

Türkiye Moleküler Karyotipleme Standartları

İyi Uygulama Kılavuzu

Hazırlayanlar: Doç. Dr. Kanay YARARBAŞ ve Prof. Dr. Birsen KARAMAN

aCGH ve mikroarray teknolojilerinin geliştirilmesi kromozom anomalilerinin tanısında çok önemli katkılar sağlamıştır. Dengesiz anomalilerin tanısında çözünürlüğü kilobazlar düzeyine indirmesi ve tüm genomu eş zamanlı inceleme imkânı vermesiyle “moleküler karyotipleme” tanımını alan bu teknoloji ülkemizde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Moleküler karyotipleme, başlangıçta postnatal dönemde öğrenme bozukluğu, zihinsel yetersizlik, gelişimsel gerilik ve otizm spektrum bozukluğu nedeniyle başvuran olgularda birinci basamak test olarak önerilirken günümüzde prenatal dönemde patolojik ultrason bulgusu saptanan gebelerde de birinci basamak ya da tamamlayıcı test olarak önerilmektedir. Bu testlerin hibridizasyon hatalarına bağlı yanlış pozitif ya da düşük çözünürlükte kit kullanımında yanlış negatif sonuçlar, dengeli kromozom anomalileri, 3n/4n gibi genomik artışları ve %10 dan daha düşük mozaisizmleri yakalayamaması, klinik önemi bilinmeyen CNV (kopya sayısı değişikliği) saptanma olasılığı gibi dezavantajları nedeniyle, test öncesi genetik danışma büyük önem taşımaktadır. Testler için farklı çözünürlükte kitler bulunduğundan endikasyona uygun çözünürlüğün tercih edilmesi de önemli bir kriterdir (Liste 1).

Tıbbi Genetik Derneğimizin kararı ile ülkemizde uygulanmakta olan aCGH ve mikroarray çalışmalarında uygulayıcılara yardımcı olmak ve yeni başlayacak olanlara yol göstermek amacıyla 2019 uluslararası kılavuzlardan da yararlanılarak ülkemiz koşullarına da uygun iyi uygulama kılavuzu hazırlanmıştır.

Bu kılavuz, moleküler karyotiplemenin prenatal ve postnatal tanı ile hematolojik malignitelerdeki uygulama alanları ile ilgili standartları belirlemeyi hedeflemektedir.

Not: Bu ve benzeri kılavuzları takip ederken, ulusal mevzuatların, hukuki ve yasal düzenlemelerin üzerinde olmadığı, kılavuz içeriği ile çelişen durumlarda kılavuzdaki ilgili bölümün geçerliliğini yitireceği hatırlanmalıdır.

İyi Uygulama Standartları

Pre-analitik Süreç

Bilgilendirilmiş onam: Tüm genetik testlerde olduğu gibi, yazılı rıza, test isteminde bulunan klinik genetik polikliniğinde test öncesi genetik danışma sonrasında alınması gerekmektedir (gerçek “bilgilendirilmiş” ve “aydınlatılmış” onam). Onam formunda test sonuçlarına göre ek testlerin yapılması gerekebileceği de belirtilmelidir (Ek 1 Onam formu örneği). Bu aşamada yöntem ve çözünürlük gibi konularda da karar verilmelidir. Bu testler ruhsatlı genetik hastalıklar tanı merkezlerinde çalışıldığından aydınlatılmış onam formunun bir kopyası test isteminde bulunan klinik genetik polikliniğinden testin çalışılacağı merkeze iletilmesi, hastanın talebi durumunda bir kopyasının da aileye verilmesi gerekmektedir.

Önemli not: Gerek saptanabilecek genomik dengesizliklerin altında yatabilecek yeniden düzenlenmelerin araştırılması, gerekse olası dengeli değişimlerin de taranabilmesi amacıyla konvansiyonel karyotipleme, hem prenatal hem de postnatal tanıda eş zamanlı olarak uygulanmalıdır.

Prenatal tanıda aCGH/mikroarray uygulamaları için klinik endikasyonlar:

Moleküler karyotipleme seçeneği, herhangi bir nedenle invaziv girişim uygulanan her gebeye sunulabilir. Ancak, test sonrası karşılaşılabilecek ~%1-1,5 yanlış pozitif ya da klinik anlamı bilinmeyen CNV'ler nedeniyle ek testlerin gerekliliğinin doğması, bu durumun gebelikte ailede endişeye yol açacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

Aşağıdaki prenatal endikasyonların varlığında moleküler karyotipleme mutlaka önerilmelidir;

1. Patolojik fetal ultrason bulgusu saptandığında (gebelik haftasından bağımsız)
2. İlk trimester taramasında NT artışı saptandığında
3. Fetal karyotip analizinde marker kromozom veya *de novo* basit veya kompleks dengeli yeniden düzenlenmelerde (yüksek çözünürlükte >750K kitler kullanılmalıdır)
4. Daha önceki gebeliklerinde açıklanamamış anomalili bebek/ölü doğum/tekrarlayan gebelik kaybı öyküsünde (olası kriptik dengesizlikleri saptamak amacıyla)
5. Fetal karyotip analiz kalitesinin düşük olması (<400 bant) durumunda ya da şüpheli bir kromozom saptandığında ve diğer tekniklerle (bantlamalar ve FISH) açıklanamayan durumlarda

Aşağıdaki diğer nedenlerle invaziv girişim uygulandığında konvansiyonel karyotiplemeye ek olarak moleküler karyotipleme sunulabilir ancak danışmada normal ultrason bulgulu olgularda normal sonuçlanan karyotip analizine %1-1,5 katkı sağlayacağı, aynı orandaki yanlış pozitif ya da klinik anlamı bilinmeyen CNV ler konusunda bilgi verilmelidir.

- a. Maternal serum tarama testlerinde yüksek risk saptanan gebelikler
- b. Ailevi kalıtılan dengeli kromozomal yeniden düzenlenme veya mozaik bir kromozom anomalisi taşıyıcı ebeveynlerin gebelikleri
- c. Önceki gebelikte kromozom anomalisi öyküsü
- d. Tek gen hastalıkları için riskli gebelikler

Postnatal tanıda moleküler karyotipleme için klinik endikasyonlar:

Aşağıdaki üç endikasyonda moleküler karyotipleme birinci basamak test olarak önerilir, ancak Frajil-X sendromu olasılığı göz ardı edilmemelidir.

- a) Zihinsel yetersizlik
- b) Gelişimsel gerilik
- c) Otizm spektrum bozukluğu

Ayrıca dengesiz kromozom anomalisi ve fenotipik etkilenme beklenen durumlarda da ya birinci basamak ya da tamamlayıcı test olarak moleküler karyotipleme önerilebilir. Bu grup aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- a. Çoklu doğumsal anomaliler ve/veya dismorfik bulgulu olgularda,
- b. Bilinen mikrodelesyon/duplikasyon sendromlarında özgün problemlerle yapılan FISH incelemesinde normal saptanan olgularda FISH tekniğinin saptayamayacağı daha küçük delesyon/duplikasyonların araştırılmasında,
- c. Büyüme sorunlarının - kısa boy veya aşırı büyüme- varlığında
- d. Konvensiyonel analizde marker kromozom veya *de novo* dengeli yeniden düzenlenmeler saptandığında
- e. Ölü doğum ve/veya spontan abortus materyallerinde kromozomal inceleme mümkün olamazsa (mikrobial kontaminasyon nedeniyle)
- f. Hematolojik malignansiler: NCCN gibi ilgili kılavuzlarda yer alan endikasyonlarda

Moleküler karyotipleme önerilmemesi gereken durumlar;

- a. Fenotipik olarak normal ancak tekrarlayan fetal kayıp/ölü doğum/anomalili ex çocuk öykülü çiftler (>2 kayıp)
- b. Dengeli veya dengesiz yapısal kromozom anomalisi saptanan bireylerin akrabaları (ebeveyn ve kardeşler veya taşıyıcılık olasılığı olan diğer akrabalar)
- c. Prenatal tanıda hızlı testlerle (I-FISH, qf-PCR) anöploidi saptanan gebelikler

Endikasyonlara göre çözünürlük seçimi:

Moleküler karyotipleme çalışmalarında farklı platformlar kullanılmakta ve farklı çözünürlükte kitler bulunmaktadır. Bu kitler;

1. Sadece hedeflenen bölge/bölgelere tasarlanmış prob içeren kitler
2. Hedef bölgeye ek olarak genomun diğer bölgelerine özgün tasarlanmış prob içeren kitler (backbone)
3. Tüm genoma eşit aralıklarla dağıtılmış prob içeren kitler

Bu kitlerin seçiminde endikasyona uygun çözünürlükte kit seçilmelidir. Tabloda endikasyona göre uygun kit çözünürlük önerileri verilmiştir.

Tablo 1: Endikasyona göre kullanılması önerilen kit çözünürlükleri

Endikasyon	Kit Çözünürlüğü
Özgün bölge araştırması (Custom designed)	15K
Spontan abort materyali	60K
PGD	60K
Prenatal tanı (patolojik USG bulgusu)	≤180K
Konvensiyonel analizde saptanan <i>de novo</i> yapısal kromozom anomalileri	180K-750K
MKA/MR	180K-750K
Araştırma	≤750K

Analitik Süreçler

Örnek Hazırlama

Prenatal tanıda genel prenatal tanı standartlarına uyulmalı; konvansiyonel inceleme için de bağımsız kültürler başlatılmalıdır. Moleküler karyotipleme için mümkünse ekstra bir kültür kabı üretilmesi önerilir. CVS, amniyosentez ve kordosentez örneğinden direkt ya da hücre kültüründen elde edilen DNA örneği kullanılabilir. Taze villus örneğinden DNA izole edilecekse, plasentaya sınırlı mozaizm nedeniyle yanlış pozitif tanıdan kaçınmak için, heterojen hücre popülasyonlarının analiz edilmesi amacıyla birden fazla villus kullanılabilir.

DNA örneğinde maternal kontaminasyon dışlandıktan sonra array çalışması başlatılabilir. Yetersiz numune veya maternal kontaminasyon varlığında kültür beklenmelidir. Prenatal örneklerin yedek kültürleri, sonuç raporu yazılana kadar saklanmalıdır. İzole edilen DNA doğuma kadar, mümkünse doku/hücre saklamalıdır.

Optimum miktar, konsantrasyon ve kalitede DNA eldesi için laboratuvar standartlara uygun, valide edilmiş bir yöntem belirlemelidir. Önemli nokta, sistem minimum tüp - tüp transferi gerektirmelidir. Elde edilen DNA, olası ek tetkiklere de yetecek miktarda olmalı, kullanım sonrası kalan kısmı uygun koşullarda saklanmalıdır.

Laboratuvar, PCR ürünü kontaminasyonunu en aza indirmek için PCR öncesi ve sonrası alanlarını ayırmış olmalıdır. Kontaminasyonu erken ve efektif tanımlamak için her PCR kurulumuna kontroller dahil edilmelidir. Tüm kritik aktarma adımları için bir kontrol prosedürü uygulanmalıdır, tüp değişimleri bu açıdan en riskli adımlardır.

Analiz

Laboratuvarlar, testlerin teknik işlemlerinin yapılması ve bulguların doğru bir şekilde analizi ve yorumlanması için personelin yeterli beceri ve uzmanlığa sahip olması için gerekli eğitimleri almasını sağlamalı bunun yanı sıra denetleyici düzenlemeleri sağlamalıdır. Standart prosedürler mutlaka yazılı talimatlar halinde hazır olmalı ve güncel tutulmalıdır.

Tüm analizler, eğitilmiş, deneyimli ve kalifiye elemanlar tarafından yapılmalıdır. Teknik eleman tarafından hazırlanan veri, eğitilmiş personel tarafından bağımsız olarak kontrol edilerek laboratuvar sorumlusunun kontrolüne sunulur. Sonuç raporu uluslararası kurallara uygun olarak tamamlanarak tanı merkezi sorumlusunun imzası ile tamamlanır.

Raporlama

Raporlar hastanın ve klinisyenin anlayabileceği şekilde standardize edilmeli, dili net, açıklayıcı ve bilgilendirici olmalıdır. Tüm raporlar "yorum" içermeli ve klinik anlamı belirtilmelidir. Gereğinden uzun açıklamalardan kaçınılmalıdır. Testin metodolojisi ve sınırlamaları ile ilgili bilgiler raporda öne

çıkarmalıdır. Rapor süresi mümkün olduğu kadar kısa olmalı ve test endikasyonuna uygun aciliyet düzeyi dikkate alınmalıdır. Buna göre raporlama süreleri;

- Prenatal moleküler karyotipleme: Direkt DNA eldesi ile yapılmışsa 10 gün, hücre kültürü sonrası ise 21 gün,
- Abortus materyali: 28 gün
- Postnatal moleküler karyotipleme: Aciliyet bildirilmemişse 28 gün içerisinde raporlanmalıdır. Hematolojik malignansilerde tedaviyi yönlendirecekse, süre yarıya indirilmelidir.

Rapor İçeriği

Kullanılan metodolojiden bağımsız olarak tüm raporların ISO 15189 kılavuzlarına uygun olması, uluslararası standardizasyonu sağlamak için önemlidir. Raporunda aşağıdaki bilgiler bulunmalıdır:

- Laboratuvarın adı ve adresi,
- Test endikasyonu,
- Örnek varış ve rapor tarihi,
- İki bağımsız kimlik tanımlayıcısı (isim ve soyad ile doğum tarihi),
- Prenatal tanıda ikiz gebelikler açıkça ayırt edilmeli (Fetus 1, Fetus 2),
- Çalışılan doku türü (amniyotik sıvı, periferik kan veya farklı merkezde elde edilmiş DNA örneği gibi),
- Kit, çözünürlük ve platform,
- Testi isteyen klinisyen ve/veya kurumun adı,
- Nomenklature uygun (ISCN gibi) yazılmış sonuç,
- Yorum,
- Öneriler (takip testi, ek analiz gerekliliği, aile analizleri gibi),
- Genetik danışma için yönlendirme,
- Birden fazla sayfa içeren raporlarda her sayfada hasta kimliği,
- Genetik hastalıklar tanı merkezi sorumlusunun adı ve imzası (imza, elektronik veya ıslak imza olabilir)
- Dip notta teknik bilgiler, kısıtlamalar, kullanılan eşik değerler belirtilir.

Kopya sayısı varyantlarının (CNV) da esas olarak genel popülasyon ile etkilenen bireyler arasındaki frekans farklarına dayanarak, patojenite olasılığı derecesine raporlandırılır.

Bir kopya sayısı varyasyonunun klinik önemini ve patojenitesini değerlendirmek için birçok kriter bulunmaktadır. Asgari olarak ise gerek refere edilişi sırasında, gerek analizde aşağıdaki verilerin elde olması ve veya analizin tamamlanması için parental numuneleri de dahil ederek ek test yapılması gereklidir:

- Dominant *de novo* veya kalıtsal varyantlar: Bu durumda ebeveynlerin fenotip bilgisi çok önemlidir;
- Resesif; bileşik heterozigot veya homozigot varyant;
- X kromozomal varyantlar;
- İmprint genler;
- Mozaiklik; Sadece hasta bireyde değil; zaman zaman veya ebeveynde de test etmek gerekebilir;
- Two hit CNV modeli;

Tüm bu bilgiler ışığında moleküler karyotiplemede bir CNV saptanması durumunda, saptanan değişimin değerlendirilmesi ve raporlandırılmasında aşağıdaki 5 kriterden yararlanılır.

1- Benign: Zararsız varyant

- a) duplikasyon ise ve dozaja hassas bir gen içermiyorsa,
- b) regülatör elementler içermiyorsa **zararsız varyant olarak kabul edilir ve rapor edilmez.**

2- Likely benign: Muhtemelen zararsız varyant

- a) sağlıklı ebeveynden kalıtılmış ise,
- c) Veritabanlarında tamamen sağlıklı bireylerde saptandığı gösterilmiş ise,
- d) CNV patolojik özelliği olmayan genler içeriyor ise, **zararsız olarak rapor edilir (henüz fonksiyonu bilinmiyor olabilir).**

3- Uncertain clinical relevance (uncertain significance): Klinik önemi belirsiz varyant

- a) klinikle ilişkili olduğu bilinen genleri içeriyor olmasına rağmen patojenitesi hakkında yeterli kanıt yoksa,
- b) işlevin belirsiz olduğu durumlarda (henüz potansiyel olarak aday genler) ancak DNA değişiminin doğası, işlevini etkileyebileceğini düşündürüyorsa,
- c) bilinen bir hastalığa neden olan genlerde olmasına rağmen klinik ile uyumsuz ise, **rapor edilmez (bölge zaman zaman yeni bilgiler ışığında analiz edilerek klinik bağlantı araştırılır).**

4- Likely pathogenic: Muhtemelen zararlı varyant

- a) delesyon ise,
- b) homozigot bir delesyon ise,
- c) bir amplifikasyon ise (tek bir kopya sayısı artışından fazla) **patojenik olma olasılığı yüksek olduğundan rapor edilmelidir.**

5- Pathogenic: Zararlı varyant

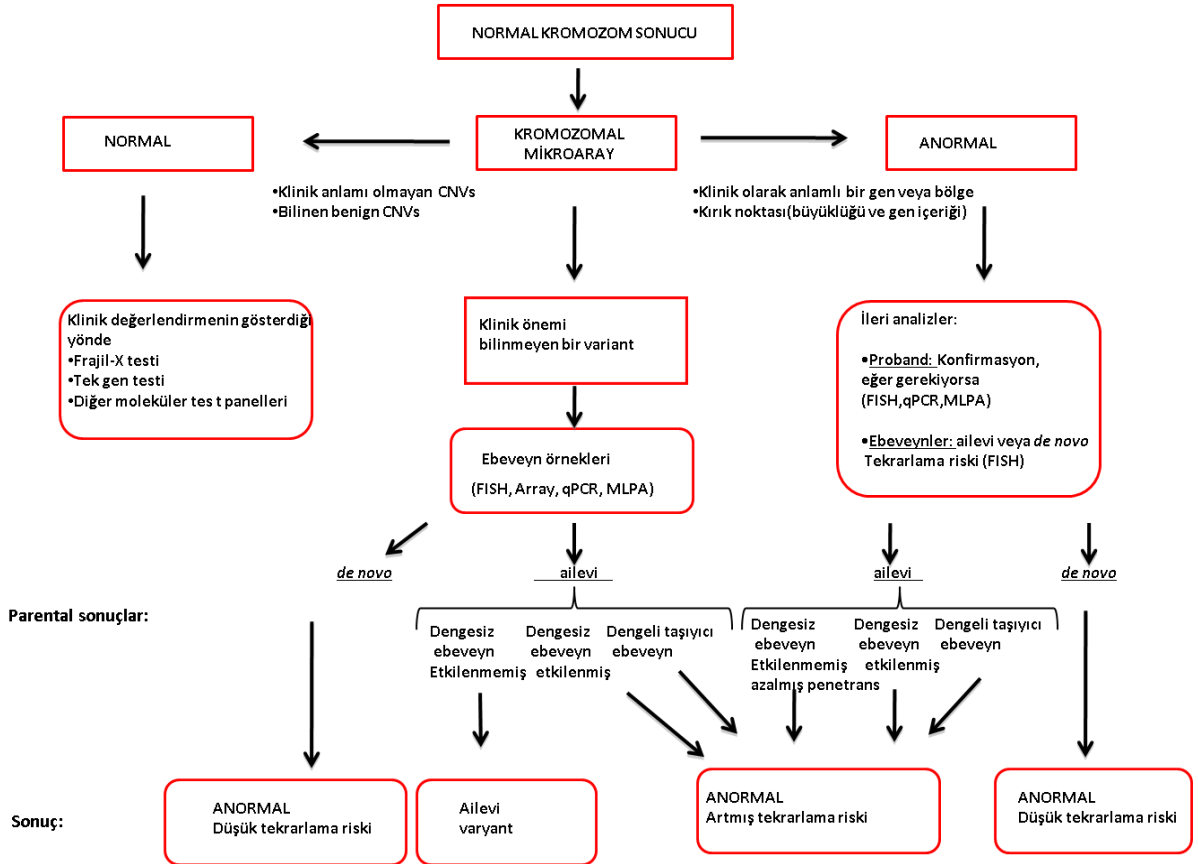
- a) Etkilenmiş bir ebeveynde gösterilirse,

- b) Ebeveynlerin herhangi birinde olup indekste değişime uğramış bir formda saptanmışsa,
c) Etkilenmiş aile bireylerinden herhangi birinde saptanmışsa,
d) CNV veritabanlarında (ISCA, DECIPHER, DGV vb) MKA/MR, gelişim geriliği olan olgularda bildirilmiş bir değişimle örtüşüyorsa,
e) Bilinen bir mikroadesyon/duplikasyon sendromuyla örtüşüyorsa,
f) CNV çok sayıda gen içeriyorsa ve OMIM ilişkili genlerin sayısı fazla ise, **patolojik olarak rapor edilir (literatür bilgileri ile birlikte).**

Diğer çok önemli bir nokta da **filtreleme kriterleridir**. Moleküler karyotipleme çalışmalarında saptanan değişimin gen içeriği ve klinik uyumu yanında boyutu da oldukça önemlidir. Araştırma olgularında her bir değişimin değerlendirilmesi söz konusu iken rutin analizlerde pre ve postnatal tanıda analize filtreleme eklenerek gereksiz sonuçlar elimine edilmelidir. 2019'da yayınlanan klavuzlarda bu sınır postnatal olgularda delesyonlar için 200kb, duplikasyonlar için 400kb, prenatal tanıda ise 400kb-600kb olarak güncellenmiştir.

Tüm bu sonuçlardan sonra aileye genetik danışma verilirken değişimin tipine göre tekrarlanma riskleri belirlenir. Tabloda konvansiyonel kromozom analizi normal sonuçlanan olgularda izlenecek moleküler karyotipleme akış şeması verilmiştir.

Tablo 2: Analiz akış şeması (Miller DT ve arkadaşlarından modifiye edilerek):



Gebelikte Yapılan Testlerde Saptanan CNV'lerin Raporlama Kararı

Varyantın patojenik olduğundan emin olunması ve klinik olarak anlamlı olması önemlidir.

Buna göre sözgelimi ultrason bulguları ile uyumlu bir varyantı, yukarıdaki kriterlerle birlikteliği (örneğin resesif hastalık genini ilgilendiren **homozigot** bir **patojenik** varyant saptanmış olması) raporlama için önemli bir kriter olmalıdır. Öte yandan otizm spektrum bozukluğuna yatkınlıkla ilişkilendirilen bir gende **tesadüfi bulgu olarak saptanan** bir CNV, özellikle ebeveynden kalıtılıyor ve literatürde sağlıklı bireyde de taşıyıcılık bildiriliyor ise ek kanıt olmadan raporlanması uygun olmayabilir. Bu durumda ailede hastalıklı birey varlığında, hastalığa sebep olduğu kanıtlanmış varyant aranıyorsa daha değerli bir bulgu olarak kabul edilebilir.

Raporlama özellikle prenatal numunelerde çok açık ve net olmalıdır. Standartlara uygun, nomenkaltürle uyumlu, hem klinisyenin, hem hastanın anlayabileceği bir rapor yazılma zorunluluğu mevcuttur. Nomenklatür, ISCN (International Standards for Cytogenomic Nomenclature)'nin en son versiyonu ile uyumlu kullanılmalıdır.

Doğru terminoloji kullanılarak, özellikle kalıtsal özellikler, patojenite sınıfı açık bir şekilde açıklanmalıdır. Özellikle zararsız ve muhtemelen zararsız varyantlar, özel durumlar hariç nihai rapora dahil edilmemelidir. Bu özel durumlara örnek olarak *NPHP1* geni gösterilebilir. *NPHP1* geninin heterozigot kopya sayısı varyantlarının Avrupa'da popülasyon sıklığı fazladır. *NPHP1* geninin, homozigot veya bileşik heterozigot patojenik varyantları ise otozomal resesif nefronofthisis tip I'e (OMIM # 256100) neden olmaktadır.

Önemi belirsiz varyantların da **prenatal** tanıda raporda yeri yoktur.

Doğrulanma zorunluluğu

Platform Çözünürlüğü, bildirilen CNV boyutlarının doğruluğu açısından önemlidir. Platformun tespit kapasitesi dışındaki varyantlar, klinik öneme sahip ve patojenik olarak bildirilmiş olsa bile doğrulanması gerekmektedir.

Bununla birlikte kalite kontrol değerleri yüksek bir analizden elde edilen bulgu, tespit kapasitesi ve pratik çözünürlüğü dahilinde IVD onaylı bir tarayıcıdan elde edildiği takdirde doğrudan raporlanabilir. Gebeliğin gidişatı ile ilgili kararı etkileyeceğinden konfirmasyon önerisi raporda yer alabilir.

Raporda yer alan CNV'nin içeriğindeki tüm genler yerine klinik özellikleri ile ilgili genlerin raporda listelenmesi daha uygun olacaktır.

Rapor edilen bulgunun hastanın kliniği ile uyumlu olup olmadığı açıkça belirtilmelidir. Raporda ilgili gen veya CNV ile ilgili daha fazla bilgi, mümkünse referans veritabanı girdileri (örneğin OMIM numaraları, DECIPHER kayıt numaraları) ve literatür dahil edilmesi yararlı olacaktır.

Referans, orijinal makaleyi kolayca tanımlayabilmesi için uygun bir formatta belirtilmelidir.

Figür ve Şemalar

Rapor gereğinden uzun veya kafa karıştırıcı bir hal almayacaksa, anormal bölge(ler)in ve gen içeriğinin şematik gösterimi, anlaşılabilirliği artırmak için faydalı olabilir.

Ek Test için Öneriler

Hasta ve veya ebeveynlerde uygun takip testini önermek ve bu spesifik testler için hangi numunelerin gerekli olduğunu açıkça belirtmek gereklidir.

AOH Bölgeleri

SNP array yöntemi uygulandığında heterozigotluk kaybı alanları da tespit edilebilmektedir. Bunlar klinik anlamı olup olmadığına göre raporlanmalıdır.

AOH bölge uzunluğu kesintisiz 10 Mb'lık ve uniparental dizomi (UPD) ile ilişkili genler içeren bölgedeyse raporlanarak ek çalışma önerilmeli ve anlamlı olup olmadığı araştırılmalıdır.

Klinik olarak ekzom testi için yol gösterici nitelikte olduğundan postnatal analizlerde homozigosite haritası rapor eki olarak paylaşılabilir. Bu amaçla otozomal genomda >%1 homozigosite alanları, resesif hastalık taraması için öncelikli seçilebilir.

Sonuç olarak laboratuvar prosedürlerinde AOH raporlama kriterleri iyi tanımlanmalı, raporda da teknik özellikler başlığı altında açıkça belirtilmelidir.

Tabloda raporlanması gereken AOH bölgeler ve genler yer almaktadır (Kearney HM ve ark. clin Lab med 2011;31:595-613).

Tablo 3 : Raporlanması gereken AOH bölgeleri

UPD ilişkili kromozom/kromozom bölgeleri, İmpirinting hastalıklar ve ilişkili genler					
kromozom	İmprinted lokus	Kalıtım	İlişkili hastalık	Majör klinik bulgu	Genler
6	q24	Paternal	6q24- ilişkili geçici yenidoğan Diabetes Mellitus	IUGR, yenidoğan hiperglisemisi	<i>PLAG1, HYMAI</i>
7	P11.2-p12 ve q32.2	Maternal	Russell-Silver Sendromu	İntrauterin ve Postnatal büyüme geriliği, üçgen yüz	<i>GRB10, MEST</i>
11	P15.5	Paternal (segment al)	Beckwith-Wiedemann endromu	Makrozomi, makroglossi, omfolosel, visceromegali	<i>IGF2,H19, CDKN1C, KCNQ1, KCNQ1OT1</i>
11	P15.5	Maternal	Russell-Silver Sendromu	İntrauterin ve Postnatal büyüme geriliği, üçgen yüz	<i>IGF2,H19, CDKN1C, KCNQ1, KCNQ1OT1</i>
14	q32.2	Maternal	Maternal UPD14 sendromu	Erken puberte, hipotoni, eklem laksitesi	<i>RTL1, DLK1</i>

14	q32.2	Paternal	Paternal UPD14 sendromu	İskelet anomalileri, eklem kontraktürleri, bilişsel yetersizlik	<i>RTL1, DLK1</i>
15	q11-q13	Paternal	Angelman sendromu	Ağır bilişsel yetersizlik, konuşma geriliği	<i>UBE3A</i>
		Maternal	Prader-Willi sendromu	Hipotoni, hipogonadizm, obezite	<i>SNRPN, MKRN, MAGEL2, NDN, U5snoRNAs</i>
20	q13.3	Paternal	Psödohipoparatiroidizm	Yenidoğanda hiperbilürubinemi, paratiroid hormon rezistansı	<i>GNAS</i>

Özel Kurallar

aCGH ve SNP array platformlarının çıktıları farklı olabildiğinden mutlaka refere edilmiş sebebine uygun yöntemin elde olup olmadığı baştan analiz edilerek, gerekirse uygunsuzluk bildirim yapılmalıdır. Tanı laboratuvarlarında kullanılan platformun **teorik çözünürlüğünü**, kullanılan probların sayısı (ülkemizde sağlık uygulama tebliğinde de asgari şartlar yer almaktadır) ve prob dizilim şekli net bir şekilde belirtmelidir. Probların birçoğu eşit aralıklarla yerleştirilmediğinden, hedeflenen ve omurga çözünürlüğü (backbone coverage) arasında ayırım yapan, mümkünse ve uygulanabilirse, “ortalama” çözünürlük belirtilebilir. İnsan genomunun yapısına bağlı olarak, bu ortalama çözünürlük, sentromerik ve heterokromatik bölgelerdeki tekrarlayan diziler gibi tüm bölgeler için elde edilemez.

Bir platformun **pratik çözünürlüğü** ise tespit etme yeteneği dahilindeki minimum büyüklükteki sapmaları ifade eder. Tespit kriterleri; yani, bir CNV'yi tespit edecek minimum prob boyutu ve sayısı ile bununla uyumlu raporlama kriterleri, yani bir CNV'nin büyüklüğü ve cinsi ile bunun gen içeriğini içeren **eşik değer** de laboratuvar standardına dahil edilmelidir.

Analiz için minimum DNA konsantrasyonu ve miktarı, kullanılan platforma bağlıdır, ancak DNA konsantrasyonu tercihen ≥ 50 ng / μ l'dir.

SNP-QC (SNP alel verilerinin kalitesi) gibi kalite belirteçleri, platforma da uygun şekilde belirlenmeli ve laboratuvar prosedürlerine eklenmelidir. CNV'lerin patojenitesini belirlemek için, daha önce bildirilen klinik olarak anlamlı varyantların taranması ile birlikte, sağlıklı kontrol kohortlarından ve veri tabanlarından çekilen popülasyon sıklığı bilgisine dayanacaktır. Bu amaçla “in-house”, yani laboratuvarların kendi veri kümeleri ile ulusal kayıt sistemleri de devreye sokulmalıdır.

SONUÇ

Genetik alanındaki her yeni teknolojik gelişme, beraberinde tıbbi bakımı iyileştirmek için teknolojiyi uygulama arzusunu da beraberinde getiriyor. Bir tanı testinin sağlık hizmeti sağlayıcısına rapor edilen sonuçların tanı ve tedavi için karar vermede kullanımı ancak doğru ve güvenilir olmasını sağlamakla mümkün olabilir. Mikroarray teknolojileri, tüm genomu hedefleyen, yüksek çözünürlüklü bir analiz imkanı

sağlar. Uzman, genetik analiz ile edilen sonucu raporlamanın sosyal, etik ve yasal sorumluluklarını göz önünde bulundurarak, klinik uyumluluk ile tanımlamak, yorumlamak ve raporlamak yükümlülüğüne sahiptir. Bu karmaşık bir iştir ve tıbbi uygulamadır. Kopya sayısı varyantlarının (CNV) yorumlanması için üretilmiş hiçbir yazılı veya otomatikleştirilmiş algoritma, genetik alanında yeterli eğitim, tecrübe ve bilginin yerini tutamaz. Kromozomal mikroarray analizininve raporlanmasının da uygun mesleki eğitim almış kişiler tarafından, denetlenen laboratuvarlarda yapılması tavsiye edilir.

aCGH ve SNP mikroarray tekniklerinin sınırları:

- Dengeli kromozomal yeniden düzenlenmeler (translokasyonlar, inversiyonlar) saptanamaz
- %10'un altındaki mozaikizm saptanamaz
- Ökromatin materyal içermeyen marker kromozomlar saptanamaz
- Tespit edilen dengesizliğin genomik koordinatları ve etkilenen genler belirlense de kromozomal lokasyonun belirlenmesi için karyotipleme ve FISH teknikleri uygulanmalıdır
- Uniparental dizomi ve triploidi/tetraploidi tanısı SNP array ile mümkündür
- 1 Mb'ın altındaki ve tanımlanmamış dengesizliklerin diğer tekniklerle (FISH, MLPA, çözünürlüğü daha yüksek bir başka kit/platform veya real time PCR) doğrulanması gerekir.

Ayrıca, daha detaylı bilgiye ACMG 2019 kılavuzundan ulaşılabilir.

Yararlanılan Kaynaklar:

- Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM, Kantarci S, Kearney H, Patel A, Raca G, Ritter DI, South ST, Thorland EC, Pineda-Alvarez D, Aradhya S, Martin CL; ACMG. Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med*. 2020 Feb;22(2):245-257. doi: 10.1038/s41436-019-0686-8. Epub 2019 Nov 6.
- Silva et al. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. *European Journal of Human Genetics* (2019) 27:1–16 <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0244-x>
- Claustres et al. ESHG recommendations for reporting results of diagnostic genetic testing (biochemical, cytogenetic and molecular genetic). *Eur J Hum Genet*. (2014);22:160–70.
- Schoumans et al. Guidelines for Genomic Array Analysis in Acquired Haematological Neoplastic Disorders. *Genes, Chromosomes & Cancer* (2016)55:480–491
- South et al. ACMG Standards and Guidelines for constitutional cytogenomic microarray analysis, including postnatal and prenatal applications: revision 2013. *Genetics in Medicine* (2013)15: 901–909.

- Kearney HM et al. Diagnostic implications of excessive homozygosity detected by SNP-based microarrays: consanguinity, uniparental disomy, and recessive single-gene mutations. *Clin Lab Med.* 2011 Dec;31(4):595-613.
- Miller DT¹, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010 May 14;86(5):749-64.