



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**MULTİPL KONJENİTAL ANOMALİ /
MENTAL RETARDASYON HASTALARINDA
MOLEKÜLER KARYOTİPLEME**

Dr. Şule ALTINER

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Nüket YÜRÜR KUTLAY**

**ANKARA
2017**



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



**MULTİPL KONJENİTAL ANOMALİ /
MENTAL RETARDASYON HASTALARINDA
MOLEKÜLER KARYOTİPLEME**

Dr. Şule ALTINER

**TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Yard. Doç. Dr. Nüket YÜRÜR KUTLAY**

Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından
15L02300001 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
2017**

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN	
Adı, Soyadı	: Şule Altıner
Anabilim/Bilim Dalı	: Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
Tez Danışmanı	: Yard. Doç. Dr. Nüket Yürür Kutlay
Sınav tarihi:	
04 / 05 / 2017	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: MULTİPL KONJENİTAL ANOMALİ / MENTAL RETARDASYON HASTALARINDA MOLEKÜLER KARYOTİPLEME	
Tezin Niteliği:	X Ana Dal Uzmanlık Tezi <input type="checkbox"/> Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	<input type="checkbox"/> 1 X 2 <input type="checkbox"/> 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
<input checked="" type="checkbox"/> Kabulüne	
<input type="checkbox"/> Reddine	
<input type="checkbox"/> Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
<input checked="" type="checkbox"/> Oy birliği <input type="checkbox"/> Oy çokluğu ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR	
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız	

Jüri Başkanı
Prof.Dr.Hatice İlgin Ruhi
A.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Anabilim

Jüri Üyesi
Yrd.Doç.Dr.Nüket Yürür Kutlay
A.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Anabilim

Jüri Üyesi
Prof.Dr.Ferda Emriye Perçin
G.Ü.T.F. Tıbbi Genetik Anabilim

ÖNSÖZ

Gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik genel popülasyonun %1-3'ünde gözlenir. Etiyoloji heterojen olup genetik faktörler önemi rol oynamaktadır. Son yıllarda kromozomal mikroarray analizinin gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik ve/veya multipl konjenital anomali grubunda ilk basamak genetik test olması gerektiği vurgulanmaktadır ve yöntem, belirtilen hasta grubunda en yüksek tanı gücüne sahiptir (1). Bu çalışma ile multipl konjenital anomali ve/veya mental retardasyonu olan 30 hastaya array CGH yapılarak bulguların yanı sıra yöntemin tanı gücü ve rutin algoritmadaki yeri tartışıldı.

Tıbbi genetik uzmanlık eğitimimi Türkiye'nin en önde gelen kuruluşlarından biri olan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tamamlamış olmaktan mutluluk duyuyorum.

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini samimiyetle aktararak eğitimime katkı sağlayan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Hatice Ilgın Ruhi, Yrd. Doç. Dr. Timur Tuncalı, Yrd. Doç. Dr. Halil Gürhan Karabulut, Yrd. Doç. Dr. Nüket Yürür Kutlay ve kendisi ile üç yıl çalışma fırsatı bulduğum Prof.Dr. Ajlan Tükün'e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Tez çalışmamın her aşamasında değerli zamanını ayıran ve bilimsel desteğini gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr.Nüket Yürür Kutlay'a içtenlikle teşekkür ediyorum.

Bu tez, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 15L02300001 proje numarası ile desteklenmiştir. Tüm BAP çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Uzmanlık eğitimim süresince arkadaşlığı ve desteğiyle hep yanımda olan Uzm. Dr. Arzu Vicdan'a, birlikte çalışmaktan keyif aldığım asistan arkadaşlarıma, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik Laboratuvarı ekibine, burada geçirdiğim yıllar boyunca sağladıkları her türlü destek için tüm Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına,

Array CGH yöntemini ayrıntısıyla öğrenmemde büyük katkısı olan Prof. Joris Vermeesch ve ekibine,

Bugünlere gelmemdeki emeklerinden dolayı sevgili anneme ve babama,

Bana her zaman destek olan eşim Ali Osman'a ve oğlumuz Çınar'a içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Dr. Şule Altıner

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. CNV kavramına genel bakış	6
2.2. CNV'leri belirleme yöntemi; karşılaştırmalı genomik hibridizasyon.....	8
2.3. CNV'lerin yorumlanması ve raporlanması	14
2.4. Kromozomal mikroarray analizinin kapsamı, sınırlılıkları.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Yöntem.....	23
3.1.1. DNA izolasyonu	23
3.1.2. CMA analizi	25
3.2. Olgular	30
3.2.1. Olgu 1	30
3.2.2. Olgu 2	32
3.2.3. Olgu 3	32
3.2.4. Olgu 4.....	34
3.2.5. Olgu 5.....	34
3.2.6. Olgu 6.....	35
3.2.7. Olgu 7.....	36
3.2.8. Olgu 8.....	37
3.2.9. Olgu 9.....	38
3.2.10. Olgu 10.....	39
3.2.11. Olgu 11	40
3.2.12. Olgu 12.....	40
3.2.13. Olgu 13.....	42
3.2.14. Olgu 14.....	42

3.2.15. Olgu 15.....	43
3.2.16. Olgu 16.....	44
3.2.17. Olgu 17.....	45
3.2.18. Olgu 18.....	46
3.2.19. Olgu 19.....	47
3.2.20. Olgu 20.....	47
3.2.21. Olgu 21.....	48
3.2.22. Olgu 22.....	49
3.2.23. Olgu 23.....	50
3.2.24. Olgu 24.....	50
3.2.25. Olgu 25.....	51
3.2.26. Olgu 26.....	52
3.2.27. Olgu 27.....	53
3.2.28. Olgu 28.....	54
3.2.29. Olgu 29.....	54
3.2.30. Olgu 30.....	55
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA.....	96
6. SONUÇLAR.....	116
ÖZET.....	118
SUMMARY.....	119
KAYNAKLAR.....	120

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACACA	: <i>Acetyl-CoA carboxylase-alpha</i> (Asetil KoA karboksilaz alfa)
ACMG	: <i>American College of Medical Genetics</i> (Amerikan Tıbbi Genetik Kurulu)
AGRN	: Agrin
AKT3	: <i>V-Akt Murine thymoma viral oncogene homolog 3</i> (V-AKT mürin timoma viral onkojen homolog 3)
ALDOA	: Aldolaz A früktoz bifosfat
ANG	: Anjiogenin
ASD	: Atriyal septal defekt
BAC	: <i>Bacterial artificial chromosome</i> (bakteri yapay kromozomu)
BAER	: <i>Brainstem auditory evoked response</i> (beyin sapı işitsel uyarılmış yanıt)
BLK	: <i>Tyrosine kinase, B-lymphocyte specific</i> (B lensofit spesifik tirozin kinaz)
Bp	: <i>Base pair</i> (baz çifti)
BP	: <i>Break point</i> (kırık noktası)
BPY2B	: <i>Basic protein, Y chromosome 2B</i> (Y kromozomu temel proteini 2B)
BT	: Bilgisayarlı tomografi
C/S	: <i>Cesarean section</i> (sezaryen doğum)
CADPS2	: <i>Calcium dependent activator protein for secretion 2</i> (kalsiyum bağımlı aktivatör sekresyon proteini 2)
CASP10	: <i>Caspase 10</i> (kaspaz 10)
CDKN1C	: <i>Cyclin dependent kinase inhibitör 1C</i> (siklin bağımlı kinaz inhibitör 1C)
CDKN2A	: <i>Cyclin dependent kinase inhibitör 2A</i> (siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A)
cDNA	: <i>Complementary DNA</i> (tamamlayıcı DNA)
CGH	: <i>Comparative genomic hybridization</i> (karşılaştırmalı genomik hibridizasyon)

CHD8	: <i>Chromodomain helicase DNA binding protein 8</i> (kromo bölgesi helikaz DNA bağlayıcı protein 8)
ChIP	: Chromatin immunoprecipitation (kromatin immunopresipitasyon)
CHRNA4	: <i>Cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha polypeptide 4</i> (nöronal nikotiniik asetil kolin reseptörü alfa 4 alt ünitesi)
CMA	: <i>Chromosomal microarray</i> (kromozomal mikroarray)
CNTN4	: <i>Contactin 4</i> (kontaklin 4)
CNTN6	: <i>Contactin 6</i> (kontaklin 6)
CNV	: <i>Copy number variation</i> (kopya sayısı değışiklikleri)
CNVR	: <i>CNV region</i> (CNV bölgesi)
CORO1A	: <i>Coronin like protein A</i> (koronin benzeri protein A)
COX20	: <i>Cytochrome c oxidase assembly factor 20</i> (Sitokrom C oksidaz birleştirici faktör 20)
Cy	: <i>cyanine</i> (siyanin)
DD/ID	: <i>Developmental delay/intellectual disability</i> (gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik)
DECIPHER	: <i>Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources</i> (İnsan kromozomal dengesizlik ve fenotip veritabanı)
DEFB115	: Defensin beta 115
DEPDC1B	: <i>DEP domain containing protein 1B</i> (DEB bölgesi içeren protein 1B)
DIAPH3	: Diaphonous drosophila homolog of 3 (Diaphonous, drozofila homologu 3)
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELOVL7	: <i>Elongation of very long chain fatty acids like 7</i> (çok uzun zincirli yağ asidi uzaması benzeri 7)
EXOC4	: <i>Exocyst complex component 4</i> (ekzokist kompleks komponent 4)
FAM65B	: <i>Family with sequence similarity 65 member B</i> (65 dizisi ile benzerlik gösteren aile, B üyesi)
FISH	: Floresan in-situ hibridizasyon
FMR1	: <i>Fragile X mental retardation 1</i> (Frajil X mental retardasyon 1)

FosTes	: <i>Fork stalling and template switching</i>
GATA4	: <i>GATA binding protein 4</i> (GATA bağlayıcı proteini 4)
GTF2H2	: Genel transkripsiyon faktör IIIH; Polipeptit 2
H19	: <i>Imprinted maternally expressed noncoding transcript</i> (maternal olarak eksprese edilen imprintinge uğramış transkript 19)
HES5	: <i>Hairy/enhancer of split, drosophila, homolog 5</i> (saçlı/güçlendirici bölücü, drozofila homolog 5)
Hg	: <i>Human genome</i> (insan genomu)
HNF1B	: <i>HNF1 Homeobox B</i>
HNRNPC	: Heterojen nükleer ribonükleoprotein C
HRAS	: V-HA-RAS Harvey sıçan sarkom viral onkogen homologu
INS	: İnsülin
IQ	: <i>Intelligence quotient</i> (zeka katsayısı)
IQCG	: <i>IQ motif containing protein G</i> - IQ motif içeren protein G
ITPR1	: İnozitol 1,4,5trifosfat reseptör tip 1
Kb	: Kilo baz
KCTD13	: <i>Potassium channel tetramerization domain containing protein 13</i> (potasyum kanalı tetramerizasyon bölgesi içeren protein -13)
KIF22	: <i>Kinesin family member 22</i> (kinezin ailesi üyesi 22)
LGA	: <i>Large for gestational age</i> (gebelik yaşına göre büyük)
LMLN	: <i>Leishmanolysin like</i> (Leishmanolizin benzeri)
LMX1	: <i>Lim homeobox transcription factor 1, alpha</i> (Lim homeobox transkripsiyon faktörü 1- alfa)
Log	: Logaritma
Mb	: Milyon baz
MKA	: Multipl konjenital anomali (<i>multiple congenital anomaly</i>)
MLPA	: <i>Multiplex ligation-dependent probe amplification</i> (çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu)
MMR	: Mental motor retardasyon
MNX1	: <i>Motor neuron and pancreas homeobox 1</i> (motor nöron ve pankreas homeobox 1)
MR	: Mental retardasyon

MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
MTAP	: <i>Methylthioadenosine phosphorylase</i> (metil tioadenozin fosforilaz)
NAIP	: <i>Neuronal apoptosis inhibitory protein</i> (nöronal apozizozis inhibitör protein)
NGA	: <i>Normal for gestational age</i> (gebelik yaşına göre normal)
NIPA1	: <i>Nonimprinted gene in Prader Willi Syndrome / Angelman Syndrome Chromosome region 1</i> – Prader Willi Sendromu/Angelman Sendromu bölgesindeki imprinted olmayan gen 1
NOTCH1	: Notch drosofila homolog 1
NSDHL	: NAD(P)H steroid dehidrogenaz benzeri protein
NVY	: Normal vajinal yol
OCRL	: <i>Oculocerebrorenal syndrome of Lowe</i> – Lowe okuloserebrorenal sendrom
OD	: Otozomal dominant
OMIM	: <i>Online Mendelian Inheritance in Men</i> (İnsanda Mendelien kalıtım gösteren hastalık ve genler için online veritabanı)
OR	: Otozomal resesif
OR4F29	: <i>Olfactor receptor family 4 subfamily F member 29</i> - olfaktör reseptör ailesi 4 alt aile F'nin 29. Üyesi
OR52B4	: <i>Olfactory receptor family 52 subfamily B member 4 gene/pseudogene</i> - olfaktör reseptör ailesi 52 alt aile B'nin 4. üyesi: gen/psödogen
PANK4	: Pantotenat kinaz 4
PCR	: <i>Polimerase chain reaction</i> (polimeraz zincir reaksiyonu)
PFO	: Patent foramen ovale
PIGW	: <i>Phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class w protein</i> (fosfotidil inozitol glikan çapa biyosentez sınıf W)
PKD1	: Polikistin 1
PLCH2	: <i>Phospholipase C, ETA-2</i> (fosfolipaz C, ETA-2)
PNP	: <i>Purine nucleoside phosphorylase</i> (pürin nükleozid fosforilaz)
PRDM16	: <i>PR domain containing protein 16</i> (PR bölgesi içeren protein 16)
PRRT2	: <i>Proline-rich transmembrane proline2</i> (prolinden zengin transmembran proteini -2)

PS	: Pulmoner stenoz
QC	: <i>Quality control</i> (kalite kontrol)
RBC	: <i>Red blood cell</i> (kırmızı kan hücresi)
Rcf	: <i>Relative centrifugal force</i> (rölatif santrifüj kuvveti)
RP1L1	: <i>RP1-like protein 1</i> (RP1 benzeri protein 1)
RPGRIP1	: <i>Retinitis pigmentosa GTPase regulator – interacting protein</i> (retinitis pigmentoza GTPaz regülatör ile etkileşen protein)
SALL2	: <i>SAL like 2</i> (SAL benzeri 2)
SD	: <i>Standard deviation</i> (standart sapma)
SDCCAG8	: <i>Serologically defined colon cancer antigen 8</i> (Serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 8)
SDK1	: <i>Sidekick, drosophila, homolog 1</i> (Sidekick drozofila homolog 1)
SETD5	: <i>SET domain containing protein 5</i> (SET bölgesi kodlayan protein 5)
SETMAR	: <i>Set and mariner transposase domains containing protein</i> (Set ve Mariner transpoze bölgeler içeren protein)
SGA	: <i>Small for gestational age</i> (gebelik yaşına göre küçük)
SLC22A18	: <i>Solute carrier family 22 member 18</i> (solid taşıyıcı aile 22 üye 18)
SLC2A9	: <i>Solute carrier family 2 member 9</i> (solid taşıyıcı aile 2 üye 9)
SLITRK4	: <i>Slit and ntrk like family member 4</i> (Slit ve NTRK benzeri aile üye 4)
SNP	: <i>Single-nucleotide polymorphism</i> (tek nükleotid polimorfizmi)
SOX7	: <i>SRY-box 7</i> (SRY-kutusu 7)
SPANXN-2,3	: <i>SPANX family member N2,3</i> (SPANKS ailesi üye N2 ve N3)
SSPE	: <i>Saline-sodium phosphate EDTA</i> (salin sodyum fosfat EDTA)
SUMF	: <i>Sulfatase-modifying factor 1</i> (Sülfataz modifiye edici faktör 1)
SUPT16H	: <i>Suppressor of TY 16, S. Cerevisiae, homolog of</i> (TY16 süpresörü, S.Cerevisiae homoloğu)
TBX1	: <i>T box 1</i> (T kutusu 1)
TBX6	: <i>T box 6</i> (T kutusu 6)
TE	: trisEDTA
TNFRS14	: TNF reseptör süper ailesi üye 14

TORCH	: <i>Toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus, herpes simplex virus and other</i> (toksoplazmozis, rubella, sitomegalovirus, herpes simpleks virus ve diğler organizmalar –sifiliz, parvovirus, varisella zoster)
TRIM25	: <i>Tripartite motif containing protein 25</i> (üçlü motif içeren protein 25)
TSC2	: Tüberin
TY	: Triküs pit yetmezliğı
VEP	: <i>Visual evoked potential</i> (görsel uyarılmış potansiyel)
VNTRs	: <i>Variable number tandem repeats</i> (değışken boyutlardaki ardışık tekrarlar)
VOUS	: <i>Variant of unknown significance</i> (klinik önemi bilinmeyen varyant)
VSD	: Ventriküler septal defekt
ZBTB18	: <i>Zinc finger and btb domain containing protein 18</i> (çinko parmak ve BTB alanı içeren protein 18)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kromozomlara göre CNV dağılımı. Redon ve ark. (2006)'ndan alınmıştır.	6
Şekil 2.2. İnsan genomundaki CNV bölgeleri. Redon ve ark. (2006)'ndan alınmıştır.	7
Şekil 2.3. Array CGH yönteminin şematik gösterimi. Gökçümen ve Lee (2009)'dan alınmıştır.	9
Şekil 2.4. Referans seçiminde halka hibridizasyon sistemi.	10
Şekil 2.5. DD/ID hastalarında CMA algoritması. Miller ve ark. (2010)'dan alınmıştır.	13
Şekil 4.1. Olgu 1'e ait 17. kromozomun uzun kolundaki 1.43 Mb boyutunda delesyon.	60
Şekil 4.2. Olgu 2'ye ait 8. kromozomun kısa kolunda 4.3 Mb boyutunda delesyon.	62
Şekil 4.3. Olgu 9'a ait X kromozomunun uzun kolunda 25.32 Kb boyutunda delesyon.	70
Şekil 4.4. Olgu 10'a ait 3. kromozomun kısa kolunda 1.86 Mb boyutunda delesyon.	72
Şekil 4.5. Olgu 19'a ait 15. kromozomun uzun kolunda 331.73 Kb boyutunda delesyon.	81
Şekil 4.6. Olgu 25'e ait 1. kromozomun uzun kolunda 2.49 Mb boyutunda delesyon.	87
Şekil 4.7. Olgu 29'a ait 14. kromozomun uzun kolunda 1.84 Mb boyutunda delesyon.	93
Şekil 4.8. Olgu 30'a ait 16. kromozomun kısa kolunda 546.25 Kb boyutunda delesyon.	95

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1	DD/ID hasta grubunda tanıda kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması.....	4
Tablo 2.2.	CNV'nin patojenitesini belirleme. Miller ve ark. (2010)'dan alınmıştır.....	18
Tablo 3.1.	Halka hibridizasyon sisteminde olguların yerleşimi.....	27
Tablo 3.2.	Olgu 8 ve Olgu 14 için kullanılan çift hibridizasyon yöntemi.....	28
Tablo 4.1.	Çalışmamız sonunda tüm hastalarda saptanan CNV'lerin boyutları ve klinikle ilişkilerine göre dağılımı	57
Tablo 4.2.	Olgu 1'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	59
Tablo 4.3.	Olgu 2'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	61
Tablo 4.4.	Olgu 3'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	63
Tablo 4.5.	Olgu 4'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	64
Tablo 4.6.	Olgu 5'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	65
Tablo 4.7.	Olgu 6'ya ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	66
Tablo 4.8.	Olgu 7'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	67
Tablo 4.9.	Olgu 8'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	68
Tablo 4.10.	Olgu 9'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	69
Tablo 4.11.	Olgu 10'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	71
Tablo 4.12	Olgu 11'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	73
Tablo 4.13.	Olgu 12'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	74
Tablo 4.14.	Olgu 13'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	75
Tablo 4.15.	Olgu 14'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	76
Tablo 4.16.	Olgu 15'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	77
Tablo 4.17.	Olgu 16'ya ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	78
Tablo 4.18.	Olgu 17'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	79
Tablo 4.19.	Olgu 18'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	79
Tablo 4.20.	Olgu 19'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	80
Tablo 4.21.	Olgu 20'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	82
Tablo 4.22.	Olgu 21'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	83

Tablo 4.23.	Olgu 22'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	83
Tablo 4.24.	Olgu 23'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	84
Tablo 4.25.	Olgu 24'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	85
Tablo 4.26.	Olgu 25'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	86
Tablo 4.27.	Olgu 26'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	88
Tablo 4.28.	Olgu 27'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	89
Tablo 4.29.	Olgu 28'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	91
Tablo 4.30.	Olgu 29'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	92
Tablo 4.31.	Olgu 30'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler	94



1. GİRİŞ

Gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik (*developmental delay/intellectual disability*, DD/ID) genel popülasyonda %1-3 oranında gözlenir (1, 2). Bireysel, ailesel, toplumsal etkileri olan ve çözüm bekleyen bir hastalık grubudur. Klinik olarak DD/ID, 18 yaşından önce bilişsel ve adaptif işlevlerde belirgin bozulma olarak tanımlanır (3).

Günümüzde MR (mental retardasyon) veya MMR (mental motor retardasyon) tanısı alan hastalara, gelişimi destekleyici tedaviler dışında bir destek sağlanamamaktadır. Etiyoloji tüm hastalarda tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte, heterojendir. Etkili olduğu bilinen birçok çevresel ve genetik faktör tanımlanmıştır (1). Ancak nöral gelişimin çok karmaşık olan yapısı nedeniyle bu faktörlerin tamamının belirlenebilmesi belli bir süre alacaktır. Etiyolojinin tanımlanması, hem gelecekte hastalara sunulabilecek tedavi seçeneklerine hem de bilişsel gelişim süreçleri konusunda açık kalan boşlukların doldurulmasına ve bekleyen sorularımızın yanıtlanmasına katkı sağlayacaktır.

Yüksek çözünürlüklü G-bant analizi ile olguların %3-5'inde, Floresan in-situ hibridizasyon (FISH) ile olguların %3-6'sında etiyoloji ile ilişkilendirilebilen genetik değişiklik gösterilmektedir. Son yıllarda bu hasta grubunda kullanılacak tanı koyucu yaklaşımlar arasında, array karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (*array comparative genomic hybridization* - array CGH) ve tek nükleotid polimorfizmini (*single-nucleotide polymorphism* - SNP) içeren kromozomal mikroarray analizleri (*chromosomal microarray analysis* - CMA) yer almaktadır (1, 4). Bazı yayınlarda CMA'nın, gelişme geriliği, mental retardasyonu, otizm spektrumu bozuklukları ya da multipl konjenital anomalisi (MKA) olan veya dismorfik hastalarda tanı sürecinde ilk basamak test olması gerektiği vurgulanmaktadır. CMA ile klinik olarak hastalıkla ilişkilendirilen CNV'ler, bu hasta grubunun %10-20'sinde saptanabilmektedir (1, 5).

CNV'ler, insan genomunun %12'sini oluşturur. CNV'ler duplikasyonlar şeklinde basit olabileceği gibi karmaşık kazanımlar ve kayıplar şeklinde de olabilir, pozisyon etkisine göre dolaylı olarak gen ekspresyonunu etkileyebilir, hasarlayıcı genetik değişikliklere eğilim yaratabilir ya da kromozomlardaki evrimsel değişikliğe yatkınlık yaratabilir (6).

Bu çalışmada kapsamında; Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine dismorfik bulgular ve/veya mental retardasyon nedeniyle başvuran 30 hastada array CGH yapıldı. Bu hastalara rutin algoritmamız çerçevesinde 550 bant düzeyinde konvansiyonel sitogenetik analiz, subtelomerik FISH ve erkek hastalarda ek olarak Frajil X testleri yapılmış ancak bu yöntemlerle MKA/MR'nin genetik temelli etiyojisi açıklanamayan 30 olgu çalışmaya alınmıştır. Bu hastalarda array CGH yönteminden yararlanılarak etiyojinin ortaya konulması amaçlandı.

Literatür verileri çerçevesinde, bu çalışma ile olguların yaklaşık %15'inde hastalıkla ilişkilendirilebilecek CNV bulunması öngörüldü.

CNV saptanması durumunda;

- CNV'lerin benign, patolojik ve fenotiple ilişkilendirilemeyen şeklinde sınıflandırılarak klinikle ilişkisinin açıklanması,
- Bulunan sonuçlarla ailelere genetik danışmanlık verilmesi,
- Genetik nedeni ortaya konan hastalarda hasta takibinin netleştirilmesi,
- Tanımlanan CNV'lerle genotip/fenotip ilişkisi ortaya konarak literatüre de katkı sağlanması planlandı.

Ayrıca bu çalışma ile maliyeti nedeniyle ülkemizde rutin uygulama kapsamına alınmasında güçlükler olan array CGH yönteminin bu hastalardaki tanı kapasitesi ortaya konularak, kullanılan tanı algoritmasının değişmesi ve sağlık sistemimiz içinde bu uygulamanın yer almasını sağlayacak bilimsel verilerin birikmesine de katkı sağlanması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Gelişme geriliği ve entelektüel yetersizlik (DD/ID) genel popülasyonun %1-3'ünde gözlenir (1).

Gelişmiş ülkelerde mental retardasyonun prevalansının %2-3 olduğu bildirilmektedir. Çeşitli çalışmalarda %1-10 arasında değişen oranlar raporlanmıştır (7). Toplum sıklığı, 52 çalışmayı kapsayan bir meta analizde 10.37/1000 olarak bulunmuştur (2).

Altta yatan nedenden bağımsız olarak izole mental retardasyonun tekrarlama riski %8,4 olarak verilmektedir (7).

MR infant döneminden itibaren fark edilebilir olsa da en iyi tanı konma dönemi okul çocukluğudur. IQ (*intelligence quotient*) ölçümü ile sınıflandırılır (3):

Sınır ID: 70-85 IQ

Hafif ID: 50-55'ten 70'e kadar IQ

Orta ID: 35-40'ten 50-55'e kadar IQ

Ağır ID: 20-25'ten 35-40'e kadar IQ

Derin ID: 20-25'in altında IQ

Amerikan Psikiyatri Birliği'ne göre mental retardasyon içinde en geniş grubu, %85 oranı ile hafif mental retardasyonlar oluşturur (7).

Yaygın nörogelişimsel bozuklukların (otizm -otizm spektrum hastalıkları-, konuşma geriliği, şizofreni, epilepsi ve gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik) etiyojisi karmaşıktır. Etiyoloji ağırlıklı olarak genomik olsa da çevresel etkenler de vardır.

Gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik etiyojisinde; teratojenler, prematüre doğum, perinatal hipoksi ve enfeksiyonlar gibi çevresel faktörlerin yanı sıra kromozomal düzensizlikler, bilinen mikrolezyonlar, belirgin olarak X kromozomunda olmak üzere tanımlı genlerdeki nokta mutasyonları gibi genetik değişiklikler sorumlu tutulmaktadır (8-11).

Major malformasyonun eşlik etmediği ve prenatal ultrasonografi (US) ile tanı olanağının mümkün olmadığı MKA/MR olgularında, tanı için genetik testlerin kullanılması gerekir. Mental retardasyonun sebebini ortaya koymak;

- Hastalık yönetimine yardımcı olur,

- Bazı patolojik bulguların erken öngörülmesine ve bunlardan korunulmasını sağlarlar (Prader – Willi Sendromu’nda obezite),
- Engellilik durumunun kabulüne yardımcı olur,
- Aile ve diğer destek grupları arasında bağlantıyı sağlar,
- Sebebin ortaya konması, ailelerde uzun soluklu ve belirgin duygusal rahatlama yaratır (7).

Yüksek çözünürlüklü G-bant analizi ile olguların %3-5’inde (1, 12-15), moleküler sitogenetik yöntemlerle olguların %3-7’sinde etiyoloji ortaya konabilir (1, 12-14, 16). Yöntemler Tablo 2.1’de karşılaştırılmış ve ayrıntısı metin devamında belirtilmiştir.

Tablo 2.1 DD/ID hasta grubunda tanıda kullanılan yöntemlerin karşılaştırılması

	G-bant	FISH	Array CGH
Tanı gücü	%3-5 (Tri 21 hariç)	%3-6	%10-20
Çözünürlük	5-10 Mb	1 Kb	500 bp
Süre	4-10 gün	2 gün	3 gün
Kısıtlılıklar	Çözünürlük sınırları dışında kalan değişimlerin saptanamaması	Hedefe yönelik Duplikasyonlar?	Dengeli yeniden düzenlemeler Mozaisizm

Down sendromlu hastalar bir kenara bırakılırsa, ID hasta grubunda G-bant ile hastaların %3’ünden azında anomali saptanır. Karyotipte belli sınırlardaki kayıp ve kazanımlar subjektif olmakta, bu anomalileri saptama oranları personeller ve laboratuvarlar arasında değişkenlik göstermektedir (17). Ayrıca karyotip incelemesi için (kültür, bantlama ve analiz) 4-10 gün süre gerekmektedir. Rezolüsyon 5-10 Mb

ile sınırlıdır. Her aşaması için kalifiye personel gerektirir ve bu da yöntemin maliyetini artırır (18).

FISH ise hedefe yöneliktir. Klinik şüphe üzerine tanımlı sendromlara yönelik olarak yapılır, tüm genomu taramaz (18).

Son yıllarda karşılaştırmalı genomik hibridizasyon ve tek nükleotid polimorfizmini içeren kromozomal mikroarray analizleri ile bu hasta grubu için tanı koyma oranını artıran yaklaşımlar geliştirilmiştir (1, 19, 20).

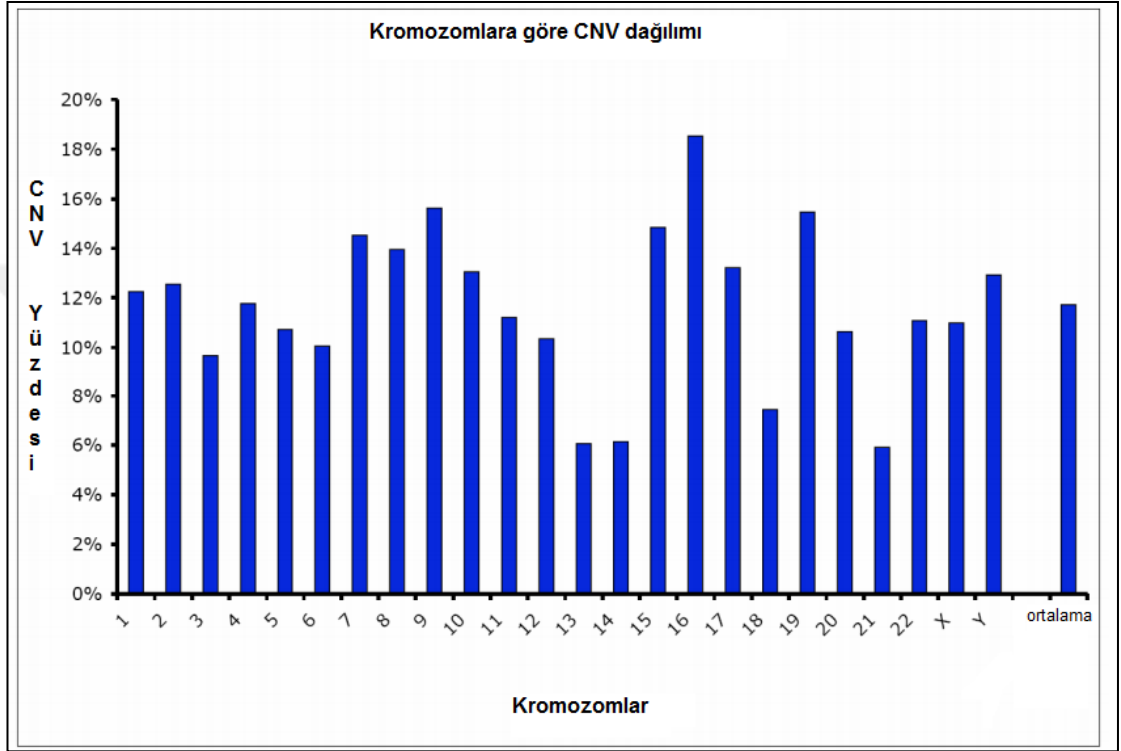
CMA, açıklanamayan DD/ID, otizm spektrum bozuklukları ve multipl konjenital anomalileri olan hastalarda kullanımını her geçen gün artan bir testtir. Bu hasta gruplarında CMA (%15-20), G-bant karyotipe (%3- Down sendromu ve diğer tanınabilir kromozomal hastalıklar dışlandığında) göre daha yüksek tanı değerine sahiptir. Bu yüksek tanı değeri CMA'nın submikroskopik delesyon ve duplikasyonlara daha yüksek sensitivitesi olmasından kaynaklanır. Ek olarak, genellikle kullanılan array sistemleri, subtelomerik bölgeler de dahil olmak üzere tanımlı mikrodelesyon bölgelerini içermektedir. Ancak array ile dengeli yeniden düzenlenmeler ve düşük düzey mozaikizm saptanamaz. Aslında, belirtilen hasta grubunda bahsedilen bu değişiklikler anormal fenotipin nadir (<%1) sebebidir (17, 21).

Yapılan çok sayıda çalışma sonucunda klinik olarak hastalıkla ilişkilendirilen CNV'ler olguların %10-20'sinde saptanabilmektedir (1, 5, 22-24). 13.926 hastayı kapsayan bir meta analizde yöntemin %10 tanı gücü olduğu gösterilmiştir (25). Ülkemizde yapılan array CGH ile ilgili bir çalışmada mental retardasyon tanısı olan olgularda %11.1 oranında CNV belirlenmiştir (26). Teknolojideki ilerlemeye rağmen hastaların %50'lik kısmında etiyojisi hala ortaya konamamaktadır (18).

Günümüz verileri; DD/ID, otizm spektrum bozuklukları ve MKA olan hastalarda CMA yönteminin, G-bantın yerine ilk sırada uygulanan test olmasını desteklemektedir. G-bantın belirgin kromozomal sendromlar (Down sendromu gibi), kromozomal yeniden düzenlenme aile hikayesinde ve çoklu düşük öyküsü olan aileleri içeren olgularda kullanılması önerilmektedir (17, 18).

2.1.CNV kavramına genel bakış

CMA ile analiz ettiğimiz CNV'ler fonksiyonel ancak tam olarak aydınlatılmamış yönleri bulunan deoksiribonükleik asit (DNA) parçalarıdır. Her bir kromozomda %6-19 oranında CNV bulunur (Şekil 2.1) (6, 27).



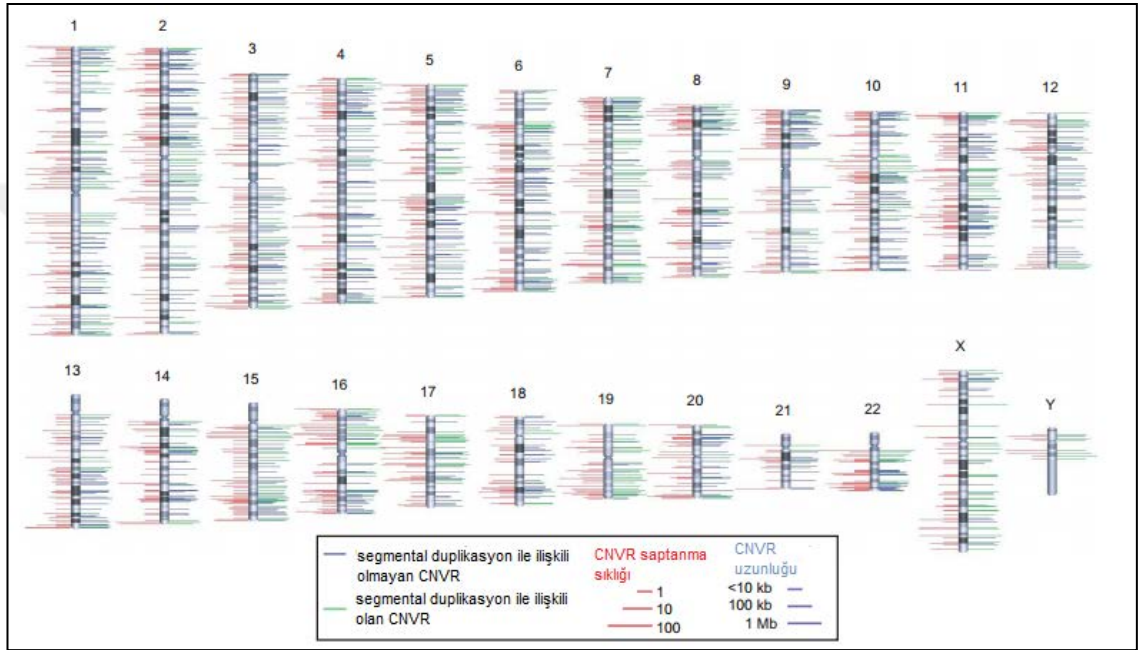
Şekil 2.1. Kromozomlara göre CNV dağılımı. Redon ve ark. (2006)'ndan alınmıştır.

CNV'ler yüzlerce ve hatta milyonlarca baz çifti uzunluğunda olabilir (28). Bazı kaynaklar CNV boyutunu 1 Kb ve üzeri baz çifti olarak belirtir (29).

CNV'ler:

- İnsanlar arasında farklı sayılarda bulunurlar (6, 30)
- Normal fenotipli insan genomunda yaygındır ve insan genomunda 6000 CNV bölgesi (CNVR: CNV region) bildirilmiştir (Şekil 2.2)
- Primat evrimi ve genetik çeşitlilikteki rolleri hala büyük ölçüde bilinmezliğini korur (28)
- Duplikasyonlar şeklinde basit olabileceği gibi karmaşık kazanımlar ve kayıplar şeklinde de olabilirler (6, 30)

- Pozisyon etkisine göre dolaylı olarak gen ekspresyonunu etkileyebilir, hasarlayıcı genetik değişikliklere eğilim ya da evrimsel kromozomal değişikliğe yatkınlık yaratabilirler (6)
- İnsandaki CNV'lerin bir kısmı kompleks hastalıklara yatkınlık, diyet adaptasyonu ve bazı nörogeşimsel, nörodejeneratif ve psikiyatrik bozukluklarla ilişkilidir (31)



Şekil 2.2. İnsan genomundaki CNV bölgeleri. Redon ve ark. (2006)'ndan alınmıştır.

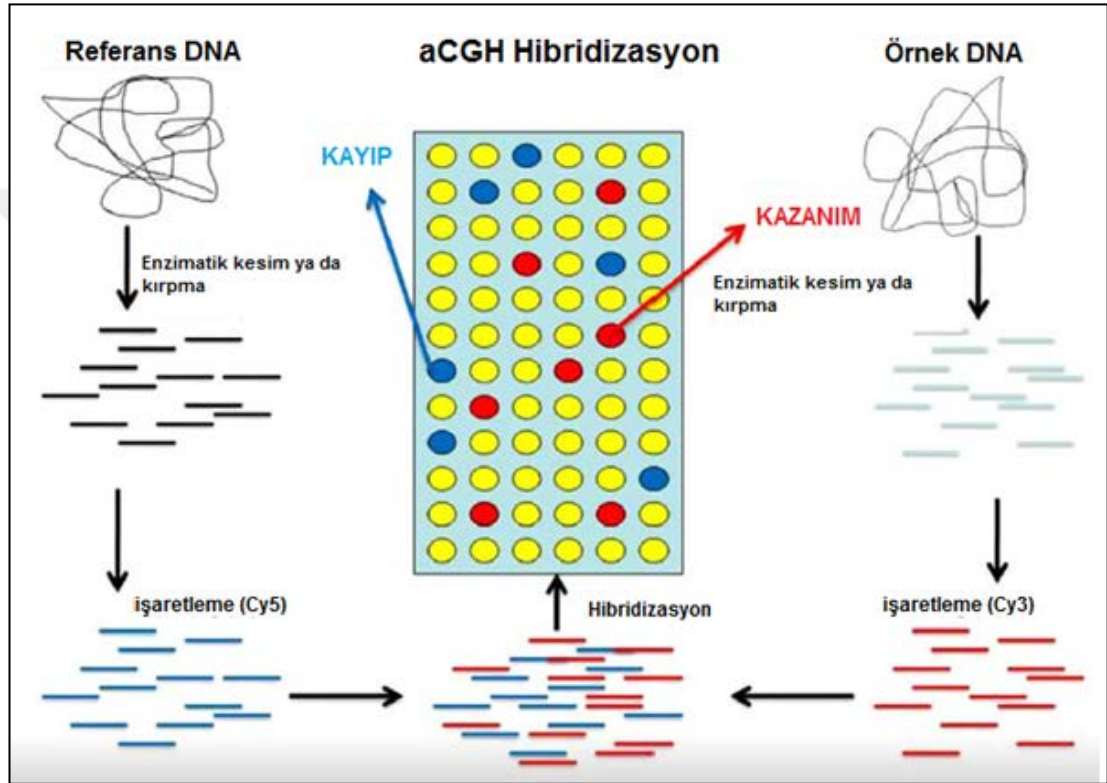
CNV oluşumu ile ilgili en çok üzerinde durulan mekanizma; alelik olmayan homolog rekombinasyondur. Bu mekanizmada, mayozda yüksek homoloji gösteren DNA segmentleri arasındaki kross-over sonucu homolog kromozomlar arasında delesyon ve duplikasyonlar oluşur. Diğer CNV oluşum sebebi ise değişken sayılardaki ardışık tekrarlardaki (variable number tandem repeats - VNTRs) boyut varyasyonudur. Ayrıca homolog olmayan uç birleştirme, FosTes (*fork stalling and template switching*) ve mayozdaki temel alelik rekombinasyon da olası mekanizmalar olarak tartışılmaktadır (28).

2.2.CNV'leri belirleme yöntemi; karşılaştırmalı genomik hibridizasyon

CGH, tüm genomda CNV'lerin saptanması ve genotiplendirmede kullanılan bir yöntemdir (28). CGH ilk olarak, farklı işaretlenmiş referans DNA ve test DNA'sının kopya sayısı farklılıklarının metafaz plağında FISH protokolü kullanılarak tespit edilmesi ile yapılmıştır (32). Kallioniemi ve ark. solid tümörler üzerinde yaptıkları çalışmalar ile ilk CGH analiz protokolünü oluşturmuşlardır (33). Bu yöntem kromozomlarla ilgili geniş saptamalar yapıyor olsa da 5-10 Mb rezolüsyonla sınırlı olması nedeniyle kısa süre içerisinde geliştirilmiştir. Metafaz plağı yerine, robotik teknoloji ile özel lamalar üzerine belli büyüklüklerdeki dizilerin yerleştirilmesiyle DNA mikroarrayler üretilmiştir. Mikroarray kullanılarak yapılan yöntem array CGH olarak tanımlanmıştır. Bu yöntemin çözünürlüğü, tasarımı sırasında kullanılan dizilerin büyüklüğü ve sayısı ile ilişkilidir. Bir mikroarray farklı spesifitelerdeki binlerce probdan oluşur (27). 1997 yılında Solinos-Toldo ve ark. tümör hücreleri ve 1998 yılında Pinkel ve ark. kanserli meme dokusunda çalışarak ilk sonuçları elde etmişlerdir (34, 35). Iafrateve ark. ise sağlıklı kişilerin genomlarını karşılaştırarak hem yeni CNV bölgeleri tanımlamış hem de CNV'nin önemine dikkat çekmişlerdir (36). 'Bacterial artificial chromosome (BAC)', oligonükleotid, SNP ve tamamlayıcı DNA (cDNA) vb... gibi kullanılan dizilerin geliştirilmesiyle yöntem hızla ilerlemiş ve çeşitlenmiştir (37-39). Referans ve tümör DNA'sının metilasyon farklılığını karşılaştırmaya yönelik karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (ChIP-Kromozom immunpresipitasyon) da array CGH yönteminden geliştirilmiştir (40). İlk olarak kanser sitogenetiği için tasarlanan array CGH, günümüzde yaygın olarak klinik sitogenetikte de kullanılmaktadır (27).

Ana hatlarıyla array CGH, referans ve hasta DNA'sı arasında karşılaştırmalı hibridizasyona dayanır (Şekil 2.3). Eşit miktardaki referans ve hasta DNA'sı farklı florokromlarla işaretlenir (Cy3 ve Cy5 Cy: *cyanin* - siyanin). Daha önceden tasarlanmış problar mikroarray adı verilen özel lamın üzerinde yerleşik halde bulunur. Referans ve hasta DNA'sı özel döndürücü fırınlarda bekletilerek mikroarray üzerindeki problara hibridize edilir. Hibridizasyondan sonra bağlanmamış DNA yıkanarak uzaklaştırılır. Yıkama sonrası özel tarayıcılar kullanılarak her bir probun sinyali ölçülür. Referans ve hasta DNA'sı floresan sinyal oranı, aynı bölgeye ait kopya sayılarını dolayısıyla varsa CNV oranını yansıtır. Bu oran normalize edilir ve

\log_2 'ye dönüştürülür. Ölçüm sonucunda \log_2 oranında artış ve azalmalar test DNA'sının referansa göre kopya sayısı varyasyonu olarak yorumlanır. Hastaya ait kopya sayısının, referansa ait kopya sayısına oranının \log_2 değeri; hastaya ait örnekteki kopya sayısını yaklaşık olarak yansıtır. Örneğin, otozomlara ait tek kopya delesyonuna ait \log_2 değeri: $\log_2(1/2)$: -1, duplikasyon ise $\log_2(3/2)$: 0.58 olarak hesaplanır. 1:1 oranının, \log_2 değeri 0 (sıfır) olarak kabul edilir (18, 28, 41-43).

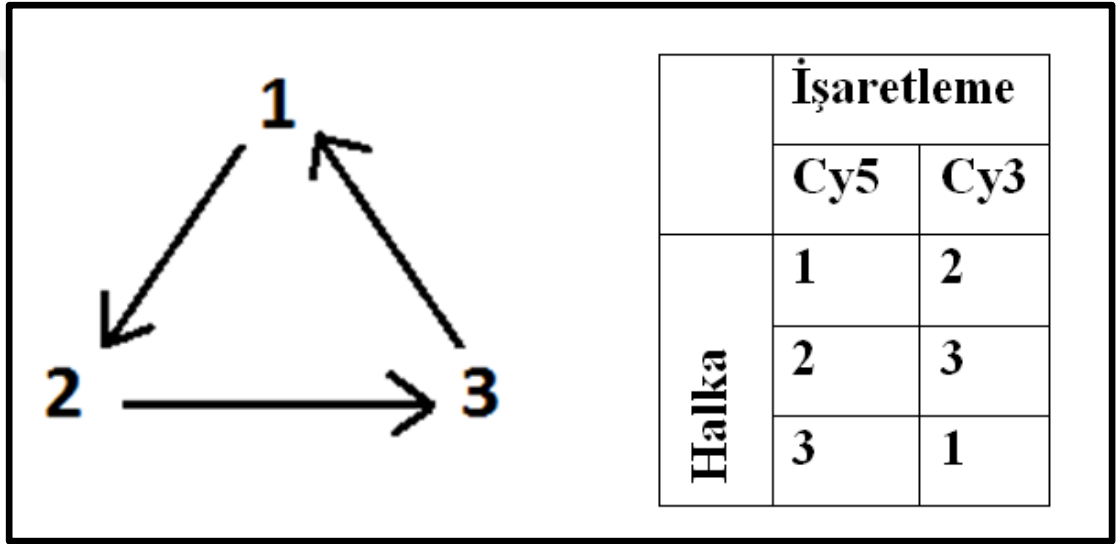


Şekil 2.3. Array CGH yönteminin şematik gösterimi. Gökçümen ve Lee (2009)'dan alınmıştır.

Analize geçmeden önce her örneğin QC (*Quality control* - kalite kontrol) değerleri gözden geçirilir. Yeterli sinyal/gürültü oranı ve düşük standart deviasyon oranı elde edilen örnekler çalışmaya alınmak için uygundur (43, 44).

Günümüz pratiğinde hastada saptanan değişiklikler özel algoritmalar ve yazılımlar kullanılarak belirlenir. Her yazılımın değişiklik saptama ölçütleri ve uygun olduğu platform farklıdır. Bu nedenle kullanılan platform, mutlaka raporda belirtilmelidir (44).

Referans seçimi: Array CGH’de hasta DNA’sı kontrol olarak kullanılan referans DNA’sına hibridize edilir. Referans olarak, iyi kazırlanmış hücre kültürü, fenotipi normal olarak tanımlanmış bir kişiye ait DNA veya ‘normal’ olarak tanımlanan kişilere ait DNA’ların toparlanarak hazırlandığı DNA karışımları kullanılabilir. Diğer bir yaklaşım ise ‘halka hibridizasyon’ olarak adlandırılır. Bu yaklaşımda hasta DNA’sı, diğer iki hasta DNA’sı ile hibridize edilir (Şekil 2.4). Bu yaklaşımda üç hastanın da farklı fenotipte seçilmesi, aynı değişiklikleri taşıma olasılıklarını en aza indirmek için çok önemlidir (18).



Şekil 2.4. Referans seçiminde halka hibridizasyon sistemi.

Array CGH teknolojisindeki artmış çözünürlüğe rağmen bu yöntemde, küçük ve GC’den zengin CNV’lerde yanlış sonuç alınabilmektedir. Ayrıca, yüksek çözünürlüklü array CGH’ler CNV için kırık noktaları belirleseler de, bu nükleotid düzeyinde bir belirleme olmayacaktır. Array tabanlı kopya sayısı varyasyon çalışmalarında yanlış pozitif kopya sayısını en aza indirmek için validasyon da çok önemlidir (28).

Tüm genom kopya sayısı değişikliği analizinin en büyük zorluklarından biri, sağlıklı bireylerin genomunda da kopya sayısı değişikliklerinin olmasıdır. Hastalığa sebep olan varyantlar, klinik etkisi olmayan varyantlardan; sağlıklı kontrol çalışmaları ve etkilenmemiş ebeveyn çalışması ile ayırt edilebilir (5).

CMA'nın klinik olarak efektif çözünürlüğünü sensitivite ve spesifite arasındaki denge belirler. Analitik sensitivite temel olarak prob kapsamı, rezolüsyon ve array için seçilmiş problemlerin genomik aralıklarından etkilenir. CMA'nın konvensiyonel G-banttandan daha yüksek çözünürlükte genomik dengesizlikleri belirleyebilmesi için 5Mb'dan daha küçük klinik anlamlı genomik dengesizlikleri saptayabilmesi gerekir. CMA'nın klinik sensitivite karşılaştırmasının, tek gen hastalıklarına yönelik testlerle değil, G-bant karyotipleme ile yapılması uygundur (17).

CMA analizi için BAC-array, oligonükleotid array ya da SNP array kullanılabilir (3). Oligonükleotid array ile 500 Bp'ye kadar küçük değişiklikler saptanabilir (42). Çözünürlüğün arttığı durumlarda tanı gücü artmaktadır. Yüksek çözünürlük saptanan benign CNV sayısını da artıracak bu da sınıflamada ayırım yapılması gereken durumların artmasına neden olacaktır (18).

BAC array problemleri, oligo ya da SNP array problemlerinden büyüktür. BAC array problemleri 75,000-150,000 baz çifti uzunluğunda iken oligolar 50-60 baz çifti uzunluğundadır (41).

SNP arraylar, uniparental disomiye ve homozigoteyi de saptayabilmektedir (41).

CMA teknolojisinin gelişmesi ile hastalıklarla ilişkili CNV'lerin saptanmasının yanı sıra benign CNV'ler de tanımlanacaktır. CNV ile klinik bulgu ilişkilendirilirken insan genomundaki CNV'lerle ilgili veriler göz önüne alınmalıdır. HapMap örneklerinde kullanılan araştırma tabanlı tüm genom arrayleri göstermiştir ki benign CNV'lerin ortalama boyutu tahminen 200 Kb'dır ve CNV'lerin %90-95'i 500Kb'dan daha küçüktür (17).

Array CGH'ler ayrıca hedefe yönelik (*targeted*) ve tüm genom (*tiling*) olarak da sınıflandırılmaktadır.

Hedefe yönelik arrayler kromozomların telomer bölgelerini ve bilinen delesyon/duplikasyon sendromlarının tanımlı bölgelerini içerir. Tüm genomu kapsayan arrayler (BAC ve oligo arrayler) genellikle gelişme geriliği/entelektüel yetersizliği olan grupta tanımlı olan ve olmayan patolojik değişiklikleri saptar. Fakat yorumları için çoğu zaman ebeveyn çalışması gerekir. Böylece *de novo* ve kalıtılmış ayrımı yapılabilir (4, 45).

Array CGH, MKA/MR hasta grubunda ilk basamak test olarak önerilmesine rağmen hala hastaların %50'sinde altta yatan genetik sebep bulunamamaktadır. Bu nedenle yeni platformlar, teknolojik gelişmeler ve hastalıklarla ilişkili varyantların bulunmasına paralel olarak geliştirilmektedir. DD/ID ile ilişkili genlere ve intergenik bölgelere yoğun olarak odaklanmış 'ekzon hedefli' platformlar ile tanı gücü artırılmaya çalışılmaktadır (46).

Klinik olarak ilişkili olduğu düşünülen her CNV'nin; FISH, çoklu ligasyona bağlı prob amplifikasyonu (*multiplex ligation-dependent probe amplification - MLPA*), kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (*polimerase chain reaction - PCR*) gibi ikinci bir yöntemle doğrulanması önerilir. Kopya sayısı kaybında tüm yöntemler kullanılabilirken kazanımda FISH yakın sinyalleri ayırt edemeyebileceği için önerilmez. Eğer mümkünse bu doğrulama testleri ebeveynlerde de uygulanmalıdır (5, 18). Büyük kazanım/kayıp saptandığı durumlarda karyotip de doğrulamada ve ebeveynlerdeki olası translokasyon taşıyıcılığını göstermede kullanılacak yöntemler arasındadır (21). Bulunan kazanım ve kayıplar 'İnsanda Mendelien kalıtım gösteren hastalık ve genler için online veritabanı' (*Online Mendelian Inheritance in Men - OMIM*) (47), GeneReviews, 'İnsan kromozomal dengesizlik ve fenotip veritabanı' (48), (*Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources- DECIPHER*) (49) ya da bunlara benzer güncel arama motorlarından araştırılmalıdır (44, 45). Tüm bu çalışmalar tamamlandığında CNV'ler benign, patojenik ya da önemi bilinmeyen varyant (*variant of unknown clinical significance-VOUS*) olarak sınıflandırılır (Şekil 2.5) (13) .

2.3.CNV'lerin yorumlanması ve raporlanması

CNV çok nadir olduğunda ya da klinikle ilişkilendirilmiş literatür kısıtlı olduğunda, yorumu ve raporlanması laboratuvarlar arasında değişiklik gösterir. Genotip/fenotip tartışmasına yardımcı olmak, raporlama ve yorumlamada laboratuvarlar arasında uyum yakalayabilmek için Amerikan Tıbbi Genetik Kurulu (*American College of Medical Genetics - ACMG*) bir kılavuz düzenlemiştir (44).

Bu kılavuza göre (44):

CNV boyutu: Genel kural olarak çok büyük boyutlu CNV'ler benign, çok küçük CNV'ler ise klinik anlamlı kabul edilebilir. Fakat bu çok genel bu kabuldür ve tüm hastalar için geçerli değildir. Bu nedenle CNV'nin boyutu ile ilgili herhangi bir sınırlamanın raporda belirtilmesi; CNV karakterinin hasta takip bilgileri ile desteklenmesi ve array'in teknik özelliklerinin göz önüne alınması ile olmalıdır.

CNV'nin gen içeriği: CNV'nin gen içeriği klinik ilişkilendirme için çok iyi incelenmelidir.

A. Literatürde patojenik olarak belirtilen genleri içeriyor:

Bu durumda söz konusu CNV'nin hastalıkla ilişkili mutasyonla ilgisi dikkatlice sorgulanmalıdır:

1. Haployetmezlik nedeniyle klinik fenotipe yol açan gen, kopya sayısı kazanımıyla ilişkili fenotipe sebep olmayabilir.
2. Dominant hastalıkların mekanizması çoğunlukla gen dozaj bozukluğu değil fonksiyon kazanımı mutasyonlarıdır. Bu nedenle, bu genleri içeren CNV'lerin klinik anlamlılığı olmayabilir ya da bu CNV'ler tamamen farklı fenotipe yol açabilirler.
3. Genin bir bölümünü içeren kopya sayısı kazanımları kodlayan sekansta bozulmaya yol açabilir ve haployetmezlikle bir arada olması durumunda ileri inceleme yapılmalıdır.
4. Resesif hastalıklarla ilişkili tek kopya sayısı kayıpları sadece o durum için taşıyıcılık durumunu gösterir.

5. Genin sadece intragenik bölümünü içeren küçük CNV'lerin gen fonksiyonu üzerinde hiç etkisi olmayabilir.

B. Medikal literatürde tanımlı mutasyonu olmayan genler:

İnsanlar üzerinde yapılmış geniş çaplı çalışmalar olmadıkça model organizmalar ve in vitro çalışmalarla ilgili yorumlar spekülatif kalmaktadır.

C. CNV gen içermiyor:

Genel olarak laboratuvar politikası olarak bu CNV'ler raporlanmayabilir.

CNV'nin dozajı: Genel popülasyonda benign olarak raporlanan CNV'ler genel olarak kopya sayısı kazanımıdır. Eğer aynı bölgeyi kapsayan kopya sayısı kaybı varsa, ilk olarak patojenik olduğu düşünülür. Benzer olarak, genel popülasyonda heterozigot delesyon şeklinde gözlenen bir CNV, homozigot durumdayken patojenik olabilir.

'Normal' bireylerin klinik karakteri:

'Normal' popülasyonun nasıl seçildiği önemlidir. İnkomplet penetrans, ekspresyon farklılığı, başlangıç yaşı, imprinting etkisi için ebeveyn orijini; CNV'leri benign olarak sınıflamadan önce değerlendirilmesi gereken konulardır.

İnternal ve eksternal veri tabanlarından CNV'nin karşılaştırılması:

Bu karşılaştırma ile CNV'ler patojenik, VOUS ya da benign olarak gruplandırılır.

Klinik öneme göre sınıflandırma:

Patojenik:

Yayınlarda 'klinik anlamlı' olarak belirtilen CNV'lerin patojenik kabul edilmesi önerilir. Bu gruba eksik penetrans ve ekspresyon çeşitliliği olan çok sayıda CNV de dahildir (44). MR olgularındaki CNV'ler OMIM veri tabanında da mental retardasyonla ilişkilendirilmiş ise patojenik kabul edilir (5). Bu kategori büyük CNV'leri de kapsar.

CNV, literatürdeki hastanın CNV'si kadar büyük boyutta olmadığı durumda, klinik anlamlı olan küçük bir bölge ile örtüştüğü düşünülür. Hastadaki bu CNV'nin tam klinik etkisi bilinmemesine rağmen, kesin olarak patojenik olduğu kabul edilmektedir (44).

Klinik önemi bilinmeyen (VOUS):

Bu çok geniş bir sınıflamadır. İleride net olarak benign ya da patojenik olarak gruplanacak CNV'leri kapsar (44).

Bu vakalarda klinik ayırım için aile çalışması yardımcı olabilir. Çünkü *de novo* CNV varlığı patojenik olma yönünde güçlü bir kanıt sağlar. Fakat kalıtılan çok sayıda CNV, ekspresyon farklılığı, inkomplet penetrans, mikroarratde saptanamayan ebeveyndeki mozaik CNV ve olası ikinci bir mutasyon varlığı nedeniyle bilinmezliğini korur. Bu nedenle, hem hasta ve hem de sağlıklı popülasyonlarda karşılaştırmalı analizler yapmak CNV'lerin fonksiyonel önemi konusunda bilgilerimizi ilerletmemiz açısından çok faydalı olacaktır (22).

Daha sonra bu verilerin değerlendirilmesinde ve anlamının yorumlanmasında yararlı olacağı düşünülerek VOUS CNV'ler üç grupta toplanır:

- Klinik önemi bilinmeyen - olası patojenik
- Klinik önemi bilinmeyen- olası benign
- Klinik önemi bilinmeyen - alt sınıfı olmayan

Benign:

Hakemli yayınlar ya da veri tabanlarında benign varyant olarak raporlanan ve iyi tanımlanmış ve/veya polimorfizm kabul edilen CNV'ler bu grupta yer alır. Polimorfizm olarak sınıflamak için toplumun >%1'inde bulunduğu gösterilmesi gerekir (44).

ACMG klavuzuna göre yukarıda özetlendiği biçimiyle CNV'ler değerlendirilmektedir. Ancak günümüzde tüm merkezlerde bu klavuz tam olarak kabul görememektedir. Farklı laboratuvarlarda farklı algoritmalar oluşturulmaktadır. Bazen literatür bilgileri ve bu algoritmalar birbirleriyle çelişmektedir. Örneğin toplum çalışmalarına göre benign CNV'lerin %99'dan fazlası kalıtılır ve kalıtılan

CNV'lerin büyük kısmı 500 Kb'dan daha küçüktür. Patojenik kopya sayısı değişikliklerinin çoğu 1 Mb'dan daha büyüktür ve gene çoğu de novodur (17, 42, 45). Bu bilgi ACMG kılavuzundaki CNV boyutu ile ilgili genel bilgiyle çelişmektedir (44). Bu nedenle CNV'ler raporlanırken sadece boyutu göz önüne alınmamalıdır; hastalar bir süre klinik takibe de alınmalıdır.

Bu çelişkilere rağmen, patojenik, VOUS ya da benign CNV'leri tanımlanmada kullanılabilen ölçütler Tablo 2.2'de özetlenmiştir (17, 44).

Raporlama:

Belirlenen CNV'lerin raporunda; CNV'nin sitogenetik lokalizasyonu, dozajı (kayıp/kazanım – delesyon/duplikasyon), CNV büyüklüğü, lineer koordinatları, klinik önemi ve gen içeriği yer almalıdır. Ayrıca patojenik ve klinik önemi bilinmeyen CNV'ler için aile bireylerinde de test yapılması gerekliliği öneri olarak raporda belirtilmeli ve genetik danışmanlık verilmelidir (44, 50).

Bazı nadir durumlarda saptanan CNV'ler hastada;

1. Resesif bir durumun taşıyıcılığını,
2. Presemptomatik ya da kliniği fark edilmeyen semptomatik bir durumun varlığını,
3. Neoplazi ile ilişkili artmış riski gösterebilir.

Böyle durumların olabilirliği düşünülerek test öncesi ailelere/hastalara, yapılacak testin olası sonuçları ile ilişkili ayrıntılı bilgi verilmeli, ailelerden/hastalardan aydınlatılmış onam alınmalıdır (44). Onam çerçevesinde ailenin/hastanın verdiği karar doğrultusunda saptanan nadir durumla ilişkili bilgi raporlanmalı ve bu durumla ilişkili danışmanlık verilmelidir.

Tablo 2.2. CNV'nin patojenitesini belirleme. Miller ve ark. (2010)'dan alınmıştır.

İlk kriter		CNV'nin Muhtemel Davranışı	
		Patojenik	Benign
1.	a. Aynı CNV'nin sağlıklı ebeveynden aktarılması ^b		X
	b. CNV'nin ebeveynden genişlemiş ya da değişmiş aktarılması	X	
	c. Aynı CNV'nin etkilenmiş ebeveynden aktarılması	X	
2.	a. Sağlıklı bir akrabadaki CNV'ye benzer olması		X
	b. Etkilenmiş bir akrabadaki CNV'ye benzer olması	X	
3.	Genomik dengesizlik içeren CNV'nin sağlıklı bireylerden oluşmuş CNV veri tabanındakini aynen içermesi		X
4.	Genomik dengesizlik içeren CNV'nin DD/ID, MKA ya da otizm spektrumu hastalarına ait veri tabanları ile örtüşmesi	X	
5.	CNV'nin iyi bilinen genomik dengesizlik sendromu ile örtüşmesi (ör: Önceden yayınlanmış ya da iyi tanımlanmış delesyon/duplikasyon sendromu)	X	
6.	CNV'nin morbid OMIM genlerini içermesi ^c	X	
7.	a. CNV'nin genden zengin olması	X	
	b. CNV'nin genden fakir olması		X
Genel Bulgular^d			
1.	a. CNV'nin delesyon olması	X	
	b. CNV'nin homozigot delesyon olması	X	
2.	a. CNV'nin duplikasyon olması (bilinen dozaj sensitif gen içermeyen)		X
	b. CNV'nin amplifikasyon olması (1 kopya kazanımından daha büyük)	X	
3.	CNV'nin bilinen düzenleyici bileşenlerden (regulatory elements) yoksun olması		X
^a Tekli kopya sayısı değişikliği			
^b Etkilenmemiş ebeveynden aktarılan delesyon, resesif olan morbid OMIM genini içeriyor olabilir ve diğer ebeveynden aktarılan trans aleldeki nokta mutasyonu olması durumunda beraber patojenik etki yapabilir			
^c CNV, OMIM hastalığına sebep olduğu bilinen aynı tip mutasyonu göstermeli (ör: OMIM hastalığına yol açan aynı tip delesyon her zaman heterozigot inaktive edici mutasyon nedeniyle oluşmalı) ve fenotip de OMIM hastalığında beklenen şekilde olmalı			
^d Her durumun istisnaları görülmüştür			

CNV'nin klinik önemi bilinmediği zaman “*de novo*/kalıtılan” bilgisi büyük önem taşır. Probanddaki *de novo* CNV patojenik durum destekler. CNV'nin kalıtıldığı durumda ise, bu CNV'yi taşıyan ebeveyn klinik olarak çok iyi incelenmelidir.

- Ebeveynin etkilenmiş olması CNV'nin klinik önemi olduğunu düşündürür (44).
- Ebeveynin etkilenmemiş olması ise tam tersine CNV'nin klinik önemi olmadığını düşündürür. Fakat bu durumda mutlaka şunları göz önünde bulundurmak gerekir: Eksik penetrans, ekspresyon farklılığı, ebeveynde CNV'nin mozaik olması (5, 44), imprinting etkisi, mikroarrayde tespit edilemeyen ikinci bir değişikliğin ebeveynde olması (modifier gen vs), ebeveynde ve probandda CNV'nin farklı boyutta olması (ebeveyne farklı yöntemle bakılırsa gözden kaçabilir) ve X'e bağlı CNV'ler (X'e bağlı bir CNV erkek hastada ve klinik bulgu göstermeyen annesinde bulunursa ‘*non-manifesting carrier*’ olup olmadığının netleşmesi için anne tarafından erkek akrabanın incelenmesi önerilir) (44).

Eğer ebeveyn çalışılması mümkün değilse ve CNV bilinen genomik bozukluklarla daha önceden ilişkilendirilmemişse; aynı CNV'nin iki ayrı MR olgusunda tanımlanmış olması durumunda patojenik kabul edilir (5).

2.4. Kromozomal mikroarray analizinin kapsamı, sınırlılıkları

Cooper ve ark. gelişme geriliği/entelektüel yetersizliği ve multipl konjenital anomalileri olan 15,767 çocuk hastanın ve 8,329 sağlıklı yetişkin kontrolün CNV'lerini araştırmışlardır. Kraniofasial anomalileri ve kalp defektleri olan hastaların, epilepsi ya da otizmi olanlara göre CNV'lerden daha zengin olduğunu göstermişlerdir (51).

Girirajan ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada DD/ID ya da dismorfik bulgulara sahip ve bu durumlarla ilişkilendirilmiş patojenik CNV'leri olan 2312 olgu incelenmiştir. Olguların %10,1'inde primer genetik lezyona ek olarak ikinci bir CNV varlığını gözlemlemişler ve iki geniş VOUS taşıyan olguların kontrol grubuna göre sekiz kat daha fazla gelişme geriliğine sahip olduklarını saptamışlardır (52).

CMA kullanımı CNV'lerin kısa sürede belirlenmesini sağlayan yöntem olmakla birlikte kısıtlı olduğu durumlar da vardır:

Array CGH ile dengeli kromozomal değişiklikler ayırt edilemez. Dengeli translokasyonlar, inversiyonlar saptanamaz. Regüler trizomi/dengesiz robertsonian translokasyon ayırımı yapılamaz.

Eğer yanlış cinsiyet kontrol olarak kullanılırsa XYY kuruluşu saptanamayabilir (43).

Marker kromozom, büyüklüğüne, gen içeriğine ve prob kapsamına bağlı olarak gözden kaçabilir (43).

Array ile mozaizm saptanabilmektedir. Fakat, en düşük hangi seviyede saptandığı tartışması otörler arasında sürmektedir. Genel görüş %30 altındaki mozaizm saptanmasının zor olduğu yönündedir (43).

Bazı array türlerinde triploidi saptanamamaktadır (41).

Array gelişmiş bir test olmasına karşın aşağıdaki durumlarda ilk basamak olarak önerilmez (41):

Yaygın anöploidilerde (trizomi 21, trizomi 18 gibi) konvansiyonel sitogenetik analiz yapılması önerilir.

Fenotipik olarak normal bireylerde ailesel kromozomal düzensizlik öyküsü olması durumunda ya da habitüel düşük öyküsünde konvansiyonel sitogenetik analiz yapılması önerilir.

İyi tanımlı mikrolezyon sendromlarında FISH analizi önerilir.

G-bant karyotip, CMA'nın saptayamadığı dengeli değişiklikleri ve düşük düzey mozaizmi saptaması nedeniyle önemlidir. Fakat MKA/MR hasta grubunda öncelikle CMA yapılması önerilir. Çünkü; gerçek dengeli yeniden düzenlenmeler bu hasta grubunun genetik etiolojisinde çok küçük bir bölümü oluşturur.

G-bant düzeyinde 'dengeli görünen' yeniden düzenlenmeler, DNA düzeyinde büyük olasılıkla dengeli değildir ve bu durum CMA ile gösterilebilir (17).

CMA'nın sınırlamalarına rağmen birçok üstün yönü olduğu kabul edilmektedir.

CMA submikroskopik duplikasyonları saptamada FISH'den daha üstündür. Çünkü metafaz FISH analizinde tandem duplikasyonları görüntülemek teknik olarak zordur ve CMA'nın çözünürlüğü daha yüksektir (4, 17).

- Karyotip analizinin aksine array CGH için bölünen hücre gerekmez. Bu nedenle post mortem dokularda uygulanabilir (4).
- Çoğu DD/ID hastasında konvansiyonel karyotip yerine CMA'yı kullanmak maliyet olarak yararlı bulunmuştur. İlk basamak olarak konvansiyonel karyotip, daha sonra CMA kullanılmasının; CMA'nın ilk basamakta kullanılmasına göre daha fazla bilgi vermediği ve ek olarak maliyeti artırdığı gösterilmiştir (53).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine başvuran, dismorfik bulguları ve/veya mental retardasyonu (MKA/MR) olan 30 hastada array CGH yapılmıştır. Araştırma kapsamındaki hastalarda, rutin algoritmamız çerçevesinde yapılan konvansiyonel sitogenetik, subtelomerik FISH ve erkek hastalarda da fragman analizi ile Frajil X testleri çalışılmış ve normal olarak bulunmuş, bu hastalarda dismorfik bulguların ve/veya mental retardasyonun nedeni açıklanamamıştır.

Çalışma için etik kurul onayı, 22 Eylül 2014 tarihinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan alınmıştır.

Çalışmaya geriye dönük dosya taraması sonucu 2002-2014 yıllarında polikliniğimize başvurmuş olan 22 hasta ve 2015-2016 yıllarında başvuran sekiz hasta alınmıştır.

Tüm hastalardan, rutin poliklinik onam formu yanı sıra araştırma kapsamında hazırlanan onam formu alınmıştır.

Araştırmaya dahil olma ölçütleri

- Klinik olarak mental retardasyona eşlik eden en az bir bulgusunun olması
- Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklinik onam formunun ve çalışma kapsamında hazırlanan onam formunun imzalanmış olması
- Hastaların konvansiyonel sitogenetik, subtelomerik FISH ve erkek hastalarda Frajil X test sonuçlarının normal olması
- Anne-baba arasında tanımlı bir akrabalık bulunmaması

Araştırmaya dahil olmama ölçütleri

- Dahil olma ölçütlerinden en az birini sağlamamak olarak belirlenmiştir.

3.1. Yöntem

Hastaların periferik venöz kan örneklerinden (5 ml) elde edilen DNA ile CMA analizi yapılmıştır.

3.1.1. DNA izolasyonu

'MasterPure™ Complete DNA Purification Kit' ile manuel izolasyon yapılmıştır.

DNA izolasyon protokolü (54):

Eritrositlerin lizisi:

- 15 ml falkon tüpüne 3 ml etilendiamin tetraasetik asit (EDTA)'lı periferik kan örneği mikropipet yardımı ile transfer edildi.
- Üzerine 9 ml kırmızı kan hücresi (*red blood cell* - RBC) lizis tamponu eklendikten sonra kuvvetlice karıştırıldı (vorteks).
- Örnek 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 2000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatanı pastör pipet yardımı ile pelete dokunmadan, olabildiğince uzaklaştırıldı.
- Pelet üzerine 4,5 ml RBC lizis tampon ilave edilerek kuvvetlice karıştırıldı.
- 2000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.
- Süpernatant pastör pipet yardımı ile pelete dokunmadan, olabildiğince uzaklaştırıldı.

DNA izolasyonu:

- Hücre peleti üzerine 1,5 ml doku ve hücre lizis solüsyonu eklendi ve karıştırıldı.
- Üzerine 5 µl RNase A ilave edildi ve tüpün kapağı kapatılarak hafifçe karıştırıldı.
- Tüp 37°C'ye ayarlanmış etüvde, 15 dakikada bir karıştırılarak, 60 dakika inkübe edildi.

- Etüvden çıkarılan tüp buz üzerinde 5 dakika bekletildi.
 - Örnek üzerine 700 µl MPC protein presipitasyon reaktifi eklenerek 10 saniye kuvvetlice karıştırıldı.
 - Örnek mikropipet yardımı ile 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi.
 - 10.000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.
 - Süpernatant 15 ml'lik temiz bir falkon tüpüne transfer edildi.
 - Üzerine 2,5 ml soğuk izopropanol eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
 - Tüpü 30-40 defa aşağı yukarı sallayarak DNA'nın tamamen presipite olması sağlandı.
 - 3.500rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
 - Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı.
 - Üzerine 1 ml %70'lik etanol ilave edildi ve pastör pipeti yardımıyla pelet havalandırılarak alkolüyle birlikte daha önceden barkod yapıştırılan 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne transfer edildi.
 - 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı.
 - Pelet üzerine 1 ml %70'lik etanol ilave edildi.
 - 13.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, süpernatant mikropipet yardımıyla tamamen uzaklaştırıldı.
 - Tüp ters çevrilerek 15-20 dakika kurumaya bırakıldı.
 - DNA üzerine önceden 65°C'ye ısıtılmış trisEDTA (TE) tampon çözeltiden 80 µl ilave edildi.
 - Tüp 65°C'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda 10 dakika bekletildi.
 - Tüp hafif spin santrifüjün ardından 37°C'ye ayarlanmış etüvde bir gece inkübe edildi.
 - Tüp hafif spin santrifüj yapılarak spektrofotometrik ölçüm ve agaroz jel elektroforezi işlemleri gerçekleşinceye kadar +4°C'de saklandı.
- Ölçümler spektrofotometre ile yapıldı.

3.1.2. CMA analizi

Çalışma için Oxford Gene Technology (OGT) CytoSure ISCA v2 (4x180k) Microarray Kiti kullanılmıştır. Bu mikroarray kapsamında toplam 180,000 prob okunmakta olup, prob yoğunluğu hedefli bölgelerde 19 Kb, diğer bölgelerde 25 Kb aralıklarla tasarlanmıştır.

Hasta ve referans DNA'nın florokromla işaretlenmesinde kit kapsamındaki malzemeler kullanıldı ve tüm reaksiyon kondüsyonları kitin kullanım kılavuzu çerçevesinde gerçekleştirildi. Hibridizasyon için 'SciGene Mai Tai hibridizasyon sistemleri', yıkama için 'Agilent Little Dipper İşlemci', tarama için 'Agilent DNA mikroarray tarayıcı' kullanıldı.

Microarrayde taranarak elde edilen verinin log₂ bilgisine dönüştürülmesinde 'Agilent Feature Extraction' (Özellik Çıkarımı) versiyon 12 yazılımı kullanıldı. Bu aşamadan sonra her örneğin kalite kontrol değerleri incelendi. Derive log oranı (*Derivated log ratio*)'nın 0,2'nin altında olması, yeşil ve kırmızı sinyal/gürültü oranınının 30'un üzerinde olması yeterli kalitede örnek olarak kabul edildi. Bu değerleri sağlamayan hasta örnekleri tekrar çalışıldı. Kontrol sonucu ham veriler 'CytoSure Circular Binary Segmentation' (Dairesel ikili segmentasyon) yazılımı ile işlendi ve belirlenen ölçütlere göre yazılım, kopya sayısı değişikliği olan bölgeleri belirledi. Birbirini izleyen en az dört probda eşik değer olarak belirlenen (+/-0,36) değerinin dışında ve sıfır çizgisinin aynı tarafında saptanan patolojik sinyal CNV olarak değerlendirildi. CNV'lere ait lineer koordinatta insan genomu 19 (*hg-human genome*) versiyonu kullanılmıştır.

Belirlenen CNV'ler hasta ve sağlıklı veritabanlarına ait raporlar, DECIPHER, OMIM ve güncel literatür bilgisi derlenerek incelendi ve benign, benign olarak tanımlanmayan fakat hasta fenotipi ile de ilişkilendirilememiş olan, patojenik olarak gruplandırıldı.

Belirlenen tüm CNV'lerin içerdikleri genler, gen/dozaj ve genotip/fenotip ilişkileri incelendi. 200 Kb'ın üzerindeki saptanan tüm değişiklikler raporlandı. Benign olmayan CNV'lerden 200 Kb'ın altında olanlar:

- Herhangi bir genotip fenotip ilişkisine sahip genler içerdikleri,
- Hastanın fenotipiyle ilişkili genler içerdikleri,

- Hastanın fenotipi ile direkt ilişkisi gösterilmemiş fakat muhtemel ilişkili gen içerdiklerinde raporlandı.

Raporlarda belirtilen tüm değişikliklerin hasta fenotipi ile ilişkisinin olup olmadığı güncel literatür taraması sonucu belirtildi.

Çalışma sonucunda ailelere genetik danışmanlık verildi.

Genotip-fenotip ilişkisinin daha net ortaya konabilmesi için tanımlı olmayan CNV'ler için anne-baba çalışması ve toplum çalışması yapılması amacıyla bu araştırmanın devamı olan bir çalışmanın yapılması hedeflenmektedir. Bu çalışma sonrasında yeni tanımlanan CNV'ler klinikle ilişkilendirilerek değerlendirilecektir.

Çalışmaya on dokuz erkek, on bir kadın hasta katılmıştır. Yirmi sekiz hasta için halka hibridizasyon sistemi kullanılmış ve aynı halkada bir hastaya ait DNA, diğer iki hasta DNA'sı ile hibridize edilmiştir (Tablo 3.1). İki hasta için de ticari olarak üretilmiş 'normal XX referans' kullanılmıştır. Halka hibridizasyon ekonomik olması nedeniyle tercih edilmiştir. Bir halkada üç hasta olması, halkaya oluşturulamayan iki hasta bulunması nedeniyle iki olgu için de ikili hibridizasyon yapılmıştır.

Tablo 3.1. Halka hibridizasyon sisteminde olguların yerleşimi

Halka no	Cy5 (Olgu no)	Cy3 (Olgu no)
1	5	1
	1	2
	2	5
2	12	4
	4	24
	24	12
3	9	30
	30	10
	10	9
4	18	19
	19	15
	15	18
5	23	22
	22	13
	13	23
6	17	6
	6	25
	25	17
7	3	21
	21	26
	26	3
8	7	11
	11	28
	28	7
9	5*	13
	13*	27
	27	5
10	3*	21
	21*	26
	26*	3
11	7*	11
	11*	28
	28*	7
12	29	16
	16	20
	20	29

*Kalite kontrol parametrelerinin yeterli olmaması nedeniyle hastalar tekrar edilmiştir.

Halka hibridizasyon sisteminde hasta Cy5, o hastayla hibridize edilen diğer hasta Cy3 ile işaretlenmiştir. Hibridizasyon sonrası aynı olguya ait Cy3 ve Cy5 ile tespit edilen değişiklikler karşılaştırılmış, her ikisinde de olan değişiklikler anlamlı kabul edilerek incelenmiştir.

Olgu 8 ve Olgu 14 için ticari olarak üretilmiş ‘normal XX referans’ kullanılarak çift hibridizasyon yapılmıştır (Tablo 3.2). İlk hibridizasyonda olgular

Cy5, referanslar Cy3 ile; ikinci hibridizasyonda ise olgular Cy3, referanslar Cy5 ile işaretlenmiştir. Daha sonra aynı olguya ait Cy3 ve Cy5 ile tespit edilen değişiklikler karşılaştırılmış her ikisinde de olan değişiklikler anlamlı kabul edilerek incelenmiştir.

Tablo 3.2. Olgu 8 ve Olgu 14 için kullanılan çift hibridizasyon yöntemi

Olgu no	Cy5	Cy3
8	Hasta	XX referans
	XX referans	Hasta
14	Hasta	XX referans
	XX referans	Hasta

Array CGH laboratuvar protokolü (55)

Birinci gün:

Denatürasyon

Tüpler hasta ve referans için etiketlendi.

- Hasta ve referans DNA'sından 500 ng eklendi ve volüm su ile 9 µl'ye tamamlandı (500 ng DNA + H₂O = 9 µl)
- Her tüpe 5 µl *random* primer ve 5 µl reaksiyon tamponu eklendi.

Tüpler homojenize edildi.

Isı döngüleyici (*Thermocycler*)'de 98⁰C'de 20 dakika inkübe edildi, ardından 4⁰C'de en az 10 dakika örnekler tutuldu.

İşaretleme

- Her tüpe dNTP işaretleme karışımından 5 µl eklendi.
- Cy3 ile işaretlenecek örneklerin tüplerine 0.5 µl Cy3, Cy5 ile işaretlenecek örneklerin tüplerine 0.5 µl Cy5 eklendi.
- Her tüpe 0.5 µl Klenow eklendi.

Tüpler hazırlandıktan sonra ışık geçirmeyen alüminyum malzeme ile kaplanarak 37⁰C'lik pastör fırınında gece boyu bekletildi.

İkinci gün

Arıtma (Purification)

- Hibridizasyon sayısı kadar spin kolon ve 2 ml'lik tüpler etiketlendi.
- Spin kolonlar vortekslendi ve kolonun altındaki koruyucu parça uzaklaştırıldı.
- 2x1000 rcf (*relative centrifugal force* - rölatif santrifüj kuvveti)'de 1 dakika santrifüj edildi.
- Spin kolonun alt parçası atılarak temizleme sütunu 2 ml'lik tüplere yerleştirildi.
- Her hibridizasyon tasarımına ait Cy3 ile işaretli örnekler, Cy5 ile işaretli örnekler ile karıştırıldı.
- Bir araya getirilen örnekler spin kolona aktarıldı.
- Tüpler 2x1000 rcf'de 1 dakika santrifüj edildi ve santrifüj sonunda kolonlar atıldı.

Bloke etme ve hibridizasyon:

- Her tüpe 5 µl Cot-1 DNA, 11 µl Agilent bloklama solüsyonu ve 55 µl 2xhibridizasyon tamponu eklendi.

Tüpler yüksek hızda homojenize edildi.

95°C'de hazırlanmış su banyosunda 10 dakika bekletildi.

37°C pastör fırınında en az 30 dakika bekletildi.

Mikroarray aşaması:

Döndürücü fırının kasetlerine hasta sayısına yeterli olacak sayıda kuyucuklu lam yerleştirildi (4x180K mikroarrayde bir lama dört ayrı hibridizasyon örneği yüklenebiliyor).

Her kuyucuğa 110 µl örnek yüklendi.

Tüm örnekler yüklendikten sonra mikroarray içeren lam, kuyucuklu lam üzerine kapatıldı.

Kaset kapatılıp 65°C'ye ayarlanmış döndürücü fırında en az 16 saat bekletildi.

Üçüncü gün:

Yıkama:

Yıkama solüsyonu 1: 975 ml H₂O, 25 ml 20xSSPE (*Saline-sodium phosphate EDTA* - salin sodyum fosfat EDTA), 0.25 ml %20'lik N-lauroilsarkozin ile hazırlandı.

Yıkama solüsyonu 2: 995 ml H₂O, 5 ml 20xSSPE, 0.25 ml %20'lik N-lauroilsarkozin ile hazırlandı.

Yıkama solüsyonu 1, iki ayrı şaleye konuldu. İlkinde oda sıcaklığında manuel yıkama ile kuyucuklu lam düşürüldü ve yıkamaya 10 saniye devam edildi.

Agilent Little Dipper İşlemci ile örnekler yıkama solüsyonu 1 ile bir dakika oda sıcaklığında, yıkama solüsyonu 2 ile 37⁰C'de beş dakika yıkandı.

Mikroarray lamalarının kurumasının ardından örnekler Agilent DNA mikroarray tarayıcıya yüklendi.

3.2. Olgular

Çalışmaya alınan tüm olgularda anne-baba akrabalığı bulunmazken, karyotip analizi, subtelomerik FISH incelemesi ve Frajil X'e yönelik *FMRI* (*Fragile X mental retardation 1* (Frajil X mental retardasyon 1) geni CGG tekrar sayısı fragman analizi ile normal olarak değerlendirilmiştir. Hastalarımızda yapılmış olan ek genetik testlerin sonuçları ayrıca her olgunun devamında belirtildi.

3.2.1. Olgu 1

Yaş – cinsiyet: 22 yaş - erkek

İlk başvuru yaşı: 18 yaş

Geliş nedeni: MKA/MR

Özgeçmiş: Olgumuz, 23 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden ilk yaşayan olarak normal vajinal yol (NVY) ile term, gebelik yaşına göre normal (NGA) olarak doğmuş. Başını 2. ayda tutmuş, 8. ayda desteksiz oturmuş, bir yaşında yürümüş. İki yaşında, konuşma gecikmesi nedeniyle ailenin hastaneye başvurusu sonucunda mental retardasyon tanısı almış. Orta derece mental retardasyon tanısı ile okul

dönemi süresince izlenmiş. Zaman zaman irritabilite ve agresif davranış paterni de sergiliyormuş. Ek olarak, 13 yaşında esansiyal hipertansiyon, 16 yaşında grade 1 hipertansiyon ve hiperlipidemi tanısı almış. Etiyolojiye yönelik yapılan tetkikler sırasında sol böbrek ve sol testiste atrofi saptanmış.

Soygeçmiş: Olgumuzun anne tarafından 4. derece iki akrabasında ve babasının babasında hafif mental retardasyon öyküsü bulunmaktadır. Olgumuzun kardeşi bulunmamaktadır.

Muayene bulguları (18 yaş)

- Boy; 171 cm (10-25 persentil), kilo; 81 kg (75-90 persentil) ve baş çevresi; 57 cm (75-90 persentil)
- Penis boyutu; 7 cm (9-15 cm), mikropenis
- Testis; sağ testis: 3 cc, sol testis: 1 cc'nin altında (Normal değerler: 20-29 cc)
- El ölçümü: 17 cm (3-25 persentil), ayak ölçümü: 24 cm (3 persentilin altında)
- Belirgin dismorfik bulguya rastlanmadı.

Laboratuvar bulguları

Kan biyokimya:

- VLDL kolesterol: 50 mg/dl (Normal değerler: <30 mg/dl)
- Trigliserid: 250 mg/dl (Normal değerler: <150 mg/dl)
- Kanda açlık insülin: 34 µIU/ml (Normal değerler: 4,1-20 µIU/ml)
- Açlık kan şekeri: 88 mg/dl (Normal değerler: 74-106 mg/dl)
- Üriner ultrasonografi (USG) (17 yaş): Sol böbrek görüntülenemedi, sağ böbrek 110x40 mm boyutlarında olup parankim kalınlığı 13 mm
- Renal kortikal sintigrafi (17 yaş): Sol böbrek atrofik
- Skrotal ultrosonografi (17yaş): Sağ testis; 21x14x10 mm, sol testis; 12x7x8mm

3.2.2. Olgu 2

Yaş - cinsiyet: 14 yaş 2 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 10 yaş 10 ay

Geliş nedeni: MKA/MR

Özgeçmiş: Olgumuz, 25 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ilk yaşayan olarak 'cesarean section' (C/S) ile termde, gebelik yaşına göre küçük (SGA) olarak doğmuş. Başını 4. ayda tutmuş, 9. ayda desteksiz oturmuş, 14. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. SGA nedeniyle izlenen olgu, yenidoğan döneminde atriyal septal defekt (ASD) ve pulmoner stenoz (PS) tanısı almış. ASD onarım ameliyatını 2 yaş 6 aylık iken geçirmiş. 1 yaş 6 aylık iken absans nöbetleri fark edilmesi üzerine medikal tedavi başlanmıştır. Nöbetlerin devam etmemesi üzerine 6 yaşında medikal tedavi kesilerek izleme alınmıştır. Bilateral inguinal herni ve bilateral hidrosel nedeniyle de 6 yaşında opere olmuştur. Hafif derece mental retardasyon nedeniyle izleniyor.

Soygeçmiş: Olgumuzun anne tarafından 4. derece akrabasında öğrenme güçlüğü olduğu belirtildi ve bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (10 yaş 10 ay)

- Baş çevresi; 49 cm (3 persentilin altı), boy; 137cm (3-10 persentil), vücut ağırlığı; 32 kg (25-50 perstentil)
- Yüksek damak, bilateral pes planus ve halluks valgus deformitesi, ayak 2.-3. parmaklarda parsiyel sindaktili saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial manyetik rezonans görüntüleme (MRG) (10 yaş): Normal.

3.2.3. Olgu 3

Yaş - cinsiyet: 5 yaş 8 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 7 ay

Geliş nedeni: MKA/MR

Özgeçmiş: Olgumuz, 25 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA olarak doğmuş. Yenidoğan döneminde bilateral korneal opasite, mikrokornea, anal darlık, hipotonisite tanıları almış. Olgu, 5 yaşında iken destekli oturuyor ve 5 kelime konuşabiliyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun iki sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (7 ay)

- Baş çevresi; 39 cm (3 persentilin altı), boy; 64 cm (3-10 persentil), vücut ağırlığı; 4500 g (3 persentilin altı)
- Hipotonisite, bilateral mikrooftalmi, mikrokornea, korneal opasite, yüksek damak ve belirgin periumblikal cilt dokusu saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kan amino asitleri ve tandem mass spektrofotometri: Normal
- Ekokardiyografi: Persisten sol superior vena kava ve çıkan aortada genişlik
- Toraks BT: Sol hemidiyafragma yüksek konumlu
- Özofagografi: Normal
- VEP (*visual evoked potential* - görsel uyarılmış potansiyel): Bilateral uzama
- Kraniyal MRG (1 aylık): Posterior fossa arka kesimde araknoid kist veya megasisternaya ait olduğu düşünülen görünüm
- Orbital MRG (1 aylık): Bilateral bulbus okuli, ekstraoküler kaslar, retro-orbital yağ dokusu, optik sinirlerin intraorbital parçaları, optik kiazma ve her iki lakrimal gland normal

Ek genetik testler

- Dış merkezde DiGeorge Sendromu'na yönelik yapılan FISH incelemesi: 46,XX.ish22q11.2(N25x2)[20]
- Axenfield Rieger Sendromu ön tanısına yönelik *FOXCI* ve *PITX2* genlerinin dizi analizi ve MLPA analizi: Normal

3.2.4. Olgu 4

Yaş - cinsiyet: 15 yaş 2 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 14 yaş 1 ay

Geliş nedeni: MMR, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 21 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak NVY ile preterm, NGA olarak doğmuş. Başını 5. ayda tutmuş, 18. ayda desteksiz oturmuş, 4 yaşında yürümüş. Motor gelişimi hep geri seyreden olgu, anlaşılır konuşmaya 7 yaşında başlamış. Orta derece mental retardasyon tanısı ile izleniyor. Self mutulizm ve saldırgan davranışlar nedeniyle 14 yaşında medikal tedavi başlanmış. 15 yaşında iken 2-3 kelimelik cümleler kurabiliyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun sağlıklı bir kız, bir de erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (14 yaş 1 ay)

- Baş çevresi; 55 cm (75 persentil), boy; 172 cm (50-75 persentil), vücut ağırlığı; 67 Kg (75-90 persentil)
- Kulakları $>+2$ SD (*standard deviation* – standart sapma) olan olguda kulak helikal hipoplazisi ve kepçe kulak yapısı var. Diğer dismorfik bulguları arasında; geniş alın, yüksek damak ve makrognati bulunuyor.
- El ölçümü: 21 cm (97 persentilin üzerinde) ve ayak 3, 4 ve 5. parmaklarında klinodaktili ve bilateral halluks valgus deformitesi saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kraniyal MRG (13 yaş): Normal

3.2.5. Olgu 5

Yaş - cinsiyet: 11 yaş 10 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 4 yaş 7 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 20 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden ilk yaşayan olarak C/S ile term, NGA olarak doğmuş. Başını 6. ayda tutmuş, 12. ayda desteksiz

oturmuş, 2 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 3 yaşında söylemiş. Olgumuz ağır derece mental retardasyon nedeniyle izlenmekte. 10 yaşında iki kelimelik cümleler kurabiliyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (4 yaş 7 ay)

Boy;99 cm (3 persentilin altı), kilo; 13 kg (3 persentilin altı) ve baş çevresi; 44 cm (3 persentilin altı)

- Belirgin mikrosefalisi, brakisefalisi, üçgen yüzü ve yüksek damağı vardı. Gözleri derin yerleşimli olmakla birlikte göz dibi muayenesi normaldi. Diş sağlığı kötüydü ve maloklüzyon vardı.
- El beşinci parmaklarda bilateral klinodaktili saptandı.
- Ayak parmak uçlarında yürüyordu. Alt ekstremitede tonus artışı ve bilateral (+) babinski bulgusu vardı.
- Olgunun dizartrik konuşması vardı.

Laboratuvar bulguları

- BAER (*brainstem auditory evoked response* (beyin sapı işitsel uyarılmış yanıt) testi: Normal
- Kraniyal MRG (2 yaş): Periventriküler demiyelinizasyon ve kolozal atrofi

Ek genetik testler

- Silver-Russell Sendromu'na yönelik metilasyon spesifik MLPA sonucu: Normal

3.2.6. Olgu 6

Yaş - cinsiyet: 13 yaş 5 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 10 yaş 9 ay

Geliş nedeni: MMR, pitoz

Özgeçmiş: Olgumuz, 26 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden ilk yaşayan olarak NVY ile term, NGA olarak doğmuş. Başını 12. ayda tutmuş, 16. ayda desteksiz oturmuş, 18. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. Motor ve mental gelişimi geri olan olgu pitoz ve nazolakrimal kanal tıkanıklığı nedeniyle 10 yaşında opere edilmiş. Ağır derece mental retardasyon nedeniyle izleniyor.

Soygeçmiş: Olgumuzun öz kardeşi yok, dört sağlıklı üvey kardeşi var.

Muayene bulguları (10 yaş 9 ay)

- Boy; 148cm (75-90 persentil), kilo; 33 kg (50. persentil) ve baş çevresi; 52cm (10-25 persentil)
- Kepçe kulak, sol gözde pitoz, retrognati saptandı.
- Hafif pektus ekskavatum ve bilateral pes planus saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial MRG (10 yaş): Lateral ventriküllerde hafif genişlik ve sol lehine asimetri, perivasküler boşluklar belirgin ve maksiller sinüste retansiyon kisti

3.2.7. Olgu 7

Yaş - cinsiyet: 7 yaş 3 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 2 yaş 7 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: İntrauterin gelişme geriliği nedeniyle izlenen olgumuz, 27 yaşındaki annenin 4. gebeliğinden 2. yaşayan olarak C/S ile preterm, SGA olarak doğmuş. Başını 9. ayda tutmuş, 19. ayda desteksiz oturmuş, 5 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. Motor gerilik, büyüme geriliği, strabismus, hipermetrobi ve epilepsi nedeniyle izleniyor.

Soygeçmiş: Ailenin 34. hafta intrauterin ex ve 14. hafta abort öyküsü var. Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (2 yaş 7 ay)

- Boy; 85 cm (3-10 persentil), kilo; 9,5 kg (3. persentilin altı) ve baş çevresi; 43 cm (3. persentilin altı)
- Olgumuzda sinofriz, strabismus, bilateral epikantus, uzun kirpik yapısı, düşük alın ve ense saç çizgisi, yüksek burun kökü, yüksek damak ve seyrek diş yapısı vardı.
- Eklemlerde laksisite kaydedildi.

Laboratuvar bulguları

- Kraniyal MRG (3 yaş): Bilateral frontonazal basitleşmiş girial desen, silik sulkal görünüm ve gri cevherde kalınlaşma

3.2.8. Olgu 8

Yaş - cinsiyet: 4 yaş 2 ay - kız

İlk başvuru yaşı: Yenidoğan dönemi

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 34 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden birinci yaşayan olarak C/S ile preterm, SGA olarak doğmuş. Prenatal USG' de club foot, sağ el 2. ve 3. parmaklarda distal falanks agenezisi ve hidrosefali saptanmış. Fetal distress nedeniyle doğum gerçekleştirilmiş. Olgu, başını 7. ayda tuttu, 14. ayda desteksiz oturdu, 28. ayda yürüdü. Olgu üç yaşında iken iki kelimelik cümleler kurabiliyordu ve dil işlevlerinde yetersizlik vardı. Ayrıca öğrenme ve kavramada da yaşıtlarından geride olduğu gözlemlendi.

Soygeçmiş: Olgumuzun kardeşi bulunmamaktadır.

Muayene bulguları (9 ay)

- Boy; 68 cm (10-25 persentil), kilo; 8,5 kg (50. persentil) ve baş çevresi; 44cm (50. persentil)
- Şaşılık, hafif mikrognati vardı.

- Sağ el 2. parmak orta ve distal falanks ve 3. parmak distal falanks agenezisi ve sağ ayakta club foot deformitesi vardı.

Laboratuvar bulguları

- Kraniyal MRG (3 yaş): İntraventricüler septum izlenmedi, III. ve lateral ventriküller geniş, periventricüler beyaz cevherde gliosis alanları ve ince korpus kallozum

Ek genetik testler

- Miller Dieker Sendromu'na yönelik yapılan FISH incelemesi:
46,XX.ish17p13.3(LISx2)[20]

3.2.9. Olgu 9

Yaş - cinsiyet: 1 yaş 5 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 8 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 26 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden birinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA olarak doğmuş. Yenidoğan döneminde hipotoni ve bilateral katarakt tanısı alan olgumuza 6 haftalık iken lensektomi ve ön vitrektomi yapılmış. Sekiz aylıkken başını prone pozisyonunda kısa süreliğine tutabiliyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun kardeşi bulunmamaktadır.

Muayene bulguları (8 ay)

- Boy; 64 cm (3-10 persentil), kilo; 7,5 kg (25-50 persentil) ve baş çevresi; 45 cm (75-90 persentil)
- Frontal bossing, uzun yüz yapısı, yüksek damak, uzun filtrum, kısa boyun yapısı saptandı.
- Gövde ve ekstemite hipotonisi, strabismus ve nistagmus saptandı. Obje takibi yoktu.
- Sol kriptorşidizmi vardı.

Laboratuvar bulguları

- Tam idrar tetkiki: 1+ proteinüri
- Kan amino asitleri, tandem mass spektrometri, idrar organik asitleri, çok uzun zincirli yağ asitleri ve biotinidaz aktivitesi: Normal
- Toxoplazmozis, rubella, sitomegalovirus, herpes simpleks virus (TORCH): Negatif
- Kardiyak ekokardiyografi: Patent foramen ovale (PFO)
- Kranial MRG (4 aylık): Araknoid kist gözlenmiş olup inferior vermis hafif hipoplazik, korpus kallozum belirgin ince, solda küçük koroid kisti

3.2.10. Olgu 10

Yaş - cinsiyet: 18 yaş - erkek

İlk başvuru yaşı: 10 yaş 7 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 30 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA olarak doğmuş. Başını 10. ayda tutmuş, 2 yaşında desteksiz oturmuş, 3 yaş 6 aylık iken yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 9 yaşında söylemiş. Ağır derece mental retardasyon ve epilepsi nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (10 yaş 7 ay)

- Boy; 152,5 cm (75-90 persentil), kilo; 37 kg (50-75 persentil) ve baş çevresi; 52,5 cm (25-50 persentil)
- Sinofriz, yüksek burun kökü ve prognatizm saptandı.
- Bilateral kollarda fleksiyon tonus artışı ve sarsak yürüyüşü saptandı.
- Hafif pektus ekskavatumu vardı.

Laboratuvar bulguları

- Krainial MRG (7 yaş): Serebral sulkuslar ve fissürler atrofiye görünümde

3.2.11. Olgu 11

Yaş - cinsiyet: 15 yaş 11 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 6 yaş 2 ay

Geliş nedeni: MMR, obezite, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 28 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 6. ayda tutmuş, 9. ayda desteksiz oturmuş, 18 aylık iken yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. Olgumuz; orta derece mental retardasyon, dismorfik yüz görünümü ve obezite nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (6 yaş 2 ay)

- Boy; 116 cm (25-50 persentil), kilo; 37 kg (97 persentilin üzeri) ve baş çevresi; 52,5 cm (50-75 persentil)
- Yüksek burun kökü, düşük ense ve alın saç çizgisi, kısa boyun saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial MRG (6 yaş): Serebellum sol yarıda T2 ağırlıklı görüntüde hiperintens sinyal özelliğinde milimetrik birkaç odak

Ek genetik testler

- Prader Willi Sendromu'na yönelik yapılan metilasyon spesifik PCR: Normal
- Prader Willi Sendromu'na yönelik yapılan FISH:
46,XX.ish 15q11.2(SNRPNx2)[20]

3.2.12. Olgu 12

Yaş - cinsiyet: 9 yaş 5 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 4 yaş 9 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 25 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Başını 5. ayda tutmuş, 18. ayda desteksiz oturmuş, 2 yaş 6 aylık iken yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 5 yaşında söylemiş. Yenidoğan döneminde ventriküler septal defekt (VSD), PFO, triküspit yetmezliği (TY) ve PS saptanmış. Bir yaşında VSD ve 4 yaşında bilateral kriporşidizm ve hipospadias nedeniyle opere edilmiş. Orta derece mental retardasyon tanısı ile izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (4 yaş 9 ay)

- Boy; 96 cm (3 persentilin altı), kilo; 11,5 kg (3 persentilin altı) ve baş çevresi; 48 cm (3 persentilin altı)
- Üçgen yüz, maksiller hipoplazi, hipertelorizm, bilateral epikantus, düşük kulak, kulak heliks anomalisi, bülböz burun, yüksek damak, konik ve seyrek diş yapısı saptandı.
- Sağ elde simian çizgisi vardı.
- Ayak ikinci parmakta bilateral klinodaktili
- Pubis ve perine bölgesinde hipopigmente alanlar saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial MRG (4 yaş): Frontalde, perioksipitalde, subkortikal beyaz cevherde ve periventriküler beyaz cevherde iskemik gliotik odaklar ile belirtilen alanlarda fokal kortikal atrofi

Ek genetik testler

- DiGeorge Sendromu'na yönelik yapılan FISH analizi:
46,XY.ish22q11.2(TUPLE1x2)[20]

3.2.13. Olgu 13

Yaş - cinsiyet: 10 yaş 9 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 8 yaş 1 ay

Geliş nedeni: MR, epilepsi, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 20 yaşındaki annenin birinci gebeliğinden birinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 4. ayda tutmuş, 8. ayda desteksiz oturmuş, 1 yaş 6 aylık iken yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. Olgumuz, orta derece mental retardasyon ve epilepsi tanılarıyla izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (8 yaş 1 ay)

- Boy; 121 cm (10-25 persentil), kilo; 27 kg (50-75 persentil) ve baş çevresi; 52 cm (50 persentil)
- Büyük kulaklar, kaba yüz yapısı saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial MRG (7 yaş): Normal sınırdan olup lateral ventikül gövdeleri sol lehine asimetrik ve belirgin

3.2.14. Olgu 14

Yaş - cinsiyet: 4 yaş 9 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 2 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 38 yaşındaki annenin üçüncü gebeliğinden üçüncü yaşayan olarak C/S ile term, gebelik yaşına göre büyük (LGA) doğmuş. Dört yaşında sekondum ASD onarım ameliyatı geçiren olgumuz, intraatriyal septal anevrizma nedeniyle izlenmekte. Başını 5. ayda tutmuş, 3 yaşında iken desteksiz oturmuş. Konuşma, dil, kavrama ve harekette yaşlılarından geride olması nedeniyle izleniyor.

Soygeçmiş: Olgumuzun sağlıklı bir kız ve bir erkek kardeşi var.

Muayene bulguları

- Boy; 59 cm (25-50 persentil), kilo; 6 kg (50-75 persentil) ve baş çevresi; 38,5 cm (25-50 persentil) (2 aylık iken)
- Boy; 88 cm (3 persentilin altı), kilo; 19 kg (97 persentilin üzeri) ve baş çevresi; 46 cm (3 persentilin altı) (4 yaşında iken)
- Kaba yüz görünümü, bitemporal darlık, çıkık alın, seyrek, düzensiz ve yukarı kalkık kaş yapısı, hipertelorizm, aşağı eğilimli palpebral fissür, silik filtrum, ince üst dudak, yüksek damak, hipertrofik diş etleri, büyük ağız yapısı
- Distrofik tırnaklar
- Derin anal fissür
- 4 yaşında yürümüyor ve anlamlı kelime söylemiyordu.

Laboratuvar bulguları

- 24 saatlik idrar glikozaminoglikan atılımı: Normal
- Kranial MRG (1yaş): Serebral atrofi lehine bulgular

Ek genetik testler

- Prader Willi Sendromu'na yönelik yapılan metilasyon spesifik PCR: Normal

3.2.15. Olgu 15

Yaş - cinsiyet: 19 yaş - erkek

İlk başvuru yaşı: 9 yaş 5 ay

Geliş nedeni: MMR, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: 28 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşıyan olarak C/S ile termde, NGA doğan olgumuz, başını 6. ayda tutmuş, 11. ayda desteksiz oturmuş, 28. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 5 yaşında söylemiş. Olgu orta derecede mental retardasyon tanısı ile izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (9 yaş 5 ay)

- Boy; 125 cm (3-10 persentil), kilo; 21 kg (3-10 persentil) ve baş çevresi; 47,5 cm (3 persentilin altı)
- Mikrosefali, seyrek kaş yapısı, maksiller hipoplazi, basık burun kökü, belirgin kulaklar, sağda preauriküler pit, düz filtrum, alt dudakta orta hatta iki adet pit, üst çenede tek ön kesici diş saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Serum protein elektroforezi: IgA ve IgG3 eksikliği
- Kranial MRG (2 yaş): Sol talamus ve sağ retrotrigonal bölge beyaz cevherde birer adet milimetrik lezyon

3.2.16. Olgu 16

Yaş - cinsiyet: 18 yaş - kız

İlk başvuru yaşı: 12 yaş 2 ay

Geliş nedeni: MMR, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 21 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden birinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 7. ayda tutmuş, 12. ayda desteksiz oturmuş, 24. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 6 yaşında söylemiş. Ağır mental retardasyon nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (12 yaş 2 ay)

- Boy; 148 cm (25 persentil), kilo; 49 kg (50-75 persentil) ve baş çevresi; 53 cm (50 persentil)
- Kaba yüz yapısı, kulaklarda asimetri, sağ kulakta antiheliks gelişmediği ve makrostomi saptandı.

Laboratuvar bulguları

Kan ve idrar aminoasit kromatografisi ve idrar organik asitleri: Normal

Kranial MRG (6 yaş): Normal

3.2.17. Olgu 17

Yaş - cinsiyet: 5 yaş 2 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 2 yaş 10 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 24 yaşındaki annenin ilk gebeliğinden birinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. İn vitro fertilizasyon ile gerçekleşen bu gebelikte, ikiz eşinde intrauterin ölüm gerçekleşmiş. Olgumuz, başını 6. ayda tutmuş, 10. ayda desteksiz oturmuş, 18. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaş altı aylık iken söylemiş. Sol kriptorşidizm nedeniyle izlenen olguya 3 yaşında orşiopeksi yapıldı. Orta derece mental retardasyon ve epilepsi tanılarıyla izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun kardeşi bulunmamaktadır.

Muayene bulguları (2 yaş 10 ay)

- Boy; 89 cm (3-10 persentil), kilo; 14 kg (50 persentil) ve baş çevresi; 46 cm (3 persentilin altı)
- Mikrosefali, strabismus, aşağı eğilimli palpabral fissür, yüksek burun kökü, hipoplastik ala nasi saptandı.
- Sol kriptorşidizm ve bilateral pes planus vardı.

Laboratuvar bulguları

- Skrotal US (3yaş): Sağ testis boyutları 17x11x9 mm, sol testis boyutları 4x3x2 mm
- Kranial MRG (3 yaş): Lateral ventrikül gövdelerinde hafif genişleme

3.2.18. Olgu 18

Yaş - cinsiyet: 10 yaş 8 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 6 yaş 4 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 29 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Prenatal US'de lateral ventriküllerde genişlik saptanmış. Postnatal 1. ayda hidrosefali nedeniyle opere edilmiş. Yenidoğan döneminde VSD ve PDA saptanan olgunun kardiyak bulguları takipler sırasında gerilemiş. 6 aylıkken sol nöroblastom nedeniyle opere edilmiş. 8. ayda ventriküloperitoneal şant değişimi sırasında intrakraniyal kanama, sonrasında enfeksiyon geçirmiş. 15 aylık iken hipertansiyon ve epilepsi tanıları almış ve halen bu tanılarla izlenmekte. İki yaşında sağ orşiopeksi ve sağ inguinal herni onarımı geçirmiş. Başını 4. ayda tutmuş, 4 yaşında desteksiz oturmuş.10 yaşında iken yürümüyor ve konuşmuyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (6 yaş 4 ay)

- Boy; 110 cm (10-25 persentil), kilo; 16 kg (3-10 persentil) ve baş çevresi; 51 cm (50-75 persentilin altı)
- Strabismus, mandibular hipoplazi, silik filtrum, yüksek damak, aşağı dönük ağız köşeleri, dudaklarda yarıklanma, sol tarafta yanağa doğru uzanan dudak yarığı saptandı.
- Hipotoni ve kifoskolyoz vardı.

Laboratuvar bulguları

- Üriner US (8 yaş): Sağ böbrek 83x43x29 mm, sol böbrek 48x17x15 mm
- Kraniyal bilgisayarlı tomografi (BT) (5 yaş): Hidrosefali, poreensefalik kistik alanlar

3.2.19. Olgu 19

Yaş - cinsiyet: 7 yaş 11 ay- erkek

İlk başvuru yaşı: 6 yaş 5 ay

Geliş nedeni: MR, konuşmada gecikme, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 36 yaşındaki annenin üçüncü gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Başını 2. ayda tutmuş, 7. ayda desteksiz oturmuş, bir yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 4 yaşında söylemiş. Olgumuz konuşma, öğrenme ve kavrama aktivitelerinde gerilik nedeniyle orta derecede mental retardasyon tanısı ile izleniyor.

Soygeçmiş: Olgumuzun babasında geç konuşma öyküsü mevcut, ayrıca erkek kardeşinde dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu ve öğrenme güçlüğü var.

Muayene bulguları (6 yaş 5 ay)

- Boy; 129 cm (97 persentil), kilo; 28 kg (90-97 persentil) ve baş çevresi; 53,5 cm (75 persentil)
- Sinofriz, büyük ve arkaya dönük kulak yapısı ve bilateral epikantus
- Pes planus.

Laboratuvar bulguları

- Kraniyal MRG (6 yaş): Normal
- BAER: Normal

3.2.20. Olgu 20

Yaş - cinsiyet: 5 yaş 3 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 4 yaş 10 ay

Geliş nedeni: MR, konuşmada gecikme, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 31 yaşındaki annenin dördüncü gebeliğinden ikinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 2. ayda tutmuş, 6. ayda desteksiz oturmuş, bir yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. 4

yaşında cümle kurmuyordu. Orta derece mental retardasyon ve 4 yaşından itibaren de epilepsi tanılarıyla izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (4 yaş 10 ay)

- Boy; 102 cm (25-50 persentil), kilo; 17,5 kg (75 persentil) ve baş çevresi; 51 cm (50-75 persentil)
- Yuvaçlak ve basık yüz yapısı, hipertelorizm, aşağı eğilimli palpebral fissür, silik filtrum ve ince üst dudak

Laboratuvar bulguları

Kraniyal MRG (4 yaş): Normal

3.2.21. Olgu 21

Yaş - cinsiyet: 2 yaş 9 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 8 ay

Geliş nedeni: MKA/MR

Özgeçmiş: Olgumuz, 39 yaşındaki annenin onuncu gebeliğinden sekizinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Prenatal dönemde meningomyelosele saptanmış. Başını 4. ayda tutmuş. İzlemde; 9. ayda desteksiz oturdu, 18. ayda yürüdü ve ilk anlamlı kelimeyi 17. ayda söyledi.

Soygeçmiş: Olgumuzun sağlıklı 4 kız, 3 erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (8 ay)

- Boy; 63 cm (10-25 persentil), kilo; 7 kg (25-50 persentil) ve baş çevresi; 43,5 cm (50-75 persentil)
- Frontal bossing, ekzoftalmus, basık burun kökü ve küçük ağız yapısı saptandı.
- Her iki el ulnar tarafta post aksiyel polidaktili eksizyonuna bağlı skar görüldü.

Laboratuvar bulguları

Kraniyal MRG (8 ay): Küçük posterior fossa, serebellar herniyasyon (Chiari malformasyonu), lateral ventrikül gövdelerinde belirginleşme, periventriküler beyaz cevherde T2 ağırlıklı görüntüde hiperintens alanlar

3.2.22. Olgu 22

Yaş - cinsiyet: 4 yaş 1 ay- erkek

İlk başvuru yaşı: 1 yaş 8 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 30 yaşındaki annenin üçüncü gebeliğinden üçüncü yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Prenatal dönemde intra uterin gelişme geriliği nedeniyle takip edilmiş. Yenidoğan döneminde sekundum ASD, müsküler VSD ve fibroelastozis saptanıp takibe alınmış. Şu an kardiyak bulguları normal. Başını 10. ayda tutmuş, 15. ayda desteksiz oturmuş, 2 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 35. ayda söylemiş.

Soygeçmiş: Olgumuzun iki sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (1 yaş 8 ay)

- Boy; 73 cm (3 persentilin altı), kilo; 7200 g (3 persentilin altı) ve baş çevresi; 44,5 cm (3 persentilin altı)
- Derin yerleşimli gözler, yüksek damak ve basık burun kökü
- Belirgin hipotoni

Laboratuvar bulguları

- Somatomedin-C: 17 ng/ml (Normal değerler: 247-396 ng/ml)
- Kraniyal MRG (2 yaş): Lateral ventrikül gövdelerinde hafif genişleme, sağ temporobazalde subaraknoid mesefade genişleme
- Hipofiz MRG (2 yaş): Normal

3.2.23. Olgu 23

Yaş - cinsiyet: 27 yaş - erkek

İlk başvuru yaşı: 24 yaş

Geliş nedeni: MR, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 21 yaşındaki annenin altıncı gebeliğinden altıncı yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 5. ayda tutmuş, 9. ayda desteksiz oturmuş, 18. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 20. ayda söylemiş. Hastanın, alerji öyküsü var.

Soygeçmiş: Olgumuzun hafif derece mental retarde bir kız kardeşi, sağlıklı iki erkek iki kız kardeşi var.

Muayene bulguları (24 yaş)

- Vücut kitle endeksi 32.4 ve baş çevresi 54,5 cm
- Yuvarlak ve basık yüz yapısı, peri orbital dolgunluk, belirgin burun ve hipoplastik ala nazi, silik filtrum, ince üst dudak, düşük ense saç çizgisi ve kısa boyun saptandı.

3.2.24. Olgu 24

Yaş - cinsiyet: 4 yaş 1 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 10 ay

Geliş nedeni: MMR, hipotoni, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 33 yaşındaki annenin üçüncü gebeliğinden üçüncü yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. 10 aylık iken prone pozisyonda iken kısa süreli baş tutması vardı. 3 yaşta desteksiz oturamayan olgunun söylediği kelime bulunmamaktaydı.

Soygeçmiş: Olgumuzun iki sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (8 ay)

- Boy; 67 cm (25-50 persentil), kilo; 8400 g (25-50 persentil) ve baş çevresi; 44,5 cm (3 persentilin altı)
- Muayenesinde derin yerleşimli gözler, yüksek damak ve basık burun kökü
- Belirgin hipotoni

Laboratuvar bulguları

- BAER: Normal
- VEP: Bilateral uzama
- Kraniyal MRG (3 yaş): Bilateral frontal horn komşuluğu ve periatrinal beyaz cevherde T2 ağırlıklı görüntülemelerde hiperintens alanlar, belirgin lateral ventrikül gövdeleri, korpus kallozum hipoplazisi

3.2.25. Olgu 25

Yaş - cinsiyet: 8 yaş 8 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 7 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 29 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden birinci yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 5. ayda tutmuş, 10. ayda desteksiz oturmuş, 18. ayda yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 20. ayda söylemiş. Yenidoğan döneminde VSD ve epilepsi saptanmış. VSD gerilemiş, orta derece mental retardasyon ve epilepsi nedeniyle izlemi devam etmekte.

Soygeçmiş: Ailenin bir spontan abortus öyküsü mevcut, olgumuzun kardeşi bulunmamakta.

Muayene bulguları

- Boy; 71cm (50-75 persentil), kilo; 7500 g (10-25 persentil) ve baş çevresi; 39 cm (3 persentilin altı) (8 aylık iken)
- Boy; 102 cm (25-50 persentil), kilo; 19 kg (75-90 persentil) ve baş çevresi; 45 cm (3 persentilin altı) (4 yaşında iken)

- Belirgin mikrosefali, kaba yüz görünümü, düşük alın saç çizgisi, bilateral epikantus, yukarı eğimli palpebral fissür, bulböz burun yapısı, makroglossi
- Bilateral simian çizgisi

Laboratuvar bulguları

- Kraniyal MRG (3 yaş): Parsiyel kallozal agenezi ve hafif derecede serebellar atrofi

3.2.26. Olgu 26

Yaş - cinsiyet: 4 yaş 7 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 1 yaş 9 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 22 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden birinci yaşıyan olarak C/S ile term, NGA doğmuş. Başını 9. ayda tutmuş, 18. ayda desteksiz oturmuş, 3 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 30. ayda söylemiş. Yenidoğan döneminde sekundum ASD ve dektrokardi tanıları almış, izlemi devam ediyor.

Soygeçmiş: Olgumuzun kardeşi bulunmamaktadır.

Muayene bulguları (1 yaş 9 ay)

- Boy; 79 cm (3-10 persentil), kilo; 9 kg (3 persentilin altı) ve baş çevresi; 43,5 cm (3 persentilin altı)
- Mikrosefali, düz oksiput, büyük ve arkaya dönük kulak kepçesi, gelişmemiş antiheliks, sol burun kenarında 3x2 cm boyutlarında hemanjiyom saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Tandem mass spektometri: Normal
- İdrar organik asit atılımı: Normal
- Kraniyal MRG (1 yaş): Myelinizasyonda gecikme saptandı.

Ek genetik testler

- DiGeorge Sendomu'na yönelik yapılan FISH incelemesi:
46,XX,ish22q11.2(N25x2)[20]

3.2.27. Olgu 27

Yaş - cinsiyet: 9 yaş 8 ay - erkek

İlk başvuru yaşı: 8 yaş 3 ay

Geliş nedeni: MKA/MR

Özgeçmiş: Olgumuz, 27 yaşındaki annenin dördüncü gebeliğinden üçüncü yaşayan olarak NVY ile term, NGA doğmuş. Başını 3. ayda tutmuş, 8. ayda desteksiz oturmuş, 2 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 28. ayda söylemiş. Sağ kriptorşidizm nedeniyle 4 yaşında orşiopeksi yapılmış. Olgumuz, epilepsi nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun iki sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (8 yaş 3 ay)

- Boy; 117 cm (3-10 persentil), kilo; 23 kg (25 persentil) ve baş çevresi; 49,5 cm (3 persentilin altı)
- Hafif fasiyal asimetri, yuvarlak ve basık yüz yapısı, düz oksiput, aşağı eğilimli palpabrel fissür, bülböz burun, yüksek damak, diş dizilim düzensizliği ve maloklüzyon saptandı.
- Hipertrikoz, el 5. parmaklarda bilateral klinodaktili ve ayak 2.-3. parmaklarda bilateral parsiyel sindaktili saptandı.

Laboratuvar bulguları

- Kranial MR (7 yaş): Verktekse yakın sulkus ve fissürler ile lateral ventrikül gövdeleri belirgin

3.2.28. Olgu 28

Yaş - cinsiyet: 15 yaş 3 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 9 ay

Geliş nedeni: MMR, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 28 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile term, NGA doğmuş ve gebelik sırasında polihidramniyoz gelişmiş. Başını 4. ayda tutmuş, 10. ayda desteksiz oturmuş, 2 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeleri söylemeye başlamış. 7 yaşından itibaren epilepsi nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (14 yaş)

- Boy; 156 cm (10-25 persentil), kilo; 69 kg (90-95 persentil) ve baş çevresi; 53,5 cm (25-50 persentil)
- Düz alın, yukarı eğilimli palpebral fissür, malar hipoplazi, yüksek burun kökü ve ince üst dudak
- Ayak tırnaklarında hipoplazisi

Laboratuvar bulguları

Kranial MR (12 yaş): Korpus kallozum hipoplazisi, sağ taraf parahipokampal girus-amigladada kortikal anomali ile uyumlu görünüm

Hipofiz MR (12 yaş): Hipofiz anteriorunda yerleşim gösteren 4x3 mm boyutunda kontrast tutmayan fokal alan

Kranial MR (15 yaş): Hafif dereceli serebral ve serebellar atrofi, sağ parietalde milimetrik perivasküler gliotik odak.

3.2.29. Olgu 29

Yaş - cinsiyet: 1 yaş 2 ay - kız

İlk başvuru yaşı: 5 ay

Geliş nedeni: MKA/MMR

Özgeçmiş: Olgumuz, 23 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak C/S ile preterm, NGA doğmuş. Yenidoğan döneminde grade II intrakraniyal kanama geçirmiş. Bilateral şaşılığı olan olgunun oftalmolojik değerlendirmesinde; bilateral ezotropi, yüksek hipermetropi ve sol gözde izole koroid kolobomu saptamış. Epilepsi ve göz bulguları nedeniyle izlenmekte. 5 aylık olduğunda prone pozisyonda başını kısa süreli tutabiliyordu.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı kız kardeşi var.

Muayene bulguları (5 aylık)

- Boy; 66 cm (50-75 persentil), kilo; 6300 g (25-50 persentil) ve baş çevresi; 42 cm (50 persentil)
- Bilateral strabismus, düşük kulak yapısı, yüksek damak, aşağı dönük ağız köşeleri, mikrognathi
- Ayak 4 ve 5. parmaklarda bilateral klinodaktili

Laboratuvar bulguları

- Kranial MR (4 ay): Ventriküler asimetri ve genişleme, periatrilyal belirgin perivasküler boşluklar, ince korpus kallozum ve bilateral mastoidal efüzyon

3.2.30. Olgu 30

Yaş - cinsiyet: 20 yaş - erkek

İlk başvuru yaşı: 13 yaş 1 ay

Geliş nedeni: MMR, epilepsi, dismorfik yüz görünümü

Özgeçmiş: Olgumuz, 25 yaşındaki annenin ikinci gebeliğinden ikinci yaşayan olarak NVY ile 36. hafta, NGA doğmuş. Başını 3. ayda tutmuş, 8. ayda desteksiz oturmuş, 2 yaşında yürümüş ve ilk anlamlı kelimeyi 2 yaşında söylemiş. Epilepsi nedeniyle izlenmekte.

Soygeçmiş: Olgumuzun bir sağlıklı erkek kardeşi var.

Muayene bulguları (15 yaş 1 ay)

- Boy; 159 cm (25-50 persentil), kilo; 48 kg (25-50 persentil) ve baş çevresi; 49,5 cm (10-25 persentil)
- Uzun kirpik yapısı, belirgin maksiller çıkıntı, büyük kulaklar ve retrognati
- Vücudunda yaygın nevüsler

Laboratuvar bulguları

- Kranial MR (13 yaş): Sol sublentiküler bölgede perivasküler dilatasyon



4. BULGULAR

Bu çalışmada OGT CytoScan v2 mikroarray platformu kullanılarak 30 hastada array CGH testi yapıldı.

CNV seçim ölçütü; birbirini takip eden en az dört probda eşik değer olarak belirlenen (+/-0,36) değerinin dışında ve sıfır çizgisinin aynı tarafında patolojik sinyal kaydedilmesi olarak kabul edildi.

Tüm hastalar değerlendirildiğinde toplam 413 CNV saptandı. Bunlar büyüklüklerine göre değerlendirildiğinde; 200 Kb'dan küçük 325, 200-500 Kb aralığında 60, 500 Kb'dan büyük 28 CNV saptandı. Bu CNV'lerin klinikle ilişkilerine göre dağılımı Tablo 4.1'de gösterildi.

Tablo 4.1. Çalışmamız sonunda tüm hastalarda saptanan CNV'lerin boyutları ve klinikle ilişkilerine göre dağılımı

CNV boyutu	Saptanan CNV sayısı	Klinikle ilişkisi	Saptanan CNV sayısı
<200 Kb	325	Patojenik	1
		VOUS	67
		Benign	257
200-500 Kb	60	Patojenik	1
		VOUS	14
		Benign	45
>500 Kb	28	Patojenik	6
		VOUS	1
		Benign	21

CNV'lerin klinikle ilişkisi incelenirken, genel olarak platformun kabul ettiği sınır göz önünde bulundurularak, 200 Kb'den büyük CNV'ler dikkate alındı. 200 Kb'dan küçük CNV'ler ise herhangi bir genotip fenotip ilişkisine sahip, hastanın fenotipiyle ilişkili ya da hastanın fenotipi ile direkt ilişkisi gösterilmemiş fakat muhtemel ilişkili gen içerdiklerinde raporlandı.

Değerlendirilen 30 hastanın sekizinde güncel literatür bilgisine göre patojenik değişiklik saptandı. Bu sekiz hastada saptanan değişikliğin ikisi, nörogelişimsel çok

sayıda fenotipe yatkınlık yaratan, bu fenotiplerle ilişkili bulunmuş bölgelerdir. Bu iki bölgedeki CNV'lerin ekspresyonunda çeşitlilik gözlenmekle birlikte penetransı düşüktür. Patoloji ile ilişkilendirilmiş CNV belirlenen bu sekiz hastadan yalnız birinde göreceli olarak daha hafif klinik bulgular (MR ve dismorfoloji) gözlenirken, diğer hastalarda 'MKA ve MR', 'MMR ve MKA' ya da 'MMR, dismorfik bulgu ve epilepsi' olduğu görüldü. Bu hastalar içinde IQ testine dayalı MR düzeyi raporlanan yedi hasta değerlendirildiğinde, bir ağır, beş orta ve bir hafif düzeyde MR olduğu belirlendi.

Pozitif çıkan sekiz hastada CNV karakterinin daha net ortaya konabilmesi için anne-baba çalışması yapılması gerekmektedir. Ancak çalışmamız kapsamında bütçemiz yeteri olmadığı için *de novo*/kalıtılan ayrımı yapılamadı.

Hastalarımızın birinde herhangi bir CNV saptanmadı (Olgu 14). Oniki hastada benign değişiklikler yanı sıra gen içeren olası patolojik bölgeleri kapsayan CNV'ler bulundu (Olgu; 4, 5, 6, 8, 13, 15, 20, 21, 22, 24, 27, 28). Dört hastada yalnız benign değişiklik saptanırken (Olgu 12, 17, 18, 26), beş hastada benign değişiklik yanı sıra benign olmayan CNV'ler saptanmış olup bu bölgelerde herhangi bir gen belirlenmedi (Olgu; 3, 7, 11, 16, 23).

Üç olguda (Olgu 5, Olgu 13 ve Olgu 27) kalite kontrol değerleri ideal aralıkların dışında olduğu için bu olgularda 200 Kb'nın altındaki değişikliklerin ayırt edilmesi teknik olarak olanaksızdı. Bu olgularda 200 Kb'nın üzerinde patolojik değişiklik saptanmadı.

CNV seçim ölçütlerine göre otuz hastada belirlenen CNV'lerin listesi, patojenik CNV'lere ait görüntüler ve hastaların sonuçları olgu sırasıyla belirtilmiştir.

Olgu 1

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 18 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.2)

Belirlenen CNV'lerin 15'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup sağlıklı bireylerde görülmeyen üç değişiklik incelendiğinde;

6. ve 7. kromozomlardaki değişiklikleri içeren bölgelerde protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

17. kromozomun uzun kolundaki 1.43 Mb boyutunda delesyon (Şekil 4.1), 'Kromozom 17q12 mikrolelesyon sendromu' içerisinde yer almaktadır.

Tablo 4.2. Olgu 1'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	2	95530380	95556850	26.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	50	Gain	
2	6	95475283	95674152	198.87Kb	VOUS	q16.1	11	Loss	⇒ -
3	7	62149575	62153651	4.08Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	25	Loss	
4	7	68274788	68421567	146.78Kb	VOUS	q11.22	6	Loss	⇒ -
5	9	43659154	43782627	123.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	9	Loss	
6	10	47362060	47738731	376.67Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.22	22	Gain	
7	14	107148712	107182651	33.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	11	Gain	
8	17	34817554	36249799	1.43Mb	Pathogenic	q12	116	Loss	
9	22	18876605	18986108	109.5Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	34	Gain	
10	Y	24873007	24874543	1.54Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	7	Loss	
11	Y	25008526	25203033	194.51Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	55	Loss	
12	Y	25315806	25340067	24.26Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	19	Gain	
13	Y	25370767	25375357	4.59Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	5	Gain	
14	Y	25507119	25606532	99.41Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	25	Gain	
15	Y	26561780	26831081	269.3Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	70	Loss	
16	Y	26985577	27000592	15.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Gain	
17	Y	27125623	27419678	294.06Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	75	Loss	
18	Y	28356373	28455793	99.42Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	25	Gain	



Şekil 4.1. Olgu 1'e ait 17. kromozomun uzun kolundaki 1.43 Mb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[hg19] 10q11.22(47362060_47738731)x3,
17q12(34817554_36249799) x1, Yq11.23(26561780_26831081)x0,
Yq11.23(27125623_27419678)x0

Olgu 2

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 11 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.3).

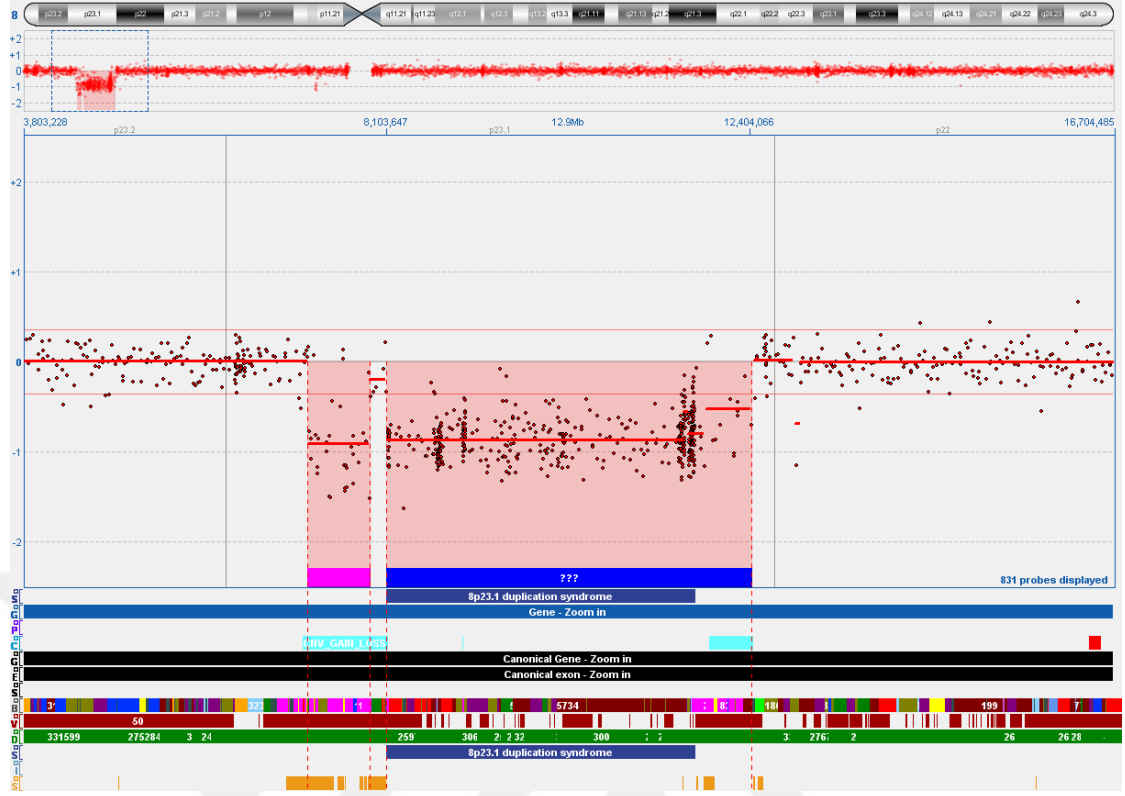
Bu CNV'lerin dokuzu sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup sağlıklı bireylerde görülmeyen iki değişiklik incelendiğinde;

2. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

8. kromozomun kısa kolunda 4.3 Mb boyutunda delesyon, konjenital kalp hastalıkları için tanımlanan kritik bölge içerisinde yer almaktadır (Şekil 4.2).

Tablo 4.3. Olgu 2'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	2	41764564	41892295	127.73Kb	VOUS	p22.1p21	6	Gain	→ -
2	8	7169510	7881316	711.81Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	33	Loss	
3	8	8103647	12404066	4.3Mb	Pathogenic	p23.1	447	Loss	
4	14	19437147	19795214	358.07Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	19	Loss	
5	15	20549990	20595114	45.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	18	Gain	
6	15	22373311	22381462	8.15Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	7	Gain	
7	17	44207885	44342442	134.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	6	Loss	
8	Y	25410362	25424792	14.43Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	12	Loss	
9	Y	26928817	26942374	13.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	19	Gain	
10	Y	27008546	27021661	13.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	17	Gain	
11	Y	27028419	27040467	12.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Loss	



Şekil 4.2. Olgu 2'ye ait 8. kromozomun kısa kolunda 4.3 Mb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[hg19] 8p23.1(7169510_7881316)x1,
8p23.1(8103647_12404066)x1, 14q11.2 (19437147_ 19795214)x1

Olgu 3

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam altı CNV belirlenmiştir (Tablo 4.4).

Bu CNV'lerin beşi sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

13. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.4. Olgu 3'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	6	259531	293497	33.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	10	Loss	
2	13	19675986	19684512	8.53Kb	VOUS	q12.11	9	Loss	→ -
3	15	21199944	21200924	980b	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	7	Loss	
4	17	44378351	44771817	393.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	8	Gain	
5	19	27962072	27963095	1.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11	5	Gain	
6	X	77254	162434	85.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	11	Loss	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 17q21.31(44378351_44771817)x3

Olgu 4

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 16 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.5).

Bu CNV'lerin 14'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen iki değişiklik incelendiğinde;

7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *EXOC4* (*exocyst complex component 4* – ekzokist kompleks komponent 4) geni; X. kromozomundaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *MTCPI* (matür T hücre proliferasyon 1) ve *BRCC3* (BRCA1/BRCA2 içeren kompleks alt ünite 3) genleri bulunmaktadır.

Tablo 4.5. Olgu 4'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	144896398	144906470	10.07Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.1	8	Gain	
2	5	710518	802567	92.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	p15.33	5	Gain	
3	7	62149948	62153739	3.79Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	23	Loss	
4	7	133070185	133338113	267.93Kb	VOUS	q33	12	Loss	⇒ EXOC4
5	14	107148712	107182651	33.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	11	Loss	
6	15	20787753	21168482	380.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	274	Loss	
7	15	21934965	21941662	6.7Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	14	Loss	
8	15	22373311	22379815	6.5Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	5	Loss	
9	22	18661699	18848020	186.32Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	8	Loss	
10	22	21468352	21661435	193.08Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	9	Loss	
11	22	25695468	25926984	231.52Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23q12.1	10	Gain	
12	X	77254	162434	85.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	11	Gain	
13	X	897081	1385353	488.27Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	77	Gain	
14	X	154309947	154401020	91.07Kb	VOUS	q28	5	Gain	⇒ MTCP1 BRCC3
15	Y	10701	112434	101.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	13	Gain	
16	Y	827737	1335353	507.62Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	68	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19]7q33(133070185_133338113)x1, 15q11.2(20787753_21168482) x1, 22q11.23q12.1(25695468_25926984)x3, Xp22.33(897081_1385353)x3, Yp11.32(827737_1335353)x3

Olgu 5

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 16 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.6).

Bu CNV'lerin 11'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

2. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CASP10* (caspase 10 – kaspaz 10) geni, 11. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede ise protein kodlayan morbid *CDKN1C* (*cyclin dependent kinase inhibitör 1C* – Siklin bağımlı kinaz inhibitör 1C) geni bulunmaktadır.

5. kromozomdaki her iki değişikliği içeren bölge de protein kodlayan genler içermektedir. Sırasıyla: *DEPDC1B* (*DEP domain containing protein 1B* - DEB

bölgesi içeren protein 1B), *ELOVL7* (*elongation of very long chain fatty acids like 7 - çok uzun zincirli yağ asidi uzaması benzeri 7*), NAIP (nöronal apoptozis intibe edici protein).

13. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.6. Olgu 5'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	2	202086789	202091919	5.13Kb	VOUS	q33.1	6	Loss	→ CASP10
2	5	59945255	60165829	220.57Kb	VOUS	q12.1	11	Loss	→ DEPDC1B → ELOVL7
3	5	70268138	70310324	42.19Kb	VOUS	q13.2	28	Loss	→ NAIP
4	10	48775607	49263598	487.99Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.22	17	Loss	
5	11	2905283	2906721	1.44Kb	VOUS	p15.4	11	Loss	→ CDKN1C
6	13	19675986	19684092	8.11Kb	VOUS	q12.11	6	Loss	→ -
7	15	20549990	20626717	76.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	29	Loss	
8	15	20848277	22581367	1.73Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	431	Loss	
9	15	43888952	43988579	99.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q15.3	84	Loss	
10	16	15048660	15052690	4.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	p13.11	6	Loss	
11	17	34550606	34734823	184.22Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	7	Gain	
12	17	36316446	36373398	56.95Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	8	Gain	
13	17	44418213	44771817	353.6Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	7	Gain	
14	X	1936244	1939699	3.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Loss	
15	Y	25313791	25340067	26.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	20	Loss	
16	Y	26985577	27000592	15.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Loss	

Bu olguda kalite kontrol parametleri istenen değerlerde elde edilememiştir. Bu nedenle 200 Kb altındaki değişiklikleri ayırt edememektedir.

Array CGH sonuç: arr[hg19] 5q12.2(59945255_60165829)x1,

10q11.22(48775607_49263598) x1, 17q21.31(44418213_44771817)x3

Olgu 6

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam beş CNV belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Bu CNV'lerin üçü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

1. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamakta, X kromozomundaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *NSDHL* (NAD(P)H steroid dehidrogenaz benzeri protein) geni bulunmaktadır.

Tablo 4.7. Olgu 6'ya ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	30790117	30879867	89.75Kb	VOUS	p35.2	5	Loss	→ -
2	8	39234130	39362915	128.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	7	Gain	
3	15	22486712	22491060	4.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	15	Loss	
4	15	34695140	34841422	146.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q14	7	Loss	
5	X	151958995	152217400	258.4Kb	VOUS	q28	13	Gain	→ NSDHL

Array CGH sonucu: arr[hg19] Xq28(151958995_152217400)x2

Olgu 7

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 12 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Bu CNV'lerin 10 tanesi sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

12. ve 16. kromozomlardaki bölgelerde protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.8. Olgu 7'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	564512	569480	4.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.33	11	Loss	
2	2	87376073	88005429	629.36Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	26	Gain	
3	2	97728447	98013954	285.51Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	11	Loss	
4	2	112067056	112216501	149.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13	6	Gain	
5	9	43659154	43782627	123.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	9	Gain	
6	12	131833685	132135146	301.46Kb	VOUS	q24.33	14	Gain	⇒ -
7	15	20417203	20576980	159.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	12	Gain	
8	15	20589980	21941354	1.35Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1q11.2	331	Gain	
9	15	30389992	30653918	263.93Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	9	Gain	
10	16	225255	225614	359b	VOUS	p13.3	11	Loss	⇒ -
11	17	36290254	36373398	83.14Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	10	Loss	
12	19	43260829	43529887	269.06Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2q13.31	12	Loss	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 2p11.2(87376073_88005429)x3, 2q11.2(97728447_98013954)x1, 12q24.33(131833685_132135146)x3, 15q13.2(30389992_30653918)x3, 19q13.2q13.31(43260829_43529887)x1

Olgu 8

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 16 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.9).

Bu CNV'lerin 14'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

4. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *SLC2A9* (*solute carrier family 2 member 9* - solid taşıyıcı aile 2 üye 9) geni, 7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *CADPS2* (kalsiyum bağımlı aktivatör sekresyon proteini 2) geni bulunmaktadır.

Tablo 4.9. Olgu 8'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	104107558	104161033	53.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	p21.1	5	Gain	
2	4	9814844	10072526	257.68Kb	VOUS	p16.1	13	Gain	⇒ SLC2A9
3	4	69374653	69483285	108.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Loss	
4	6	259531	366419	106.89Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	16	Gain	
5	7	122399131	122505782	106.65Kb	VOUS	q31.32	25	Gain	⇒ CADPS2
6	7	142424295	142468630	44.34Kb	CNV (seen in normal individuals)	q34	27	Loss	
7	8	137715929	137822146	106.22Kb	CNV (seen in normal individuals)	q24.23	6	Loss	
8	12	7996497	8118098	121.6Kb	CNV (seen in normal individuals)	p13.31	7	Gain	
9	14	20297558	20424580	127.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	344	Loss	
10	14	22598068	22930729	332.66Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	15	Loss	
11	15	20432907	20626717	193.81Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	31	Gain	
12	15	20848277	22344638	1.5Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	336	Gain	
13	15	22373311	22409593	36.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	10	Gain	
14	15	22415415	22581367	165.95Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	75	Gain	
15	16	33380842	33422499	41.66Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	5	Gain	
16	17	18950617	19107073	156.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	7	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 4p16.1(9814844_10072526)x3,
14q11.2(22598068_22930729)x1, 15q11.2(20848277_22344638)x3

Olgu 9

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 11 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.10).

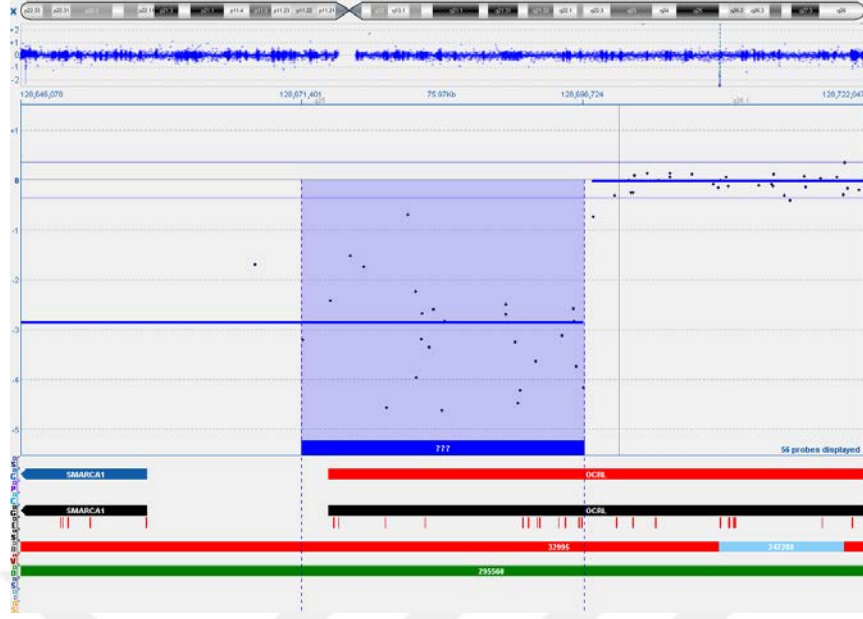
Bu CNV'lerin dokuzu sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup; sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

11. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *OR52B4* (olfactory receptor family 52 subfamily B member 4 gene/pseudogene - olfaktör reseptör ailesi 52 alt aile B'nin 4. üyesi: gen/psödogen) ve *TRIM25* (tripartite motif containing protein 25 - üçlü motif içeren protein 25) genleri bulunmaktadır. X kromozomunun uzun kolunda 25.32 Kb boyutunda delesyon, *ORCL* geninin 5'

ucundaki kodlayan ekzonları içermektedir. Genin mutasyon ve delesyonları LOWE Okuloserebrorenal Sendrom'a neden olmaktadır (Şekil 4.3).

Tablo 4.10. Olgu 9'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	4	69374653	69482145	107.49Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	7	Loss	
2	5	70220719	70268197	47.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	7	Gain	
3	11	4237375	4458167	220.79Kb	VOUS	p15.4	9	Loss	→ OR52B4
4	15	22299419	22335643	36.22Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	16	Loss	
5	15	22400060	22729398	329.34Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	83	Loss	
6	16	34473663	34729013	255.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	12	Gain	
7	17	34497643	34801814	304.17Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	10	Gain	
8	17	36290254	36391100	100.85Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	11	Gain	
9	X	1044458	1045040	582b	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	5	Loss	
10	X	128671401	128696724	25.32Kb	Pathogenic	q25	26	Loss	
11	Y	994458	995040	582b	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	5	Loss	



Şekil 4.3. Olgu 9'a ait X kromozomunun uzun kolunda 25.32 Kb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[hg19] 11p15.4(4237375_4458167)x1, 15q11.2(22400060_22729398) x1, 16p11.2p11.1(34473663_34729013)x3, 17q12(34497643_34801814)x3, Xq25 (128671401_128696724)x0

Olgu 10

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 20 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.11).

Bu CNV'lerin 16'sı sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup; sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

1. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *OR4F29* (*olfactor receptor family 4 subfamily F member 29* - olfaktör reseptör ailesi 4 alt aile F'nin 29. üyesi) geni bulunmaktadır.

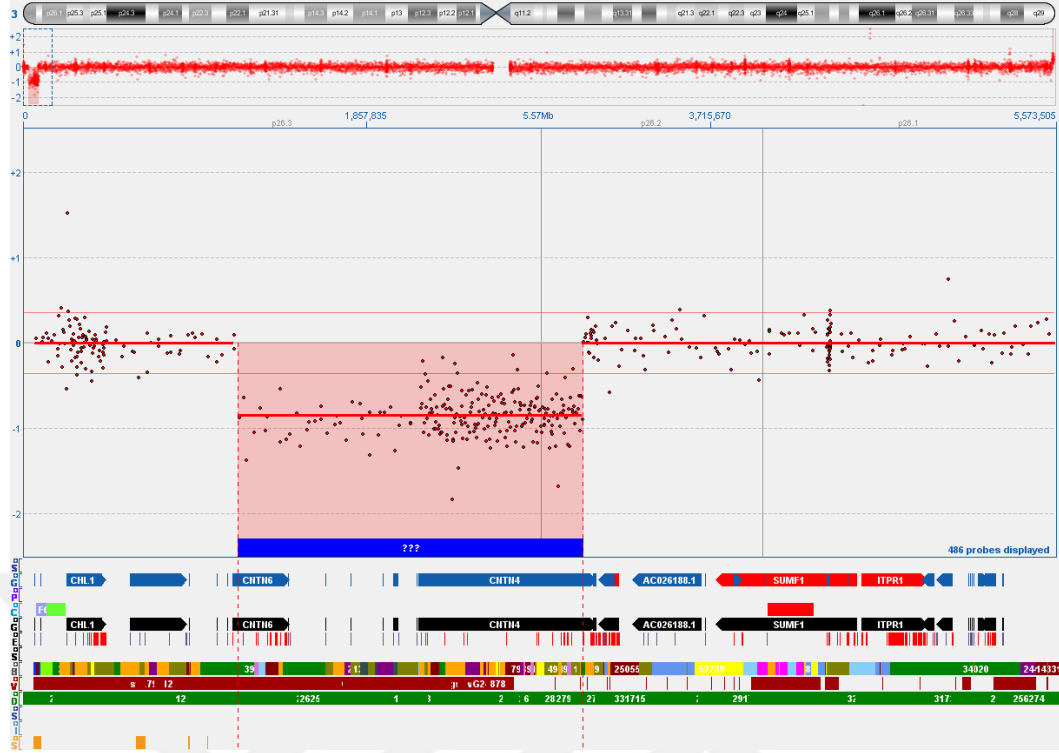
2. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

3. kromozomun kısa kolunda 1.86 Mb boyutunda delesyonun 'Kromozom 3pter-p25 delesyon sendromu' içerisinde yer almaktadır (Şekil 4.4).

3. kromozomun uzun kolunda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmaktadır: *IQCG* (*IQ motif containing protein G* - IQ motif içeren protein G), *RPL35A* (Ribozomal protein L35A), *LMLN* (Leishmanolysin like - Leishmanolizin benzeri). Sadece *RPL35A* morbid OMIM genidir.

Tablo 4.11. Olgu 10'a ait seçim lutlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	120840	564485	443.64Kb	VOUS	p36.33	6	Loss	⇒ OR4F29
2	1	149040201	149082682	42.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.2	16	Loss	
3	2	35574109	35774817	200.71Kb	VOUS	p22.3	9	Loss	⇒ -
4	3	1161258	3019093	1.86Mb	Pathogenic	p26.3p26.2	235	Loss	
5	3	197618195	197844960	226.76Kb	VOUS	q29	40	Gain	⇒ IQCG RPL35A LMLN
6	5	69238689	69372509	133.82Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	5	Loss	
7	8	39234130	39344384	110.25Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	6	Loss	
8	9	12020321	12114296	93.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23	6	Loss	
9	14	20203456	20229170	25.71Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	8	Gain	
10	14	20249948	20263496	13.55Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	13	Gain	
11	14	20318532	20424580	106.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	342	Gain	
12	16	15048660	15052690	4.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	p13.11	6	Gain	
13	X	1757773	1758985	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Gain	
14	Y	1707773	1708985	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	6	Gain	
15	Y	25297478	25307702	10.22Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	12	Loss	
16	Y	25381444	25424792	43.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	37	Loss	
17	Y	26928817	26941793	12.98Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	17	Loss	
18	Y	27006933	27011772	4.84Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	6	Loss	
19	Y	27013326	27021661	8.34Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Loss	
20	Y	27028419	27040467	12.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Loss	



Şekil 4.4. Olgu 10'a ait 3. kromozomun kısa kolunda 1.86 Mb boyutunda delesyon

Array CGH sonucu: arr[hg19] 1p36.33(120840_564485)x1,
 2p22.3(35574109_35774817)x1, 3p26.3p26.2(1161258_3019093)x1,
 3q29(197618195_197844960)x3

Olgu 11

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 10 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.12).

Bu CNV'lerin dokuzu sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup; sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

1. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.12 Olgu 11'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	632953	759117	126.16Kb	VOUS	p36.33	5	Gain	→ -
2	1	149040201	149232476	192.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.2	29	Loss	
3	14	19609179	20227944	618.76Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	24	Gain	
4	14	20251252	20424580	173.33Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	358	Gain	
5	15	20582503	20588258	5.75Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	6	Loss	
6	16	34473663	34729013	255.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	12	Gain	
7	22	16126719	16320675	193.96Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	8	Gain	
8	22	20402618	20612416	209.8Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	5	Loss	
9	22	21499435	21759580	260.14Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	10	Loss	
10	X	1757773	1758985	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 14q11.2(19609179_20227944)x3,
16p11.2p11.1(34473663_34729013)x3, 22q11.21(20402618_20612416)x1,
22q11.21(21499435_21759580)x1

Olgu 12

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam yedi CNV belirlenmiştir (Tablo 4.13).

Bu CNV'lerin hepsi sağlıklı bireylerde görülen CNV'lerdir.

Tablo 4.13. Olgu 12'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	1	564512	569480	4.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.33	11	Loss
2	4	69374653	69483285	108.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Loss
3	10	47550452	47696935	146.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.22	15	Gain
4	12	31281831	31393706	111.88Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.21	5	Gain
5	14	106072254	106196357	124.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	5	Loss
6	15	22299329	22370133	70.8Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	29	Gain
7	15	22381403	22698579	317.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	83	Gain

Array CGH sonuç: arr[hg19] 15q11.2(22381403_22698579)x3

Olgu 13

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 27 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.14)

Bu CNV'lerin 22'si sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

11. kromozomun p15.4 bölgesinde protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Diğer bölgelerin ise sırasıyla içerdiği protein kodlayan morbid genler aşağıda belirtilmiştir.

7. kromozomdaki bölge, *MNX1* (*motor neuron and pancreas homeobox 1* - motor nöron ve pankreas homeobox 1)

9. kromozomdaki bölge, *MTAP* (*methylthioadenosine phosphorylase* - metil tioadenozin fosforilaz), *CDKN2A* (*cyclin dependent kinase inhibitör 2A* - siklin bağımlı kinaz inhibitör 2A)

11. kromozomdaki bölge, *HRAS* (V-HA-RAS Harvey sıçan sarkom viralonkogen homoloğu)

22. kromozomdaki bölge, *TBX1* (*T box 1* - T kutusu 1)

Tablo 4.14. Olgu 13'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	7	63472062	63683164	111.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12.1	6	Loss	
2	7	166002074	166003217	1.14Kb	VOUS	q36.3	8	Gain	⇒ MNX1
3	9	21708366	22337423	629.06Kb	VOUS	p21.3	20	Gain	⇒ MTAP
4	9	43669164	43669703	649b	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	6	Gain	⇒ CDKN2A
6	10	46966938	46971429	6.49Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.22	13	Gain	
8	11	634669	637779	3.11Kb	VOUS	p16.6	11	Gain	⇒ HRAS
7	11	3313671	3368621	44.76Kb	VOUS	p16.4	6	Gain	⇒ -
8	14	19301974	19467937	166.96Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Loss	
9	14	106676633	106769408	100.86Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	7	Loss	
10	17	21196636	21220636	26Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	8	Gain	
11	20	67464092	67466014	1.92Kb	Probably false call	q13.32	9	Gain	
12	22	19747028	19761197	4.17Kb	???	q11.21	14	Gain	⇒ TBX1
13	X	60701	162434	101.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	14	Loss	
14	Y	10701	112434	101.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	13	Loss	
15	Y	9164291	9364439	170.16Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	7	Gain	
16	Y	19707822	20471946	764.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.221q11.222	39	Gain	
17	Y	26206244	26313434	107.19Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	66	Gain	
18	Y	26342142	26368693	26.66Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	16	Gain	
18	Y	26376461	26404146	27.7Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	29	Gain	
20	Y	26426030	26604031	78Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	31	Gain	
21	Y	26864186	26282400	416.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223q11.23	116	Gain	
22	Y	26839990	26949606	109.62Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	67	Gain	
23	Y	26966627	26983166	26.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	16	Gain	
24	Y	27000949	27021661	20.71Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	21	Gain	
25	Y	27041706	27122413	80.71Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	32	Gain	
26	Y	27809091	28342386	633.29Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	117	Gain	
27	Y	66968366	69030671	62.2Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12	29	Gain	

Bu olguda kalite kontrol parametleri istenen değerlerde elde edilememiştir. Bu nedenle 200 Kb altındaki değişiklikleri ayırt edememektedir.

Array CGH sonuç: arr[hg19] 9p21.3(21708365_22337423)x3,

Yq11.221q11.222(19707822_20471946)x2,

Yq11.223q11.23(25864185_26282400)x2, Yq11.23(27809091_28342385)x2

Olgu 14

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam sekiz CNV belirlenmiştir (Tablo 4.15).

Bu CNV'lerin hepsi sağlıklı bireylerde görülen CNV'lerdir.

Tablo 4.15. Olgu 14'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	4	70067596	70230158	162.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Loss
2	7	62149948	62153739	3.79Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	23	Loss
3	8	39234130	39344384	110.25Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	6	Gain
4	14	19457788	19469929	12.14Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Gain
5	14	20253749	20424469	170.72Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	354	Gain
6	15	22373311	22380904	7.59Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Loss
7	17	44207885	44342442	134.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	6	Gain
8	X	77254	162434	85.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	11	Gain

Array CGH sonuç: arr(1-22,X)x2

Olgu 15

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 17 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.16).

Bu CNV'lerin 13'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

4. kromozomdaki ve Xq28'deki değişikliği içeren bölgelerde protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

11. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CDKN1C* geni, Xq27.3'deki değişikliği içeren bölgenin ise protein kodlayan *SPANXN-2,3* (*SPANX family member N2,3* - SPANKS ailesi üye N2 ve N3), *SLITRK4* (*slit and ntrk like family member 4*, Slit ve NTRK benzeri aile üye 4) genleri bulunmaktadır.

Tablo 4.16. Olgu 15'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	2	87376073	87954938	578.87Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	23	Loss	
2	4	181769780	181894268	124.49Kb	VOUS	q34.3	6	Loss	⇒ -
3	6	259531	330647	71.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	14	Loss	
4	11	2906504	2906721	217b	VOUS	p15.4	6	Gain	⇒ CDKN1C
5	14	19301974	20424580	1.12Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	400	Loss	
6	15	20582503	20588258	5.75Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	6	Loss	
7	15	22334162	22343911	9.75Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Loss	
8	16	32066962	32806737	739.77Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	33	Loss	
9	16	33380842	33773104	392.26Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	28	Loss	
10	16	34473663	34729013	255.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	12	Loss	
11	17	18980299	19107073	126.77Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	6	Gain	
12	X	929503	941084	11.58Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Loss	
13	X	142577818	142902240	324.42Kb	VOUS	q27.3	13	Gain	⇒ SPANXN-2,3 SLITRK4
14	X	151157086	151255165	98.08Kb	VOUS	q28	7	Gain	⇒ -
15	Y	879503	891084	11.58Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	6	Loss	
16	Y	25410362	25424792	14.43Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	12	Gain	
17	Y	27028419	27040467	12.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 2p11.2(87376073_87954938)x1, 14q11.2(19301974_20424580)x1, 16p11.2(32066962_32806737)x1, 16p11.2(33380842_33773104)x1, 16p11.2 p11.1(34473663_34729013)x1, Xq27.3(142577818_142902240)x2

Olgu 16

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 12 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.17).

Bu CNV'lerin 11'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

8. kromozomdaki bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.17. Olgu 16'ya ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	4	69386984	69483285	96.3Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	7	Loss	
2	6	259531	366419	106.89Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	16	Loss	
3	6	32497342	32624749	127.41Kb	CNV (seen in normal individuals)	p21.32	7	Loss	
4	7	41097	65604	24.51Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.3	5	Gain	
5	8	89956394	90100223	143.83Kb	VOUS	q21.3	7	Loss	→
6	9	67639963	67666092	26.13Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13	8	Loss	
7	15	20417203	20963722	546.52Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1q11.2	107	Loss	
8	15	21081478	21132220	50.74Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	103	Loss	
9	15	21200075	21200924	849b	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Loss	
10	16	21625002	21739553	114.55Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12.2	32	Gain	
11	16	33380842	33465588	84.75Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	6	Loss	
12	16	34473663	34729013	255.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	12	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 15q11.1q11.2(20417203_20963722)x1, 16p11.2p11.1(34473663_34729013)x3

Olgu 17

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam altı CNV belirlenmiştir (Tablo 4.18).

Bu CNV'lerin hepsi sağlıklı bireylerde görülen CNV'lerdir.

Tablo 4.18. Olgu 17'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	11	3312670	3313930	1.26Kb	CNV (seen in normal individuals)	p15.4	5	Gain
2	12	8003501	8118098	114.6Kb	CNV (seen in normal individuals)	p13.31	6	Loss
3	15	21941357	22486625	545.27Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	81	Gain
4	15	22496672	22581367	84.69Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	19	Gain
5	17	44230039	44351155	121.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	6	Loss
6	22	18661699	18765161	103.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	5	Loss

Array CGH sonuç: arr[hg19] 15q11.2(21941357_22486625)x3

Olgu 18

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 11 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.19).

Bu CNV'lerin hepsi sağlıklı bireylerde görülen CNV'lerdir.

Tablo 4.19. Olgu 18'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	4	69374653	69483285	108.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Gain
2	9	43441603	43659703	218.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12p11.2	14	Loss
3	22	18661699	18921616	259.92Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	34	Gain
4	22	21468352	21661435	193.08Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	9	Gain
5	22	25695468	25903811	208.34Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23q12.1	9	Gain
6	X	77254	162434	85.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	11	Gain
7	Y	10701	112434	101.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	13	Gain
8	Y	26094130	26176819	82.69Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	23	Gain
9	Y	26201487	26263071	61.58Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	11	Gain
10	Y	27727994	27760944	32.95Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	7	Gain
11	Y	27772446	27868277	95.83Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	23	Gain

Array CGH sonuç: arr[hg19] 9p12p11.2(43441603_43659703)x1,
22q11.21(18661699_18921616)x3, 22q11.23q12.1(25695468_25903811)x3

Olgu 19

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 16 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.20).

Bu CNV'lerin 13'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

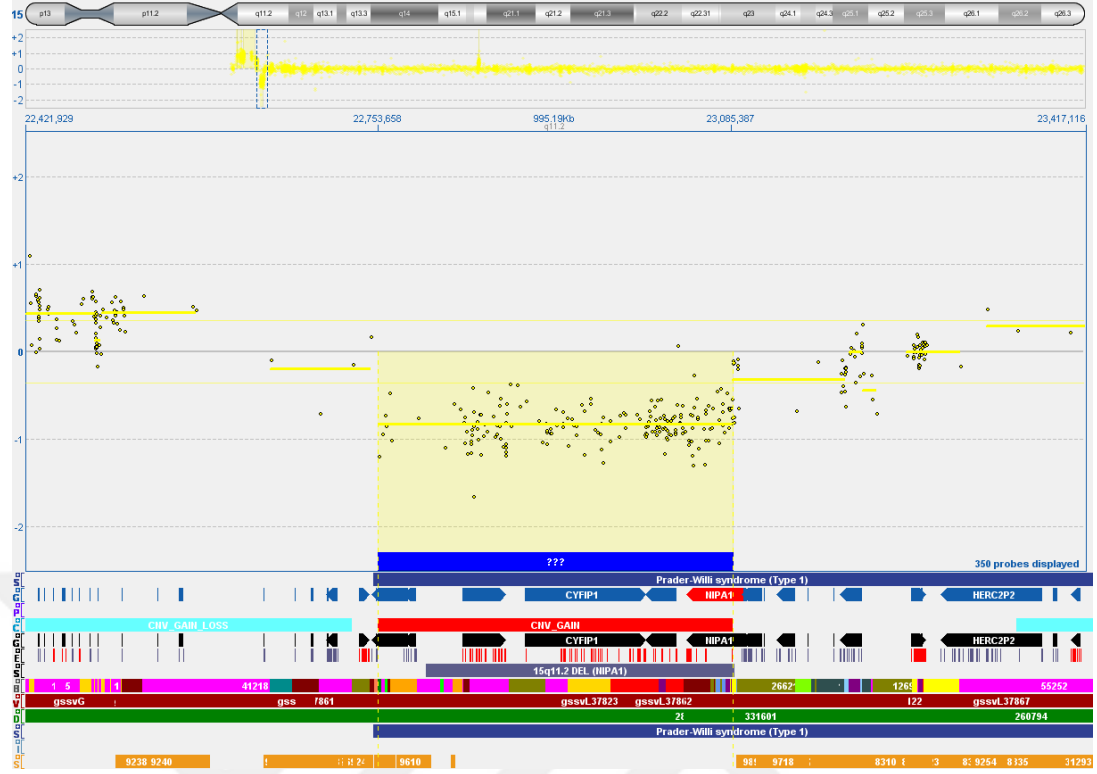
6. kromozomdaki değişikliği içeren bölge *FAM65B* (Family with sequence similarity 65 member B - 65 dizisi ile benzerlik gösteren aile, B üyesi) geninin 3' ucunu içermektedir.

13. kromozomdaki değişikliği içeren bölge protein kodlayan *DIAPH3* (Diaphonous drosophila homolog of 3 - Diaphonous, drozofila homologu 3) geninin 3' ucunu içermektedir.

15. kromozomun uzun kolunda 331.73 Kb boyutunda delesyon, 'Kromozom 15q11.2 delesyon sendromu' bölgesi içinde yer almaktadır (Şekil 4.5).

Tablo 4.20. Olgu 19'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	104107558	104161033	53.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	p21.1	5	Gain	
2	2	242856599	243007457	150.86Kb	CNV (seen in normal individuals)	q37.3	35	Gain	
3	3	100352835	100419621	66.79Kb	CNV (seen in normal individuals)	q12.2	5	Gain	
4	6	25018098	25094519	76.42Kb	VOUS	p22.3	5	Gain	⇒ <i>FAM65B</i>
5	7	41097	65604	24.51Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.3	5	Gain	
6	13	60570990	60804638	233.65Kb	VOUS	q21.2	10	Gain	⇒ <i>DIAPH3</i>
7	15	20417203	20576980	159.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	12	Gain	
8	15	20589980	20626717	36.74Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	15	Gain	
9	15	20787753	21031763	244.01Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	78	Gain	
10	15	21079115	21168482	89.37Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	194	Gain	
11	15	21202077	22318644	1.12Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	46	Gain	
12	15	22753658	23085387	331.73Kb	Pathogenic	q11.2	196	Loss	
13	15	43897271	43936355	39.08Kb	CNV (seen in normal individuals)	q15.3	45	Gain	
14	19	27962072	27963095	1.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11	5	Gain	
15	X	1044458	1107078	62.62Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	12	Gain	
16	Y	994458	1057078	62.62Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	12	Gain	



Şekil 4.5. Olgu 19'a ait 15. kromozomun uzun kolunda 331.73 Kb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[hg19]13q21.2(60570990_60804638)x3, 15q11.2(20787753_21031763)x3, 15q11.2(21202077_22318644)x3, 15q11.2(22753658_23085387)x1

Olgu 20

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 16 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.21).

Bu CNV'lerin 15'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *SDK1* (*sidekick, drosophila, homolog 1* - Sidekick drozofila homolog 1) geni bulunmaktadır.

Tablo 4.21. Olgu 20'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	564426	569480	5.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.33	12	Loss	
2	5	68935990	70268197	1.33Mb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	46	Gain	
3	5	70555354	70613129	57.77Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	5	Gain	
4	7	3385692	3469989	84.3Kb	VOUS	p22.2	5	Loss	⇒ SDK1
5	7	53472052	53583154	111.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12.1	6	Loss	
6	8	39234130	39362915	126.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	7	Loss	
7	9	69192465	69198208	5.74Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.11	10	Gain	
8	14	20202176	20424580	222.4Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	374	Gain	
9	15	22302043	22411479	109.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	36	Gain	
10	15	22415415	22486701	71.29Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	38	Gain	
11	15	22486712	22491896	5.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	17	Gain	
12	15	22493527	22581367	87.84Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	20	Gain	
13	15	34695140	34841422	146.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q14	7	Gain	
14	22	18661699	18765161	103.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	5	Loss	
15	X	1044458	1045040	582b	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	5	Gain	
16	X	1757773	1758985	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 5q13.2(68935990_70268197)x3,
14q11.2(20202176_20424580)x3

Olgu 21

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam altı CNV belirlenmiştir (Tablo 4.22).

Bu CNV'lerin beşi sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

5. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *NAIP* (*neuronal apoptosis inhibitory protein* - nöronal apopizosiz inhibitör protein) geni bulunmaktadır.

Tablo 4.22. Olgu 21'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	13774155	13777030	2.88Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.21	12	Loss	
2	4	69374653	69483285	108.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Gain	
3	5	70305885	70310324	4.44Kb	VOUS	q13.2	26	Gain	⇒ NAIP
4	14	20376014	20379455	3.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	17	Loss	
5	14	107148712	107182651	33.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	11	Gain	
6	15	21166356	21168482	2.13Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	17	Gain	

Array CGH sonuç: arr(1-22,X)x2

Olgu 22

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 12 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.23).

Bu CNV'lerin 11'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

5. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *NAIP* ve *GTF2H2* (Genel transkripsiyon faktör IIIH; Polipeptit 2) genleri bulunmaktadır.

Tablo 4.23. Olgu 22'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	104107558	104161033	53.48Kb	CNV (seen in normal individuals)	p21.1	5	Gain	
2	1	144913571	144949107	35.54Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.1	161	Gain	
3	4	69374653	69483285	108.63Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Loss	
4	5	70305545	70386594	81.05Kb	VOUS	q13.2	38	Gain	⇒ NAIP GTF2H2
5	15	20549990	20626717	76.73Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	29	Gain	
6	16	18306782	18780881	474.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12.3	13	Gain	
7	17	44230039	44351155	121.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	6	Gain	
8	21	10773805	10922062	148.26Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	8	Gain	
9	22	18661699	18986108	324.41Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	43	Gain	
10	22	20612357	20708938	96.58Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.21	5	Gain	
11	X	1738622	1748472	9.85Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Loss	
12	Y	25400780	25404148	3.37Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	6	Loss	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 16p12.3(18306782_18780881)x3,
22q11.21(18661699_18986108)x3

Olgu 23

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam yedi CNV belirlenmiştir (Tablo 4.24).

Bu CNV'lerin altısı sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireyde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

4. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

Tablo 4.24. Olgu 23'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	4	133298808	133455304	156.5Kb	VOUS	q28.3	7	Loss	→ -
2	8	7579816	7618142	38.33Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	6	Loss	
3	14	19467164	19878211	411.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	18	Gain	
4	14	20203456	20376946	173.49Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	214	Gain	
5	14	20377281	20424580	47.3Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	156	Gain	
6	19	27962072	27963095	1.02Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11	5	Gain	
7	22	16126719	16320675	193.96Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	8	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 14q11.2(19467164_19878211)x3

Olgu 24

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam sekiz CNV belirlenmiştir (Tablo 4.25).

Bu CNV'lerin yedisi sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

20. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *DEFB115* (Defensin beta 115) geni bulunmaktadır.

Tablo 4.25. Olgu 24'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	8	39234130	39362915	128.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	7	Loss	
2	14	20214525	20424469	209.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	370	Loss	
3	16	34482072	34729013	246.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	11	Gain	
4	17	44230039	44342442	112.4Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	5	Loss	
5	20	29833379	29850641	17.26Kb	VOUS	q11.21	59	Gain	⇔ DEFB115
6	Y	25381444	25403604	22.16Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	24	Gain	
7	Y	26928817	26942374	13.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	19	Gain	
8	Y	27008546	27021661	13.12Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	17	Gain	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 14q11.2(20214525_20424469)x1,
16p11.2p11.1(34482072_34729013)x3

Olgu 25

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 14 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.26).

Bu CNV'lerin 13'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen bir değişiklik incelendiğinde;

1. kromozomun uzun kolunda 2.49 Mb boyutunda delesyon bölgesi, 'Kromozom 1q43-44 delesyon sendromu' içerisinde bulunmaktadır (Şekil 4.6).

Tablo 4.26. Olgu 25'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	1	564512	568364	3.85Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.33	10	Loss
2	1	148643280	149241529	598.25Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.2	35	Loss
3	1	242854129	245344443	2.49Mb	Pathogenic	q43q44	101	Loss
4	4	190484107	190653134	169.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	q35.2	8	Gain
5	6	259531	293497	33.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	10	Loss
6	7	142458071	142468630	10.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q34	22	Loss
7	12	112184121	112303042	118.92Kb	CNV (seen in normal individuals)	q24.12q24.13	6	Gain
8	14	20376014	20379455	3.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	17	Loss
9	14	43856447	44221794	365.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.2	17	Gain
10	15	20958819	20963722	4.9Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	5	Loss
11	15	25333141	25333874	733b	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	8	Loss
12	15	43888952	43895827	6.88Kb	CNV (seen in normal individuals)	q15.3	19	Gain
13	15	43916975	43935475	18.5Kb	CNV (seen in normal individuals)	q15.3	32	Gain
14	16	34473663	34729013	255.35Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2p11.1	12	Gain



Şekil 4.6. Olgu 25'e ait 1. kromozomun uzun kolunda 2.49 Mb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[hg19] 1q21.2(148643280_149241529)x1,
 1q43q44(242854129_245344443)x1, 14q21.2(43856447_44221794)x3,
 16p11.2p11.1(34473663_34729013)x3

Olgu 26

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam dört CNV belirlenmiştir (Tablo 4.27).

Bu CNV'lerin hepsi sağlıklı bireylerde görülen CNV'lerdir.

Tablo 4.27. Olgu 26'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss
1	2	242856599	243007457	150.86Kb	CNV (seen in normal individuals)	q37.3	35	Loss
2	5	697770	759188	61.42Kb	CNV (seen in normal individuals)	p15.33	5	Gain
3	9	43441603	43659703	218.1Kb	CNV (seen in normal individuals)	p12p11.2	14	Gain
4	17	18950617	19107073	156.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	7	Gain

Array CGH sonuç: arr[hg19] 9p12p11.2(43441603_43659703)x3

Olgu 27

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 63 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.28).

Bu CNV'lerin yirmi altısı sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen ve 10 Kb'm üzerinde olan değişiklikler incelendiğinde (Çalışma istenen kalitede gerçekleşmediği için 10 Kb'm altındaki değişiklikler gürültü olarak değerlendirildi);

1. kromozomdaki (1:2345511_2452710 ve 1:2458264_2500812) bölgelerde protein kodlayan *PLCH2* (*phospholipase C, ETA-2* - fosfolipaz C, ETA-2), *PANK4* (pantotenatkinaz 4), *HES5* (*hairy/enhancer of split, drosophila, homolog 5*-saçlı/güçlendirici bölücü, drozofila homolog 5) ve *TNFRS14* (TNF reseptör süperailisi üye 14) genleri bulunmaktadır.

Diğer bölgelerin içerdikleri protein kodlayan morbid genleri aşağıda belirtilmiştir:

1. kromozomdaki bölge (1:957458_988883), *AGRN*(agrin)

1. kromozomdaki bölge (1:2620145_3652269), *PRDM16* (*PR domain containing protein 16* - PR bölgesi içeren protein 16)

9. kromozomdaki bölgeler, *NOTCH1* (Notchdrosofila homolog 1)

11. kromozomdaki bölge (11: 2007834_2018605), *H19* (*imprinted maternally expressed noncoding transcript* - maternal olarak eksprese edilen imprintinge uğramış transkript 19)

11. kromozomdaki bölge (11: 2175342_2192155), *INS* (insülin), *TH* (tirozin hidroksilaz)

11. kromozomdaki bölge (11: 2923840_3953567), *SLC22A18* (solute carrier family 22 member 18 - solid taşıyıcı aile 22 üye 18)

16. kromozomdaki bölge, *TSC2* (tüberin), *PKD1* (poliksitin 1)

20. kromozomdaki bölge, *CHRNA4* (cholinergic receptor, neuronal nicotinic, alpha polypeptide 4 - nöronal nikotinik asetil kolin reseptörü alfa 4 alt ünitesi)

Tablo 4.28. Olgu 27'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/ Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	931484	937023	5.54Kb	???	p30.33	15	Loss	
2	1	957458	968883	31.43Kb	VOUS	p30.33	23	Loss	AGRN
3	1	1954045	1963033	8.99Kb	???	p30.33	17	Loss	PLCH2
4	1	2345511	2452710	107.2Kb	VOUS	p30.32	20	Loss	PANK4
5	1	2458204	2500612	42.55Kb	VOUS	p30.32	35	Loss	HES5
6	1	3020145	3052209	32.12Kb	VOUS	p30.32	15	Loss	TNFRS14 PRDM16
7	1	12910470	12992728	82.25Kb	CNV (seen in normal individuals)	p30.21	0	Loss	
8	1	149040201	149157290	117.09Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.2	27	Loss	
9	2	45108801	45171011	2.75Kb	???	p21	32	Loss	
10	2	172905823	172907309	1.55Kb	???	q31.1	11	Loss	
11	2	237075193	237076552	1.36Kb	CNV (seen in normal individuals)	q37.2	12	Loss	
12	2	241394085	241403314	9.23Kb	???	q37.3	7	Loss	
13	2	241512385	241518510	6.12Kb	???	q37.3	6	Loss	
14	2	241809177	241817847	8.67Kb	???	q37.3	23	Loss	
15	4	990438	997794	7.36Kb	???	p10.3	11	Loss	
16	5	871572	885755	14.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p15.33	18	Loss	
17	5	176519044	176524222	5.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	q35.2	0	Loss	
18	6	259911	339797	79.89Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	14	Gain	
19	7	72849093	72850053	960b	???	q11.23	5	Loss	
20	7	155596378	155602430	6.06Kb	CNV (seen in normal individuals)	q30.3	31	Loss	
21	8	7572195	7800227	234.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	14	Gain	
22	9	129454940	129458637	3.7Kb	???	q33.3	8	Loss	
23	9	139407165	139430570	23.41Kb	VOUS	q34.3	7	Loss	NOTCH1
24	9	139438330	139450942	12.61Kb	VOUS	q34.3	10	Loss	
25	11	825885	826784	899b	???	p15.5	10	Loss	
26	11	2007834	2018605	10.77Kb	VOUS	p15.5	49	Loss	H19
27	11	2156613	2161583	4.77Kb	???	p15.5	19	Loss	
28	11	2175342	2192155	16.81Kb	VOUS	p15.5	30	Loss	INS TH
29	11	2907064	2908195	1.13Kb	???	p15.4	5	Loss	
30	11	2923840	2953507	29.73Kb	VOUS	p15.4	27	Loss	SLC22A18
31	11	17407418	17409463	2.04Kb	???	p15.1	9	Loss	
32	11	67378287	67384256	5.97Kb	???	q13.2	28	Loss	
33	14	19457944	19677410	219.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	0	Gain	
34	14	19793283	20344722	551.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	142	Gain	

Tablo 4.28.(devamı). Olgu 27'ye ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

35	14	20344727	20345102	375b	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	5	Gain	
36	14	20345259	20347190	1.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	14	Gain	
37	14	20347281	20347052	371b	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	5	Gain	
38	14	20347053	20424580	70.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	223	Gain	
39	14	20230278	20237804	1.53Kb	???	q12	0	Loss	
40	14	54419507	54421043	2.08Kb	???	q22.2	12	Loss	
41	14	100057024	100215513	157.89Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	8	Loss	
42	10	1032404	1035001	3.2Kb	???	p13.3	13	Loss	
43	10	2121470	2130521	18.05Kb	VOUS	p13.3	38	Loss	TSC2 PKD1
44	10	30100305	30100354	3.09Kb	???	p11.2	24	Loss	
45	17	40005001	40700029	4.73Kb	???	q21.2	11	Loss	
46	17	44188179	44289204	101.08Kb	CNV (seen in normal individuals)	q21.31	0	Loss	
47	17	70117215	70120197	2.98Kb	???	q24.3	14	Loss	
48	17	72910742	72920705	3.00Kb	???	q25.1	0	Loss	
49	19	4122019	4124513	2.49Kb	???	p13.3	10	Loss	
50	19	47259705	47200570	805b	???	q13.32	7	Loss	
51	20	01979100	01991070	12.48Kb	VOUS	q13.33	11	Loss	CHRN4
52	22	51003218	51000302	3.08Kb	???	q13.33	31	Loss	
53	X	1040701	1180708	140.07Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	20	Loss	
54	X	1757773	1758085	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	0	Loss	
55	X	153002019	153003742	1.12Kb	???	q28	10	Loss	
56	Y	090701	1130708	140.07Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	25	Loss	
57	Y	1707773	1708085	1.21Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.32	0	Loss	
58	Y	24873007	25203033	330.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	85	Loss	
59	Y	26370707	26375357	4.59Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	5	Gain	
60	Y	26410302	26424792	14.43Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	12	Gain	
61	Y	26535207	26830775	301.57Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	77	Loss	
62	Y	27028419	27040407	12.05Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	12	Gain	
63	Y	27125023	27427226	301.0Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	77	Loss	

Bu olguda kalite kontrol parametleri istenen değerlerde elde edilememiştir. Bu nedenle 200 Kb altındaki değişiklikleri ayırt edememektedir.

Array CGH sonuç: arr[hg19] 8p23.1(7572195_7806227)x3,
 14q11.2(19457944_19677410)x3 14q11.2(19793283_20344722)x3,
 Yq11.223(24873007_25203033)x0, Yq11.23(26535207_26836775)x0,
 Yq11.23(27125623_27427226)x0

Olgu 28

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 15 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.29).

Bu CNV'lerin 13'ü sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

16. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamakta, 22. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede ise protein kodlayan *TBX1* geni bulunmaktadır

Tablo 4.29. Olgu 28'e ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	1	17039761	17214168	174.41Kb	CNV (seen in normal individuals)	p36.13	7	Loss	
2	4	70067596	70230158	162.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q13.2	8	Loss	
3	6	259531	293497	33.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	p25.3	10	Loss	
4	8	7113656	7881316	767.66Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	37	Gain	
5	8	39234130	39362915	128.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.22	7	Gain	
6	8	137715929	137822146	106.22Kb	CNV (seen in normal individuals)	q24.23	6	Loss	
7	14	107148712	107182651	33.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	11	Loss	
8	15	21941357	22370133	428.78Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	32	Loss	
9	15	22373311	22380904	7.59Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	6	Loss	
10	15	22381403	22581367	199.96Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	81	Loss	
11	16	15130754	15278727	147.97Kb	VOUS	p13.11	35	Gain	→ --
12	16	31986103	33773104	1.79Mb	CNV (seen in normal individuals)	p11.2	93	Loss	
13	22	19747566	19749385	1.82Kb	VOUS	q11.21	7	Gain	→ <i>TBX1</i>
14	X	77254	162434	85.18Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	11	Loss	
15	X	929503	941084	11.58Kb	CNV (seen in normal individuals)	p22.33	6	Loss	

Array CGH sonuç: arr[hg19] 8p23.1(7113656_7881316)x3,

15q11.2(21941357_22370133)x1, 16p11.2(31986103_33773104)x1

Olgu 29

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam yedi CNV belirlenmiştir (Tablo 4.30).

Bu CNV'lerin beşi sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

3. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan üç gen; *SUMF1* (*Sulfatase-modifying factor 1* - Sülfataz modifiye edici faktör 1), *SETMAR* (*Set and mariner transposase domains containing protein* - Set ve Mariner transpoze bölgeler içeren protein), *ITPR1* (İnozitol1,4,5trifosfat reseptör tip 1). bulunmaktadır. *SUMF1* ve *ITPR1* morbid OMIM genleridir.

14. kromozomun uzun kolunda 1.84 Mb boyutunda delesyon, 'Kromozom 14q11-q22 delesyon sendromu' içerisinde yer almaktadır (Şekil 4.7).

Tablo 4.30. Olgu 29'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	3	4213354	4562730	349.38Kb	VOUS	p26.1	46	Gain	SUMF1 SETMAR ITPR1
2	8	7239471	8079912	840.44Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	35	Loss	
3	8	11985298	12241153	255.85Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	8	Loss	
4	14	19794699	19962063	167.36Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	9	Loss	
5	14	20424745	22263371	1.84Mb	Pathogenic	q11.2	258	Loss	
6	14	107148712	107182651	33.94Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	11	Loss	
7	22	16126719	16320675	193.96Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	8	Loss	



Şekil 4.7. Olgu 29'a ait 14. kromozomun uzun kolunda 1.84 Mb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[19] 3p26.1(4213354_4562730)x3,
 8p23.1(7239471_8079912)x1, 8p23.1 (11985298_12241153)x1,
 14q11.2(20424745_22263371)x1

Olgu 30

Olguda CNV seçim ölçütlerine göre toplam 21 CNV belirlenmiştir (Tablo 4.31).

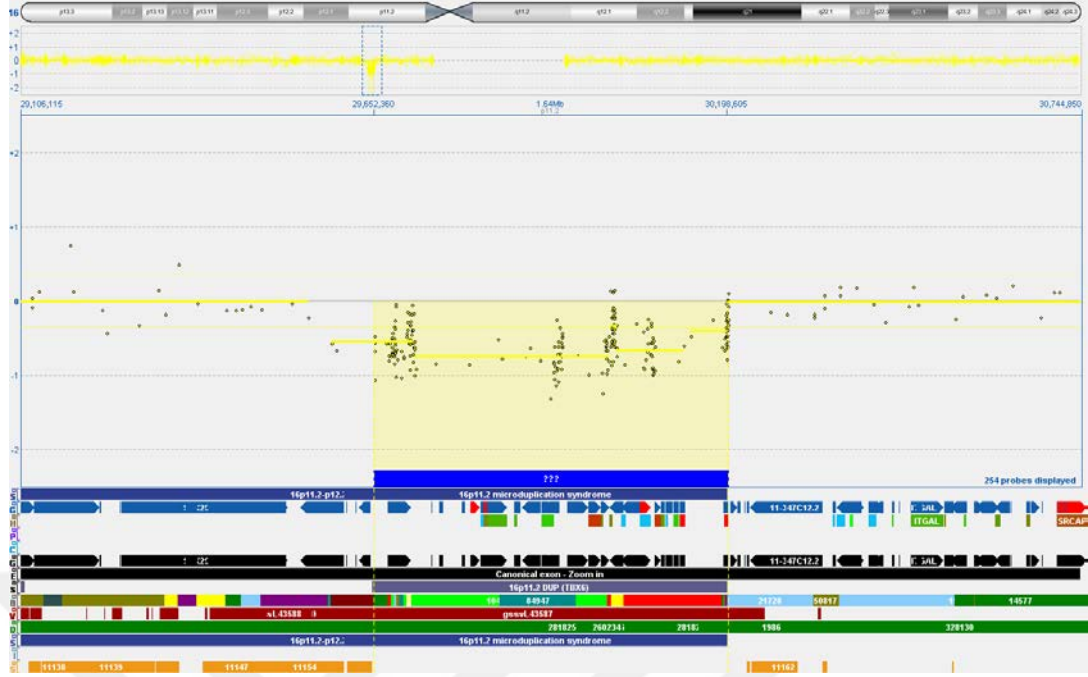
Bu CNV'lerin 18'i sağlıklı bireylerde görülen CNV'ler olup, sağlıklı bireylerde görülmeyen değişiklikler incelendiğinde;

5. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *NAIP* ve *GTF2H2* genleri bulunmakta, 11. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan gen bulunmamaktadır.

16. kromozomun kısa kolunda 546.25 Kb boyutundaki delesyonun 'Kromozom 16p11.2 delesyon sendromu' içerisinde yer aldığı görülmüştür (Şekil 4.8).

Tablo 4.31. Olgu 30'a ait seçim ölçütlerine göre belirlenmiş CNV'ler

	Chromosome	Start	Stop	Size	Classification (Final)	Cytogenetic Location	# Probes	Gain/Loss	Protein coding genes in VOUS
1	5	70305545	70388845	83.3Kb	VOUS	q13.2	39	Loss	NAIP GTF2H2
2	8	7230471	7418030	178.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	9	Loss	
3	8	7018083	7881310	203.23Kb	CNV (seen in normal individuals)	p23.1	11	Loss	
4	11	30973797	37213242	239.44Kb	VOUS	p12	11	Loss	-
5	14	107148712	107180121	31.41Kb	CNV (seen in normal individuals)	q32.33	10	Gain	
6	15	20549990	20570980	20.99Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.1	8	Gain	
7	15	20787753	22299388	1.51Mb	CNV (seen in normal individuals)	q11.2	317	Gain	
8	10	20552300	30198005	546.26Kb	Pathogenic	p11.2	205	Loss	
9	21	11040750	11047980	7.23Kb	CNV (seen in normal individuals)	p11.1	6	Loss	
10	Y	10973240	20206528	233.28Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.222	31	Gain	
11	Y	24082078	24238197	155.52Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	33	Gain	
12	Y	24040502	24805134	224.03Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	50	Gain	
13	Y	24901445	25290993	395.55Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	115	Gain	
14	Y	25309794	25379352	69.56Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223	50	Gain	
15	Y	25420030	26282400	856.37Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.223q11.23	237	Gain	
16	Y	26501300	26928332	426.97Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	120	Gain	
17	Y	26946990	27003464	56.47Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	40	Gain	
18	Y	27041705	27427220	385.52Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	109	Gain	
19	Y	27576435	27593897	17.46Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	6	Gain	
20	Y	27680033	28244781	564.75Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	145	Gain	
21	Y	28283110	28452070	169.57Kb	CNV (seen in normal individuals)	q11.23	42	Gain	



Şekil 4.8. Olgu 30'a ait 16. kromozomun kısa kolunda 546.25 Kb boyutunda delesyon

Array CGH sonuç: arr[19] 8p23.1(7618083_7881316)x1,
 11p12(36973797_37213242)x1, 15q11.2(20787753_22299388)x3,
 16p11.2(29652360_30198605)x1, Yq11.222(19973246_20206528)x2,
 Yq11.223(24640502_24865134)x2, Yq11.223(24901445_25296993)x2,
 Yq11.223q11.23(25426030_26282400)x2, Yq11.23(26501360_26928332)x2,
 Yq11.23(27041705_27427226)x2, Yq11.23(27680033_28244781)x2

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda OGT CytoScan v2 mikroarray platformu ile 30 hastada yapılan array CGH testi sonucunda toplam 413 CNV saptandı. Bu CNV'ler boyutlarına göre değerlendirildiğinde yaklaşık %79'unun 200 Kb'den küçük olduğu görüldü. Bu grup içinde yalnız bir CNV patolojik olarak raporlandı (Olgu 9). CNV'lerin %7'sini oluşturan 500 Kb'den büyük CNV'lerde ise patolojik CNV raporlama oranımızın çok yüksek (%21) olduğu belirlendi. Literatür; saptanan CNV'lerin büyüklüklere göre dağılımları ve patolojik CNV- CNV büyüklüğü arasındaki korelasyon açısından farklılıklar göstermektedir. ACMG genel olarak benign CNV'lerin 1 Mb ve üzeri olduğunu belirtirken, Miller ve arkadaşları (2010) patojenik CNV'lerin 500 Kb'ın üzerinde olduğunu belirtir. Bizim çalışmamızda ağırlıklı olarak 200 Kb'den küçük değişikliklerin bulunması, array CGH çalışan birçok çalışma grubunun sonuçları ile uyumludur (17, 45). Ancak, ACMG'nin bu konudaki kılavuzdan farklı olarak çalışmamızda belirlenen patolojik CNV'lerin %75'i 500 Kb'den büyük CNV'ler ile ilişkilidir (42).

Bu araştırma kapsamında incelenen olgularda saptanan CNV'lerle klinik bulgular arasındaki ilişki değerlendirildiğinde; sekiz hastada güncel literatür bilgisine göre patojenik değişiklik saptandı (Olgu; 1, 2, 9, 10, 19, 25, 29, 30). CMA analiziyle yapılan çalışmalarda etiyoloji %10-15 oranında ortaya konabilmektedir. Çalışmamızda yaklaşık % 27'lik bir oranla klinikle ilişkilendirilebilecek genomik değişiklik belirlenmiştir. Literatür verilerinin üzerinde olan bu oranda, hasta seçim ölçütlerimizin etkisi olabilir. Serimizde yeterli sayıda olgumuz olmamasına karşın, başarı oranında olguların MR düzeyinden çok MR'ye eşlik eden diğer patolojik klinik bulgulardaki çeşitliliğin etkili olduğu dikkat çekmektedir. Seçim ölçütlerine, klinik bulgulardaki çeşitliliğin (en az iki farklı sistem bulgusu olması) eklenmesinin başarı oranının artmasına katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

Ancak bu oran değerlendirilirken, sekiz hastada CNV karakterinin daha net ortaya konabilmesi için anne-baba çalışması yapılması gerekmektedir. Fakat çalışmamız kapsamında bu aşama yapılamamıştır.

Çalışmamızda 28 hastada halka hibridizasyon sistemi kullanılmıştır. Bu yöntemde patojenik CNV belirleme başarı oranının yüksek olabilmesi için benzer

fenotipteki hastaların halka hibridizasyon sistemine alınmaması gerektiği açıktır. Bu yöntem çalışmamızın zayıf yönü gibi görünse de gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik etiyojisinden sorumlu çok sayıda genetik değişiklik olduğu için aynı halkadaki hastaların DD/ID ile ilgili aynı değişikliği taşıma olasılıkları düşüktür. Hastalarımızın hepsinin çift hibridizasyon yöntemi ile çalışılması durumunda, patolojik CNV belirleme oranımızın artabileceği öngülebilir. Ancak patoloji yaklama oranımız dikkate alındığında halka hibridizasyon yönteminin çalışmamızda oldukça başarılı olduğu görülmektedir. Patolojik CNV bulunan hastaların hiçbirinde çift hibridizasyon yöntemi kullanılmamıştır. Ayrıca bu yöntemle maliyetin düşürülmesi, array CGH yönteminin uygulanabilirliğini arttırması açısından önemli bir avantaj sağlar.

Bu sekiz hastaya ek olarak 17 olguda benign değişiklik yanı sıra olası patojenik CNV saptandı (Olgu; 3, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 13, 15, 16, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 28). Bu hastaların beş tanesinde olası patojenik CNV olarak tanımlanan bölgede protein kodlayan gen bulunamadı (Olgu; 3, 7, 11, 16, 23). Olası patojenik CNV'de gen tanımlanan olgularda, bugünkü literatürün ışığında doğrudan fenotiple ilişkilendirme yapılamadı. Ancak bu bölgeleri içeren genleri hedef alarak klinikle ilişkilendirilebilecek çalışmaların planlanması gerektiğini düşünmekteyiz. Dört hastada yalnız benign değişiklik bulunurken, bir hastada hiçbir CNV raporlanmadı.

Analiz platformumuz duyarlılığında çok sayıda benign CNV saptadık. Bu değişiklikler benign olmakla birlikte farklı CNV kombinasyonlarıyla etkisi tam olarak bilinmemektedir. Giririjan ve ark. (2012)'nin yaptığı çalışma bu konuda güzel bir örnek olup CNV'lerde 'iki vuruş' hipotezi olarak adlandırılmıştır. Çalışmada aynı patojenik CNV'yi taşıyan hastalardaki fenotipik farklılık ile genotipleri karşılaştırılmış, ağır fenotipe sahip hastalarda, diğerlerine göre 500 Kb'ın üzerinde ikinci bir CNV'nin varlığının anlamlı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada etkisi öngörülemeyen CNV'lerin yanı sıra imprinting etkisinin, düzenleyici genlerdeki mutasyonların ve çevresel faktörlerin de klinik farklılaşmada etken olabileceği ileri sürülmüştür (56).

Bugün için benign CNV'lerin farklı kombinasyonlarının etkisini gösterebilecek bir veri tabanı olmadığı için, olgulardaki analiz sonuçları tartışılırken literatürde benign olarak tanımlanan CNV'ler bu çerçevede değerlendirmeye alındı. Literatürde

saptanan benign CNV'lerin hiçbirinde fenotiple ilişkilendirilebilen gen bulunmadı. Benign olarak tanımlanmayan her CNV protein kodlayan genler açısından incelendi, bu genlerinin hastanın fenotipi ile ilişkisi tartışıldı.

Saptanan patojenik değişiklik ile ilişkili CNV'ler değerlendirilirken, CNV'ler ile ilişkili sendromlar ya da o bölgede yerleşik klinikle ilişkilendirilen genler dikkate alındı. Öncelikle patojenik değişiklik saptanan sekiz hasta bu çerçevede tartışıldı:

Olgu 1'de belirlenen 18 CNV'den biri olan 17. kromozomun uzun kolundaki 1.43 Mb boyutunda delesyon bulgusu (arr[hg19] 17q12(34817554_36249799)x1), hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilidir:

Olgunun klinik bulguları: MR, esansiyel hipertansiyon, hiperlipidemi, sol böbrek ve sol testiste atrofi

Bu değişiklik güncel literatürde 17q12 mikrodelesyon sendromu olarak yer almaktadır. Bölge 'Renal kist ve diyabet sendromu (RCAD, OMIM 137920)' ile ilişkilidir. Sendrom; kistik renal hastalık, renal anomaliler, gençlerde görülen erişkin tipi diyabet tip 5 (maturity onset diabetes of the young – MODY), pankreas atrofisi ve karaciğer anomalileri ile karakterizedir. Bu bölge delesyonlarına entelektüel yetersizlik, konuşmada gecikme, otizm spektrum bozuklukları ve obezitenin de eşlik edebildiği gösterilmiştir (57). Sendromda tipik olarak renal anomaliler gözlene de genital bölge anomalilerinin eşlik ettiği olgular da bulunmaktadır (58, 59). Literatürde testis atrofisinin eşlik ettiği olgu bildirilmemiştir. Fakat genital bölge anomalileri görülen olgular olduğu için olgumuzdaki fenotipin de 17q12 mikrodelesyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Hiperlipideminin eşlik ettiği olguya literatürde rastlanmamıştır. Bu bulgu olguda koinsidental olarak bulunabileceği ya da sendromun yol açtığı metabolik bozukluklar nedeniyle de oluşabileceği düşünülmüştür.

Protein kodlayan 15 gen, bu delesyon bölgesinde (17q12) yer almaktadır (*ZNHIT3*, *MYO19*, *PIGW*, *GGNBP2*, *DHRS11*, *MRM1*, *LHX1*, *AATF*, *ACACA*, *C17orf78*, *TADA2A*, *DUSP14*, *SYNRG*, *DDX52*, *HNF1B*). Bölgedeki morbid OMIM genleri; *PIGW*, *ACACA* ve *HNF1B*'dir.

HNF1B (HNF1 homeobox B): Transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesini kodlar. Genin protein ürünü böbrek, karaciğer, safra kanalları, timus, genital bölge, pankreas, akciğer ve bağırsakta eksprese edilir. Ayrıca hepatik insülin duyarlılığında

rolü olduğu gösterilmiştir. *HNFB* geni delesyonlarının renal kist ve diyabete sebep olduğu düşünülmektedir (60, 61).

ACACA: (Acetyl-CoA carboxylase-alpha - Asetil KoA karboksilaz alfa): Uzun zincirli yağ asiti sentezinde hız kısıtlayıcı basamağı katalizleyen asetilKoAkarboksilaz tip alfa kodlar. Kanıtlanmamakla beraber genin delesyonlarının, sendrom kliniğine eşlik eden obeziteye katkı sağladığı düşünülmektedir (62).

PIGW (phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class w protein - fosfatidil inozitol glikan çapa biyosentez sınıf W): Glikozil fosfatidil inozitol biyosentezinde rol oynayan inozitol açıl transferazdır. Genin 'compound' heterozigot mutasyonu mental retardasyona hiperfosfatemi ve West Sendromu'nun eşlik ettiği bir hastada gösterilmiştir. Ancak bu ilişkinin, başka hastalarla doğrulanması gerekmektedir (63). Otozomal dominant (OD) tanımlanan bir klinik henüz bulunmamaktadır.

Delesyon bölgesindeki morbid OMIM genleri içinde yer almayan *LMX1* (*Lim homeobox transcription factor 1, alpha* – Lim homeobox transkripsiyon faktörü 1-alfa); sistinden zengin çinko bağlayıcı bölge içeren LIM proteinin kodlar. Bu protein nöronal farklılaşmada rol oynar. Genin fonksiyonu nedeniyle sendroma eşlik eden mental retardasyona katkı sağladığı düşünülebilir (64).

Bahsedilen genler ve "renal kist ve diyabet sendromu" ile ilgili güncel literatür incelendiğinde, arr[hg19] 17q12(34817554_36249799)x1 bulgumuzun, hastadaki şikayetleri açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünüldü.

Ayrıca hastamızda benign değişiklikler içinde yer alan, Y kromozomu üzerinde delesyonu içeren bölgede (arr[hg19]Yq11,23:(26561780_26831081)x0) protein kodlayan *BPY2B* (*Basic protein, Y chromosome 2B* - Y kromozomu temel proteini 2B) geni bulunmaktadır. Bu genin kodladığı protein testiste ekspresyon gösterir ve ubikuitin protein ligaz E3A ile etkileşime girer. Bu da erkek germ hücre gelişim ve erkek infertilitesinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (65). Bu genle ilgili tanımlanmış bir fenotip olmasa da bu bölgenin delesyonu hastanın ürogenital sistem bulgularına katkı sağlıyor olabilir.

Olgu 2'de belirlenen 11 CNV'den biri hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi; 8. kromozomun kısa kolunda 4.3 Mb boyutunda delesyon bulgusu (arr[hg19]8p23.1(8103647_12404066)x1):

Olgunun klinik bulguları: Hafif derece mental retardasyon, atriyal septal defekt, pulmoner stenoz, epilepsi, bilateral inguinal herni ve bilateral hidrosel

8p23.1 güncel literatürde konjenital kalp hastalıkları için kritik bölge olarak tanımlanmaktadır. Bu bölge delesyonlarında konjenital kalp hastalıklarının yanı sıra mikrosefali, intrauterin büyüme geriliği, entelektüel yetersizlik ve hiperaktif-dürtüsel davranış sıklıkla gözlenmektedir (66).

Aynı bölgenin duplikasyonu da gelişme geriliği, öğrenme güçlüğü, konjenital kalp hastalığı ve hafif dismorfik bulgularla ilişkilidir. Bu kliniğe, *SOX7* (*SRY-Box7* – SRY kutusu 7) ve *GATA4* (*GATA binding protein 4* - GATA bağlayıcı proteini 4) genlerinin kodladığı transkripsiyon faktörlerinin etkileşiminin neden olduğu düşünülmektedir (67).

Protein kodlayan 29 gen delesyon bölgesinde yer almaktadır (*CLDN23, MFHAS1, ERI1, PPP1R3B, TNKS, MSRA, PRSS55, RP1L1, C8orf74, SOX7, PINX1, XKR6, MTMR9, SLC35G5, FAM167A, BLK, GATA4, NEIL, FDFT1, CTSB, DEFB136, DEFB135, DEFB134, ZNF705D, USP17L7, USP17L2, FAM86B1, DEFB130, FAM86B2*). *RP1L1, BLK* ve *GATA4* morbid OMIM genleridir.

GATA4: 'GATA' bağlayıcı motifi 4'ü kodlar. Kalp, bağırsak epiteli, primitif endoderm ve gonadlarda yüksek ekspresyon gözlenir (68). Genin myokard farklılaşma ve fonksiyonunda düzenleyici etkisi olduğunu düşündürecek çalışmalar bulunmaktadır (69). *GATA4* geninin, 8p23.1 mikrolelesyonunda gözlenen konjenital kalp hastalığı için aday gen olduğu gösterilmiştir (70).

BLK (*Tyrosine kinase, B-lymphocyte specific* - B lensofit spesifik tirozin kinaz): Ağırlıklı olarak B lenfoit hücrelerde eksprese olan tirozin kinazı kodlar ve OD MODY tip 5 ile ilişkilendirilmiştir (71).

RP1L1 (*RP1-like protein 1* - RP1 benzeri protein 1): *RP1*'ye benzerliği nedeniyle retinitis pigmentosa 1 like 1 olarak adlandırılır ve ekspresyonu retinaya sınırlıdır. Genle ilgili değişikliklerin retinal hastalıklara neden olabileceği düşünülmektedir (72).

SOX7: Gelişimsel süreçlerin düzenlenmesinde önemli rolü olan *SOX* transkripsiyon faktör ailesinin bir üyesini kodlar. Morbid gen olarak tanımlanmamaktadır. Fakat 8p21.1 duplikasyonu fenotipinden sorumlu gen olduğunu düşündürecek yayınlar vardır (67). Gen potansiyel olarak dozaj etkisi gösterdiği için delesyonlarının da mental gelişimle ilgili sorunlarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

GATA4'ün fonksiyonu ve “Kromozom 8p23.1 mikrodelesyon” ile ilgili güncel literatür incelendiğinde, arr[hg19] 8p23.1(8103647_12404066)x1 bulgusunun hastadaki bulguları açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünüldü.

Olgu 9'da belirlenen 11 CNV'den, X kromozomunun uzun kolundaki 25.32 Kb boyutunda delesyon bulgusu (arr[hg19] Xq25(128671401_128696724)x0) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik bulguları: MMR, hipotoni, bilateral katarak, strabismus, nistagmus dismorfik yüz görünümü (Frontal bossing, uzun yüz yapısı, yüksek damak, uzun filtrum, kısa boyun), idrar tetkikinde proteinüri

Bölge *OCRL* (*oculocerebrorenal syndrome of Lowe* – Lowe okuloserebrorenal sendrom) geninin 5' ucundaki kodlayan ekzonları içermektedir. Gen golgide lokalize olan fosfotidilinozitol 4,5, bifosfatı kodlar. Bu nedenle genin golgideki veziküler transportta rolü olduğu düşünülmektedir. *OCRL* geninin mutasyonları ve delesyonları Lowe Okuloserebrorenal Sendrom'a (MIM:300535) sebep olmaktadır. Bu klinik durum mental retardasyon, göz anomalileri (görme keskinliğinde azalma, nistagmus, glokom) ve renal Fanconi sendromu ile karakterizedir. Ayrıca büyüme geriliği, metabolik kemik hastalığı, arefleksi ve eklem anomalileri eşlik edebilir (73, 74). Güncel literatür ile genotip/fenotip parametleri incelendiğinde hastadaki bulguları açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünüldü. İleri inceleme için pediatrik nefroloji bölümüne yönlendirildi.

Hastada, 11. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *OR52B4* ve *TRIM25* genleri bulunmaktadır.

OR52B4, koku algısında görevli olfaktör reseptör yapısına katılır (75). *TRIM25*'in plasentada östrojen bağımlı transkripsiyon faktörü olarak işlev gördüğü gösterilmiştir (76).

İki gen de morbid gen olmadığı ve fonksiyonları hastanın şu anki fenotipi ile uyumlu olmadığı için genlerin delesyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir. Özellikle koku algısının, hastanın gelişim sürecinde izlenmesi bu ilişkinin açıklanmasına katkı sağlayabilir.

Olgu 10'da belirlenen 20 CNV'den 3.kromozomun kısa kolunda 1.86 Mb boyutunda delesyon bulgusu (arr[hg19] 3p26.3p26.2(1161258_3019093)x1) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik bulguları: MR, epilepsi, dismorfik bulgular (sinofriz, yüksek burun kökü ve prognatizm), pektus ekskavatum

Bu bölge, 'Kromozom 3pter-p25 delesyon sendromu' (MIM:613792) ile ilişkidir. Bu sendrom düşük doğum ağırlığı, mikrosefali, trigonosefali, hipotoni, motor ve büyüme geriliği, pitoz, telekantus, aşağı doğru palpebral fissür ve mikrognati ile karakterizedir. Ayrıca, postaksiyel polidaktili, renal anomaliler, yarık damak, konjenital kalp hastalıkları, preaurikular pit, sakral gamze ve gastrointestinal anomalilerin de bildirildiği olgular vardır (77).

Protein kodlayan iki gen delesyon bölgesinde yer almaktadır (*CNTN6*, *CNTN4* *Contactin 6-4*, kontaktin 6-4). Her iki gen de morbid gen değildir.

Delesyon bölgesinde bulunan *CNTN4* geni nöronal ağların oluşumu, sürdürülmesi ve plastisitesinde önemli rol oynamaktadır. Genle ilgili delesyonların gelişme geriliği ve mental retardasyona neden olduğu gösterilmiştir (78, 79). Güncel literatür ile genotip/fenotip parametleri incelendiğinde hastadaki MMR arr[hg19] 3p26.3p26.2(1161258_3019093)x1 bulgusu ile açıklanabilir. Ancak 'Kromozom 3pter-p25 delesyon sendromu'nda gözlenen birçok sistem tutulumu hastamızda bulunmamaktadır. Sendrom 3pter-p25.3 bölgesindeki çeşitli büyüklükteki delesyonlar nedeniyle meydana gelmektedir. Sendroma ait kardinal bulgulardan *SETD5* (*SET domain containing protein 5* – SET bölgesi içeren protein 5) geni delesyonun sorumlu olduğu düşünülmektedir (80). Hastadaki delesyon boyutunun küçük olması ve *SETD5* geninin bu bölgesi olmaması fenotipin kısmen hafif olmasını açıklamaktadır.

Hastamızda 1. kromozomda belirlenen değişikliği içeren bölgede protein kodlayan koku algısında görevli *OR4F29* geni bulunmaktadır (81).

Morbid gen olmadığı ve fonksiyonu hastanın fenotipi ile uyumlu olmadığı için genin delesyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir.

1p36 delesyon sendromu ise MKA ve MR'un gözleendiği ardışık gen delesyon sendromudur. Yapılan çeşitli çalışmalarda hastalık fenotipi için aday gösterilen genler olgumuzdaki bölge ile örtüşmemektedir (3, 82, 83). Bu nedenle belirtilen sendrom, hasta fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir.

Son olarak, 3. kromozomun uzun kolunda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan üç gen bulunmaktadır: *IQCG*, *RPL35A* ve *LMLN*. Bunlardan sadece *RPL35A*, morbid OMIM genidir. *RPL35A*, 28S ve 5.8S rRNA'nın matürasyonu, 60S alt ünitesinin biyogenezi için gereklidir. Diamond-Blackfan anemili az sayıda hastada genin mutasyonu gösterilmiştir (84). Hastamızın tam kan sayım parametreleri normal değerlerdedir. *IQCG* geninin protein ürünü nematod paramiyozin ile belirgin benzerlik gösterdiği için hücre yapı ve motilitesinde rolü olduğu düşünülmektedir (85). *LMLN* geni mitozun birçok aşamasında ve kromozomun üç boyutlu yapısında rol almaktadır (86). Bölgede bulunan genlerin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 19'da belirlenen 16 CNV'den 15. kromozomun uzun kolunda 331.73 Kb boyutunda delesyon bulgusu (arr[19]15q11.2(22753658_23085387)x1) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik bulguları: MR, konuşmada gecikme, dismorfik yüz görünümü (Sinofriz, büyük ve arkaya dönük kulak yapısı ve bilateral epikantus)

Bu bölge OMIM'de 'Kromozom 15q11.2 delesyon sendromu' (MIM:615656) olarak tanımlanmaktadır. 15. kromozomun uzun kolu bölgesel duplikasyonlardan zengindir ve bu bölgeler BP (*breakpoint*) olarak adlandırılır. Kromozom 15q11.2 delesyon sendromu'nda tanımlanan bölge BP1 ve BP2 duplikon bölgeleri arasında yer alır. Bölgenin delesyonları psikomotor gelişim geriliği, konuşma gecikmesi, otizm spektrum bozukluğu, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, obsesif kompulsif bozukluk ve epilepsi gibi nöropsikiyatrik veya nörogelişimsel problemlere yatkınlık yaratabilir. Bu sendromla ilişkili penetrans düşüklüğü ve ekspresyon farklılığı bilinmektedir. Bu nedenle silik ya da normal fenotipli ebeveynde aynı

değişiklik görülebilmektedir ve aynı sebeple prenatal tanı ve danışmanlık süreci net olamamaktadır (87, 88).

Aynı bölgeyi içeren duplikasyonların da otizm yatkınlığına sebep olduğu gösterilmiştir (89, 90). Bu nedenle bölgenin genlerinin, gen dozaj etkisi gösterdiğini ve delesyonlarının da hastamızın kliniğinden sorumlu olabileceğini düşünmekteyiz. Hastamızın aile öyküsü de bu bulguyu desteklemektedir.

Protein kodlayan dört gen (*TUPGCP5*, *CYFIP1*, *NIPA2* ve *NIPA1*) delesyon bölgesinde yer almaktadır. Bunlardan *NIPA1* (*nonimprinted gene in Prader Willi Syndrome / Angelman Syndrome Chromosome region 1* – Prader Willi Sendromu/Angelman Sendromu bölgesindeki imprinted olmayan gen 1), morbid OMIM geni olarak tanımlanır.

NIPA1: Protein ürünü nöronal organlarda eksprese olur ve membran transporter ya da reseptörünü kodladığı öngörülmektedir. Mutasyonlarının, OD kalıtılan hereditör spastik paraplejiye yol açtığı gösterilmiştir (91). *NIPA1* geni beyinde yüksek ekspresyon gösterir, 15q11.2 delesyon sendromu ile ilişkili güncel literatür incelendiğinde, CMA bulgumuzun hastadaki şikayetleri açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünülmüştür.

Ayrıca PraderWilli/Angelman Sendromu (PWS/AS) da BP bölgesindeki delesyonlar nedeniyle oluşmaktadır. Fakat PWS/AS olabilmesi için BP1-BP3 ya da BP2-BP3 delesyonunun olması gerekmektedir. Bu nedenle hasta, PWS/AS hasta genotipi ile ilişkilendirilmemiştir (92).

Olgumuzda, 6. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede *FAM65B* geninin 3' ucu yerleşiktir. Gen, miyotübül oluşumu ve hücre adezyonu, polarizasyonu ve migrasyonunda rol oynar. Doğuştan ağır sağırlık olan bir ailede gene ait homozigot mutasyon varlığı gösterilmiştir. Bölgede bulunan genlerin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir (93).

Hastamızda belirlediğimiz 13. kromozomdaki değişikliği içeren bölge, protein kodlayan morbid *DIAPH3* geninin 3' ucunu içermektedir. Gen ürünü, aktin filamanlarının uzaması ve mikrotübül stabilizasyonunda rol oynar. Genin mutasyonunun OD işitsel nöropatiye yol açtığı gösterilmiştir. Bu hastalarda ikinci dekatta başlan işitme problemleri hızla ağır sağırlığa dönüşmektedir (94). Bölgede

bulunan genlerin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 25'te belirlenen 14 CNV'den 1. kromozomun uzun kolunda 2.49 Mb boyutunda delesyon bulgusu (arr[19]1q43q44(242854129_245344443)x1) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik bulgular: Orta derece MR, VSD, epilepsi, dismorfik yüz görünümü (Belirgin mikrosefali, kaba yüz görünümü, düşük alın saç çizgisi, bilateral epikantus, yukarı eğimli palpabrel fissür, bulböz burun yapısı, makroglossi)

Bu bölge 'Kromozom 1q43-44 delesyon sendromu' ya da 'Otozomal Dominant Mental Retardasyon Sendromu 22' (MIM:612337) ile ilişkilidir. Bölgenin delesyonları mikrosefali ve korpus kallazum agenezisi gibi beyin gelişim anomalileri, mental retardasyon ve konuşma gecikmesine neden olmaktadır. Ayrıca hastaların, olgumuzla örtüşen karakteristik dismorfik yüz bulguları da tanımlanmıştır (95, 96).

Ayrıca, protein kodlayan 13 gen, delesyon bölgesinde yer almaktadır (*CEP170*, *SDCCAG8*, *AKT3*, *ZBTB18*, *C1orf100*, *ADSS*, *C1orf101*, *DES12*, *COX20*, *HNRNPU-AS1*, *HNRNPU*, *KIF26B*, *EFCAB2*). *SDCCAG8* (*Serologically defined colon cancer antigen 8* - Serolojik olarak tanımlanmış kolon kanseri antijeni 8), *AKT3* (*V-Akt Murine thymoma viral oncogene homolog 3* - V-AKT mürin timoma viral onkojen homolog 3), *ZBTB18* (*zinc finger and btb domain containing protein 18* (zincir parmak ve BTB alanı içeren protein 18) ve *COX20* (*cytochrome c oxidase assembly factor 20* - Sitokrom C oksidaz birleştirici faktör 20) morbid OMIM genleridir.

SDCCAG8: Protein ürünü sentrozomda lokalizedir ve mikrotübül organizasyonunda rolü bulunmaktadır. Mutasyonlarının Senior Loken Sendromu ve Bardet-Biedl Sendromu'na yol açtığı gösterilmiştir (97).

AKT3: Adiposit ve kas diferansiyasyonu, glikojen sentezi, apoptosis ve hücre proliferasyonu gibi çok sayıda biyolojik olayda rol oynayan AKT protein ailesinin bir ürünü olan AKT3'ü kodlar. Mutasyonlarının megalensefalinin nadir bir formu olan OD megalensefali-polimikrogri-polidaktili-hidrocefali sendromuna yol açtığı gösterilmiştir. Somatik mutasyonları çok sayıda insan kanserinde gösterilmiştir (96).

ZBTB18: Transkripsiyon aktivator ya da represörü olarak görev yapan ve kromatin paketlenmesinde rol alan çinko parmak protein ailesinin bir üyesidir. İnsan

beyninde yüksek ekspresyon gösterir (98). DeMunnik ve ark (2014) Kromozom 1q43-44 delesyon sendromu fenotipik özelliklerini taşıyan bir hastada *de novo* nonsense *ZBTB18* mutasyon varlığını göstererek bu genin sendrom fenotipi için önemini ortaya koymuştur (99).

COX20: Mitokondriyal kompleks IV oluşumunda görevli proteini kodlar. Mutasyonları mitokondriyal kompleks IV eksikliğine sebep olur (100).

ZBTB18 geninin beyinde yüksek ekspresyonunun olması ve mutasyonu sonucu oluşan fenotip ile “Kromozom 1q43-44 delesyon sendromu” ilişkili güncel literatür incelendiğinde arr[19]1q43q44(242854129_245344443)x1 bulgusunun hastadaki şikayetleri açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünülmüştür.

Olgu 29'da belirlenen 14. kromozomun uzun kolunda 1.84 Mb boyutunda delesyon bulgusu (arr[19] 14q11.2(20424745_22263371)x1) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik özellikleri: MMR, bilateral şaşılık, bilateral ezotropeya, yüksek hipermetropi, sol gözde izole koroid kolobomu, epilepsi, dismorfik yüz bulguları (düşük kulak yapısı, yüksek damak, aşağı dönük ağız köşeleri, mikrognaði)

Bu bölgede ‘Kromozom 14q11-q22 delesyon sendromu’ (MIM:613457) tanımlanmaktadır. Bölgenin delesyonları entelektüel yetersizlik, otizm spektrum bozuklukları, mikro/makrosefaliye neden olmaktadır. Ayrıca hastalarda olgumuzla örtüşen dismorfik yüz yapısı, göz ve kalp anomalileri tanımlanmıştır (101, 102).

Çok sayıda protein kodlayan gen delesyon bölgesinde yer almaktadır (*PNP*, *ANG*, *EDDM3-A,B*, *RNASE-1,2,3,4,6,7,8,9,10,11,12,13*, *OR10G-3,2*, *OR6S1*, *OR4E1,2*, *ARHGEF40*, *SLC39A2*, *ARHGEF40*, *SLC39A2*, *METTL17*, *NGRG2*, *TPPP2*, *ZNF219*, *TMEM25*, *HNRNPC*, *OR5AU1*, *RPGRIP1*, *SUPT16H*, *TOX4*, *RAB2B*, *METTL3*, *SALL2*): *PNP* (*purine nucleoside phosphorylase* - pürin nükleozid fosforilaz, *ANG* (anjiogenin), *RPGRIP1* (*retinitis pigmentosa GTPase regülatör – interacting protein* - retinitis pigmentosa GTPaz regülatör ile etkileşen protein), *CHD8* (*Chromodomain helicase DNA binding protein 8* (kromo bölgesi helikaz DNA bağlayıcı protein 8) ve *SALL2* (*SAL like 2* - SAL benzeri 2) morbid OMIM genleridir.

PNP: İnozin, deoksiinozinin hipoksantin ve guanosine, deoksiguanosinin guanine dönüşümünü katalizler. Mutasyonları otozomal resesif (OR) pürin nükleozid fosforilaz eksikliğine neden olur (103).

ANG: Neovaskularizasyonun potansiyel indükleyicisi olan anjiogenini kodlar. Amiyotrofiklateral skleroz için yatkınlık lokusu olduğu tespit edilmiştir (104).

RPGRIP1: Retinitis pigmentosa GTPaz regülatör ile etkileşen protein kodlar. Mutasyonlarının Leber konjenital amoroz tip 6'ya neden olduğu gösterilmiştir (105).

CHD8: Beta katenin sinyalini inhibe eden nükleer protein kodlar. Yetişkin ve fetal beyin dokusunda ekspresyonu gösterilmiştir. Otizm için yatkınlık bölgelerinden biridir (106, 107).

SALL2: Gelişimsel transkripsiyon faktör işlevi olan *Drosophila* homeotik Spalt-benzeri ailenin bir üyesidir. Retinada yüksek ekspresyon gösterir. Mutasyonları OR oküler kolobamaya sebep olur (108).

Morbid genlerden *CHD8*'in , 'Kromozom 14q11-q22 delesyon sendromu' fenotipden sorumlu genlerden biri olduğu düşünülmektedir (101). Ayrıca, RNA polimeraz II'in primer nükleer transkripti olan *HNRNPC* (Heterojen nükleer ribonükleoprotein C) (109) ve DNA replikasyon ve tamirinden sorumlu kromatin spesifik transkripsiyon elongasyon faktörü olan *SUPT16H* (*Suppressor of TY 16, S. Cerevisiae, homolog of - TY16 süpresörü, S.Cerevisiae homologu*) genlerinin bu sendrom tanısı olan çok sayıda hastada delesyon bölgesinde olmasından dolayı fenotipe katkı sağladığı düşünülmektedir (101, 110). Kromozom 14q11-q22 delesyon sendromu ile ilgili güncel literatür incelendiğinde hastamızdaki şikayetleri açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünülmüştür.

Ayrıca bu hastada belirlenen 3. kromozomdaki değişikliği içeren bölgenin, protein kodlayan üç gen içerdiği görülmüştür: *SUMF1*, *SETMAR*, *ITPR*. *SUMF1* ve *ITPR1* morbid OMIM genleridir. *SUMF1* geni sülfataz enzim ailesinin katalitik aktivasyonu ve post translasyonel modifikasyonu için geçekli enzimi kodlar. Genle ilgili mutasyon ve delesyonlar OR Multipl sülfataz eksikliğine yol açar (111). *SETMAR* homolog olmayan uç birleşmesi ile ilişkilidir (112). *ITPR1* geni hücre içi kalsiyum sinyalini yöneten hücre içi IP3 kapalı kalsiyum kanalını yöneten inositol 1,4,5-trifosfat reseptörünü kodlar. Genin mutasyon ve delesyonlarının OD

spinoserebellar ataksi tip 15, tip 29 ve Gillespie Sendromu'na yol açtığı gösterilmiştir (113-115). Bu genlerin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 30'da belirlenen 21 CNV'den 16. kromozomun kısa kolunda 546.25 Kb boyutunda delesyon bulgusu (arr[19] 16p11.2(29652360_30198605)x1) hastamızın klinik bulgularıyla ilişkilendirildi;

Olgunun klinik özellikleri: MMR, epilepi, dismorfik yüz görünümü (Uzun kirpik yapısı, belirgin maksiller çıkıntı, büyük kulaklar ve retrognati)

Bu bölgede 'Kromozom 16p11.2 delesyon sendromu' (MIM:[611913](#)) tanımlanmaktadır. Bölgenin delesyonlarının; konuşma-artikülasyon problemleri, hiporefleksinin eşlik ettiği ekstremit ve gövde hipotonisi, sakral gamze, makrosefali, serebellar tonsiller ektopiye neden olduğu ve hastalarda olgumuzla örtüşen dismorfik yüz özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca mental retardasyon ve otizm spektrum bozukluğuna yatkınlık yaratabilir. Bu bulguyu destekler biçimde, Türkiye'de yapılan bir array CGH çalışmasında, otizm spektrum bozukluğu tanılı 31 hastadan üçünde 'Kromozom 16p11.2 delesyon sendromu' tanımlanmıştır (116). Bu sendromla ilişkili penetrans düşüklüğü ve ekspresyon farklılığı bilinmektedir. Bu nedenle silik ya da normal fenotipli ebeveynde aynı değişiklik görülebilmektedir ve aynı sebeple prenatal tanı ve danışmanlık süreci net olamamaktadır (117, 118).

Aynı bölgenin duplikasyonlarının da otizme yatkınlık yarattığı gösterilmiştir (56, 119).

Yirmi yedi protein kodlayan gen (*SPN*, *QPRT*, *C16orf54*, *ZG16*, *KIF22*, *PRRT2*, *MAZ*, *PAGR1*, *MVP*, *CDIPT*, *SEZ6L2*, *ASPHD1*, *TMEM219*, *KCTD13*, *TAOK2*, *HIRIP3*, *ALDOA*, *C16orf92*, *PPP4C*, *TBX6*, *INO80E*, *DOC2A*, *FAM57B*, *YPEL3*, *MAPK3*, *GDPD3*, *CORO1A*) bu delesyon bölgesinde yer almaktadır. Morbid OMIM genleri: *KIF22* (*Kinesin family member 22* - kinezin ailesi üyesi 22), *PRRT2* (*proline rich transmembrane proline2* - prolinden zengin transmembran proteini 2), *ALDOA* (Aldolaz A früktoz bifosfat), *TBX6* (*T box 6* - T kutusu 6) ve *CORO1A* (*Coronin like protein A* - Koronin benzeri protein A)'dır.

KIF22: Monomerik kinezin 3-5 kodlar ve mutasyonları otozomal dominant eklem laksitesisi ile giden spondiloepimetafizial displaziye neden olur (120).

PRRT2: Beyinde yüksek ekspresyon gösterir ve presinaptik membrandan nörotransmitter salınımında rol alan SNAP-25 ile etkileşim içindedir. Benign ailesel infantil epilepsi, koreoatetosis ile ilişkili infantil konvülsiyon sendromu ve paroksizmal diskinesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (121).

ALDOA: Früktoz 1-6-bifosfatın gliseraldehit-3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfata dönüşümünden sorumlu aldolaz a früktoz bifosfatı kodlar. Genin mutasyonları OR glikojen depo hastalığı XII'ye yol açar (122).

TBX6: Somit prekürsör hücrelerinde ekspresyon gösteren DNA bağlayıcı proteini kodlar. Mutasyonlarının konjenital skolyoza yankınlık yarattığı gösterilmiştir (123).

CORO1A: Hematopoetik hücrelerde yüksek ekspresyon gösteren aktin regüle edici protein kodlar. Mutasyonları OR immun yetmezlik 8'e neden olmaktadır (124).

KCTD13 (*potassium channel tetramerization domain containing protein 13*) (potasyum kanalı tetramerizasyon bölgesi içeren protein-13), kromozom 16p11.2 bölgesi CNV'leri ile ilişkili nörogelişimsel fenotipte önemli rol oynadığı düşünülmektedir. CNV bölgesindeki bir ya da az sayıda transkriptin fenotipi etkileyebileceği üzerinde durulmaktadır. Zebra balığı embriyo çalışmaları sonucuna göre, *KCTD13* duplikasyonu mikrosefaliye, aynı lokusun süpresyonu ise makrosefaliye neden olmaktadır (125).

PRRT2 ve *KCTD13*'ün nörogelişimsel süreçlerde rol alması ve 'Kromozom 16p11.2 delesyon sendromu' ile ilgili güncel literatür parametleri incelendiğinde, 16. kromozomun kısa kolunda 546.25 Kb boyutunda delesyon bulgusunun hastadaki şikayetleri açıklayabilecek düzeyde bir kromozom anomalisi olduğu düşünüldü.

5. kromozomdaki değişikliği içeren bölgenin protein kodlayan iki gen içerdiği görülmüştür: *NAIP* ve *GTF2H2*. *NAIP* geni apoptozisi inhibe edici proteini kodlar (126). *GTF2H2* geni transkripsiyon ve transkripsiyon aracılı DNA tamiri ile ilişkili RNA polimeraz II transkripsiyon kompleksi üyesini kodlar (127). Bölgede bulunan genlerin delesyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Çalışmamız kapsamındaki bir olguda (Olgu 14) 200 Kb'dan büyük hiçbir CNV saptanmadı. Bu olgu dışında dört olguda (Olgu; 12, 17, 18, 26) ise saptanan 200

Kb'dan büyük CNV'lerin hepsi benign olup, sağlıklı kontrollerde de görülen değişikliklerdi.

Serimizdeki beş olguda ise (Olgu; 3, 7, 11, 16 ve 23) 200 Kb'dan büyük benign CNV'lerin yanı sıra kontrol grubunda tanımlanmayan CNV'ler saptandı. Ancak bu CNV'lerin hiçbirinde protein kodlayan gen bulunmamaktaydı.

Kalan 12 olguda (Olgu; 4, 5, 6, 8, 13, 15, 20, 21, 22, 24, 27, 28) ise sağlıklı kontrollerden farklı olarak saptanan CNV'lerin bulunduğu bölgelerin delesyon ya da duplikasyonları, literatürde sendrom olarak tanımlanmamaktadır. Ancak bu CNV'lerde protein kodlayan genler bulunmaktadır. Bugünkü bilgilerimizin ışığında bu CNV'ler doğrudan fenotip ile ilişkilendirilemese de tamamen ilişkisiz olduğunun da söylenebilmesi zordur. Daha doğru bir yorum yapılabilmesi için bu CNV'lerle ilişkili birçok çalışmanın yapılması gerekmektedir. Ayrıca bu hastaların hepsinde benign CNV'ler de bulunmaktadır. Oluşan CNV kombinasyonlarının fenotipe olacak etkisi de tartışmalıdır. Bu son gruptaki hastalarımız CNV bölgelerindeki klinikle ilişkilendirilebilecek genler üzerinden tartışılacaktır. Ancak bu grupta yer alan üç olgumuzda (Olgu; 5, 13 ve 27) analiz istenen kalitede olamamıştır. Gürültü nedeniyle yanlış yorumlara açık olan bu olguların yeni DNA ile tekrarlanması uygundur. Bu hastaların yeni örneklerine ulaşamadığı için bu çalışma içerisinde yeni DNA örneğinden array CGH tekrarı yapılamamıştır.

Olgu 4'te 7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *EXOC4* geni bulunmaktadır. Sıçan beyininde yüksek ekspresyon gösteren çoklu protein kompleksinin bir üyesini kodlar. Bu kompleks, nöral sinapslardaki vezikül trafiği ve polarize epitel hücrelerinde vezikül hedeflemede rol alır (128). Genin delesyonu ile insanda tanımlanmış fenotipik bulgu olmadığı için bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı net olmamakla birlikte olası nöral ekspresyonu nedeniyle sorgulanabilecek bir genidir.

Olgu 5'te protein kodlayan genler incelendiğinde; 2. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CASPI0* geni bulunmaktadır. Bu gen, memeli hücrelerinde gözlenen apoptotik kaspaz reaksiyonlarında rol alan bir proteaz kodlar (129). Genin mutasyonlarının otoimmün lenfoproliferatif sendrom tip II'ye neden olduğu gösterilmiştir (130).

11. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CDKN1C* geni bulunmaktadır. Bu gen, hücresel büyüme ve oğalmada negatif düzenleyici olarak fonksiyon yapar. Mutasyonlarının Beckwith-Wiedemann Sendromu'na yol açtığı gösterilmiştir (131).

5. kromozomda, 5:59945288_60165829 bölgesinde protein kodlayan *DEPDC1B*, *ELOVL7* genleri bulunmaktadır. *DEPDC1B* ekspresyonunun kk hücreli olmayan akciğer kanseri hücre serisinde, normal akciğer epiteline göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Ayrıca bu proteinin ekspresyonu azalmış hasta sağkalımı ile ilişkilidir (132). *ELOVL7* ise yağ asit elongasyon kompleksinin bir üyesini kodlar. Elongasyon kompleksi çok uzun zincirli yağ asiti sentezindeki ilk ve hız kısıtlayıcı basamağı katalizler (133).

5. kromozomda, 5:70268138_70310324 bölgesinde protein kodlayan *NAIP* geni bulunmaktadır. *NAIP* ekspresyonunun memeli hücrelerinde apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (126).

Genellikle hücre proliferasyonu ile ilişkilendilebilecek ancak doğrudan nöral gelişimle ilişkisi net olarak tanımlanmayan bu genlerin delesyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Yine de bu değişikliklerin hastadaki anlamlılığı hala net olarak söylenemez.

Olgu 6'da X kromozomundaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *NSDHL* geni bulunmaktadır. Bu gen, kolesterol sentezinde görevli NAD(P)H steroid dehidrogenaz benzeri proteini kodlar. Mutasyonları, inflamatuvar nevüs ve ipsilateral vücut hipoplazisi ile karakterize CHILD sendromu ve nöbet, ince vücut yapısı ve kortikal malformasyonlarla ilişkili CK sendromu'nda gösterilmiştir (134, 135). Bu genin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir.

Olgu 8'de 4. kromozomda CNV saptanan bölgede protein kodlayan morbid *SLC2A9* geni bulunmaktadır. Bu gen, yüksek afiniteli rat transportu olarak göre yapan proteini kodlamaktadır ve mutasyonlarının renal hipoürisemi 2'ye yol açtığı gösterilmiştir (136).

7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede ise protein kodlayan *CADPS2* (*calcium dependent activator protein for secretion 2* - kalsiyum bağımlı aktivatör sekresyon proteini 2) geni bulunur. Bu gen, dens-kor veziküllerinin ekzositozunu düzenleyen CAPS/CADPS protein ailesi bir üyesini kodlar. *Cadps2 knock-out*

farelerde otizm benzeri davranış gözlenmiştir (137). *SLC2A9* duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Ancak *CADPS2* geni nöral gelişimle ilişkili birçok çalışma için hedef olabilir. Bu gendeki değişikliklerin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 13'te 7. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *MNX1* geni bulunmaktadır. Normal morfogenezde önemli olan ve insan embriyo gelişiminin düzenlenmesinde görevi olan HB9 proteini kodlar. Mutasyonlarının presakral tümör ve sakral agenezi ile karakterize OD Curracino sendromu'na neden olduğu gösterilmiştir (138).

9. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *MTAP* ve *CDKN2A* geni bulunmaktadır. *MTAP* geni tüm dokularda adenin ve metionin kurtarma yolağında rol oynayan enzimi kodlar. Mutasyonlarının kemik displazisi, miyopati ve kemik kanseri ile ilişkili OD malign fibröz histiositoma ile ilişkili diafizial medüller stenoza yol açtığı gösterilmiştir (139). *CDKN2A* geni hücre siklusunun p53 ve Rb yolaklarında görevli proteini kodlar. Mutasyonları ailesel melanomada tanımlanmıştır (140).

11. kromozomdaki bölgede protein kodlayan morbid *HRAS* geni bulunur. *HRAS*, RAS onkogeninden biri olan *HRAS*'ı kodlar. Mutasyonlarının tipik yüz görünümü, kalp anomalileri, beslenme güçlüğü ve gelişme geriliği ile karakterize Costello sendromu'na neden olduğu gösterilmiştir (141).

22. kromozomdaki bölgede protein kodlayan morbid *TBX1* geni bulunmaktadır. Bu gen, erken vertebra gelişiminde rol oynayan T-Box transkripsiyon faktörü kodlar. Mutasyonlarının 22q11.2 delesyon sendromuna neden olduğu gösterilmiştir (142).

Bölgedeki genlerin kazanımları hastanın fenotipi ile doğrudan ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliklerin hastadaki anlamlılığı hala net değildir. Ayrıca çalışma istenen kalitede gerçekleşmediğinden 10 Kb'ın altındaki değişikliklerin gürültü olabileceği düşünülmektedir.

Olgu 15'te 11. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CDKN1C* geni bulunmaktadır. Genin fonksiyonları Olgu 5'te tartışılmıştır.

X kromozomu üzerinde X:142577818_142902240 bölgesinde protein kodlayan *SPANXN-2,3*, *SLITRK4* genleri bulunmaktadır. SPANKS ailesi kanser/testis spesifik

antijen kodlar (143). SLITRK4 ağırlıklı olarak nöronal dokularda eksprese olur ve nörit modüle edici aktivitesi bulunmaktadır (144). Genlerin kazanımları hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 20'de, 7. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *SDK1* geni bulunmaktadır. Genin sinaptik bağlantıda görev yaptığı gösterilmiştir (145). Genin delesyonu doğrudan hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmese bile, nöral iletim ağında sorun oluşturabilir. Ancak bu yorum spekülatif olup desteklenmesi gerekir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 21'de 5. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *NAIP* genini içerdiği görülmüştür. Olgu 5'te tartışıldığı gibi genin duplikasyonunun doğrudan hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmesi zordur. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 22'de 5. kromozomdaki değişikliği içeren bölgenin protein kodlayan iki gen içerdiği görülmüştür: *NAIP* ve *GTF2H2*. Olgu 5'te tartışıldığı gibi bu genlerin duplikasyonlarının doğrudan hastanın fenotiple ile ilişkilendirilmesi zordur.

Olgu 24'te 20. kromozomda değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *DEFB115* geni bulunmaktadır. Defensinler nötrofillerdeki antimikrobiyal ve sitotoksik ailenin bir üyesidir (146). Genin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 27 yeterli kalitede çalışamadığı için 200 Kb'dan küçük değişiklikler hakkında yeterli yorum yapma gücünde değildir. 10 Kb'ın altındaki değişiklikler gürültü olarak yorumlanmış ve 10 Kb'ın üzerindeki değişiklikler tartışılmıştır.

Bölgeler incelendiğinde;

1. kromozomdaki 1:957458-988883 bölgesinde protein kodlayan morbid *AGRN* geni bulunmaktadır. Gen, nöromusküler sinaps oluşumu düzenleyicisi olan Agrin proteinini kodlar. Mutasyonlarının myastenik sendroma neden olduğu gösterilmiştir (147).

1. kromozomdaki 1:2345511-2452710 bölgesinde protein kodlayan *PLCH2*, *PANK4* genleri bulunmaktadır.

PLCH2 PtdIns[4,5] P₂'yi inozitol 1,4,5 trifosfat ve diaçilgliserole dönüştüren fosfoinositid-spesifik fosfolipaz C ailesinin bir üyesini kodlar (148). *PANK4*

pantoten, N-pantotenoilsistein ve panteteinin fosforilasyonunu katalizleyen enzimi kodlar (149).

1.kromozomdaki 1:2458264-2500812 bölgesinde *HES5*, *TNFRS14* genleri bulunur. *HES5*'in gelişen fare sinir sisteminde yüksek ekspresyonu gösterilmiştir (150). İnsanda ise *HES5* mRNA ekspresyonu fetal kalp ve beyin dokusunda gösterilmiştir (151).

TNFRS14: Tümör nekroz faktör ailesinin bir üyesini kodlar (152).

1.kromozomdaki 1:2620145-3652269 bölgesinde protein kodlayan morbid *PRDM16* geni bulunur. Genin ürünü kardiyak dokuda yüksek ekspresyon gösterir ve mutasyonlarının kardiyomyopati ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (82).

9. kromozomda değişikliği içeren bölgelerde protein kodlayan morbid *NOTCH1* geni bulunur. Bu gen, hücre gelişimi ile ilgili transmembran NOTCH1 reseptör proteinini kodlar. Hemen her dokuda eksprese olmakla birlikte özellikle lenfoid dokuda yüksek ekspresyon gösterir. Mutasyonlarının aort kapak hastalıkları ve aplazia kutis ve ekstremitte anomalileri ile karakterize Adams-Oliver Sendromu'na yol açtığı gösterilmiştir (153, 154).

11. kromozomdaki 11: 2007834_2018605 bölgesinde protein kodlayan morbid *H19* geni bulunur. Bu gen sadece maternal alelde eksprese olur. Bu bölgenin hipometilasyonun Silver-Russell Sendromu'na neden olduğu gösterilmiştir (155). Ayrıca genin delesyonu sonucu bölgenin hipermetilasyonun Beckwith-Wiedemann Sendromu'na yol açtığı gösterilmiştir (156).

11. kromozomdaki 11:2175342_2192155 bölgesinde protein kodlayan morbid *INS* ve *TH* genleri bulunur. *INS*, insülin kodlar ve mutasyonları hiperinsülinemi, neonatal diyabet ve MODY tip 10'a neden olur (157, 158).

TH, L-tirozini, L-3,4-dehidroksifenilalanin (L-DOPA)'e çeviren tirozinhidroksilazı kodlar. Mutasyonları OR DOPA duyarlı distoniye neden olur (159).

11. kromozomdaki 11: 2923840-3953567 bölgesinde protein kodlayan morbid *SLC22A18* geni bulunmaktadır. Bu gen, böbrekte yüksek ekspresyon gösteren organik katyon taşıyıcı kodlar. Beckwith-Wiedemann sendromu için kırık bölge içerisinde yer alan genlerdir biridir (160).

16. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *TSC2*, *PKD1* genleri bulunur. *TSC2* geni intrinsik GTPaz aktivitesi olan tuberin proteini kodlar. Genin mutasyonlarının OD tuberoskleroz tip 2'ye sebep olduğu gösterilmiştir (161).

PKD1, transmembran polikistin 1 proteinin kodlar. Mutasyonlarının OD yetişkin tipi polikistik böbrek hastalığı tip 1'e sebep olduğu gösterilmiştir (162).

20. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan morbid *CHRNA4* geni bulunmaktadır. Bu gen, sinapslarda hızlı sinyal iletimini yöneten ligand kapılı iyon kanalı ailesinin bir üyesi olan nikotinkasetil kolin reseptörünü kodlar. Genin mutasyonlarının OD frontal epilepsiye neden olduğu gösterilmiştir (163).

Bu bölgedeki *AGRN*, *HES5* ve *CHRNA4* genlerinin kayıpları ya da mutasyonlarındaki fenotip olgumuzdaki klinik ile ilişkilendirilebilir. Ancak bu değişikliklerin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

Olgu 28'de 22. kromozomdaki değişikliği içeren bölgede protein kodlayan *TBX1* bulunmaktadır. Bu genin fonksiyonu Olgu 13'te tartişılmıştır. Genin duplikasyonu hastanın fenotipi ile ilişkilendirilmemiştir. Bu değişikliğin hastadaki anlamlılığı hala net değildir.

VOUS grubundaki olgularda saptanan CNV'lerdeki genler tartişılırken iki genin birden fazla olguda tanımlandığı dikkat çekmektedir;

TBX1 hem Olgu 13 hem de Olgu 28'de kazanım olarak saptanmıştır.

NAIP geni kopya sayısı değişikliği (bir olguda kayıp iki olguda kazanım)  olguda (Olgu; 5, 21, 22) tanımlanmıştır. Ancak 30 hastalık bir seride kopya sayısı birden fazla hastada değişen bu genler ve fenotiple ilişkisi için yorum yapmak güçtür. Buna yönelik daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Diğer yandan array CGH analiz açısından bu bölgelerin hata olasılığını arttıran bir özelliğinin olup olmadığı da göz önüne alınmalıdır.

6. SONUÇLAR

- OGT CytoScan v2 mikroarray platformu kullanılarak, 30 hastada yapılan array CGH çalışmamız sonucunda MKA/MR hasta grubunda literatür verilerinden daha yüksek bir oranda (%27) klinik tanı ile ilişkili patolojik CNV tanımlaması yapılmıştır.
- Hasta seçim ölçütlerimizin bu başarı oranına katkısı olduğu sonucuna varılabilir.
- Serimizde klinikle ilişkilendirilebilen değişiklik saptanan olguların yaklaşık %87'sinde, MR ve dismorfoloji bulgusuna ek başka bir bulgunun olduğu görülmüştür.
- Serimizde klinikle ilişkilendirilebilen değişiklik saptanan olgularda MR düzeyinin tek başına belirleyici olmadığı görülmüştür.
- Klinikle ilişkilendirilebilen CNV'lerde *de novo*/kalıtılan ayrımı çalışmamızda yapılamamıştır. Ekspresivite ve penetrans değişikliğinin etkili olabileceği durumlarda pedigrü analizi de yeterli olamayacağı için bu hastalarda *de novo*/kalıtılan ayrımı için anne baba örneklerinde array CGH analizi yapılması gerektirir.
- Çalışmamızda belirlenen CNV'lerin %78'i benign CNV'lerdir. Bu benign CNV'lerin kendi aralarındaki ya da patojenik/olası patojenik CNV'lerle olan kombinasyonlarının hastalarda görülebilecek olası etkisi değerlendirilememiştir. Bu zemindeki analizleri destekleyecek veritabanlarına gereksinim vardır.
- Çalışmamız kapsamında 12 hastada saptanan VOUS CNV'lerin, bu bölgede tanımlanan genlerle birlikte değerlendirildiğinde; klinikle ilişkilendirilebilecek genomik değişiklikleri belirlemek için yapılacak çalışmalarda hedef bölgeler olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılabilir.
- Çalışmamız sonucunda klinikle ilişkilendirilen CNV'ler belirgin olarak 500 Kb'den büyük CNV'lerde saptanmış olmakla birlikte; literatürde konu ile ilişkili çelişkili bilgilerin bulunması göz önüne alınarak, klinik ile ilişkilendirme açısından CNV'ler değerlendirilirken, CNV boyutunun öncelikli olarak dikkate alınmaması önerilir.

- Çalışmamızda kullanılan halka hibridizasyon yönteminin başarılı olduğu görülmüştür. Mental/motor retardasyon olgularına yönelik array CGH çalışmalarında daha düşük maliyetle belli bir başarı oranında sonuç alınabilmesi için halka hibridizasyon sisteminin kullanılması önerilir.
- Çalışmamıza katılan hastalarda altta yatan genetik nedenin gösterilemediği grupta yeni nesil dizileme teknolojileri ile MKA/MR ile ilişkilendirilmiş genler ve genler arası ilişkili bölgelerin incelenmesi önerilir.

Tüm bu sonuçlarımızın ışığında mental/motor retardasyon olgularında array CGH analizinin halka hibridizasyon yöntemi ile uygulanmasını önermekteyiz. Hasta seçim ölçütlerinin daraltılmasının başarı oranını artıracığı görüşünderiz. Bu görüş çerçevesinde seçim ölçütlerinin aşağıdaki gibi olmasını önermekteyiz;

- Yaygın anöploidilerde (trizomi 21, trizomi 18, vb...gibi) konvansiyonel sitogenetik analiz
- Fenotipik olarak normal bireylerde ailesel kromozomal düzensizlik öyküsü olması durumunda ya da habitüel düşük öyküsünde konvansiyonel sitogenetik analiz
- İyi tanımlı mikrolelesyon sendromlarında FISH analizi yapılmasını

Bunların olmadığı ve

- Olguda klinik olarak mental retardasyona eşlik eden en az iki farklı sisteme ait bulgusunun olması
- Olgunun anne-babası arasında tanımlı bir akrabalık bulunmaması durumunda

array CGH analizi önermekteyiz. Bu biçimiyle daha ekonomik olacak array CGH analizinin, daha dar MKA/MR hasta grubunda, ülkemizde genetik tanı merkezlerinde ilk analiz olarak uygulanabileceği görüşünderiz.

ÖZET

Toplumda azımsanamayacak bir sıklıkta görülen gelişme geriliği/entelektüel yetersizlik, bireysel, ailesel, toplumsal etkileri ve sonuçları olan, çözüm bekleyen önemli bir hastalık grubudur. Etiyoloji heterojen olup genetik faktörler önemli rol oynamaktadır. Konvansiyonel sitogenetik analiz ve hedefe yönelik moleküler sitogenetik analizler genetik değişiklikleri göstermede yeterli değildir. Son yıllarda genomdaki CNV'lerin belirlendiği, kromozomal mikroarray analizinin bu hasta grubunda ilk basamak genetik test olması gerektiği vurgulanmaktadır. CMA analiziyle, gelişme geriliği/entelektüel yetersizliği olan hastaların %10-20'sinde hastalıkla ilişkilendirilen CNV'ler saptanabilmektedir (1, 5).

En az 550 bant düzeyinde konvansiyonel sitogenetik analiz, subtelomerik FISH ve erkek hastalarda, bunlara ek olarak Frajil X tanısına yönelik fragman analizi testleri rutin olarak yapılmış ve normal olarak raporlanmış, multipl konjenital anomali ve/veya mental retardasyonu olan, 30 hastanın örneği; bu çalışma kapsamında array CGH yöntemi ile incelendi. Çalışmamızda array CGH yöntemiyle belirtilen hastaların kliniği ile ilişkilendirilebilecek CNV'lerin belirlenmesi amaçlandı.

Array CGH analizleri sonunda yaklaşık % 27'lik bir oranla hastaların klinikleriyle ilişkilendirilebilecek genomik değişiklik belirlendi. Bu oranın literatür verilerine göre yüksek olmasında hasta seçim ölçütlerinin etkisinin olabileceği düşünüldü. Doğrudan klinikle ilişkilendirilen CNV saptanan sekiz olguya ek olarak 12 hastada benign değişiklik yanı sıra tanımlı gen içeren olası patojenik CNV saptandı. Doğrudan fenotiple ilişkilendirilemeyen bu bölgelerin, bu hasta grubunda yapılacak etiyojolojiye yönelik çalışmalar için hedef olabileceği öngörüldü. Bir hastada benign CNV'ler de dahil olmak üzere raporlama ölçütümüz kapsamında hiçbir kopya sayısı değişikliği saptanmadı.

Array CGH yüksek maliyetli bir testtir. Bununla birlikte; entelektüel yetersizliğe eşlik eden birden fazla sistemle ilişkili ek klinik bulgusu olan ve anne-baba akrabalığı olmayan olgularda bu analizin maliyet/yarar oranının yükseldiği görülmektedir. Hasta seçim ölçütlerinin daraltılması ile array CGH analizi ile tanı konabilen hasta sayısının artması, halka hibridizasyon gibi yöntemler geliştirilerek testin maliyetinin düşmesi yada rekabet ortamını sağlayacak platform çeşitliliğinin artması sonucunda zamanla uygun endikasyonla test kullanımının artabileceğini öngörebiliriz.

Anahtar kelimeler: Multipl konjenital anomali, mental retardasyon, CNV, array CGH

SUMMARY

Developmental delay/intellectual disability which is seen with a considerable frequency in the population, is an important group of disorder that has personal, familial and social effects and results necessitating solutions. Etiology is heterogeneous whereas genetic factors play roles.

Conventional cytogenetic analysis and target-based molecular cytogenetic analysis are not adequate to demonstrate the rearrangements. In the recent years, it is emphasized that, chromosomal microarray analysis should be the first step genetic test in this patient group. In this method, CNVs in the genome are determined. In 10-20% of the patients with developmental delay/intellectual disability CNVs, associated with the disorder can be detected (1, 5).

Samples from 30 patients with multiple congenital anomaly and/or mental retardation whose cytogenetic analysis with at least 550 band-level, subtelomeric FISH and additionally fragment analysis for fragile X in males, were routinely carried out and reported to be normal; were analysed with array CGH in the context of this study. In this study, determination of CNVs which could be related to these patients was aimed.

Array CGH results revealed genomic alterations with a rate of 26% which can be associated with the clinical status in these patients. Patient selection criteria could be the reason for this high rate compared with the literature data. In addition to the eight patients in whom CNV was detected directly associated with the clinical status, in 12 patients likely pathogen CNV, carrying protein expressing gene was determined along with benign alterations. It was predicted that these regions which are not directly correlated with the phenotype, could be the targets of the studies to reveal the etiology in these patient groups. In one patient, no copy number change was detected within the scope of our report criteria, including the benign CNVs.

Array CGH is a costly test. However, in cases with additional clinical symptoms of more than one system accompanying intellectual disability, where the parents are non-consanguineous, cost-effectiveness of this analysis rises. We can assume that by increase in the number of correctly diagnosed patients by array CGH, decrease in the cost of the test by developing methods like loop hybridization or increase in the platform diversity creating a competition atmosphere, test utilization may also increase in time.

Key words: Multiple congenital abnormality, mental retardation, CNV, array CGH

KAYNAKLAR

1. Bartnik M, Nowakowska B, Derwinska K, Wisniowiecka-Kowalnik B, Kedzior M, Bernaciak J, et al. Application of array comparative genomic hybridization in 256 patients with developmental delay or intellectual disability. *J Appl Genet.* 2014;55(1):125-44.
2. Maulik PK, Mascarenhas MN, Mathers CD, Dua T, Saxena S. Prevalence of intellectual disability: a meta-analysis of population-based studies. *Res Dev Disabil.* 2011;32(2):419-36.
3. Battaglia A, Doccini V, Bernardini L, Novelli A, Loddo S, Capalbo A, et al. Confirmation of chromosomal microarray as a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental delay, intellectual disability, autism spectrum disorders and dysmorphic features. *Eur J Paediatr Neurol.* 2013;17(6):589-99.
4. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17(3):182-92.
5. Koolen DA, Pfundt R, de Leeuw N, Hehir-Kwa JY, Nillesen WM, Neefs I, et al. Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications. *Hum Mutat.* 2009;30(3):283-92.
6. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature.* 2006;444(7118):444-54.
7. Rauch A, Hoyer J, Guth S, Zweier C, Kraus C, Becker C, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A.* 2006;140(19):2063-74.
8. Grayton HM, Fernandes C, Rujescu D, Collier DA. Copy number variations in neurodevelopmental disorders. *Prog Neurobiol.* 2012;99(1):81-91.
9. Inlow JK, Restifo LL. Molecular and comparative genetics of mental retardation. *Genetics.* 2004;166(2):835-81.

10. Raymond FL, Tarpey P. The genetics of mental retardation. *Hum Mol Genet.* 2006;15 Spec No 2:R110-6.
11. Veltman JA. High resolution profiling of X chromosomal aberrations by array comparative genomic hybridisation. *Journal of Medical Genetics.* 2004;41(6):425-32.
12. Koolen DA, Nillesen WM, Versteeg MH, Merkx GF, Knoers NV, Kets M, et al. Screening for subtelomeric rearrangements in 210 patients with unexplained mental retardation using multiplex ligation dependent probe amplification (MLPA). *J Med Genet.* 2004;41(12):892-9.
13. Ravnan JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Lamb AN, Hedrick J, Eash D, et al. Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet.* 2006;43(6):478-89.
14. Slavotinek AM. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays. *Hum Genet.* 2008;124(1):1-17.
15. Shevell M, Ashwal S, Donley D, Flint J, Gingold M, Hirtz D, et al. Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology; Practice Committee of the Child Neurology Society., Practice parameter: evaluation of the child with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and The Practice Committee of the Child Neurology Society, . *Neurology* 2003;60(3):367-80.
16. Knight SJL, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, et al. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *The Lancet.* 1999;354(9191):1676-81.
17. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. 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):749-64.
18. Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, Szuhai K, Schoumans J, Ciccone R, et al. Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet.* 2007;15(11):1105-14.

19. Edlmann L, Hirschhorn K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1151:157-66.
20. Friedman JM, Baross A, Delaney AD, Ally A, Arbour L, Armstrong L, et al. Oligonucleotide microarray analysis of genomic imbalance in children with mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2006;79(3):500-13.
21. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet.* 2009;52(4):161-9.
22. Kaminsky EB, Kaul V, Paschall J, Church DM, Bunke B, Kunig D, et al. An evidence-based approach to establish the functional and clinical significance of copy number variants in intellectual and developmental disabilities. *Genet Med.* 2011;13(9):777-84.
23. Menten B, Maas N, Thienpont B, Buysse K, Vandesompele J, Melotte C, et al. Emerging patterns of cryptic chromosomal imbalance in patients with idiopathic mental retardation and multiple congenital anomalies: a new series of 140 patients and review of published reports. *J Med Genet.* 2006;43(8):625-33.
24. de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, et al. Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet.* 2005;77(4):606-16.
25. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med.* 2009;11(3):139-46.
26. Büşranur Çavdalı, Ferda Emriye Perçin. Nedeni açıklanamamış mental retardasyonu olan hastalarda moleküler karyotipleme yöntemi ile submikroskopik kromozomal anomalilerin araştırılması: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2012.
27. Carter NP. Methods and strategies for analyzing copy number variation using DNA microarrays. *Nat Genet.* 2007;39(7 Suppl):S16-21.

28. Gokcumen O, Lee C. Copy number variants (CNVs) in primate species using array-based comparative genomic hybridization. *Methods*. 2009;49(1):18-25.
29. Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, et al. Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Res*. 2006;16(8):949-61.
30. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7(2):85-97.
31. Lee JA, Lupski JR. Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders. *Neuron*. 2006;52(1):103-21.
32. Ried T. Cytogenetics--in color and digitized. *N Engl J Med* 2004;350(16):1597-600.
33. Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. Comparative Genomic Hybridization - a Rapid New Method for Detecting and Mapping DNA Amplification in Tumors. *Semin Cancer Biol*. 1993;4(1):41-6.
34. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Döhner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer*. 1997;20(4):399-407.
35. Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. *Nature Genet* 1998;20(2):207-11.
36. Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y, et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nat Genet*. 2004;36(9):949-51.
37. de Ravel TJ, Devriendt K, Fryns JP, Vermeesch JR. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr*. 2007;166(7):637-43.
38. Lucito R, Healy J, Alexander J, Reiner A, Esposito D, Chi M, et al. Representational oligonucleotide microarray analysis: a high-resolution method to detect genome copy number variation. *Genome Res*. 2003;13:2291-305.

39. Pinkel D, Albertson DG. Comparative genomic hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2005;6:331-54.
40. Inazawa J, Inoue J, Imoto I. Comparative genomic hybridization (CGH)-arrays pave the way for identification of novel cancer-related genes. *Cancer Sci.* 2004;95(7):559-63.
41. Manning M, Hudgins L, Professional P, Guidelines C. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010;12(11):742-5.
42. Alkan C, Coe BP, Eichler EE. Genome structural variation discovery and genotyping. *Nat Rev Genet.* 2011;12(5):363-76.
43. Vermeesch JR, Melotte C, Froyen G, Van Vooren S, Dutta B, Maas N, et al. Molecular karyotyping: array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2005;53(3):413-22.
44. Kearney HM, Thorland EC, Brown KK, Quintero-Rivera F, South ST, Working Group of the American College of Medical Genetics Laboratory Quality Assurance C. American College of Medical Genetics standards and guidelines for interpretation and reporting of postnatal constitutional copy number variants. *Genet Med.* 2011;13(7):680-5.
45. Lee C, Iafrate AJ, Brothman AR. Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders. *Nat Genet.* 2007;39(7 Suppl):S48-54.
46. Xu F, Li P. Cytogenomic abnormalities and dosage-sensitive mechanisms for intellectual and developmental disabilities. Edited by Ahmad Salehi. 2013:1.
47. OMIM. www.omim.org
48. GeneReviews. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>
49. <https://decipher.sanger.ac.uk/>. DECIPHER [
50. Nomenclature HC. ISCN 2016. *Fetal Diagn Ther.* 2016;40(1):1-80.
51. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet.* 2011;43(9):838-46.

52. Girirajan S, Rosenfeld JA, Coe BP, Parikh S, Friedman N, Goldstein A, et al. Phenotypic heterogeneity of genomic disorders and rare copy-number variants. *N Engl J Med*. 2012;367(14):1321-31.
53. Regier DA, Friedman JM, Marra CA. Value for money? Array genomic hybridization for diagnostic testing for genetic causes of intellectual disability. *Am J Hum Genet*. 2010;86(5):765-72.
54. <http://www.epibio.com/docs/default-source/protocols/masterpure-dna-purification-kit-for-blood-version-ii.pdf?sfvrsn=4> Master Pure™ DNA Purification Kit for Blood Version II [
55. https://www.ogt.com/products/497_cytosure_isca_and_isca_snp_arrays CytoSure™ ISCA and ISCA +SNP Arrays [
56. Girirajan S, Rosenfeld JA, Coe BP, Parikh S, Friedman N, Goldstein A, et al. Phenotypic heterogeneity of genomic disorders and rare copy-number variants. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(14):1321-31.
57. Palumbo P, Antona V, Palumbo O, Piccione M, Nardello R, Fontana A, et al. Variable phenotype in 17q12 microdeletions: clinical and molecular characterization of a new case. *Gene*. 2014;538(2):373-8.
58. Dixit A, Patel C, Harrison R, Jarvis J, Hulton S, Smith N, et al. 17q12 microdeletion syndrome: three patients illustrating the phenotypic spectrum. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2012;158(9):2317-21.
59. Moreno-De-Luca D, Mulle JG, Kaminsky EB, Sanders SJ, Myers SM, Adam MP, et al. Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia. *The American Journal of Human Genetics*. 2010;87(5):618-30.
60. Edghill EL, Bingham C, Ellard S, Hattersley AT. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 β and their related phenotypes. *Journal of medical genetics*. 2006;43(1):84-90.
61. Kornfeld J-W, Baitzel C, Könnner AC, Nicholls HT, Vogt MC, Herrmanns K, et al. Obesity-induced overexpression of miR-802 impairs glucose metabolism through silencing of Hnf1b. *Nature*. 2013;494(7435):111-5.
62. López-Casillas F, Bai D-H, Luo X, Kong I-S, Hermodson MA, Kim K-H. Structure of the coding sequence and primary amino acid sequence of acetyl-

- coenzyme A carboxylase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1988;85(16):5784-8.
63. Chiyonobu T, Inoue N, Morimoto M, Kinoshita T, Murakami Y. Glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor deficiency caused by mutations in *PIGW* is associated with West syndrome and hyperphosphatasia with mental retardation syndrome. *Journal of medical genetics*. 2014;51(3):203-7.
 64. Avraham O, Hadas Y, Vald L, Zisman S, Schejter A, Visel A, et al. Transcriptional control of axonal guidance and sorting in dorsal interneurons by the Lim-HD proteins *Lhx9* and *Lhx1*. *Neural development*. 2009;4(1):21.
 65. Wong EY, Jenny Y, Yao K-M, Tam P-C, Yeung WS. *VCY2* protein interacts with the HECT domain of ubiquitin-protein ligase E3A. *Biochemical and biophysical research communications*. 2002;296(5):1104-11.
 66. Ballarati L, Cereda A, Caselli R, Selicorni A, Recalcati MP, Maitz S, et al. Genotype–phenotype correlations in a new case of 8p23.1 deletion and review of the literature. *European journal of medical genetics*. 2011;54(1):55-9.
 67. Barber JC, Rosenfeld JA, Graham JM, Kramer N, Lachlan KL, Bateman MS, et al. Inside the 8p23.1 duplication syndrome; eight microduplications of likely or uncertain clinical significance. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2015;167(9):2052-64.
 68. Arceci RJ, King A, Simon MC, Orkin SH, Wilson DB. Mouse *GATA-4*: a retinoic acid-inducible GATA-binding transcription factor expressed in endodermally derived tissues and heart. *Molecular and cellular biology*. 1993;13(4):2235-46.
 69. Durocher D, Charron F, Warren R, Schwartz RJ, Nemer M. The cardiac transcription factors *Nkx2-5* and *GATA-4* are mutual cofactors. *The EMBO journal*. 1997;16(18):5687-96.
 70. Devriendt K, Matthijs G, Van Dael R, Gewillig M, Eyskens B, Hjalgrim H, et al. Delineation of the critical deletion region for congenital heart defects, on chromosome 8p23.1. *The American Journal of Human Genetics*. 1999;64(4):1119-26.

71. Borowiec M, Liew CW, Thompson R, Boonyasrisawat W, Hu J, Mlynarski WM, et al. Mutations at the BLK locus linked to maturity onset diabetes of the young and β -cell dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(34):14460-5.
72. Conte I, Lestingi M, den Hollander A, Alfano G, Ziviello C, Pugliese M, et al. Identification and characterisation of the retinitis pigmentosa 1-like1 gene (RP1L1): a novel candidate for retinal degenerations. *European journal of human genetics*. 2003;11(2):155-62.
73. Gropman A, Levin S, Yao L, Lin T, Suchy S, Sabnis S, et al. Unusual renal features of Lowe syndrome in a mildly affected boy. *American journal of medical genetics*. 2000;95(5):461-6.
74. Watanabe M, Nakagawa R, Kohmoto T, Naruto T, Suga K-i, Goji A, et al. Exome-first approach identified a novel gloss deletion associated with Lowe syndrome. *Human Genome Variation*. 2016;3:16037.
75. Riaz M, Lorés-Motta L, Richardson AJ, Lu Y, Montgomery G, Omar A, et al. GWAS study using DNA pooling strategy identifies association of variant rs4910623 in OR52B4 gene with anti-VEGF treatment response in age-related macular degeneration. *Scientific Reports*. 2016;6.
76. Inoue S, Orimo A, Hosoi T, Kondo S, Toyoshima H, Kondo T, et al. Genomic binding-site cloning reveals an estrogen-responsive gene that encodes a RING finger protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(23):11117-21.
77. Shuib S, McMullan D, Rattenberry E, Barber RM, Rahman F, Zatyka M, et al. Microarray based analysis of 3p25-p26 deletions (3p-syndrome). *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2009;149(10):2099-105.
78. Fernandez T, Morgan T, Davis N, Klin A, Morris A, Farhi A, et al. Disruption of contactin 4 (CNTN4) results in developmental delay and other features of 3p deletion syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2004;74(6):1286-93.
79. Roohi J, Montagna C, Tegay DH, Palmer LE, DeVincent C, Pomeroy JC, et al. Disruption of contactin 4 in three subjects with autism spectrum disorder. *Journal of medical genetics*. 2009;46(3):176-82.

80. Kuechler A, Zink AM, Wieland T, Lüdecke H-J, Cremer K, Salviati L, et al. Loss-of-function variants of SETD5 cause intellectual disability and the core phenotype of microdeletion 3p25.3 syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23(6):753-60.
81. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/729759> OR4F29 olfactory receptor family 4 subfamily F member 29 [
82. Arndt A-K, Schafer S, Drenckhahn J-D, Sabeh MK, Plovie ER, Caliebe A, et al. Fine mapping of the 1p36 deletion syndrome identifies mutation of PRDM16 as a cause of cardiomyopathy. *The American Journal of Human Genetics*. 2013;93(1):67-77.
83. Rosenfeld JA, Crolla JA, Tomkins S, Bader P, Morrow B, Gorski J, et al. Refinement of causative genes in monosomy 1p36 through clinical and molecular cytogenetic characterization of small interstitial deletions. *American journal of medical genetics Part A*. 2010;152(8):1951-9.
84. Farrar JE, Nater M, Caywood E, McDevitt MA, Kowalski J, Takemoto CM, et al. Abnormalities of the large ribosomal subunit protein, Rpl35a, in Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2008;112(5):1582-92.
85. Wiemann S, Weil B, Wellenreuther R, Gassenhuber J, Glassl S, Ansorge W, et al. Toward a catalog of human genes and proteins: sequencing and analysis of 500 novel complete protein coding human cDNAs. *Genome Research*. 2001;11(3):422-35.
86. McHugh B, Krause SA, Yu B, Deans A-M, Heasman S, McLaughlin P, et al. Invadolysin. *J Cell Biol*. 2004;167(4):673-86.
87. De Wolf V, Brison N, Devriendt K, Peeters H. Genetic counseling for susceptibility loci and neurodevelopmental disorders: the del15q11.2 as an example. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2013;161(11):2846-54.
88. Vanlerberghe C, Bouquillon S, Boute O, Holder-Espinasse M, Delobel B, Duban B, et al. 15q11.2 microdeletion (BP1eBP2) and developmental delay, behaviour issues, epilepsy and congenital heart disease: A series of 52 patients. *European Journal of Medical Genetics*. 2015;30:1e8.

89. Burnside RD, Pasion R, Mikhail FM, Carroll AJ, Robin NH, Youngs EL, et al. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11. 2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. *Human genetics*. 2011;130(4):517-28.
90. Shao Y, Cuccaro M, Hauser E, Raiford K, Menold M, Wolpert C, et al. Fine mapping of autistic disorder to chromosome 15q11-q13 by use of phenotypic subtypes. *The American Journal of Human Genetics*. 2003;72(3):539-48.
91. Rainier S, Chai J-H, Tokarz D, Nicholls RD, Fink JK. NIPA1 gene mutations cause autosomal dominant hereditary spastic paraplegia (SPG6). *The American Journal of Human Genetics*. 2003;73(4):967-71.
92. Bouquillon S, Boute O, Holder-Espinasse M, Delobel B, Duban B, Vallee L, et al. 15q11. 2 microdeletion (BP1eBP2) and developmental delay, behaviour issues, epilepsy and congenital heart disease: A series of 52 patients. *European Journal of Medical Genetics*. 2015;30:1e8.
93. Diaz-Horta O, Subasioglu-Uzak A, Grati Mh, DeSmidt A, Foster J, Cao L, et al. FAM65B is a membrane-associated protein of hair cell stereocilia required for hearing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(27):9864-8.
94. Schoen CJ, Emery SB, Thorne MC, Ammana HR, Śliwerska E, Arnett J, et al. Increased activity of Diaphanous homolog 3 (DIAPH3)/diaphanous causes hearing defects in humans with auditory neuropathy and in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(30):13396-401.
95. Boland E, Clayton-Smith J, Woo VG, McKee S, Manson FD, Medne L, et al. Mapping of deletion and translocation breakpoints in 1q44 implicates the serine/threonine kinase AKT3 in postnatal microcephaly and agenesis of the corpus callosum. *The American Journal of Human Genetics*. 2007;81(2):292-303.
96. Rivière J-B, Mirzaa GM, O'Roak BJ, Beddaoui M, Alcantara D, Conway RL, et al. De novo germline and postzygotic mutations in AKT3, PIK3R2 and PIK3CA cause a spectrum of related megalencephaly syndromes. *Nature genetics*. 2012;44(8):934-40.

97. Billingsley G, Vincent A, Deveault C, Héon E. Mutational analysis of SDCCAG8 in Bardet-Biedl syndrome patients with renal involvement and absent polydactyly. *Ophthalmic genetics*. 2012;33(3):150-4.
98. Becker KG, Lee IJ, Nagle JW, Canning RD, Gado AM, Torres R, et al. C2H2-171: a novel human cDNA representing a developmentally regulated POZ domain/zinc finger protein preferentially expressed in brain. *International journal of developmental neuroscience*. 1997;15(7):891-9.
99. De Munnik SA, García-Miñaur S, Hoischen A, Van Bon BW, Boycott KM, Schoots J, et al. A de novo non-sense mutation in ZBTB18 in a patient with features of the 1q43q44 microdeletion syndrome. *European Journal of Human Genetics*. 2014;22(6):844-6.
100. Szklarczyk R, Wanschers BF, Nijtmans LG, Rodenburg RJ, Zschocke J, Dikow N, et al. A mutation in the FAM36A gene, the human ortholog of COX20, impairs cytochrome c oxidase assembly and is associated with ataxia and muscle hypotonia. *Human molecular genetics*. 2012:dds473.
101. Drabova J, Seemanova E, Hancarova M, Pourova R, Horacek M, Jancuskova T, et al. Long term follow-up in a patient with a de novo microdeletion of 14q11. 2 involving CHD8. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2015;167(4):837-41.
102. Ramelli GP, Remonda L, Lövblad KO, Hirsiger H, Moser H. Abnormal myelination in a patient with deletion 14q11. 2q13. 1. *Pediatric neurology*. 2000;23(2):170-2.
103. Dalal I, Grunebaum E, Cohen A, Roifman C. Two novel mutations in a purine nucleoside phosphorylase (PNP)-deficient patient. *Clinical genetics*. 2001;59(6):430-7.
104. Greenway MJ, Andersen PM, Russ C, Ennis S, Cashman S, Donaghy C, et al. ANG mutations segregate with familial and 'sporadic' amyotrophic lateral sclerosis. *Nature genetics*. 2006;38(4):411.
105. Gerber S, Perrault I, Hanein S, Barbet F, Ducroq D, Ghazi I, et al. Complete exon-intron structure of the RPGR-interacting protein (RPGRIP1) gene allows the identification of mutations underlying Leber congenital amaurosis. *European journal of human genetics: EJHG*. 2001;9(8):561.

106. Sakamoto I, Kishida S, Fukui A, Kishida M, Yamamoto H, Hino S-i, et al. A novel β -catenin-binding protein inhibits β -catenin-dependent Tcf activation and axis formation. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(42):32871-8.
107. Neale BM, Kou Y, Liu L, Ma'Ayan A, Samocha KE, Sabo A, et al. Patterns and rates of exonic de novo mutations in autism spectrum disorders. *Nature*. 2012;485(7397):242-5.
108. Kelberman D, Islam L, Lakowski J, Bacchelli C, Chanudet E, Lescai F, et al. Mutation of SALL2 causes recessive ocular coloboma in humans and mice. *Human molecular genetics*. 2014;23(10):2511-26.
109. Nakagawa TY, Swanson MS, Wold BJ, Dreyfuss G. Molecular cloning of cDNA for the nuclear ribonucleoprotein particle C proteins: a conserved gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986;83(7):2007-11.
110. Belotserkovskaya R, Oh S, Bondarenko VA, Orphanides G, Studitsky VM, Reinberg D. FACT facilitates transcription-dependent nucleosome alteration. *Science*. 2003;301(5636):1090-3.
111. Dierks T, Schmidt B, Borissenko LV, Peng J, Preusser A, Mariappan M, et al. Multiple sulfatase deficiency is caused by mutations in the gene encoding the human C α -formylglycine generating enzyme. *Cell*. 2003;113(4):435-44.
112. Lee S-H, Oshige M, Durant ST, Rasila KK, Williamson EA, Ramsey H, et al. The SET domain protein Metnase mediates foreign DNA integration and links integration to nonhomologous end-joining repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102(50):18075-80.
113. Huang L, Chardon JW, Carter MT, Friend KL, Dudding TE, Schwartzenuber J, et al. Missense mutations in ITPR1 cause autosomal dominant congenital nonprogressive spinocerebellar ataxia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2012;7(1):67.
114. Van de Leemput J, Chandran J, Knight MA, Holtzclaw LA, Scholz S, Cookson MR, et al. Deletion at ITPR1 underlies ataxia in mice and spinocerebellar ataxia 15 in humans. *PLoS Genet*. 2007;3(6):e108.

115. Gerber S, Alzayady KJ, Burglen L, Brémond-Gignac D, Marchesin V, Roche O, et al. Recessive and dominant de novo ITPR1 mutations cause Gillespie syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2016;98(5):971-80.
116. Özbaran B, Akgün B, Kaçamak D, Köse S, Kavasoglu A, Onay H. Otizmlı Olgularda Moleküler Karyotipleme Yöntemi ile Genetik Etiyolojinin Aydınlatılması.
117. Bijlsma E, Gijsbers A, Schuurs-Hoeijmakers J, Van Haeringen A, Van De Putte DF, Anderlid B-M, et al. Extending the phenotype of recurrent rearrangements of 16p11. 2: deletions in mentally retarded patients without autism and in normal individuals. *European journal of medical genetics*. 2009;52(2):77-87.
118. Steinman KJ, Spence SJ, Ramocki MB, Proud MB, Kessler SK, Marco EJ, et al. 16p11. 2 deletion and duplication: characterizing neurologic phenotypes in a large clinically ascertained cohort. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2016;170(11):2943-55.
119. Fernandez BA, Roberts W, Chung B, Weksberg R, Meyn S, Szatmari P, et al. Phenotypic spectrum associated with de novo and inherited deletions and duplications at 16p11. 2 in individuals ascertained for diagnosis of autism spectrum disorder. *Journal of medical genetics*. 2009.
120. Boyden ED, Campos-Xavier AB, Kalamajski S, Cameron TL, Suarez P, Tanackovich G, et al. Recurrent dominant mutations affecting two adjacent residues in the motor domain of the monomeric kinesin KIF22 result in skeletal dysplasia and joint laxity. *The American Journal of Human Genetics*. 2011;89(6):767-72.
121. Heron SE, Dibbens LM. Role of PRRT2 in common paroxysmal neurological disorders: a gene with remarkable pleiotropy. *Journal of medical genetics*. 2013;50(3):133-9.
122. Kreuder J, Borkhardt A, Repp R, Pekrun A, Göttische B, Gottschalk U, et al. Inherited metabolic myopathy and hemolysis due to a mutation in aldolase A. *New England Journal of Medicine*. 1996;334(17):1100-5.

123. Wu N, Ming X, Xiao J, Wu Z, Chen X, Shinawi M, et al. TBX6 null variants and a common hypomorphic allele in congenital scoliosis. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(4):341-50.
124. Moshous D, Martin E, Carpentier W, Lim A, Callebaut I, Canioni D, et al. Whole-exome sequencing identifies Coronin-1A deficiency in 3 siblings with immunodeficiency and EBV-associated B-cell lymphoproliferation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2013;131(6):1594-603. e9.
125. Golzio C, Willer J, Talkowski ME, Oh EC, Taniguchi Y, Jacquemont S, et al. KCTD13 is a major driver of mirrored neuroanatomical phenotypes of the 16p11.2 copy number variant. *Nature*. 2012;485(7398):363-7.
126. Liston P, Roy N, Tamai K, Lefebvre C. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. *Nature*. 1996;379(6563):349.
127. Le May N, Dubaele S, De Santis LP, Billecocq A, Bouloy M, Egly J-M. TFIIF transcription factor, a target for the Rift Valley hemorrhagic fever virus. *Cell*. 2004;116(4):541-50.
128. Hsu S-C, Ting AE, Hazuka CD, Davanger S, Kenny JW, Kee Y, et al. The mammalian brain rsec6/8 complex. *Neuron*. 1996;17(6):1209-19.
129. Fernandes-Alnemri T, Armstrong RC, Krebs J, Srinivasula SM, Wang L, Bullrich F, et al. In vitro activation of CPP32 and Mch3 by Mch4, a novel human apoptotic cysteine protease containing two FADD-like domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(15):7464-9.
130. Wang J, Zheng L, Lobito A, Chan FK-M, Dale J, Sneller M, et al. Inherited human Caspase 10 mutations underlie defective lymphocyte and dendritic cell apoptosis in autoimmune lymphoproliferative syndrome type II. *Cell*. 1999;98(1):47-58.
131. Romanelli V, Belinchón A, Benito-Sanz S, Martínez-Glez V, Gracia-Bouthelier R, Heath KE, et al. CDKN1C (p57Kip2) analysis in Beckwith–Wiedemann syndrome (BWS) patients: Genotype–phenotype correlations, novel mutations, and polymorphisms. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2010;152(6):1390-7.

132. Yang Y, Liu L, Cai J, Wu J, Guan H, Zhu X, et al. DEPDC1B enhances migration and invasion of non-small cell lung cancer cells via activating Wnt/ β -catenin signaling. *Biochemical and biophysical research communications*. 2014;450(1):899-905.
133. Ohno Y, Suto S, Yamanaka M, Mizutani Y, Mitsutake S, Igarashi Y, et al. ELOVL1 production of C24 acyl-CoAs is linked to C24 sphingolipid synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(43):18439-44.
134. König A, Happle R, Bornholdt D, Engel H, Grzeschik KH. Mutations in the NSDHL gene, encoding a 3β -hydroxysteroid dehydrogenase, cause CHILD syndrome. *American journal of medical genetics*. 2000;90(4):339-46.
135. McLarren KW, Severson TM, du Souich C, Stockton DW, Kratz LE, Cunningham D, et al. Hypomorphic temperature-sensitive alleles of NSDHL cause CK syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2010;87(6):905-14.
136. Matsuo H, Chiba T, Nagamori S, Nakayama A, Domoto H, Phetdee K, et al. Mutations in glucose transporter 9 gene SLC2A9 cause renal hypouricemia. *The American Journal of Human Genetics*. 2008;83(6):744-51.
137. Sadakata T, Washida M, Iwayama Y, Shoji S, Sato Y, Ohkura T, et al. Autistic-like phenotypes in Cadps2-knockout mice and aberrant CADPS2 splicing in autistic patients. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(4):931-43.
138. Köchling J, Karbasiyan M, Reis A. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Currarino syndrome. *European journal of human genetics: EJHG*. 2001;9(8):599.
139. Camacho-Vanegas O, Camacho SC, Till J, Miranda-Lorenzo I, Terzo E, Ramirez MC, et al. Primate genome gain and loss: a bone dysplasia, muscular dystrophy, and bone cancer syndrome resulting from mutated retroviral-derived MTAP transcripts. *The American Journal of Human Genetics*. 2012;90(4):614-27.
140. Kannengiesser C, Dalle S, Leccia MT, Avril MF, Bonadona V, Chompret A, et al. New founder germline mutations of CDKN2A in melanoma-prone

- families and multiple primary melanoma development in a patient receiving levodopa treatment. *Genes, Chromosomes and Cancer*. 2007;46(8):751-60.
141. Kerr B, Delrue M-A, Sigaudy S, Perveen R, Marche M, Burgelin I, et al. Genotype-phenotype correlation in Costello syndrome: HRAS mutation analysis in 43 cases. *Journal of medical genetics*. 2006;43(5):401-5.
 142. Yagi H, Furutani Y, Hamada H, Sasaki T, Asakawa S, Minoshima S, et al. Role of TBX1 in human del22q11. 2 syndrome. *The Lancet*. 2003;362(9393):1366-73.
 143. Kouprina N, Mullokandov M, Rogozin IB, Collins NK, Solomon G, Otstot J, et al. The SPANX gene family of cancer/testis-specific antigens: rapid evolution and amplification in African great apes and hominids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(9):3077-82.
 144. Aruga J, Yokota N, Mikoshiba K. Human SLITRK family genes: genomic organization and expression profiling in normal brain and brain tumor tissue. *Gene*. 2003;315:87-94.
 145. Yamagata M, Weiner JA, Sanes JR. Sidekicks: synaptic adhesion molecules that promote lamina-specific connectivity in the retina. *Cell*. 2002;110(5):649-60.
 146. Patil AA, Cai Y, Sang Y, Blecha F, Zhang G. Cross-species analysis of the mammalian β -defensin gene family: presence of syntenic gene clusters and preferential expression in the male reproductive tract. *Physiological genomics*. 2005;23(1):5-17.
 147. Maselli RA, Fernandez JM, Arredondo J, Navarro C, Ngo M, Beeson D, et al. LG2 agrin mutation causing severe congenital myasthenic syndrome mimics functional characteristics of non-neural (z-) agrin. *Human genetics*. 2012;131(7):1123-35.
 148. Zhou Y, Wing MR, Sondek J, Harden TK. Molecular cloning and characterization of PLC- η 2. *Biochemical Journal*. 2005;391(3):667-76.
 149. Zhou B, Westaway SK, Levinson B, Johnson MA, Gitschier J, Hayflick SJ. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nature genetics*. 2001;28(4):345-9.

150. Takebayashi K, Akazawa C, Nakanishi S, Kageyama R. Structure and Promoter Analysis of the Gene Encoding the Mouse Helix-Loop-Helix Factor HES-5 IDENTIFICATION OF THE NEURAL PRECURSOR CELL-SPECIFIC PROMOTER ELEMENT. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(3):1342-9.
151. Katoh M, Katoh M. Integrative genomic analyses on HES/HEY family: Notch-independent HES1, HES3 transcription in undifferentiated ES cells, and Notch-dependent HES1, HES5, HEY1, HEY2, HEYL transcription in fetal tissues, adult tissues, or cancer. *International journal of oncology*. 2007;31(2):461.
152. Soroosh P, Doherty TA, So T, Mehta AK, Khorram N, Norris PS, et al. Herpesvirus entry mediator (TNFRSF14) regulates the persistence of T helper memory cell populations. *Journal of Experimental Medicine*. 2011;208(4):797-809.
153. Garg V, Muth AN, Ransom JF, Schluterman MK, Barnes R, King IN, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature*. 2005;437(7056):270-4.
154. Stittrich A-B, Lehman A, Bodian DL, Ashworth J, Zong Z, Li H, et al. Mutations in NOTCH1 cause Adams-Oliver syndrome. *The American Journal of Human Genetics*. 2014;95(3):275-84.
155. Blik J, Terhal P, van den Bogaard M-J, Maas S, Hamel B, Salieb-Beugelaar G, et al. Hypomethylation of the H19 gene causes not only Silver-Russell syndrome (SRS) but also isolated asymmetry or an SRS-like phenotype. *The American journal of human genetics*. 2006;78(4):604-14.
156. Sparago A, Cerrato F, Vernucci M, Ferrero GB, Silengo MC, Riccio A. Microdeletions in the human H19 DMR result in loss of IGF2 imprinting and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Nature genetics*. 2004;36(9):958-60.
157. Edghill EL, Flanagan SE, Patch A-M, Boustred C, Parrish A, Shields B, et al. Mutations in the INS gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood. *Diabetes*. 2008;57.

158. Støy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A, et al. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(38):15040-4.
159. Janssen R, Wevers R, Häussler M, Luyten J, STEENBERGEN-SPANJERS G, Hoffmann G, et al. A branch site mutation leading to aberrant splicing of the human tyrosine hydroxylase gene in a child with a severe extrapyramidal movement disorder. *Annals of human genetics*. 2000;64(5):375-82.
160. Schwienbacher C, Sabbioni S, Campi M, Veronese A, Bernardi G, Menegatti A, et al. Transcriptional map of 170-kb region at chromosome 11p15. 5: identification and mutational analysis of the BWR1A gene reveals the presence of mutations in tumor samples. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(7):3873-8.
161. Martin N, Zügge K, Brandt R, Friebel D, Janssen B, Zimmerhackl L. Discordant clinical manifestations in monozygotic twins with the identical mutation in the TSC2 gene. *Clinical genetics*. 2003;63(5):427-30.
162. Peral B, San Millán JL, Ong A, Gamble V, Ward CJ, Strong C, et al. Screening the 3' region of the polycystic kidney disease 1 (PKD1) gene reveals six novel mutations. *American journal of human genetics*. 1996;58(1):86.
163. Cho Y-W, Motamedi GK, Laufenberg I, Sohn S-I, Lim J-G, Lee H, et al. A Korean kindred with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy and mental retardation. *Archives of neurology*. 2003;60(11):1625-32.