor olabilmektedir.

Mullen ve arkadaşlarının 359 GJE ve 60 ID+GJE'li birey olarak yaptığı çalışmada; ID+GJE'li hastaların %28'inde (17/60) en az bir nedensel CNV saptanmış olup 15q13.3, 15q11.2 ve 16p13.11 mikrolelesyonlarının sadece GJE'si olan gruba göre ID+GJE'li grupta 3 kat daha yüksek oranda (%10'a karşılık %3) saptandığı bildirilmiştir. Ayrıca genom çapında CGH çalışmasında, ID+GJE'li hastaların %22'sinde nadir CNV tespit edilmiştir (58).

Coppola ve arkadaşlarının yakın zamanda yaptığı çalışmada; zihinsel yetersizlik, psikiyatrik bulgular ve diğer nörolojik veya nörolojik olmayan özelliklerin eşlik ettiği (epilepsi plus) 1097 epilepsi hastasındaki CNV değerlendirmesinde; hastaların 120'sinde (%10,9) en az bir patojenik otozomal CNV; 19'unda (%1,7) en az bir muhtemelen patojenik otozomal CNV saptandığı bildirilmiştir. Bu hastaların 11'inde (%1) birden fazla (muhtemelen) patojenik CNV tespit edilmiştir. Patojenik CNV taşıyıcılarının fenotipik özellikleri ile patojenik olmayan CNV taşıyıcılarının özellikleri karşılaştırıldığında, nörolojik olmayan

komorbiditesi özellikle de dismorfizmi olan hastaların, patojenik CNV taşıma olasılıklarının daha yüksek olduğunu gösterilmiştir (56).

Lal ve arkadaşlarının çalışma verilerinin de dahil edildiği, 1366 GJE, 281 RE ve 807 yetişkin fokal epilepsi ile toplam 2454 olgu ve 6746 kontrolün alındığı çalışmada; 12 hotspot bölge (1q21.1, 3q29, 10q22q23, 15q11.2, 15q13.3, 15q24, 16p11.2, 16p12, 16p13.11, 17q12, 17q21.3 ve 22q11.2) ele alındığında kombine epilepsi analizinde mikrolezyonların olgu grubunda daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Epilepsi subtiplerine göre analiz edildiğinde ise GJE grubundaki hotspot mikrolezyonların genel sinyalin çoğuna katkıda bulunduğu saptanmıştır (20).

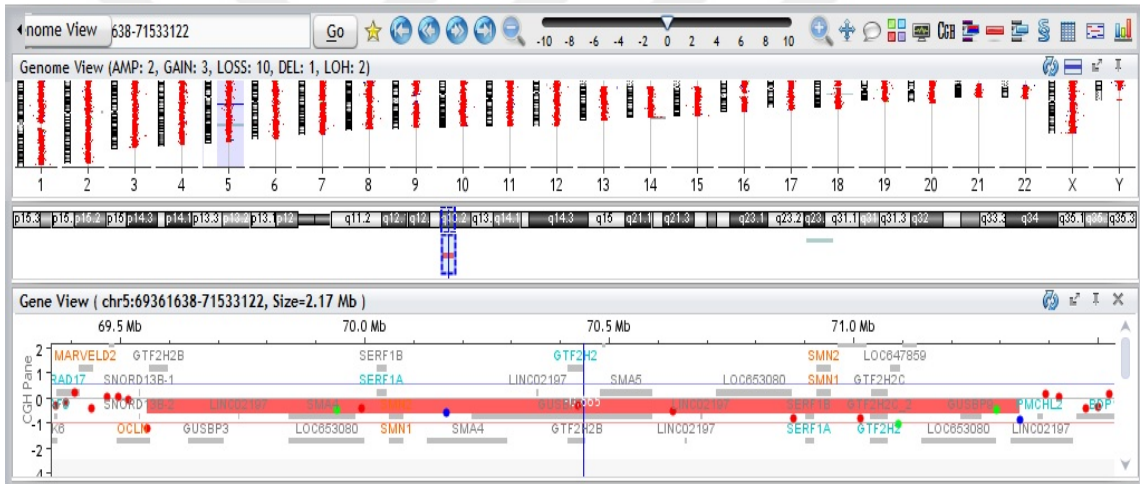
Olgularımızın büyük çoğunluğunda (31/80) JTK nöbet mevcuttu. Ancak çalışmamızda nöbet tipleri arasında epilepsi ile ilişkili CNV saptanma durumu açısından fark saptanmamıştır.

### **5.1 Olgularda Saptanan CNV'ler**

Çalışmamızda olgularımızın 16'sında (%20) patojenik/muhtemel patojenik bir CNV saptanmıştır. Bu hastaların 14'ünde (%17,5) saptanan CNV hastanın epilepsi kliniği ile ilişkili olarak değerlendirilmiştir. 2 hastada (P-5244 ve P-6490) saptanan CNV'ler ise patojenik/muhtemel patojenik olarak değerlendirilmesine rağmen hastadaki epilepsi kliniğini açıklamadığından "Klinik ile ilişkisiz patojenik CNV" olarak değerlendirilmiştir.

Olgularımızın 12'sinde (%15) ise en az bir "Klinik önemi bilinmeyen varyant-VUS" tespit edilmiştir. Bu hastaların ikisinde, bir patojenik/muhtemel patojenik CNV saptanırken, 4 hastada ise en az 2 VUS gözlenmiştir.

P-2473 nolu hastada 5q13.2 bölgesinde 1,7 Mb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölgede yer alan 20 adet genden, OCLN, SMN1 ve SMN2 genleri morbid OMIM genleri olup sırasıyla “Psödo-TORCH Sendromu 1(OMIM No:251290), “Spinal musküler atrofi 1-2-3-4(OMIM No:253300 - 253550 - 253400 - 271150) ve “Spinal musküler atrofi, tip III, modifier of} (OMIM No:253400)” fenotipleri ile ilişkilendirilmektedir (46). Bu genlerdeki patojenik mutasyonlar ile oluşan hastalıkların kalıtım paterni otozomal resesiftir. Bu bölge ile benzer kırık noktaları olan delesyonlar DGV (esv22113; dgv5696n100; dgv9838n54) veri tabanında bildirilmiştir (63,64). Ayrıca ClinVar veri tabanında hastamızdaki ile benzer büyüklükte ve benzer gen bölgelerini içeren heterozigot delesyonlar “benign” (ClinVar no:150655,150774) olarak bildirilmiştir (65).



**Şekil 5.2.P-2473 no'lu hastadaki 5q13.2 delesyonunun aCGH görüntüsü.**

Hastamızda spinal musküler atrofi hastalığına yönelik olarak da doğrulama amacı ile SMN1/SMN2 geni 7 ve 8. ekzonuna yönelik MLPA ( MRC Holand SALSA MLPA P060 SMA Carrier probemix kiti ile) analizi yapılmış ve SMN1 geni 7 ve 8. ekzonlarda delesyon/duplikasyon saptanmazken, SMN2 geni 7 ve 8. ekzonlarda homozigot delesyon saptanmıştır. Ancak SMN2 delesyonu hastamızın kliniğini açıklamamaktadır. Hastada saptanan delesyon bölgesi OCLN geninin 10. ekzonunu içermektedir. OCLN genindeki delesyonun heterozigot olması nedeni ile bu durumun taşıyıcılık veya hafif klinik fenotip ile

uyumlu olması beklenmektedir. Ancak OCLN geni ile ilişkilendirilen Psödo-TORCH Sendromu tip 1 hastalığında bildirilen klinik bulgular ile birlikte değerlendirildiğinde, hastamızın dirençli epilepsi, mental retardasyon, konjenital katarakt, hipotoni, alt ekstremitelerde spastisite bulgularının olması ve özellikle dosya bilgilerinden elde edilen verilerde hastanın ayırıcı tanısında konjenital CMV enfeksiyonu ön tanısının da yer alması, OCLN geninin diğer allelinin olası nokta mutasyonlar açısından değerlendirilmesini gerektirmektedir. ClinVar veri tabanında bu delesyon bölgesinin benign olarak değerlendirilmesine ve OMIM veri tabanında bu hastalığın kalıtım paterninin otozomal resesif olarak bildirilmesine rağmen; DECIPHER veri tabanında OCLN geni için haployetmezlik skoru %18,93 olarak bildirilmiştir (yüksek değerler, örneğin% 0-10, bir genin haployetmezlik sergileme olasılığının daha yüksek olduğunu; düşük değerler, örneğin % 90-100, bir genin haployetmezlik sergilememe ihtimalinin daha yüksek olduğunu göstermektedir) (66). Bu nedenle bu değişimin hastamızdaki klinik bulgulara katkısı olabileceği düşünülmüş olup saptanan bu varyant “klinik önemi bilinmeyen-VUS” olarak yorumlanmıştır.

Aynı hastada ayrıca 14q31.1 bölgesinde 103 kb’lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölgede yer alan 2 genden TSHR geni morbid OMIM geni olup “Ailesel gestasyonel hipertiroidizm (OMIM No: 603373), “Non-otoimmün hipertiroidizm (OMIM No: 609152)”, “Konjenital non-guatr hipotiroidizm 1 (OMIM No: 275200)” hastalıkları ile ilişkilendirilmektedir (46). Bu hastalıklardan otoimmün olmayan hipertiroidizm, otozomal dominant kalıtım paternine sahiptir. Hastanın verilerinde annesinin prenatal dönemde gestasyonel hipotiroidi nedeni ile tiroid hormon replasmanı aldığı ve doğum sonrasında gerek görülmediği için replasman tedavisinin kesildiği bilgisi yer almaktaydı. Ancak hastamızda herhangi bir tiroid hormon bozukluğu olup olmadığına ait veri bulunamadı. Bu bölge delesyonları DGV veri tabanında bildirilmemiştir. DECIPHER veri tabanında hastamızdaki genleri içeren ve büyüklük bakımından hastamızdakine yakın olan bir olgu bildirimini (DECIPHER hasta no:283816) bulunmaktadır (66). Ancak veri tabanında bu olgunun fenotipi ve varyantın patojenitesi ile ilgili yorum

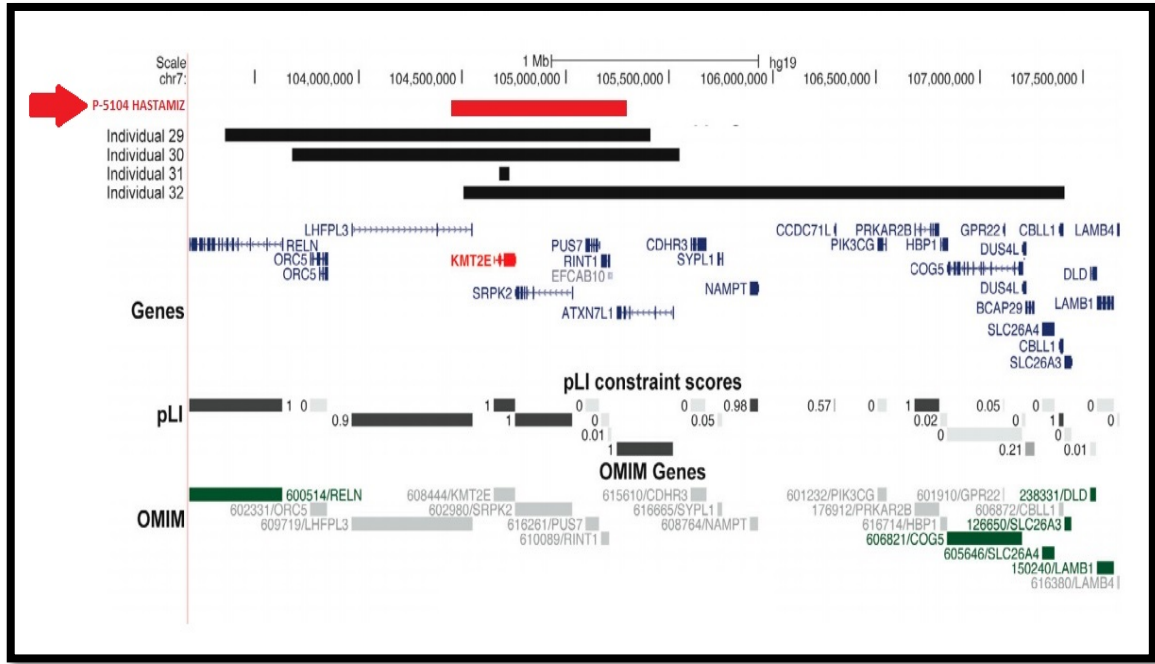
bulunmamakta olup varyantın heterozigot olduğu ve babadan kalıtıldığı bildirilmiştir. ClinVar veri tabanında ise hastamızdaki delesyon bölgesi ile kısmen örtüşen delesyonlar “VUS” (ClinVar no:687173) olarak bildirilmiştir (65). TSHR genindeki patojenik mutasyonlardan kaynaklanan otoimmün olmayan hipertiroidizmde hastamızda görülen mental retardasyon, nöromotor gelişimde gerilik, konuşma geriliği bulguları gözlenebileceği, ayrıca bu hastalığın değişik fenotip gösterdiği, başlangıç yaşının yenidoğan döneminden yetişkinlik dönemine dek değişebileceği bildirildiğinden ve hastamızın tarafımıza başvuruda 3 ay 21 günlük olduğu göz önüne alındığında hastanın bu klinik açısından takip edilmesi gerektiği düşünülmüştür. Özellikle metabolizma düzenleyicileri olarak bilinen tiroid hormonları (TH’ler), L-tiroksin ve L-triiodotironin, tiroid bezinin ürettiği tirozin kaynaklı hormonlardır. Normal santral sinir sistemi gelişiminde ve fizyolojik fonksiyonlarda önemli bir rol oynamaktadırlar. Nükleer reseptörlere bağlanarak ve gen ekspresyonunu modüle ederek, TH’ler gelişmekte olan ve yetişkin beyinlerinde nöronal göçü, farklılaşmayı, miyelinasyonu, sinaptogenezi ve nörogenezi etkilemektedir. GABAerjik nöronların ve ayrıca glutamaterjik transmisyonun gelişimi ve işlevi de TH’lerden etkilenmektedir. Altta yatan moleküler mekanizmalar hala bilinmemesine rağmen, TH’lerin inhibe edici ve uyarıcı nöronlar üzerindeki etkilerinin, beyin nöbet aktivitesini etkileyebileceği bildirilmiştir (67). Bu nedenlerle hastada görülen delesyon “klinik önemi bilinmeyen-VUS” olarak yorumlanmıştır.

Epilepsi, hafif mental retardasyon, mikrosefali, ayakta varus deformitesi, kardiyak sistolik üfürüm fenotipi olan P-5104 numaralı hastada 7. kromozom q22.2q22.3 bölgesinde yaklaşık 803 kb’lik heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu delesyon bölgesinde 3 adet morbid OMIM geni (KMT2E, RINT1 ve PUS7), 2 adet OMIM geni (LHFPL3, SRPK2) ve 5 adet OMIM dışı gen (LHFPL3-AS2, LINC01004, KMT2E-AS1, EFCAB10, ATXN7L1) bulunmaktadır.



Bu bölgenin delesyonları DGV veri tabanında yer almamaktadır. ClinVar veri tabanında, hastamızdaki OMIM genlerinin çoğunu içeren (ORC5, RELN, PSMC2, SRPK2, PMPCB, DNAJC2, PUS7, KMT2E, SLC26A5, LHFPL3) ancak boyut olarak daha büyük bir delesyon (2,1 Mb) bildirim mevcut olup “muhtemel patojenik” (ClinVar no:563407) olarak bildirilmiştir (65). Ancak bildirilen bu delesyon bölgesinde yer alan RELN geni OMIM’de otozomal dominant kalıtmı ailesel temporal lob epilepsisi kliniği ile ilişkilendirilmiş (OMIM no:600514) olup hastamızdaki delesyon bölgesinde ise bu gen yer almamaktadır (46). DECIPHER veri tabanında da hastamızdaki gen bölgeleri ile çakışan (LHFPL3, KMT2E, PUS7, SRPK2, RINT1, ORC5, LHFPL3-AS1, LINC01004, KMT2E-AS1, EFCAB10, ATXN7L1, CDHR3, EIF4BP6, RWDD4P1, RNU6-1322P, YBX1P2, RN7SL8P) fakat daha büyük boyuttaki (1,87 Mb) bir de novo heterozigot delesyon bildirim (DECIPHER hasta no: 327884) mevcuttur (66). Bu olgu fenotipik olarak “derin yerleşimli gözler, uzun boy, entelektüel yetersizlik ve nöbet” şeklinde tanımlanmıştır. Bu delesyon, bildirilen olguda “Uncertain-belirsiz” olarak değerlendirilmiştir.

Bu bölgedeki morbid OMIM genlerinden KMT2E geni OMIM’de otozomal dominant kalıtmı “O’Donnell-Luria-Rodan sendromu (OMIM No:618512) ile, PUS7 geni de otozomal resesif kalıtmı “Anormal davranış, mikrosefali ve kısa boy ile entelektüel gelişimsel bozukluk (OMIM No:618342)” ile ilişkilendirilmiştir (46). Literatürde hastamızdaki ile benzer bölgedeki heterozigot delesyonların gelişme geriliği ve epilepsi ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. O’Donnell-Luria ve arkadaşlarının nörogelişimsel bozukluklar ve epilepsi etiyolojisinde KMT2E geninin heterozigot varyantları üzerine yaptığı çalışmada, çalışmaya alınan 38 bireyin 4’ünde (%10,5) KMT2E genini içeren mikroddelesyon saptandığı bildirilmiştir. Saptanan delesyonların hepsinin de novo olduğu ve boyutlarının 0,052–3,21 Mb arasında değiştiği rapor edilmiştir (68).



**Şekil 5.3. O'Donnell-Luria ve ark. (68)'nin çalışmasında KMT2E geni ile çakışan CNV'ler ve olgumuzda saptanan CNV'nin lokalizasyonu.**

KMT2E geninde heterozigot mikrolelesyon saptanan 4 olgunun; hepsinde gelişimsel gecikme ve hafif/orta düzeyde ID, 3'ünde epilepsi, 2'sinde makrosefali, 1'inde otizm gözleendiği rapor edilmiştir (68)

Individual	Sex, Age	Variant, GenBank: NM_182931.2	Consequence	Inheritance	CADD	ID	Autism	Delay	Epilepsy	Macrocephaly*
27	male, 8 y, 8 m	c.4872dupC, (p.Val1625Argfs*244)	frameshift, protein extension	de novo	24	yes	no	yes	no	yes
28	male, 24 y	c.5453_5460delTTGCCCTG, (p.Val1818Alafs*48)	frameshift, protein extension	unknown	35	moderate	no	yes	no	relative
29	female, 12 y, 11 m	7:103354482-105407628x1, 2.05 Mb	microdeletion	de novo	NA	moderate	yes	yes	no	yes
30	female, 18 y	7:104678742-104730547x1, 0.052 Mb	microdeletion	de novo	NA	moderate	no	yes	yes	no
31	male, 22 y	7:103679146-105547471x1, 1.87 Mb	microdeletion	de novo	NA	mild/moderate	no	yes	yes	no
32	male, 7 y	7:104099959-107002808x1, 2.9 Mb	microdeletion	de novo	NA	mild	no	yes	yes	yes
33	male, 16 y, 3 m	c.418G>A (p.Val140Ile)	missense	de novo	25	NA	yes	yes	yes	NA
34	male, 2 y, 5 m	c.850T>C (p.Tyr284His)	missense	de novo	24	severe	NA	yes	yes	no
35	female, 2 y, 11 m	c.2720A>T (p.Asp907Val)	missense	de novo	24	severe	no	yes	yes	microcephaly
36	female, 36 y	c.4126C>T (p.Pro1376Ser)	missense	de novo	11	mild	no	yes	yes	microcephaly

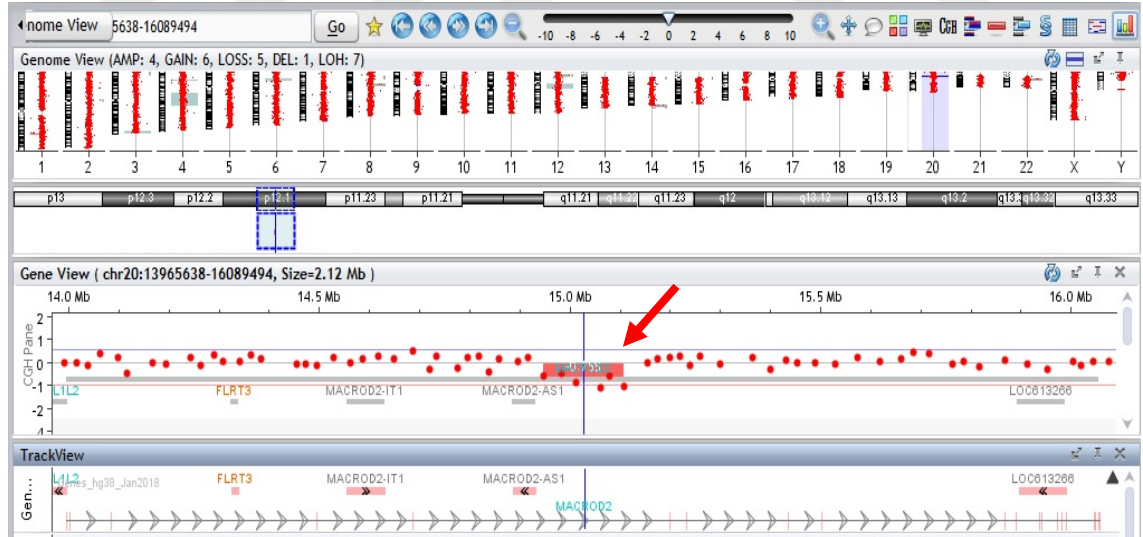
NA = not available; NMD = nonsense-mediated decay.

\*Macrocephaly is defined here as a head circumference >2 standard deviations (SD) above mean for age and microcephaly as >-2SD below mean for age. Relative macrocephaly is defined here as a head circumference 1 SD above the SD of the height.

**Şekil 5.4.O'Donnell-Luria ve ark. (68)'nin çalışmasında KMT2E geni ile çakışan CNV saptanan olguların klinik bulguları.**

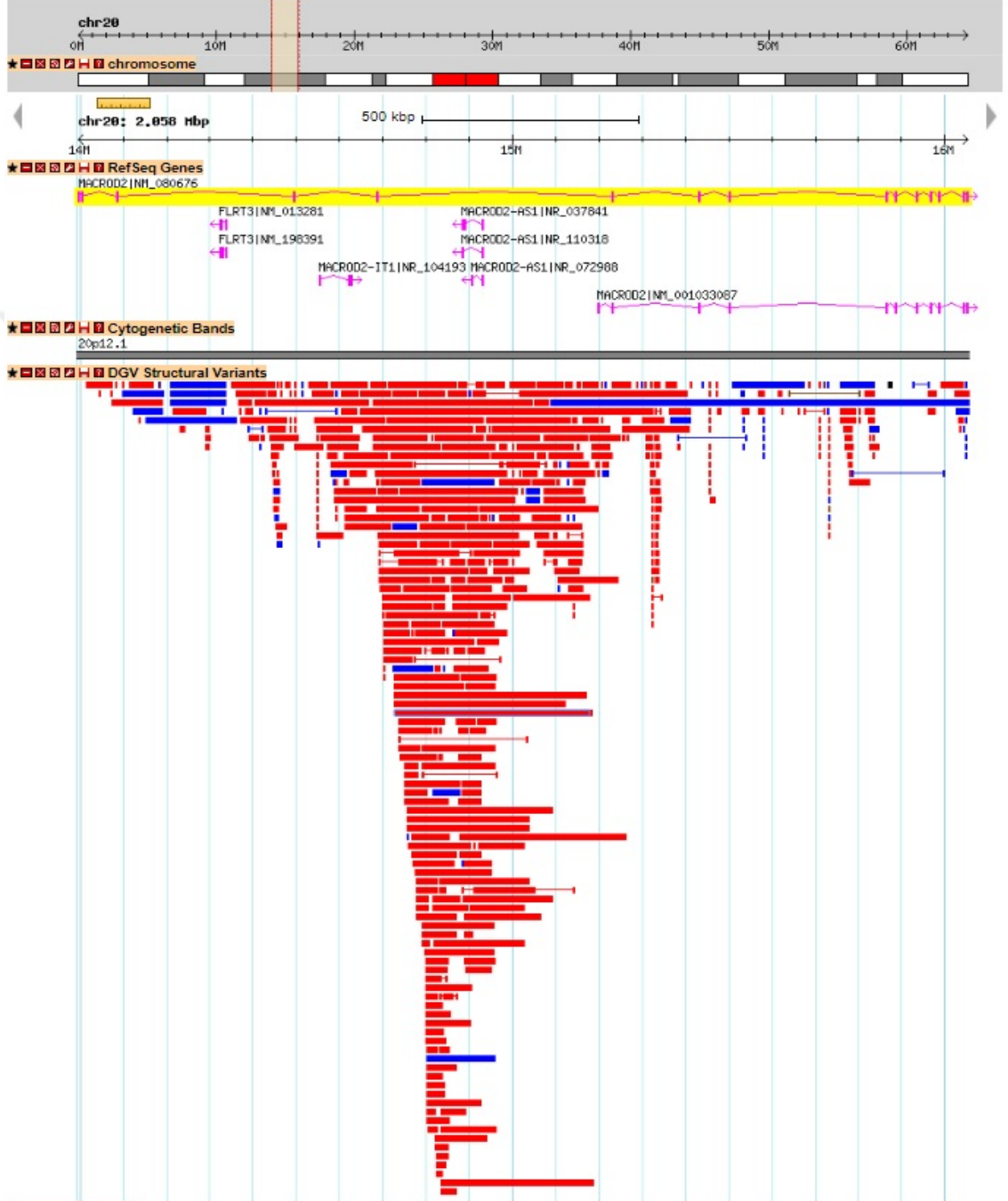
Özellikle KMT2E geninde güdük protein oluşumuna neden olan mutasyon saptanan bireylere göre; KMT2E genini içeren mikrolelesyon taşıyan bireylerde daha ağır gelişimsel gecikme gözleendiği saptanmıştır. Bu durumun mikrolelesyon bölgesinde yer alan diğer genler (özellikle SRPK2 ve LHFPL3) ile ilişkili olabileceği vurgulanmıştır (68). Bildirilen olgularda genelde makrosefali saptanmış olmasına rağmen; hastamızda mikrosefali olması da bu durum ile açıklanabilir. Hastamızın fenotipi (özellikle epilepsi, hafif düzeyde mental retardasyon) ile birlikte değerlendirildiğinde bu delesyon “patojenik” olarak değerlendirilmiştir.

P-5104 no’lu hastanın kız kardeşi olan P-5104-K1 numaralı hastada; 7q22.2q22.3 bölgesindeki problarda herhangi bir CNV saptanmamıştır. Ancak genel gelişim geriliği, otizm?, epilepsi tanılarıyla takipli hastada 20. kromozom p12.1 bölgesinde 159 kb’lik heterozigot delesyon tespit edilmiştir. Bu delesyon; MACROD2 geninin 5. intron bölgesinde yer almaktadır.



**Şekil 5.5.P-5104-K1 no’lu hastada MACROD2 genindeki parsiyel delesyonun aCGH görüntüsü.**

Hastamızdaki ile benzer gen bölgesindeki delesyonlar, DGV veri tabanında (esv3893297, dgv7469n54, dgv4251n100) bildirilmiştir (63,64).



Şekil 5.6.DGV veri tabanında MACROD2 geni bölgesinde bildirilen CNV'ler (63,64).

Ayrıca ClinVar veri tabanında MACROD2 genini içeren varyantlar; büyük çoğunlukla “benign/muhtemel benign” olarak yer alsa da OSB ve şizofreni olguları başta olmak üzere VUS/muhtemel patojenik olarak da bildirimleri mevcuttur (65). Kushima ve arkadaşlarının 1108 OSB, 2458 şizofreni ve 2095 kontrol olgusu ile yaptıkları kapsamlı CNV çalışmasında; 2 OSB ve 2 şizofreni olgusunda MACROD2 geninde delesyon gözlenirken, kontrol olgularında bu gende herhangi bir CNV saptanmadığı bildirilmiştir (69).

TANI	HASTA KODU/ YAŞ(yılı)/ CİNSİYET	KROMOZOM BÖLGESİ	CNV BÖLGESİ (GRCh38)	CNV BOYUTU (GRCh38)	DEL/DUP	NOTLAR
ASD	ASD0172/22/M	20p12.1	chr20:14490624-14573076	82.453	Del	MACROD2 del <b>EPİLEPTİK NÖBET</b>
ASD	ASD0391/10/M	20p12.1	chr20:15307783-15453889	146.107	Del	MACROD2 del
SCZ	SCZ0052/31/F	20p12.1	chr20:14656734-14876708	219.975	Del	MACROD2 del
SCZ	SCZ2312/67/F	20p12.1	chr20:14631584-14707775	76.192	Del	MACROD2 del

OSD: Otizm Spektrum Bozukluğu; SCZ:Şizofreni; F:Female-Kadın; M:Male-Erkek; Del:Delesyon; Dup:Duplikasyon

### Şekil 5.7.Kushima ve ark. (69)'nın çalışmasında MACROD2 geninde saptanan CNV'ler.

MACROD2 geninde delesyon bildirilen otizmlilerde birinde (ASD0172/22/M) epileptik nöbet kliniği de rapor edilmiştir. Ancak bu delesyonlar bizim hastamızdan farklı olarak klinik olarak önemli ekzonik CNV olarak bildirilmiştir. Hastamızdaki delesyon bölgesi ise genin 5. intron bölgesinde yer almaktadır. Buna karşın Jones ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MACROD2 geninin 5. intronunda yer alan c.418+81866T>C (rs4141463) tek nükleotid polimorfizminin otistik benzeri özelliklerde iletişim/akıl yürütme alt ölçeği ile güçlü ilişkisinin olduğu ortaya konmuştur (70). MACROD2 geni önemli oranda beyinde ekspresyona edilmektedir (71). Ek olarak bu geni içeren delesyon, GJE hastalarında yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (60). Bizim olgumuzda da genel gelişimsel gerilik, epilepsi ve otizm şüphesi olması nedeni ile 20p12.1 bölgesinde saptanan MACROD2 genindeki parsiyel delesyon “muhtemel patojenik” olarak değerlendirilmiştir. Hastanın kardeşinde (P-5104) çalışılan aCGH çözünürlüğü (60K) farklı olması nedeni ile bu bölge net değerlendirilememiştir ancak gen düzeyinde problemler incelendiğinde, CNV kabul etme kriterlerimizi karşılayan bir delesyon saptanmamıştır. Ancak bu durum, bu bölgede daha az sayıda prob

olmasına bağılı olabilir. Bu nedenle benzer fenotip sergileyen kardeşine de daha yüksek çözünürlükte aCGH çalışılması gerekmektedir.

P-5244 nolu hasta, sıcak su epilepsisi tanısıyla takip edilmekteydi. Elde edilen verilerde, hastanın oğlunda (P-5244-Ç1) benzer bulgular bulunmaktayken, kızında (P-5244-Ç2) daha hafif klinik bulguların olduğu görülmüştür.

Refleks nöbetler; spesifik bir motor, duyuşsal ve kognitif uyararla tetiklenen ve bu uyarılarla düzenli olarak tekrarlayan nöbetlerdir. Bu nöbetler okuma, yemek yeme, müzik dinleme gibi bazı aktivitelerle ortaya çıkabilmektedir. Sıcak su epilepsisi (SSE) (banyo epilepsisi, suya daldırma epilepsi) de sıcak suya temas veya daldırma ile tetiklenen bir refleks epilepsidir. 1 yaştan önce başlayan ve kendini sınırlayan infantil formu da tanımlanmıştır. Erişkin tipte ise çocuklar daha sık etkilenmesine rağmen başlangıç yaşı değişkendir (72). SSE'de ailesel kümelenme gözlenmekte olup hastaların yaklaşık %18'inde aile öyküleri pozitif olarak bildirilmiştir (73). SSE, genetik olarak heterojen bir hastalık olarak görünmektedir. Otozomal dominant kalıtılan SSE'ye sahip yedi aile, bağlantı analizi ile incelenmiş ve SSE için 4q24-q28 ve 10q21.3 –q22.3'te iki lokus tespit edilmiştir (74,75). Buna yönelik olarak Choudhury ve arkadaşlarının bir SSE ailesinde 4q24-q28 bölgesine yönelik yaptıkları tüm ekzom tabanlı sekans çalışmasında, ZGRF1 geninde SSE segregasyonu ile uyumlu bir missense mutasyon (c.1805C>T, p.Thr602Ile) bildirilmiştir. Daha sonra bu genin tamamının 288 SSE hastasında değerlendirilmesi ile, bu gende özellikle hasta bireylerde saptanan başka mutasyonlar da tespit etmişlerdir (76). Karan ve arkadaşları, çok sayıda etkilenmiş bireyin olduğu bir ailede yaptıkları bağlantı analizinde SSE için 9p24.3-p23 lokusunu bildirmişlerdir (77). Gelişimsel disleksi/OSB ve hem kendiliğinden hem de banyo/duş epilepsisi bağlamında ortaya çıkan fokal nöbetleri olan geniş bir Fransız-Kanadalı ailede, Nguyen ve arkadaşları sinapsin 1(SYN1) geninde bir mutasyon (Q555X) bildirmişlerdir. Genetik açıdan duyarlı bu

ailede, refleks nöbetlerin, muhtemelen temporo-insular ağın hipereksitabilitesi nedeni ile ortaya çıktığı vurgulanmıştır (78). Hastalarımızda bahsedilen bölgelerde herhangi CNV saptanmamıştır. Bu nedenle genetik etiyojijiyi aydınlatmaya yönelik ileri analizler (tüm ekzom sekanslama-WES veya tüm genom sekanslama-WGS) önerilmelidir.

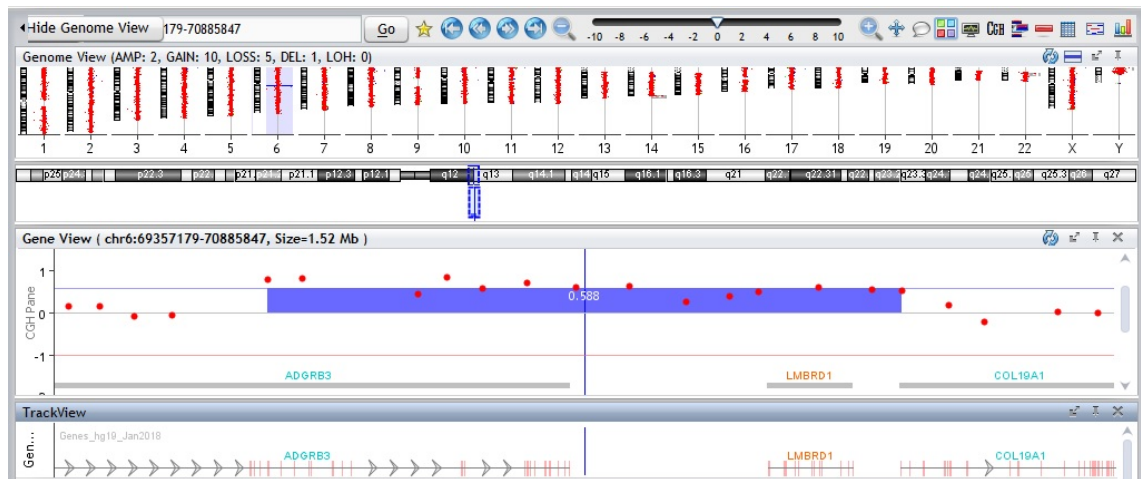
Ancak SSE kliniği olan P-5244 no'lu hastamızda 1p13.3 bölgesinde 612 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Hastanın kızı ve oğlunda da benzer klinik olmasına rağmen onlarda bu bölge normal görünmektedir.

Bu bölge delesyonu; DGV veri tabanında yer almamaktadır. DECIPHER veri tabanında ise hastamız ile benzer gen bölgelerini içeren delesyon saptanan bir olgu bildirimini (DECIPHER hasta no:331558) mevcuttur. Bu olgunun fenotipi davranışsal anomali ve entelektüel yetersizlik olarak tanımlanmakta olup saptanan 508,42 kb'lık heterozigot delesyon "muhtemel patojenik" olarak yorumlanmıştır (66). P-5244 nolu hastada saptanan delesyon bölgesi 4 adet morbid OMIM geni (TAF13,SARS,SORT1,GNAI3), 8 adet OMIM geni ve 6 adet OMIM dışı gen içermekteydi. Morbid OMIM genlerinden TAF13 geni "Otozomal resesif mental retardasyon,60(OMIM No: 617432)" ile, SARS1 geni otozomal resesif kalıtlı "Mikrosefali, ataksi ve nöbetlerle giden nörogelişimsel bozukluk(OMIM No: 617709)" ile ilişkilendirilmektedir (46). Ancak hastamızda nörogelişimsel bozukluk veya mental retardasyon kliniği bulunmamaktadır. Bu delesyon bölgesindeki morbid OMIM genlerinden SORT1 geni OMIM'de otozomal dominant kalıtlı düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol düzeyi ile (OMIM No:613589) ilişkilendirilmektedir (46). Hastamızın ölçülen LDL düzeyi 94,3 mg/dl (laboratuvar referans aralığı:0-130 mg/dl) olup normal sınırlardaydı. Yine bu bölgede yer alan morbid OMIM genlerinden GNAI3 geni otozomal dominant kalıtlı "Aurikulokondiler sendrom 1(OMIM No:602483)" ile ilişkilendirilmektedir (46). Aurikülondiler sendrom, birinci ve ikinci faringeal arktaki gelişimsel anomaliden kaynaklanan nadir bir hastalıktır. Temel olarak

malfore kulaklar (soru işareti şeklinde), mikrognati, mikrostomi, küçük mandibular kondil ile karakterizedir. Literatürde PLCB4, GNAI3 ve EDN1'deki patojenik varyantlar bu sendromla ilişkilendirilmiştir. Hastalığın penetransı “tam” olarak bildirilmekle birlikte, hastalarda aile içi veya aileler arası yüksek oranda fenotipik değişkenlik gözlenmektedir. Bazı hastalar sendromun tipik fenotipini göstermeyebilmektedir (79,80).

Hastamıza ait verilerde bu hastalığın bulgularına dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Ancak saptanan değişimin heterozigot delesyon olması, monoallelik bir fonksiyon kaybı ile sonuçlanacağından bu değişim epilepsi fenotipi için “klinik ile ilişkisiz patojenik” olarak değerlendirilmiştir. Hastamızın bu açıdan tekrar değerlendirilmesi uygun olacaktır.

Genel gelişim geriliği, epilepsi, strabismus kliniği olan P-5424 no'lu hastada 6q12-q13 bölgesinde 917 kb'lık ve 17p13.2 bölgesinde 690 kb'lık duplikasyonlar saptanmıştır. 6q12-q13 bölgesindeki duplikasyonda 1 adet morbid OMIM geni (LMBRD1) ve 2 adet OMIM geni (ADGRB3=BAI3,COL19A1) yer almaktadır.



**Şekil 5.8.P-5424 no'lu hastadaki 6q12-q13 duplikasyonun aCGH görüntüsü.**



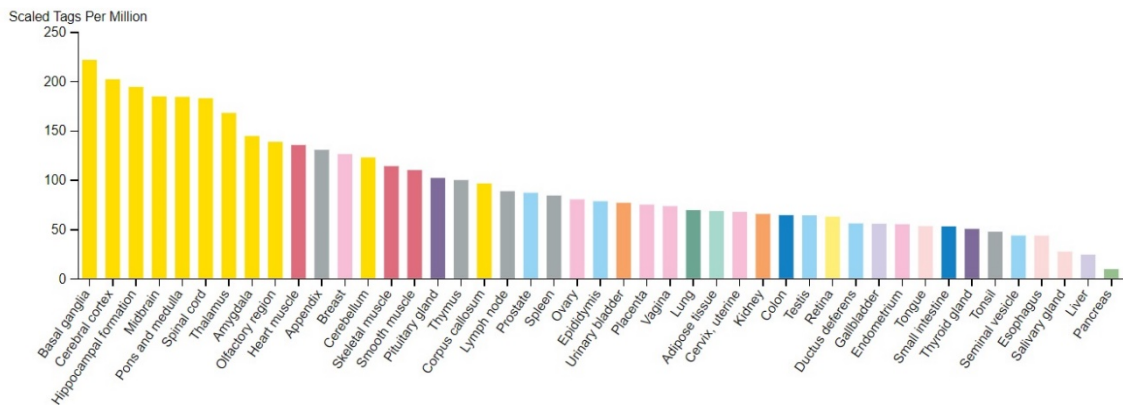
Bu duplikasyon bölgesi DGV veri tabanında yer almamaktadır. ClinVar veri tabanında, bu bölgedeki 2,058 kb'lık artış (GRCh38/hg38 6q12-13(chr6:68735649-70794393)x4) "patojenik" olarak (ClinVar no:148992) bildirilmiştir. LMBRD1 geni OMIM'de otozomal resesif kalıtmırlı "Metilmalonik asidüri ve homosistinüri, cb1F tipi(OMIM No:277380)" ile ilişkilendirilmiştir (46). Literatürde bu genin duplikasyonlarının epilepsi ile ilişkilendirildiğine dair veri bulunmamaktadır. Ancak yine bu bölgede yer alan ADGRB3 (=BAI3) geni; akson rehberliği, miyelinasyon, sinaps oluşumu ve fonksiyonu gibi MSS'nin birkaç fonksiyonun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan bir adezyon G protein-bağlı reseptör (adezyon GPCR'ler) alt grubunun bir üyesidir (81). ADGRB alt grubu, postnatal ve yetişkin beyinde yaygın olarak eksprese edilen ADGRB1, ADGRB2 ve ADGRB3 genlerini (sırasıyla BAI1, BAI2 ve BAI3 olarak da bilinir) içermektedir. ADGRB1 ve ADGRB3 postsinaptik bölgede, ADGRB3 ise beyincikte yüksek oranda eksprese olmaktadır. Scuderi ve arkadaşları hafif ve ağır entelektüel yetersizlik, psikiyatrik bozukluk, tremor, ataksi, dizartrik konuşma, strabismus, serebellar ve serebral atrofi bulguları olan 2 kardeşte ADGRB3 geninde homozigot duplikasyon (DECIPHER hasta no: 367221; 367222) bildirmişlerdir (66). Bu kardeşlerden birisinde EEG anormalliği ve nöbet öyküsü de mevcuttur ve bu duplikasyon bölgesi ADGRB3 geninin bir kısmını içermektedir. Bildirilen olguların ebeveynlerinin bu bölgede heterozigot duplikasyon taşıdığı saptanmış olup her ikisinde de psikiyatrik bozukluk ve serebellar -serebral atrofi bulguları gözlemlendiği bildirilmiştir (66,82). Hastamızın klinik bulguları (entellektüel yetersizlik, epilepsi, strabismus) bildirilen olgularla kısmen örtüşmekte ancak hastamıza ait verilerde ataksi, tremora ait bilgi bulunmamaktadır. Kayıtlarda hastamızın kraniyal MRG tetkiki olmadığından serebellar-serebral atrofi bulguları açısından da değerlendirme yapılamamıştır. Ancak mevcut literatür verileri doğrultusunda hastadaki bu değişim "muhtemel patojenik" olarak değerlendirilmiştir.

Hastada (P-5424) ayrıca 17p13.2 bölgesinde 690 Kb'lık duplikasyon saptanmıştır. Bu bölgede 3 adet morbid OMIM geni (NLRP1,C1QBP, NUP88) ve

5 adet OMIM geni(RABEP1, RPAIN, DHX33, DERL2, MIS12 ) ve 3 adet OMIM dışı gen (LOC105371506, LOC728392, LOC339166 ) yer almaktadır. DGV’de bu duplikasyon ile kısmen örtüşen duplikasyon bildirimini (nsv574278) mevcuttur (63,64). Ayrıca ClinVar veri tabanında hastamızdaki ile benzer gen bölgelerini içeren 2 adet duplikasyon “VUS” olarak (ClinVar no: 153939; 145540) yer almaktadır (65).

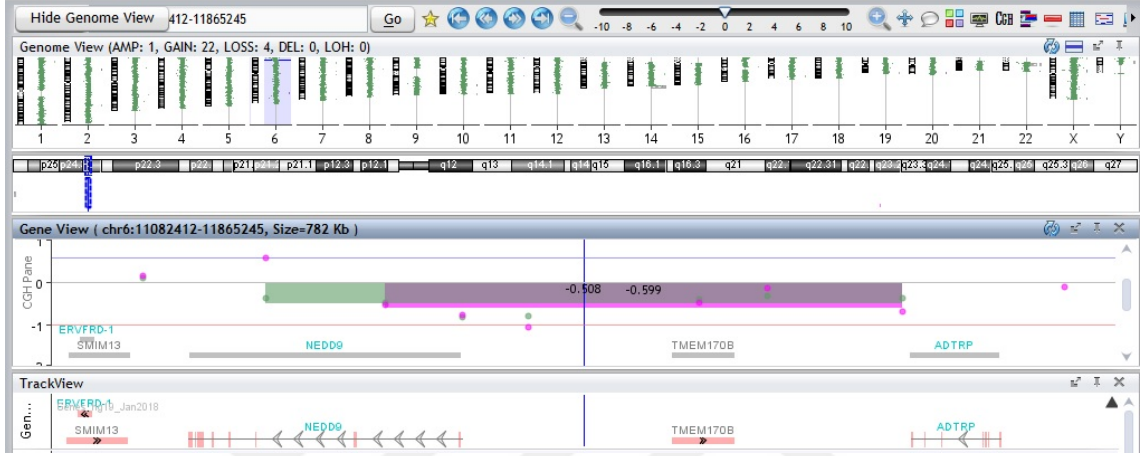
Bu bölgede yer alan morbid OMIM genlerinden NUP88 geni “Fetal akinezi deformasyon sekansı 4 (OMIM No: 618393)” ile, C1QBP geni “Kombine oksidatif fosforilasyon eksikliği 33 (OMIM No:617713)” ile ilişkilendirilmiştir ve bu hastalıkların kalıtımı otozomal resesiftir (46). NLRP1 geni ise “Artrit ve diskeratozis ile oto-enflamasyon” ve “Vitiligo ile ilişkili çoklu otoimmün hastalık duyarlılığı (OMIM No:606636)” ilişkilendirilmektedir (46).

Ayrıca bu bölgede yer alan genlerden RABEP1 ve MIS12 geni beyinde de eksprese edildiği bildirilmiştir (83,84). Ancak bu genlerin epilepsi ile ilişkilendirildiğine dair veri bulunmamaktadır. Bu nedenle bu değişim “VUS” olarak değerlendirilmiştir.



**Şekil 5.9.RABEP1 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği -The Human Protein Atlas veritabanı (71)’ndan alınmıştır.**

P-5574 ve P-5701 nolu hastalarda 6. kromozom p24.2-p24.1 bölgesinde sırasıyla 381 ve 469 kb'lık heterozigot delesyonlar saptanmıştır. Bu bölge bir OMIM geni (NEDD9) ve bir OMIM dışı (TMEM170B) olmak üzere 2 gen içermektedir.

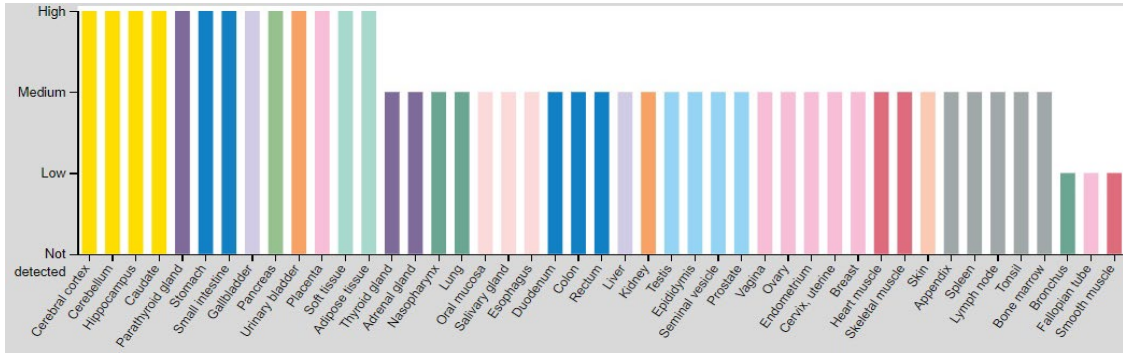


**Şekil 5.10.P-5574 (pembe) ve P-5701(yeşil) no'lu hastalarda 6p24.2-p24.1 bölgesindeki heterozigot delesyonların aCGH görüntüsü.**

Bu bölge delesyonları DGV veri tabanında bildirilmemiştir. ClinVar veri tabanında da hastamızdaki ile benzer bölgeye sahip delesyon bildirim bulunmamaktadır. DECIPHER veri tabanında ise hastamızdaki ile çakışan delesyonlu olgular bildirilmekle birlikte (DECIPHER hasta no: 278525; 285749) bu olgularda saptanan delesyonlar, boyut olarak hastamızdakinden daha büyüktür (887 kb ve 1,06 Mb) ve ek olarak farklı morbid OMIM genleri de içermektedir (66).

Bu bölgede yer alan NEDD9 geni tarafından kodlanan ve aynı zamanda HEF1 ve Cas-L olarak da adlandırılan “Neural Precursor Cell Expressed, Developmentally Downregulated 9” proteini; hücre sinyalizasyon sürecinde önemli bir rol oynayan, ekspresyon artışı ile tümör hücrelerinin proliferasyon,

invazyon, metastaz ve apoptozisini modüle eden multi-domain bir iskelet proteindir (85). Çok sayıda çalışma NEDD9'un melanom, rahim ağzı kanseri, mide kanseri gibi birçok kanser türünde invazyon ve metastazını modüle ettiğini bildirmiştir (85-88). NEDD9 proteini; beyin, endokrin organlar, gastrointestinal yolak, pankreas, mesane, safra kesesi, plesanta, yumuşak doku ve adipoz dokularda daha yoğun eksprese olmaktadır (71).



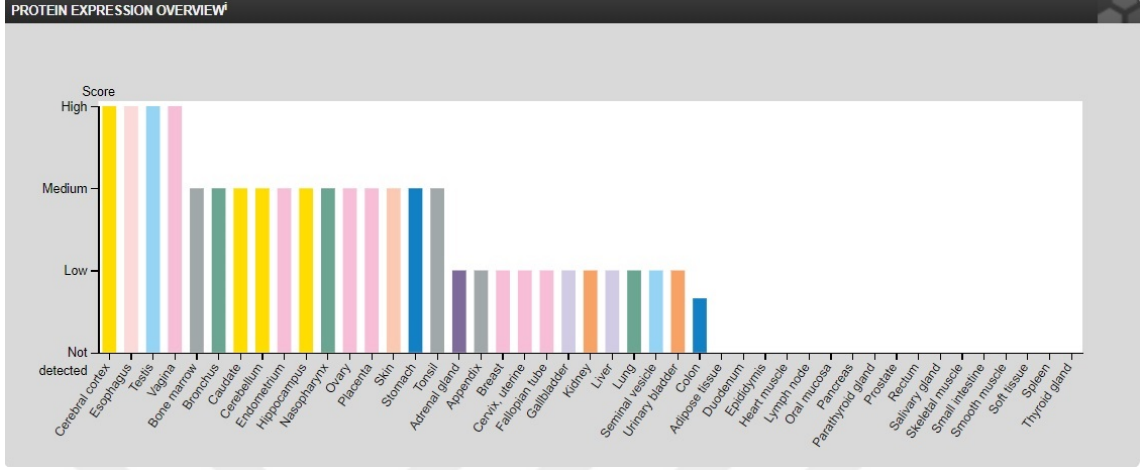
**Şekil 5.11.NEDD9 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği -The Human Protein Atlas veritabanı (71)'ndan alınmıştır.**

NEDD9 geninin insanlarda epilepsi ile ilişkilendirildiğine dair literatür verisi bulunmamaktadır. Ancak Kedmi ve Orr-Urtreger'in nöbetlerde beyin transkripsiyonel yanıtını ve nikotin ile tetiklenen nöbetlerden sonra ekspresyonu değişen genleri araştırdıkları hayvan çalışmasında; nikotin-duyarlı, nikotin dirençli ve normal farelerde; nikotin ile indüklenen nöbet sonrası fare beyinlerindeki ile nikotin verilmeyen gruptaki fare beyinlerindeki NEDD9 ekspresyon oranınının 1.324 olduğu saptanmıştır. Bu durum nikotin ile indüklenen nöbet geçiren farelerde, nikotin verilmeyen gruba göre NEDD9 ekspresyonunun arttığını göstermektedir. Nöbet geçiren farelerde NEDD9 ekspresyonunun artmış olması, beyin nöbetlere verdiği transkripsiyonel yanıt olup nöbet aktivitesine, nikotine veya her ikisine bağlı gelişmiş olabileceği belirtilmiştir (89).

Hücre büyümesinin düzenlenmesi, mitoz, hücre adezyonunda görevli NEDD9 geninde nöbet sonrası artmış ekspresyon; nöbet sonrası tamir mekanizmaları ile ilişkili olabilir, ki bu durum NEDD9 genindeki fonksiyon kaybının epilepsi hastalarındaki nöbet sonrası kognitif kayıplar açısından aday bir gen olabileceğini düşündürmektedir. Öte yandan NEDD9 geninde fonksiyon kaybı (hastamızdaki gibi delesyon olması) ve/veya ekspresyonunun azalması; belki de beynin nöbet eşiğinin düşmesine neden olmuş olabilir. Özellikle her iki hastanın travma öyküsünün (P-5574 no'lu hastamızın 4,5 yaşında iken araç dışı trafik kazası öyküsü ve P-5701 no'lu hastanın 6 aylıkken kafa travması öyküsü) olması, travma sonrası beyin hücre tamir süreçlerindeki bozuklukla birlikte dolaylı olarak nöbet eşiğinin düşmesine neden olarak epilepsi gelişimine sebep olmuş olabileceğini düşündürmektedir. Ancak NEDD9 geninin epilepsi gelişimindeki rolünün aydınlatılabilmesi için bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

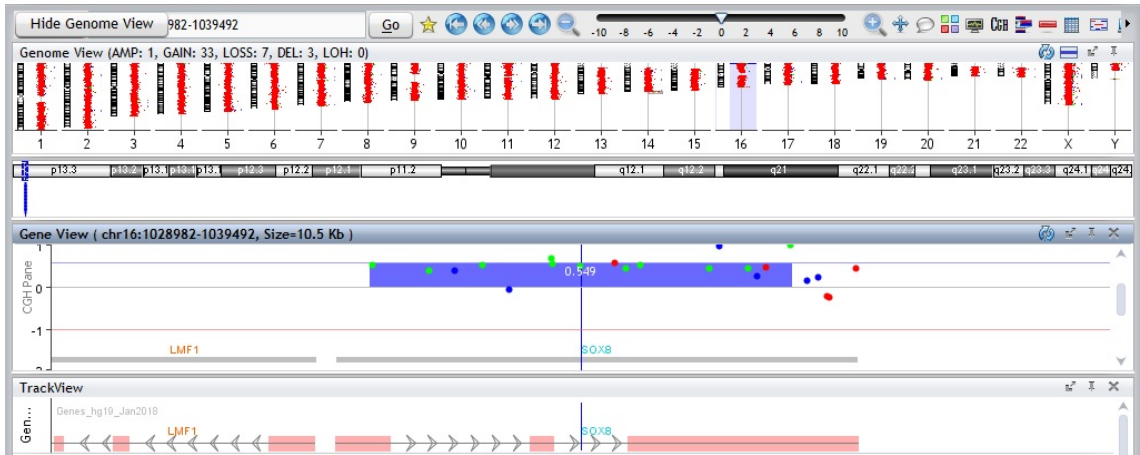
P-5598 nolu hastada 1. kromozom q25.2 bölgesinde 117 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölgede, OMIM genlerinden RASAL2 geni yer almaktadır. Bu bölgenin duplikasyonu DGV veritabanında bildirilmiş (nsv548252) olmakla birlikte, hastamızla benzer büyülmekteki delesyonlar DGV ve ClinVar veri tabanlarında bildirilmemiştir. ClinVar veri tabanında bildirilmiş ve RASAL2 genini içeren delesyonlar daha büyük boyutlarda (Örneğin; ~9 Mb,~14Mb, vb.) olup RASAL2 geni dışında birçok farklı gen içermektedirler. DECIPHER veri tabanında RASAL2 genini içeren ancak hastamızdakinden daha büyük boyutta (~370Kb) ve bu gen dışında OMIM dışı 4 gen daha içeren delesyon; mikropenis, obezite ve global gelişim geriliği olan bir olguda heterozigot olarak bildirilmiş (DECIPHER hasta no:289158) ve "Uncertain-Belirsiz" olarak değerlendirilmiştir (66). Ayrıca literatürde bu bölgede yer alan genlerin (RASAL2, RASAL2-AS1) epilepsi ile ilişkilendirildiğine dair veri bulunmamaktadır. RASAL2 geni beyin, özefagus, testis, vagina başta olmak üzere birçok dokuda eksprese edilmekte olup doku spesifikliği düşük olarak bildirilmiştir (71). Bu nedenle bu değişim "Klinik

önemi bilinmeyen varyant-VUS” olarak değerlendirilmiş olup bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.



**Şekil 5.12. RASAL2 geninin dokulara göre ekspresyon düzeyi grafiği - The Human Protein Atlas veritabanı (71)'ndan alınmıştır.**

P-5866 no'lu hastada 16. kromozom p13.3 bölgesinde ~4 kb'lık duplikasyon (18 prob) saptanmıştır. Bu bölgede bir adet OMIM geni (SOX8) bulunmaktadır.



**Şekil 5.13. P-5866 no'lu hastada 16p13.3 bölgesindeki SOX8 genini içeren duplikasyonun aCGH görüntüsü.**



Memelilerde erkek gonad gelişimi normal olarak SOX9'un ekspresyonunu aktive eden SRY geni tarafından başlatılmaktadır. SOX9 geni aynı zamanda kemik, kalp ve diğer organların gelişiminde önemli fonksiyonlara sahiptir (90). SOX8 geni, SOX9 ve SOX10 genleri ile % 47 oranında benzerlik göstermektedir ve insanlarda, SOX8'in alfa globin lokuslarıyla birlikte delesyonu ATR-16 (alpha-thalassemia/mental retardation syndrome, chromosome 16-related) sendromundaki zihinsel geriliğe katkıda bulunabileceği bildirilmiştir (91).

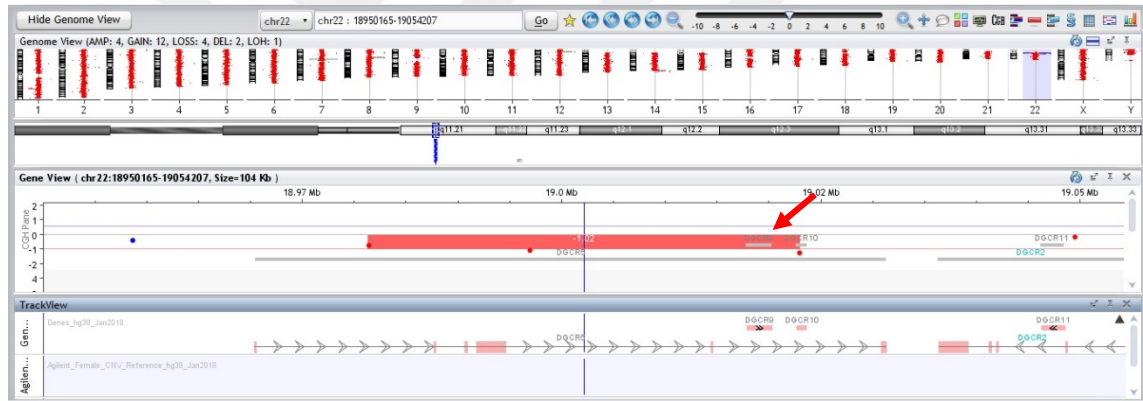
Çalışmalarda SOX8 geninin üreme sistemi üzerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (92,93). Erickson ve arkadaşları; büyüme-gelişme geriliği, iskelet anomalisi, kardiyak defekti olan ve XY kromozomlarına sahip bir kadın hastayı sundukları çalışmada hastada 16p13.3 bölgesinde ~560 kb'lık (duplike parça SOX8 geninin evrimsel korunan düzenleyici sekansları E1, E3 ve E4'ü içermektedir) duplikasyon saptamışlardır. Çalışmalarında SOX8 geni duplikasyonlarının, SOX8 ekspresyonunda azalmadan ziyade artışa yol açabileceğini ve SOX8 ekspresyonundaki artışın da SOX9 üzerinde dominant negatif bir etki yaratabileceği ve bunun da hastadaki kardiyak ve iskelet anomalilerinden sorumlu olabileceğini öngörmektedirler (90).

Bizim hastamızda saptanan duplikasyon SOX8 geninin çok büyük bir kısmını içermektedir. Hastamızın klinik bulguları içerisinde epilepsi yanı sıra büyüme geriliği ve bilateral inmemiş testis mevcuttu. Kranial MR görüntülemesinde epilepsi kliniğini açıklayacak bir anomali yoktu. Aile öyküsünde ise intrauterin dönemde kafa şeklinde bozukluk nedeni ile termine edilen kardeş öyküsü (ki bu durum iskelet anomalisi olasılığını düşündürmektedir) vardı. Hastamızın klinik ve radyolojik bulguları ile aile öyküsü göz önüne alındığında, özellikle nöral sistemde eksprese olan ve SOX9 geni ile yakından ilişkili SOX8 genindeki duplikasyonun hastamızdaki bulguların epilepsi dahil bir kısmından sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle hastamızdaki 16p13.3 SOX8 duplikasyonu "muhtemel patojenik" olarak değerlendirilmiştir. Ancak



multiple cafe'u lait lekeleri nedeni ile de hastamız mutlaka nörokutanöz sendromlar açısından araştırılmalıdır.

Epilepsi, hafif düzeyde mental retardasyon, işitme azlığı, hipotiroidi bulguları ile polikliniğimize başvuran P-6195 no'lu hastada 22. kromozom q11.21 bölgesinde yaklaşık 41 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölgede bir adet OMIM geni (DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 5-DGCR5) ve iki adet OMIM dışı gen (DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 9-DGCR9 ve DiGeorge Syndrome Critical Region Gene 10-DGCR10) yer almaktadır. Bu genler 22q11.2 delesyon sendromu (DiGeorge sendromu) etiyolojisinde yer alan DiGeorge kromozom bölgesinde (DGCR) bulunmaktadır.



**Şekil 5.15.P-6195 no'lu hastada 22q11.21 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü.**

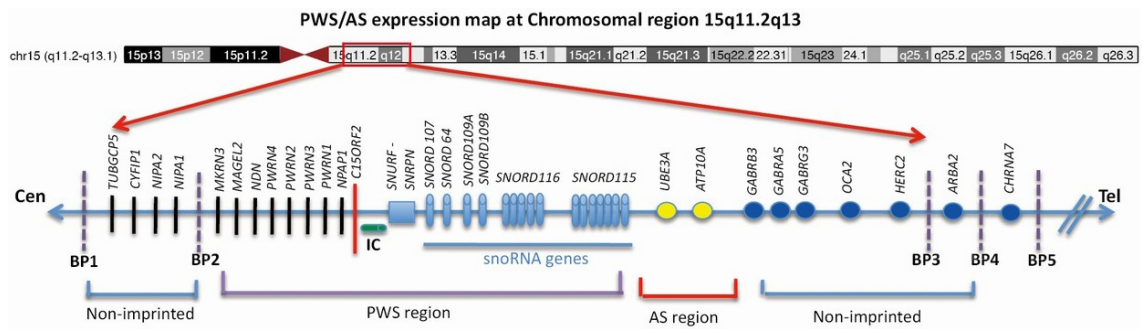
DiGeorge sendromu (DS) , 22q11.2 kromozomal bölgesinde yaklaşık 3 Mb'lık delesyon sonucu ortaya çıkan; kardiyak anomaliler, endokrin anormallikler (paratiroid bezlerinin aplazisi veya hipoplazisi), damak anormallikleri (yarık damak ve veloparengeal yetmezlik), immün yetmezlik ve spesifik yüz bulguları ile karakterize bir hastalıktır. Hastalığın penetransı tam olmakla birlikte hastalar oldukça değişken fenotip sergilemektedir (94). Bu hastalarda nöbet bildirilmiş

olmakla birlikte çoğunlukla hipokalsemi gibi provake edici nedenlere bağlı ortaya çıkmaktadır. Ancak Kao ve arkadaşlarının 22q11.2 delesyonu olan 348 hastada yaptığı çalışmada, hastaların %7'sinde (27 hasta) provoke edilememiş nöbet saptandığı bildirilmiştir. Bunların %30'unda (8 hasta) primer jeneralize epilepsi, %30'unda (8 hasta) semptomatik parsiyel epilepsi ve %30'unda (8 hasta) idiyopatik parsiyel epilepsi saptamışlardır (95). Mudigoudar ve arkadaşlarının 22q11.2 delesyonlu olgular üzerine yaptığı derlemede; hastaların %44'ünde (39/88) fokal epilepsi, %27'sinde (24/88) ise jeneralize epilepsi saptandığı ortaya konulmuştur (96). Yine Wither ve arkadaşlarının 202 yetişkin hasta ile yaptığı çalışmada, erişkin DS'li olgularda epilepsi (9/202, ~%4) ve akut semptomatik nöbet (23/202, ~%11) prevalanslarının yüksek olduğu bildirilmiştir (97). Bu hastaların çoğunda provoke edilmemiş nöbetlerin altında yatan neden hala açık değildir. Bu hastalarda epilepsi ve yapısal beyin anomalilerin sık görülmesi, bu kromozomal bölgenin nörogelişim ve epileptogenez ile çok önemli bir bağı olduğunu göstermektedir (96). Ayrıca 22q11.2 delesyon sendromunda akut semptomatik nöbet sıklığının artmış olması bu hastalarda nöbet eşiğinde düşmeye neden olan bir genetik etkenin varlığını düşündürmektedir. Olası mekanizmalardan biri, 22q11.2'deki delesyonun neden olduğu gen(ler)de dozaj imbalansıdır (97). Ancak bu delesyon bölgesinde, direkt olarak nöbetle ilişkilendirilen sorumlu bir gen tespit edilmemiştir. Literatürde 22q11.2 alt bandında yer alan Rab36 geni mutasyonlarının, nörotransmitter işlenmesi veya salıverilmesine müdahale edebileceğini gösteren veriler mevcuttur (98).

Hastamızdaki delesyon bölgesi; tam olarak 22q11.2 DS kritik bölgesini kapsamamaktadır. DGV veri tabanında hastamızdaki bölgeyi içene alan az sayıda CNV bildirim (esv2751935, nsv1067175, nsv471180) mevcuttur (63,64). Ancak ClinVar veri tabanında bu bölgedeki yaklaşık 109 ve 110 kb'lık delesyonlar patojenik olarak bildirilmiştir (ClinVar no:59070, 59071) (65). Hastamızdaki delesyon bölgesinde yer alan genler uzun kodlamayan RNA (long non-coding RNA-lncRNA) olup çeşitli kanserlerde çalışılmıştır (99-101). Aynı bölgedeki delesyonun hastamızın hem annesinde hem de fetal kardiyak-beyin anomalileri

nedeni ile termine edilen kardeşine ait dokuda da saptanmış olması bu genlerin belki de kardiyak ve beyin anomalileri üzerine etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Aynı şekilde epilepsi fenotipine de katkıda bulunabileceği olasıdır. Hastamızın kardiyak değerlendirmesi ve beyin MRG bulgularına ait verilere ulaşamamıştır. Bu CNV'nin epilepsi fenotipine etkisinin aydınlatılabilmesi için bu alanda da çok çalışma verisine ihtiyaç vardır.

Miyoklonik epilepsi, mental retardasyon, ailede epilepsi ve erken menopoz öyküsü olan P-6273 no'lu ve dirençli epilepsi, otizm, genel gelişme geriliği bulguları olan P-8459 hastalarda 15q11.2 bölgesinde sırasıyla 330 ve 601 kb'lık duplikasyonlar saptanmıştır. Bu bölgede bir adet morbid OMIM (NIPA1), üç adet morbid olmayan OMIM geni (TUBGCP5, CYFIP1, NIPA2) bulunmaktadır. Ek olarak bu duplikasyon bölgesi; P-6273 no'lu hastada bir (LOC283683), P-8459 no'lu hastada ise sekiz adet (HERC2P2, GOLGA8J, GOLGA8IP, WHAMMP3, LOC283683, GOLGA6L22, GOLGA6L1, GOLGA8DP) OMIM dışı gen içermektedir. 15. kromozomun uzun kolunun proksimal bölgesi, BP1–BP5 kırılma noktalarında bir dizi düşük kopya tekrarı (LCR) içermektedir. Bunlar allelik olmayan homolog rekombinasyon yoluyla çeşitli delesyon ve duplikasyonların oluşumuna aracılık etmektedir (102).



**Şekil 5.16. 15q11.2 bölgesi BP1-BP5 kırılma noktaları ve bu bölgelerde yer alan genler -Smith ve Hung (103)'dan alınmıştır.**

BP1–BP2 bölgesi yaklaşık 500 kb'lık bir alanı kapsamakta ve imprinted olmayan ve evrimsel olarak korunmuş dört gen (NIPA1, NIPA2, CYFIP1 ve TUBGCP5) içermektedir (104). Bu genler MSS gelişimi ve/veya fonksiyonunda rol oynamaktadır. Örneğin; NIPA1 geni, otozomal dominant kalıtmımlı “Spastik parapleji tip 6 (OMIM no:608145)” ile ilişkilendirilmiştir (46). Bir magnezyum taşıyıcısı olarak tanımlanan NIPA2 geni, MSS’de geniş ölçüde eksprese edilmektedir (102,105). CYFIP1 geni, sinaptosomal ekstraktlarda bulunan bir proteini kodlamakta olup bu protein, Frajil X sendromundan sorumlu FMR1 geninin protein ürünü olan FMRP ile etkileşime girmektedir (106). TUBGCP5, hücre iskeleti tübülün kompleksinin bir üyesidir ve beyin dahil akciğer, paratiroid ve adrenal bezler gibi birçok doku ve organda yüksek oranda eksprese olmaktadır (71).

BP1-BP2 bölgesinde delesyon saptananlara göre duplikasyon saptanan bireylerde nöbet/epilepsi gözleendiği az sayıda çalışmada bildirilmiştir. Burnside ve arkadaşlarının 17000 olgu ile yaptığı retrospektif çalışmada; olguların 146’sında (%0,86) BP1-BP2 bölgesinde CNV saptandığı, bunların 77’sinde (%0,45) CNV’nin duplikasyon olduğu bildirilmiştir. BP1-BP2 bölgesinde duplikasyon saptanan olguların 4’ünde (bir tanesinde ek olarak de novo DS/VCF sendromu mevcutmuş) nöbet fenotipi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak incelenen 49 duplikasyonlu olgunun 6’sında (%12) nöbet bildirilmiştir (102). Mohan ve arkadaşlarının 51 462 olgu ile yaptığı çalışmada epilepsi/nöbet öyküsü olan 4836 olgunun 18’inde epilepsi fenotipi ve 15q11.2 duplikasyonu saptanmıştır (107).

Phenotype	Total patients	15q11.2 deletions			15q11.2 duplications		
		Cases with deletion and with phenotype (frequency)	Cases without phenotype but with deletion (frequency)	P-value ( $\chi^2$ value)	Cases with duplication and with phenotype (frequency)	Cases without phenotype but with duplication (frequency)	P-value ( $\chi^2$ value)
Developmental delay/ intellectual disability	20,415	91 (0.0045)	171 (0.0055)	0.1154 (2.479)	86 (0.0042)	129 (0.0042)	0.9767 (0.001)
Dysmorphic features	6005	44 (0.0073)	218 (0.0048)	<b>0.0126 (6.220)</b>	25 (0.0042)	190 (0.0042)	0.9851 (0.000)
Autism group	7308	25 (0.0034)	237 (0.0054)	<del>0.0378</del> (4.315)	30 (0.0041)	185 (0.0042)	0.9951 (0.000)
Epilepsy/seizures	4836	27 (0.0056)	235 (0.0050)	0.6900 (0.159)	<b>18 (0.0037)</b>	197 (0.0042)	0.6898 (0.159)
Total	38,564	187	-	-	159	-	-

**Şekil 5.17. Mohan ve ark.'larının çalışmasında 15q11.2 delesyon ve duplikasyonu saptanan bireylerin fenotipik değerlendirmesi -Mohan ve ark. (107)'dan alınmıştır.**

Her ne kadar bu bölge duplikasyonlarında epilepsi/nöbet bildirilmiş olsa da, DGV veri tabanında bu bölgeyi içeren duplikasyon bildirimleri (dgv4320n54, nsv471225) de mevcuttur (63,64). Bu durum, bu bölge duplikasyonlarındaki fenotipik değişkenliğe bağlı olabilir. Zira her iki hastamızda da saptanan değişim fenotipik olarak normal annelerinde ve P-8459 no'lu hastanın asemptomatik kız ve erkek kardeşinde de saptanmıştır. P-6273 no'lu hastamızın anneannesine analiz yapılamamış olmasına rağmen anneannedeki erken menopoz kliniğinden de belki de CYFIP1 geni ile ilişkili olarak bu duplikasyon sorumlu olabilir. Mevcut veriler doğrultusunda bu değişim “muhtemel patojenik” olarak değerlendirilmiştir.

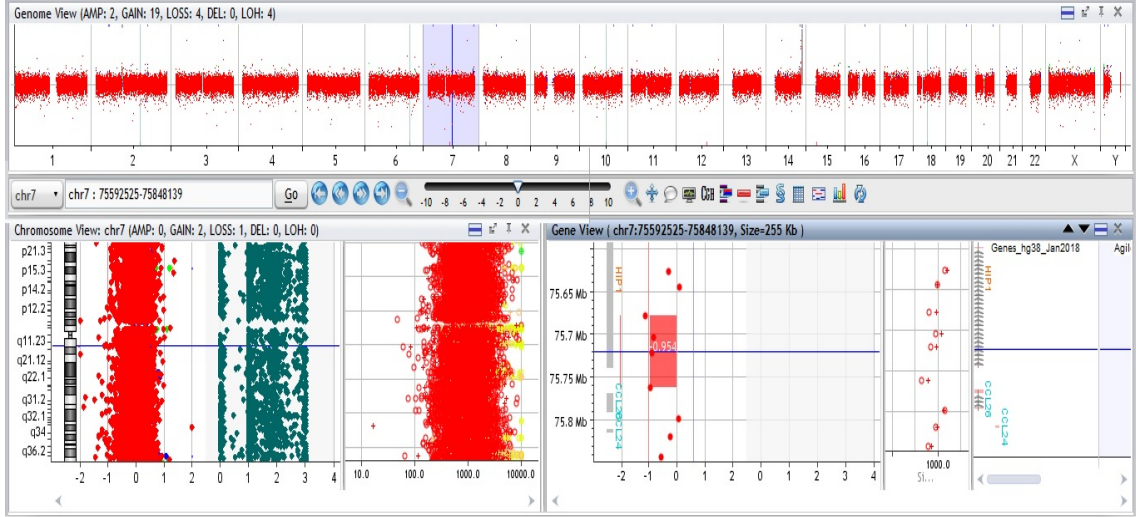
JME kliniği olan P-6490 no'lu olguda, 16p11.2 bölgesinde 36 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölgede bir morbid OMIM geni (TUFM), iki adet OMIM geni (ATXN2L, SH2B1) ve bir OMIM dışı gen (MIR4721) bulunmaktadır. Bu delesyonda yer alan TUFM geni OMIM'de otozomal resesif kalımlı “Kombine oksidatif fosforilasyon eksikliği 4” ile ilişkilendirilmiştir. Bu hastalığın kalıtım paterni ve ağır fenotipi göz önüne alındığında zekası normal

olan ve JME dışında ek bulgusu olmayan hastamızda bu gen ile ilgili fenotip beklenmemektedir.

16p11.2 bölgesi distal parçasındaki ~220 kb'lık delesyonlar OMIM veri tabanında "16p11.2 delesyon sendromu, 220 kb(OMIM No:613444) ile ilişkilendirilmiştir (46). 16p11.2 delesyonu saptanan az sayıda bireyde nöbet bildirilmiş olmakla birlikte, bu sendrom genel anlamda gelişim geriliği ve obezite ile fenotipi ile ortaya çıkmaktadır. Ayrıca bu bölgede yer alan SH2B1 geni bu sendromdaki obezite kliniğinden sorumlu tutulmaktadır (108-110).

Hastamızdaki delesyon bölgesinin, literatürde bildirilen olgulardan küçük olması, delesyon bölgesinin SH2B1 geninin bir kısmını içermesi ve bu gen başta olmak üzere diğer genlerin epilepsi kliniği ile ilişkilendirildiğine dair literatür verisi olmaması nedeni ile bu CNV klinik ile ilişkisiz patojenik olarak değerlendirilmiştir. Hasta dosya bilgilerinde hastamızın obezitesi olup olmadığına dair bilgiye ulaşılammıştır.

Epilepsi, sendromik yüz, psikiyatrik bozukluk (atipik duygudurum bozukluğu) kliniği ile başvuran P-6572 no'lu hastada 7q11.23 kromozomal bölgesinde 84 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. DGV veri tabanında bu delesyon bölgesi az sayıda bildirilmiştir (63,64). DECIPHER veri tabanında ise hastamızdaki ile benzer delesyonlar muhtemel benign veya normal ebeveynden aktarılmış olarak bildirilmiştir (DECIPHER hasta no: 290117, 270683) (66).



**Şekil 5.18.P-6572 no'lu hastada 7q11.23 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü.**

Bu CNV, HIP1 geninin bir kısmını içermektedir. HIP1 (Huntingtin-interacting protein 1) geni; nöronlarda NMDA reseptörlerine bağımlı şekilde AMPA reseptör trafiğinin düzenlenmesinde, sinirlerde presinaptik terminal aktivitenin düzenlenmesinde, kltrin aracılı endositozda, androjen reseptörü aracılı transkripsiyonun artırılmasında, bir proapoptotik protein olarak intrinsik apoptoz yolu ile hücre ölümünün indüklenmesinde görev almaktadır (111,112).

HIP1, hipokampal ve kortikal nöronlarda NMDA iyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR'ler) ile birlikte lokalize olmaktadır ve HIP1<sup>-/-</sup> farelerde, NMDA kaynaklı AMPA tipi iGluR kltrin aracılı internalizasyonda ciddi bir azalma olduğu gösterilmiştir (112,113). Ayrıca HIP1<sup>-/-</sup> ve HIP1<sup>-/+</sup> farelerde epilepsi geliştiği bildirilmiştir (114).

Williams-Beuren sendromu(WBS), 7q11.23 bölgesinde heterozigot bir delesyon sonucu ortaya çıkan, kardiyovasküler anomaliler, spesifik yüz bulguları, bağ dokusu anormallikleri, zihinsel yetersizlik, büyüme geriliği ve endokrin

anormallikler ile karakterize genetik bir hastalıktır. Bu hastalarda epilepsi ise nadir olarak bildirilmiştir. Hastaların % 95'inde 1,5-1,8 Mb'lık bir delesyon mevcutken, geri kalan % 5'inde daha büyük delesyonlar bulunmaktadır (115).

HIP1'in haployemezliğinin, nöronal homeostazı bir şekilde değiştirerek; insan beynini hem fokal veya jeneralize epilepsilere, hem de zihinsel engellilik, hiperkaktivite, saldırganlık, dürtüsellik dahil olmak üzere geniş bir yelpazede bilişsel işlev bozukluğu ve nöro-davranışsal anormalliklere predizpoze etmek için yeterli olduğu gösterilmiştir (114). Benzer şekilde WBS sendromlu olgularda; HIP1 ve YWHAG genlerinin haployetmezliğinin; epilepsi ve otistik özellikler dahil olmak üzere ağır nörolojik ve nöropsikolojik etkilere neden olabileceği bildirilmiştir (116). Ayrıca Wang ve arkadaşlarının epilepsi ile ilişkili genler üzerine yaptığı çalışmada, HIP1 geni potansiyel epilepsi ile ilişkili gen olarak bildirilmiştir (39).

Tersine, Nicita ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hem tipik hem de HIP1, YWHAG ve MAGI2 genlerini içermeyen atipik delesyonlu WBS olgularında epilepsinin değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmış olup epileptik ve epileptik olmayan WBS olgularının karşılaştırılması sonucunda da bu hastalarda epilepsi fenotipine yol açacak aday bir gen bulunamadığı bildirilmiştir (115).

Hastamızın hem epilepsi hem de psikiyatrik hastalığı göz önüne alındığında bu değişim "muhtemel patojenik" olarak değerlendirilmiştir.

Epilepsi, mental retardasyon ve dismorfik yüz bulguları olan P-6632 no'lu hastada 3p25.3 kromozomal bölgesinde ~451 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır.

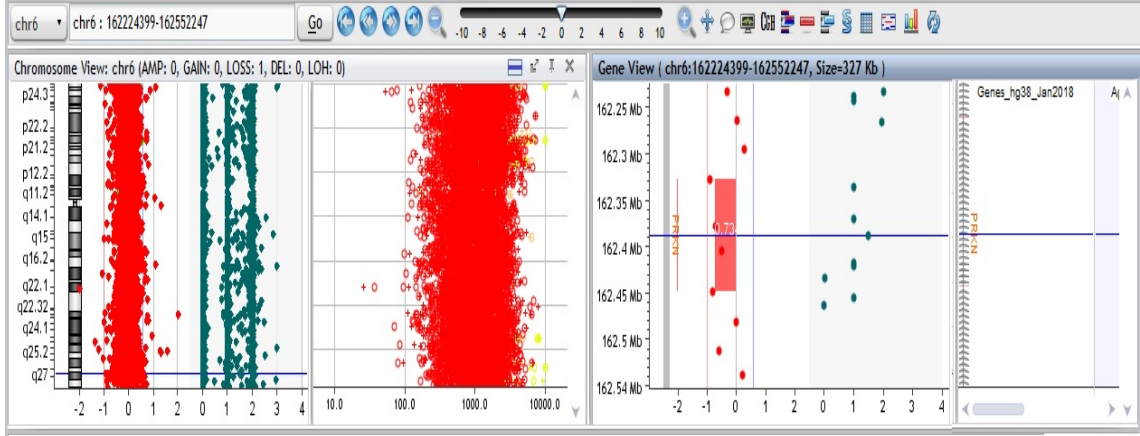




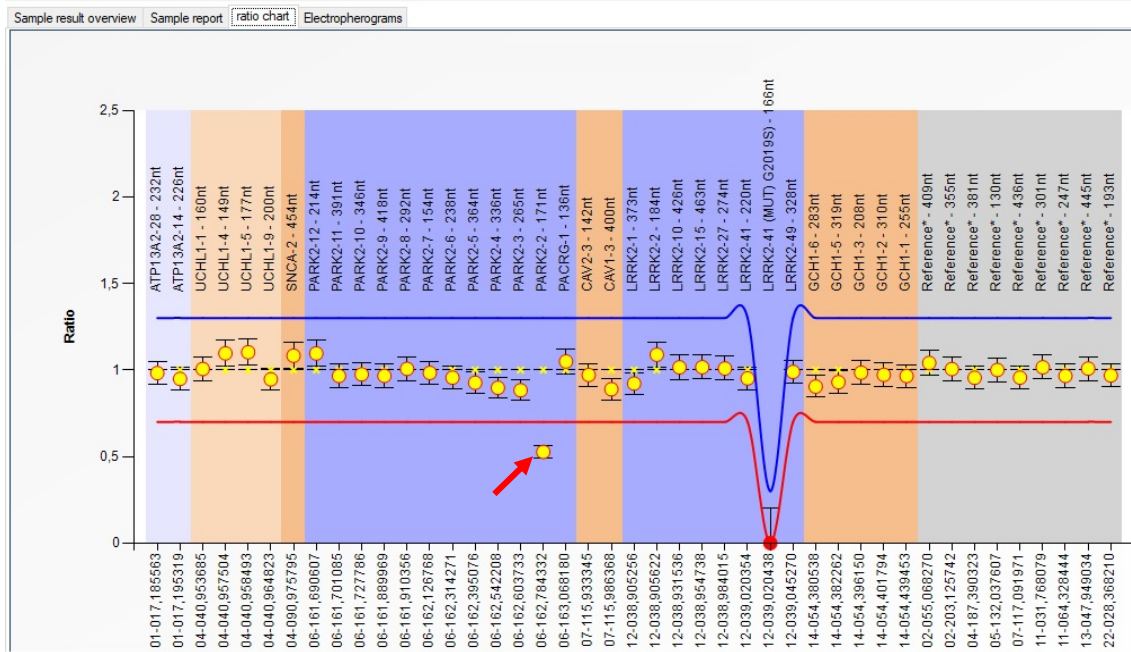
**Şekil 5.19.P-6632 no'lu hastada 3p25.3 bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü.**

Bu delesyon bölgesinde yer alan SETD5 geni OMIM veri tabanında “Otozomal dominant mental retardasyon, 23 (OMIM no:615761)” ile ilişkilendirilmiştir (46). Bu gendeki fonksiyon kaybettirici mutasyonların mental retardasyon kliniğine neden olduğu bildirilmiştir. Nadir olmasına rağmen, 3p mikrodelesyon olguları klinik literatürde iyi tanımlanmıştır. Olguların klinik fenotipinde; zihinsel engellilik, büyüme geriliği, dismorfik yüz bulguları ve kardiyak malformasyonlar yer almaktadır. CMA yöntemindeki gelişmeler ile 3p25 lokalizasyonundaki kritik bölge 124 kb’a kadar daraltılmış ve son zamanlardaki WES çalışmaları ile de bu bölgedeki SETD5 geninin 3p25 fenotipine önemli ölçüde katkıda bulunduğu bildirilmiştir (117). Literatürde 3p25.3 bölgesinde SETD5 genini içeren delesyonlar veya bu gende fonksiyon kaybettirici nokta mutasyon saptanan bireylerde, ana fenotipik bulgulardan olmasa da nöbet bulgusu da bildirilmiştir (118,119). Bu nedenle hastamızdaki CNV “patojenik” olarak değerlendirilmiştir.

Atonik nöbet kliniği ile başvuran 9 aylık P-6887 no'lu hastada 6q26 bölgesinde 122 kb'lık heterozigot delesyon saptanmış olup bu delesyon MLPA yöntemi ile (MRC-Holland SALSA MLPA P051, P052) de konfirme edilmiştir. Delesyonun PARK2 (PRKN) geninin 2. ekzonunda olduğu saptanmıştır.



**Şekil 5.20.P-6887 no'lu hastada PARK2 (PRKN) gen bölgesindeki delesyonun aCGH görüntüsü.**

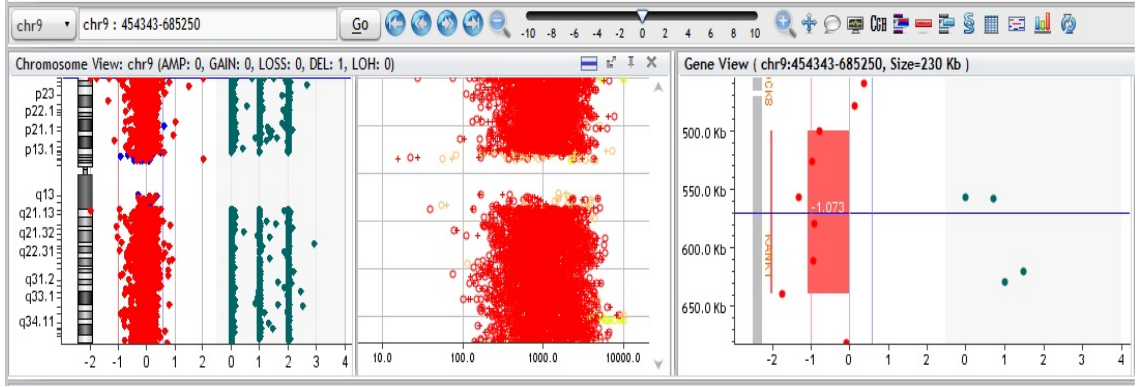


**Şekil 5.21.P-6887 no'lu hastada PARK2 (PRKN) geninde 2. ekzonda heterozigot delesyonu (kırmızı ok) gösteren MLPA görüntüsü.**

PARK2 geni 12 ekzondan oluşmakta olup; bu gende saptanan patojenik mutasyonlar otozomal resesif kalıtmırlı “Juvenil Tip Otozomal Resesif Parkinson Hastalığı Tip 2 (OMIM no:600116)” ile ilişkilendirilmiştir (46).

PARK2, farklı beyin bölgelerinde nöronal süreçlerdeki rolü nedeniyle yaygın şekilde ifade edilen “Parkin E3 Ubiquitin Protein Ligaz”ı kodlamaktadır. Başlangıçta PARK2 geni mutasyonları, otozomal resesif geçişli genç yaş Parkinson hastalığının genetik nedeni olarak bildirilse de son zamanlarda, bazı çalışmalar PARK2'deki intragenik mikrolelesyonların otizm için tipik bilişsel ve öğrenme eksikliğine de neden olduğunu ortaya koymuştur (120-122). Yine literatürde PARK2 geninde duplikasyon saptanan olguların da benzer nörogelişimsel sorunları olan hastalar olduğu saptanmıştır (122,123). Literatürde PARK2 geninde duplikasyon bildirilen olgularda nöbet/epilepsi kliniği bildirilmiştir (122,124). Ancak Kay ve arkadaşlarının 1686 kontrol ve 2091 parkinson hastası ile yaptığı çalışmada, kontrol olgularının ~%1'inde PARK2 geninde CNV ve ~%3'ünde nokta mutasyonlar saptanmıştır. 2-4. ekzonlardaki heterozigot CNV mutasyonlarının daha yaygın ve iyi tolere edilebilirken, yüksek düzeyde korunmuş fonksiyonel alanları kodlayan 5-12. ekzonlarda, kontrollerde hiç CNV saptanmadığı bildirilmiştir (125). Bu bölgelerde meydana gelen mutasyonların daha patojenik etki yaratabileceği düşünülebilir. Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; PARK2 geni epilepsi ile ilişkili ancak daha fazla doğrulama çalışması gerektiren genler listesinde yer almaktadır (39). Benzer şekilde Olson ve arkadaşları da PARK2 geninin epilepsi etiyolojisinde aday gen olabileceğini bildirmişlerdir (7). Hastamızdaki epilepsi fenotipinde bu CNV'nin katkısı olabileceği düşünölmekle birlikte bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

P-7271 no'lu hastada 9p24.3 bölgesinde morbid OMIM genlerinden KANK1(ANKRD15) genini parsiyel olarak içeren 138 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. KANK1 geni OMIM'de “Spastik kuadriplejik serebral palsi,2 (OMIM no: 612900” ile ilişkilendirilmiştir (46).



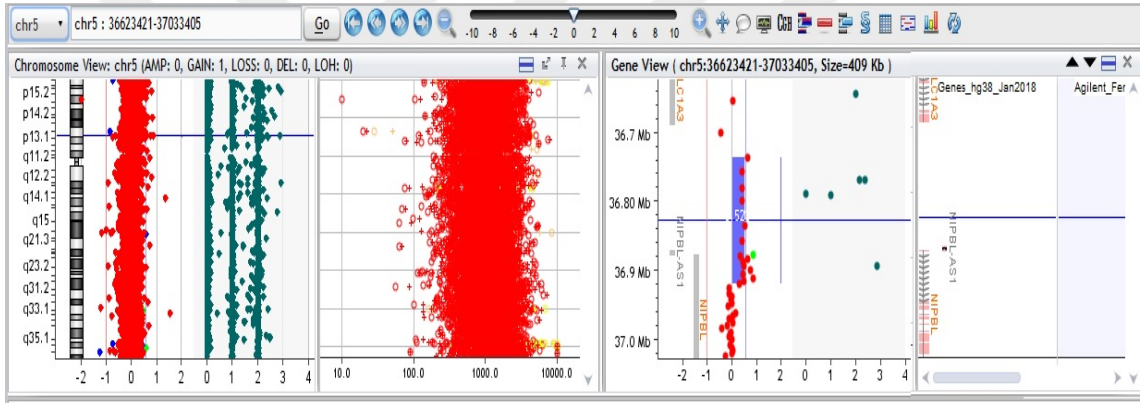
**Şekil 5.22.P-7271 no'lu hastada 9p24.3 bölgesindeki delesyonu gösteren aCGH görüntüsü.**

KANK1, hücre iskeleti organizasyonunda rol oynayan evrimsel olarak korunmuş bir gen dir ve başlangıçta renal hücreli karsinomda tümör süpresör bir gen olarak tanımlanmıştır (126). KANK1'in birkaç alternatif promotörü vardır ve iki farklı transkripti tanımlanmıştır: bir transkript hemen hemen tüm dokularda temel bir ekspresyon seviyesine sahipken, ikinci transkript ağırlıklı olarak kalp ve böbrekte ifade edilmektedir. 2005 yılında, KANK1'i içeren küçük interstisyel bir delesyon; konjenital hipotoni, beyin atrofi, ID, spastik kuadripleji kliniği sergileyen çocukları olan bir ailede etiyolojik genetik neden olarak bildirilmiştir (127). Daha sonra benzer KANK1 delesyonları, nörolojik hastalığı olan diğer ailelerde de tanımlanmış olup bildirilen patojenite, olgular arasında değişkenlik göstermektedir (39,128-130). Bu olgu bildirimlerinde nöbet/epilepsi kliniği olan olgu sayısı oldukça azdır (130).

ClinVar veritabanında KANK1 genini içeren delesyonların patojenitesi ile ilgili çelişkili yorumlar (benign, muhtemel benign, VUS, patojenik) yer almaktadır (65). Ayrıca Wallis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; KANK1 delesyonu açısından taşıyıcı ebeveynlerde nörolojik hastalık sıklığında artış görülmediği, bazen KANK1 genini içeren küçük delesyonu olan bireylerde nörolojik durumlarını açıklayan alternatif bir genetik tanı bulunduğu ve küçük KANK1

delesyonlarının olgu ve kontrollerde yaklaşık eşit frekansta gözleendiği bildirilmiş olup küçük KANK1 delesyonlarının, gelişim geriliği, ID, otizm veya serebral palsi olan hastalarda hastalığın etiolojisine önemli ölçüde katkıda bulunma ihtimalinin bulunmadığı sonucuna vardıkları rapor edilmiştir (126). Mevcut veriler doğrultusunda hastamızda 9p24.3 bölgesinde saptanan delesyon “VUS” olarak değerlendirilmiştir.

Epilepsi, dismorfik yüz, MR kliniği olan P-7297 no’lu hastada 5p13.2 bölgesinde 184 kb’lık heterozigot duplikasyon saptanmıştır. Bu bölge morbid OMIM genlerinden NIPBL geninin bir kısmını içermektedir.



**Şekil 5.23.P-7297 no’lu hastada 5p13.2 bölgesindeki duplikasyonu gösteren aCGH görüntüsü.**

NIPBL genindeki mutasyonlar, Cornelia de Lange sendromu ile ilişkilendirilmektedir. Ancak NIPBL genini içeren duplikasyonlar, bu sendromdan farklı bir fenotip sergilemekte olup OMIM’de “5p13 duplikasyon sendromu (OMIM no:613174)” olarak tanımlanmıştır (46).

NIPBL, 5p13.2 duplikasyon sendromu ve Cornelia de Lange sendromunun etiolojisinde anahtar gendir. 5p13 duplikasyonunun en sık bildirilen belirti ve

semptomları makrosefali, MSS bozuklukları, konjenital kalp defektleri, havayolu enfeksiyonları, ayak deformiteleri, kraniofasiyal dismorfizmdir (131). NIPBL mutasyonlarının beyin gelişimini nasıl etkilediği anlaşılmamıştır. Teorilerden biri, NIPBL mutasyonu olan beyinlerde GABAerjik inhibitör internöron sayısının azalmasıdır (131,132). GABA inhibitör sistemin yanlış düzenlenmesi, muhtemelen EEG anomalliklerinin altında yatan mekanizma olan hipersenkronize aktiviteye yol açmaktadır. Literatürde farklı büyüklüklerdeki (0,33 Mb; >9 Mb) 5p13.2 duplikasyonu olan olgularda nöbet bildirilmiş olmakla birlikte 5p13.2 duplikasyon sendromunun epileptik, EEG ve nöropsikolojik özellikleri ile ilgili açıklamalar sınırlı ve tutarsızdır (131,133-136). ClinVar veri tabanında çelişkili yorumlar yer alsa da GGG fenotipinde bir olguda NIPBL geni duplikasyonu patojenik olarak bildirilmiştir (ClinVar no: 540617) (65). Hastamızın klinik bulguları (epilepsi, dismorfik yüz, MR) mevcut literatür verileri ile birlikte değerlendirildiğinde hastada saptanan delesyon “muhtemel patojenik” olarak değerlendirilmiştir.

Epilepsi, fasiyal dismorfizm, nöromotor gerilik nedeni ile takipli ve kardeşinde epilepsi ve babasında mental retardasyon öyküsü olan P-7362 no’lu hastada 1. kromozom q25.1 bölgesinde 294 kb’lık heterozigot duplikasyon saptanmıştır. Bu bölge OMIM genlerinden TNR geninin bir kısmını içermektedir. Bu gen bölgesindeki duplikasyonlar DGV veri tabanında bildirilmemiş olup ClinVar veri tabanında TNR geni duplikasyonları ile ilgili çelişkili yorumlar (benign, muhtemel benign, VUS) yer almaktadır (65). DECIPHER veri tabanında hastamızla benzer gen bölgesini içeren duplikasyonlu olgularda (DECIPHER hasta no:302039, 287974, 288163), saptanan CNV muhtemel benign olarak değerlendirilmiştir (66).

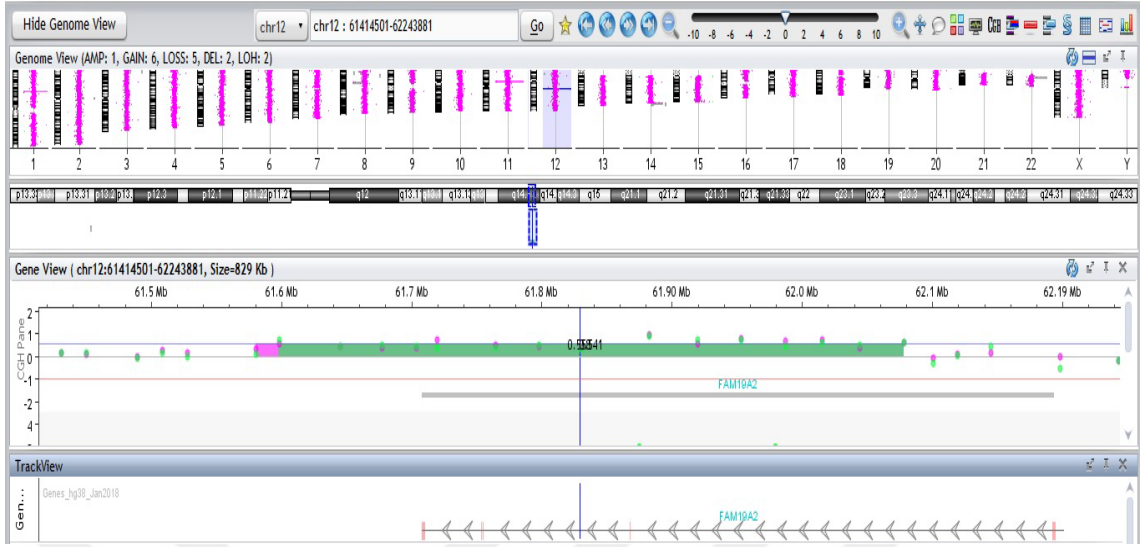
Tenascin-R (TNR), büyük oranda MSS’de ifade edilen hücre dışı bir matris proteinidir. Çalışmalarda, TNR’nin spinal kord, serebellum, hipokampus ve olfaktor bulbusun motor aksonlarında ve motor nöron çevresinde lokalize

olduğunu bildirilmiştir. Embriyonik 6-16. günlerde tespit edilebilirken erişkinlerde zorlukla saptanabilmektedir. Bu tespit, TNR'nin MSS gelişimine dahil olduğunu göstermektedir (137,138). Ancak TNR genindeki rs6686722 polimorfizmi ile dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu hastalığında genom çapında anlamlı ilişki saptanmış olmasına rağmen, bu genin insanlarda epilepsi etiyolojisinde yer aldığına dair literatür verisi bulunmamaktadır (139). Ayrıca hastanın benzer fenotip sergileyen kardeşinde (P-7362-K1) de bu duplikasyon saptanmamıştır. Bu nedenle bu duplikasyon “VUS” olarak değerlendirilmiştir.

P-7362-K1 no'lu hastada 2q21.2 bölgesinde OMIM genlerinden NCKAP5 geninin bir kısmını içeren 154 kb'lık heterozigot delesyon saptanmış olup, epilepsi kliniği olan kardeşinde (P-7362) bu delesyon saptanmamıştır. DGV veri tabanında bu delesyon bölgesini içine alan az sayıda bildirim mevcut olup ClinVar veri tabanında NCKAP5 geni delesyonları ile ilgili çelişkili yorumlar yer almaktadır (65).

NCKAP5 geni birçok dokuda eksprese edilmekte olup, bu genin epilepsi ile kesin olarak ilişkilendirildiğine dair literatür verisi bulunmamaktadır. Ancak Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; NCKAP5 geni epilepsi ile ilişkili potansiyel genler listesinde protein fonksiyonu bakımından “sınıflandırılmayan” grubunda bildirilmiştir (39).

Birbiriyle kardeş olan ve her ikisi de epilepsi tanılı P-7362 ve P-7362-K1 no'lu hastalarımızda 12. kromozom q14.1 bölgesinde sırasıyla 497 ve 480 kb'lık heterozigot duplikasyon saptanmıştır. Bu bölge OMIM genlerinden FAM19A2 (TFAA2) geninin bir kısmını içermektedir. Bu bölge duplikasyonları DGV veri tabanında çok az sayıda bildirilmiş olup ClinVar veri tabanında TFAA2 genini içeren yaklaşık 1 Mb'lık duplikasyon “benign” olarak (ClinVar no:601280) bildirilmiştir (65).



**Şekil 5.24. P-7362 (pembe) ve P-7362-K1 (yeşil) no'lu hastalarda 12q14.1 bölgesindeki duplikasyonların aCGH görüntüsü.**

TAF2, yeni bir veri tabanı arama stratejisi kullanarak keşfedilen TAF2 ailesinin beş üyesinden biridir. Literatürde, TAF2 mRNA ekspresyonu MSS ile sınırlı olmasına rağmen bu ailedeki TAF2 mRNA ekspresyonunun kolon, kalp, akciğer, dalak, böbrek ve timusta tespit edildiği bildirilmiştir. Ama MSS'deki TAF2 ifadesi, diğer dokulardan 50 ila 1000 kat daha yüksek bulunmuştur (140). Ayrıca TAF2 ailesi üyelerinin mRNA ekspresyonu farklı beyin bölgelerinde değişkenlik göstermektedir. Örneğin, TAF2-1 ekspresyonu; korteks ve medulla boyunca yaklaşık olarak aynı seviyelerde iken, bazal ganglion, talamus ve serebellumdaki ekspresyonu 5-50 kat daha düşük bulunmuştur. TAF2-2 ekspresyonu ise oksipital ve frontal kortekste en yüksek olarak tespit edilmiştir (140).



Tissue_name	TAFA-1	TAFA-2	TAFA-3	TAFA-4	TAFA-5
Whole brain	215.27	326.29	3.48	8.88	3.14
Heart	0.00	4.76	0.00	0.00	0.00
Kidney	0.00	1.00	0.00	0.00	1.00
Liver	0.00	0.62	0.00	0.03	0.00
Lung	0.08	1.93	0.00	0.00	0.00
Colon	0.06	6.50	0.23	0.03	0.00
Spleen	0.05	3.03	0.47	0.01	0.00
Thymus	0.00	1.11	1.00	0.00	0.00
Frontal cortex	64.00	1136.20	14.42	2.93	6.50
Temporal cortex	71.01	630.35	19.70	1.23	3.61
Occipital cortex	76.11	2048.00	3.03	1.62	8.57
Parietal cortex	55.72	494.56	27.86	1.62	5.28
Basal ganglion	9.51	103.97	40.79	2.07	30.91
Thalamus	3.14	115.36	5.10	14.93	13.00
Cerebellum	1.00	36.76	4.92	1.00	19.03
Brain medulla	64.00	430.54	0.00	2.07	6.28

**Şekil 5.25. TAFA gen ailesi üyelerinin insan dokularındaki rölatif mRNA ekspresyonları - Wang ve ark.(141)'dan alınmıştır.**

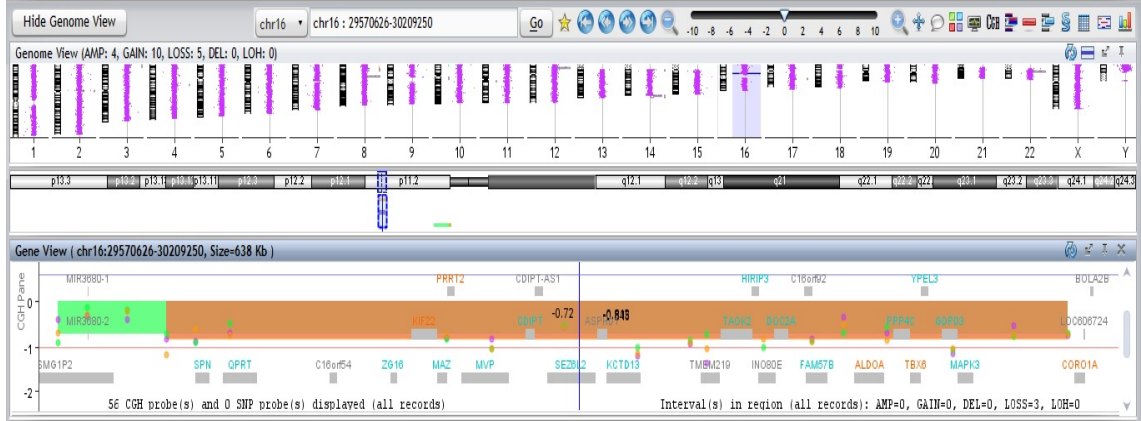
TAFA genlerinin biyolojik fonksiyonları hakkında birkaç geçici hipotez öne sürülmüştür. Bunlardan birincisi, merkezi sinir sistemindeki immün yanıtları modüle etmek için beyne özgü kemokinler gibi davranıyor olmaları; ikincisi, sinir ve immün hücreleri düzenleyen yeni bir nörokin sınıfını temsil ediyor olmaları; üçüncüsü ise, beyin hasarını takiben aksonal filizlenmeyi kontrol ediyor olmalarıdır (140,141). Wang ve arkadaşlarının TAFA2 knockout farelerde yaptığı çalışmada; TAFA2'nin nöronal sağkalım ve nörobiyolojik fonksiyonlar için gerekli bir nörotrofik faktör olarak işlev görebileceği bildirilmiştir (141). Son dönemde Okada ve arkadaşlarının TAFA2 geni fonksiyonu üzerine yaptığı fare çalışmasında; TAFA-2'nin gıda alımı ve metabolik aktivitelerin düzenlenmesine katıldığı gösterilmiştir (142).

Nöronal seroid lipofusinozlar (NCL); nöronlarda ve genellikle gözde lizozomal lipopigment depolanması ve ilerleyici nörolojik, motor ve entelektüel bozulma, nöbet, görme bozukluğu ve erken ölüme neden olan kalıtsal, bir nörodejeneratif hastalık ailesidir. Nijssen ve arkadaşlarının bir otozomal dominant erişkin nöronal seroid lipofusinozis (ANCL) ailesinde yaptıkları bağlantı analizinde; 3 aday lokus tespit etmiş ve bu lokuslardan biri olan 12q14-21 lokasyonundaki 95 genlik bölgede, FAM19A2(TAFA2), GNS ve LYZ genlerinin aday gen olabileceğini bildirmişlerdir (143).

Her iki hastamızda da epilepsi kliniği olması, P-7362 no'lu hastanın EEG'sinde TAFA2 geni ekspresyonu ile uyumlu şekilde yoğun olarak oksipital alanlarda daha yüksek amplitüdü, jeneralize diken, keskin ve yavaş dalga deşarjları ve hastada nöromotor gelişim geriliği bulunması, ayrıca P-7362-K1 nolu hastada ANCL'de görülen miyoklonik tipte nöbet görülmesi; TAFA2 geninin bu hastalardaki epilepsi fenotipine katkı sağlıyor olabileceğini düşündürmektedir. Ancak saptanan CNV'nin duplikasyon olması ve ClinVar veri tabanı verileri dikkate alındığında bu değişim "VUS" olarak değerlendirilmiştir.

P-7643 ve P-7992 no'lu hastalarda 16p11.2 bölgesinde 533 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölge delesyonları OMIM veri tabanında "Kromozom 16p11.2 delesyon sendromu, 593kb (OMIM no:611913)" ile ilişkilendirilmiştir (46). 16p11.2 delesyon sendromunda; gelişimsel gerilik, ID, dil gelişiminde gecikme, yapısal beyin anomalileri bulguları görülmektedir. Hastaların %20'sinde nöbet gözlendiği bildirilmektedir. Bu bölgede yer alan PRRT2 geninde heterozigot fonksiyon kaybına neden olan patojenik varyantların; benign ailesel infantil epilepsi ve koreoatetoz sendromlu infantil konvülsiyonlara da neden olduğu bilinmektedir (144,145).

Aynı bölgedeki delesyon P-7643 nolu hastanın sağlıklı ve nöbet öyküsü olmayan annesinde ve P-7992 no'lu hastanın epilepsi kliniği olmayan fakat konuşma ve gelişme geriliği bulguları olan kardeşinde de gözlenmiştir. Bu da bu sendromun klinik değişkenliğini yansıtmaktadır (146).



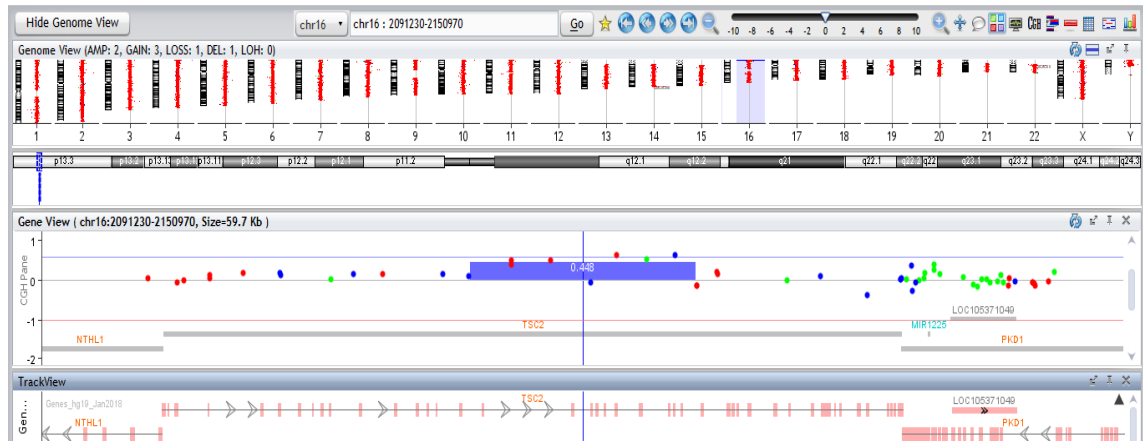
**Şekil 5.26. P-7643 (turuncu) no'lu hasta ile annesi (yeşil) ve P-7992 (mor) no'lu bireylerde 16p11.2 bölgesindeki heterozigot delesyonun aCGH görüntüsü.**

Ek olarak P-7643 no'lu hastada 9p22.2 ve 10q22.3 bölgelerinde sırasıyla 583 ve 320 kb'lık heterozigot duplikasyonlar saptanmış olup her iki değişimin de maternal kaynaklı olduğu gözlenmiştir.

9p22.2 bölgesinde iki OMIM geni (CNTLN,SH3GL2) bulunmaktadır. Bu genlerden SH3GL2 geni büyük oranda beyinde eksprese edilmektedir (147). Bu geni içeren delesyon ve duplikasyonlar sırasıyla bebeklik döneminde benign miyoklonik epilepsi, ID ve GGG olan olgularda bildirilmiş (ClinVar no:147568) olmakla birlikte bu genin duplikasyonlarının nöbet/epilepsi ile direkt olarak ilişkilendirildiğine dair literatür verisi bulunmamaktadır (58,65).

Benzer şekilde 10q22.3 bölgesindeki duplikasyonda yer alan üç OMIM geninden (SFTPD, PLAC9, ANXA11); ANXA11 geni birçok farklı dokuda eksprese edilmekte olup; ID ve epilepsili olgularda yapılan CNV çalışmasında bu geni içeren 367 kb'lık heterozigot delesyon "VUS" olarak değerlendirilmiştir (148). Ayrıca bu gen OMIM'de OD kalıtlı "Amyotrofik lateral skleroz 23" ile ilişkilendirilmektedir. Hastamızda ise bu bölgede duplikasyon mevcut olup, bu CNV'nin nöbet/epilepsi ile direkt olarak ilişkilendirildiğine dair literatür verisi bulunmamaktadır. Her iki CNV de hastamızın kliniğine katkıda bulunuyor olabilir ancak bu durumun netleştirilebilmesi için bu alanda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

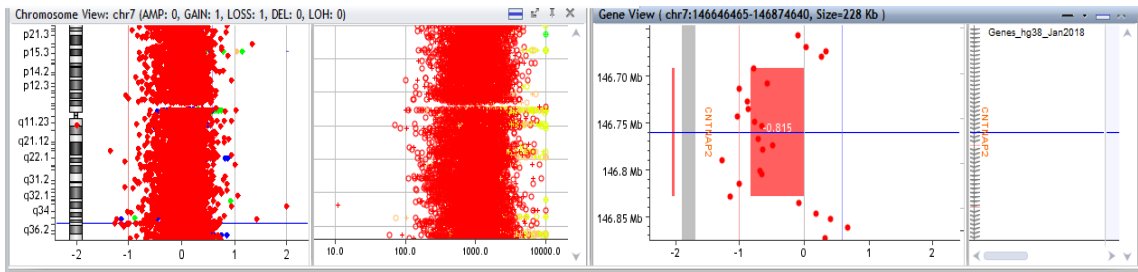
Epilepsi, vücutta sağ uyluk medialinde 2x1 cm'lik hipopigmente alan, hipotiroidi kliniği olan ve transfontanel USG tetkikinde tuber? hamartom? lehine değerlendirilen yapılar izlenen P-8253 no'lu hastada; 16p13.3 bölgesinde TSC2 genini parsiyel olarak içeren yaklaşık 12 kb'lık heterozigot duplikasyon saptanmıştır. Bu duplikasyon bölgesi TSC2 geninin muhtemelen 18-26. ekzon bölgesine tekabül etmektedir. Ancak bu sonuç başka bir yöntemle konfirme edilememiştir.



**Şekil 5.27.P-8253 no'lu hastada TSC2 genindeki parsiyel duplikasyonu gösteren aCGH görüntüsü.**

TSC2 geni, tuberoskleroz tip 2 ile ilişkilendirilmektedir. Tuberoskleroz; cilt lezyonları (hipomelanotik maküller, fasiyal anjiyofibromlar, unguall fibromlar,..vs), beyin anomalileri (subependimal nodüller, kortikal displazi, ..vs), nöbet, ID/gelişim geriliği, böbrek lezyonları (anjiyomiyolipom, kistler, renal hücreli karsinom), kalp anomalileri (rabdomyom, aritmi) ile karakterize bir hastalıktır (149). Tuberosklerozun tanısı, klinik bulgulara dayalı olsa da hastaların yaklaşık %85'inde TSC1 (%31) ve TSC2 (%69) genlerinde mutasyon tespit edilmektedir (150). Kozlowski ve arkadaşlarının 261 hasta üzerinde yaptığı MLPA çalışmasında, hastaların %21'inde (54/261) delesyon/duplikasyon saptanmış olup bu hastaların ikisinde (%0,7; 2/261) TSC2 geninde genomik duplikasyon saptandığı bildirilmiştir (151). Ramandi ve arkadaşlarının 81 hasta üzerinde MLPA yöntemi ile TSC2 geni delesyon/duplikasyon analizi yaptığı çalışmada; hastaların üçünde (%3,8) duplikasyon saptandığı bildirilmiştir (150). ClinVar veritabanında hastamızdaki ile kısmen çakışan yaklaşık 5 kb, 14,4 kb ve 15,3 kb'lık duplikasyonlar "patojenik" olarak bildirilmiştir (ClinVar no: 583975, 437412, 583818) (65). Hastamızın klinik bulguları da dikkate alındığında bu duplikasyon "patojenik" olarak değerlendirilmiştir.

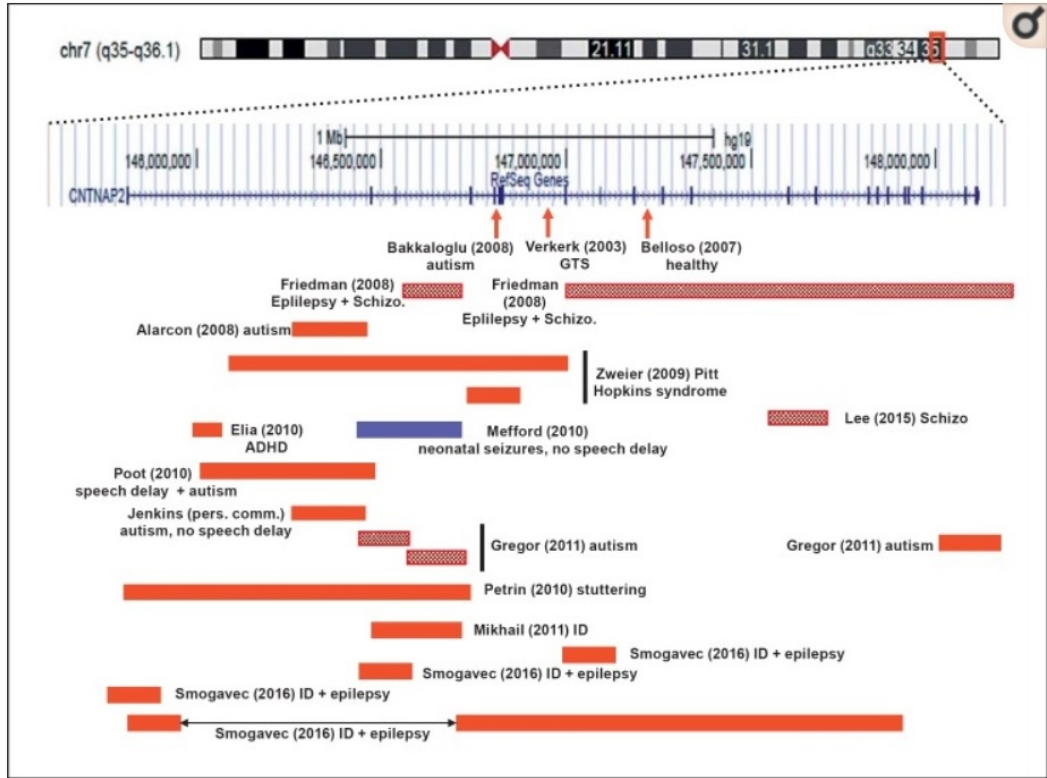
Epilepsi, genel gelişim geriliği, bilateral strabismus, hafif fasiyal dismorfizm fenotipi olan P-8693 no'lu hastada 7q35 kromozomal bölgesinde 136 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölge CNTNAP2 genini parsiyel olarak içermektedir.



**Şekil 5.28.P-8693 no'lu hastada CNTNAP2 genindeki parsiyel delesyonu gösteren aCGH görüntüsü.**

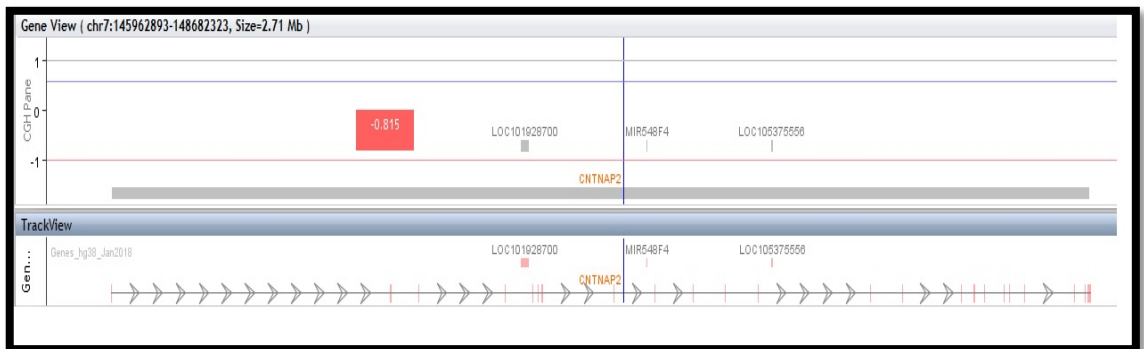
CNTNAP2 (the contactin-associated protein-like 2), 24 ekzondan (ENST00000361727.8) oluşmakta olup yaklaşık 2,3 Mb'lık genomik DNA içermektedir. İnsan genomundaki en büyük genlerden biri olan CNTNAP2, inversiyonlar, translokasyonlar, CNV'ler, ekzonik mutasyonlar ve epigenetik modifikasyonlar dahil olmak üzere yapısal yeniden düzenlemeler için muhtemel bir hedefdir. CNTNAP2 geni OMIM veri tabanında "Otizm duyarlılığı 15" ve otozomal resesif kalıtım paterni sergileyen "Pitt-Hopkins benzeri sendrom" ve "Kortikal displazi –fokal epilepsi sendromu" (OMIM No: 604569) ile ilişkilendirilmiştir (46).

CNTNAP2 geninin kodladığı Caspr2 proteini, hem omuriliğin miyelinli aksonlarında hem de MSS'de ifade edilmektedir. İnsan fetal beyinde CNTNAP2, ağırlıklı olarak ön frontal ve temporal perisilvian bölgelerinde, striatumda ve talamusta eksprese edilmektedir (152,153). CNTNAP2'nin intragenik de novo heterozigot delesyonları; OSB, ID, Pitt Hopkins sendromu, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu hastalarında bildirilmiştir (154).



Kırmızı bölge: Heterozigot de novo delesyonlar  
Mavi bölge : Her iki heterozigot taşıyıcı ebeveynden kalıtılmış homozigot delesyon  
Çizgili bölge : Kalıtılmış heterozigot delesyon  
Oklar : Translokasyon ve inversiyon hastalarında CNTNAP2'deki kırılma noktaları

**Şekil 5.29. CNTNAP2 geninde saptanan intragenik CNV'ler- Poot M. çalışması (154)'dan alınmıştır.**



**Şekil 5.30. P-8693 no'lu hastamızda CNTNAP2 genindeki intragenik delesyonun gen üzerinde lokasyonunu gösteren aCGH görüntüsü.**

Strauss ve arkadaşları; kortikal displazi, fokal epilepsi, rölatif makrosefali ve azalmış derin tendon refleksleri olan Old Order Amiş ocuklarında CNTNAP2 geninde homozigot mutasyon saptadıklarını bildirmişlerdir (155). Friedman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; farklı nöbet tipleri (sekonder jeneralize fokal sağ frontotemporal epilepsi, JTK nöbet, beyin sapı regülasyon bozukluğu) ve şizofreni kliniği olan 3 hastada CNTNAP2 geninde farklı boyutlarda (11 Mb, 1,5 Mb, 220 kb) heterozigot delesyonlar saptanmış olup; ilaveten her üç hastada da CNTNAP2 geninin 24 ekzonunun sekans analizinde, diğer allelede mutasyon olmadığı gösterilmiştir. Strauss ve arkadaşlarının çalışmasının aksine, bu sonuç CNTNAP2 geninin haployetmezliğinin hastalığa yol açtığı şeklinde değerlendirilmiştir. Böylece Old Order Amiş popülasyonu hariç CNTNAP2 geninin epilepsi ile ilişkili olduğu ve bu genin dozaj değişikliğinin karmaşık bir şizofreni, epilepsi ve bilişsel bozulma fenotipine yol açabileceği bildirilmiştir (156). Mikhail ve arkadaşları; öğrenme güçlüğü, konuşma problemleri, velofaringeal yetmezlik ve nonspesifik dismorfik özellikleri olan bir hastada CNTNAP2 geninde okuma çerçevesini bozacağı tahmin edilen 2 ve 3. ekzonları kapsayan yaklaşık 246 kb'lık bir intragenik delesyon bildirmişlerdir (157). Ancak Smogavec ve arkadaşları, otozomal resesif kalıtım paterni ile uyumlu şekilde birbiri ile ilişkisiz 6 aileden 8 epilepsili hastada, CNTNAP2 geninde tümü sağlıklı heterozigot ebeveynlerden kalıtılmış, homozigot mutasyonlar, bileşik heterozigot CNV'ler veya CNV+mutasyon saptamışlardır. Hastalarda epilepsi dışında ID (6/8'inde ağır), konuşma gelişiminde regresyon (5/8) ve davranış anomalileri (7/8) tespit etmişlerdir (158). Her ne kadar literatürde CNTNAP2 geninde heterozigot delesyon saptanan bireylerde epilepsi fenotipi gözlendiği bildirilmiş olsa da bunun aksine yayınlar da mevcuttur. Ancak CNTNAP2 geninin epilepsi fenotipine katkısı göz önüne alındığında bu değişim muhtemel patojenik olarak değerlendirilmiştir. Yine de hastamızdaki CNTNAP2 geninin diğer allelinin olası nokta mutasyonlar açısından sekans analizi ile değerlendirilmesi gerekmekte olup CNTNAP2 geninin haployetmezliği ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.



Epilepsi, nöromotor gerilik, hafif fasiyal dismorfizm bulguları olan P-8861 no'lu hastada 15q13.3 bölgesinde yaklaşık 470 kb'lık duplikasyon saptanmıştır. Bu bölgede iki adet OMIM (OTUD7A, CHRNA7) ve bir adet OMIM dışı gen (LOC100288637) yer almaktadır. CHRNA7( $\alpha$ 7 nöronal nikotinik reseptör) geni, biliş ve bağışıklık sisteminde çok önemli rolleri olan bir gen olup hem beyinde hem de periferde yaygın olarak eksprese edilmektedir. Evrim sırasındaki gen duplikasyonu, ilkel CHRNA7 geninden nikotinik reseptör gen ailesinin oluşumuyla sonuçlanmış, ek olarak CHRNA7'nin nispeten kısmi duplikasyonu olan yeni bir CHRFA7A geni meydana gelmesini sağlamıştır (159).  $\alpha$ 7 nöronal nikotinik asetilkolin reseptörü, nikotinik asetilkolin reseptör ailesinin bir üyesidir. Bu reseptörler, asetilkolin ile endojen olarak uyarılan ligand kapılı iyon kanallarıdır (159).

Yaklaşık 1,5 Mb'lık bir segmentin kaybı ile ortaya çıkan 15q13.3 mikrodelsiyon sendromu, ilk olarak MR, epilepsi, değişken fasiyal dismorfizm ve parmak anomalileri olan olgularda tanımlanmıştır. Bu hastalarda özellikle bu bölgede yer alan CHRNA7 geni, epilepsi için aday gen olarak bildirilmiştir. Buna karşın aynı çalışmada, BP3–BP4 ve BP4–BP5'in duplikasyonlarının muhtemelen ya benign CNV ya da daha hafif fenotipik anormallikler ile ilişkili olduğu, ancak bunun netleştirilebilmesi için ek çalışmalara gerekli duyulduğu bildirilmiştir (160). Daha sonra Helbig ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; CHRNA7 genini içeren 15q13.3 mikrodelsiyonu, 3699 kontrol olgusunda saptanmazken 1223 İJE hastasının 12'sinde (~%1) tespit edilmiş olup delesyonlu bireylerin çoğunda daha önceden bu gen ile ilişkilendirilmiş ID, otizm, şizofreni gibi bulguların olmadığı bildirilmiştir. Ancak aynı çalışmada 1223 vakanın 12'sinde (~%1) ve 3699 kontrolün 23'ünde (~%0.6) CHRNA7 genini içeren duplikasyonlar saptanmıştır. Bu nedenle çalışma sonuçlarına göre; sadece 15q13.3 duplikasyonlarının değil, sadece delesyonlarının İJE için önemli bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır (8).

CHRNA7 geninin mikrodelsyonları, epilepsi ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiş olmasına rağmen, Szafranski ve arkadaşlarının 15q13.3 mikroduplikasyonları üzerine yaptığı çalışmada; 11 indeks olgudan sadece birinde nöbet saptanmış olup, dahası, CHRNA7 içeren mikroduplikasyonlu 10 aile üyesinden hiçbirinde nöbet öyküsü bulunmadığı bildirilmiştir. Sonuç olarak CHRNA7 genini içeren küçük mikroduplikasyonların gelişimsel gecikme / zihinsel gerilik, musküler hipotoni ve çeşitli nöropsikiyatrik bozukluklarla ilişkili olabileceğini ancak bu mikroduplikasyon ve bununla potansiyel olarak ilişkili olan CHRNA7 tarafından kodlanan nikotinik asetilkolin reseptörü  $\alpha 7$  alt ünitesinin dozajının artması klinik önemi belirsiz olarak değerlendirilmiştir (161). Stewart ve arkadaşlarının 235 şizofreni+epilepsi, 80 bipolar bozukluk+epilepsi ve 191 kontrol olgusunda yaptığı çalışmada; CHRNA7 geninde şizofreni grubunda iki (142 kb; 164 kb), bipolar bozukluk ve kontrol (694 kb) grubunda ise birer duplikasyon bildirilmiş ancak bu duplikasyonun fenotipik önemini belirsiz olduğu vurgulanmıştır (162). Nöronal migrasyon bozukluğu, otizm ve nöbet bulgusu olan bir erkek çocukta 15q13.3 bölgesinde yaklaşık 0,5 Mb'lık duplikasyon bildirilmiştir (163). Diğer çalışmalarla benzer şekilde Gillentine ve arkadaşları mikroarray analizi ile CHRNA7 genini içeren duplikasyonlu 18 olguda; gelişimsel gecikme/ID, otizm spektrum bozukluğu ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu sıklığının yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Olguların, bildirilmiş 15q13.3 delesyonlu hastalardakilerle kısmen örtüşen fenotipi olmasına rağmen, ciddi bilişsel bozukluk ve epilepsi fenotipinin duplikasyonlu olgularda daha düşük bir prevalansı olduğu saptanmıştır. Bu durum, bu bölge duplikasyonlarının daha hafif bir fenotipe yol açabileceği şeklinde yorumlanmıştır (164). Mevcut veriler doğrultusunda her ne kadar CHRNA7 geninin içeren duplikasyonların epilepsi ile ilişkisi çelişkili olsa da hastamızın nöromotor gerilik, konuşma geriliği, hafif fasiyal dismorfizm bulgularının olması ve yapılan aile çalışmasında bu değişimin sağlıklı ebeveynlerinde saptanmaması nedeni ile bu değişim muhtemel patojenik olarak değerlendirilmiştir.

P-8964 no'lu hastada 16p12.2 bölgesinde yaklaşık 262 kb'lık heterozigot delesyon saptanmıştır. Bu bölge bir adet morbid OMIM geni (OTOA), 2 adet OMIM geni (METTL9, IGSF6) ve iki adet OMIM dışı gen (LOC101927814, RRN3P1) içermektedir. OTOA geni OMIM veri tabanında otozomal resesif kalıtmı ile ilişkilendirilmiştir (OMIM no: 607038) (46). Hastamızla benzer gen bölgelerini içeren heterozigot delesyonlar, ClinVar veri tabanında OSB, ID, çocukluk gelişim basamaklarında gerilik, konuşma geriliği gibi bulguları olan hastalarda büyük çoğunlukla patojenik olarak bildirilmiş olup, bu bildirimlerde epilepsi fenotipi sergileyen olgular da mevcuttur (ClinVar no:689334) (65).

16p12.2 kromozom bandı tekrarlayan kromozomal yeniden düzenlemeler ve rekombinasyon için ortam sağlayan üç büyük segmental duplikasyon içerir: BP1, BP2 ve BP3. 16p12.2 mikrodelsiyon sendromu, değişken klinik bulgularla ilişkili BP2 ve BP3 arasında oluşan rekürren delesyondur. Tassano ve arkadaşları; hastamızla benzer gen bölgelerini içeren kısa boy, hafif disleksi, hafif fasiyal dismorfizm, pektus ekskavatum, kifoz ve annesinde doğuştan bilateral sağırılık ve ağır konuşma bozukluğu öyküsü olan bir çocukta BP1 ile BP2 arasında heterozigot 16p12.2 mikrodelsiyonu tanımlamışlardır. Olgunun annesinin bu delesyonu homozigot olarak taşıdığı bildirilmiştir. Ancak bildirilen olguda mental retardasyon kliniği bulunmadığından bu delesyonun mental retardasyon için bağımsız bir risk faktörü olamayacağı vurgulanmıştır ve bu çalışma, bu bölgeyi nonpatojenik olarak tanımlayan Antonacci ve arkadaşlarının iddiasına karşı çıkmaktadır (165,166). Hastamızın epilepsi, MR, fasiyal dismorfizm, konjenital kalp hastalığı bulguları ve mevcut veriler birlikte değerlendirildiğinde hastamızdaki değişim VUS olarak değerlendirilmiştir. Hastamıza yapılan epilepsi NGS paneli testinde ALG13 geninde c.2278G>T varyantı heterozigot saptanmış olup bu varyant da muhtemel benign-VUS olarak değerlendirilmiştir.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Epilepsi toplumda sık görülen bir nörolojik hastalıktır. Epilepsi etiyojisinde birçok faktör rol oynamakla birlikte genetik nedenler bu faktörler içerisinde önemini korumaktadır.

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik polikliniğimize başvurup tanısai amaçlı aCGH çalışılmış 80 epileptik olguya ait retrospektif olarak elde edilen sosyodemografik, klinik, laboratuvar bulguların ve bu olguların güncel literatür bilgileri ışığında yeniden analiz edilen aCGH ham verilerinin değerlendirildiği araştırmamızda; 133'ü (%59,7) delesyon ve 90'ı (%40,3) duplikasyon olmak üzere toplam 223 CNV saptanmıştır. Olguların 75'inde (%93,8) en az bir benign veya muhtemel benign CNV saptanmış olup toplamda 191 benign veya muhtemel benign CNV tespit edilmiştir.

Çalışmamızda 80 epilepsi hastasının 14'ünde (%17,5) epilepsi ile ilişkili patojenik/muhtemel patojenik CNV tespit edilmiş olup bu oran bu alandaki çalışmaların çoğundan yüksek bir orandır.

MR/GGG fenotipi olan olgularımızın %31,1'inde epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanırken, MR/GGG fenotipi olmayanlarda bu oran %17,9'dur. Ek olarak MR/GGG durumu bilinmeyen 7 hastanın 5'inde (%71,4) epilepsi ile ilişkili bir CNV saptanmış olup bu hastaların 6'sının başvuru sırasında bir yaşından küçük olması aslında epilepsi hastalarında olası MR/GGG fenotipi saptanmadan önce epilepsi etiyojisine yönelik yapılan aCGH'nin erken tanı açısından verimini göstermektedir.

Ayrıca 14 ayrı kromozomal bölgede 16 adet epilepsi ile ilişkili olabilecek VUS saptanmıştır. Büyük oranda beyinde eksprese edilen ve otizm, şizofreni,

GJE hastalarında bildirilmiş olan MACROD2 geni; akson rehberliği, miyelinasyon, sinaps oluşumu ve fonksiyonu gibi MSS'nin birkaç fonksiyonun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan ve duplikasyonları ataksi, nöbet, serebral ve serebellar atrofi fenotipi olgularda bildirilmiş olan ADGRB3 (BAI3) geni; özellikle nöral sistemde eksprese olan ve SOX9 geni ile yakından ilişkili SOX8 geni; hipokampal ve kortikal nöronlarda NMDA iyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR'ler) ile birlikte lokalize proteini kodlayan ve WBS'li olgularda ve Wang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada potansiyel epilepsi ile ilişkili gen olarak tanımlanan HIP1 geni; otozomal resesif geçişli genç yaş Parkinson hastalığının genetik nedeni olarak bildirilen ancak son dönemdeki bazı çalışmalarda epilepsi etiyojisinde aday genlerden biri olarak gösterilen PARK2(PRKN) geni; MSS'de yoğun olarak eksprese olan ve çalışmalarda nöronal sağkalım ve nörobiyolojik fonksiyonlar için gerekli bir nörotrofik faktör olarak işlev gördüğü bildirilen TFAA2 (FAM19A2) geni potansiyel olarak epilepsi ile ilişkili gen olarak değerlendirilmiştir.

Ayrıca hücre sinyalizasyon sürecinde önemli bir rol oynayan, ekspresyon artışı ile tümör hücrelerinin proliferasyon, invazyon, metastaz ve apoptozisini modüle eden multi-domain bir iskelet proteini olan "Neural Precursor Cell Expressed, Developmentally Downregulated 9" proteinini kodlayan ve bir hayvan çalışmasında nikotinle indüklenen nöbet sonrası ekspresyonunun arttığı gösterilen NEDD9 geni; beyin dahil birçok dokuda eksprese edilen RASAL2 geni; büyük oranda MSS'de ifade edilen ve çalışmalarda MSS gelişimine dahil olduğunu gösterilen TNR geni de epilepsi açısından daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulan genler olarak yorumlanmıştır.

Bunlara ek olarak mikrodelsyonları epilepsi ile güçlü şekilde ilişkilendirilen 15q13.3 bölgesindeki duplikasyonların da epilepsi fenotipi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür.

Genetik tanı yöntemlerindeki gelişmeler ile epilepsi ile ilişkili birçok kromozomal lokus veya gen keşfedilmeye devam etmektedir. Özellikle gene özgü tedavi seçeneklerinin ortaya çıkması ile genetik araştırmalar hastalar için umut verici olmaktadır. Çalışmamız, bu gen bölgelerinin epilepsi fenotipine katkısının belirlenebilmesi için bu alandaki yeni çalışmalara yol gösterecektir.



## 7.KAYNAKLAR

1. Hauser WA, Annegers JF, Rocca WA. Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. *Mayo Clin Proc.* 1996;71(6):576-586.
2. Mefford HC, Muhle H, Ostertag P, von Spiczak S, Buysse K, Baker C, Franke A, Malafosse A, Genton P, Thomas P, Gurnett CA, Schreiber S, Bassuk AG, Guipponi M, Stephani U, Helbig I, Eichler EE. Genome-wide copy number variation in epilepsy: novel susceptibility loci in idiopathic generalized and focal epilepsies. *PLoS Genet.* 2010;6(5):e1000962.
3. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshe SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia.* 2017;58(4):512-521.
4. Veliöğlu S. Epilepsi'de Sınıflamalar. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics.* 2017;10(1):24-29.
5. Şahin E, Bebek N. Epilepside genetik. *Turkiye Klinikleri J Neurol-Special Topics.* 2017;10(1):11-16.
6. Annegers JF, Hauser WA, Anderson VE, Kurland LT. The Risks of Seizure Disorders among Relatives of Patients with Childhood Onset Epilepsy. *Neurology.* 1982;32(2):174-179.
7. Olson H, Shen Y, Avallone J, Sheidley BR, Pinsky R, Bergin AM, Berry GT, Duffy FH, Eksioğlu Y, Harris DJ, Hisama FM, Ho E, Irons M, Jacobsen CM, James P, Kothare S, Khwaja O, Lipton J, Loddenkemper T, Markowitz J, Maski K, Megerian JT, Neilan E, Raffalli PC, Robbins M, Roberts A, Roe E, Rollins C, Sahin M, Sarco D, Schonwald A, Smith SE, Soul J, Stoler JM, Takeoka M, Tan WH, Torres AR, Tsai P, Urion DK, Weissman L, Wolff R, Wu BL, Miller DT, Poduri A. Copy number variation plays an important role in clinical epilepsy. *Ann Neurol.* 2014;75(6):943-958.
8. Helbig I, Mefford HC, Sharp AJ, Guipponi M, Fichera M, Franke A, Muhle H, de Kovel C, Baker C, von Spiczak S, Kron KL, Steinich I, Kleefuss-Lie AA, Leu C, Gaus V, Schmitz B, Klein KM, Reif PS, Rosenow F, Weber Y, Lerche H, Zimprich F, Urak L, Fuchs K, Feucht M, Genton P, Thomas P, Visscher F, de Haan GJ, Moller RS, Hjalgrim H, Luciano D, Wittig M, Nothnagel M, Elger CE, Nurnberg P, Romano C, Malafosse A, Koeleman BP, Lindhout D, Stephani U, Schreiber S, Eichler EE, Sander T. 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genet.* 2009;41(2):160-162.
9. de Kovel CG, Trucks H, Helbig I, Mefford HC, Baker C, Leu C, Kluck C, Muhle H, von Spiczak S, Ostertag P, Obermeier T, Kleefuss-Lie AA, Hallmann K, Steffens M, Gaus V, Klein KM, Hamer HM, Rosenow F, Brilstra EH, Trenite DK, Swinkels ME, Weber YG, Unterberger I, Zimprich F, Urak L, Feucht M, Fuchs K, Moller RS, Hjalgrim H, De Jonghe P, Suls A, Ruckert IM, Wichmann HE, Franke A, Schreiber S, Nurnberg P, Elger CE, Lerche H, Stephani U, Koeleman BP, Lindhout D, Eichler EE, Sander T. Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies. *Brain.* 2010;133(Pt 1):23-32.

10. Yeni NS, Gürses C. Epilepsi Çalışma Grubu Tanı ve Tedavi Rehberi 2015. In: Akpınar ÇK, Ataklı D, Veliöğlu S, eds. Türk Nöroloji Derneği 2015:9-10.
11. Chen T, Giri M, Xia Z, Subedi YN, Li Y. Genetic and epigenetic mechanisms of epilepsy: a review. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2017;13:1841-1859.
12. Bambal G, Çakıl D, Ekici F. Epilepsi Oluşum Mekanizmaları. *Konuralp Tıp Dergisi*. 2011;3(3):42-45.
13. Fisher RS, Acevedo C, Arzimanoglou A, Bogacz A, Cross JH, Elger CE, Engel J, Jr., Forsgren L, French JA, Glynn M, Hesdorffer DC, Lee BI, Mathern GW, Moshe SL, Perucca E, Scheffer IE, Tomson T, Watanabe M, Wiebe S. ILAE official report: a practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*. 2014;55(4):475-482.
14. Speed D, O'Brien TJ, Palotie A, Shkura K, Marson AG, Balding DJ, Johnson MR. Describing the genetic architecture of epilepsy through heritability analysis. *Brain*. 2014;137(Pt 10):2680-2689.
15. Kim LG, Johnson TL, Marson AG, Chadwick DW. Prediction of risk of seizure recurrence after a single seizure and early epilepsy: further results from the MESS trial. *The Lancet Neurology*. 2006;5(4):317-322.
16. Shinnar S, Berg AT, Moshé SL, Petix M, Maytal J, Kang H, Goldensohn ES, Hauser WA. Risk of seizure recurrence following a first unprovoked seizure in childhood: a prospective study. *Pediatrics*. 1990;85(6):1076-1085.
17. Stroink H, Brouwer OF, Arts WF, Geerts AT, Peters AC, van Donselaar CA. The first unprovoked, untreated seizure in childhood: a hospital based study of the accuracy of the diagnosis, rate of recurrence, and long term outcome after recurrence. Dutch study of epilepsy in childhood. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;64(5):595-600.
18. Hauser WA, Beghi E. First seizure definitions and worldwide incidence and mortality. *Epilepsia*. 2008;49 Suppl 1:8-12.
19. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, Patten SB, Kwon CS, Dykeman J, Pringsheim T, Lorenzetti DL, Jette N. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*. 2017;88(3):296-303.
20. Perez-Palma E, Helbig I, Klein KM, Anttila V, Horn H, Reinthaler EM, Gormley P, Ganna A, Byrnes A, Pernhorst K, Toliat MR, Saarentaus E, Howrigan DP, Hoffman P, Miquel JF, De Ferrari GV, Nürnberg P, Lerche H, Zimprich F, Neubauer BA, Becker AJ, Rosenow F, Perucca E, Zara F, Weber YG, Lal D. Heterogeneous contribution of microdeletions in the development of common generalised and focal epilepsies. *J Med Genet*. 2017;54(9):598-606.
21. Banerjee PN, Filippi D, Allen Hauser W. The descriptive epidemiology of epilepsy-a review. *Epilepsy Res*. 2009;85(1):31-45.
22. Bharucha NE, Bharucha EP, Bharucha AE, Bhise AV, Schoenberg BS. Prevalence of Epilepsy in the Parsi Community of Bombay. *Epilepsia*. 1988;29(2):111-115.
23. World Health Organization (WHO)-Dünya Sağlık Örgütü. verileri  
Erişim :[<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>]  
Erişim tarihi: 29.06.2019



24. Thurman DJ, Logroscino G, Beghi E, Hauser WA, Hesdorffer DC, Newton CR, Scorza FA, Sander JW, Tomson T, Epidemiology Commission of the International League Against E. The burden of premature mortality of epilepsy in high-income countries: A systematic review from the Mortality Task Force of the International League Against Epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58(1):17-26.
25. May TW, Israel CW. [Sudden unexpected death in epilepsy (SUDEP) : Epidemiology, cardiac and other risk factors]. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol*. 2019;30(3):274-286.
26. Einarsdottir AB, Sveinsson O, Olafsson E. Sudden unexpected death in epilepsy. A nationwide population-based study. *Epilepsia*. 2019;60(11):2174-2181.
27. Devinsky O, Vezzani A, O'Brien TJ, Jette N, Scheffer IE, de Curtis M, Perucca P. Epilepsy. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4:18024.
28. West S, Nevitt SJ, Cotton J, Gandhi S, Weston J, Sudan A, Ramirez R, Newton R. Surgery for epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;6:CD010541.
29. Scheffer IE, Heron SE, Regan BM, Mandelstam S, Crompton DE, Hodgson BL, Licchetta L, Provini F, Bisulli F, Vadlamudi L, Gecz J, Connelly A, Tinuper P, Ricos MG, Berkovic SF, Dibbens LM. Mutations in mammalian target of rapamycin regulator DEPDC5 cause focal epilepsy with brain malformations. *Ann Neurol*. 2014;75(5):782-787.
30. Li S, Jin Z, Koirala S, Bu L, Xu L, Hynes RO, Walsh CA, Corfas G, Piao X. GPR56 regulates pial basement membrane integrity and cortical lamination. *J Neurosci*. 2008;28(22):5817-5826.
31. Gaillard WD, Chiron C, Cross JH, Harvey AS, Kuzniecky R, Hertz-Pannier L, Vezina LG, Ilae CfNSfP. Guidelines for imaging infants and children with recent-onset epilepsy. *Epilepsia*. 2009;50(9):2147-2153.
32. Vezzani A, Fujinami RS, White HS, Preux PM, Blumcke I, Sander JW, Loscher W. Infections, inflammation and epilepsy. *Acta Neuropathol*. 2016;131(2):211-234.
33. Britton J. Autoimmune epilepsy. *Handb Clin Neurol*. 2016;133:219-245.
34. Rett A, Treubel R. Neugeborenenkrampfe im Rahmen einer epileptisch belasteten Familie. *Wien Klin Wochenschr* 1964; 76:609-613.
35. Crompton DE, Scheffer IE, Taylor I, Cook MJ, McKelvie PA, Vears DF, Lawrence KM, McMahon JM, Grinton BE, McIntosh AM, Berkovic SF. Familial mesial temporal lobe epilepsy: a benign epilepsy syndrome showing complex inheritance. *Brain*. 2010;133(11):3221-3231.
36. Helbig I, Scheffer IE, Mulley JC, Berkovic SF. Navigating the channels and beyond: unravelling the genetics of the epilepsies. *The Lancet Neurology*. 2008;7(3):231-245.
37. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL. Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurol*. 1998;43(4):435-445.
38. Vadlamudi L, Milne RL, Lawrence K, Heron SE, Eckhaus J, Keay D, Connellan M, Torn-Broers Y, Howell RA, Mulley JC, Scheffer IE, Dibbens LM, Hopper JL, Berkovic SF. Genetics of epilepsy: The testimony of twins in the molecular era. *Neurology*. 2014;83(12):1042-1048.

39. Wang J, Lin ZJ, Liu L, Xu HQ, Shi YW, Yi YH, He N, Liao WP. Epilepsy-associated genes. *Seizure*. 2017;44:11-20.
40. Ellis CA, Petrovski S, Berkovic SF. Epilepsy genetics: clinical impacts and biological insights. *The Lancet Neurology*. 2019.
41. Wang J, Gotway G, Pascual JM, Park JY. Diagnostic yield of clinical next-generation sequencing panels for epilepsy. *JAMA Neurol*. 2014;71(5):650-651.
42. Lemke JR, Riesch E, Scheurenbrand T, Schubach M, Wilhelm C, Steiner I, Hansen J, Courage C, Gallati S, Burki S, Strozzi S, Simonetti BG, Grunt S, Steinlin M, Alber M, Wolff M, Klopstock T, Prott EC, Lorenz R, Spaich C, Rona S, Lakshminarasimhan M, Kroll J, Dorn T, Kramer G, Synofzik M, Becker F, Weber YG, Lerche H, Bohm D, Biskup S. Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*. 2012;53(8):1387-1398.
43. Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D, Hewson S, Callen D, Donner EJ, Hahn CD, Kannu P, Kobayashi J, Minassian BA, Moharir M, Siriwardena K, Weiss SK, Weksberg R, Snead OC, 3rd. Diagnostic yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia*. 2015;56(5):707-716.
44. McTague A, Howell KB, Cross JH, Kurian MA, Scheffer IE. The genetic landscape of the epileptic encephalopathies of infancy and childhood. *The Lancet Neurology*. 2016;15(3):304-316.
45. Ishiura H, Doi K, Mitsui J, Yoshimura J, Matsukawa MK, Fujiyama A, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Suzuki Y, Sugano S, Qu W, Ichikawa K, Yurino H, Higasa K, Shibata S, Mitsue A, Tanaka M, Ichikawa Y, Takahashi Y, Date H, Matsukawa T, Kanda J, Nakamoto FK, Higashihara M, Abe K, Koike R, Sasagawa M, Kuroha Y, Hasegawa N, Kaneshawa N, Kondo T, Hitomi T, Tada M, Takano H, Saito Y, Sanpei K, Onodera O, Nishizawa M, Nakamura M, Yasuda T, Sakiyama Y, Otsuka M, Ueki A, Kaida KI, Shimizu J, Hanajima R, Hayashi T, Terao Y, Inomata-Terada S, Hamada M, Shirota Y, Kubota A, Ugawa Y, Koh K, Takiyama Y, Ohsawa-Yoshida N, Ishiura S, Yamasaki R, Tamaoka A, Akiyama H, Otsuki T, Sano A, Ikeda A, Goto J, Morishita S, Tsuji S. Expansions of intronic TTTCA and TTTTA repeats in benign adult familial myoclonic epilepsy. *Nat Genet*. 2018;50(4):581-590.
46. Online Mendelian Inheritance in Man®(OMIM) An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders Updated November 11, 2019. Erişim:[ <https://www.omim.org>] Erişim tarihi:01.12.2019.
47. Lodato MA, Woodworth MB, Lee S, Evrony GD, Mehta BK, Karger A, Lee S, Chittenden TW, D'Gama AM, Cai X, Luquette LJ, Lee E, Park PJ, Walsh CA. Somatic mutation in single human neurons tracks developmental and transcriptional history. *Science*. 2015;350(6256):94-98.
48. Depienne C, Trouillard O, Gourfinkel-An I, Saint-Martin C, Bouteiller D, Graber D, Barthez-Carpentier MA, Gautier A, Villeneuve N, Dravet C, Livet MO, Rivier-Ringenbach C, Adam C, Dupont S, Baulac S, Heron D, Nabbout R, Leguern E. Mechanisms for variable expressivity of inherited

- SCN1A mutations causing Dravet syndrome. *J Med Genet.* 2010;47(6):404-410.
49. Pang AW, MacDonald JR, Pinto D, Wei J, Rafiq MA, Conrad DF, Park H, Hurler ME, Lee C, Venter JC, Kirkness EF, Levy S, Feuk L, Scherer SW. Towards a comprehensive structural variation map of an individual human genome. *Genome Biol.* 2010;11(5):R52.
  50. Semerci Gündüz NS, Albuz B. Mikrodelesyon ve Mikroduplikasyon Sendromları. In: Acar A, ed. Türkiye Klinikleri Sitogenetik. 1 ed2018:39-46.
  51. Weise A, Mrasek K, Klein E, Mulatinho M, Llerena JC, Jr., Hardekopf D, Pekova S, Bhatt S, Kosyakova N, Liehr T. Microdeletion and microduplication syndromes. *J Histochem Cytochem.* 2012;60(5):346-358.
  52. Vermeesch JR, Brady PD, Sanlaville D, Kok K, Hastings RJ. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in routine diagnostics. *Hum Mutat.* 2012;33(6):906-915.
  53. Nowakowska B. Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. *J Appl Genet.* 2017;58(4):449-457.
  54. Wou K, Levy B, Wapner RJ. Chromosomal Microarrays for the Prenatal Detection of Microdeletions and Microduplications. *Clin Lab Med.* 2016;36(2):261-276.
  55. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;86(5):749-764.
  56. Coppola A, Cellini E, Stamberger H, Saarentaus E, Cetica V, Lal D, Djemie T, Bartnik-Glaska M, Ceulemans B, Helen Cross J, Deconinck T, Masi S, Dorn T, Guerrini R, Hoffman-Zacharska D, Kooy F, Lagae L, Lench N, Lemke JR, Lucenteforte E, Madia F, Mefford HC, Morrogh D, Nuernberg P, Palotie A, Schoonjans AS, Striano P, Szczepanik E, Tostevin A, Vermeesch JR, Van Esch H, Van Paesschen W, Waters JJ, Weckhuysen S, Zara F, De Jonghe P, Sisodiya SM, Marini C, Euro E-RESC, Epi CNVC. Diagnostic implications of genetic copy number variation in epilepsy plus. *Epilepsia.* 2019;60(4):689-706.
  57. Helbig I, Swinkels ME, Aten E, Caliebe A, van 't Slot R, Boor R, von Spiczak S, Muhle H, Jahn JA, van Binsbergen E, van Nieuwenhuizen O, Jansen FE, Braun KP, de Haan GJ, Tommerup N, Stephani U, Hjalgrim H, Poot M, Lindhout D, Brilstra EH, Moller RS, Koeleman BP. Structural genomic variation in childhood epilepsies with complex phenotypes. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(7):896-901.
  58. Mullen SA, Carvill GL, Bellows S, Bayly MA, Trucks H, Lal D, Sander T, Berkovic SF, Dibbens LM, Scheffer IE, Mefford HC. Copy number variants

- are frequent in genetic generalized epilepsy with intellectual disability. *Neurology*. 2013;81(17):1507-1514.
59. Mefford HC, Yendle SC, Hsu C, Cook J, Geraghty E, McMahon JM, Eeg-Olofsson O, Sadleir LG, Gill D, Ben-Zeev B, Lerman-Sagie T, Mackay M, Freeman JL, Andermann E, Pelakanos JT, Andrews I, Wallace G, Eichler EE, Berkovic SF, Scheffer IE. Rare copy number variants are an important cause of epileptic encephalopathies. *Ann Neurol*. 2011;70(6):974-985.
  60. Lal D, Ruppert AK, Trucks H, Schulz H, de Kovel CG, Kasteleijn-Nolst Trenite D, Sonsma AC, Koeleman BP, Lindhout D, Weber YG, Lerche H, Kapser C, Schankin CJ, Kunz WS, Surges R, Elger CE, Gaus V, Schmitz B, Helbig I, Muhle H, Stephani U, Klein KM, Rosenow F, Neubauer BA, Reinthaler EM, Zimprich F, Feucht M, Moller RS, Hjalgrim H, De Jonghe P, Suls A, Lieb W, Franke A, Strauch K, Gieger C, Schurmann C, Schminke U, Nurnberg P, Consortium E, Sander T. Burden analysis of rare microdeletions suggests a strong impact of neurodevelopmental genes in genetic generalised epilepsies. *PLoS Genet*. 2015;11(5):e1005226.
  61. Borlot F, Regan BM, Bassett AS, Stavropoulos DJ, Andrade DM. Prevalence of Pathogenic Copy Number Variation in Adults With Pediatric-Onset Epilepsy and Intellectual Disability. *JAMA Neurol*. 2017;74(11):1301-1311.
  62. Dannenberg M, Mengoni SE, Gates B, Durand MA. Self-management interventions for epilepsy in people with intellectual disabilities: A scoping review. *Seizure*. 2016;41:16-25.
  63. MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(Database issue):D986-992.
  64. The Database of Genomic Variants(DGV).(2019).  
Erişim: [<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>]  
Erişim tarihi:15.09.2019
  65. ClinVar Database.(2019).  
Erişim:[<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>]  
Erişim tarihi:15.09.2019
  66. DECIPHER Database (Database of genomic variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources).(2019)  
Erişim: [<https://decipher.sanger.ac.uk/>]  
Erişim tarihi:15.09.2019
  67. Tamijani SM, Karimi B, Amini E, Golpich M, Dargahi L, Ali RA, Ibrahim NM, Mohamed Z, Ghasemi R, Ahmadiani A. Thyroid hormones: Possible roles in epilepsy pathology. *Seizure*. 2015;31:155-164.
  68. O'Donnell-Luria AH, Pais LS, Faundes V, Wood JC, Sveden A, Luria V, Abou Jamra R, Accogli A, Amburgey K, Anderlid BM, Azzarello-Burri S, Basinger AA, Bianchini C, Bird LM, Buchert R, Carre W, Ceulemans S, Charles P, Cox H, Culliton L, Curro A, Deciphering Developmental Disorders S, Demurger F, Dowling JJ, Duban-Bedu B, Dubourg C, Eiset SE, Escobar LF, Ferrarini A, Haack TB, Hashim M, Heide S, Helbig KL, Helbig I, Heredia R, Heron D, Isidor B, Jonasson AR, Joset P, Keren B, Kok F, Kroes HY, Lavillaureix A, Lu X, Maas SM, Maegawa GHB, Marcelis

- CLM, Mark PR, Masruha MR, McLaughlin HM, McWalter K, Melchinger EU, Mercimek-Andrews S, Nava C, Pendziwiat M, Person R, Ramelli GP, Ramos LLP, Rauch A, Reavey C, Renieri A, Riess A, Sanchez-Valle A, Sattar S, Saunders C, Schwarz N, Smol T, Srouf M, Steindl K, Syrbe S, Taylor JC, Telegrafi A, Thiffault I, Trauner DA, van der Linden H, Jr., van Koningsbruggen S, Villard L, Vogel I, Vogt J, Weber YG, Wentzensen IM, Widjaja E, Zak J, Baxter S, Banka S, Rodan LH. Heterozygous Variants in KMT2E Cause a Spectrum of Neurodevelopmental Disorders and Epilepsy. *Am J Hum Genet.* 2019;104(6):1210-1222.
69. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Okada T, Uno Y, Morikawa M, Ishizuka K, Shiino T, Kimura H, Arioka Y, Yoshimi A, Takasaki Y, Yu Y, Nakamura Y, Yamamoto M, Iidaka T, Iritani S, Inada T, Ogawa N, Shishido E, Torii Y, Kawano N, Omura Y, Yoshikawa T, Uchiyama T, Yamamoto T, Ikeda M, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Someya T, Watanabe Y, Egawa J, Nunokawa A, Itokawa M, Arai M, Miyashita M, Kobori A, Suzuki M, Takahashi T, Usami M, Kodaira M, Watanabe K, Sasaki T, Kuwabara H, Tochigi M, Nishimura F, Yamasue H, Eriguchi Y, Benner S, Kojima M, Yassin W, Munesue T, Yokoyama S, Kimura R, Funabiki Y, Kosaka H, Ishitobi M, Ohmori T, Numata S, Yoshikawa T, Toyota T, Yamakawa K, Suzuki T, Inoue Y, Nakaoka K, Goto YI, Inagaki M, Hashimoto N, Kusumi I, Son S, Murai T, Ikegame T, Okada N, Kasai K, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki N. Comparative Analyses of Copy-Number Variation in Autism Spectrum Disorder and Schizophrenia Reveal Etiological Overlap and Biological Insights. *Cell Rep.* 2018;24(11):2838-2856.
70. Jones RM, Cadby G, Blangero J, Abraham LJ, Whitehouse AJO, Moses EK. MACROD2 gene associated with autistic-like traits in a general population sample. *Psychiatr Genet.* 2014;24(6):241-248.
71. The Human Protein Atlas.(2019).  
Erişim:[<https://www.proteinatlas.org/>]  
Erişim tarihi:15.09.2019
72. Italiano D, Striano P, Russo E, Leo A, Spina E, Zara F, Striano S, Gambardella A, Labate A, Gasparini S, Lamberti M, De Sarro G, Aguglia U, Ferlazzo E. Genetics of reflex seizures and epilepsies in humans and animals. *Epilepsy Res.* 2016;121:47-54.
73. Gururaj G, Satishchandra P. Correlates of hot water epilepsy in rural south India: a descriptive study. *Neuroepidemiology.* 1992;11(4-6):173-179.
74. Ratnapriya R, Satishchandra P, Dilip S, Gadre G, Anand A. Familial autosomal dominant reflex epilepsy triggered by hot water maps to 4q24-q28. *Hum Genet.* 2009;126(5):677-683.
75. Ratnapriya R, Satishchandra P, Kumar SD, Gadre G, Reddy R, Anand A. A locus for autosomal dominant reflex epilepsy precipitated by hot water maps at chromosome 10q21.3-q22.3. *Hum Genet.* 2009;125(5-6):541-549.
76. Choudhury SR, Satishchandra P, Sinha S, Anand A. Gene variants in ZGRF1 implicated for a rare sensory reflex epilepsy. 2019.

77. Karan KR, Satishchandra P, Sinha S, Anand A. A genetic locus for sensory epilepsy precipitated by contact with hot water maps to chromosome 9p24.3-p23. *Journal of Genetics*. 2018;97(2):391-398.
78. Nguyen DK, Rouleau I, Senechal G, Ansaldo AI, Gravel M, Benfenati F, Cossette P. X-linked focal epilepsy with reflex bathing seizures: Characterization of a distinct epileptic syndrome. *Epilepsia*. 2015;56(7):1098-1108.
79. Masotti C, Oliveira KG, Poerner F, Splendore A, Souza J, Freitas Rda S, Zechi-Ceide R, Guion-Almeida ML, Passos-Bueno MR. Auriculo-condylar syndrome: mapping of a first locus and evidence for genetic heterogeneity. *Eur J Hum Genet*. 2008;16(2):145-152.
80. Romanelli Tavares VL, Zechi-Ceide RM, Bertola DR, Gordon CT, Ferreira SG, Hsia GS, Yamamoto GL, Ezquina SA, Kokitsu-Nakata NM, Vendramini-Pittoli S, Freitas RS, Souza J, Raposo-Amaral CA, Zatz M, Amiel J, Guion-Almeida ML, Passos-Bueno MR. Targeted molecular investigation in patients within the clinical spectrum of Auriculocondylar syndrome. *Am J Med Genet A*. 2017;173(4):938-945.
81. Hamann J, Aust G, Arac D, Engel FB, Formstone C, Fredriksson R, Hall RA, Harty BL, Kirchhoff C, Knapp B, Krishnan A, Liebscher I, Lin HH, Martinelli DC, Monk KR, Peeters MC, Piao X, Promel S, Schoneberg T, Schwartz TW, Singer K, Stacey M, Ushkaryov YA, Vallon M, Wolfrum U, Wright MW, Xu L, Langenhan T, Schioth HB. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCIV. Adhesion G protein-coupled receptors. *Pharmacol Rev*. 2015;67(2):338-367.
82. Scuderi C, Saccuzzo L, Vinci M, Castiglia L, Galesi O, Salemi M, Mattina T, Borgione E, Citta S, Romano C, Fichera M. Biallelic intragenic duplication in ADGRB3 (BAI3) gene associated with intellectual disability, cerebellar atrophy, and behavioral disorder. *Eur J Hum Genet*. 2019;27(4):594-602.
83. The GenAtlas database.  
Eriřim:[<http://genatlas.medecine.univ-paris5.fr/>]  
Erişim tarihi:15.09.2019
84. Frezal J. Genatlas database, genes and development defects. *C R Acad Sci III*. 1998;321(10):805-817.
85. Meng H, Wu J, Huang Q, Yang X, Yang K, Qiu Y, Ren J, Shen R, Qi H. NEDD9 promotes invasion and migration of colorectal cancer cell line HCT116 via JNK/EMT. *Oncol Lett*. 2019;18(4):4022-4029.
86. Kim M, Gans JD, Nogueira C, Wang A, Paik JH, Feng B, Brennan C, Hahn WC, Cordon-Cardo C, Wagner SN, Flotte TJ, Duncan LM, Granter SR, Chin L. Comparative oncogenomics identifies NEDD9 as a melanoma metastasis gene. *Cell*. 2006;125(7):1269-1281.
87. Sima N, Cheng X, Ye F, Ma D, Xie X, Lu W. The overexpression of scaffolding protein NEDD9 promotes migration and invasion in cervical cancer via tyrosine phosphorylated FAK and SRC. *PLoS One*. 2013;8(9):e74594.
88. Zhang SS, Wu LH, Liu Q, Chen KS, Zhang XF. Elevated expression of NEDD9 is associated with metastatic activity in gastric cancer. *Oncotargets Ther*. 2015;8:633-640.

89. Kedmi M, Orr-Urtreger A. Expression changes in mouse brains following nicotine-induced seizures: the modulation of transcription factor networks. *Physiol Genomics*. 2007;30(3):242-252.
90. Erickson RP, Yatsenko SA, Larson K, Cheung SW. A Case of Agonadism, Skeletal Malformations, Bicuspid Aortic Valve, and Delayed Development with a 16p13.3 Duplication Including GNG13 and SOX8 Upstream Enhancers: Are Either, Both or Neither Involved in the Phenotype? *Mol Syndromol*. 2011;1(4):185-191.
91. Pfeifer D, Poulat F, Holinski-Feder E, Kooy F, Scherer G. The SOX8 gene is located within 700 kb of the tip of chromosome 16p and is deleted in a patient with ATR-16 syndrome. *Genomics*. 2000;63(1):108-116.
92. Barrionuevo F, Scherer G. SOX E genes: SOX9 and SOX8 in mammalian testis development. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010;42(3):433-436.
93. Portnoi MF, Dumargne MC, Rojo S, Witchel SF, Duncan AJ, Eozenou C, Bignon-Topalovic J, Yatsenko SA, Rajkovic A, Reyes-Mugica M, Almstrup K, Fusee L, Srivastava Y, Chantot-Bastaraud S, Hyon C, Louis-Sylvestre C, Validire P, de Malleray Pichard C, Ravel C, Christin-Maitre S, Brauner R, Rossetti R, Persani L, Charreau EH, Dain L, Chiauuzzi VA, Mazen I, Rouba H, Schluth-Bolard C, MacGowan S, McLean WHI, Patin E, Rajpert-De Meyts E, Jauch R, Achermann JC, Siffroi JP, McElreavey K, Bashamboo A. Mutations involving the SRY-related gene SOX8 are associated with a spectrum of human reproductive anomalies. *Hum Mol Genet*. 2018;27(7):1228-1240.
94. Kobrynski LJ, Sullivan KE. Velocardiofacial syndrome, DiGeorge syndrome: the chromosome 22q11.2 deletion syndromes. *The Lancet*. 2007;370(9596):1443-1452.
95. Kao A, Mariani J, McDonald-McGinn DM, Maisenbacher MK, Brooks-Kayal AR, Zackai EH, Lynch DR. Increased prevalence of unprovoked seizures in patients with a 22q11.2 deletion. *Am J Med Genet A*. 2004;129A(1):29-34.
96. Mudigoudar B, Nune S, Fulton S, Dayyat E, Wheless JW. Epilepsy in 22q11.2 Deletion Syndrome: A Case Series and Literature Review. *Pediatr Neurol*. 2017;76:86-90.
97. Wither RG, Borlot F, MacDonald A, Butcher NJ, Chow EWC, Bassett AS, Andrade DM. 22q11.2 deletion syndrome lowers seizure threshold in adult patients without epilepsy. *Epilepsia*. 2017;58(6):1095-1101.
98. Chen L, Hu J, Yun Y, Wang T. Rab36 regulates the spatial distribution of late endosomes and lysosomes through a similar mechanism to Rab34. *Mol Membr Biol*. 2010;27(1):23-30.
99. Dong HX, Wang R, Jin XY, Zeng J, Pan J. LncRNA DGCR5 promotes lung adenocarcinoma (LUAD) progression via inhibiting hsa-mir-22-3p. *J Cell Physiol*. 2018;233(5):4126-4136.
100. Huang R, Wang X, Zhang W, Zhangyuan G, Jin K, Yu W, Xie Y, Xu X, Wang H, Sun B. Down-Regulation of LncRNA DGCR5 Correlates with Poor Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(3-4):707-715.

101. Ni C, Yang P, Guo J, Ye M. Role of DiGeorge syndrome critical region gene 9, a long noncoding RNA, in gastric cancer. *Onco Targets Ther.* 2018;11:2259-2267.
102. Burnside RD, Pasion R, Mikhail FM, Carroll AJ, Robin NH, Youngs EL, Gadi IK, Keitges E, Jaswaney VL, Papenhausen PR, Potluri VR, Risheg H, Rush B, Smith JL, Schwartz S, Tepperberg JH, Butler MG. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11.2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. *Hum Genet.* 2011;130(4):517-528.
103. Smith A, Hung D. The dilemma of diagnostic testing for Prader-Willi syndrome. *Transl Pediatr.* 2017;6(1):46-56.
104. Chai JH, Locke DP, Grealley JM, Knoll JH, Ohta T, Dunai J, Yavor A, Eichler EE, Nicholls RD. Identification of four highly conserved genes between breakpoint hotspots BP1 and BP2 of the Prader-Willi/Angelman syndromes deletion region that have undergone evolutionary transposition mediated by flanking duplicons. *Am J Hum Genet.* 2003;73(4):898-925.
105. Goytain A, Hines RM, Quamme GA. Functional characterization of NIPA2, a selective Mg<sup>2+</sup> transporter. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;295(4):C944-953.
106. Napoli I, Mercaldo V, Boyl PP, Eleuteri B, Zalfa F, De Rubeis S, Di Marino D, Mohr E, Massimi M, Falconi M, Witke W, Costa-Mattioli M, Sonenberg N, Achsel T, Bagni C. The fragile X syndrome protein represses activity-dependent translation through CYFIP1, a new 4E-BP. *Cell.* 2008;134(6):1042-1054.
107. Mohan KN, Cao Y, Pham J, Cheung SW, Hoffner L, Ou ZZ, Surti U, Cook EH, Beaudet AL. Phenotypic association of 15q11.2 CNVs of the region of breakpoints 1-2 (BP1-BP2) in a large cohort of samples referred for genetic diagnosis. *J Hum Genet.* 2019;64(3):253-255.
108. Bachmann-Gagescu R, Mefford HC, Cowan C, Glew GM, Hing AV, Wallace S, Bader PI, Hamati A, Reitnauer PJ, Smith R, Stockton DW, Muhle H, Helbig I, Eichler EE, Ballif BC, Rosenfeld J, Tsuchiya KD. Recurrent 200-kb deletions of 16p11.2 that include the SH2B1 gene are associated with developmental delay and obesity. *Genet Med.* 2010;12(10):641-647.
109. Montagne L, Derhourhi M, Piton A, Toussaint B, Durand E, Vaillant E, Thuillier D, Gaget S, De Graeve F, Rabearivelo I, Lansiaux A, Lenne B, Sukno S, Desailoud R, Cnop M, Nicolescu R, Cohen L, Zagury JF, Amouyal M, Weill J, Muller J, Sand O, Delobel B, Froguel P, Bonnefond A. CoDE-seq, an augmented whole-exome sequencing, enables the accurate detection of CNVs and mutations in Mendelian obesity and intellectual disability. *Mol Metab.* 2018;13:1-9.
110. Bochukova EG, Huang N, Keogh J, Henning E, Purmann C, Blaszczyk K, Saeed S, Hamilton-Shield J, Clayton-Smith J, O'Rahilly S, Hurles ME, Farooqi IS. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature.* 2010;463(7281):666-670.
111. GeneCards®: The Human Gene Database.  
Erişim:[ <https://www.genecards.org/>]  
Erişim tarihi:15.09.2019



112. Metzler M, Li B, Gan L, Georgiou J, Gutekunst CA, Wang Y, Torre E, Devon RS, Oh R, Legendre-Guillemain V, Rich M, Alvarez C, Gertsenstein M, McPherson PS, Nagy A, Wang YT, Roder JC, Raymond LA, Hayden MR. Disruption of the endocytic protein HIP1 results in neurological deficits and decreased AMPA receptor trafficking. *EMBO J.* 2003;22(13):3254-3266.
113. Metzler M, Gan L, Wong TP, Liu L, Helm J, Liu L, Georgiou J, Wang Y, Bissada N, Cheng K, Roder JC, Wang YT, Hayden MR. NMDA receptor function and NMDA receptor-dependent phosphorylation of huntingtin is altered by the endocytic protein HIP1. *J Neurosci.* 2007;27(9):2298-2308.
114. Ramocki MB, Bartnik M, Szafranski P, Kolodziejska KE, Xia Z, Bravo J, Miller GS, Rodriguez DL, Williams CA, Bader PI, Szczepanik E, Mazurczak T, Antczak-Marach D, Coldwell JG, Akman CI, McAlmon K, Cohen MP, McGrath J, Roeder E, Mueller J, Kang SH, Bacino CA, Patel A, Bocian E, Shaw CA, Cheung SW, Mazurczak T, Stankiewicz P. Recurrent distal 7q11.23 deletion including HIP1 and YWHAG identified in patients with intellectual disabilities, epilepsy, and neurobehavioral problems. *Am J Hum Genet.* 2010;87(6):857-865.
115. Nicita F, Garone G, Spalice A, Savasta S, Striano P, Pantaleoni C, Sparta MV, Kluger G, Capovilla G, Pruna D, Freri E, D'Arrigo S, Verrotti A. Epilepsy is a possible feature in Williams-Beuren syndrome patients harboring typical deletions of the 7q11.23 critical region. *Am J Med Genet A.* 2016;170A(1):148-155.
116. Fusco C, Micale L, Augello B, Teresa Pellico M, Menghini D, Alfieri P, Cristina Digilio M, Mandriani B, Carella M, Palumbo O, Vicari S, Merla G. Smaller and larger deletions of the Williams Beuren syndrome region implicate genes involved in mild facial phenotype, epilepsy and autistic traits. *Eur J Hum Genet.* 2014;22(1):64-70.
117. Green C, Willoughby J, Study DDD, Balasubramanian M. De novo SETD5 loss-of-function variant as a cause for intellectual disability in a 10-year old boy with an aberrant blind ending bronchus. *Am J Med Genet A.* 2017;173(12):3165-3171.
118. Kuechler A, Zink AM, Wieland T, Ludecke HJ, Cremer K, Salviati L, Magini P, Najafi K, Zweier C, Czeschik JC, Aretz S, Ende S, Tamburrino F, Pinato C, Clementi M, Gundlach J, Maylahn C, Mazzanti L, Wohlleber E, Schwarzmayer T, Kariminejad R, Schlessinger A, Wieczorek D, Strom TM, Novarino G, Engels H. Loss-of-function variants of SETD5 cause intellectual disability and the core phenotype of microdeletion 3p25.3 syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(6):753-760.
119. Peltekova IT, Macdonald A, Armour CM. Microdeletion on 3p25 in a patient with features of 3p deletion syndrome. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(10):2583-2586.
120. Gai X, Xie HM, Perin JC, Takahashi N, Murphy K, Wenocur AS, D'Arcy M, O'Hara RJ, Goldmuntz E, Grice DE, Shaikh TH, Hakonarson H, Buxbaum JD, Elia J, White PS. Rare structural variation of synapse and neurotransmission genes in autism. *Mol Psychiatry.* 2012;17(4):402-411.
121. Mak ASL, Chiu ATG, Leung GKC, Mak CCY, Chu YWY, Mok GTK, Tang WF, Chan KYK, Tang MHY, Lau Yim ET, So KW, Tao VQ, Fung CW,

- Wong VCN, Uddin M, Lee SL, Marshall CR, Scherer SW, Kan ASY, Chung BHY. Use of clinical chromosomal microarray in Chinese patients with autism spectrum disorder-implications of a copy number variation involving DPP10. *Mol Autism*. 2017;8:31.
122. Yin CL, Chen HI, Li LH, Chien YL, Liao HM, Chou MC, Chou WJ, Tsai WC, Chiu YN, Wu YY, Lo CZ, Wu JY, Chen YT, Gau SS. Genome-wide analysis of copy number variations identifies PARK2 as a candidate gene for autism spectrum disorder. *Mol Autism*. 2016;7:23.
  123. Palumbo O, Palumbo P, Leone MP, Stallone R, Palladino T, Vendemiale M, Palladino S, Papadia F, Carella M, Fischetto R. PARK2 Microduplication: Clinical and Molecular Characterization of a Further Case and Review of the Literature. *Mol Syndromol*. 2016;7(5):282-286.
  124. Peycheva V, Kamenarova K, Ivanova N, Stamatov D, Avdjieva-Tzavella D, Alexandrova I, Zhelyazkova S, Pacheva I, Dimova P, Ivanov I, Litvinenko I, Bozhinova V, Tournev I, Simeonov E, Mitev V, Jordanova A, Kaneva R. Chromosomal microarray analysis of Bulgarian patients with epilepsy and intellectual disability. *Gene*. 2018;667:45-55.
  125. Kay DM, Stevens CF, Hamza TH, Montimurro JS, Zabetian CP, Factor SA, Samii A, Griffith A, Roberts JW, Molho ES, Higgins DS, Gancher S, Moses L, Zarepari S, Poorkaj P, Bird T, Nutt J, Schellenberg GD, Payami H. A comprehensive analysis of deletions, multiplications, and copy number variations in PARK2. *Neurology*. 2010;75(13):1189-1194.
  126. Wallis MJ, Boys A, Tassano E, Delatycki MB. Small interstitial 9p24.3 deletions principally involving KANK1 are likely benign copy number variants. *Eur J Med Genet*. 2019:103618.
  127. Lerer I, Sagi M, Meiner V, Cohen T, Zlotogora J, Abeliovich D. Deletion of the ANKRD15 gene at 9p24.3 causes parent-of-origin-dependent inheritance of familial cerebral palsy. *Hum Mol Genet*. 2005;14(24):3911-3920.
  128. Tassano E, Accogli A, Pavanello M, Bruno C, Capra V, Gimelli G, Cuoco C. Interstitial 9p24.3 deletion involving only DOCK8 and KANK1 genes in two patients with non-overlapping phenotypic traits. *Eur J Med Genet*. 2016;59(1):20-25.
  129. Vanzo RJ, Martin MM, Sdano MR, South ST. Familial KANK1 deletion that does not follow expected imprinting pattern. *Eur J Med Genet*. 2013;56(5):256-259.
  130. Vanzo RJ, Twede H, Ho KS, Prasad A, Martin MM, South ST, Wassman ER. Clinical significance of copy number variants involving KANK1 in patients with neurodevelopmental disorders. *Eur J Med Genet*. 2019;62(1):15-20.
  131. Lucarelli E, Pasca MG, Fanizza I, Trabacca A. Electroclinical characteristics and neuropsychological profile of a female child with chromosome 5p13.2 duplication syndrome. *Neurol Sci*. 2017;38(5):915-917.
  132. van den Berg DLC, Azzarelli R, Oishi K, Martynoga B, Urban N, Dekkers DHW, Demmers JA, Guillemot F. Nipbl Interacts with Zfp609 and the Integrator Complex to Regulate Cortical Neuron Migration. *Neuron*. 2017;93(2):348-361.

133. Loscalzo ML, Becker TA, Sutcliffe M. A patient with an interstitial duplication of chromosome 5p11-p13.3 further confirming a critical region for 5p duplication syndrome. *Eur J Med Genet.* 2008;51(1):54-60.
134. Yan J, Zhang F, Brundage E, Scheuerle A, Lanpher B, Erickson RP, Powis Z, Robinson HB, Trapane PL, Stachiw-Hietpas D, Keppler-Noreuil KM, Lalani SR, Sahoo T, Chinault AC, Patel A, Cheung SW, Lupski JR. Genomic duplication resulting in increased copy number of genes encoding the sister chromatid cohesion complex conveys clinical consequences distinct from Cornelia de Lange. *J Med Genet.* 2009;46(9):626-634.
135. Carrascosa Romero MC, Garcia Hoyo R, Calvente M, Baquero Cano M, Gonzalez Castillo L, Suela J. Neonatal detection of 5p13.2 duplication and delineation of the phenotype. *Am J Med Genet A.* 2012;158A(4):877-881.
136. Novara F, Alfei E, D'Arrigo S, Pantaleoni C, Beri S, Achille V, Sciacca FL, Giorda R, Zuffardi O, Ciccone R. 5p13 microduplication syndrome: a new case and better clinical definition of the syndrome. *Eur J Med Genet.* 2013;56(1):54-58.
137. Carnemolla B, Leprini A, Borsi L, Querze G, Urbini S, Zardi L. Human tenascin-R. Complete primary structure, pre-mRNA alternative splicing and gene localization on chromosome 1q23-q24. *J Biol Chem.* 1996;271(14):8157-8160.
138. Leprini A, Gherzi R, Siri A, Querze G, Viti F, Zardi L. The human tenascin-R gene. *J Biol Chem.* 1996;271(49):31251-31254.
139. Hawi Z, Yates H, Pinar A, Arnatkeviciute A, Johnson B, Tong J, Pugsley K, Dark C, Pauper M, Klein M, Heussler HS, Hiscock H, Fornito A, Tiego J, Finlay A, Vance A, Gill M, Kent L, Bellgrove MA. A case-control genome-wide association study of ADHD discovers a novel association with the tenascin R (TNR) gene. *Transl Psychiatry.* 2018;8(1):284.
140. Tom Tang Y, Emtage P, Funk WD, Hu T, Arterburn M, Park EE, Rupp F. Tafa: a novel secreted family with conserved cysteine residues and restricted expression in the brain. *Genomics.* 2004;83(4):727-734.
141. Wang X, Shen C, Chen X, Wang J, Cui X, Wang Y, Zhang H, Tang L, Lu S, Fei J, Wang Z. Tafa-2 plays an essential role in neuronal survival and neurobiological function in mice. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2018;50(10):984-995.
142. Okada J, Yamada E, Saito T, Ozawa A, Nakajima Y, Pessin JE, Okada S, Yamada M. Analysis of FAM19A2/Tafa-2 function. *Physiol Behav.* 2019;208:112581.
143. Nijssen PCG, van der Zee J, Roos RAC, van Broeckhoven C. Genetic analysis of a family with autosomal dominant neuronal ceroid lipofuscinosis. In: Nijssen PCG, ed. *Autosomal Dominant Adult Neuronal Ceroid Lipofuscinosis.* 2011.
144. Heron SE, Grinton BE, Kivity S, Afawi Z, Zuberi SM, Hughes JN, Pridmore C, Hodgson BL, Iona X, Sadleir LG, Pelekanos J, Herlenius E, Goldberg-Stern H, Bassan H, Haan E, Korczyn AD, Gardner AE, Corbett MA, Gecz J, Thomas PQ, Mulley JC, Berkovic SF, Scheffer IE, Dibbens LM. PRRT2 mutations cause benign familial infantile epilepsy and infantile convulsions with choreoathetosis syndrome. *Am J Hum Genet.* 2012;90(1):152-160.

145. Miller DT, Chung W, Nasir R, Shen Y, Steinman KJ, Wu BL, Hanson E. 16p11.2 Recurrent Microdeletion. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, eds. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
146. Moreno-De-Luca A, Evans DW, Boomer KB, Hanson E, Bernier R, Goin-Kochel RP, Myers SM, Challman TD, Moreno-De-Luca D, Slane MM, Hare AE, Chung WK, Spiro JE, Faucett WA, Martin CL, Ledbetter DH. The role of parental cognitive, behavioral, and motor profiles in clinical variability in individuals with chromosome 16p11.2 deletions. *JAMA Psychiatry*. 2015;72(2):119-126.
147. Giachino C, Lantelme E, Lanzetti L, Saccone S, Bella Valle G, Migone N. A novel SH3-containing human gene family preferentially expressed in the central nervous system. *Genomics*. 1997;41(3):427-434.
148. d'Orsi G, Martino T, Palumbo O, Pascarella MG, Palumbo P, Di Claudio MT, Avolio C, Carella M. The epilepsy phenotype in adult patients with intellectual disability and pathogenic copy number variants. *Seizure*. 2017;53:86-93.
149. Northrup H, Koenig MK, Pearson DA, Au KS. Tuberous Sclerosis Complex. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, eds. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA)1993.
150. Ramandi H, Ghaderian SMH, Toosi P, Tonekaboni SH, Ebrahimi A, Hatamnejadian N. TSC2 Deletions and Duplications: A Descriptive Study in Iranian Patients Affected with Tuberous Sclerosis. *American Journal of Molecular Biology*. 2014;04(03):163-167.
151. Kozłowski P, Roberts P, Dabora S, Franz D, Bissler J, Northrup H, Au KS, Lazarus R, Domanska-Pakiela D, Kotulska K, Jozwiak S, Kwiatkowski DJ. Identification of 54 large deletions/duplications in TSC1 and TSC2 using MLPA, and genotype-phenotype correlations. *Hum Genet*. 2007;121(3-4):389-400.
152. Abrahams BS, Tentler D, Perederiy JV, Oldham MC, Coppola G, Geschwind DH. Genome-wide analyses of human perisylvian cerebral cortical patterning. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(45):17849-17854.
153. Alarcon M, Abrahams BS, Stone JL, Duvall JA, Perederiy JV, Bomar JM, Sebat J, Wigler M, Martin CL, Ledbetter DH, Nelson SF, Cantor RM, Geschwind DH. Linkage, association, and gene-expression analyses identify CNTNAP2 as an autism-susceptibility gene. *Am J Hum Genet*. 2008;82(1):150-159.
154. Poot M. Intragenic CNTNAP2 Deletions: A Bridge Too Far? *Mol Syndromol*. 2017;8(3):118-130.
155. Strauss KA, Puffenberger EG, Huentelman MJ, Gottlieb S, Dobrin SE, Parod JM, Stephan DA, Morton DH. Recessive symptomatic focal epilepsy and mutant contactin-associated protein-like 2. *N Engl J Med*. 2006;354(13):1370-1377.
156. Friedman JI, Vrijenhoek T, Markx S, Janssen IM, van der Vliet WA, Faas BH, Knoers NV, Cahn W, Kahn RS, Edelmann L, Davis KL, Silverman JM, Brunner HG, van Kessel AG, Wijmenga C, Ophoff RA, Veltman JA. CNTNAP2 gene dosage variation is associated with schizophrenia and epilepsy. *Mol Psychiatry*. 2008;13(3):261-266.

157. Mikhail FM, Lose EJ, Robin NH, Descartes MD, Rutledge KD, Rutledge SL, Korf BR, Carroll AJ. Clinically relevant single gene or intragenic deletions encompassing critical neurodevelopmental genes in patients with developmental delay, mental retardation, and/or autism spectrum disorders. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(10):2386-2396.
158. Smogavec M, Cleall A, Hoyer J, Lederer D, Nassogne MC, Palmer EE, Deprez M, Benoit V, Maystadt I, Noakes C, Leal A, Shaw M, Gecz J, Raymond L, Reis A, Shears D, Brockmann K, Zweier C. Eight further individuals with intellectual disability and epilepsy carrying bi-allelic CNTNAP2 aberrations allow delineation of the mutational and phenotypic spectrum. *J Med Genet*. 2016;53(12):820-827.
159. Sinkus ML, Graw S, Freedman R, Ross RG, Lester HA, Leonard S. The human CHRNA7 and CHRFA7A genes: A review of the genetics, regulation, and function. *Neuropharmacology*. 2015;96(Pt B):274-288.
160. Sharp AJ, Mefford HC, Li K, Baker C, Skinner C, Stevenson RE, Schroer RJ, Novara F, De Gregori M, Ciccone R, Broome A, Casuga I, Wang Y, Xiao C, Barbacioru C, Gimelli G, Bernardina BD, Torniero C, Giorda R, Regan R, Murday V, Mansour S, Fichera M, Castiglia L, Failla P, Ventura M, Jiang Z, Cooper GM, Knight SJ, Romano C, Zuffardi O, Chen C, Schwartz CE, Eichler EE. A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nat Genet*. 2008;40(3):322-328.
161. Szafranski P, Schaaf CP, Person RE, Gibson IB, Xia Z, Mahadevan S, Wiszniewska J, Bacino CA, Lalani S, Potocki L, Kang SH, Patel A, Cheung SW, Probst FJ, Graham BH, Shinawi M, Beaudet AL, Stankiewicz P. Structures and molecular mechanisms for common 15q13.3 microduplications involving CHRNA7: benign or pathological? *Hum Mutat*. 2010;31(7):840-850.
162. Stewart LR, Hall AL, Kang SH, Shaw CA, Beaudet AL. High frequency of known copy number abnormalities and maternal duplication 15q11-q13 in patients with combined schizophrenia and epilepsy. *BMC Med Genet*. 2011;12:154.
163. Beal JC. Case report: Neuronal migration disorder associated with chromosome 15q13.3 duplication in a boy with autism and seizures. *J Child Neurol*. 2014;29(12):NP186-188.
164. Gillentine MA, Berry LN, Goin-Kochel RP, Ali MA, Ge J, Guffey D, Rosenfeld JA, Hannig V, Bader P, Proud M, Shinawi M, Graham BH, Lin A, Lalani SR, Reynolds J, Chen M, Grebe T, Minard CG, Stankiewicz P, Beaudet AL, Schaaf CP. The Cognitive and Behavioral Phenotypes of Individuals with CHRNA7 Duplications. *J Autism Dev Disord*. 2017;47(3):549-562.
165. Antonacci F, Kidd JM, Marques-Bonet T, Teague B, Ventura M, Girirajan S, Alkan C, Campbell CD, Vives L, Malig M, Rosenfeld JA, Ballif BC, Shaffer LG, Graves TA, Wilson RK, Schwartz DC, Eichler EE. A large and complex structural polymorphism at 16p12.1 underlies microdeletion disease risk. *Nat Genet*. 2010;42(9):745-750.

166. Tassano E, Ronchetto P, Calcagno A, Fiorio P, Gimelli G, Capra V, Scala M. 'Distal 16p12.2 microdeletion' in a patient with autosomal recessive deafness-22. *Journal of Genetics*. 2019;98(2).



## 8.EKLER

### EK 1.Etik Kurul Onayı



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 18920478-050.01.04-E.1900068153  
Konu : Başvuru İncelemesi(Prof. Dr.  
Fatma SILAN)

09/05/2019

Sayın Prof. Dr. Fatma SILAN

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Epilepsi hastalarında kromozomal kopya sayısı değişikliklerinin(CNV) aCGH yöntemi ile retrospektif olarak araştırılması" başlıklı 2011-KAEK-27/2019-1900054366 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 08.05.2019 tarih ve 10-12 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi:08.05.2019  
Karar No : 2019-10

Karar12)2011-KAEK-27/2019-1900054366 no'lu araştırma Etik Kurul üyeleri tarafından değerlendirilmiştir; Proje araştırmacılarından Araş.Gör.Dr. Burcu ALBUZ'un sunumunun dinlenmesinin ve raporörün hazırladığı değerlendirilmenin okunması sonrasında yapılan oylamada "ETİK KURUL ONAYINI ALIR." kararı verilmiştir.

*e-İmza*

Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR  
Kurul Başkanı

Belge Doğrulamak İçin: <https://sbs.cem.edu.tr/ERMS/Record/Confirmation?ysn/Index> adresinden D43HC4U kodu girerek belgeyi doğrulatabilirsiniz.

Adres : Onsekiz Mart Üniversitesi Terzioğlu Yerleşkesi  
Çanakkale  
e-posta : faizozkan@cem.edu.tr  
Bilgi İçin İletişim : Faize Otman - Sekreter  
Telefon :  
Belgeçer No :  
İnternet Adresi :



1900068153 numaralı belge, 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. maddesi gereğince Öztürk Özdemir tarafından 09.05.2019 tarihinde güvenli elektronik imza ile onaylanmıştır.

## 9.ÖZGEÇMİŞ

<b>Arş. Gör. Dr. Burcu ALBUZ</b>	
burcualbuz@yahoo.com burcu.albuz@comu.edu.tr	
0 (286) 218 00 18/2412	
<b>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahili Tıp Bilimleri Bölümü</b>	
<b>Tıbbi Genetik Anabilim Dalı 17100- Çanakkale</b>	
Website: <a href="http://aves.comu.edu.tr/1960/">http://aves.comu.edu.tr/1960/</a>	

<b>DİPLOMALAR</b>		
<b>LİSANS</b>	Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi/MANİSA	
<b>ÖĞRENİM</b>		
	<b>Doktora Öncesi</b>	<b>Tezler</b>
<b>LİSANS (2004-2010)</b>	Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi MANİSA	-
<b>Tıpta Uzmanlık Eğitimi (2016-2018)</b>	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı DENİZLİ	-
<b>Tıpta Uzmanlık Eğitimi (2018-2020)</b>	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ÇANAKKALE	Epilepsi hastalarında kromozomal kopya sayısı değişikliklerinin (CNV) aCGH yöntemi ile retrospektif olarak araştırılması <b>Danışman Öğretim Üyesi: Prof Dr. Fatma SILAN</b>

<b>GÖREVLER</b>	
Hekim (Pratisyen) 2010	Şanlıurfa Ceylanpınar Muratlı Sağlık Ocağı
Hekim (Pratisyen) 2010-2011	Şanlıurfa Ceylanpınar Toplum Sağlığı Merkezi
Aile Hekimi (Pratisyen) 2011-2012	Şanlıurfa Merkez Kalecik ASM
Hekim (Pratisyen) 2012-2013	Isparta Atabey TSM
Araştırma Görevlisi Doktor 2013-2016	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Psikiyatri Anabilim Dalı / DENİZLİ
Araştırma Görevlisi Doktor 2016-2018	Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı / DENİZLİ
Araştırma Görevlisi Doktor 2018-2020	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ÇANAKKALE



RUTİN HİZMETLER		2016-2020 Yılları Arasında Tanı Laboratuvarı Olarak (Sitogenetik ve Moleküler) Verdiği Hizmetler ve Tanı Raporları
<b>A- Sitogenetik</b>	<b>Adet</b>	
Lenfosit Hücre Kültürü	1581	Karyotip – karyogram analiz
FISH	350	Metafaz-interfaz analiz
Prenatal Tanı	45	Prenatal Karyotip – karyogram analiz
<b>B- Moleküler Genetik</b>	<b>Adet</b>	
FMF	2900	Moleküler tanı
CVD	1400	Habituel Abortus, PTE, SVH, Behçet Sendromu, DVT, MI, Atherosklerozis
Farmakogenetik	50	Warfarin, Klopidoğrel, Mikofenolat Mofetil vb. ve kompleks ilaç detoksifikasyon profil analizleri
Prenatal Tanı (QF-PCR)	240	Kromozom 13,18,21,X ve Y STR fragment analizi
MLPA	996	Mikrodelesyon sendromları, Subtelomerik, CFTR, BRCA1/2, DMD,SMA vb.
Array-CGH (60K ve 180K)	385	Delesyon/duplikasyon analizi
Yeni Nesil Dizileme (NGS)	341	CFTR, Otoinflamatuvar hastalıklar, Male/Female İnfertilite, BRCA1/2, Ailevi Kanser paneli, SMA, DMD, NF1/2 Osteogenezis İmperfekta, Marfan Sendromu, vb.
Diğer	1750	Talasemi, TRAPS, CAPS, MVK, Frajil X, Çölyak, JAK2,HLAB27
Poliklinik hasta sayısı	3919	

## İLGİ ALANLARI

### A-Sitogenetik

- A1- Periferik kandan lenfosit hücre kültürü ve kromozom analizi
- A2- Seks kromatin analizi
- A3- Manuel ve otomatik karyotip, karyogram ve ideogram analizler
- A4- GTG, C, NOR, HRB bantlama teknikleri
- A5- Prenatal kültür ve karyotip analizi
- A6-FISH analizi

## **B- Moleküler Sitogenetik**

B1- Direkt, indirekt hibridizasyon teknikleri

B2- Kromozomal mikrodiseksiyon

B3- Preimplantasyon Genetik Teşhis (PGT) ve IVF

B4- In situ hibridizasyon, strip, line-assay hibridizasyon ve genetik hastalıklarda tarama

## **C- Moleküler Genetik**

C1- Elektroforetik teknikler (agaroz, acrilamide)

C2- Western blot analiz

C3- PCR, Multiplex PCR, RT-PCR, Real-Time PCR teknikleri

C4- RFLP mutasyon ve polimorfizm taramaları

C5- Genomik DNA izolasyonu (solid, kan ve diğer dokular) ve DNA dizi analizi

C6- Epigenetik, DNA metilasyon analizi, gen ekspresyonu ve modifikasyon analizi

C7- MLPA, Strip-Assay

C8- QF PCR, Direkt sekanslama

C9- MikroArray-CGH

C10- Yeni nesil dizileme analizi (NGS)

## **MERKEZİ KURULUŞ ÜYELİKLERİ**

Tıbbi Genetik Derneği/ANKARA

## **BİLİMSEL ÇALIŞMALARI**

### **A-Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler**

**A1.** ALBUZ BURCU, ÇETİN GÖKHAN OZAN, ÖZHAN BAYRAM, SARIKEPE BİLGE, ANLAŞ ÖZLEM, ÖZTÜRK MENEKŞE, ZEYBEK SELCAN, A. SABİR AKKOYUNLU NURAN, BAĞCI GÜLSEREN, SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR (2019). A novel nonsense mutation in CHST3 in a Turkish patient with

spondyloepiphyseal dysplasia, Omani type. Clinical Dysmorphology, 1, Doi: 10.1097/MCD.0000000000000295 (Yayın No: 5498419)

**A2.** VELICKOVIC JELENA,SILAN FATMA,DİNÇSOY BİR FİRDEVŞ,SILAN COŞKUN,ALBUZ BURCU,ÖZDEMİR ÖZTÜRK (2019). title Blau syndrome with a rare mutation in exon 9 of iNOD2/i gene/title. Autoimmunity, 1-8., Doi: 10.1080/08916934.2019.1671375 (Yayın No: 5498444)

**A3.**FASSİO ANNA, ESPOSİTO ALESSANDRO, KATO MİTSUHİRO, SAİTSU HİROTOMO, MEİ DAVİDE, MARİNİ CARLA, CONTİ VALERİO, NAKASHİMA MİTSUKO, OKAMOTO NOBUHİKO, OLMEZ TURKER AKGUN, ALBUZ BURCU, SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR, YANAGİHARA KEİKO, BELMONTE ELİSA, MARAGLIANO LUCA, RAMSEY KERİ, BALAK CHRİS, SİNİARD ASHLEY, NARAYANAN VİNODH, OHBA CHİHİRO, SHİİNA MASA AKİ, OGATA KAZUHİRO, MATSUMOTO NAOMİCHİ, BENFENATİ FABİO, GUERRİNİ RENZO (2018). De novo mutations of the ATP6V1A gene cause developmental encephalopathy with epilepsy. BRAIN, 141(null), 1703-1718., Doi: 10.1093/brain/awy092 (Yayın No: 4579851)

**A4.** İNCİ KENAR AYŞE NUR,ÜNAL GA,GÜLER H,ALBUZ BURCU,KIROĞLU Y,ERDAL MEHMET EMİN,HERKEN HASAN (2016). Relationship between the DAT1 gene and the effects of methylphenidate administration in adult attention deficit hyperactivity disorder: a magnetic resonance spectroscopy study.. European review for medical and pharmacological sciences, 20(7), 1373-1378. (Yayın No: 4580914)

## **B. Yazılan ulusal/uluslararası kitaplar veya kitaplardaki bölümler**

**B1.**Türkiye Klinikleri Tıbbi Genetik - Özel Konular Genetik ve Multidisipliner Yaklaşımlar, Bölüm adı:(OTOİNFLAMATUAR HASTALIKLAR VE GENETİK) (2019).ÖZTÜRK MENEKŞE,ALBUZ BURCU,SILAN FATMA, <http://www.turkiyeklinikleri.com>, Editör:Prof Dr C. Nur SEMERCİ GÜNDÜZ, Basım sayısı:1, ISBN:978-605-7650-05-4, Türkçe(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 5183283)

**B2.**Türkiye Klinikleri Tıbbi Genetik - Özel Konular-Sitogenetik, Bölüm adı:(Mikrodelesyon ve Mikroduplikasyon Sendromları) (2018)., SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR,ALBUZ BURCU, Ankara: Türkiye Klinikleri, Editör:Aynur ACAR, Basım sayısı:1, Sayfa Sayısı 8, ISBN:978-605-7505-98-9, Türkçe(Bilimsel Kitap), (Yayın No: 4580808)

### **C. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler**

**C1.** GÜRSES DOLUNAY,KAYAKIRAN EDA DİDEM,ALBUZ BURCU,ÇETİN GÖKHAN OZAN (2018). Williams-Beuren sendromlu çocukların klinik ve ekokardiyografik değerlendirilmesi. Turkish J Pediatr Dis, Doi: 10.12956/tjpd.2018.400 (Kontrol No: 4705662)

**C2.**BALCI ŞENGÜL MELİKE CEYHAN,ŞENGÜL ABDULLAH CEM,ALBUZ BURCU (2015). Mahkûmlarca Kötüye Kullanılan İlaçlar Değişiyor mu? Cezaevi Hekimleri ile Gerçekleştirilen Bir Ön Araştırma. Bağımlılık Dergisi, 16(3), 113-118. (Kontrol No: 4580513)

### **BİLDİRİLER**

#### **A-Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler**

**A1.** ALBUZ BURCU,SILAN FATMA,ÖZTÜRK MENEKŞE,YILDIZ ONUR,ÖZDEMİR ÖZTÜRK (2019). BCL11B gene may be a candidate gene for mastocytosis in a patient with partial trisomy of distal 14q. 13th Balkan Congress of Human Genetics, 22(Supplement 1), 156-1156. (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:5183256)

**A2.** ÖZTÜRK MENEKŞE,ALBUZ BURCU,ÖZDEMİR ÖZTÜRK,SILAN FATMA (2019). Transitional p.Arg802His point mutation in A2ML1 gene in two sisters of Noonan-like syndrome with various clinical findings. Balkan Journal of Medical Genetics, 22(Supplement 1), 149-149. (Uluslararası) (Hakemli) (MAKALE Vaka Takdimi) (Yayın No: 5183240)

**A3.** ALBUZ BURCU,SILAN FATMA,ÖZTÜRK MENEKŞE,KARAKAYA TANER,ÖZDEMİR ÖZTÜRK (2019). A rare heterochromatin polymorphism of chromosome 6 associated with recurrent misscariage: a case report.

<p>Balkan Journal of Medical Genetics, 22(Supplement 1), 187-187. (Uluslararası) (Hakemli) (MAKALE Vaka Takdimi) (Yayın No: 5183235)</p>
<p><b>A4.</b> TOKGÜN ONUR,ALBUZ BURCU,ALAY MUSTAFA TARIK,KARAGENÇ NEDİM,ERDOĞAN ÇAĞDAŞ,DEMİRAY AYDIN,AKÇA HAKAN (2018). Türk bir ailede nadir görülen missens DMD mutasyonu. Uluslararası Katılımlı 13. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:4697289)</p>
<p><b>A5.</b> ALBUZ BURCU,ÇETİN GÖKHAN OZAN,ÖZTÜRK MENEKŞE,CANER VİLDAN,SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR,BAĞCI GÜLSEREN (2018). Fetus with partial trisomy 4 and t(2;16) due to maternal complex rearrangement involving three chromosomes: a case report. European Human Genetics Conference 2018 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4310544)</p>
<p><b>A6.</b>ÖZTÜRK MENEKŞE, ZEYBEK SELCAN,DURSUN BELDA,ALBUZ BURCU,BOZ ÖZLEM,GÜRKAN HAKAN,ÇETİN GÖKHAN OZAN (2018). A novel nonsense mutation in the EYA1 gene found in a patient with BOR syndrome. European Human Genetics Conference 2018 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4310524)</p>
<p><b>A7.</b>CANER VİLDAN, ŞEN TÜRK NİLAY,ÇETİN GÖKHAN OZAN,ALBUZ BURCU,AY YILMAZ (2018). Co-existence of multiple subclones in ETV6/RUNX1 at diagnosis of B-cell lymphoblastic leukemia. European Human Genetics Conference 2018 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4310551)</p>
<p><b>A8.</b> ZEYBEK SELCAN,FARRE GENİS,ÖZTÜRK MENEKŞE,ALBUZ BURCU,BELTRAN SERGİ,BOWCOCK ANNE,ÇETİN GÖKHAN OZAN (2018). Further delineation of ACPHD syndrome and a novel mutation in DNAJC3. European Human Genetics Conference 2018 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4310528)</p>
<p><b>A9.</b> CANER VİLDAN,ÇETİN GÖKHAN OZAN,TEPELİ EMRE,SARIKEPE BİLGE,ANLAS ÖZLEM,BAĞLAR MENEKŞE,ALBUZ BURCU,ATMACA MÜNEVVER,HACIOĞLU SİBEL (2017). Molecular cytogenetic profile of complex/variant translocations in chronic myeloidleukemia. 6th International Congress onLeukemia – Lymphoma – Myeloma (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3814122)</p>

**A10.** ALBUZ BURCU,ALAY MUSTAFA TARIK,ÖZTÜRK MENEKŞE,ÇETİN GÖKHAN OZAN,BAĞCI GÜLSEREN,AKÇA HAKAN,KARAGENÇ NEDİM A Novel Splice Site Mutation in TRAPPC2 Gene Caused X-Linked Spondyloepiphyseal Dysplasia Tarda in Two Males from a Turkish Family. Gazi Medical Journal, 30(1) (Uluslararası) (Hakemli) (MAKALE Özet) (Yayın No: 4706341)

**A11.**KOCAMAZ HALİL, ZEYBEK SELCAN, ALBUZ BURCU ,TEPELİ EMRE, ÖZHAN BAYRAM, ÇETİN GÖKHAN OZAN. JAG1 geni mutasyonu saptanan Alagille sendromu ailesi. Uluslararası Katılımlı 12. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi

**B. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:**

**B1.** GÜRSES DOLUNAY,KAYAKIRAN EDA DİDEM,ALBUZ BURCU,ÇETİN GÖKHAN OZAN (2017). Williams-Beuren sendromlu çocukların klinik ve ekokardiyografik değerlendirilmesi. Türk Pediatri Kurumu 3. Genç Pediatristler Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4310564)

**B2.**CANER VİLDAN,ŞEN TÜRK NİLAY,ÇAĞLAYAN GÜLSÜM,ÇETİN GÖKHAN OZAN,HACIOĞLU SİBEL,ALBUZ BURCU,SARIKEPE BİLGE (2017). Trizomi 7'nin Eşlik Ettiği Mantle Hücreli Lenfoma: Olgu Sunumu. 43. Ulusal Hematoloji Kongresi (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:4121073)

**B3.** ALBUZ BURCU,KOCAMAZ HALİL,ÖZTÜRK MENEKŞE,SARIKEPE BİLGE,TEPELİ EMRE,BAĞCI GÜLSEREN,SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR (2017). A case with vascular anomalies: Differential diagnosis and management. ERCİYES MEDİCAL GENETİCS DAYS 2017 (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)(Yayın No:3950953)

**B4.** ÖZTÜRK MENEKŞE,ÇETİN GÖKHAN OZAN,ALBUZ BURCU,CANER VİLDAN,SEMERCİ GÜNDÜZ CAVİDAN NUR,BAĞCI GÜLSEREN (2017). Unbalanced chromosomal rearrangement in fetus with congenital anomaly:a case report. ERCİYES MEDİCAL GENETİCS DAYS 2017 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3981659)

**B5.** ALBUZ BURCU,ÇETİN GÖKHAN OZAN,ÖZTÜRK MENEKŞE,CANER VILDAN,SEMERCİ GÜNDÜZ CAVIDAN NUR,BAĞCI GÜLSEREN (2017). fetus with partial trisomy 4 and t (2;16) due to maternal complex rearrangement involving three chromosome: a case report. ERCİYES MEDICAL GENETICS DAYS 1017 (Özet Bildiri/Poster)(Yayın No:3981929)

