

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**MİKROARRAY TESTİ İÇİN YÖNLENDİRİLEN HASTALARIN
ANALİZ SONUÇLARI VE KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN
LİTERATÜR EŞLİĞİNDE TARTIŞILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. DUYGU GAMZE ARACI

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Taner DURAK**

DENİZLİ - 2024

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**MİKROARRAY TESTİ İÇİN YÖNLENDİRİLEN HASTALARIN
ANALİZ SONUÇLARI VE KLİNİK ÖZELLİKLERİNİN
LİTERATÜR EŞLİĞİNDE TARTIŞILMASI**

UZMANLIK TEZİ

DR. DUYGU GAMZE ARACI

**DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Taner DURAK**

DENİZLİ - 2024

ONAY



TEŞEKKÜR

Tez yazım sürecindeki katkıları, güler yüzü ve anlayışı için minnettar olduğum, tanımaktan ve beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum saygıdeğer tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Taner Durak'a,

Laboratuvara ilk ayak bastığım andan itibaren bana karşı her zaman anlayışlı, sevecen ve destekleyici yaklaşan, sınav ve tez dönemimdeki yardımlarıyla süreci benim için kolaylaştıran saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Kadri Karaer ve Prof. Dr. Gökhan Ozan Çetin'e ve sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Rüveyda, Dr. Tuba ve Dr. Zerrin başta olmak üzere tüm Pamukkale Tıbbi Genetik ailesine,

Asistanlık eğitimim boyunca fikirlerimi rahatlıkla paylaşabildiğim, önerilerimi dikkatle dinleyip değerlendiren ve birlikte çözüm üretmek için kafa yoran, desteklerini her zaman yanımda hissettiğim Prof. Dr. Özden Altıok Clark başta olmak üzere Akdeniz Üniversitesi Genetik ailesindeki tüm saygıdeğer hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma,

Zor zamanları çekilir kılan, birlikte her şeyi paylaştığım ve öğrendiğim canım arkadaşım, kardeşim Uzm. Dr. Feyza Altunbaş Yalabık'a,

Hayatımda olduğu için kendimi şanslı hissettiğim, zor anlarımda desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Uzm. Dr. Çeral Efe Aracı'ya ve her daim yanımda olan canım aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
ÖZET	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. CNV TANIMI	6
2.2. CNV OLUŞUM MEKANİZMALARI.....	6
2.3. CNV TESPİT ARAÇLARI.....	8
2.3.1. CNV Saptama Yöntemleri	9
2.4. MİKROARRAY TEKNOLOJİSİNİN GENETİK ALANINDA KULLANIMI... 13	
2.4.1. Bilişsel Gerilik ve/veya Konjenital Anomalilerin Postnatal Tanısı	14
2.4.2. Prenatal Dönemde Tanı.....	15
2.5. CNV'LERİN YORUMLANMASI ve KLİNİKLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ.....	15
2.6. CNV'LERİ DEĞERLENDİRİRKEN KULLANILAN VERİ TABANLARI	16
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
3.1. HASTA GRUBU SEÇİMİ	21
3.2. HASTADAN DNA ELDESİ.....	22
3.3. SNP ARRAY UYGULAMASI	22
3.4. SNP ARRAY VERİLERİNİN ANALİZİ ve ADAY CNV'LERİN BELİRLENMESİ.....	24

4. BULGULAR	26
4.1. OLGULARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ	26
4.2. OLGULARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ	27
4.3. OLGULARDA TESPİT EDİLEN SİTOGENETİK OLARAK GÖZLENEBİLEN KROMOZOMAL ANOMALİLER	28
4.4. OLGULARDA TESPİT EDİLEN CNV'LERİN HAPLOYETMEZLİK ve TRİPLOSENSİTİVİTE AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ	30
5. TARTIŞMA	36
5.1. OLGULAR	38
6. SONUÇ	49
7. KAYNAKLAR	51
8. EKLER	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
aCGH	Array Comparative Genomic Hybridization
AGTE	Ankara Gelişim Tarama Envanteri
AR	Otozomal Resesif
ASD	Atriyal Septal Sefekt
AY	Aort Yetmezliği
BAC	Bacterial Artificial Chromosome
BAF	B-Allele Frequency
BFT	Böbrek Fonksiyon Testi
Bp	Base Pair
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CES	Klinik Ekzom Sekanslama
CNP	Copy Number Polymorphism
CNV	Copy Number Variation
CNVcalc	ClinGen CNV Pathogenicity Calculator
CMA	Chromosomal Microarray Analysis
COBRA FISH	Combined Binary Ratio Labeling FISH
CoNIFER	Copy Number Inference From Exome Reads
CONTRA	Copy Number Targeted Resequencing
CP	Cerebral Palsy
CVS	Chorionic Villus Sampling
DECIPHER	DatabasE of genomiC variation and Phenotype in Humans using Ensembl Resources
DEHB	Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
Del	Delesyon

DİF	Distal İnterfalangeal
DGS	DiGeorge Syndrome
DGV	Database of Genomic Variants
Dn	De Novo
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DSB	Double-Strand Break
Dup	Duplikasyon
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
EEG	Electroencephalogram
EKO	Ekokardiyografi
EMG	Electromyography
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization
FMR1	Fragile X Mental Retardation 1
FMF	Familial Mediterranean Fever
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
gDNA	Genomic DNA
HI	Haploinsufficiency
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HMM	Hidden Markov Model
ISCN	International System for Human Cytogenetic Nomenclature
KMP	Kardiyomiyopati
LINE	Long Interspersed Nuclear Element
LCR	Low Copy Repeats
LoF	Loss of Function
LP	Likely Pathogenic
LRR	Log R Ratio

Max	Maximum
MCA	Multiple Congenital Anomalies
MKF	Metakarpofalangeal
MLPA	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification
MR	Manyetik Rezonans
M-FISH	Multiplex Fluorescence In Situ Hybridization
MY	Mitral Yetmezlik
NAHR	Non-Allelic Homologous Recombination
NDD	Neurodevelopmental Disorders
NGS	Next-Generation Sequencing
NIH	National Institutes of Health
NMD	Nonsense-Mediated Decay
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
OSB	Otizm Spektrum Bozukluğu
PA	Pulmonary Atresia
PFO	Patent Foramen Ovale
PİF	Proksimal İnterfalangeal
pLI	Probability of Loss-of-Function Intolerance
PMID	PubMed Identifier
PNP	Polinöropati
PS	Pulmonary Stenosis
PSSVC	Persistent sol süperior vena kava
PY	Pulmoner Yetmezlik
qPCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction
RD	Read Depth
ROMA	Representational Oligonucleotide Microarray Analysis

RT-PCR	Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
sASD	Secondary Atrial Septal Defect
SD	Segmental Duplikasyon
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SNV	Single Nucleotide Variant
SVI	Sequence Variant Interpretation
SV	Structural Variation
TG	Trigliserit
TS	Triküspit Stenoz
TY	Triküspit Yetmezlik
UPD	Uniparental Disomy
USG	Ultrasonografi
UTR	Untranslated Region
VACTERL	Vertebral defects, Anal atresia, Cardiac defects, Tracheoesophageal fistula, Renal anomalies, and Limb abnormalities
VCFS	Velo-Cardio-Facial Syndrome
VCS	Vena Cava Superior
VNTR	Variable Number Tandem Repeat
VUS	Variant of Uncertain Significance
WGS	Whole Genome Sequencing
XHMM	eXome-Hidden Markov Model
XLD	X-linked Dominant
XLR	X-linked Recessive
YYB	Yenidoğan Yoğun Bakım

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Tekrarlayan ve tekrarlanmayan yeniden düzenlemeler.....	7
Şekil 2. Düşük kopya tekrarları (LCR) ve segmental duplikasyonlar (SD) arasındaki alelik olmayan homolog rekombinasyon olayı.....	8
Şekil 3. Genetik anomalilerin tanımlanmasında farklı yöntemlerin analiz spektrumu....	13
Şekil 4. CNVcalc'ın görüntüsü.....	31



TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1. Genetik alanında önemli teknolojik gelişmeler ve keşifler.....	5
Tablo 2. Haployetmezlik ve triplosensitivite skorları ve sınıflamaları.....	18
Tablo 3. Olguların demografik ve klinik özelliklerinin dağılımı.....	26
Tablo 4. Ekokardiyografi sonucunda anomali bulunan olgular ve saptanan kardiyak anomaliler.....	28
Tablo 5. Olgularda tespit edilen sitogenetik olarak gözlenebilen kromozomal anomaliler.....	29
Tablo 6. Franklin platformunda VUS olarak sınıflandırılan değişiklikler	30
Tablo 7. ACMG ve ClinGen'in ortaklaşa yayınladığı bildirideki puanlama metrikleri dikkate alınarak olguların sınıflandırılması	32
Tablo 8. Kalıtım paterni araştırılmış olan olgular.....	34

ÖZET

Mikroarray testi için yönlendirilen olguların analiz sonuçları ve klinik özelliklerinin literatür eşliğinde tartışılması

Dr. Duygu Gamze ARACI

Bilişsel gerilik ve/veya konjenital anomaliler, toplumda nadir görülmelerine rağmen geniş etiyolojik spektruma sahip bir hastalık grubunu oluşturmaktadır. Yapısal kromozom anomalileri, öğrenme güçlüğü, dismorfik yüz bulguları, çeşitli konjenital anomaliler ve büyüme-gelişme geriliği gibi klinik bulgulara yol açan önemli nedenler arasında yer alır. Bu anomalilerin ancak 5 Mb'dan büyük olanları konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Mikroarray tetkiki, interstisyel bölgelerde bulunan küçük delesyon ve duplikasyonların saptanmasına olanak sağlamaktadır. Günümüzde array tabanlı yöntemler (array CGH, SNP array vb.) kullanılarak bu hasta grubunun %15-20'sine tanı verilebilmektedir.

Bu çalışmada, retrospektif olarak tek merkeze mikroarray testi için yönlendirilen toplamda 51 olgunun analiz sonuçları ve klinik özellikleri literatür eşliğinde incelendi. Veriler, Illumina Infinium Global Screening Array platformu kullanılarak elde edildi.

Analiz sonuçlarına göre, hastaların önemli bir kısmında “patojenik” ve “olasılıkla patojenik” kopya sayısı değişikliği tespit edildi. Bu değişikliklerin bazıları literatürde daha önce bildirilmiş olup, klinik bulgularla uyumlu genetik değişiklikler olarak değerlendirildi. Bununla birlikte, bazı yeni ve literatürde yer almayan kopya sayısı değişiklikleri de saptandı ve bu sayede literatüre katkıda bulunuldu.

Elde edilen bulgular, SNP array testinin genetik hastalıkların tanısında ve yönetiminde önemli bir araç olduğunu bir kez daha göstermiştir. Çalışmamızda, her hastanın kırık noktalarının neredeyse eşsiz olması nedeniyle, değişime uğrayan bölgenin içerdiği genlerin haployetmezlik/triplosensitivite açısından değerlendirilmesinin ve bunun için de

ClinGen gibi gen/genomik bölge kürasyonu yapan çalışma gruplarının yaygınlaştırılmasının önemi ortaya konmuştur. Ayrıca mikroarray tetkiki analizi sırasında, kopya sayısı değişikliklerinin özelliklerinin (gen sayısı ve içeriği, literatür verileri ve aile dağılımı vb.) kanıta dayalı şekilde skorlanmasının gerekliliği vurgulandı.

Sonuç olarak, SNP array sonuçlarının klinik özelliklerle ilişkilendirilmesi, hastalıkların daha iyi anlaşılmasına ve hastalara doğru genetik danışmanlık verilmesine olanak tanımaktadır. Gelecekte, kopya sayısı değişikliklerinin klinik önemini aydınlatmak amacıyla daha geniş çapta kohort ve vaka kontrol çalışmaları ile kopya sayısı değişikliklerinin kürasyonu ile ilgilenen küresel çalışma gruplarının artmasıyla SNP array testinin klinik yararlarını daha net bir şekilde ortaya koyacağı inancındayız.

Anahtar Kelimeler: Kopya sayısı değişikliği, mikroarray analizi, SNP array, bilişsel gerilik

SUMMARY

Analysing results and clinical features of cases referred for microarray testing in a single center with literature review

Dr. Duygu Gamze ARACI

Cognitive impairment and/or congenital anomalies, despite being rare in the population, represent a disease group with a broad etiological spectrum. Structural chromosomal anomalies are among the significant causes that lead to clinical findings such as learning difficulties, dysmorphic facial features, various congenital anomalies, growth and developmental delays. Only anomalies larger than 5 Mb can be detected using conventional cytogenetic methods. Microarray testing allows for the detection of small deletions and duplications located in interstitial regions. Today, with the help of array-based methods, (array CGH, SNP array, etc.), diagnoses can be made for 15-20% of this patient group.

In this study, we retrospectively evaluated the analysis results and clinical features of a total of 51 cases referred to a single center for microarray testing, with literature review. SNP array data were obtained using the Illumina Infinium Global Screening Array platform.

According to the analysis results, a significant portion of the patients had pathogenic and likely pathogenic copy number variations (CNVs). Some of these variations had been previously reported in the literature and were assessed as genetic changes consistent with clinical findings. In addition, some new and previously unreported CNVs were identified, adding valuable information to the existing literature.

The findings reaffirm that SNP array testing is a crucial tool in the diagnosis and management of genetic disorders. In our study, the unique breakpoints in each patient emphasized the importance of evaluating the genes within the altered regions for

haploinsufficiency/triplosensitivity. This also highlighted the necessity of expanding working groups like ClinGen, which curate gene/genomic regions. Additionally, during microarray testing analysis, the importance of evidence-based scoring of the characteristics of CNVs (number and content of genes, literature data, family segregation etc.) was underscored.

In conclusion, correlating SNP array results with clinical features facilitates a better understanding of diseases and enables accurate genetic counseling for patients. We believe that larger-scale cohort and case-control studies, along with an increase in global working groups involved in the curation of CNVs, will more clearly demonstrate the clinical benefits of SNP array testing in the future.

Keywords: Copy number variation, microarray analysis, SNP array, cognitive impairment

1. GİRİŞ

İnsan Genom Projesi ile dizilenen insan genomunun yaklaşık 3 milyar nükleotid içerdiği saptanmıştır (1). Genomda bulunan nükleotidler farklı boyutlarda varyasyonlar göstermektedir. Bu varyasyonlar, insanların çeşitli özelliklerde farklılıklar göstermesine yol açtığı gibi, bazı hastalıklara da sebep olabilmeleriyle bilinmektedir. Bu bölgeler, tek nükleotid değişiklikleri (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), 2-50 baz arası delesyon ve insersiyonlar (indel) ve 50 bazdan daha büyük değişiklikler (CNV, kopya sayısı değişikliği, copy number variant) olarak sınıflandırılabilir. CNV'ler 50 bp'den megabaz seviyesine kadar değişen boyutlarda olabilir ve tek bir insan genomunda, referans insan genomuna kıyasla %1,2'lik bir fark yaratabilir (2). CNV'ler, toplumda %1'den fazla sıklıkta görüldüğünde kopya sayısı polimorfizmi (CNP, *Copy Number Polymorphism*) olarak adlandırılır (3). Daha önceki yıllarda 1 kb (kilobaz) ve üzeri değişiklikler CNV olarak adlandırılırken son yıllarda 50 baz ve üzeri değişiklikler CNV olarak adlandırılmaktadır (2,4).

Herhangi iki insan genomu, CNV lokuslarında meydana gelen kopya sayısı değişiklikleri nedeniyle 50 ila 100 Mb (megabaz)'a kadar farklılık gösterebilir. Birçok CNV lokusu, birden birkaç düzineye kadar farklı sayıda gen içererek gen dozajını değiştirebilir. CNV'ler polimorfik olacak kadar sık görüldüğünde, yaygın bir varyasyonu temsil eder. Diğer DNA polimorfizmlerinde de olduğu gibi, farklı CNV alellerinin sağlık üzerindeki etkileri ve hastalıklara duyarlılık konuları yoğun bir araştırma alanıdır (5).

Kromozomal mikroarray analizi (CMA, *chromosomal microarray*), tüm genomu yüksek rezolüsyonda inceleyerek bireylerdeki genetik CNV'leri tespit etmek için kullanılan bir genetik testtir. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle saptanabilen büyük (5-10 Mb) dengesiz anomalilerin yanı sıra, 20-100 kb'a kadar olan submikroskopik delesyon ve duplikasyonları da belirleyebilen bir tekniktir (6).

Kromozomal mikroarray analizinin kullanım alanları son yıllarda genişlemiştir. Konjenital anomaliler, bilişsel gerilik, gelişimsel gecikmeler, büyüme anormallikleri veya davranış problemleri olan pediatrik hastaların değerlendirilmesinde yaygın olarak

kullanılmaktadır (6). Mikrodelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarını tespit ederek ve tanı oranlarını artırarak çocukluk çağı nörolojik bozukluklarının teşhisine yardımcı olur.

Moleküler karyotipleme olarak da adlandırılan kromozomal mikroarray analizinin, nörogelişimsel bozuklukların değerlendirilmesinde tanı oranını artırdığı iyi bilinmektedir. Açıklanamayan gelişimsel gecikme, çoklu doğumsal anomaliler, bilişsel yetersizlik ve otistik spektrum bozukluklarının (OSB) değerlendirilmesinde hızla birinci basamak inceleme yöntemi haline gelmiş olup önemli bir tanı verimi (yüzde 15-20) sunmaktadır (7-9). Ayrıca, son yıllarda şizofreni ve hareket bozuklukları gibi farklı alanlarda da tanıya katkısı halen incelenmektedir (10,11).

Özetle kromozomal mikroarray testi, genetik materyaldeki kopya sayısı değişikliklerini tespit ederek, nadir görülen genetik hastalıkların teşhisinde büyük bir öneme sahiptir. Bu sayede hastalara doğru tanı konulması, uygun tedavi seçeneklerine erişim sağlanması ve doğru genetik danışmanlık verilmesi mümkün olmaktadır.

Araştırmamızda Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde mikroarray analizi yapılmış olguların demografik ve klinik özellikleri ile test sonuçlarının literatür eşliğinde değerlendirilmesi planlanmıştır. Çalışmamızda olguların gerek klinik gerekse genotipik özellikleri incelenerek elde edilecek verilerle literatüre katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

İnsanların 46 kromozom taşıdığının ve 1950'lerin sonunda farklı anöploidilerin özgül fenotipler ile ilişkilendirildiğinin keşfedilmesinin ardından, kromozomal karyotipleme, hızla zihinsel yetersizlik ve doğumsal anomalileri olan hastaların etiyolojik tanılarının aydınlatılmasında kullanılan bir araç haline gelmiştir. Önceleri sadece kromozom gruplarının tespitine olanak sağlayan boyama yöntemlerinin hassasiyet derecesi, 1970'lerde kromozom bantlama tekniklerinin kullanımı sayesinde artmıştır. Bu teknikler, kromozomların detaylı şekilde tespitini sağlamış ve belirli kromozomal dengesizliklerle ilişkili çok sayıda sendromun tanımlanmasına katkıda bulunmuştur. Kromozomal karyotipleme, geniş kromozomal anormalliklerin ve translokasyonların genom genelinde tespit edilmesini sağlasa da bazı sınırlamalara sahiptir:

- hücre kültürü, kromozom eldesi ve kromozom analizinin yapılması 4 ile 10 gün arasında sürmektedir,
- bir karyotipin çözünürlüğü, (i) genomdaki konumuna, (ii) kromozom kalitesine ve (iii) sitogenetik bilgi ve donanımına bağlı olarak 5-10 Mb arasında değişmektedir,
- bu teknik, giemsa bantlı karyotip analizi yapabilen kalifiye teknisyenler gerektirir ve küçük laboratuvarlarda organizasyon zorluklarına yol açabilir (12).

Mikroskobik olmayan kromozomal dengesizliklerin tespiti, 1980'li yıllarda floresan in situ hibridizasyon (FISH) ile mümkün hale gelmiştir. FISH yöntemi, işaretlenmiş DNA problemlerinin çekirdek veya metafaz kromozomlarına hibritlenmesi yoluyla küçük, mikroskobik olmayan kromozomal dengesizlikleri belirlemektedir. FISH, bilinen mikrodelsyon sendromları ve kromozomal anormallikleri tanımlamak, doğrulamak ve karakterize etmek için rutin olarak kullanılır. Mikroskobik olmayan CNV'leri doğru bir şekilde belirleme ve tek bir deneyde birden fazla hedefi sorgulama yeteneğine sahiptir. Bununla birlikte FISH yöntemi, hedefe yönelik olup tüm genomu değil, belirli DNA hedeflerini tarayabilmektedir (13).

Bu sorunu çözmek ve tüm kromozomların eşzamanlı olarak değerlendirilmesini sağlamak için SKY (*Spectral Karyotyping*), M-FISH (*Multiplex-FISH*) ve COBRA FISH

(*Combined Binary Ratio Labeling*) gibi çok renkli FISH tabanlı karyotipleme teknikleri tasarlanmıştır (14).

1992 yılında, genom çapında kopya sayısı anormalliklerinin tespitine olanak tanıyan bir başka teknoloji tanıtılmış ve karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH, *Comparative Genomic Hybridization*) olarak adlandırılmıştır. CGH'de test ve referans genomik DNA, çeşitli florokromlarla işaretlendikten sonra normal metafaz kromozomlarına hibritlenir. Hibridizasyondan sonra, kromozomlar boyunca floresan yoğunlukları ölçülebilir. Bu yöntem, yoğunluk oranı farklılıklarını belirleyerek genomik dengesizlikleri bulmak için kullanılır. Genel olarak, bu teknikler CNV'leri tespit etmede geleneksel karyotiplemeye göre biraz daha yüksek bir çözünürlüğe sahiptir (>3 Mb), ancak tüm deneyler oldukça yoğun ve zaman alıcıdır (12).

1995 yılında Schena ve arkadaşları tarafından tanıtılan array CGH (aCGH, mikroarray tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon) yönteminde (15), hibridizasyon hedefi olarak metafaz kromozomlarını kullanmak yerine, yüzeyine oligonükleotidler veya DNA dizileri yerleştirilmiş ve mikroarray adı verilen slaytlar kullanılmıştır (16,17). Bu teknoloji, genetik materyaldeki kopya sayısı değişikliklerini tespit etmek için dizi hibridizasyonu metodunu kullanır. Çip üzerindeki hibridizasyon sinyali, floresan tarayıcı kullanılarak bir yazılım programı ile işlenir ve oligonükleotid veya cDNA haritası hakkındaki bilgileri kullanır. Bu sayede genomdaki miktarı artmış ve/veya azalmış gen listesini oluşturur. Her bir mikroçip üzerinde binlerce hedef bölge bulunur ve bu sayede büyük miktarda genetik bilgi hızla taranabilir (18). Genetik alanındaki önemli teknolojik gelişmeler ve keşifler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1: Genetik alanında önemli teknolojik gelişmeler ve keşifler.

Lee ve ark. (2010)'dan değiştirilerek alınmıştır (19).

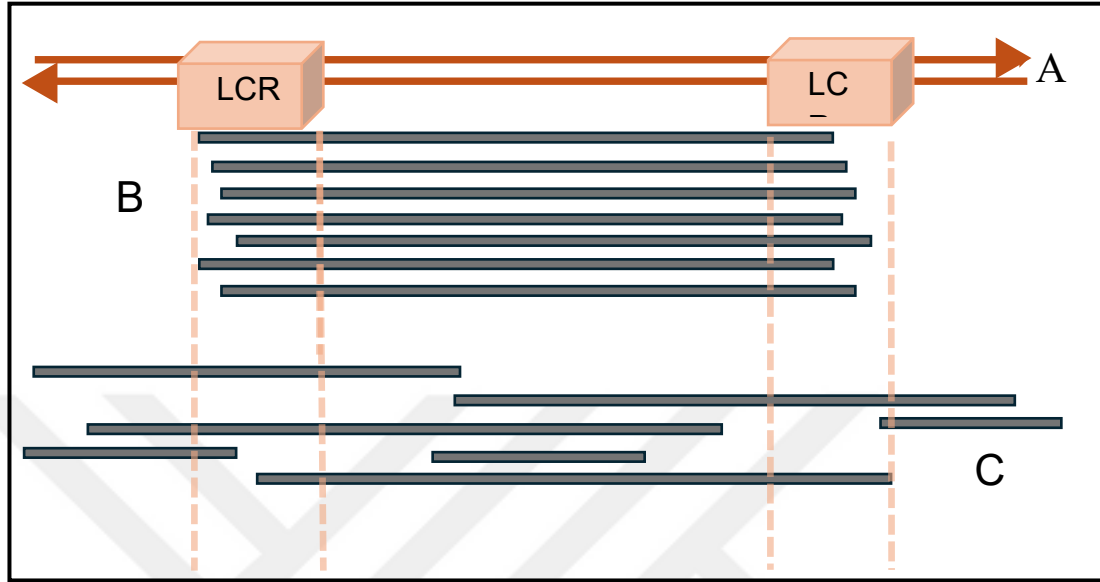
Yıl	Genetik Alanında Yeni Teknolojiler ve keşifler
1959	Trizomi 21, monozomi X ve 47,XXY
1961	Parsiyel trizomi 21
1963	Kalıtılan ilk delesyon sendromu: Cri-du-chat (5p ⁻)
1969	Kromozom bantlama: subkromozomal anomalilerin tespiti
1978	Southern blot yöntemiyle α -globin gen duplikasyonunun tespiti
1980	İlk DNA polimorfizminin tespiti (değişken sayıda sıralı tekrar polimorfizmleri, VNTR, <i>variable number tandem repeat</i>)
1980	FISH tekniğinin kriptik/ submikroskopik anomalilerin tespiti
1982	İnsan kromozomlarına FISH yönteminin uygulanması
1985	DNA parmak izi için minisatellit problemleri
1985	Distrofin geninin klonlanması, intragenik delesyonlar ve translokasyonlar dahil olmak üzere yapısal varyantlarının belirlenmesi
1986	Bitişik gen sendromlarının saptanması (<i>contiguous gene syndromes</i>)
1991	Charcot-Marie-Tooth tip 1A ile ilgili saptanan 1.4 Mb duplikasyonun allelik olmayan homolog rekombinasyon (NAHR) tarafından oluşturulduğu öne sürüldü.
1992	Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) tekniği, tümörlerdeki genomik kayıp ve kazançların saptanmasını mümkün kıldı.
1996	Subtelomerik bölgelerdeki varyantların klinik tespiti için insan telomerine özgü FISH problemlerinin tam seti oluşturuldu.
1998	Bakteriyel yapay kromozom klonları kullanılarak Array CGH yöntemi kullanıldı.
2001	İnsan Genom Projesi'nin ilk referans dizisi
2003	İnsan Genom Projesi 'tamamlandı'.
2004	İnsan genom varyasyonunun büyük ölçekte tanınması
2006	İnsan genomu için kopya sayısı varyasyon haritası oluşturuldu.
2007	Bir bireyin ilk diploid sekans dizisi tamamlandı.

2.1. CNV TANIMI

Kopya sayısı değişikliği (CNV), genom dizilerinin tekrarlandığı ve bu tekrarların sayısının aynı türün bireyleri arasında değiştiği bir moleküler fenomeni tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir. Ortaya çıkan CNV'lerin biyolojik rolleri, fizyolojik özellikler üzerinde belirgin bir etkisi olmamasından, morfolojik varyasyona, değişen metabolik durumlara, enfeksiyon hastalıklarına duyarlılığa ve konakçı-mikrobiyom etkileşimlerine kadar geniş bir yelpazede yer almaktadır. Ayrıca, yaygın ve nadir görülen genetik bozukluklar/sendromlar üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır (20).

2.2. CNV OLUşUM MEKANİZMALARI

Yapısal kromozomal yeniden düzenlemeler, kromozom yapısındaki anormalliklerdir ve kromozomal ve genomik bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. Bu düzenlemeler, gen dozajında anormallik, gende kırılma ve gen füzyonu gibi mekanizmalar nedeniyle fenotipi etkileyebilir (21). Bu yeniden düzenlemelerin çoğu, çift sarmal kırığı (DSB, *double strand break*) sonrasında gerçekteşen rekombinasyon veya onarım mekanizmalarından ya da replikasyon çatalı kırılması veya duraksaması sonrasında gerçekteşen replikasyon mekanizmalarından kaynaklanır. Çift sarmal kırıkları, iki komplementer DNA ipliğinin fosfodiester omurgasının bozulması ile iki veya tek uçlu olabilir. Patolojik DSB'ler oksidatif metabolizmadan kaynaklanan reaktif oksijen türleri, iyonize radyasyon ve DNA üzerinde fiziksel veya mekanik stres oluştuğunda meydana gelebilir (22). Belirli genomik yapısal özellikler, genom kararsızlığına yol açabilir ve bu durum, bazı bölgelerinin yeniden düzenlenmesine yatkınlık oluşturabilir. Tekrarlayan yeniden düzenlemeler benzer kırılma noktaları, boyutlar ve genomik bölge içerebilir ve bu özellikler, farklı bireyler arasında benzerlik gösterebilir. Tekrarlanmayan yeniden düzenlemeler ise benzersizdir ve nadir durumlar haricinde farklı her bireyin kendi kırılma noktası, boyutu ve genomik içeriği vardır (21). Tekrarlayan ve tekrarlanmayan yeniden düzenlemeler şekil 1'de gösterilmiştir.

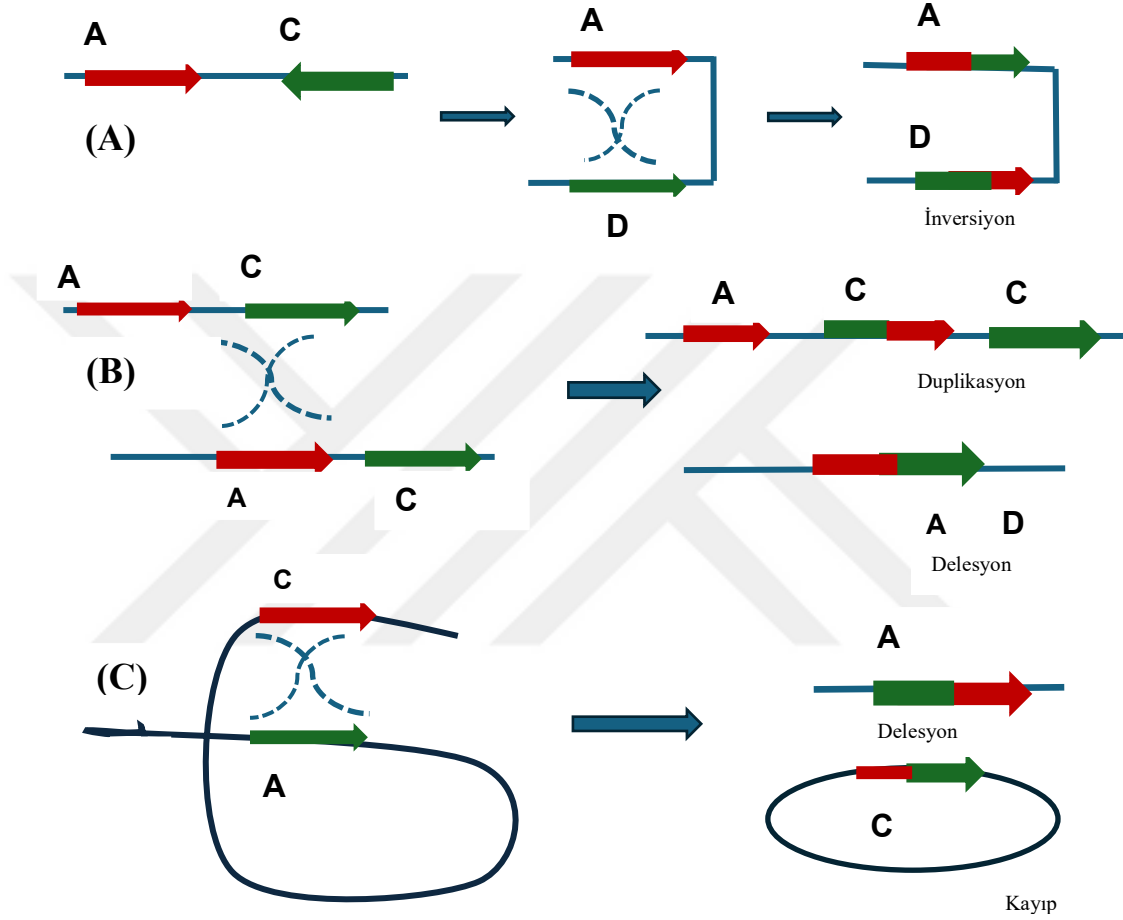


Şekil 1: Tekrarlayan ve tekrarlanmayan yeniden düzenlemeler.

A İki Düşük Kopya Tekrarı (LCR) içeren bir genomik bölgenin temsili. B Tekrarlayan yeniden düzenlemeler, Düşük Kopya Tekrarı bölgelerinde kümelenmiş benzer kırılma noktaları gösterir. C Tekrarlanmayan yeniden düzenlemeler, çeşitli kırılma noktaları ve boyutlar gösterir. Her gri çubuk, farklı bireylerdeki delesyon, duplikasyon veya inversiyon alanlarını temsil eder. Burssed ve ark (2022)' dan değiştirilerek alınmıştır (21).

Çoğu tekrarlayan yeniden düzenleme, Düşük Kopya Tekrarları (LCR'ler, *low copy repeats*) arasında gerçekleşen ve bu bölgeler yakınında kırılma noktalarının kümelenmesine neden olan Allelik Olmayan Homolog Rekombinasyon (NAHR, *Non-Allelic Homologous Recombination*) adlı bir mekanizma tarafından oluşturulur (16, 23). LCR'ler aynı zamanda segmental duplikasyonlar (SD) olarak da bilinir, 10 ila 400 kb boyutunda ve diziler arasında %97'den fazla benzerlik gösteren DNA sekanslarıdır (25). Bu DNA sekansları genler, psödogenler, tekrar eden gen kümeleri veya diğer paralog diziler içerebilir (21). Allelik olmayan LCR kopyaları arasındaki rekombinasyon, aynı zamanda allelik olmayan homolog rekombinasyon olarak da bilinir, aradaki segmentin delesyonu veya duplikasyonu ile sonuçlanabilir (26). Yakındaki genomik sekanslar, CNV'nin nasıl oluştuğuna dair ipuçları verebilir. Genellikle bir CNV, SD veya LCR olarak adlandırılan neredeyse aynı dizi blokları ya da Alu veya LINE gibi tekrarlayıcı elementler tarafından çevrelenmiştir; bu da rekombinasyon sırasında DNA ipliklerinin yanlış

hizalanmasını kolaylaştırır. LCR ve SD arasındaki alelik olmayan homolog rekombinasyon olayı Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2: Düşük kopya tekrarları (LCR) ve segmental duplikasyonlar (SD) arasındaki alelik olmayan homolog rekombinasyon olayı.

Chen ve ark. (2014)' dan değiştirilerek alınmıştır (27). (A) Ters yönde hizalanmış LCR'ler/SD'ler arasında gerçekleşen NAHR olayı, kopya-nötr yapısal bir varyasyon olan inversiyona neden olabilir. (B) Doğrudan hizalanmış LCR'ler/SD'ler arasında kromatidler arası NAHR olayları, delesyon ve duplikasyonlara yol açar. (C) Doğrudan hizalanmış LCR'ler/SD'ler arasında kromatid içi NAHR olayları, delesyon ve sonraki hücre bölünmelerinde kaybolacak halka şeklindeki DNA segmentlerini oluşturabilir.

2.3. CNV TESPİT ARAÇLARI

Yaklaşık 20 yıl önce, BAC array-CGH ve ROMA (*representational oligonucleotide microarray analysis*) gibi teknolojilerin geliştirilmesi sayesinde, genomik yapısal varyantların (SV, *structural variant*) daha ayrıntılı analizi nihayet mümkün oldu. 2004

yılında, Sebat ve ark. (28) ile Iafrate ve ark. (4)'nın yaptığı çalışmalar, karyotip seviyesinde görünmeyen orta büyüklükteki yapısal varyantların önemli bir genetik varyasyon miktarını temsil ettiğini ve henüz keşfedilmediğini gösterdi. Bu iki çalışma fenotipik olarak normal bireylerde yaygın büyük CNV'lerin varlığını tanımlayarak genetikte yeni bir araştırma alanını ortaya çıkardı (29).

2.3.1. CNV Saptama Yöntemleri

1-Genom boyu saptama yöntemleri

- aCGH
- SNP array
- Yeni Nesil Dizileme (NGS, *next generation sequencing*)

2-Hedefe yönelik saptama yöntemleri

- FISH
- MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*)
- qPCR (*quantitative polymerase chain reaction*)

2.3.1.1. Genom Boyu Saptama Yöntemleri

Klinik bağlamda, DNA mikrodizileri kromozomal bölgelerdeki dengesizlikleri tespit etmek için kullanılır. Bu nedenle, bu tür testleri tanımlamak için kromozomal mikrodizi analizi (CMA, *chromosomal microarray*) terimi kullanılır. Kromozomal dengesizliği belirlemek için iki CMA tekniği vardır: i) CGH tabanlı CNV tespiti ve ii) SNP dizisi tabanlı CNV tespiti. Bu iki yöntem arasındaki farklar, kullanılan mikroarray tipi ve hibridizasyon yöntemlerinde yatmaktadır.

CGH tabanlı yöntem, test ve referans örnekleri için iki farklı floresan boya kullanır ve örnekler aynı mikroarray bölgesinde hibridize edilebilir. Hibridizasyon sonrası her probun floresan sinyal yoğunluğu dijital görüntüleme yazılımı kullanılarak ölçülür. Öte yandan, SNP dizisi tabanlı yöntem her örnek için yalnızca bir floresan boya kullanır. SNP dizileri, hasta örneğinin floresan prob yoğunlukları ile her biri ayrı ayrı ölçülüp, normalize

edilmiş ve referans seti oluşturmak üzere birleştirilmiş çok sayıda normal kontrol örneğinin yoğunlukları ile karşılaştırılır (in silico karşılaştırma). SNP array ile sinyal yoğunluğundan kopya sayısı bilgisini elde etmenin yanı sıra, SNP'lerden elde edilen genotip grafiklerinden klinik olarak başka faydalı veriler de çıkarılabilir. Bu veriler arasında mozaicism, ikiz-ikiz veya maternal hücre kontaminasyonu, zigosite, akraba evliliği, triploidi, uniparental disomi (UPD) ve ebeveyn kökeni saptanması (ebeveyn örneklerinin de çalıştırılmasını gerektirir) yer alır. Temel olarak, her iki yöntem de CNV'lerin yerlerini belirlemek için log2 oranlarını kullanır. Sıfır log2 oranı, normal kopya sayısı olan 2'yi temsil eder. Artan bir log2 oranı, hastada kopya sayısının artışı, azalan bir log2 oranı ise kopya sayısının kaybını gösterir (17,30).

NGS

aCGH ve SNP array gibi daha geleneksel yöntemlerde bir kb ve birkaç Mb arasında değişen yapısal varyantları tespit edebilirken, son yıllarda yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisi, gittikçe daha büyük ölçekli çalışmalarda CNV'leri tespit etmek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır. NGS verileri ile CNV'leri tespit etmek için geliştirilmiş tespit araçları arasındaXHMM, CoNIFER, ExomeDepth ve CONTRA gibi yazılımlar bulunmaktadır. Bu yazılımlar CNV tespitinde, Gizli Markov modeli (HMM, *hidden markov model*) adı verilen bir yaklaşım kullanır. Doğrudan ölçülemeyen kopya sayısı, o DNA bölgesindeki okuma derinliği (RD, *read depth*) gibi verileri gözlemleyerek olasılık hesabı ile belirlenebilir. Eğer bir genomik bölgede beklenenden daha fazla okuma var ise o bölgede bir kopya sayısı artışı, beklenenden daha az okuma var ise o bölgede bir kopya sayısı kaybı olabileceği yönünde yorumlanır. NGS verilerinden CNV tespit eden bu yazılımların etkinliğini karşılaştıran bir çalışmada (31), tüm ekzom sekanslama (WES, *whole exome sequencing*) datasını CNV'ler açısından değerlendirmenin tüm genom sekanslama (WGS, *whole genome sequencing*) datasından daha güç olduğu, genel olarak CNV'leri saptamak ve doğrulamak için altın standart olarak kabul edilen aCGH ve SNP array ile karşılaştırıldığında, WGS teknolojisinin özellikle küçük CNV'leri saptamak için daha büyük bir potansiyele sahip olduğu ve daha güvenilir sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

2.3.1.2. Hedefe Yönelik Saptama Yöntemleri

FISH

FISH yöntemi ile 1980'li yıllarda mikroskopik olmayan kromozomal dengesizliklerin tespiti mümkün hale geldi. FISH, floresan işaretli DNA problemlerinin, çekirdek veya metafaz kromozomlarına hibritlenmesiyle küçük kromozomal bölgelerinin varlığını, sayısını ve yerini belirlemek için kullanılır (16). İşaretlenmiş problemler, denatüre edilmiş hücre DNA'sı ile hibritlenir ve floresan mikroskop kullanılarak görüntülenir. FISH, bilinen mikrodelsiyon sendromlarının klinik şüphelerini veya kromozomal anormallikleri tanımlamak, doğrulamak ve karakterize etmek için rutin olarak kullanılır. Bu yöntemler, mikroskopik olmayan CNV'leri doğru bir şekilde belirleyebilir ve tek bir deneyde birden fazla hedefi sorgulayabilir. Bununla birlikte, bu yöntemler tüm genomu değil, belirli DNA hedeflerini tarayabilirler (13). FISH hassas ve etkin bir tekniktir, ancak yüksek maliyetli sarf malzemeleri, uygulama süresi ve deneyimli personel gereksinimi nedeniyle tanısal analiz yöntemi olarak kullanımı sınırlıdır (32).

qPCR

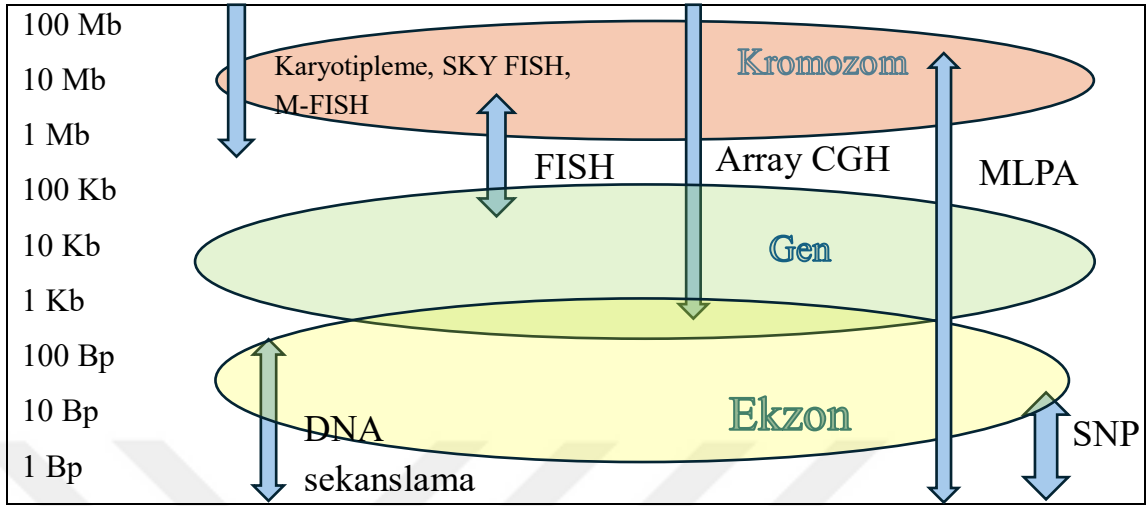
qPCR, floresan veya interkalasyon boyaları kullanarak PCR' nin gerçek zamanlı olarak görselleştirildiği bir tekniktir. Bu yöntem, gen ekspresyonunu veya gen kopya sayısını, yani ardışık gen delesyonlarını veya duplikasyonlarını ölçmek için kullanılabilir. qPCR, geleneksel PCR'yi floresan tespit teknolojileri ile birleştirerek PCR döngüsü sırasında ampliconların artışını "gerçek zamanlı" olarak kaydeder. qPCR için mevcut floresan molekülleri arasında, hibridizasyon problemleri, çift sarmallı DNA'ya bağlanan SYBR Green gibi interkalasyon ajanları ve TaqMan, Scorpions, FRET gibi hidroliz problemleri bulunur (33). Kullanılan tespit tekniğinden bağımsız olarak, PCR sırasında hedef dizilerin birikimiyle daha fazla prob ve ajan etkileşime girer ve floresan sinyali artar. Amplicon kantifikasyonu, hedef amplicon miktarının sabit bir eşiğe ulaştığı döngü sayısının (Ct) gözlemlenmesine dayanmakta olup başlangıçtaki hedef miktarı ile doğrudan ilişkilidir. Yani, genomik DNA hedefinin başlangıç kopya sayısı daha yüksek

veya daha düşük olduğuunda, floresan artışı sırasıyla daha erken veya daha geç gerçekleşir ve dolayısıyla Ct azalır veya artar (32).

MLPA

MLPA, gen kopya sayısındaki değışiklikleri, DNA metilasyonunu ve nokta mutasyonlarını eşzamanlı olarak tespit edebilen PCR tabanlı bir yöntemdir. MLPA problemleri, sadece 50 ila 100 nükleotid uzunluğundaki hedef dizileri tanıır. Bu da MLPA'nın yüksek oranda parçalanmış DNA üzerinde bile kullanılabilmesini sağlar ve tek bir ekzonu kapsayan küçük delesyonların tespitine olanak tanıır. Bu teknikte amplifiye edilen örnek DNA değil, örnek DNA'ya hibritlenmiş problemlerdir. Bu sayede tek bir reaksiyon, 50'ye kadar MLPA probunun eşzamanlı ve yarı kantitatif olarak amplifikasyonunu sağlar. MLPA probu hedef dizisindeki kopya sayısı değışikliği, amplifikasyon ürününün daha düşük veya daha yüksek bir miktarda olmasına neden olur. Hedef probun kopya sayısındaki değışiklikler, bu probun göreceli sinyalinin, referans örnekteki aynı probun ortalama göreceli sinyali ile karşılaştırılmasıyla tahmin edilebilir (34).

Genomik anormalliklerin tanımlanmasında kullanılan farklı yöntemlerin analiz spektrumu, her yöntemin belirli bir çözünürlük aralığına ve tanımlayabileceğı anomali türlerine sahip olmasını içerir (34). Genetik anomalilerin tanımlanmasında kullanılan farklı yöntemlerin analiz spektrumu Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3: Genetik anomalilerin tanımlanmasında farklı yöntemlerin analiz spektrumu. Hömig-Hölzel ve ark. (2012)' dan değiştirilerek alınmıştır (34).

2.4. MİKROARRAY TEKNOLOJİSİNİN GENETİK ALANINDA KULLANIMI

Son yıllarda mikrodizin teknolojilerinin kullanımının artışıyla birlikte, gelişimsel gecikme, doğumsal anomaliler ve dismorfik özelliklere sahip hastaların laboratuvar değerlendirmesi önemli ölçüde değişmiştir. 1995 yılında tanıtılan ve aCGH olarak adlandırılan bu yöntemde, mikroarray adı verilen sabit bir yüzey üzerindeki hedef dizilere çeşitli işaretlenmiş test ve referans genomik DNA'ların hibritlenmesinin ardından, lam üzerindeki her hedefin floresan yoğunlukları ölçülür. Referans ve test DNA'ları için kalibre edilmiş floresan oranı, kromozomlar boyunca dizinin konumuna göre çizilir. Genom boyunca kazanımlar veya kayıplar, log₂ değerinin 0'dan sapmasıyla tanımlanır: Log₂ değerindeki artışlar kopya sayısındaki kazanımları, azalmalar ise kayıpları gösterir. Referans ve test DNA'larının eşit miktarda hibritlenmesi durumunda log₂ değeri 0 olur (bire bir oran). Çözünürlük, bir dizideki problemlerin boyutu ve sayısının yanı sıra bu problemlerin genomdaki dağılımına bağlıdır.

Başlangıçta mikroarray, kanser patogeneğinde rol oynayan genleri bulmak ve tümörlerdeki CNV'leri incelemek için kullanılmıştır (16,35). Bununla birlikte bu yöntem zamanla optimize edilmiş ve dengesiz konstitüsyonel yeniden düzenlemeleri belirlemek

için kullanılmaya başlanmıştır (12,36). Mikrodizin teknolojisi kullanılarak, hastanın genomu, standart G-bantlı kromozom çalışmalarıyla tespit edilemeyecek kadar küçük genetik materyal kazanç veya kayıpları açısından incelenebilir. Mikrodizin teknolojisinin artan çözünürlüğü, geleneksel sitogenetik analizlere göre kromozomal dengesizliklerin daha büyük hassasiyet, doğruluk ve teknik duyarlılıkla tanımlanmasına olanak tanır. Bu yöntemin temel avantajı, mikroarray çipi üzerine tespit edilmiş herhangi bir lokusta anöploidileri, delesyonları, duplikasyonları ve/veya amplifikasyonları aynı anda tespit edebilme kapasitesidir. Aslında, bu tekniği kullanarak yapılan bir test, binlerce FISH deneyine eşdeğer olup, iş gücü ve maliyet açısından büyük tasarruf sağlar (16, 24). Klinik uygulamalarda kullanılmak üzere çeşitli dizi tabanlı platformlar mevcuttur ve kullanım stratejileri gelişmektedir (37).

Mikroarray tetkiki; bilişsel gerilik ve/veya konjenital anomalilerin postnatal tanısında, prenatal dönemde saptanan anomalilerin tanısında ve kanser araştırmalarında kullanılmaktadır.

2.4.1. Bilişsel Gerilik ve/veya Konjenital Anomalilerin Postnatal Tanısı

Bilişsel gerilik, tek başına veya doğumsal malformasyonlar ile birlikte toplumda %2-3 oranında görülür ve etiyolojik olarak heterojen bir yelpazeye sahiptir. Konvansiyonel karyotipleme; CMA'nın geliştirilmesinden önce bilişsel gerilik, OSB ve gelişme geriliği hastalarının tanısında altın standarttı (16,36,38). 2010 yılında ACMG (*American College of Medical Genetics*), belirli nörogelişimsel gerilik (NDD, *neurodevelopmental disease*) ve konjenital anomalileri olan kişiler için mikroarray tetkikini ilk sırada klinik tanı testi olarak öneren uygulama kılavuzları yayınlamıştır. Birçok çalışma, mikroarray tabanlı yöntemlerin hem çocuklarda hem de yetişkinlerde bilişsel gerilik ve çoklu doğumsal anomaliler (MCA) olan hastalarda genomik dengesizlikleri tespit etmede, klasik sitogenetik analizlere kıyasla daha etkili olduğunu göstermiştir (12,16,37). Ancak son yıllarda yapılan bazı meta-analiz çalışmaları, NDD hastalarında ekzom sekanslamanın mikroarray yöntemine kıyasla tanıya daha fazla katkı sağladığını öne sürmekte (39,53) ve NDD, bilişsel gerilik/gelişimsel gerilik ve OSB hastalarında ilk tercih olarak ekzom sekanslamanın kullanılmasını önermektedir (40).

2.4.2. Prenatal Dönemde Tanı

Çoğu durumda prenatal dönemde moleküler karyotipleme, geleneksel karyotiplemeye tercih edilmektedir. Bu yöntemin başlıca avantajları, hız (kültürleme gerektirmez ve prosedürün bazı adımlarının otomasyonu mümkündür) ve moleküler karyotiplemenin geleneksel karyotiplemeye kıyasla daha yüksek çözünürlüğüdür (12). CMA yönteminin potansiyel bir dezavantajı, dengeli kromozomal yeniden düzenlemeleri, triploidi ve bazı mozaizm durumlarını tespit edememesidir. Ayrıca dezavantajlardan bir diğeri ise klinik önemi bilinmeyen kromozomal varyantların (VUS, *variant of uncertain significance*) saptanmasıdır (41).

2.5. CNV'LERİN YORUMLANMASI ve KLİNİKLE İLİŞKİLENDİRİLMESİ

CMA analizi hem konjenital hem de neoplastik bozuklukların tanısal değerlendirilmesinde yaygın olarak uygulanmaktadır. CMA tetkiki, kromozomal anöploidi ve kromozomların yapısındaki diğer büyük değişiklikleri tespit etmenin yanı sıra, daha geleneksel yöntemlerle tespit edilemeyen submikroskopik anormallikleri de belirleyebilir (42).

CNV'lerin birçok hastalığa neden olduğu gösterilmiş, ayrıca bazı hastalıklar için de risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Bugün birçok CNV'nin belirli genleri ve kromozomal bölgeleri etkileyerek HIV, lupus, nefrit, pankreatit ve sedef hastalığı gibi çeşitli hastalıklara yatkınlık yaratabileceği söylenebilir. Ancak, gen dozajındaki basit fark genellikle belirli bir fenotipteki farklılıkları açıklayamaz. Örneğin, aynı gen/bölge için aynı dozaja sahip özellikle aynı aile içindeki bireylerde araştırılan fenotipin farklı şekillerde ortaya çıkabileceği bilinmektedir (43).

CNVler mutlaka sağlığı olumsuz etkilemek zorunda değildir. Örneğin, insan immün yetmezlik virüsü 1'i (HIV-1) güçlü bir şekilde baskılayabilen kemokin CCL3L1 düşünüldüğünde, toplumda ortalamadan daha az sayıda CCL3L1 kopya sayısı varyantı taşıyan bireylerin HIV ve edinilmiş immün yetmezlik sendromuna (AIDS) karşı önemli ölçüde daha duyarlı olduklarını bulunmuştur (44). Benzer şekilde, sağlıklı bireyler

tarafından taşınan ve işlevsiz gibi görünen diğer kopya sayısı varyantları, eğer popülasyonlarda seçici bir avantaj sağlıyorsa evrimsel olarak korunmuş olabilir (45).

CNV'ler sağlıklı popülasyonda da bulunabilir. Gelişen genom analiz platformları ve teknoloji sayesinde saptanan CNV miktarı her geçen gün artmaktadır. Bu değişikliklerin değerlendirilmesi için yerel ve uluslararası veri tabanlarından yararlanılır. En önemlilerinden biri, normal bireylerin genomik verilerini içeren DGV (*Database of Genomic Variants*)'dir. Bir CNV'nin çok sayıda sağlıklı bireyde gözlenmesi, o CNV'nin benign bir varyant olma olasılığını artırmaktadır.

Çoğu araştırmada mikroyarray sonuçları ikinci bir teknikle (FISH, MLPA, mikrosatellit analizi, qPCR vb.) doğrulanmaktadır. Teknik açıdan bakıldığında ve laboratuvarındaki deneyime bağlı olarak 50-100'den fazla probu kapsayan CNV'lerin doğrulanması gerekli olmayabilir, çünkü 50-100 bitişik probun tesadüfen anormal kopya sayısı değişikliği göstermesi pek olası değildir. Ancak danışmanlık perspektifinden bakıldığında hasta ve ebeveynlerde takip eden doğrulama, sağlıklı taşıyıcılardaki dengeli yeniden düzenlemeleri ve anomalinin sonraki kuşaklarda tekrarlama ihtimalini güvenli bir şekilde tespit edebilir (46).

2.6. CNV'LERİ DEĞERLENDİRİRKEN KULLANILAN VERİ TABANLARI

a. DGV: Sağlıklı bireylerdeki genomik değişiklikleri toplamak ve kataloglamak için oluşturulmuş bir veri tabanıdır. Bu veri tabanı hakemli araştırmalardan elde edilen yeni verilerle güncellenmektedir. En son Şubat 2020'de güncellenmiştir. Bu veri tabanı şu anda 75 farklı hakemli çalışmadan elde edilen bilgileri içermektedir. 47.000'den fazla farklı bireyde tespit edilen yaklaşık 980.000 CNV ve 4.000'in üzerinde inversiyon bulunmaktadır (<http://dgv.tcag.ca>).

b. DECIPHER (*Database of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources*): Genomik varyantların yorumlanmasına yardımcı olmak için tasarlanmış kapsamlı bir interaktif veri tabanıdır. Dünya çapında 270'den fazla klinik genetik ve nadir hastalık merkezi tarafından platform desteklenmektedir. Bugüne kadar

36.000'den fazla insan genomu analiz edilerek DECIPHER'a kaydedilmiştir. Bu veri tabanında dizi varyantlarının (SNP'ler, delesyonlar, insersiyonlar) yanı sıra, submikroskopik kromozomal değişiklikler (mikrodelesyon/mikroduplikasyonlar) hasta izni dahilinde genomik konum ve hastanın klinik bilgileriyle birlikte yayınlanır. DECIPHER veri tabanında çeşitli in-siliko skorlamalar da [pHaplo, pTriplo, pLI, HI (*haploinsufficiency*) ve TS (*triplosensitivity*) vb.] gösterilmektedir. DECIPHER'ın analiz esnasındaki görüntüsü EK 1'de gösterilmiştir.

pHaplo ve pTriplo skorları gen dozaj duyarlılıklarını tahmin etmek için geliştirilmiştir. Bir genin pHaplo skorunun $\geq 0,86$ 'nın üzerinde olması o genin delesyonunun, pTriplo skorunun $\geq 0,94$ 'ün üzerinde olması ise genin duplikasyonunun, bilinen işlev kaybı (LoF, *loss-of-function*) mutasyonları kadar hasar oluşturabileceği bildirilmiştir (47,48).

pLI skoru ise bir genin işlev kaybı mutasyonlarına karşı toleransını gösteren bir skordur. Değerler 0 ila 1 arasında değişir, daha büyük değerler mutasyonlara karşı daha intolerant genleri gösterir. pLI skoru, gnomAD veri tabanında bulunan 125.748 farklı bireyin ekzom sonuçlarından elde edilen verilerle hesaplanmıştır.

c. ClinGen: Genomik varyantların klinik önemi hakkında güvenilir ve doğru bilgi vermek amacıyla kurulmuş bir veri tabanıdır. Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından finanse edilmektedir. ClinGen, genetik varyantların patojenik olup olmadığını değerlendiren uzmanlarla çalışır ve bu bilgileri halka açık veri tabanlarında paylaşır. EK 2'de görülebileceği üzere günümüz itibarıyla 1596 gen ve 514 bölge için yapılmış kürasyonlar bu veri tabanında mevcuttur. ClinGen veri tabanında detaylı bir literatür incelemesini de içeren değerlendirme raporu ile dozaj sensitivitesine dair skorlar bulunmaktadır.

HI ve TS skorlaması bunlardan biridir. Her iki kategoride (HI ve TS) en yüksek puan "3"tür ve bu skor geni/genomik bölgeyi haployetmezlik ve/veya triplosensitivite açısından değerlendirmek için yeterli kanıt olduğu anlamına gelir. Daha az kanıt bulunan gen/bölgeler "2", "1", "0" gibi gittikçe daha düşük skorlar alır. "0", bu gen/bölge için

dozaj hassasiyetini destekleyen herhangi bir kanıt bulunmadığını belirtir. Diğer skorlarla sayısal sıraya girmeyen ve farklı anlamlara gelen “30”, “40”, “-1” gibi başka skorlar da bulunur (ör; skorlandırılması planlanmayan psödogenler ”-1”, genin/bölgenin otozomal resesif bir durumla ilişkilendirilmesi “30”, dozaj sensitivitesi olası değil ise “40”) (49,50). HI ve TS skorları ve sınıflandırmaları Tablo 2’de gösterilmiştir. Uzman küratörler tarafından yukarda bahsi geçen puanlaması yapılmış gen/genomik bölgelere ise (<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-dosage?page=1&size=25&search=>) internet adresinden ulaşılabilir.

Tablo 2. Haployetmezlik ve triplosensitivite skorları ve sınıflamaları

HI/TS Skor	Önerilen Klinik Klasifikasyon
3	Patojenik
2	Olasılıkla Patojenik
1	Klinik Önemi Belirsiz (VUS)
0	VUS veya Olasılıkla Benign
40	Benign, Dozaj Sensitivitesi Olası Değil

d. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man): İnsan genleri ve genetik hastalıklar hakkında kapsamlı ve güncel bilgileri paylaşan bir veri tabanıdır. Günlük olarak güncellenen bu ücretsiz veri tabanı,16.000’den fazla gen hakkında referans eşliğinde tam metin derlemeler paylaşır. Fenotip ve genotip arasındaki ilişkiye odaklanır.

e. PubMed: PubMed veri tabanı, biyomedikal ve biyoloji alanındaki 37 milyondan fazla alıntı ve özeti içeren, bu alanlarda yapılmış yayınları taramaya yarayan ücretsiz bir arama motorudur. PubMed’te bulunan her yayın “PMID” denilen özel bir kimlik numarası ile kayıtlıdır.

2.7. ACMG ve CLINGEN TARAFINDAN CNV YORUMLANMASI ve RAPORLANMASI HAKKINDA YAYINLANAN ORTAK BİLDİRİ

Klinik laboratuvarlara CNV'lerin sınıflandırılması ve raporlanmasında yardımcı olmak, nicel ve kanıta dayalı olan puanlama sistemini tanıtmak ve konstitüsyonel CNV'lerin değerlendirilmesinde klinik laboratuvarlar arasında standardizasyon, şeffaflık ve tutarlılık sağlamak amacıyla, ACMG ve ClinGen tarafından 2020 yılı şubat ayında ortak bir bildiri yayınlanmıştır (51). Oluşturulan ortak çalışma grubu tarafından 2015 yılında başlanan çalışmalar neticesinde CNV sınıflandırması için en önem arz eden kanıt kategorileri belirlendi (genomik içerik, doz duyarlılığı öngörülleri ve var olan kürasyonlar, öngörülen fonksiyonel etki, literatürdeki hastalarla klinik örtüşme, vaka ve kontrol veri tabanlarından elde edilen kanıtlar ve kalıtım paternleri) belirlendi ve bu kanıtların her birine göreceli bir önem derecesi atandı. EK 3'de kopya sayısı kayıplarında CNV değerlendirmesi için önerilen puanlama metriği gösterilmiştir.

Mikroarray analizi sırasında saptanan CNV'lerin sınıflandırılması sırasında; bu metrik kullanılarak, bir hastada bulunan herhangi bir CNV, beş ana sınıflandırma kategorisinden (benign, olasılıkla benign, klinik anlamı bilinmeyen, olasılıkla patojenik, patojenik) birine atanır. Bu puanlama sisteminin kullanımını kolaylaştırmak için, web tabanlı bir CNV sınıflama programı halka açık olarak mevcuttur (<http://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc/>). Bu araç, kullanıcı tarafından CNV özelliklerinin manuel olarak girilmesiyle nihai puan değerini ve ilgili CNV sınıflandırmasını otomatik olarak hesaplar.

Yukardaki puanlama metrikleri kullanılarak hesaplanan nihai puan değeri ≥ 0.99 olan CNV'ler "patojenik", 0.90 ile 0.98 arasında olanlar "muhtemelen patojenik" olarak kabul edilir. Belirsiz öneme sahip varyant (VUS) kategorisi en geniş puan aralığına sahiptir ve puanları -0.89 ile 0.89 arasında değişir; -0.90 ile -0.98 arası ve ≤ -0.99 puan ise sırasıyla "muhtemelen benign" ve "benign" olarak kabul edilir. Kopya sayısı artışı için belirlenen puanlama metrikleri de bölüm 2 ve bölüm 3'deki bazı farklılıklar dışında oldukça benzerdir (51).

ACMG ve ClinGen tarafından yayınlanan bu bildirinin, ekler kısmında (*Supplementary Material 1*) puanlama metrikleri hakkındaki detaylar ve kullanıcı tarafından değiştirilebilen puan aralıklarının nasıl kullanılabileceği örneklerle açıklanmıştır.



3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamız için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 13.09.2023 tarihli toplantıda KAEK- 697 karar numarası ile onay alınmıştır. Çalışmaya Ocak 2022-Eylül 2023 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Çocuk Genetik Bilim Dalı polikliniklerinde değerlendirilmiş ve mikroarray analizi yapılmış 51 olgu dahil edilmiştir. Çalışmada bu olguların klinik özellikleri ve mikroarray analizi sonuçları değerlendirilecektir. Bu çalışmanın amacı, anamnez ve fizik muayene bulguları ışığında merkezimizde mikroarray analizi yapılmış olguların klinik özellikleri, test sonuçları ve demografik özelliklerinin literatür eşliğinde değerlendirilmesidir.

1)Araştırmaya alınma kriterleri

- Hastaların yaş, cinsiyet, başvuru sebebi, muayene bulguları gibi temel demografik ve klinik bilgileri mevcut olmalıdır.

2)Araştırmadan çıkarılma kriterleri

- Yukarda bahsi geçen bilgileri eksik olan hastalar,
- Anamnez verileri eksik olan veya kaydedilmemiş olan hastalar,
- Mikroarray sonucu normal olan veya yalnızca benign/olasılıkla benign varyantı bulunan hastalar,
- Tetkik sonucunda 100 kb'dan küçük delesyon veya duplikasyon tespit edilen hastalar,
- SNP array tetkikinin güvenilirliğini sağlamak amacıyla kalite skorları uygun olmayan, bölgedeki prob sayısı yetersiz olan veya benzeri nedenlerle analize uygun olmayan hastalar araştırmadan çıkarılmıştır.

3.1. HASTA GRUBU SEÇİMİ

Akdeniz Üniversitesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde Ocak 2022-Eylül 2023 mikroarray analizi yapılmış olan 279 hastanın (158 erkek, 121 kadın) analizi incelenmiştir. Hastalar Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ve Çocuk

Genetik polikliniklerinde değerlendirilmiştir. Hastalardan alınan periferik kan örnekleri EDTA'lı tüp içerisinde merkeze ulaştırılmıştır. Periferik kan hücrelerinden elde edilen genomik DNA'ları, tüm genomdaki kopya sayısı değişikliklerinin incelenmesine imkan veren SNP array yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Hastalardan çalışılmış olan mikroarray analizi dışındaki diğer tüm genetik tetkiklerin analizleri de Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Olguların cinsiyet, yaş ve anamnez bilgileri hasta dosyalarından elde edilmiştir.

Bu hastalara araştırmadan çıkarılma kriterleri uygulandığında toplamda 51 hasta bu tez kapsamında incelenecektir.

3.2. HASTADAN DNA ELDESİ

Hastalardan 10ml'lik EDTA'lı tüpe periferik kan örnekleri alındı. Alınan kan örnekleri Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi'ne gönderildi. Hastaların periferik kan örneklerinden DNA eldesi, üretici firmanın önerdiği protokole uygun olarak Lab-Aid 824s Blood DNA Extraction Kiti (Xiamen Zeesan Biotech Co., Ltd) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA örnekleri deney gününe kadar -20 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

3.3. SNP ARRAY UYGULAMASI

DNA örneklerine üretici firmanın önerdiği protokole uygun olarak (https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/infinium_assays/infinium-hts/infinium-hts-assay-reference-guide-15045738-04.pdf) SNP array basamakları uygulandı. Bu aşamalar aşağıda sıralanmıştır:

a. Genomik DNA'nın niceliksel ve niteliksel ölçümü: NanoDrop spektrofotometresi kullanılarak yapılmıştır. gDNA'nın A260/A280 oranı 1.8-2.0 arasında olan DNA'lar çalışmaya alınmıştır.

b.DNA amplifikasyon: Amplifikasyon işleminde tüm genom total olarak çoğaltılmaktadır. Bu işlem sırasında DNA örneğinin miktarı, önemli bir amplifikasyon sapması olmaksızın birkaç bin kat arttırılmaktadır. Bu aşama 20-24 saat 37 °C sıcaklıkta inkübasyonu da içerir.

c.DNA fragmentasyonu: Daha önce amplifiye edilen genomik DNA enzimatik olarak fragmente edilir. FMS enzimi kullanılarak DNA fragmentasyonu gerçekleştirilir. Bu süreçte fragmentasyonun fazla olmasını önlemek için jel elektroforezi gerektirmeyen endpoint fragmentasyon yöntemi kullanılmaktadır. 200 ila 300 bp'lik DNA fragmanları, parçalanmamış DNA'ya kıyasla daha iyi hibridizasyon verimliliği gösterir.

d.DNA presipitasyonu: Bu aşamada %100'lük 2-propanol ve PM1 solüsyonu kullanılarak DNA pellet halinde çöktürülür. Protokol bu aşamada duraklatılabilir. Protokolün duraklatılması durumunda plate (plaka) kapatıldıktan sonra, 24 saate kadarki süreler için -15 ile -25 °C arasında, daha uzun süreli saklama için -80 °C'de muhafaza edilebilir.

e.DNA resüspansiyonu: Çöktürülmüş fragmente DNA'lar RA1 hibridizasyon tamponu kullanılarak, pellet halinde plate'de saklanan DNA'nın hibridizasyon, boyanma vb. diğer aşamalara geçmeden tekrar süspansiyon haline gelmesi sağlanır.

f.BeadChip hibridizasyon işlemi: Bu aşamada fragmente edilmiş ve resüspanse edilmiş DNA örnekleri BeadChip'ler üzerine dağıtılmaktadır. BeadChip 16-24 saat Illumina Hibridizasyon fırınında 48 °C' de inkübe edilir. Bu aşamada amplifiye ve fragmente DNA örnekleri hibridizasyon esnasında lokusa özgü 50mer'lere (sentetik oligo-DNA'lara) bağlanır.

g.BeadChip'lerin yıkanması: Bu aşama BeadChip'lerin boyama ve uzatma işlemine hazırlanmasını sağlar. Hibridize olmayan ve nonspesifik olarak hibridize olmuş DNA, PB1 solüsyonu ile yıkanır ve çipten uzaklaştırılır.

h.BeadChip boyanması: Hibridizasyon sonrası, RA1 solüsyonu, hibridize olmayan ve nonspesifik hibritlenmiş DNA örneğini yıkamak için kullanılır. BeadChip yüzeyine hibridize olmuş primerlerin uzatılması işlemi için etiketlenmiş nükleotidler eklenir ve sonrasında çok katmanlı bir boyama işlemi sonrasında uzatılmış primerler boyanır.

ı.BeadChip görüntülenmesi: Illumina iScan sistemi lazer yardımıyla tarama yaparak ve floroforlardan yayılan ışığı yüksek çözünürlükte kaydeder. Görüntülenen örneklerden ham veri elde edildikten sonra, imaj dosyaları Illumina GenomeStudio yazılımı kullanılarak genotipleme verilerine dönüştürülür.

3.4. SNP ARRAY VERİLERİNİN ANALİZİ ve ADAY CNV'LERİN BELİRLENMESİ

Bu yöntem, yaklaşık 700.000 prob kullanarak tüm genomu tarar ve yaklaşık 4500 geni hedef alır. Illumina mikroyarray çipleri, medyan olarak ~3.9kb/2.3kb aralıklarına sahiptir ve ortalama çözünürlüğü ~10kb / ~25kb'dir. Kopya sayısı varyasyonlarını tespit etmek amacıyla, tüm genom SNP verilerinden türetilen BAF (B Allel Frekansı) ve LRR (Log R Oranı) değerleri kullanılır.

BAF, ilgili SNP için B allelinin toplam sinyal miktarına oranını ifade eder ve 0 ile 1 değerleri homozigotluğu, 0.5 değeri ise heterozigotluğu gösterir. Kopya sayısı değişikliklerinde veya mozaiklik durumlarında ara değerler (örneğin: 0.25/0.75) gözlemlenebilir.

LRR, belirli bir SNP için ortalama toplam sinyal miktarının logaritmik değeridir ve kopya sayısı hakkında bilgi verir. 0 değeri 2 kopya sayısını, pozitif değerler artmış kopya sayısını, negatif değerler ise azalmış kopya sayısını gösterir.

Biodiscovery tarafından geliştirilen NxClinical (v.6.0) analiz programları ile kopya sayısı varyasyonları tespit edilip görselleştirilmiştir. Çalışmada incelenen vakalarda tespit edilen kayıp ve kazançlar için 100 kb'lik bir sınır belirlenmiştir. Analiz edilen her bölgede güvenilir sonuçlar elde edebilmek için en az 10 prob bulunmasına dikkat edilmiştir.

Varyant pozisyonları ile ilgili Human Genome Build 37 (GRCh37/hg19) referans alınmıştır. Tespit edilen varyantlar, ISCN 2020 nomenklatürüne göre adlandırılmıştır.

Bu çalışmada tespit edilen mutasyonları değerlendirmek için DGV, DECIPHER, ClinGen gibi internet üzerinden ulaşılabilen veri tabanları ile OMIM ve PubMed gibi online kütüphaneler kullanılmıştır. Saptanan CNV'ler bu veri tabanları eşliğinde değerlendirilmiş ve normal popülasyondaki sıklıkları belirlenmiştir. Varyant sınıflandırması için ACMG'nin 2020 yılında yayınladığı yönerge (51) ve ClinGen tarafından Mayıs 2021 yılında yayınlanan kılavuzdan (50) yararlanılmıştır. Bu algoritmaya göre saptanan değişikliğin sıklığına, veri tabanlarındaki durumuna bakılır. Veri tabanlarında iyi bilinen genlerle/sendromlarla ilişkisi incelenir. CNV içerisindeki genlerin fonksiyonu değerlendirilerek aday gen olma ihtimalleri değerlendirilir.

Eğer CNV, veri tabanlarında kayıtlı değilse ebeveyn çalışması yapılarak varyantın de novo olup olmadığı araştırılır. Olası ve bilinen sendromlarla ilişkili de novo CNV'ler hastalıkla ilişkilendirilebilirken de novo olmaması ve anomalinin aktarıldığı ebeveynin sağlıklı olması durumunda (penetrans ve ekspresivite kavramları da göz önünde bulundurularak) hastalıkla ilişkilendirilmemelidir. Değişikliğin büyüklüğü, sağlıklı popülasyonda bulunması, duplikasyonlara kıyasla delesyonların hastalık yapıcı etkilerinin daha yüksek olması gibi faktörler de göz önünde bulundurularak CNV'ler değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamıza Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ve Çocuk Genetik polikliniklerine Ocak 2022-Eylül 2023 tarihleri arasında başvuran, mikroyarray testi yapılmış olan ve araştırma kriterlerini karşılayan 51 olgu dahil edilmiştir.

4.1. OLGULARIN DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

Çalışmaya dahil edilen olguların demografik ve klinik özelliklerinin dağılımı Tablo 3'de sunulmuştur. Olguların genel yaş ortalaması $7,98 \pm 9,13$ yıl olarak hesaplanmış olup, yaş aralığı 14 ay ile 48 yaş arasında değişmektedir. Toplam 51 olgunun 30'u (%58,8) kız ve 21'i (%41,2) erkek olarak belirlenmiştir.

Tablo 3: Olguların demografik ve klinik özelliklerinin dağılımı

Özellikler	Veri
Hasta sayısı	
Toplam (%)	51
Olguların genel yaş ortalaması	$7,98 \pm 9,13$ yıl
Kadın/Erkek	30/21 (%58,8 / %41,2)
Epilepsi öyküsü	21/51 (%41,1)
Mikrosefali	21/51 (%41,1)
Gelişme geriliği (fiziksel/konuşma/dil/bilişsel/sosyal/duygusal becerilerden herhangi birinde gerilik)	35/51 (%68,6)
Zihinsel yetersizlik (5 yaş üzeri hastalarda)	21/29 (%72,4)
Boy kısalığı (<3 persentil)	14/51 (%27,4)
Ekokardiyografide anomali	18/27 (%66,6)
Manyetik rezonans görüntüleme anomali	16/29 (%55,1)
Korpus kallozum anomalisi	6/16 (%37,5)
Prematür doğum öyküsü (37. Doğum haftasından önce)	13/51 (%25,4)
Yenidoğan yoğun bakım (YYB) yatışı öyküsü	27/51 (%52,9)
YYB yatış öyküsü olan olgularda miad doğum oranı	15/27 (%55,5)
Kopya değişikliği sayısı	
Toplam (%)	56
Delesyon/Duplikasyon	39/17 (%69,6 / %30,3)
Bir başka yöntemle doğrulanma	
Toplam (%)	19
FISH ile doğrulanma	5/56 (%8,9)
Mikrosatellit analizi ile doğrulanma	1/56 (%1,7)
Klinik ekzom çalışılan hasta sayısı	15/51 (%29,4)
Mikroarray tetkikindeki anomalinin onaylanması	14/15 (%93,3)

4.2. OLGULARIN KLİNİK ÖZELLİKLERİ

Toplam 51 olgudan 21'i (%41,1) epilepsi öyküsüne sahipti. Olguların 21'inde (%41,1) mikrosefali mevcuttu. Olguların 35'inde (%68,6) bedensel, dil, bilişsel, sosyal ve duygusal becerilerden en az birinde gelişme geriliği mevcuttu. Tanı esnasında 5 yaş üzerindeki 29 hastadan 21'inde (%72,4) zihinsel yetersizlik bulunmaktaydı. Olguların 14'ünde (%27,4) boy kısalığı (<3 persentil) mevcuttu.

Olguların 29'una beyin MR görüntüleme yapılmıştı ve bunların 16'sında (%55,1) en az bir anomali mevcuttu. Bu 16 olgunun 6'sında (%37,5) korpus kallozum anomalisi gözlemlendi.

Olguların 13'ü (%25,4) prematür olarak doğmuştu. Toplam 27 olguda (%52,9) yenidoğan yoğun bakım yatışı öyküsü mevcuttu ve bu 27 hastanın 15'i (%55,5) miadında doğmuştu.

Olguların 6'sında 2 adet CNV olmak üzere toplam 56 adet CNV vardı. Bir olguda anöploidi bulunmaktaydı (Hasta 51). 39 adet delesyon (%69,6), 17 adet duplikasyon (%30,3) şeklinde CNV mevcuttu. Saptanan CNV'lerin 5'i FISH ile, 1'i mikrosatellit analizi ile doğrulanmıştı. Olguların 15'ine ekzom analizi yapılmış olup, biri hariç (%93,3) tüm hastalarda mikroarray tetkikinde saptanan CNV doğrulanmıştır. Olguların 33'üne (%64,7) kromozom analizi tetkiki de uygulanmıştı. 56 CNV'den 22 tanesinde (%39,2) 5 Mb'dan daha büyük bir CNV bulunmaktaydı. Bu 22 anomalinin 10 tanesi (%45,4) duplikasyon, 12 tanesi (%54,5) delesyondur. Olguların detaylı klinik ve dismorfik özellikleri Ek 4'de gösterilmiştir.

Toplam 51 hastanın 27 tanesine (%52,9) EKO yapılmıştı ve bunlardan 18 tanesinde (%66,6) en az bir anomali mevcuttu. Atriyal septal defekt (%15,6) ve ventriküler septal defekt (%5,8) en sık saptanan anomalilerdi. Hastalarda EKO sonucunda saptanan anomaliler Tablo 4'de belirtilmiştir.

Tablo 4: Ekokardiyografi sonucunda anomali bulunan olgular ve saptanan kardiyak anomaliler

Hasta no:	Anomali Bant Seviyesi	EKO sonucu
1	1p36.33p36.32 del	Dilate KMP, eser AY, PY, MY, TY
3	1p36.33p36.22 del	Kapatılmış PDA, PFO
6	1q43q44 del	Opere fallot, AY, VSD, BT, PA
9	2q37.1q37.3 del	sASD, PS, MY, septum paradoks
13	5q33.2q33.3 dup 8p23.3 del	Biküspit aorta, çıkan aorta dilatasyonu, sASD, eser AY
14	6q24.3q25.2 del	sASD, bilateral periferik PS
16	7p21.3p15.3 del	Sol ventrikül apexte belirgin görülen hafif hipertrofi+, atrioventriküler ve ventriküloatriyal konkordant bağlantı+
21	8q24.22q24.3 dup 13q34 del	ASD
23	9p24.3 dup	Hafif pulmoner valvüler darlık
25	9q34.3 del	Küçük sASD, eser AY, eser TY, eser PY
26	9q34.3 del	Eser TY
36	16p13.11 dup	Hipoplazik arkus aorta, küçük VSD
39	17q11.2 del	Biküspit aorta, eser TY, eser AY
42	18q22.1q23 del	Septal hipertrofi, ince PDA, sASD
43	22q11.1q11.21 dup	Geniş ASD/tek atrium, aberran seyirli sağ subklaviyan arter, çift VCS, PSSVC
44	22q11.21 dup	İnteratriyal septum ince ve RD ile geçiş yok
50	Xq22.2q25 dup	İnce PDA, PFO
51	Mozaik trizomi X	Küçük VSD, küçük ASD

4.3. OLGULARDA TESPİT EDİLEN SİTOGENETİK OLARAK GÖZLENEBİLEN KROMOZOMAL ANOMALİLER

Çalışmaya dahil edilen 51 olgudan 33'üne kromozom analizi yapılmıştı (%64,7), 16'sında (%31,3) kromozom anomalisine rastlandı. Hasta 43'te saptanan marker kromozomun, 1,4 Mb'lik duplikasyon alanı gözlenen 22. kromozoma ait bir parça olduğu düşünülmüştür, hasta 36'da ise mikroyarray analizinde saptanan anomaliden ayrı olarak X ve 10 kromozomları arasında de novo translokasyon saptanmıştır. Olgularda tespit edilen sitogenetik olarak gözlenebilen kromozomal anomaliler Tablo 5'de gösterilmiştir. Bahsi geçen hastalar tablo üzerinde işaretlenmiştir.

Tablo 5: Olgularda tespit edilen sitogenetik olarak gözlenebilen kromozomal anomaliler

No.	Mikroarray Sonucu	Kromozom Anomalisi	Ebeveyn Taraması
6	1q43q44(239116929_249240619)x1	46,XX,del(1)(q43)	Anne, baba kromozom normal
9	2q37.1q37.3(233956424_243041411)x1	46,XX,del(2)(q37)	-
12	4p16.3p15.31(2535647_19335464)x1	46,XY,del(4)(p15.2)	Anne-baba array normal
13	5q33.2q33.3(155031836_180696860)x3 8p23.3(170692_1860200)x1	46,XX,der(8)t(5;8)(q33.2p23)pat	Babanın karyotipi 46,XY,t(5;8)(q33.2p23)
14	6q24.3q25.2(145709371_153239528)x1	46 XY, del(6)(q24q25.3)	-
17	7p22.1(135873-6614841)x3	46, XY,add(17)(p13)	Anne-baba kromozom normal
21	8q24.22q24.3(132189471_146303934)x3 13q34(111156960_115109876)x1	46,XX,add(13)(q34)	Annenin karyotipi 46,XX,t(8;13)(q24.3;q34)
27	10q26.2q26.3(128254512_135524726)x1 8q24.13q24.3(125498159_146303934)x3	46,XY,add(10)(q26)	Babanın karyotipi 46,XY,t(8;10)(q24.1;q26.3), Annenin karyotipi normal
31	15q11.2(22759530_28540261)x3	47,XX,+mar	-
34	15q21.3q22.2(53481444_60998847)x1	46,XX,del(15)(q21.2-q22.2)	-
36	16p13.11(15125441_16248792)x3	46,XX,t(X;10)(q26;p24)dn	Babanın array sonucu normal, anne aynı duplikasyonu taşıyor.
40	18q11.2q12.2(24872623_34558037)x1	t(9;18)(p22;q11.2)dn	Anne-babanın kromozomu normal
41	18q21.2q22.1(53698691_61648577)x1 3p14.1(64396082_68275864)x1	46,XY,del(18)(q21.1q21.3)dn	Anne-baba array ve kromozom normal
42	18q22.1q23(65999779_78014582)x1 6p25.3p23(396321_13476347)x3	46,XY,der(18)add(18)(q22)del(18)(q22)dn	Anne-baba kromozom normal
43	22q11.1q11.21(17217247_18649861)x3	47,XY,+mar	Anne-baba kromozom normal
50	Xq22.2q25(103671556_126637850)x3	46,X,dup(X)(q26qter)?	Annenin array sonucu normal, babanın kromozomu normal

4.4. OLGULARDA TESPİT EDİLEN CNV'LERİN HAPLOYETMEZLİK ve TRIPLOSENSİTİVİTE AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Olguların CNV'leri Franklin Genoox platformu ile değerlendirildiğinde CNV tespit edilen 50 hastadaki toplam 56 değişiklikten 52 tanesi patojenik ve olasılıkla patojenik olarak gruplandırılmıştır. Klinik anlamı bilinmeyen (VUS) olarak sınıflandırılan 4 CNV Tablo 6'da belirtilmiştir.

Tablo 6: Franklin platformunda VUS olarak sınıflandırılan değişiklikler

Hasta no:	Mikroarray analizinde saptanan anomali	Bölgenin içerdiği monoalelik gen/ler	ClinGen pHaplo/pTriplo skoru	Analiz programının sınıflandırması (NxClinical)
19	7q33(132892556_134594831)x1	YOK	-	VUS
24	9q22.1q22.31(91563034_96816022)x3	ASPN, BICD2, ROR2, SPTLC1, SYK	Sırasıyla pTriplo:0,21, 0,97, 0,54, 0,11, 0,70	VUS
36	16p13.11(15125441_16248792)x3	ABCC1, ABCC6, MYH11	Sırasıyla pTriplo: 0,78, 0,55, 0,65	VUS
49	Xq21.31q22.1(90115280_102282355)x3	BTK, DIAPH2, GLA, PCDH19, TIMM8A genleri için taşıyıcı (XLR), HNRNPH2(XLD)	HNRNPH2 pTriplo skoru:yok	VUS

Olguların delesyon/duplikasyon bölgelerinde bulunan morbid, monoalelik olan genler, HI/TS skorları 1, 2, 3 olan (patojenitesine yönelik kanıt bulunan) genler ve genlerin tanımlandığı OMIM fenotipleri EK 5’de belirtilmiştir.

CNV’ler ayrıca, Riggs ve ark. (51) tarafından yayınlanan bildirideki puanlama metriklerine göre oluşturulmuş “ClinGen CNV Pathogenicity Calculator (CNVcalc)” tarafından puanlanmış ve patojenite açısından sınıflandırılmıştır. Bu sınıflandırma Tablo 7’de gösterilmiştir. CNVcalc’ın görüntüsü Şekil 4’de gösterilmiştir.

Şekil 4: CNVcalc’ın görüntüsü. Halka açık <https://cnvcalc.clinicalgenome.org/cnvcalc/cnv-loss> web sitesinden alınmıştır.

The screenshot displays the ClinGen CNV Pathogenicity Calculator interface. At the top, there is a blue header with the ClinGen logo and the title "ClinGen CNV Pathogenicity Calculator". Below the header, a sidebar on the left shows a "Variant of Uncertain Significance" with a "Total score: 0". The main content area is titled "CNV Interpretation Scoring Rubric: Copy Number LOSS". It includes a note about supplemental material and a table for scoring evidence. The table has columns for Evidence Type, Evidence, Suggested points, Max Score, and Points Given. The evidence is divided into two sections: Section 1 (Initial Assessment of Genomic Content) and Section 2 (Overlap with Established/Predicted HI or Established Benign Genes/Genomic Regions). Section 1 includes evidence 1A and 1B. Section 2 includes evidence 2A and 2B. The current score is 0, and the assigned points are 0.

Section 1: Initial Assessment of Genomic Content				
Evidence Type	Evidence	Suggested points	Max Score	Points Given
Copy number loss content (For intragenic variants, use section 2E)	☐ 1A. Contains protein-coding or other known functionally important elements	0 (Continue Evaluation)	0	
	☐ 1B. Does NOT contain protein-coding or any known functionally important elements	-0.60	-0.60	Assigned points: 0
Section 2 : Overlap with Established/Predicted HI or Established Benign Genes/Genomic Regions (Skip to Section 3 if your copy number loss DOES NOT overlap these types of genes/regions)				
	☐ 2A. Complete overlap of an established HI gene/genomic region	1	1	Assigned points: 0
	☐ 2B. Partial overlap of an established HI genomic region • The observed CNV does NOT contain the known causative gene or critical region for this established HI genomic region OR	0	0	

Tablo 7: ACMG ve ClinGen'in ortaklaşa yayınladığı bildirideki puanlama metrikleri dikkate alınarak olguların sınıflandırılması

Olgu no:	Varyantın bant aralığı	Genomik bölgenin ClinGen HI/TS skoru	CNVcalc skorunu oluşturan kısımlar	Total CNVcalc skoru	Varyant sınıflandırması
1	1p36.33p36.32 del	3	1A, 2A, 3C, 5G	2.05	Patojenik
2	1p36.33p36.32 del	3	1A, 2A, 3C, 5G	2.05	Patojenik
3	1p36.33p36.32 del	3	1A, 2A, 3C, 5A	2.35	Patojenik
4	1p36.33p36.32 del	3	1A, 2A, 3C, 5G	2.05	Patojenik
5	1q21.11q21.2 del	3	1A, 2A, 3B, 5F	1.45	Patojenik
6	1q43q44 del	3	1A, 2A, 3C, 5A	2.35	Patojenik
7	2p23.3p23.2 del	YOK	1A, 3C, 4C, 5F	1.05	Patojenik
8	2q13 del	2	1A, 3A, 4C, 4K, 4L, 5G	0.85	VUS
9	2q37.1q37.3 del	3	1A, 2A, 3C, 5F	1.9	Patojenik
10	3p21.2p14.3 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5F	1.9	Patojenik
11	3q13.2q13.31 del	YOK	1A, 3B, 4B, 5G	1.45	Patojenik
12	4p16.3p15.31 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5A	2.2	Patojenik
13	5q33.2q33.3 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 5A	0.9	Olasılıkla patojenik
	8p23.3 del	YOK	1A, 3A, 5A	0	VUS
14	6q24.3q25.2 del	YOK	1A, 2H, 3C, 4B, 5F	1.35	Patojenik
15	6q27 del	YOK	1A, 2A, 3A, 5G	1.15	Patojenik
16	7p21.3p15.3 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5A	2.2	Patojenik
17	7p22.1 dup	1	1A, 3C, 4B, 5A	1.8	Patojenik
18	2q13 hom.del	30 (OR)	1A, 2A, 3A, 5F	1	Patojenik
19	7q33 del	YOK	1A, 3A, 5F	0	VUS
20	8p11.21 del	YOK	1A, 2A, 3A, 5H	1.3	Patojenik

Tablo 7: Devam- ACMG ve ClinGen'in ortaklaşa yayınladığı bildirideki puanlama metrikleri dikkate alınarak olguların sınıflandırılması

Olgu no:	Varyantın bant seviyesi	Genomik bölgenin ClinGen HI/TS skoru	CNVcalc skorunu oluşturan kısımlar	Total CNVcalc skoru	Varyant sınıflandırması
21	8q24.22q24.3 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 4C, 5A	1.05	Patojenik
	13q34 del	YOK	1A, 3B, 4B, 5A	1.35	Patojenik
22	9p13.3p13.2 del	YOK	1A, 2H, 3C, 4C, 5G	2.05	Patojenik
23	9p24.3 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 5F	0.9	Olasılıkla patojenik
24	9q22.1q22.31 dup	YOK	1A, 3A, 4C, 5F	0.15	VUS
25	9q34.3 del	YOK	1A, 2A, 3A, 5G	1.15	Patojenik
26	9q34.3 del	YOK	1A, 2C-1, 3A, 4B, 5F	1.5	Patojenik
27	10q26.2q26.3 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5A	2.35	Patojenik
	8q24.13q24.3 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 5A	0.9	Olasılıkla patojenik
28	15q11.2 del	3	1A, 2A, 3A, 5G	1.1	Patojenik
29	15q11.2 del	3	1A, 2A, 3A, 5G	1.1	Patojenik
30	15q11.2q13.3 dup	3	1A, 2A, 3B, 5G	1.55	Patojenik
31	15q11.2 dup	3	1A, 2A, 3A, 5G	1.1	Patojenik
32	15q11.2 del	3	1A, 2A, 3A, 5C	0.85	VUS
33	15q13.1q13.3 del	3	1A, 2A, 3A, 5G	1.1	Patojenik
34	15q21.3q22.2 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5G	2	Patojenik
35	16p11.2 del	3	1A, 2A, 3B, 5G	1.55	Patojenik
36	16p13.11 dup	2	1A, 3A, 4M, 4N, 5C	-0.75	VUS
37	17p12 del	3	1A, 2A, 3A, 4A, 5A	1.9	Patojenik
38	17p12 del	3	1A, 2A, 3A, 4A, 5G	1.55	Patojenik
39	17q11.2 del	3	1A, 2A, 3A, 5G	1.1	Patojenik
40	18q11.2q12.2 del	YOK	1A, 2A, 3C, 5A	2.2	Patojenik
41	18q21.2q22.1 del	YOK	1A, 3C, 4B, 5A	1.5	Patojenik
	3p14.1 del	YOK	1A, 3A, 4C, 5A	0.3	VUS
42	18q22.1q23 del	YOK	1A, 3B, 5A	0.6	VUS
	6p25.3p23 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 5A	0.9	Olasılıkla patojenik

Tablo 7: Devam- ACMG ve ClinGen'in ortaklaşa yayınladığı bildirideki puanlama metrikleri dikkate alınarak olguların sınıflandırılması

Olgu no:	Varyantın bant seviyesi	Genomik bölgenin ClinGen HI/TS skoru	CNVcalc skorunu oluşturan kısımlar	Total CNVcalc skoru	Varyant sınıflandırması
43	22q11.1q11.21 dup	3	1A, 2A, 3A, 5A	1.45	Patojenik
44	22q11.21 dup	3	1A, 2A, 3A, 5F	1	Patojenik
45	22q11.21 dup	3	1A, 2A, 3B, 5F	1.45	Patojenik
	7q11.23 dup	3	1A, 2A, 3A, 5F	1	Patojenik
46	22q11.21q11.23 del	3	1A, 2A, 3C, 5G	2	Patojenik
47	Xp22.31 del	3	1A, 2A, 3A, 5F	1	Patojenik
48	Xp22.31 del	3	1A, 2A, 3A, 5F	1	Patojenik
49	Xq21.31q22.1 dup	YOK	1A, 2H, 3B, 5C	0.3	VUS
50	Xq22.2q25 dup	YOK	1A, 2H, 3C, 5A	1.05	Patojenik

Olguların 18'sine (%35,2) ebeveyn taraması yapılmış olup, bu gruptaki 11 olgunun (%61,1) anomalilerinin de novo olduğu belirlenmiştir. Olguların ebeveyn taraması sonuçları Tablo 8'de belirtilmiştir.

Tablo 8: Kalıtım paterni araştırılmış olan olgular

Hasta no:	Array sonucu	Boyutu	Kalıtım paterni hakkında
3	1p36.33p36.22(1756767_9394008)x1	7,6 Mb	De novo
6	1q43q44(239116929_249240619)x1	10 Mb	De novo
12	4p16.3p15.31(2535647_19335464)x1	16,9 Mb	De novo
13	5q33.2q33.3(155031836_180696860)x3 8p23.3(170692_1860200)x1	25,6 Mb 1,6 Mb	Babada 5 ve 8 translokasyonu
16	7p21.3p15.3(7446319_24105209)x1	16,6 Mb	De novo
17	7p22.1(135873-6614841)x3	6,4 Mb	De novo
21	8q24.22q24.3(132189471_146303934)x3 13q34(111156960_115109876)x1	14 Mb 4 Mb	Annede 8 ve 13 translokasyonu
24	9q22.1q22.31(91563034_96816022)x3	6,25 Mb	De novo

Tablo 8: Devam- Kalıtım paterni araştırılmış olan olgular

Hasta no:	Array sonucu	Boyutu	Kalıtım paterni hakkında
27	10q26.2q26.3(128254512_135524726)x1 8q24.13q24.3(125498159_146303934)x3	7,2 Mb 20,8 Mb	Babada 8 ve 10 translokasyonu
32	15q11.2(22766739_23279684)x1	512 kb	Babadan aktarılmış
36	16p13.11(15125441_16248792)x3	1,1 Mb	Anneden aktarılmış
37	17p12(14098277_15430857)x1	1.3 Mb	Babadan (Olgu 38) aktarılmış
40	18q11.2q12.2(24872623_34558037)x1	9,6 Mb	De novo
41	18q21.2q22.1(53698691_61648577)x1 3p14.1(64396082_68275864)x1	7,9 Mb 3,87 Mb	De novo
42	18q22.1q23(65999779_78014582)x1 6p25.3p23(396321_13476347)x3	12 Mb 13 Mb	De novo
43	22q11.1q11.21(17217247_18649861)x3	1,4 Mb	De novo
49	Xq21.31q22.1(90115280_102282355)x3	12,1 Mb	Anneden aktarılmış
50	Xq22.2q25(103671556_126637850)x3	22,9 Mb	De novo

Tablo 7’de görüldüğü üzere, olguların sahip olduğu CNV’lere patojenite sınıflaması yapıldığında 50 hastada saptanan toplam 56 CNV arasında (olgu 51’de anöploidi bulunması nedeniyle CNV sınıflamasına dahil edilmemiştir.) 43 patojenik (%76.7), 4 olasılıkla patojenik (%7.1), 9 VUS (%16) varyant bulunmaktaydı. Olgu bazında düşünüldüğünde CNV saptanan 50 hastadan 44’ü patojenik veya olasılıkla patojenik bir varyanta sahipti. Bunlardan 2’si taşıyıcı durumda kadın hastaydı. Böylece mikroarray testi çalışılmış toplam 279 olgudan 1’i anöploidi, 42’si CNV açısından toplam 43 hasta tanı almış ve çalışmamızdaki tanı oranı %15.4 olarak belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada mikroarray testi yapılmış 51 olgunun analiz sonuçları incelenmiştir. Bulgular, kopya sayısı değişikliklerinin içerdiği genleri, bu genlerin patojenite potansiyelini ve olgularda görülen klinik belirtilerle ilişkisini ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, CNV'lerin genetik hastalıkların tanısında ve yönetiminde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Çalışmamızda, olguların genel tanı oranı %15,4 olarak belirlenmiştir. Bu oran, mikroarray ile elde edilen %15-20 tanı oranlarına sahip diğer çalışmalarla benzerdir (7-9). Çalışmamızda varyantlara bir başka yöntemle doğrulama yapılamayacak olması ve SNP array tetkikinin güvenilirliğini sağlamak amacıyla, kalite skorları uygun olmayan (BAF quality vb.) ve 100 kb'dan küçük varyantı bulunan hastaların çalışmadan çıkarılmış olması tanı oranını bir miktar düşürmüştür.

Birçok çalışma doğumsal anomali, bilişsel yetersizlik gibi klinik durumlarda ilk tercih tetkik (*first-tier*) olarak mikroarray tetkikini önerse de (12, 24, 37), son yıllarda yapılan çalışmalarda ekzom sekanslamanın mikroarray yöntemine kıyasla tanıya daha fazla katkı sağladığı görüşleri artmaktadır (39, 40). Dong ve ark. (53) tarafından yayınlanan bir kohort çalışmasında, gelişimsel gerilik bulunan 1090 hasta CES (klinik ekzom sekanslama) ile incelenmiştir. Saptanan NGS datasından CANOES ve HMDelFinder isimli programlar yardımıyla CNV'ler tespit edilmiştir. Saptanan diagnostik tüm SNV'ler (*single nucleotide variant*) ve küçük indeller Sanger sekanslama ile, CNV'ler ise (<1Mb olanlar ve X kromozomu üzerinde bulunanlar) bir başka yöntemle (qPCR, MLPA vb.) doğrulanmıştır. Bu çalışmaya göre 1090 hastadan %41.38'ine tanı konulabilmiştir. Böylece geleneksel stratejilere kıyasla daha düşük maliyet ve daha yüksek tanı oranı ile CES temelli CNV ve SNV'lerin eşzamanlı analizi, gelişim bozukluklarını teşhis etmek için ilk basamak test olarak umut vadetmektedir (53). Bizim çalışmamızda hem mikroarray hem de klinik ekzom testi çalışılmış hastalar incelendiğinde, 15 olgudan yalnızca birinin kopya sayısı değişikliği klinik ekzomda gösterilememiştir (Olgü 1). Son yıllarda, NGS verilerinden Gizli Markov Modeli (HMM) adı verilen bir yaklaşımla CNV değişikliklerini saptayan yazılımlar sayesinde, hastada

hem dizi değişikliklerini hem de kopya sayısı değişikliklerini aynı tetkikle tespit etmek mümkün hale gelmiştir. Bu açıdan NGS datasındaki CNV'leri saptayan yazılımlarda sensitivite ve spesifiteyi artıracak iyileştirmelerin yapılması, hastalara daha hızlı tanı konması noktasında faydalı olabilir.

Çalışmamızda mikroyarray tetkiki yapılan 121 kadın ve 158 erkekten, sırasıyla 25 kadın ve 18 erkeğe tanı konmuştur (LP, P varyant). Ki-kare testi sonuçlarına göre, cinsiyetler arası tanı konma oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($\chi^2 = 3.83$, $p \approx 0.05$).

CNV bulunan 50 olgudan 20'sinde (%40) varyant bir başka yöntemle de gösterilebilmiştir (FISH, mikrosatellit analizi ve klinik ekzom tetkiki). Ayrıca olgulardan 18'sine (%35,2) ebeveyn taraması yapılmış ve bu gruptaki 11 olgunun (%61,1) anomalilerin de novo olduğu belirlenmiştir. Mikroyarray sonuçlarının doğrulanmasında genellikle MLPA, FISH, mikrosatellit analizi ve real-time PCR gibi yöntemler tercih edilir (46). Varyantın patojenitesine karar verirken ebeveyn dağılımının gösterilmesi büyük önem taşır. Çalışmamız, retrospektif bir inceleme olduğundan bu açıdan bazı eksiklikler barındırmaktadır.

Olgulardan 3'ünün sağlıklı ve görünüşte dengeli translokasyona sahip bir ebeveyni bulunmaktaydı (olgu 13, 21, 27). Bu olgulardaki varyantların patojenitesi atanırken, kılavuzda (51) bu tarz bir senaryoya uygun puanlama kategorisi olmadığı görüldü (Ek 3, bölüm 5). Olguların anomalileri, ebeveyndeki dengeli translokasyondan kaynaklansa da bu durum klasik aktarılmış bir varyant gibi değerlendirilemezdi. Bu nedenle yazar ile iletişime geçildi (51) ve bu varyantların de novo gibi kabul edilmeleri (5A) ancak bu bölümden '0' puan almalarına karar verildi, çünkü bu durumda kalıtım faktörü varyantın patojenitesi hakkında bir bilgi sağlamamaktaydı.

Olgular arasında en sık görülen 3 varyant şu şekildeydi: 1p36 delesyonu (n=4), 15q11.2 delesyonu (n=3) ve 22q11.2 duplikasyonu (n=3). Yine mikroyarray sonuçlarının değerlendirildiği tek merkezli bir başka çalışmada (54), en sık saptanan 5 anomali arasında bu 3 varyant da yer almaktaydı.

5.1. OLGULAR

Olgu 1-2-3-4: 1p36 delesyonu, yaklaşık 5000 doğumda bir görülen en yaygın terminal delesyon sendromudur ve tipik olarak olgularda mikrosefali, büyüme-gelişme geriliği, dismorfik yüz özellikleri, hipotoni, nöbet ve kardiyak anomaliler gözlenir. Olgularımızın 1p36 delesyon sendromunun klinik özellikleri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Bu sendromdan sorumlu bir gen belirlenmemiş olmakla birlikte, haplosensitiviteye dair kanıtlar bulunan GNB1, CAMTA1 ve CHD5 genlerinin klinik bulgulardan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Sırasıyla OMIM #139380, #611501, #610771).

Olgu 5: Sağ atrofik böbrek, boy kısalığı ve dismorfik özellikler ile yönlendirilen olguda 1q21.1-1q21.2 bölgesinde delesyon saptandı. Bölge, haployetmezlik gösterdiği kanıtlanmış ya da olgunun kliniğini açıklayacak bir gen içermemekteydi ancak; ClinGen Dosage Sensitivity Map'te genomik bölgenin haployetmezlik göstermesi ve gen içeriğinin yoğun olması nedeniyle patojenik olarak sınıflandırıldı (CNVcalc). Ayrıca DECIPHER'da bulunan ve daha küçük bir delesyon alanına sahip 314872 no'lu hasta da derin yerleşimli gözler, mikrosefali ve eklem laksitesi gibi olgumuzla benzer klinik özelliklere sahipti. Bu bölge, aynı zamanda distal 1q21.1 bölgesi (BP3-BP4) olarak da bilinir ve bu bölge için değişken ekspresivite ve eksik penetrans tanımlanmıştır (*ClinGen Dosage Sensitivity Map*).

Olgu 6: Nöbet, gelişim geriliği, mikrosefali, boy kısalığı, opere fallot tetralojisi nedeniyle yönlendirilen olguda de novo 1q43-1q44 bölgesinde delesyon tespit edildi. Delesyon bölgesinde yer alan ZBTB18 geninin tanımlanmış fenotipi (OMIM #612337 kısa boy, mikrosefali, belirgin alın, ince üst dudak, hipotoni ve nöbet) hasta ile uyumlu bulundu ve varyantın olgunun kliniğini açıkladığı düşünüldü. Genetik danışmanlık sırasında, yine genomik bölgede yer alan FH geninin, ileri yaşlarda herediter leiomyomatozis ve renal hücre kanserine neden olabilmesi ancak aynı zamanda inkomplet penetrans göstermesi nedeniyle dikkat edilmesi gerektiği açıklandı.

Olgu 7: Olguda hafif düzeyde öğrenme güçlüğü ve dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) bulunmaktaydı, yapılan FMR1 CGG tekrar sayısı normal ve idrarda

mukopolisakkarit testi negatifti. Mikroarray tetkikinde saptanan 2p23.3-2p23.2 delesyon bölgesi, olgunun kliniğini açıklayacak haployetmezliği doğrulanmış bir gen içermemektedir. Ancak bölgede bulunan DPYSL5 geni için, haployetmezliği işaret eden skorların (pLI:1, pHaplo:0.95) bulunduğu görülmüştür. Literatürde DPYSL5 geninin delesyonları ile ilgili kanıtlar sınırlıdır. Genellikle bu gene bağlı olduğu düşünülen klinik bulgular, literatürde LoF dizi varyantları ile ilişkilendirilmiştir (55). Hastanın klinik bulgularıyla uyum gösteren fenotipi nedeniyle (OMIM #619435) bu genin olgunun kliniğine katkıda bulunabileceği düşünüldü.

Olgu 8: Konuşmada gerilik, sağ taraf hemiplejisi nedeniyle takipli hastanın kromozom analizi, Frajil X tetkiki normaldi. EMG'sinde sonucun brakial pleksus lezyonu ile değil, üst motor nöron tutulumu/CP (serebral palsi) ile uyumlu olduğu belirtilmişti. Hasta 32. gebelik haftasında doğmuş ve 14 gün yenidoğan yoğun bakımında yatmıştı. MR'da saptanan sol ventriküldeki gliotik odakların, sağ hemiplejiye sebep olan sekele bağlı olduğu düşünüldü. Olguda bulunan 2q13 delesyonunda haployetmezliği kanıtlanmış bir gen bulunmamaktaydı ancak literatürde BCL2L11 genini de içeren bu bölgenin delesyonlarının nörogelişimsel gerilik ve dismorfik özelliklerle ilişkilendirildiğine dair yayınlar bulunmaktadır (56–58). Ayrıca bilişsel gerilik/gelişimsel gecikme vb. fenotiplere sahip çocuklarda bulunan kopya sayısı varyantlarının göreceli prevalansının kontrol grubuyla karşılaştırıldığı bir vaka-kontrol çalışmasında, 2q13 bölgesinin delesyonunun klinik popülasyonda zenginleştiği yani, bu bölge delesyonunun bu kliniklerden sorumlu olabileceği gösterilmiştir (59).

Olgu 9: Nöromotor gelişme geriliği, kardiyak anomali ve bilateral inguinal herni nedeniyle yönlendirilen hastanın Williams ve DiGeorge FISH sonuçları normaldi. Olguda saptanan bulgular, klinik açıdan önceden bildirilmiş 2q37 delesyonu vakalarıyla uyumlu özellikler göstermekteydi (OMIM #600430).

Olgu 10: Gelişim geriliği ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen olguda, 3p21.2-3p14.3 bölgesinde delesyon saptandı. Bölgede bulunan ve haployetmezliği kanıtlanmış BAP1 geninin neden olduğu nörogelişimsel gerilik, belirgin alın ve ayak

anomalileri (MIM 619762) gibi klinik özelliklerin hastamızla benzerlik gösterdiği gözlemlendi.

Olgu 11: Global gelişimsel gerilik ve makrosefali nedeniyle yönlendirilen olguda saptanan 3q13.2-3q13.31 delesyonu içerisinde haployetmezliği kanıtlanmış bir gen bulunmamaktaydı. DECIPHER’da bulunan ve kırık noktaları çok benzer olan 456346 numaralı olgunun hastamızla benzer bulgular (makrosefali, global gelişme geriliği vb.) gösterdiği görüldü. Literatürde ZBTB20 geninin bu CNV fenotipinden sorumlu gen olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (60).

Olgu 12: Epilepsi, gelişme geriliği, öfke nöbetleri ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen olguda de novo 4p16.3-4p15.31 bölgesinde delesyon saptandı. Delesyon bölgesi, Wolf-Hirschhorn sendromu ile ilişkilendirilen bölge ile (grch37:4:331,568-2,010,962- *ClinGen Dosage Sensitivity Map*) çakışmamaktadır ancak hastamız dismorfik olarak benzer yüz özellikleri taşımaktadır. Bölgede haployetmezlik gösterdiğine dair yeterli kanıt bulunan (HI skoru:3) MSX1 geni (OMIM #142983), normal ter bezi fonksiyonuna sahip diş, tırnak ve saç anomalilerinin bulunduğu ektodermal displaziler arasında nadir görülen bir sendrom olan Witkop sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Hastamızın ayrıca DECIPHER’da bulunan 398341 no’lu olgu ile öğrenme güçlüğü ve mikrognatı gibi özellikler açısından benzerlik taşıdığı görüldü. Olgunun takibi ve değişikliğin başka bir yöntemle doğrulanması planlandı.

Olgu 13: Büyüme-gelişme geriliği, mikrosefali ve dismorfik görünüm nedeniyle yönlendirilen olguda 8p23.3 delesyonu ve 5q33.2-5q33.3 bölgesinde duplikasyon saptandı. Literatürde bu delesyon ve duplikasyon bölgesine yönelik kanıtlar sınırlıydı. Ancak duplikasyon bölgesinde yer alan ve triplosensitivesi hakkında kanıtlar bulunan FBXW11 geninin oluşturduğu klinik (OMIM #605651), büyüme-gelişme geriliği, kısa boyun (*webbed neck*), üst üste binen ayak parmakları, simiyan çizgisi gibi olgumuzla benzer özellikler taşımaktaydı ancak bununla birlikte uyumsuz özellikler de vardı. Bu durum bu iki CNV’nin dual etkisiyle oluşmuş olabilir.

Olgu 14: Kutis laksa, bilateral inmemiş testis, periferik pulmoner stenoz, brakisefali ve dismorfik bulgularla yönlendirilen olguda 6q24.3-6q25.2 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Bölgede bulunan TAB2 geninin haployetmezlik gösterdiğine dair kanıtlar bulunmaktadır. Bu genin neden olduğu fenotipte (OMIM #614980) sol ventrikül çıkış yolu obstrüksiyonu gibi kardiyak anomaliler, esnek ve kadife cilt, geniş alın gibi olgumuzla benzer özellikler gözlenmiştir. Ayrıca bağ doku hastalığı şüphesiyle yönlendirilen bireylerin incelendiği bir kohort çalışmasında olgumuzla benzer kırık noktalarına sahip (hg18, chr6:146352899-153345216 → hg19, chr6: 146311206-153303523) bir olguda kutis laksa tanımlanmıştır (61).

Olgu 15: Gelişme geriliği, epilepsi ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen olguda saptanan 6q27 delesyonu, haplosensitivitesine dair kanıtlar bulunan DLL1 genini içermektedir. Genin OMIM #618709 girdisinde epilepsi, gelişme geriliği gibi hastamızla ortak bulgular tanımlanmış ve yüksek değişken bir fenotip gösterebileceği belirtilmiştir. Varyantın aile dağılımının görülmesi planlandı.

Olgu 16: Cerrahi müdahale gerektirecek kadar şiddetli makroglossi, ağır mental gerilik, brakisefali ile yönlendirilen 48 yaşındaki hastada saptanan de novo 7p21.3-7p15.3 bölgesindeki delesyon TWIST1 genini içermektedir (OMIM #601622). Bulgular literatürdeki vakalarla uyumluydu (62).

Olgu 17: Gelişme geriliği, yarık damak dudak ve hipospadias nedeniyle yönlendirilen olguda, de novo 7p22.1 duplikasyonu saptandı. Bu bölgede triplosensitivitesi kanıtlanmış bir gen bulunmamaktaydı. Literatürde bu bölgenin duplikasyonu ile ilgili yayınlarda gelişme geriliği ile birlikte çeşitli klinik özelliklerle tanımlanmış olgular bulunmaktadır (63,64).

Olgu 18: BFT bozukluğu nedeniyle incelenen ve böbrek biyopsisi tübülointerstisyel nefrit ile uyumlu bulunan, 1. derece kuzen evliliğinden doğan olguda 2q13 homozigot delesyonu saptandı. Juvenil nefronofitizis ve tigroid fundusun varlığı, bölgede bulunan NPHP1 geninde bi-allelilik fonksiyon kaybı sonucu gelişen 'Senior-Loken Sendromu' (MIM #266900) ile uyumlu bulundu.

Olgu 19: Mikrosefali, gelişme geriliği ve dismorfik görünüm nedeniyle yönlendirilen olguda 7q33 delesyonu saptandı. 7q bölgesindeki interstisyel CNV'ler nadir görüldüğünden, bu bölge iyi karakterize edilememiştir ve literatürdeki vakalar q33 segmentinden daha fazlasını etkileyen büyük delesyonlardan oluşmaktadır. Lopes ve ark. tarafından yayınlanan derlemede olgunun klinik ve dismorfik bulguları ile benzer hastalar tanımlanmıştır (65). Bu çalışmada, bilişsel yetersizlik fenotipi ile ilişkilendirilen ve olguda da silinmiş olan CALD1'in, sorumlu genlerden biri olabileceği öne sürülmüştür.

Olgu 20: Bilişsel gerilik, FMF tanısını düşündüren karın ağrıları ve hereditör sfersitoz bulgularıyla yönlendirilen olguda 8p11.21 delesyonu saptandı. Bu genomik bölge, haplosensitivitesine dair kanıtlar bulunan KAT6A geni içermektedir. Olgunun bilişsel gerilik sebebi, bu genin delesyonu ilişkili olabilir (OMIM #616268). Yine bölgede bulunan ANK1 geninin hereditör sfersitozdan sorumlu olduğu bilinmektedir. Benzer kırık noktalarına sahip bir olguda tanımlanan, hastamızla benzer bulgular da literatürde mevcuttur (66).

Olgu 21: Orta derecede bilişsel gerilik, nöbet, ataksik yürüyüş ve boy kısalığı nedeniyle yönlendirilen olguda 8q24.22-8q24.3 bölgesinde duplikasyon ve 13q34 bölgesinde delesyon saptandı. Bu bölgeler içerisinde haployetmezliği ya da triplosensitivitesi kanıtlanmış gen bulunmamaktaydı. Sagi-Dain ve ark. (67) tarafından yapılan bir vaka serisinde 13q33-q34 mikrolelesyonu bulunan 60 hasta incelenmiş ve bu mikrolelesyona sahip bireylerde nöbet, büyüme-gelişme geriliği, ataksik yürüme gibi hastamızla benzer özellikler saptanmıştır. Bu sendromdan sorumlu olarak ise olgumuzda da delesyona uğramış olan CHAMP1 geni gösterilmektedir (68). Bir başka yayında ise ağır bilişsel gerilik ve nöbeti bulunan olguda, 8q24.3 duplikasyon bölgesinde bulunan GRINA geni sorumlu tutulmuştur. Olgudaki ilaca dirençli epilepsi kliniği bu iki varyantın dual etkisi ile ortaya çıkmış olabilir.

Olgu 22: İnfantil spazm nedeniyle yönlendirilen olguda 9p13.3-9p13.2 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Bu bölgede haployetmezliği kanıtlanmış gen bulunmamaktadır, ancak bölgede bulunan PAX5 geninin haployetmezliği işaret eden skorları bulunmaktadır (pLI: 1, pHaplo: 0.97). Ayrıca Gofin ve ark. (69) tarafından yayınlanan vaka serisinde

PAX5 delesyonu taşıyan 12 farklı aileden 16 birey incelenmiş ve öğrenme güçlüğü, nöbet olgular arasında ortak bulgular arasında tanımlanmıştır.

Olgu 23: Sol elde parmak eksikliği, pulmoner valvüler darlık ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen 16 aylık olguda 9p24.3 duplikasyonu saptandı. Literatürde bu duplikasyona yönelik kanıtlar kısıtlıdır. Capkova ve ark. (70)'nın yayınladığı bir vaka serisinde bu duplikasyonun öğrenme güçlüğü, hiperaktivite, nöbet sebebi olabileceği, ancak bu duplikasyonun taşıyıcılarında, 15q11.2 ve 16p11.2 duplikasyon taşıyıcılarındaki gibi değişken ekspresivite ve eksik penetrans özellikleri gözlemlendiği belirtilmiştir. Olgunun bu açılardan takibi planlandı.

Olgu 24: Yarık damak-dudak, inmemiş testis, gömülü penis, mikrosefali ve dismorfik görünümle yönlendirilen olguda 9q22.1-9q22.31 bölgesinde de novo duplikasyon saptandı. Bu bölge duplikasyonuna yönelik kanıtlar kısıtlıdır. Literatürde Urtekin ve ark. (71) yayınladığı bir vaka sunumunda bu duplikasyon bölgesine sahip bir olguda mikrosefali, belirgin alın, hipertelorizm, kısa filtrum, düşük ve öne dönük kulaklar gibi hastamızla benzer dismorfik özellikler gözlenmiştir.

Olgu 25-26: Olgu 25 epilepsi, mikrosefali, kaba yüz, obezite, motor ve zihinsel gelişim geriliği ile yönlendirildi ve 9q34.3'te EHMT1 geninin tamamını kapsayan 974 kb'lik delesyon saptandı. Olgu 26 ise dismorfik özellikler ve AGTE (Ankara Gelişim Tarama Envanteri) testinde konuşma becerilerinde gerilik saptanması nedeniyle yönlendirildi. Dikoryonik ikiz eşi sağlıklıydı. Yapılan mikroarray tetkikinde, 9q34.3'te EHMT1 geninin ilk 25 ekzonunun silindiği 338 kb'lik delesyon saptandı. EHMT1 geninin haployetmezliği ile oluşan Kleefstra sendromunda, obezite, mikrosefali, kaba yüz, öğrenme ve gelişme geriliği, nöbet ve davranış problemleri gözlenir (OMIM #610253). Olgu 25'in klinik açıdan daha ağır bulgulara sahip olmasında, daha büyük bir delesyon bölgesine sahip olması etkili olabilir. Olgu 26'nın kliniğindeki hafifletici unsurun ise hala fonksiyon gören defektif protein sentezi olup olmadığının gösterilmesi için, NMD (*nonsense-mediated mRNA decay*) olasılığı RT-PCR kullanarak araştırılabilir. Böylelikle, delesyonun fonksiyonel etkileri daha net anlaşılabilir. Saptanan CNV'lerin bir başka yöntemle doğrulanması planlandı.

Olgu 27: Nöbet, yetersiz virilizasyon, boy kısalığı ve dismorfik bulgular ile yönlendirilen olguda 10q26.2-10q26.3 bölgesinde delesyon ve 8q24.13-8q24.3 bölgesinde duplikasyon saptandı. Delesyon bölgesinde bulunan ve ClinGen haployetmezlik skoru 3 olan EBF3 geninin fonksiyon kaybında mikrosefali, ambigu genitalya, kısa boy, üçgen yüz, derin yerleşimli gözler, ince üst dudak, aşağı dönük ağız köşeleri gibi olgumuzla da benzerlik gösteren bir fenotip bildirilmiştir (OMIM #617330). Oldukça fazla protein kodlayan gen içeren 8q duplikasyonu da patojenik olarak sınıflandırılmıştır (CNVcalc:0.9), ancak literatürde bu bölge duplikasyonuna dair kanıtlar sınırlıdır.

Olgu 28-29-32: Olgu 28, kısa boy ve infantil spazm, korpus kallozum anomalisi nedeniyle yönlendirilmiş olup, olgunun dış merkezde yapılmış olan kromozom ve klinik ekzom analizi normaldi. Olgu 29’da, kısa boy, epilepsi, gelişme geriliği, korpus kallozum anomalisi ve yarı damak bulunmaktaydı. Olgu 32’de ise ataksik yürüyüş, hipotoni, gelişme geriliği, makrosefali ve kaba yüz bulunmaktaydı ve yapılan klinik ekzom analizinde MAN1B1 geninde homozigot c.1000C>T (p.Arg334Cys) varyantı saptandı. Olgularda ayrıca mikroyarray analizi sonucunda 15q11.2 bölgesinde sırasıyla 957 kb, 520 kb, 512 kb boyutlarında delesyon bulunmaktaydı. Cox ve ark. (72) tarafından yayınlanan bir derlemede, TUBGCP5, CYFIP, NIPA1 ve NIPA2 genlerini içeren BP1-BP2 bölgesindeki mikrodelesyon sonucunda, olgularımızdakine benzer şekilde gelişim ve öğrenme geriliği, ataksi, epilepsi, beyin MR anomalileri, boy kısalığı, palatal anomaliler görülebileceği bildirilmiştir. 15q11.2 BP1–BP2 bölgesindeki genomik dengesizliklerin, duplikasyonlar dahil, belirgin bir eksik penetrans ve değişken ekspresivite gösterdiği belirtilmiştir. Olgu 32’de saptanan dizi varyantı ACMG kriterlerine göre “patojenik” olarak sınıflandırılmaktadır (PP3, PP5, PM5, PM2). MAN1B1 geni otozomal resesif kalıtılan “Rafiq sendromu” ilişkilendirilmektedir (OMIM #614202). Olgu 32’de MAN1B1 geninde tespit edilen patojenik varyantın yanı sıra, 15q11.2 bölgesindeki delesyonunun da kliniğe katkıda bulunmuş olabileceği düşünüldü ve varyantların aile dağılımının görülmesi planlandı.

Olgu 30-31: Olgu 30, gelişimsel gerilik, korpus kallozum anomalisi ve epilepsi kliniği ile 19 yaşında, olgu 31 ise infantil spazm ve hipotoni ile 2,5 yaşında tarafımıza yönlendirildi. Olgularda 15q11.2’ de boyutları sırasıyla 10 Mb ve 5,9 Mb’lık duplikasyon alanı saptandı. Literatürde 15q11.2 duplikasyonları ile OSB ve epilepsiyi ilişkilendiren yayınlar bulunmakla birlikte (73), bu bölge genomik dengesizlikleri eksik penetrans ve değişken ekspresivite gösterebilir (72), ayrıca duplikasyonun maternal veya paternal aktarılmasına göre olgularda farklı bulgular gözlemlendiği bildirilmiştir (74).

Olgu 33: İlaçlara dirençli epilepsi ve gelişme geriliği nedeniyle yönlendirilen olguda mikroarray analizi sonucunda 15q13.1-15q13.3 bölgesinde duplikasyon ile birlikte klinik ekzom analizinde NACC1 geninde heterozigot c.914_922del (p.Thr305_Tyr307del) varyantı saptandı. 15q13.3 duplikasyonu bulunan olgularda nöbet ve gelişme geriliği gibi bulgular bildirilmiş olsa da (75), bu bölge duplikasyonlarının eksik penetrans ve değişken ekspresivite gösterebileceği (76) unutulmamalıdır. Klinik ekzomda saptanan varyant, gnomAD’de bulunmaması ve genomda korunmuş bir bölgede bulunması (phyloP100: 8.976) nedeniyle VUS olarak sınıflandırılmıştır. Doğru bir genetik danışmanlık verebilmek adına bu varyantların aile içindeki dağılımının görülmesi önem arz etmektedir.

Olgu 34: Konuşma geriliği ve dismorfik bulgular nedeniyle yönlendirilmiş olguda 15q21.3-15q22.2 bölgesinde delesyon saptandı. Bölgede yer alan ve haployetmezlik gösterdiği kanıtlanmış (*ClinGen HI skoru: 3*) TCF12 geninin fonksiyon kaybında öğrenme geriliğinin yanı sıra çeşitli dismorfik özellikler ve kraniyosinostoz bildirilmiştir. Olgunun bu açılardan tekrar değerlendirilmesi planlandı.

Olgu 35: Epilepsi ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen olguda 16p11.2 delesyonu saptandı. Bölgede bulunan ve haployetmezlik gösterdiği kanıtlanmış olan PRRT2 geni, epilepsiler ile ilişkilendirilmiştir (OMIM #614386). Ayrıca literatürde öğrenme güçlüğü, gelişme geriliği ve kardiyak anomalilerle de ilişkilendirilmiş olan 16p11.2 rekürrent delesyon sendromunun inkomplet penetrans gösterdiği bildirilmiştir (77,78).

Olgu 36: Hipoplazik arkus aorta, VSD ve hafif dismorfik özelliklerle yönlendirilmiş olguda DiGeorge FISH negatifti. Mikroarray tetkikinde maternal kalıtmı 16p13.11 duplikasyonu saptandı. Bu duplikasyonun, literatürde gelişimsel ve bilişsel gerilik, OSB ve çeşitli kardiyak anomalilerle ilişkilendirildiği, genellikle etkilenmemiş bir ebeveynden kalıtıldığı ve inkomplet penetrans gösterdiği bildirilmiştir (79, 80).

Olgu 37-38: Sol el parmak hareketlerinde kısıtlılık ve sol ulnar alanda hipostezi şikayetleri sebebiyle ulnar nöropati ön tanısı ile yönlendirilen olgu 38’de 17p12 bölgesinde PMP22 genini de kapsayan 1,3 Mb’lık delesyon saptanmış ve ekstremitelerinde uyuşma bulunan çocuğunda da (olgu 37) bu değişiklik mikrosatellit analizi ile doğrulanmıştır. Bu bölgenin delesyonu basınca duyarlı hereditör nöropati ile ilişkilidir. Bu hastalıkta, bası veya minör travma ile ortaya çıkan, tekrarlayıcı ve geri dönüşümlü his ve kuvvet kaybı görülebilir. (81).

Olgu 39: Sağ taraf santral fasiyal paralizi, gelişme geriliği, biküspit aorta, café o’la lekeleri ve beyin MR’ında hamartamöz lezyonlar ile değerlendirilen olguda 17q11.2 bölgesinde NF1 genini de içeren 1,4 Mb boyutunda delesyon saptanmıştır. Hastamızın bulguları literatürde tanımlanmış olgularla uyumludur (82), olgunun fasiyal paralizisinin beyindeki hamartamatöz lezyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Olgunun takibi planlanmıştır.

Olgu 40: Hafif öğrenme güçlüğü, dismorfik bulgular, duygu kontrol ve kaygı bozukluğu ile yönlendirilen olguda 18q11.2-18q12.2 bölgesinde de novo delesyon saptanmıştır. Bölgede bulunan ASXL3 geni, orta-ağır öğrenme güçlüğü, gelişme geriliği, mikrosefali ve nöbet gibi olgumuzdan daha ağır bulgularla bildirilmiştir (OMIM #615485). Ancak, literatürde ASXL3 varyantı taşıyan ebeveynlerinin, olgulardan daha hafif bulgular gösterdiği aileler de tanımlanmıştır (83).

Olgu 41: Konuşmada gerilik ve dismorfik bulgular ile yönlendirilen olguda de novo 18q21.2-18q22.1 ve 3p14.1 bölgesinde delesyon saptanmıştır. DECIPHER’da bulunan ve olgumuzdaki 18q delesyonundan daha küçük bir delesyona sahip olan 264313 no’lu olguda öğrenme güçlüğü tanımlanmıştır. Okumura ve ark. (84) otistik özellikler ve

dismorfik yüz bulguları gösteren 3p14.1 delesyonlu tek yumurta ikizlerini tanımlamış ve bu klinikten hastamızda da delete durumunda olan PRICKLE2 genini sorumlu tutmuştur. Bu iki delesyonun klinikte dual bir etkisi olabilir.

Olgu 42: Goldenhar sendromu ön tanısıyla yönlendirilen olguda de novo 18q22.1-18q23 bölgesinde delesyon ve 6p25.3-6p23 bölgesinde duplikasyon saptandı. Literatürde bu değişiklikler ile ilgili kanıtlar sınırlıdır. Perry ve ark. (85) tarafından yayınlanan ve 18q delesyonuna sahip 113 olgunun otolojik özelliklerinin incelendiği bir kohortta 18q'nun işitme ve kulak anomalileri yönünden kritik bir bölge olduğu, olguların %66'sında kulak anomalileri, %18'inde yarık damak görüldüğü bildirilmiştir. Ayrıca bu 113 olgudan ikisinin Goldenhar sendromu ön tanısıyla yönlendirildiği belirtilmiştir.

Olgu 43: VACTERL sendromu ön tanısıyla yönlendirilen olguda de novo 22q11.1-22q11.21 duplikasyonu saptandı. Olgunun kırık noktaları ve bulguları Cat-Eye sendromu ile uymaktaydı (86).

Olgu 44: Yürüme bozukluğu, gelişme geriliği ve dismorfik bulgular ile yönlendirilen olguda 22q11.2 duplikasyonu saptandı. Olgu 44'deki kırık noktalarına uyduğu görülen 22q11.2 proksimal (A-D) bölgesinin duplikasyonu, klinik fenotip açısından oldukça değişken bir tablo ile ilişkilidir ve belirgin bir anomali göstermeyen bireylerden geniş bir yelpazede klinik özellikler sergileyen bireylere kadar değişkenlik gösterebilir. Bu özellikler arasında öğrenme güçlüğü, OSB, psikiyatrik bozukluklar, büyüme geriliği, hipotoni ve DGS/VCFS klinik bulgularıyla örtüşen fenotipler yer alır. 22q11.2 duplikasyonları sıklıkla kalıtsaldır ve eksik penetrans gözlenmiştir (87).

Olgu 45: İnkomplet yarık damak, mikrognati, hidrocefali ve dismorfik bulgularla yönlendirilen olguda 22q11.21 ve 7q11.23 duplikasyonu görüldü. Her iki duplikasyonda da olguda bulunan özellikler bildirilmiştir (87,88). Bu iki duplikasyonun klinikte dual bir etkisi olabilir.

Olgu 46: Konuşmada gerilik, epilepsi ve dismorfik özellikler nedeniyle yönlendirilen olguda 22q11.21-22q11.23 bölgesinde delesyon saptandı. Delete olan bölge, 22q distal tip III (D-G/H) bölgesine uymaktaydı. Bu bölgede bulunan SMARCB1 geni

haployetmezliği kanıtlanmış bir gen olup, Coffin Siris sendromuna yol açmaktadır. Bu bölge delesyonları, olgumuzla benzer şekilde gelişimsel gerilik, epilepsi dışında kardiyak anomaliler, işitme kaybı ve erken yaşta agresif seyreden rabdoid tümörlerle ilişkilendirilmiştir (89). Olgumuzun bu açılardan takibi planlandı.

Olgu 47-48: Olgu 47, motor gerilik, öğrenme güçlüğü, mikrosefali, boy kısalığı ile olgu 48 ise obezite, öğrenme güçlüğü ve dismorfik bulgularla yönlendirildi. Olgularda kırık noktaları nerdeyse aynı olan Xp22.31 delesyonu saptandı. Bu delesyon STS genini içerir, bu gen X'e bağı resesif iktiyozis ile ilişkilendirilir ve erkeklerde ya da 45,X dişilerde tanımlanmıştır. Esplin ve ark. (90) yayınladıkları olgu serisinde, hastamız ile benzer kırık noktalarına sahip ve öğrenme güçlüğü, OSB, nöbet ile bildirilmiş vakalar tanımlamış ve X inaktivasyonunun bu duplikasyonun fenotipik ifadesinde önemli bir rolü olabileceğini belirtmiştir.

Olgu 49-50: Her iki olgu da öğrenme geriliğı ve kısa boy nedeniyle yönlendirildi, olgu 49'da maternal kalıtılmış Xq21.3-Xq22.1 duplikasyonu, olgu 50'de ise kalıtımı bilinmeyen Xq22.2-Xq25 duplikasyonu saptandı. Bu iki duplikasyon için literatürdeki kanıtlar sınırlıdır. Hastaların tekrar çağrılıp detaylı anamnez- fizik muayene ardından dizi mutasyonları açısından da değerlendirilmeleri planlandı.

Olgu 51: Epilepsi, öğrenme güçlüğü, boy kısalığı ve dismorfik bulgular ile yönlendirilen olguda mozaik trizomi X (%75-80) saptandı. Literatürde mozaik trizomi X epilepsi, öğrenme güçlüğü bildirilmişse de kısa boy ile trizomi X birlikteliğı nadirdir (91). Boy kısalığı; endokrin nedenler, aile faktörü, beslenme gibi oldukça etiyolojik çeşitlilik göstermektedir. Ancak yine de CEP X (*chromosome enumeration probes*) FISH yapılarak mozaik 45,X/47,XXX olasılığının dışlanması planlandı.

6. SONUÇ

Tek merkeze mikroarray tetkiki için yönlendirilen toplam 279 olgunun değerlendirildiği çalışmamızda toplam 43 hastaya (1'i anöploidi, 42'si CNV) tanı konulmuş ve tanı oranı %15.4 olarak tespit edilmiştir. Bu oran literatürle uyumlu olup, çalışmamızdaki mikroarray analiz sonuçları CNV'lerin genetik hastalıkların tanısı ve yönetiminde önemli bir rol oynadığını bir kez daha vurgulamıştır.

Çalışmamız sırasında, olgulardaki del/dup bölgelerinde yer alan genler haployetmezlik ve triplosensitivite açısından incelenmiş ve olguların klinik bulguları, bu genlerin yol açtığı fenotipik bulgularla kıyaslanmıştır. Olguların büyük bir kısmında, klinik özellikler ile literatürde bildirilmiş fenotipler büyük ölçüde örtüşmüştür. Bazı hastalar için ise ileride klinik belirti verebilecek durumlar açısından takip planlanmıştır (Olgu 6 ve 46). Ayrıca, çalışma sırasında çok sayıda olguda saptanan oldukça nadir bildirilmiş değişiklikler irdelenerek literatüre katkı sağlanmıştır.

Mikroarray analizi sırasında ACMG ve ClinGen'in ortaklaşa yayınladığı puanlama metrikleri uygulanarak tüm varyantlar aldıkları total skora göre sınıflandırılmıştır. Kullanılan analiz programları (örn; NxClinical) veya platformları (Franklin, Varsome vb.) CNV varyantları için kendi algoritmalarını kullanarak sınıflama yapsalar bile, skorlama sırasında kullanılacak aile dağılımı ve literatür taraması gibi patojenitenin yönünü değiştirebilecek bilgilerde eksiklikler bulunabilmektedir. Bu açıdan skorlama sırasında kolaylık sağlayabilecek CNVcalc isimli araç da bu tez kapsamında incelenmiştir.

Her ne kadar tanı oranımız literatürle uyumlu ise ve birçok genetik merkez tarafından gelişimsel gerilik bulunan hastalarda ilk basamak tetkik olarak mikroarray kabul edilmekte ise de bu tetkikin SNV'leri, küçük indelleri vb. saptayamadığı bir gerçektir. Son çalışmalarda, NGS verilerinden CNV'leri tespit edebilen yazılımların, tanı süresini kısaltmada ve maliyetleri azaltmada etkili olduğu savunulmaktadır. Bizim çalışmamızda hem klinik ekzom hem de mikroarray tetkiki yapılan 15 olgunun 14'ünde anlamlı CNV değişikliği klinik ekzomda da gösterilebilmişti. Bu açıdan genetik merkezler CNV *calling* yapabilen açık kaynaklı yazılımlar (CoNIFER, CANOES, ExomeDepth, XHMM, CNVnator vb.) kullanabilir ve gerekirse iki farklı yazılımın CNV sonuçlarını

karşılaştırabilirler. Bu yazılımların bazıları CES, bazıları ise WES veya WGS verileri için geliştirilmiştir. Ancak, çoğu açık kaynaklı yazılım, grafiksel kullanıcı arayüzü sunmayan, komut satırı (command line) tabanlı araçlardır; bu da biyoinformatik ve programlama bilgisi sınırlı olan kullanıcılar için kullanımı zorlaştırır. İkinci bir seçenek ise Sophia Genetics (SOPHiA DDM) ve Illumina (BlueFuse) gibi şirketlerin sunduğu ticari araçlardır; ancak bu da maliyeti artıran bir faktör olacaktır. Bu açıdan “NGS datası ile *CNV calling*” yönteminin yaygınlaşması ve bu yazılımlarda sensitivite ve spesifiteyi artıracak iyileştirmelerin yapılmasının hastalara daha hızlı tanı konması noktasında faydalı olabileceği kanısındayız.

Her genetik tetkik, kendine özgü avantajlar ve sınırlamalar barındırır ve günümüzde “*mükemmel*” bir genetik tetkik bulunmamaktadır, bu da her bir testin, doğru tanıya ulaşmada nasıl kullanılacağını dikkatle değerlendirmeyi gerektirir. Yapılan çalışmalar ve teknolojik ilerlemeler sayesinde, bu tetkiklerin doğruluğunu artırmak ve sınırlamalarını en aza indirmek için sürekli yeni yöntemler geliştirilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Kanavakis, E., & Xaidara, A. (2001). The human genome project. *Arch Hell Med*, 18.
2. Nowakowska B. (2017). Clinical interpretation of copy number variants in the human genome. *Journal of applied genetics*, 58(4), 449–457.
3. McCarroll, S. A., Kuruvilla, F. G., Korn, J. M., Cawley, S., Nemesh, J., Wysoker, et al. (2008). Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. *Nature genetics*, 40(10), 1166–1174.
4. Iafrate, A. J., Feuk, L., Rivera, M. N., Listewnik, M. L., Donahoe, P. K., Qi, Y., et al. (2004). Detection of large-scale variation in the human genome. *Nature genetics*, 36(9), 949–951.
5. Nussbaum R, McInnes R, Willard H. Thompson & Thompson Genetics in medicine. *Journal of Kathmandu Medical College* [Internet]. 2016; 512.
6. Oneda, B., Baldinger, R., Reissmann, R., Reshetnikova, I., Krejci, P., Masood, R., et al. (2014). High-resolution chromosomal microarrays in prenatal diagnosis significantly increase diagnostic power. *Prenatal diagnosis*, 34(6), 525–533.
7. Kurian M. A. (2012). The clinical utility of chromosomal microarray in childhood neurological disorders. *Developmental medicine and child neurology*, 54(7), 582–583.
8. Hochstenbach, R., Buizer-Voskamp, J. E., Vorstman, J. A., & Ophoff, R. A. (2011). Genome arrays for the detection of copy number variations in idiopathic mental retardation, idiopathic generalized epilepsy and neuropsychiatric disorders: lessons for diagnostic workflow and research. *Cytogenetic and genome research*, 135(3-4), 174–202.
9. Mefford, H. C., Yendle, S. C., Hsu, C., Cook, J., Geraghty, E., McMahon, J. M., et al. (2011). Rare copy number variants are an important cause of epileptic encephalopathies. *Annals of neurology*, 70(6), 974–985.
10. Figura, M., Geremek, M., Milanowski, Ł. M., Meisner-Kramarz, I., Duszyńska-Wąs, K., Szlufik, S., et al. (2021). Movement disorders associated with chromosomal aberrations diagnosed in adult patients. *Neurologia i neurochirurgia polska*, 55(3), 300–305.

11. Chen, C. H., Cheng, M. C., Hu, T. M., & Ping, L. Y. (2021). Chromosomal Microarray Analysis as First-Tier Genetic Test for Schizophrenia. *Frontiers in genetics*, 12, 620496.
12. Vermeesch, J. R., Fiegler, H., de Leeuw, N., Szuhai, K., Schoumans, J., Ciccone, R., et al. (2007). Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *European journal of human genetics : EJHG*, 15(11), 1105–1114.
13. Sellner, L. N., & Taylor, G. R. (2004). MLPA and MAPH: new techniques for detection of gene deletions. *Human mutation*, 23(5), 413–419.
14. Speicher, M. R., & Carter, N. P. (2005). The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nature reviews. Genetics*, 6(10), 782–792.
15. Schena, M., Shalon, D., Davis, R. W., & Brown, P. O. (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science (New York, N.Y.)*, 270(5235), 467–470.
16. Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education*. 2008;1(1):45.
17. Levy, B., & Burnside, R. D. (2019). Are all chromosome microarrays the same? What clinicians need to know. *Prenatal diagnosis*, 39(3), 157–164.
18. Napoli, C., Lerman, L. O., Sica, V., Lerman, A., Tajana, G., & de Nigris, F. (2003). Microarray analysis: a novel research tool for cardiovascular scientists and physicians. *Heart (British Cardiac Society)*, 89(6), 597–604.
19. Lee, C., & Scherer, S. W. (2010). The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert reviews in molecular medicine*, 12, e8.
20. Pös, O., Radvanszky, J., Buglyó, G., Pös, Z., Rusnakova, D., Nagy, B., et al. (2021). DNA copy number variation: Main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects. *Biomedical journal*, 44(5), 548–559.
21. Burssed, B., Zamariolli, M., Bellucco, F. T., & Melaragno, M. I. (2022). Mechanisms of structural chromosomal rearrangement formation. *Molecular cytogenetics*, 15(1), 23.
22. Piazza, A., & Heyer, W. D. (2019). Homologous Recombination and the Formation of Complex Genomic Rearrangements. *Trends in cell biology*, 29(2), 135–149.
23. Hastings, P. J., Lupski, J. R., Rosenberg, S. M., & Ira, G. (2009). Mechanisms of change in gene copy number. *Nature reviews. Genetics*, 10(8), 551–564.

24. Wong, A., Lese Martin, C., Heretis, K., Ruffalo, T., Wilber, K., King, W., et al. (2005). Detection and calibration of microdeletions and microduplications by array-based comparative genomic hybridization and its applicability to clinical genetic testing. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 7(4), 264–271.
25. Stankiewicz, P., & Lupski, J. R. (2002). Molecular-evolutionary mechanisms for genomic disorders. *Current opinion in genetics & development*, 12(3), 312–319.
26. Shaw, C. J., & Lupski, J. R. (2004). Implications of human genome architecture for rearrangement-based disorders: the genomic basis of disease. *Human molecular genetics*, 13 Spec No 1, R57–R64.
27. Chen, L., Zhou, W., Zhang, L., & Zhang, F. (2014). Genome architecture and its roles in human copy number variation. *Genomics & informatics*, 12(4), 136–144.
28. Sebat, J., Lakshmi, B., Troge, J., Alexander, J., Young, J., Lundin, P., et al. (2004). Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science (New York, N.Y.)*, 305(5683), 525–528.
29. Escaramís, G., Docampo, E., & Rabionet, R. (2015). A decade of structural variants: description, history and methods to detect structural variation. *Briefings in functional genomics*, 14(5), 305–314.
30. Lee, J. H., & Jeon, J. T. (2009). Methods to detect and analyze copy number variations at the genome-wide and locus-specific levels. *Cytogenetic and genome research*, 123(1-4), 333-342.
31. Tan, R., Wang, Y., Kleinstein, S. E., Liu, Y., Zhu, X., Guo, H., et al. (2014). An evaluation of copy number variation detection tools from whole-exome sequencing data. *Human mutation*, 35(7), 899–907.
32. Ceulemans, S., van der Ven, K., & Del-Favero, J. (2012). Targeted screening and validation of copy number variations. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 838, 311–328.
33. Hawkins, S. F. C., & Guest, P. C. (2017). Multiplex Analyses Using Real-Time Quantitative PCR. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1546, 125–133.
34. Hömig-Hölzel, C., & Savola, S. (2012). Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in tumor diagnostics and prognostics. *Diagnostic molecular pathology : the American journal of surgical pathology, part B*, 21(4), 189–206.

35. Albertson, D. G., & Pinkel, D. (2003). Genomic microarrays in human genetic disease and cancer. *Human molecular genetics*, 12 Spec No 2, R145–R152.
36. Vissers, L. E., de Vries, B. B., Osoegawa, K., Janssen, I. M., Feuth, T., Choy, C. O., et al. (2003). Array-based comparative genomic hybridization for the genomewide detection of submicroscopic chromosomal abnormalities. *American journal of human genetics*, 73(6), 1261–1270.
37. Manning, M., Hudgins, L., & Professional Practice and Guidelines Committee (2010). Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 12(11), 742–745.
38. Lee, C. L., Lee, C. H., Chuang, C. K., Chiu, H. C., Chen, Y. J., Chou, C. L., et al. (2019). Array-CGH increased the diagnostic rate of developmental delay or intellectual disability in Taiwan. *Pediatrics and neonatology*, 60(4), 453–460.
39. Srivastava, S., Love-Nichols, J. A., Dies, K. A., Ledbetter, D. H., Martin, C. L., Chung, W. K., et al. (2019). Meta-analysis and multidisciplinary consensus statement: exome sequencing is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with neurodevelopmental disorders. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, 21(11), 2413–2421.
40. Gonzalez-Mantilla, P. J., Hu, Y., Myers, S. M., Finucane, B. M., Ledbetter, D. H., Martin, C. L., et al. (2023). Diagnostic Yield of Exome Sequencing in Cerebral Palsy and Implications for Genetic Testing Guidelines: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA pediatrics*, 177(5), 472–478.
41. Hillman, S. C., McMullan, D. J., Hall, G., Togneri, F. S., James, N., Maher, E. J., et al. (2013). Use of prenatal chromosomal microarray: prospective cohort study and systematic review and meta-analysis. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 41(6), 610–620.
42. ACMG Updates Chromosomal Microarray Analysis Guidelines. (2022). *American journal of medical genetics. Part A*, 188(2), 392–393.
43. Canales, C. P., & Walz, K. (2011). Copy number variation and susceptibility to complex traits. *EMBO molecular medicine*, 3(1), 1–4.
44. Gonzalez, E., Kulkarni, H., Bolivar, H., Mangano, A., Sanchez, R., Catano, G., et al. (2005). The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science (New York, N.Y.)*, 307(5714), 1434–1440.

45. Lobo, I. (2008). Copy number variation and genetic disease. *Nature Education*, 1(1), 65.
46. Koolen, D. A., Pfundt, R., de Leeuw, N., Hehir-Kwa, J. Y., Nillesen, W. M., Neefs, I., et al. (2009). Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications. *Human mutation*, 30(3), 283–292.
47. Collins, R. L., Glessner, J. T., Porcu, E., Lepamets, M., Brandon, R., Lauricella, C., et al. (2022). A cross-disorder dosage sensitivity map of the human genome. *Cell*, 185(16), 3041–3055.e25.
48. Karczewski, K. J., Francioli, L. C., Tiao, G., Cummings, B. B., Alföldi, J., Wang, Q., et al. (2020). The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*, 581(7809), 434–443.
49. Thaxton, C., Good, M. E., DiStefano, M. T., Luo, X., Andersen, E. F., Thorland, E., et al. (2022). Utilizing ClinGen gene-disease validity and dosage sensitivity curations to inform variant classification. *Human mutation*, 43(8), 1031–1040.
50. The Clinical Genome Resource Dosage Sensitivity Working Group. (2021). ClinGen Dosage Sensitivity Single Gene Evaluation Process [PDF file]. Available from:

https://www.clinicalgenome.org/site/assets/files/6428/dosage_sop-scoring-1.pdf
51. Riggs, E. R., Andersen, E. F., Cherry, A. M., Kantarci, S., Kearney, H., Patel, A., et al. (2020). Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genetics in medicine*, 22(2), 245–257.
52. Riggs, E. R., Andersen, E. F., Cherry, A. M., Kantarci, S., Kearney, H., Patel, A., et al. (2021). Correction: Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genetics in medicine*, 23(11), 2230.
53. Dong, X., Liu, B., Yang, L., Wang, H., Wu, B., Liu, R., et al. (2020). Clinical exome sequencing as the first-tier test for diagnosing developmental disorders covering both CNV and SNV: a Chinese cohort. *Journal of medical genetics*, 57(8), 558–566.
54. Krepischi, A. C. V., Villela, D., da Costa, S. S., Mazzonetto, P. C., Schauren, J., Migliavacca, M. P., et al. (2022). Chromosomal microarray analyses from 5778

patients with neurodevelopmental disorders and congenital anomalies in Brazil. *Scientific reports*, 12(1), 15184.

55. Jeanne, M., Demory, H., Moutal, A., Vuillaume, M. L., Blesson, S., Thépault, R. A., et al. (2021). Missense variants in DPYSL5 cause a neurodevelopmental disorder with corpus callosum agenesis and cerebellar abnormalities. *American journal of human genetics*, 108(5), 951–961.
56. Yu, H. E., Hawash, K., Picker, J., Stoler, J., Urion, D., Wu, B. L., et al. (2012). A recurrent 1.71 Mb genomic imbalance at 2q13 increases the risk of developmental delay and dysmorphism. *Clinical genetics*, 81(3), 257–264.
57. Hladilkova, E., Barøy, T., Fannemel, M., Vallova, V., Misceo, D., Bryn, V., et al. (2015). A recurrent deletion on chromosome 2q13 is associated with developmental delay and mild facial dysmorphisms. *Molecular cytogenetics*, 8, 57.
58. Riley, K. N., Catalano, L. M., Bernat, J. A., Adams, S. D., Martin, D. M., Lalani, S. R., et al. (2015). Recurrent deletions and duplications of chromosome 2q11.2 and 2q13 are associated with variable outcomes. *American journal of medical genetics. Part A*, 167A(11), 2664–2673.
59. Coe, B. P., Witherspoon, K., Rosenfeld, J. A., van Bon, B. W., Vulto-van Silfhout, A. T., Bosco, P., et al. (2014). Refining analyses of copy number variation identifies specific genes associated with developmental delay. *Nature genetics*, 46(10), 1063–1071.
60. Juven, A., Nambot, S., Piton, A., Jean-Marçais, N., Masurel, A., Callier, P., et al. (2020). Primrose syndrome: a phenotypic comparison of patients with a ZBTB20 missense variant versus a 3q13.31 microdeletion including ZBTB20. *European journal of human genetics : EJHG*, 28(8), 1044–1055.
61. Alazami, A. M., Al-Qattan, S. M., Faqeih, E., Alhashem, A., Alshammari, M., Alzahrani, F., et al. (2016). Expanding the clinical and genetic heterogeneity of hereditary disorders of connective tissue. *Human genetics*, 135(5), 525–540.
62. Grebe, T. A., Stevens, M. A., Byrne-Essif, K., & Cassidy, S. B. (1992). 7p deletion syndrome: an adult with mild manifestations. *American journal of medical genetics*, 44(1), 18–23.
63. Goitia, V., Oquendo, M., & Stratton, R. (2015). Case of 7p22.1 Microduplication Detected by Whole Genome Microarray (REVEAL) in Workup of Child Diagnosed with Autism. *Case reports in genetics*, 2015, 212436.

64. Preiksaitiene, E., Kasnauskiene, J., Ciuladaite, Z., Tumiene, B., Patsalis, P. C., & Kučinskas, V. (2012). Clinical and molecular characterization of a second case of 7p22.1 microduplication. *American journal of medical genetics. Part A*, 158A(5), 1200–1203.
65. Lopes, F., Torres, F., Lynch, S. A., Jorge, A., Sousa, S., Silva, J., et al. (2018). The contribution of 7q33 copy number variations for intellectual disability. *Neurogenetics*, 19(1), 27–40.
66. Wang, D., & Lai, P. (2020). Global retardation and hereditary spherocytosis associated with a novel deletion of chromosome 8p11.21 encompassing KAT6A and ANK1. *European journal of medical genetics*, 63(12), 104082.
67. Sagi-Dain, L., Goldberg, Y., Peleg, A., Sukenik-Halevy, R., Sofrin-Drucker, E., Appelman, Z., et al. (2019). The rare 13q33-q34 microdeletions: eight new patients and review of the literature. *Human genetics*, 138(10), 1145–1153.
68. Garrity, M., Kavus, H., Rojas-Vasquez, M., Valenzuela, I., Larson, A., Reed, S., et al. (2021). Neurodevelopmental phenotypes in individuals with pathogenic variants in CHAMP1. *Cold Spring Harbor molecular case studies*, 7(4), a006092.
69. Gofin, Y., Wang, T., Gillentine, M. A., Scott, T. M., Berry, A. M., Azamian, M. S., et al. (2022). Delineation of a novel neurodevelopmental syndrome associated with PAX5 haploinsufficiency. *Human mutation*, 43(4), 461–470.
70. Capkova, Z., Capkova, P., Srovnal, J., Adamova, K., Prochazka, M., & Hajdich, M. (2021). Duplication of 9p24.3 in three unrelated patients and their phenotypes, considering affected genes, and similar recurrent variants. *Molecular genetics & genomic medicine*, 9(3), e1592.
71. Urtekin, E., Kayhan, G., Kazancioğlu, E., & Karaoğuz, M. Y. (2022). A Partial Trisomy 9 Case With Dicentric Chromosome Due to The Adjacent-2 Segregation of Maternal Reciprocal Translocation. *Journal of Istanbul Faculty of Medicine*, 85(2), 279–284.
72. Cox, D. M., & Butler, M. G. (2015). The 15q11.2 BP1-BP2 microdeletion syndrome: a review. *International journal of molecular sciences*, 16(2), 4068–4082.
73. Urraca, N., Cleary, J., Brewer, V., Pivnick, E. K., McVicar, K., Thibert, R. L., et al. (2013). The interstitial duplication 15q11.2-q13 syndrome includes autism,

- mild facial anomalies and a characteristic EEG signature. *Autism research : official journal of the International Society for Autism Research*, 6(4), 268–279.
74. Marini, C., Cecconi, A., Contini, E., Pantaleo, M., Metitieri, T., Guarducci, S., et al. (2013). Clinical and genetic study of a family with a paternally inherited 15q11-q13 duplication. *American journal of medical genetics. Part A*, 161A(6), 1459–1464.
 75. Budisteanu, M., Papuc, S. M., Streata, I., Cucu, M., Pirvu, A., Serban-Sosoi, S., et al. (2021). The Phenotypic Spectrum of 15q13.3 Region Duplications: Report of 5 Patients. *Genes*, 12(7), 1025.
 76. Zhou, D., Gochman, P., Broadnax, D. D., Rapoport, J. L., & Ahn, K. (2016). 15q13.3 duplication in two patients with childhood-onset schizophrenia. *American journal of medical genetics. Part B, Neuropsychiatric genetics*, 171(6), 777–783.
 77. Fetit, R., Price, D. J., Lawrie, S. M., & Johnstone, M. (2020). Understanding the clinical manifestations of 16p11.2 deletion syndrome: a series of developmental case reports in children. *Psychiatric genetics*, 30(5), 136–140.
 78. Vos, N., Kleinendorst, L., van der Laan, L., van Uhm, J., Jansen, P. R., van Eeghen, A. M., et al. (2024). Evaluation of 100 Dutch cases with 16p11.2 deletion and duplication syndromes; from clinical manifestations towards personalized treatment options. *European journal of human genetics: EJHG*
 79. Allach El Khattabi, L., Heide, S., Caberg, J. H., Andrieux, J., Doco Fenzy, M., Vincent-Delorme, C., et al. (2020). 16p13.11 microduplication in 45 new patients: refined clinical significance and genotype-phenotype correlations. *Journal of medical genetics*, 57(5), 301–307.
 80. Granata, P., Cocciadiferro, D., Zito, A., Pessina, C., Bassani, A., Zambonin, F., et al. (2022). Whole Exome Sequencing in 16p13.11 Microdeletion Patients Reveals New Variants Through Deductive and Systems Medicine Approaches. *Frontiers in genetics*, 13, 798607.
 81. van Paassen, B. W., van der Kooi, A. J., van Spaendonck-Zwarts, K. Y., Verhamme, C., Baas, F., & de Visser, M. (2014). PMP22 related neuropathies: Charcot-Marie-Tooth disease type 1A and Hereditary Neuropathy with liability to Pressure Palsies. *Orphanet journal of rare diseases*, 9, 38.

82. Pasmant, E., Sabbagh, A., Spurlock, G., Laurendeau, I., Grillo, E., Hamel, M. J., et al. (2010). NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1: from genotype to phenotype. *Human mutation*, 31(6), E1506–E1518.
83. Schirwani, S., Woods, E., Koolen, D. A., Ockeloen, C. W., Lynch, S. A., Kavanagh, K., et al. (2023). Familial Bainbridge-Ropers syndrome: Report of familial ASXL3 inheritance and a milder phenotype. *American journal of medical genetics. Part A*, 191(1), 29–36.
84. Okumura, A., Yamamoto, T., Miyajima, M., Shimojima, K., Kondo, S., Abe, S., et al. (2014). 3p interstitial deletion including PRICKLE2 in identical twins with autistic features. *Pediatric neurology*, 51(5), 730–733.
85. Perry, B. P., & Cody, J. D. (2014). Otologic characteristics of individuals with deletions of distal 18q. *The Laryngoscope*, 124(11), 2606–2609.
86. Gaspar, N. S., Rocha, G., Grangeia, A., & Soares, H. C. (2022). Cat-Eye Syndrome: A Report of Two Cases and Literature Review. *Cureus*, 14(6), e26316.
87. Oyetunji, A., & Butler, M. G. (2020). 22q11.2 Microduplications: Two Clinical Reports Compared with Similar Cases from the Literature. *Journal of pediatric genetics*, 9(3), 211–220.
88. Morris, C. A., Mervis, C. B., Paciorkowski, A. P., Abdul-Rahman, O., Dugan, S. L., Rope, A. F., et al. (2015). 7q11.23 Duplication syndrome: Physical characteristics and natural history. *American journal of medical genetics. Part A*, 167A(12), 2916–2935.
89. Jackson, E. M., Shaikh, T. H., Gururangan, S., Jones, M. C., Malkin, D., Nikkel, S. M., et al. (2007). High-density single nucleotide polymorphism array analysis in patients with germline deletions of 22q11.2 and malignant rhabdoid tumor. *Human genetics*, 122(2), 117–127.
90. Esplin, E. D., Li, B., Slavotinek, A., Novelli, A., Battaglia, A., Clark, R., et al. (2014). Nine patients with Xp22.31 microduplication, cognitive deficits, seizures, and talipes anomalies. *American journal of medical genetics. Part A*, 164A(8), 2097–2103.
91. Li, M., Zou, C., & Zhao, Z. (2012). Triple x syndrome with short stature: case report and literature review. *Iranian journal of pediatrics*, 22(2), 269–273.

8. EKLER

EK 1: DECIPHER'in inceleme esnasındaki görüntüsü.

(deciphergenomics.org halka açık web sayfasından alınmıştır.)

Patient variants

215

CNV syndrome variants

2

DDD research variants

1

Genes

13

Genes: 1 to 10 of 13

Show:

All genes

Filter...

Name / Description	Location	pLI	LOEUF	sHet	pHaplo	pTripto	GenCC	OMIM / Morbid	G2P	ClinGen	Links
PMP22 peripheral myelin protein 22	17 15229773 15272292	0.91	0.39	0.111	0.92	0.66	Definitive: Strong: Moderate: Supportive:	4 OMIM 3 Morbid (7)	-	Definitive: AD Haploinsufficiency: 3 Triposensitivity: 0	View
HS3ST3B1 heparan sulfate-glucosamine 3- sulfotransferase 3B1	17 14301081 14349404	0.29	0.78	-	0.73	0.31	-	OMIM	-	-	View
COX10 cytochrome c oxidase assembly factor heme A:farnesyltransferase COX10	17 14069490 14231736	0.06	0.61	0.058	0.59	0.29	Definitive: Strong: Moderate: Supportive:	2 OMIM 1 Morbid	Definitive: Biallelic	Definitive: AR Haploinsufficiency: 30	View
TEKT3 tektin 3	17 15303811 15341632	0.00	1.46	0.012	0.20	0.16	-	OMIM Morbid	-	-	View
CDRT15 CMT1A duplicated region transcript 15	17 14235673 14236862	0.00	1.89	-	0.16	0.23	-	-	-	-	View

EK 2: ClinGen Dosage Sensitivity Map'ın görüntüsü

<https://search.clinicalgenome.org/kb/gene-dosage?page=1&size=25&search=> halka açık web sayfasından alınmıştır.

Dosage Sensitivity		Genes: On Regions: On		3897 Total Curations	1569 Total Genes	514 Total Regions
NOTICE: The standalone region search field specific to Dosage Sensitivity has been fully integrated with the main search bar above . To use, first select Region (GRCh37) or Region (GRCh38) from the pull-down menu, enter the genomic coordinates as before, then click on the 'Search' button. Once your results display, you can view additional information relative to Dosage Sensitivity by clicking on the 'Dosage Scores' display option. For more information, refer to the release notes . Note that the search box below only searches for text within the displayed table; do not use this to search for all genes within a range of genomic coordinates.						
Advanced Filters: None						
Search in table						
Showing 1 to 25 of 2083 rows 25 rows per page						
Type	Gene Symbol / Region Name	GRCh37	HI Score	TS Score	OMIM Morbid	Last Evaluated Date
Region	16p13.12 population region (gnomAD-SV_v2.1_DEL_16_152599)	16 14782199 14805000	Sensitivity Unlikely	No Evidence	-	08/09/2021
Region	1 copy: 14q telomere; 3 copies: 14q telomere	14 10605000 107289948	Sensitivity Unlikely	Sensitivity Unlikely	-	07/31/2014
Region	1 copy: 2q telomere 3 copies: 2q telomere	2 24293060 243102476	Sensitivity Unlikely	Sensitivity Unlikely	-	04/24/2014
Region	1 copy: 6p telomere 3 copies: 6p telomere	6 2596528 339802	Sensitivity Unlikely	Sensitivity Unlikely	-	06/20/2014

EK 3: ACMG ve ClinGen ortak bildirisinde bulunan (51) kopya sayısı kaybı değerlendirilmesi için puanlama metriği

Bölüm 1: Genomik içeriğin ilk değerlendirmesi			
Kanıt türü	Kanıt	Önerilen skor	Max. Skor
Kopya sayısı kaybı içeriği (İntragenik varyantlar için, kısım 2E'yi kullanın.)	1A. Protein kodlayan veya işlevsel olarak önemli olduğu bilinen elementler içerir.	0 (Değerlendirmeye devam et)	0
	1B. Protein kodlayan veya işlevsel olarak önemli olduğu bilinen elementler İÇERMEZ.	-0.60	-0.60
Bölüm 2: Bilinen/ öngörülen haployetmezlik (HI) veya belirlenmiş benign gen/genomik bölgeler ile örtüşme (CNV bu tip gen/genomik bölgeleri içermiyorsa bölüm 3'e geçin			
Bilinen HI genleri/genomik bölgeleri ile örtüşme	2A. Bilinen bir HI gen/genomik bölge ile tam örtüşme	1	1
	2B. Bilinen bir HI genomik bölge ile kısmi örtüşme: Gözlenen CNV bilinen bir nedensel gen veya kritik bölge İÇERMİYORSA , Bilinen bir nedensel genin ya da kritik bölgenin etkilendiği BELİRSİZSE , Bu HI genomik bölge için belirlenmiş kritik bir bölge veya nedensel gen YOK İSE ,	0	0
	2C. Bilinen bir HI genin 5' ucu ile kısmi örtüşme varsa, (genin 3' ucu dahil değil)		
	2C-1. ...ve kodlama dizisi dahilse,	0,90 (Aralık: 0,45 ile 1)	1.00
	2C-2. ... ve sadece 5' UTR bölgesini içeriyorsa,	0 (Aralık:0 ile 0,45)	0,45
	2D. Bilinen bir HI genin 3'ucu ile kısmi örtüşme varsa, (genin 5' ucu dahil değil)		
	2D-1. ...ve yalnızca 3' translasyon olmayan bölgeyi içeriyorsa,	0 (Değerlendirmeye devam et)	0
	2D-2. ... ve sadece son ekzon dahilse ayrıca bu ekzonda daha önce bildirilmiş patojenik varyantlar mevcutsa,	0,90 (Aralık: 0,45 ile 0,90)	0,90
	2D-3. ... ve sadece son ekzon dahilse ayrıca bu ekzonda daha önce bildirilmiş patojenik varyantlar mevcut değilse,	0,30 (Aralık: 0 ile 0,45)	0,45
	2D-4. ... ve son ekzona ek olarak diğer ekzonları da içeriyorsa, (NMD gerçekleşmesi beklenir.)	0,90 (Aralık: 0,45 ile 1)	1
	2E. Her iki kırılma noktası da aynı gen içinde yer alıyorsa,	ClinGen SVI çalışma grubunun PVS1 spesifikasyonları uygulanır.	0,90
Bilinen benign genler veya genomik bölgeler ile örtüşme	2F. Bilinen bir benign CNV bölgesini tamamıyla içeriyorsa,	-1	-1
	2G. Bilinen bir benign CNV bölgesi ile ek genetik materyal içeriyorsa,	0 (değerlendirmeye devam et)	0

EK 3: Devam- ACMG ve ClinGen ortak bildirisinde bulunan (51) kopya sayısı kaybı değerlendirilmesi için puanlama metriği

HI belirteçleri (predictors)	2H. Birden fazla HI'yi işaret eden belirteç, bölgenin en az bir HI geni içerdiğini gösteriyorsa, (gnomAD pLI skoru ≥ 0.9 , DECIPHER HI index $\leq \%10$ olması vb.)	0.15	0.15
Bölüm 3: Bölgenin içerdiği gen sayısının incelenmesi			
CNV kaybına tamamen veya kısmen dahil olan protein kodlayan RefSeq genlerinin sayısı	3A: 0-24 gen 3B: 25-34 gen 3C: 35 ve üzeri gen	3A: 0 3B: 0.45 3C: 0.90	0.90
Bölüm 4: Literatür, halka açık veri tabanları ve/veya internal laboratuvar verileri kullanılarak genomik içeriğin ayrıntılı değerlendirilmesi (CNV varyantı bilinen bir HI gen/genomik bölge ile örtüşüyorsa (bölüm 2) veya CNV'nin veya içindeki herhangi bir genin insanlarda fonksiyon kaybına yol açtığına dair (LOF mutasyonları veya kopya sayısı kaybı yoluyla) bildirilmiş bir rapor yok ise Bölüm 5'e geçin)			
Bireysel vaka kanıtları-de novo olaylar	Raporda bildirilmiş proband, - değerlendirilen CNV içindeki geni içeren bir tüm gen delesyon yada gende LOF varyantına sahiptir YADA, - değerlendirilen CNV içine benzer genomik içerikle örtüşen bir kopya sayısı kaybına sahiptir VE..	Aşağıdaki kategorileri incele	
	4A. ...bildirilen fenotip, gene veya genomik bölgeye oldukça spesifik ve nispeten özgündür.	Konfirme de novo: her bir çalışma için 0.45 puan, Varsayılan de novo: her bir çalışma için 0.30 (Aralık: 0.15 ila 0.45)	0.90 (Total)
	4B. ... bildirilen fenotip, gen/genomik bölge ile tutarlıdır, ancak mutlaka gen/genomik bölgeye özgü değildir.	Konfirme de novo: her bir çalışma için 0.30 puan, Varsayılan de novo: her bir çalışma için 0.15 (Aralık: 0 ila 0.45)	0.90 (Total)
	4C. ... bildirilen fenotip, gen/genomik bölge ile tutarlıdır, ancak yüksek derecede spesifik değildir ve/veya yüksek genetik heterojenite gösterir.	Konfirme de novo: her bir çalışma için 0.15 puan, Varsayılan de novo: her bir çalışma için 0.10 (Aralık: 0 ila 0.30)	0.90 (Total)
Bireysel vaka kanıtları- tutarsız fenotip	4D. ...bildirilen fenotip, gen/genomik bölge için beklenenle veya genel olarak tutarlı değildir.	Her biri için 0 puan (Aralık: 0 ila -0.30)	-0.30 (Total)
Bireysel vaka kanıtları-bilinmeyen kalıtım	4E. ...bildirilen proband, gen/genomik bölge ile tutarlı ve oldukça spesifik bir fenotipe sahiptir, ancak varyantın kalıtımı bilinmemektedir.	Her biri için 0.10 (Aralık: 0 ila 0.15)	0.30 (Total)

EK 3: Devam- ACMG ve ClinGen ortak bildirisinde bulunan (51) kopya sayısı kaybı değerlendirilmesi için puanlama metriği

Bireysel vaka kanıtları- benzer şekilde etkilenmiş aile üyeleri arasındaki segregasyonu	4F. 3-4 gözlenen segregasyon	0.15	0.45
	4G. 5-6 gözlenen segregasyon	0.30	
	4H. 7 veya daha fazla gözlenen segregasyon	0.45	
Bireysel vaka kanıtları- Varyantın segregasyon göstermemesi (4I- 4J-4K)	4I. Ailedeki bireyler benzer, oldukça spesifik fenotiplerle etkilenmişse (bilinen fenokopiler olmaksızın) ve aynı varyantı taşımadıkları tespit edilirse, varsayılan negatif puan (-0.45) atanır.	Her bir aile için -0.45 puan (Aralık: 0 ila -0.45)	-0.90 (Total)
	4J. Belirli ve özgün bir fenotip için etkilenmemiş bireyde varyant bulunduysa,	Her bir aile için -0.30 puan (Aralık: 0 ila 0.30)	-0.90 (Total)
	4K. Özgül olmayan bir fenotip için etkilenmemiş bireyde varyant bulunduysa, (4J'den daha zayıf bir kanıttır.)	Her bir aile için -0.15 puan (Aralık: 0 ila -0.15)	-0.30 (Total)
Vaka kontrol çalışmaları ve popülasyon kanıtları	4L. Varyanta sahip kontrollerle karşılaştırıldığında vakalarda (tutarlı, spesifik, iyi tanımlanmış bir fenotipe sahip) gözlemlerde istatistiksel olarak anlamlı artış varsa,	Her bir çalışma için 0.45 puan (Aralık: 0 ila 0.45)	0.45 (Total)
	4M. Varyanta sahip kontrollerle karşılaştırıldığında vakalarda (tutarlı olmayan, spesifik olmayan fenotipe sahip VEYA fenotipi bilinmeyen) gözlemlerde istatistiksel olarak anlamlı artış varsa,	Her bir çalışma için 0.30 puan (Aralık: 0 ila 0.30)	0.45 (Total)
	4N. Vakalar ve kontrollerdeki gözlemler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yok ise,	Her bir çalışma için 0.90 puan (Aralık: her çalışma için 0 ila 0.90)	-0.90 (Total)
	4O. Popülasyon verisinde %1'den yüksek sıklıkta bulunan bir bölge ile örtüşme mevcutsa,	-1 (Aralık: 0 ila -1)	-1 (Total)
Bölüm 5: İncelenen olgunun kalıtım paterni /aile öyküsünün incelenmesi			
Gözlenen kopya sayısı değişikliği de novo ise	5A. Bölüm 42teki de novo puanlama bölümündeki uygun kategoriyi kullanın.	Skoru belirlemek için bölüm 4'teki (4A-4D) skorlama kategorilerini kullanın.	0.45
Gözlenen kopya sayısı değişikliği kalıtılmışsa	5B. Spesifik, iyi tanımlanmış fenotipe sahip ve aile öyküsü olmayan hasta. CNV, görünüşte etkilenmemiş bir ebeveynden kalıtılmıştır.	-0.30 (Aralık: 0 ila -0.45)	-0.45
	5C. Spesifik olmayan fenotipe sahip ve aile öyküsü olmayan hasta. CNV, görünüşte etkilenmemiş bir ebeveynden kalıtılmıştır.	-0.15 (Aralık: 0 ila 0.30)	-0.30 (Total)
	5D. CNV, hastanın ailesinde gözlemlenen tutarlı bir fenotip ile birlikte segregasyon gösterir.	Skoru belirlemek için bölüm 4'teki (4F-4H) skorlama kategorilerini kullanın.	0.45

EK 3: Devam- ACMG ve ClinGen ortak bildirisinde bulunan (51) kopya sayısı kaybı değerlendirilmesi için puanlama metriği

Gözlenen varyantın segregasyon göstermemesi	5E. Bölüm 4'ün non-segregasyon kısmındaki (4I-4K) kategorilendirmeyi kullanın.	Skoru belirlemek için bölüm 4'teki (4I-4K) skorlama kategorilerini kullanın.	-0.45
Diğer	5F. Kalıtım bilgisi mevcut değilse/bilgilendirici değilse,	0	0
	5G. Kalıtım bilgisi mevcut değilse/bilgilendirici değil ve ayrıca olgunun fenotipi spesifik olmamasına rağmen önceki bildirilen vakalarla tutarlılık gösteriyorsa,	0.10 (Aralık: 0 ila 0.15)	0.15
	5H. Kalıtım bilgisi mevcut değilse ya da bilgilendirici değilse ve ayrıca olgunun fenotipi önceki bildirilen vakalarla uyumlu ve oldukça spesifikse,	0.15 (Aralık: 0 ila 0.30) **2021 Kasım'da yayınlanan düzeltmeye göre (52)	0.30

EK 4: Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Grch37/hg19)	Büyüklik	Mikrosefali	Epilepsi	Boy kısalığı	Gelişme Geriliği	Kardiyak anormali	Dismorfik ve Klinik Bulgular
1,E	2 yaş 7 ay	1p36.33p36.32(727841_4219747)x1	3,4 Mb	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	Epikantus, displastik kulak, yüksek damak, ayak parmaklarında üst üste binme
2,E	5 yaş	1p36.33p36.32(759036_3721859)x1	2,9 Mb	(+)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Hipotelorizm, düz kaşlar, klinodaktili, bilateral el 5.parmakları kısa, dışa basarak yürüme
3,K	2 yaş	1p36.33p36.22(1756767_9394008)x1	7,6 Mb	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	Geniş ve basık burun kökü, yukarı eğimli palpebral fissür ve derin yerleşimli gözler, nevus flammeus, düşük kulaklar, sağ gözde dermoid kist, orta yüz hipoplazisi, hipotoni, el 3,4.parmaklarda mkf,dif ve pif eklemlerde fleksiyon kontraktürü, sakral dimple
4,K	2 yaş 10 ay	1p36.33p36.32(759036_2426865)x1	1,6 Mb	(+)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Derin yerleşimli gözler, düz kaşlar, strabismus, ince üst dudak, yüksek damak, sağ elde simian çizgisi, fuziform parmak yapısı, 6,5 numara miyop
5,K	8 yaş	1q21.1q21.2(145985385_147825662)x1	1,8 Mb	(+)	(-)	(+)	(-)	EKO:Ø	Gözler derin yerleşimli, ince üst dudak, belirgin burun, kolumella hafif uzun, eklem laksitesi mevcut, atrofik sağ böbrek, üreterosel
6,K	5 yaş	1q43q44(239116929_249240619)x1	10,1 Mb	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Epikantus, basık burun kökü, belirgin alın, uzun filtrum, ince üst dudak, tapering finger, simian+, damakta subkutanöz cleft+, hipotoni
7,E	10 yaş	2p23.3p23.2(25911296_28137308)x1	2,2 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	DEHB(+), uzun yüz, hipertelorizm, derin yerleşimli gözler, tübüler burun, evertte alt dudak, torakal bölgede kemik çıkıntılar, ayakta 2-3 arası kök sindaktili, yarık damak-dudak

EK 4: Devam- Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Grch37/hg19)	Büyüklik	Mikrosefali	Epilepsi	Boy kısalığı	Gelişme Geriliği	Kardiyak anomali	Dismorfik ve Klinik Özellikler
8,E	6 yaş	2q13(111395576_113103748)x1	1,7 Mb	(+)	(-)	(-)	(+)	yok	Yukarı eğimli palpebral fissürler, brakisefali, kulaklar büyük>97, skolyoz+, dengesiz yürüme, agresyon, sağ kol hareketsiz, sağ bacadakta kısalık, MR'da sol ventrikülde gliotik alanlar
9,K	8 yaş	2q37.1q37.3(233956424_243041411)x1	9 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	5. el tırnakları yok, sağ elde simian çizgisi, pençe el, mikrognati, epikantus, basık burun kökü, boy>97p, bilateral inguinal herni, çok yüksek TG düzeyi, spinal MR'da siringomyeli görünümü
10,K	2 yaş 5 ay	3p21.2p14.3(50908993_54402625)x1	3,5 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Basık burun ucu, fasiyal asimetri, belirgin alın, uzun filtrum, rocker bottom feet, dil dışarda, ayak parmaklarında üst üste binme
11,K	7 yaş	3q13.2q13.31(112144026_115528296)x1	3,3 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Yukarı eğimli palpebral fissür ve badem gözler, baş çevresi 97p
12,E	9 yaş	4p16.3p15.31(2535647_19335464)x1	16,9 Mb	(-)	(+)	(-)	(+)	EKO:Ø	Mikrognati, geniş alın, yay kaşlar,hipertelorizm, carp-shaped mouth, sakral dimple, öfke nöbetleri
13,K	1 yaş 2 ay	8p23.3(170692_1860200)x1 5q33.2q33.3(155031836_180696860)x3	1,6 Mb 25,6 Mb	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	Seyrek kaşlar, geniş ve basık burun kökü, laringomalazi, uzun filtrum, kısa kolumella, antevort burun delikleri, düşük displastik kulaklar, uzun el parmakları, ayak parmaklarında üst üste binme, pes ekinovarus, ayrıık meme başları, kısa boyun, baş sağa deviye, periorbital dolgunluk, dar ve yüksek damak, plagiosefali, sol elde simiyan, asimetrik yüz, ağız köşeleri aşağı dönük
14,E	5 yaş	6q24.3q25.2(145709371_153239528)x1	7,5 Mb	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Kutis laksa, brakisefali, frontal bossing, geniş alın, basık burun kökü, yukarı eğimli palpebralar, bilateral inmemiş testis, bilateral periferik pulmoner stenoz

EK 4: Devam- Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Greh37/hg19)	Büyükük	Mikrosefali	Epilepsi	Boy ksalığı	Gelişme Geriliğı	Kardiyak anomalı	Dismorfik ve Klinik Özellikler
15,K	8 yaşı	6q27(170562540_170919470)x1	356 kb	(+)	(+)	(-)	(+)	yok	Sakral dimple, basık yüz, belirgin brakisefali, düz alın, büyük kulaklar, strabismus, sağ epikantus, uzun boyun, nazone konuşma, ayrıık meme başları, MR'da sağ lateral heterotopi
16,E	48 yaşı	7p21.3p15.3(7446319_24105209)x1	16,6 Mb	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	Kemer burun, yüksek damak, makroglottik, brakisefali, mandibular prognatizm, düşük ve displastik kulaklar, dar palpebral aralık ve hipertelorizm, epikantus+, kısa geniş parmaklar, başparmak proksimal yerleşimli, trunkal obezite, kısa boyun, tek falanks çizgisi, kraniyosinostoz
17,E	8 yaşı	7p22.1(135873_6614841)x3	6,4 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Yarıık damak-dudak, bitemporal darlık, düşük displastik kulak, ayrıık meme başları, kısa ve künt el parmakları, makrosefali, aşağı eğimli palpebral fissürler, hipospadias
18,E	8 yaşı	2q13(110852875_110983320)x0	130 kb	(-)	(-)	(-)	(-)	yok	BFT bozukluğu, böbrek biyopsisinde tübülointestinal nefrit ile uyumlu bulgular, retina muayenesinde tigroid fundus+
19,K	4 yaşı	7q33(132892556_134594831)x1	1,7 Mb	(+)	(-)	(-)	(+)	yok	Hipertelorizm, düşük kulak, üçgen yüz, üst dudak ince, klinodaktili, uzun filtrum, bitemporal darlık, brakisefali, basık burun kökü, geniş alın, MR'da korpus kallozum ince, gri cevher lezyonları
20,E	17 yaşı	8p11.21(40766751_42485540)x1	1,7 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	yok	Hirşutizm, hereditör sferositoz, MR'de lentiform nükleuslarda kalsifikasyon/mineralizasyonu işaret eden sinyal değışikliğı
21,K	13 yaşı	8q24.22q24.3(132189471_146303934)x3 13q34(111156960_115109876)x1	14,1 Mb 3,9 Mb	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Diş yerleşim bozukluğu, dar yüksek damak, yünsü ve kıvrık saçlar, düz kaşlar, düşük ve displastik kulaklar, eklemler hiper mobil, ataksik yürüyüş, ilaç dirençli nöbet
22,K	3 yaşı 3 ay	9p13.3p13.2(34571866_37458143)x1	2,8 Mb	(-)	(+)	(-)	(+)	EKO:Ø	Alında hemanjiyom, infantil spazm
23,E	1 yaşı 4 ay	9p24.3(712994_37260018)x3	36,5 Mb	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Brakisefali, bayır alın, kısa filtrum, sol elde 3 parmak mevcut, her iki ayakta 2-3. parmaklarda kök sindaktili, umbilikal herni, bifid skrotum, düşük kulak, sakral dimple, kısa kolumella, bird face

EK 4: Devam- Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Grech37/hg19)	Büyüklik	Mikrosefali	Epilepsi	Boy kısalığı	Gelişme Geriliği	Kardiyak anomalı	Dismorfik ve Klinik Özellikler
24,E	3 yaş 11 ay	9q22.1q22.31(90558234_96816022)x3	6,2 Mb	(+)	(-)	(-)	(-)	EKO:Ø	Yarık damak dudak, inmemiş testis, gömülü penis, brakisefali, belirgin alın, hipertelorizm, yukarı eğimli palpebral fissür, basık burun kökü, öne dönük düşük kulaklar, kısa filtrum, ayrık meme başları
25,K	16 yaş	9q34.3(140094273_141068637)x1	974 kb	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Kaba yüz, skolyoz, obezite, MR'da korpus kallozum agenezisi
26,K	2 yaş 1 ay	9q34.3(140377226_140716069)x1	338 kb	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	Hipertelorizm, basık burun kökü, antevort burun delikleri, displastik kulaklar, sinofriz, orta yüz hipoplazisi, carp-shaped mouth, bitemporal darlık, brakisefali
27,E	1 yaş 9 ay	10q26.2q26.3(128254512_135524726)x1 8q24.13q24.3(125498159_146303934)x3	7,2 Mb 20,8 Mb	(+)	(+)	(+)	(-)	yok	Üçgen yüz, yukarı eğimli palpebral fissür, ince üst dudak, ambigus genitalya, derin yerleşimli gözler, displastik düşük kulak, sağda simian, uzun filtrum, sakral dimple
28,E	2 yaş 5 ay	15q11.2(22321690_23279684)x1	957 kb	(+)	(+)	(+)	(-)	EKO:Ø	Pes ekinovarus, infantil spazm, kısa metakarp ve metatarslar, MR'da korpus kallozum ince, lateral ventriküller kolposefali
29,E	3 yaş 6 ay	15q11.2(22759530_23279684)x1	520 kb	(+)	(+)	(+)	(-)	EKO:Ø	Yarık damak, bilateral kampodaktili, sağ gözde ptozis, ayak parmaklarında üst üste binme, kalça çıkıklığı, basık burun kökü, MR'da korpus kallozum parsiyel agenezisi
30,K	19 yaş	15q11.2-q13.3(22321690_32560488)x3	10,2 Mb	(+)	(+)	(-)	(+)	EKO:Ø	Tübüler burun, basık burun kökü, maloklüzyon, displastik kulak, ince korpus kallozum, frontoparietal sulkuslar ve insuler girusta genişlemiş perivasküler mesafe
31,K	2 yaş 5 ay	15q11.2(22759530_28540261)x3	5,7 Mb	(+)	(+)	(-)	(+)	yok	Hipotoni, basık burun kökü, labial hiperpigmentasyon, uzun yüz, hipertelorizm, epikantus
32,K	3 yaş 1 ay	15q11.2(22766739_23279684)x1 MAN1B1 c.1000C>T (homozigot)	512 kb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Düşük kulak, mikrogna, şaşılık, yaygın hipotoni, makrosefali, kaba yüz, ataksik yürüyüş
33,K	8 yaş	15q13.1q13.3(28958739_32515100)x1 NACC1 c.914_922del(p.Thr305_Tyr307del)	3,5 Mb	(-)	(+)	(-)	(+)	yok	Prenatal dönemde ense kalınlığı sebebiyle CVS öyküsü, EEG'de sağ ve sol frontalden sekonder jeneralize fokal epilepsi bulgusu, ilaçlara dirençli epilepsi
34,K	4 yaş	15q21.3q22.2(53481444_60998847)x1	7,5 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Frontal bossing, basık burun kökü, antevort burun delikleri, 2.-3. ayak parmaklarında kök sindaktili, displastik kulaklar, ön saç çizgisi düşük, umbilikal herni, yüksek damak

EK 4: Devam- Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Grech37/hg19)	Büyüklik	Mikrosefali	Epilepsi	Boy ksalğa	Gelişme Geriliği	Kardiyak anomalı	Dismorfik ve Klinik Özellikler
35,E	3 yaş 7 ay	16p11.2(29595483_30199713)x1	604 kb	(-)	(+)	(-)	(-)	EKO:Ø	Kaba yüz, aralıklı dişler, seyrek ve kalın kaş, mikrognati, yukarı eğimli palpebral fissürler, göz kapaklarında eversiyon, uzun filtrum, ince üst dudak, düşük kulak, klinodaktili, sakral dimple, MR'da serebellar hemisferik sulkuslar ve fissürler parietotemporal kesimde normalden hafif geniş görünümde
36,K	1 yaş 11 ay	16p13.11(15125441_16248792)x3	1,1 Mb	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Hipertelorizm, dar yüksek damak, sakral dimple, EKO'da hipoplazik arkus aorta, VSD
37,K	7 yaş	17p12(14098277_15430857)x1	1,3 Mb	(-)	(-)	(-)	(-)	yok	Kol ve bacaklarda uyuşma, hasta 38'in kızı
38,E	48 yaş	17p12(14098277_15430857)x1	1,3 Mb	(-)	(-)	(-)	(-)	EKO:Ø	Hereditör PNP ile takipli, sol ulnar bölgede periferik nöropati, EMG'de 4 ekstremitede yaygın sensörimotor tutulum gösteren mix tip blok gösteren tutulum, hasta 37'nin babası
39,K	9 yaş	17q11.2(28932112_30403458)x1	1,4 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	Umbilikal fasya defekti, kaba yüz, yele boyun, kısa boyun, düşük kulak, basık burun kökü, pektus ekskavatum ve karinatum birlikte, 9 adet cafe o'la, boy 90-97p, lomber kıllanma, MR'da hamartamatöz lezyonlar, santral fasiyal paralizi, tethered kord
40,K	14 yaş	18q11.2q12.2(24872623_34558037)x1	9,6 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Epikantus, düşük saç çizgisi, hirsutizm, hafif zihinsel yetersizlik
41,E	4 yaş	18q21.2q22.1(53698691_61648577)x1 3p14.1(64396082_68275864)x1	7,9 Mb 3,8 Mb	(-)	(+)	(-)	(+)	EKO:Ø	İnce üst dudak, bitemporal darlık, düz kaşlar, bilateral klinodaktili, bilateral simian, skolyoz, gövde ve toraksta venöz yapılar belirgin, ayrıık meme başları
42,E	2 yaş 1 ay	18q22.1q23(65999779_78014582)x1 6p25.3p23(396321_13476347)x3	12 Mb 13 Mb	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	Goldenhar sendromu ön tanısı+, yüzde kapiller hemanjiyom, dar palpebral aralık, geniş burun kökü, yukarı eğimli palpebral fissürler, hipertelorizm, epikantus, uzun filtrum, belirgin alın, sağ kulakta ekstra kresent ve antiheliks, küçük ve derin yerleşimli gözler, ağırlarken ağızda kayma, ince üst dudak, sakral gamze, asimetrik ağlama, hipospadias, yarıık damak, basık burun ucu
43,E	2 yaş 2 ay	22q11.1q11.21(17217247_18649861)x3	1,4 Mb	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	Anal atrezi, tiroid dishormonogenezis, sağ kulak önünde skin tag ve her iki kulakta pitler, makrosefali, geniş alın, kaşlar arklı, uzun filtrum, mikrognati, ayrıık meme başları, hipospadias

EK 4: Devam- Olguların klinik, dismorfik ve demografik özellikleri

Hasta No/ Cinsiyet	Hasta Yaşı	Konum (Grech37/hg19)	Büyüklik	Mikrosefali	Epilepsi	Boy kısalığı	Gelişme Geriliği	Kardiyak anomalı	Dismorfik ve Klinik Özellikler
44,E	6 yaş	22q11.21(19222211_21067628)x3	1,8 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	Kaba ve miyopatik yüz, düşük ve büyük kulak, belirgin alın, hipertelorizm, pitozis, basık burun kökü, geniş burun köprüsü, uzun filtrum, ince üst dudak, carp-shape ağız, lordoz, hiper mobil eklemler, kaşlarda sineşi, yürüme bozukluğu, MR'da tonsiller herniasyon
45,K	6 yaş	22q11.21(18877787_21562404)x3 7q11.23(72721515_74126034)x3	2,6 Mb 1,4 Mb	(-)	(+)	(-)	(-)	EKO:Ø	Makrosefali, frontal bossing, ön saç çizgisi yukarda, üçgen yüz, retromikrognati, hipertelorizm, inkomplet yarık damak, MR'da 3. ve lateral ventrikül genişliği artmış
46,K	2 yaş 8 ay	22q11.21q11.23(21804903_24375063)x1	2,5 Mb	(-)	(+)	(-)	(+)	EKO:Ø	Plagiosefali, basık yüz, geniş alın, basık burun kökü
47,K	8 yaş	Xp22.31(6453494_8126718)x1	1,6 Mb	(+)	(-)	(+)	(+)	EKO:Ø	Üçgen yüz, basık burun kökü, epikantus, badem göz, küçük ağız, düşük ve displastik kulak, mikrognati
48,K	8 yaş	Xp22.31(6456940_8126718)x1	1,7 Mb	(-)	(-)	(-)	(+)	EKO:Ø	Kaba yüz, ön-üst 2 dişi büyük, sinorfiz, ince üst dudak, bilateral el 5. parmakları kısa, klinodaktili, yukarı eğimli palpebral fissür, kısa boyun, obezite, hiperglisemi
49,K	14 yaş	Xq21.31q22.1(90115280_102282355)x3	12,1 Mb	(-)	(-)	(+)	(+)	EKO:Ø	Tekrarlayan hematüri, öğrenme güçlüğü
50,K	10 yaş	Xq22.2q25(103671556_126637850)x3	22,9 Mb	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	Mikrognati, sol gözde pitoz, fasiyal asimetri, MR'da araknoid kist
51,K	10 yaş	Xp22.33q28(434823_155226017)X3 mos (Mozaik trizomi X)	Tüm kromozom	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	Dar palpebral aralık, düşük kolumella, dar yüksek damak, bifid uvula, klinodaktili, buffalo hörgücü, abdominal obezite, hallus valgus, sandalet açıklığı

EK 5: Delesyon/duplikasyon bölgelerinde morbid, monoalelik olan genler , HI/TS skorları 1, 2, 3 (P, LP,VUS) olan genler ile birlikte OMIM fenotipleri (HI/TS skorları genlerin yanında parantez içinde verilmiştir.)

Hasta no:	Anomali Bant Seviyesi	Monoallelik ve Morbid Olan Genler	HI/TS skoru 1,2,3 olan genler	Gen Fenotip adı/OMIM
1,E	1p36.33 del	ATAD3A, DVL1, GABRD, GNB1, PANK4, PRDM16, SKI, TMEM240	GNB1(1)	GNB1: Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 42
2,E		ATAD3A, DVL1, GABRD, GNB1, PANK4, PRDM16, SKI, TMEM240	GNB1(1)	GNB1: Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 42
3,K		CAMTA1, CHD5, GABRD, GNB1, PANK4, PRDM16, SKI, TMEM240	GNB1(1)(ex1-2-3 del), CAMTA1(3), CHD5(1)	GNB1: Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 42 CAMTA1: Cerebellar dysfunction with variable cognitive and behavioral abnormalities CHD5: Parenti-Mignot neurodevelopmental syndrome
4,K,		ATAD3A, DVL1, GABRD, GNB1, SKI, TMEM240	GNB1(1)	GNB1: Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 42
5,K	1q21.1 del	GJA5, GJA8	GJA5(1) GJA8(1)	GJA5: Atrial fibrillation, familial, 11 GJA8: Cataract 1, multiple types
6,K	1q43 del	AKT3, FH, GREM2, HNRNPU, NLRP3, ZBTB18	FH(3) ZBTB18(3) AKT3(1)	FH: Leiomyomatosis and renal cell cancer ZBTB18: Intellectual developmental disorder, autosomal dominant 22 AKT3: Megalencephaly-polymicrogyria-polydactyly-hydrocephalus syndrome 2
7,E	2p23.3 del	ASXL2, DPYSL5, KCNK3	YOK	–
8,E	2q13 del	YOK	YOK	–
9,K	2q37.1 del	COL6A3, HDAC4, KIF1A, PER2, SAG, TWIST2, UGT1A1	YOK	–
10,K	3p21.2 del	BAP1, CACNA1D, TNNC1	BAP1(3)	BAP1: Kury-Isidor Syndrome
11,K	3q13.2 del	ATP6V1A, DRD3, ZBTB20	YOK	–
12,E	4p16.3 del	DRD5, EVC, EVC2, HTT, MSX1, PROM1, SH3BP2, SLC2A9, WFS1	MSX1(3)	MSX1: Ectodermal dysplasia 3, Witkop type Tooth agenesis, selective, 1, with or without orofacial cleft
13,K	5q33.2 dup	CYFIP, DDX41, F12, FBXW11, FLT4, GABRA1, GABRB2, GABRG2, HMMR, HNRNPH, KCNMB1, MSX, NKX2-5, NSD1, SLC34A1, SNCB, SQSTM1	FBXW11(1)	FBXW11: Neurodevelopmental, jaw, eye, and digital syndrome
	8p23.3 del	ARHGEF10	YOK	–

EK 5: Devam- Delesyon/duplikasyon bölgelerinde morbid, monoalelik olan genler , HI/TS skorları 1, 2, 3 (P, LP,VUS) olan genler ile birlikte OMIM fenotipleri (HI/TS skorları genlerin yanında parantez içinde verilmiştir.)

Hasta no:	Anomali Bant Seviyesi	Monoallelik ve Morbid Olan Genler	HI/TS skoru 1,2,3 olan genler	Gen Fenotip adı/OMIM
14,E	6q24.3 del	ESR1, GRM1, SASH1, SYNE1, TAB2	TAB2(1)	TAB2: Congenital heart defects, nonsyndromic, 2
15,K	6q27 del	DLL1, TBP	DLL1(3)	DLL1: Neurodevelopmental disorder with nonspecific brain abnormalities and with or without seizures
16,E	7p21.3 del	HDAC9, IL6, KLHL7, TMEM106B, TWIST1	TWIST1(3)	TWIST1: Craniosynostosis 1 Robinow-Sorauf syndrome Saethre-Chotzen syndrome with or without eyelid anomalies Sweeney-Cox syndrome
17,E	7p22.1 dup	EIF2AK1, PRKAR1B, RAC1	YOK	–
18,K	2q13 del	NPHP1 (OR)	**NPHP1 (30) (AR gen)	NPHP1: Joubert syndrome 4 Nephronophthisis 1, juvenile Senior-Loken syndrome-1
19,K	7q33 del	YOK	YOK	–
20,E	8p11.21 del	ANK1, IKBKB, KAT6A, SLC20A2	KAT6A(3)	KAT6A: Arboleda-Tham syndrome
21,K	8q24.22 dup	AGO2, CPSF1, CYP11B1, FAM83H, KCNQ3, MAFA, OPLAH, PLEC, PUF60	YOK	–
	13q34 del	ATP11A, CHAMP1, COL4A2	YOK	
22,K	9p13.3 del	GNE, NPR2, TPM2, VCP	YOK	–
23,E	9p24.3 dup	BNC2, C9orf72, CDKN2A, FREM1, GNE, JAK2, MTAP, NFIB, NPR2, RIGI, SMARCA2, TEK, TOPORS, TPM2, UBAP1, VCP	YOK	–
24,E	9q22.1 dup	ASPN, BICD2, ROR2, SPTLC1, SYK	YOK	–
25,K	9q34.3 del	EHMT1, NSMF, TUBB4B	EHMT1(3)	EHMT1: Kleefstra syndrome 1
26,K		EHMT1 (ex 1-25 del)		
27,E	10q26.2 del	EBF3	EBF3(3)	EBF3: Hypotonia, ataxia, and delayed development syndrome
	8q24.13 dup	AGO2, CPSF1, CYP11B1, FAM83H, KCNQ3, MAFA, OPLAH, PLEC, PUF60, WASHC5	YOK	–
28,E	15q11.2 del	NIPA1	YOK	–
29,E	15q11.2 del	NIPA1	YOK	–

EK 5: Devam- Delesyon/duplikasyon bölgelerinde morbid, monoalelik olan genler , HI/TS skorları 1, 2, 3 (P, LP,VUS) olan genler ile birlikte OMIM fenotipleri (HI/TS skorları genlerin yanında parantez içinde verilmiştir.)

Hasta no:	Anomali Bant Seviyesi	Monoallelik ve Morbid Olan Genler	HI/TS skoru 1,2,3 olan genler	Gen Fenotip adı/OMIM
30,K	15q11.2 dup	GABRA5, GABRB3, KLF13, MAGEL2, MKRN3, NIPA1, UBE3A	YOK	–
31,K	15q11.2 dup	GABRA5, GABRB3, MAGEL2, MKRN3, UBE3A	YOK	–
32,K	15q11.2 del	NIPA1	YOK	–
33,K	15q13.1 del	KLF13	YOK	–
34,K	15q21.3 del	ADAM10, DNAAF4, LIPC, RFX7, TCF12	TCF12(3)	TCF12: Craniosynostosis 3 Hypogonadotropic hypogonadism 26 with or without anosmia
35,E	16p11.2 del	KIF22, PRRT2, TBX6	PRRT2(3)	PRRT2: Convulsions, familial infantile, with paroxysmal choreoathetosis Episodic kinesigenic dyskinesia 1 Seizures, benign familial infantile, 2
36,K	16p13.11 dup	ABCC1, ABCC6, MYH11(ex1 dışı del)	YOK	–
37,K	17p12 del	PMP22	PMP22(3)	PMP22: Charcot-Marie-Tooth disease
38,E				
39,K	17q11.2 del	NF1, SUZ12	NF1(3)	NF1: Neurofibromatosis
40,K	18q11.2 del	ASXL3, CDH2, DSC2, DSG1, DSG2, DTNA, FHOD3, MAPRE2, RNF125, TTR	ASXL3(3), DSC2(1), DSG2(2)	ASXL3: Bainbridge-Ropers syndrome DSC2: Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 11 with mild palmoplantar keratoderma and woolly hair DSG2: Arrhythmogenic right ventricular dysplasia 10
41,E	18q21.2 del	ATP8B1, MC4R, NARS1, NEDD4L, TNFRSF11A	YOK	–
	3p14.1 del	YOK	YOK	
42,E	18q22.1 del	TSHZ1	YOK	–
	6p25.3 dup	BMP6, DSP, EDN1, F13A1, FOXC1, GCM2, GCNT2, NQO2, PHACTR1, RIPK1, TFAP2A, TUBB2A, TUBB2B	YOK	

EK 5: Devam- Delesyon/duplikasyon bölgelerinde morbid, monoalelik olan genler , HI/TS skorları 1, 2, 3 (P, LP,VUS) olan genler ile birlikte OMIM fenotipleri (HI/TS skorları genlerin yanında parantez içinde verilmiştir.)

Hasta no:	Anomali Bant Seviyesi	Monoallelik ve Morbid Olan Genler	HI/TS skoru 1,2,3 olan genler	Gen Fenotip adı/OMIM
43,E	22q11.1 dup	TUBA8	YOK	–
44,E	22q11.2 1 dup	COMT, RTN4R, TBX1	YOK	–
45,K	22q11.21 dup	COMT, LZTR1, PRODH, RTN4R, SERPIND1, TBX1	YOK	–
	7q11.23 dup	ELN	YOK	
46,K	22q11.21 del	CHCHD10, MAPK1, SMARCB1	SMARCB1(3)	SMARCB1: Coffin-Siris syndrome 3
47,K	Xp22.31 del	STS	*XLD olan gen yok.	–
48,K	Xp22.31 del	STS	*XLD olan gen yok.	–
49,K	Xq21.31 dup	BTK, DIAPH2, GLA, HNRNP2, PCDH19, TIMM8A	*XLD olan gen yok.	–
50,K	Xq22.2 dup	ACSL4, ALG13, CHRDL1, COL4A5, CUL4B, DCX, GRIA3, LAMP2, NDUFA1, PAK3, PLS3, PRPS1, RNF113A, SERPINA7, SH2D1A, STAG2, STEEP1, TBC1D8B, UBE2A, UPF3B, XIAP	YOK	–