

Research Article / Araştırma Makalesi

Kronik Lenfositik Lösemi Olgularında *NOTCH1* Gen Amplifikasyonu
NOTCH1 Gene Amplification in Chronic Lymphocytic Leukemia

¹Sevgi Işık, ¹Gülçin Günden, ²Nur Oğuz Davutoğlu, ³Hülya Özen, ¹Ebru Erzurumluoğlu Gökalp, ¹Oğuz Çilingir, ¹Sevilhan Artan, ²Eren Gündüz, ¹Beyhan Durak Aras

¹Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

²Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Tıbbi Bilimler Bölümü, Ankara, Türkiye

Özet: Kronik lenfositik lösemi (KLL) ileri yaş hastalarda en sık gözlenen lösemi türü olup, hem klinik hem de genetik açıdan oldukça heterojen bir hastalıktır. Kronik lenfositik lösemi de tekrarlayan kromozom anomalilerinin prognostik önemleri uzun yıllardır bilinmekte olup, gen mutasyonlarının da klinik önemi açığa kavuşmaya başlamıştır. *NOTCH1* gen mutasyonları KLL'de en sık mutasyon gözlenen gen olup, tedavi direnci ve Richter Sendromuna dönüşüm ile ilişkilendirilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *NOTCH1* gen amplifikasyonları çeşitli kanser tiplerinde raporlanmıştır. Bizim daha önce izole delesyon 13q saptanan KLL vakaları ile yaptığımız bir çalışmada *NOTCH1* gen dizisini içeren kopya sayısı artışları mikroarray yöntemi ile saptanmıştır ancak klinik bulgular ile ilişkilendirilmemiştir. Biz de bu çalışmamızda çeşitli kromozomal anomalilere sahip ve daha fazla KLL olgusuna ait periferik kan örneklerinde *NOTCH1* gen kopya sayısı artışlarını FISH yöntemi ile incelemeyi ve KLL'nin klinik heterojenitesinde *NOTCH1* amplifikasyonunun etkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmaya dahil edilen 130 KLL vakasının 4'ünde FISH çalışması başarısızlıkla tamamlanmış olup, geriye kalan 126 olgunun hiçbirinde *NOTCH1* gen kopya sayısı değişikliği tespit edilmemiştir. Çalışmamız sonucunda KLL'nin klinik heterojenitesinde *NOTCH1* gen amplifikasyonlarının bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Ancak olgu grubumuzun büyük kısmının, iyi prognostik etkiye sahip sitogenetik belirteçlere sahip olması sebebiyle, kötü klinik seyir sahip, daha fazla sayıda KLL vakalarında *NOTCH1* gen kopya sayısının araştırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: KLL, FISH, *NOTCH1* gen amplifikasyonu

Abstract: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common type of leukemia observed in elderly patients and is a highly heterogeneous disease both clinically and genetically. The prognostic significance of recurrent chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia has been known for many years, and the clinical significance of gene mutations has begun to emerge. *NOTCH1* gene mutations are the most frequently mutated gene in CLL and are associated with treatment resistance and conversion to Richter Syndrome. In recent studies, *NOTCH1* gene amplifications have been reported in various cancer types. In a study we conducted with CLL cases with isolated deletion 13q, copy number increases containing the *NOTCH1* gene sequence were detected by microarray method, but they were not associated with clinical findings. In this study, we aimed to examine the *NOTCH1* gene copy number increases in peripheral blood samples of more CLL cases with various chromosomal anomalies by FISH method and to investigate the effect of *NOTCH1* amplification on the clinical heterogeneity of CLL. FISH study was completed unsuccessfully in 4 of 130 CLL cases included in the study, and *NOTCH1* gene copy number changes were detected in any of the remaining 126 cases. As a result of our study, it was concluded that *NOTCH1* gene amplifications have no effect on the clinical heterogeneity of CLL. However, since most of our case group has cytogenetic markers with good prognostic effect, it is necessary to investigate the *NOTCH1* gene copy number in more CLL cases with poor clinical course.

Keywords: CLL, FISH, *NOTCH1* gene amplifications

Received 18.07.2023

Accepted 08.12.2023

Online published 25.12.2023

ORCID ID of the authors: SI. [0000-0003-0243-784X](https://orcid.org/0000-0003-0243-784X), GG. [0000-0003-1707-1764](https://orcid.org/0000-0003-1707-1764), NOD. [0000-0003-3898-3527](https://orcid.org/0000-0003-3898-3527), HÖ. [0000-0003-4144-3732](https://orcid.org/0000-0003-4144-3732), EEG. [0000-0002-1275-5174](https://orcid.org/0000-0002-1275-5174), OÇ. [0000-0002-5593-4164](https://orcid.org/0000-0002-5593-4164), SA. [0000-0001-7658-6309](https://orcid.org/0000-0001-7658-6309), EG. [0000-0001-7455-2949](https://orcid.org/0000-0001-7455-2949), BDA. [0000-0003-1881-1912](https://orcid.org/0000-0003-1881-1912).

Correspondence: Sevgi IŞIK– Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

e-mail: sevgiozpolat@gmail.com

1. Giriş

Kronik lenfositik lösemi (KLL) batı ülkelerinde en sık gözlenen lösemi türü olup, insidansı 4,2/100.000/yıl'dır. Ortalama tanı yaşı 72'dir. Kemik iliğinde, monoklonal CD5+ B hücrelerin birikimi ve proliferasyonu ile karakterize olan KLL'de genetik anomaliler prognostik açıdan oldukça önemlidirler (1).

Kronik lenfositik lösemilerin %82'sinde kromozomal anomaliler saptanmakta olup, en sık gözlenen (%50) kromozomal anomali 13. kromozomun uzun kol delesyonları (del13q)'dur ve KLL'nin erken evrelerinde gözlenmekte olup, iyi prognosis ile ilişkilendirilmektedir. Kromozom 11 uzun kol delesyonları (del11q) %18, kromozom 17 kısa kol delesyonları (del17p) %7 oranında gözlenmekte olup, kötü prognostik etkiye sahiptirler. Trizomi 12 (+12) ise %16 oranında saptanmakta ve orta prognostik risk grubunda yer almaktadır (2).

Gelişen teknolojiler ile yapılan analizler sonucunda KLL'de tekrar eden mutasyonlar ve epigenetik değişimler tanımlanmaya başlamıştır. En sık (%2-20) mutasyon saptanan gen *NOTCH1* genidir. *NOTCH1* geni transmembranda yer alan bir reseptör kodlar ve ligand reseptöre bağlandıktan sonra *MYC* proto-onkogeni de dahil olmak üzere proliferasyon, metabolizma ve hücrenin hayatta kalması ile ilgili genleri aktive eder (3). *NOTCH1* gen mutasyonunun KLL vakalarında saptanma sıklığının değişkenlik göstermesi hastalık progresyonu ile ilişkilidir. *NOTCH1* mutasyonları ilerlemiş hastalık ve trizomi 12 ilişkili bulunmuştur (3).

NOTCH1 gen mutasyonu saptanmayan KLL vakalarının %3'ünde *FBXW7*'yi inhibe eden mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonlar *NOTCH1* sinyal yoluyla benzer bir fonksiyonel etki göstermektedir. Bu veriler, *NOTCH1*'in mutasyondan bağımsız şekilde KLL patogeneğinde etkili olabileceğini desteklemektedir (4).

NOTCH1 mutasyonlarının KLL'de onkogenik aktivite gösterdiği bilinmektedir (5). Ancak mutasyon saptanmayan KLL vakalarında da *NOTCH1* gen ekspresyonunun arttığı ve mutasyon pozitif vakalar ile aralarında

ekspresyon açısından bir farklılık olmadığı belirtilmektedir (6). Yapılan bir çalışmada *NOTCH1* mutasyonundan bağımsız olarak KLL vakalarındaki *NOTCH1* gen ekspresyonunun sağlıklı donörlere göre yüksek olduğu gösterilmiştir (7). Onkogenik aktiviteye sahip *NOTCH1* geninin aktivasyonundan sorumlu olan yollar hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. Çeşitli veriler KLL hücrelerinde ligand bağımlı mekanizmalar yoluyla mikro-ortam koşullarının bu süreci kontrol ettiği gösterilmiştir. *NOTCH1* ligandlarının eksprese edilmesi ile *NOTCH1* aktivitesinin, *NOTCH1* genindeki mutasyonlardan bağımsız olarak arttığı gösterilmiştir (8). Literatürde, *NOTCH1* gen ekspresyonunu transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör-kappa B'nin *NOTCH1*'in ligandı olan *JAGGED1*'in ekspresyonunu indükleyerek *NOTCH1* ekspresyonunun arttığı konusunda çelişkili bilgiler yer almaktadır (9, 10).

Gen ekspresyonunun artışına sebep olan mekanizmalardan birisi de kopya sayısı artışlarıdır ve *NOTCH1* gen amplifikasyonu çeşitli kanserlerde tespit edilmiştir (11-13). Daha önce izole del13q saptanan KLL vakaları ile yaptığımız bir çalışmada ise olguların %40'ında *NOTCH1* gen dizisinin dahil olduğu kopya sayısı artışları saptanmıştır. Ancak bu kopya sayısı artışları ile klinik veriler arasında bir ilişki saptanmamıştır (14).

Bu çalışmada *NOTCH1* gen amplifikasyonlarının KLL'nin klinik heterojenitesine etkisi olup olmadığını araştırmak amacıyla çeşitli kromozom anomalileri olan ya da sitogenetik açıdan normal olarak değerlendirilen KLL vakalarında *NOTCH1* kopya sayısı değişikliğini araştırmayı hedefledik.

2. Gereç ve Yöntem

Çalışmamıza, daha önce FISH yöntemi ile KLL paneli (del13q, del17p, del11q ve trizomi 12) çalışılması amacıyla periferik kan örneği gönderilen 130 KLL hasta örneği dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen olgular Türk popülasyonuna aittir.

Çalışmaya dahil edilen olguların daha önce KLL fish paneli çalışmaları için gönderilen periferik kan örneklerinden elde edilen peletler kullanılarak *NOTCH1* gen kopya sayısını değerlendirmek için FISH çalışması yapılmıştır.

NOTCH1 genini hedeflemek için *NOTCH1* amplifikasyon FISH probu (Cytocell) kullanılmıştır.

FISH testinin uygulanabilmesi için lamlar üzerine olgu peletleri damlatılmıştır. Daha sonra oda ısısında kuruması için bekletilmiştir. *NOTCH1* amplifikasyon probunun üreticinin önerisi doğrultusunda FISH protokolü uygulanmıştır. Preperatlar 37°C'de bir gece hibridizasyona bırakılmış olup, daha sonra post yıkamaları gerçekleştirilmiştir. Son olarak DAPI (4'-6'-diamidine2-phenylindole) ile karşıt boyama yapılarak, preperatlar -20C'de saklanmıştır. Analizler Olympus BC61 floresan mikroskop ile gerçekleştirilmiş olup, her bir olguda en az 200 hücre analiz edilmiştir. Cut-off değeri demir eksikliği anemisi olan beş sağlıklı bireyin periferik kan örneklerinde FISH testi uygulanarak %8 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamız girişimsel olmayan klinik etik kurul onayı (2020-394) ile gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular

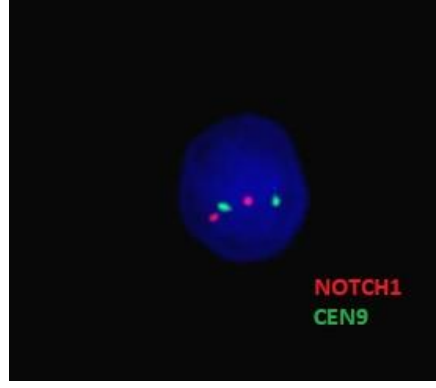
Çalışmaya dahil edilen 130 KLL olgusunun 83'ünü erkek, 47'sini kadın olgular oluşturmaktaydı. Yaş bilgisine ulaşılan 116 vakanın yaş ortalamaları 63,5 (38-91, ±11) idi.

NOTCH1 genini hedef alan FISH çalışması 126 olguda başarıyla sonuçlanmış olup, olguların tamamında *NOTCH1* kopya sayısı normal olarak değerlendirilmiştir (şekil 1).

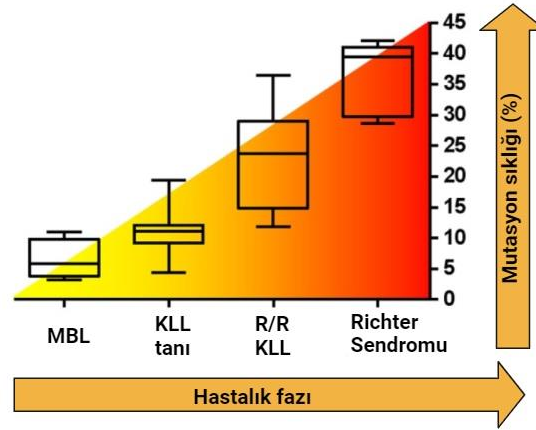
Olguların KLL fish paneli sonuçları incelendiğinde, 55 vakanın izole 13q, 12 vakanın izole trizomi 12, 3 vakanın izole del11q, 4 vakanın izole del17p anomalisine sahip oldukları saptandı. Ayrıca del13q saptanan 10 vakanın 5'ine del17p, 3'üne del11q ve 2'sine trizomi 12'nin eşlik ettiği, 1'er vakada da trizomi 12'ye del11q'nun ve del17p'nin eşlik ettiği gözlenmiştir. Bir vaka da hem del17p hem de del11q saptandığı ve geriye kalan 39 vakanın KLL FISH panelinin normal olarak değerlendirildiği tespit edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Olgulara ait klinik ve genetik bulgular

	<i>Sıklık</i>	<i>Yüzde</i>
Cinsiyet		
Kadın	47	36
Erkek	83	64
RAI evre		
Düşük (0,1,2)	48	86
Yüksek (4, 5)	8	14
Tedavi alımı		
Pozitif	21	44
Negatif	27	56
Genetik anomali (KLL FISH paneli)		
Normal	39	31
İzole del13q	55	44
İzole (+12)	12	10
İzole del17p	4	3
İzole del11q	3	2
Del13q + (+12)	2	1,5
Del13q + del17p	5	4
Del13q + del11q	3	2
(+12) + del17p	1	0,7
(+12) + del11q	1	0,7
Del17p + del11q	1	0,7



Şekil 1. *NOTCH1* genini ve sentromer 9'u hedef alan *NOTCH1* amplifikasyon FISH probu ile gerçekleştirilen FISH analiz sonucu



Şekil 2. *NOTCH1* mutasyon sıklığının hastalığın klinik zaman noktasına göre gösterdiği değişiklik. (MBL: monoklonal B hücreli lenfositöz, KLL: Kronik Lenfositik Lösemi, R/R: tekrarlayan/refrakter KLL) (Şekil 1 Rosati ve ark.'larının çalışmasından (6) modifiye edilmiştir.)

4. Tartışma

Kronik lenfositik lösemi en sık gözlenen lösemi türü olup, her etnik kökünde erkeklerde kadınlara göre daha sık tespit edildiği (1.9:1) bilinmektedir (15). Bizim çalışmamızda da erkek olguların sayısının fazla olması bu veri ile uyumluluk göstermekte olup, kadın ve erkek bireyler arasında karşılaştırmaya dayanan istatistiksel bir hipotez testi kullanılmadığı için bu durum bir bias sebebi olarak değerlendirilmemiştir.

Kronik lenfositik lösemi klinik olarak hastalık seyri ve tedavi yanıtları açısından oldukça heterojenite gösteren bir hastalık grubudur (16). Genetik anomaliler açısından da oldukça heterojenite gösteren KLL vakalarının %5-15

kadarı *NOTCH1* gen mutasyonu taşımaktadır ve bu mutasyonlar özellikle refrakter olgularda (%21) ve Richter's transformasyonu gerçekleşen vakalarda (%31) saptanmaktadır (şekil 2). *NOTCH1* geninde saptanan mutasyonlar sıklıkla PEST domaininde meydana gelmekte olup, kötü prognoz ve tedavi direnci ile ilişkilendirilmektedir (5).

NOTCH1 mutasyonlarının KLL'de onkogenik aktivite gösterdiği bilinmektedir (5). Ancak mutasyon saptanmayan KLL vakalarında da *NOTCH1* gen ekspresyonunun arttığı ve mutasyon pozitif vakalar ile aralarında ekspresyon açısından bir farklılık olmadığı

belirlenmektedir (6). Gen ekspresyonunun artışına sebep olan mekanizmalardan birisi de kopya sayısı artışlarıdır. *NOTCH1* geninin onkogenik aktivite gösterdiği kanser türlerinden birisi olan kolon kanseri vakaları ile yapılan bir çalışmada *NOTCH1* gen kopya sayısı artışlarının metastatik kolon kanseri vakalarında kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11). Yapılan bir başka çalışmada kanserle ilişkili fibroblastlarda *NOTCH1* gen amplifikasyonu ve overekspresyonu gösterilmiştir ve *NOTCH1* gen ekspresyonunun inhibe edilmesinin önleyici tedavi seçeneği olabileceği savunulmuştur (13). Entropati tip T hücreli lenfomalarda da *NOTCH1* geninin amplifikasyonu gösterilmiştir ve genomik DNA amplifikasyonlarının primer hedefinin *NOTCH1* geni olabileceğini savunmuşlardır (12). Prostat kanseri hastalarına ait idrar örneklerinden elde edilen serbest DNA moleküllerinin, tedavi yanıtı ve klinik sonuçların değerlendirilmesindeki etkinliğinin araştırıldığı çalışmada da *NOTCH1* gen amplifikasyonları tespit edilmiştir (17). Yapılan çalışmalarda *NOTCH1* gen amplifikasyonunun Notch sinyal yolağını aktifleyen mekanizmalardan birisi olduğu görülmektedir. Ancak bizim çalışmamızda *NOTCH1* kopya sayısı değişikliği saptanmaması KLL olgularında *NOTCH1* gen amplifikasyonlarının klinik heterojenite ile ilişkili olmadığını destekler niteliktedir. Fakat olgu grubumuzun büyük kısmını iyi prognostik belirtece sahip vakaların oluşturması, *NOTCH1* gen amplifikasyonlarının saptanmamasının sebeplerinden birisi olabileceğini düşündürmektedir. *NOTCH1* gen mutasyonlarının daha çok ileri evre ve tedavi direnci gösteren KLL vakalarında gözlenmesi Notch yolağının ileri evre hastalarda aktive edildiğinin bir göstergesi olabilir. Ayrıca Notch yolağı *NOTCH1* mutasyonlarının dışında, notch yolağında yer alan diğer gen mutasyonları ile ya da başka yollardaki

fizyolojik sinyaller sebebi ile de aktive edilebilmektedir (18). Bu veri de *NOTCH1* mutasyonu pozitif ve negatif vakalar arasında ekspresyon farkının gözlenmemesinin açıklayıcı bir nedeni olabilir. Bizim çalışmamızda olgu grubunun büyük kısmının iyi prognostik belirtçelere sahip olması sebebiyle, *NOTCH1* gen mutasyonu saptanmayan, daha fazla sayıda ileri evre KLL hastalarında *NOTCH1* gen amplifikasyonunun araştırılması ve *NOTCH1* gen mutasyonu saptanan vakalar ile klinik verilerinin karşılaştırılması çalışmalarının yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Daha önce yaptığımız çalışmada (14) saptanan *NOTCH1* gen kopya sayısı artışı saptanan vakalarda, FISH yöntemi ile kopya sayısı değişikliğinin saptanmamasının sebepleri arasında mikroarray yönteminin düşük mozaiklik oranına sahip kopya sayısı değişikliklerini saptamasındaki etkinliği konusunda net verilerin olmaması (19) yer alabilir. Ayrıca bazı vakalarda *NOTCH1* geninin tüm dizisinin artış göstermemesi de FISH yöntemi ile bu artışların saptanmamasına sebep olmuş olabilir.

Kronik lenfositik lösemide *NOTCH1* gen mutasyonu saptanmayan vakalarda Notch yolağının nasıl aktive edildiğinin açığa kavuşturulması yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesine yol açabilir. Bizim çalışmamız sonucunda *NOTCH1* gen amplifikasyonunun, özellikle iyi prognostik genetik belirteçlere sahip KLL vakalarında klinik heterojenite üzerinde bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır. Kronik lenfositik lösemi hastalarında bu klinik heterojenitenin açıklanması için *NOTCH1* gen mutasyonlarının dışında, notch yolağının aktive eden diğer mekanizmaların açıklanması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu gözlenmektedir.

KAYNAKLAR

1. Paul P, Stüssi G, Brusca A, Rossi D. Genetics and epigenetics of CLL. *Leuk Lymphoma*. 2023;64:551-63.
2. Rodríguez D, Bretónes G, Arango JR, Valdespino V, Campo E, Quesada V, et al. Molecular pathogenesis of CLL and its evolution. *Int J Hematol*. 2015;101:219-28.
3. Bosch F, Dalla-Favera R. Chronic lymphocytic leukaemia: from genetics to

- treatment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2019;16:684-701.
4. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015;526:525-30.
 5. Hernandez Tejada FN, Galvez Silva JR, Zweidler-McKay PA. The challenge of targeting notch in hematologic malignancies. *Front Pediatr*. 2014;2:54.
 6. Rosati E, Baldoni S, De Falco F, Del Papa B, Dorillo E, Rompietti C, et al. NOTCH1 Aberrations in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Front Oncol*. 2018;8:229.
 7. Di Ianni M, Baldoni S, Del Papa B, Aureli P, Dorillo E, De Falco F, et al. NOTCH1 Is Aberrantly Activated in Chronic Lymphocytic Leukemia Hematopoietic Stem Cells. *Front Oncol*. 2018;8:105.
 8. Arruga F, Gizdic B, Serra S, Vaisitti T, Ciardullo C, Coscia M, et al. Functional impact of NOTCH1 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2014;28:1060-70.
 9. Baldoni S, Sportoletti P, Del Papa B, Aureli P, Dorillo E, Rosati E, et al. NOTCH and NF- κ B interplay in chronic lymphocytic leukemia is independent of genetic lesion. *Int J Hematol*. 2013;98:153-7.
 10. Bash J, Zong WX, Banga S, Rivera A, Ballard DW, Ron Y, et al. Rel/NF-kappaB can trigger the Notch signaling pathway by inducing the expression of Jagged1, a ligand for Notch receptors. *Embo j*. 1999;18:2803-11.
 11. Arcaroli JJ, Tai WM, McWilliams R, Bagby S, Blatchford PJ, Varella-Garcia M, et al. A NOTCH1 gene copy number gain is a prognostic indicator of worse survival and a predictive biomarker to a Notch1 targeting antibody in colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2016;138:195-205.
 12. Cejkova P, Zettl A, Baumgärtner AK, Chott A, Ott G, Müller-Hermelink HK, et al. Amplification of NOTCH1 and ABL1 gene loci is a frequent aberration in enteropathy-type T-cell lymphoma. *Virchows Arch*. 2005;446:416-20.
 13. Katarkar A, Bottoni G, Clocchiatti A, Goruppi S, Bordignon P, Lazzaroni F, et al. NOTCH1 gene amplification promotes expansion of Cancer Associated Fibroblast populations in human skin. *Nat Commun*. 2020;11:5126.
 14. Isik S, Gunden G, Gunduz E, Akay OM, Aslan A, Ozen H, et al. An Anomaly with Potential as a New Prognostic Marker in CLL with del(13q): Gain of 16p13.3. *Cytogenet Genome Res*. 2021;161:479-87.
 15. Hallek M, Al-Sawaf O. Chronic lymphocytic leukemia: 2022 update on diagnostic and therapeutic procedures. *Am J Hematol*. 2021;96:1679-705.
 16. Arruga F, Vaisitti T, Deaglio S. The NOTCH Pathway and Its Mutations in Mature B Cell Malignancies. *Front Oncol*. 2018;8:550.
 17. Xia Y, Huang CC, Dittmar R, Du M, Wang Y, Liu H, et al. Copy number variations in urine cell free DNA as biomarkers in advanced prostate cancer. *Oncotarget*. 2016;7:35818-31.
 18. Pozzo F, Bittolo T, Tissino E, Zucchetto A, Bomben R, Polcik L, et al. Multiple Mechanisms of NOTCH1 Activation in Chronic Lymphocytic Leukemia: NOTCH1 Mutations and Beyond. *Cancers (Basel)*. 2022;14(12).
 19. Shaffer LG, Beudet AL, Brothman AR, Hirsch B, Levy B, Martin CL, et al. Microarray analysis for constitutional cytogenetic abnormalities. *Genet Med*. 2007;9:654-62.

Etik Bilgiler

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Girişimsel Olmayan Etik Kurulu'ndan onay alındı (Tarih: 29.09.2022, Sayı: 16)

Onam: Yazarlar retrospektif bir çalışma olduğu için olgulardan imzalı onam almadıklarını beyan etmişlerdir

Telif Hakkı Devir Formu: Tüm yazarlar tarafından Telif Hakkı Devir Formu imzalanmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Hakem değerlendirmesinden geçmiştir.

Yazar Katkı Oranları: Konsept: SI., BDA, GG. Dizayn: SI., BDA, GG. Veri toplama ve işleme: SI., GG., OMA., NOD., EG., HÖ., Analiz: SI. Literatür taraması: SI., BDA, GG, OÇ., EEG., SA., Yazım: SI., BDA.

Çıkar Çatışması Bildirimi: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Destek ve Teşekkür Beyanı: Bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiştir (TSA-2021-1668).