T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

NEDENİ AÇIKLANMAMIŞ MENTAL RETARDASYONU OLAN HASTALARDA MOLEKÜLER KARYOTİPLEME YÖNTEMİ İLE SUBMİKROSKOPİK KROMOZOMAL ANOMALİLERİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Büşranur ÇAVDARLI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. E. Ferda PERÇİN

ANKARA
HAZİRAN 2012

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

NEDENİ AÇIKLANMAMIŞ MENTAL RETARDASYONU OLAN HASTALARDA MOLEKÜLER KARYOTİPLEME YÖNTEMİ İLE SUBMİKROSKOPİK KROMOZOMAL ANOMALİLERİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Büşranur ÇAVDARLI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. E.ferda PERÇİN

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
SBE 01/2010-66 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA
HAZİRAN 2012

KABUL VE ONAY

11.06.2012

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Savunma Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Büşranur Çavdarlı
Baba Adı	Mustafa
Doğum Yeri/Tarihi	Sivas / Divriği 01.07.1983
Diploma Tarihi/Diploma No	29.06.2007 / 07311121
Mezun Olduğu Fakülte	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
İhtisas Süresi	Yıl: 4
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Dekanlık

UZMANLIK TEZİNİN ADI: Nedeni Açıklanmamış Mental Retardasyonu Olan Hastalarda Moleküler Karyotipleme Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Anomalilerin Araştırılması

JÜRİ KARARI: Başarılı

JÜRİ ÜYELERİ:

BAŞKAN

Prof.Dr.E.Ferda Perçin

ÜYE

Prof.Dr.Meral Mimilbeş Karaoğuz

ÜYE

Prof.Dr.Mehmet Ali Ergün

TEŞEKKÜR

Tıbbi Genetik asistanlığım boyunca uzmanlık eğitimim yanı sıra, sosyal ilişkiler, etik ve ahlaki değerler bakımından da bana tarifsiz katkıları olan hocalarımdan, başta tez danışmanım; akademik kişiliği, disiplini, çalışkanlığı ve dürüstlüğü ile hep örnek aldığım, benim için özel bir yeri olan sayın hocam Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.E.Ferda Perçin'e, tez çalışmalarım süresince emeğini ve bilimsel desteğini hiç esirgemediği, deneyimleriyle hep yanımda olduğu için çok teşekkür ederim. Haklarını ödeyemeyeceğim hocalarımdan; iş disiplini, bilimselliği ve eğitimciliğinin yanında sevgi ve şefkat ile bizleri yetiştiren, çok değerli hocam Prof.Dr.Meral Yirmibeş Karaoğuz'a ve sıkıntılı anlarımda kapısını çaldığım, asistanlığımın ve tezimin her aşamasında fikirlerine ve yardımlarına başvurduğum, sayın hocam Prof.Dr.Mehmet Ali Ergün'e emekleri için sonsuz teşekkür ederim. Kendisine akıl danışmaktan çekinmediğim, bir abla gibi bildiklerini paylaşan ve yol gösteren sayın Öğr. Gör. Dr. Esra Tuğ'a çok teşekkür ederim.

Birlikte sevgi, saygı, güven ve işbirliği içinde çalıştığım, hepsini tanımış olmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Altuğ Koç, Dr. Kadri Karaer, Dr. Özgür Erkal, Dr. Ayşegül Kaymak, Dr. Guyem Özgen, Dr. Abdullatif Bakır, Dr. Gülsüm Kayhan, Dr. Bayram Taşkın, Dr. Nihal Dilek, Dr. Taha Bahsi ve Dr. Hanife Çoban ile Bio.Işıl Küçün Kiraz, Uzm.Bio. Derya Karaer, Uzm.Bio. Sezen Güntekin, Uzm.Bio. Ebru Aytekin, Uzm.Bio.Elif Pala, Selma Karakılıç, Esra Küçük, ve sekreterimiz Mehtap Tırpan'a çok teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen, çocukları olmaktan gurur duyduğum canım anne ve babam ile; psikolojik danışmanlarım, zor durumda bile beni güldürmeyi başaran canım kardeşlerim Ayşegül, Erhan Çalışkan ve Ahmet Erozan'a çok teşekkür ederim.

Hayat arkadaşım, sevgili eşim Cemal Çavdarlı'ya hep yanımda olduğu için çok teşekkür ederim.

OĞLUM KEREM'E...

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER vi
KISALTMALAR ix
GENLERİN AÇIK İSİMLERİ xii
TABLOLAR DİZİNİ xv
ŞEKILLER DİZİNİ xvii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Zeka 3
2.1.1. Zekanın Tanımı 3
2.1.2. Zekanın Genetik Temeli 3
2.1.3. Zeka Ölçümünde Kullanılan Testler 4
2.2. Mental Retardasyon 6
2.2.1. Mental Retardasyonun Tanımı 6
2.2.2. Mental Retardasyon'un Epidemiyolojisi 7
2.2.3. Mental Retardasyon Sınıflandırması 8
2.2.4. Mental Retardasyon Etiyolojisi 9
2.2.5. Mental Retardasyonlu Olgulara Tanısal Yaklaşım 10
2.2.6. Mental Retardasyon'a Sebep Olan Genetik Nedenler 11
2.2.6.1. Kromozomal Anomaliler 12
2.2.6.1.1. Sayısal Kromozomal Anomaliler 13
2.2.6.1.2. Yapısal Kromozomal Anomaliler 16
2.2.6.2. Tek Gen Hastalıkları 21
2.2.6.2.1. X'e bağlı Mental Retardasyon 21
2.2.6.2.2. Metabolik Hastalıklar 23
2.2.6.3. Non-Mendeliyen Kalıtım 24
2.2.6.3.1. Mitokondriyal Hastalıklar 24

2.2.6.3.2. Uniparental Dizomi 25
2.2.6.3.3. Multifaktöriyel kalıtım sonucu oluşan Mental Retardasyon 25
2.2.6.4. Mental Retardasyon Oluşumunda Epigenetik Mekanizmaların Rolü 26
2.2.6.5. Genetik Varyasyonlar ve Mental Retardasyon ile İlişkileri 27
2.3. Mental Retardasyonun Sebebinin Araştırılmasında Kullanılan Genetik Yöntemler 31
2.3.1. Subtelomerik FISH Yöntemi 32
2.3.2. Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu 33
2.3.3. Mikroarray Teknolojisi ve Moleküler Karyotipleme 34
2.4. Array Tabanlı Sistemlerin Mental Retardasyon Araştırmalarında Kullanımı 38
3. GEREÇ VE YÖNTEM 43
3.1. OLGULAR 43
3.1.1. Olgu 1 43
3.1.2. Olgu 2 45
3.1.3. Olgu 3 47
3.1.4. Olgu 4 48
3.1.5. Olgu 5 51
3.1.6. Olgu 6 53
3.1.7. Olgu 7 54
3.1.8. Olgu 8 56
3.1.9. OLGU 9 58
3.2. DNA ELDESİ 60
3.2.1. DNA Eldesi İçin Gerekli Malzemeler 60
3.2.2. DNA Eldesi Yöntemi 60
3.3. CYTO 2.7 MARKER ASSAY ARRAY ÇALIŞMASI 61
3.3.1. Tüm Genom Amplifikasyonu 63
3.3.2. Pürifikasyon 65
3.3.3. Fragmantasyon- İşaretleme 66

3.3.4. Hibridizasyon 68
3.3.5. Yikama, Boyama ve Arraylarin Taranmasi 69
3.3.6. Sonuçlarin Değerlendirilmesi 71
4. BULGULAR 73
4.1. Olgu 1 73
4.2. Olgu 2 76
4.3. Olgu 3 78
4.4. Olgu 4 80
4.5. OLGU 5 84
4.6. Olgu 6 87
4.7. Olgu 7 90
4.8. Olgu 8 91
4.9. Olgu 9 94
5. TARTIŞMA 97
6. SONUÇ 125
7. KAYNAKLAR 127
8. ÖZET 143
9. SUMMARY 145
10. ÖZGEÇMİŞ 146

KISALTMALAR

AD	Anabilim Dalı
A-	Arrray
BAC	Bakteriyel artık kromozomlar (Bacterial Artificial Chromosomes)
bç	Baz çifti
Bkz	Bakınız
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
BT	Bilgisayarlı Tomografi
ºC	Derece
CGH	Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (Komperatif genomik hibridizasyon
CNV	Kopya sayısı değişikliği (Copy Number Variation)
CNP	Copy number polymorphism
DECIPHER	DatabasE of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembel Resources
Del	Delesyon
DGV	Database of Genomic Variants
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Zihinsel Bozukluklar için Tanı ve İstatistik El Kitabı)
Dup	Duplikasyon

ECAR UCA	European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations
EDTA	Etilen diamin tetra asetikasit
EEG	Elektroensefalogram
FISH	Floresan *in situ* Hibridizasyon
gr	Gram
HRB	High Resolution Banding
IQ	Zeka katsayısı (intelligence quotient)
Kb	Kilobaz
KN	Kırık Noktası
LCR	Low Copy Repeat
LOH	Loss of Heterozygosity (Heterozigosite kaybı)
lt	Litre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
M	Molar
MA	Zeka yaşı (Mental Age)
MAPH	Multiplex amplifiable probe hybridization
Mb	Megabaz
MCA	Çoklu doğumsal anomali (Multiple konjenital anomali)
MLPA	(Multiplex Ligation Probe Amplification)
MR	Mental retardasyon
MRI	Manyetik Rezonans Imaging
ng	Nanogram

OMIM	On-Line Mendelian Inheritance in Man
RNA	Ribonükleik asit
Rpm	Dakikadaki devir sayısı
SDS	Sodyumdodesil Sülfat
SNP	Tek nükleotit polimorfizmi (Single Nükleotit Polimorphism)
STR	Simple Tandem Repeat
U	Ünite
U.V	Ultraviyole
UPD	Uniparental Dizomi
XLMR	X'e Bağlı Mental Retardasyon
VNTR	Variable Number of Tandem Repeat

GENLERİN AÇIK İSİMLERİ

Gen	Genin Açık İsmi	OMIM Numarası
ABCC6	ATP- BINDING CASSETTE, SUBFAMILY C, MEMBER 6	603234
ABHD14A	Abhydrolase domain containing 14A	-
ABHD14B	abhydrolase domain containing 14B	-
ACY1	AMINOACYLASE 1	104620
ACY1D	AMINOCYLASE 1 DEFICIENCY	609924
ALDH1L1	ALSEHYDE DEHYDROGENASE 1 FAMILY, MEMBER L1	600249
ARHGEF6	RHO GUANINE NUCLEOTIDE EXCHANGE FACTOR 6	300267
ATRX	ATR-X GENE	300032
C3ORF74	Chromosome 3 open reading frame 74	-
CBX2	CHROMOBOX HOMOLOG 2	602770
CC2D1A	COILED-COIL AND C2 DOMAINS-CONTAINING PROTEIN 1A	610055
CDH15	CADHERIN 15	114019
CDH23	CADHERIN 23	605516
CEL	CARBOXYL-ESTER LIPASE	114840
CHRND	CHOLINERGIC RECEPTOR, NICOTINIC, DELTA POLYPEPTIDE	100720
COL1A1	COLLAGEN, TYPE I, ALPHA-1	120150
COL5A1	COLLAGEN, TYPE V, ALPHA-1	120215
CREB1	cAMP RESPONSE ELEMENT-BINDING PROTEIN 1	123810

CYP27B1	CYTOCHROME P450, SUBFAMILY XXVIIB, POLYPEPTIDE 1	609506
DBH	DOPAMINE BETA-HYDROXYLASE	609312
DLG3	DISCS LARGE, 3	300189
DUSP7	DUAL-SPECFICITY PHOSPHATASE 7	602749
EHMT1	EUCHROMATIC HISTONE METHYLTRANSFERASE 1	607001
FMR1	FRAGILE X MENTAL RETARDATION GENE 1	309550
FMRP	FRAGILE X MENTAL RETARDATION PROTEIN	309550
GABRB3	GAMMA-AMINOBUTYRIC ACID RECEPTOR, BETA-3	137192
GALNS	GALACTOSAMINE-6-SULFATE SULFATASE	612222
GDI	GDP DISSOCIATION INHIBITOR 1	300104
GPR62	G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR 62	606917
MECP2	METHYL-CpG-BINDING PROTEIN 2	300005
NDE1	NUDE, A. NIDULANS, HOMOLOG OF, 1	609449
NIPA1	NONIMPRINTED GENE IN PRADER-WILLI SYNDROME/ANGELMAN SYNDROME CHROMOSOME REGION1	608145
NLGN4	NEUROLIGIN 4	300427
NOMO3	NODAL MODULATOR 3	609159
NTAN1	N-TERMINAL ASPARAGINE AMIDASE	??????
PAK3	PROTEIN-ACTIVATED KINASE 3	300142
PARP3	POLY(ADP-RIBOSE) POLYMERASE 3	607726
PCBP4	POLY(rC)-BINDING PROTEIN 4	608503
PGC	PEPSINOGEN C	169740
POC1A	Centriolar protein homolog A	-
POTEB	POTE ANKYRIN DOMAIN FAMILY, MEMBER B	608912

PPP1R9B	PROTEIN PHOSPHATASE 1, REGULATORY SUBUNIT 9B	603325
PRDM16	PR DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 16	605557
RAE1	RNA EXPORT 1, S.POMBE, HOMOLOG OF	603343
RBM38	RNA-BINDING MOTIF PROTEIN 38	612428
RPL29	RIBOSOMAL PROTEIN L29	601832
RPS6KA3	RIBOSOMAL PROTEIN S6 KINASE, 90-KD, 3	300075
RRP9	Ribosomal RNA processing	
SARDH	SARCOSINE DEHYDROGENASE	604455
SGCA	SARCOGLYCAN, ALPHA	600119
SLC41A3	SOLUTE CARRIER FAMILY 41, MEMBER 3	610803
SLC6A8	SOLUTE CARRIER FAMILY 6(NEUROTRANSMITTER TRANSPORTER, CREATINE), MEMBER 8	300036
SYN1	SYNAPSIN I	313440
TFEB	T-CELL TRANSCRIPTION FACTOR EB	600744
TMEM132D	TRANSMEMBRANE PROTEIN 132D	611257
WWOX	WW DOMAIN-CONTAINING OXODOREDUCTASE	605131
ZNF41	ZINC FINGER PROTEIN 41	314995
ZNF674	ZINC FINGER PROTEIN 674	300573
ZNF81	ZINC FINGER PROTEIN 81	314998

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 2.1. MR sebeplerinin ortaya çıktığı döneme göre sınıflandırılması 9

Tablo 2.2. MR'ye neden olan genetik nedenler 12

Tablo 2.3. Klinik olarak tanınabilen mikrodelesyon sendromları 19

Tablo 2.4. X'e bağlı kalıtılan MR hastalıklarının genel sınıflandırılması 22

Tablo 2.5. İnsan genomundaki yapısal ve dizi varyasyonları 29

Tablo 2.6. Hastalıklarla ilişkilendirilmiş CNV örnekleri 30

Tablo 2.7. Subtelomerik değişimleri göstermekte kullanılabilecek yöntemlere genel bakış 33

Tablo 3.1. Olgu 4'ün kardeşlerinin klinik bulgularının özeti 51

Tablo 3.2. Isı döngüleyicide uygulanan amplifikasyon programı 64

Tablo 3.4. Isı döngüleyicide uygulanan denatürasyon programı 68

Tablo 3.5. Yıkama ve Holding Bufferların Tüplere bölünmesi 71

Tablo 4.1. Olgu 1'de bulunan değişiklikler ve özellikleri 74

Tablo 4.2. Olgu 2'de moleküler karyotipleme sonucu bulunan değişiklikler ve özellikleri 76

Tablo 4.3. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 3'de bulunan değişiklikler ve özellikleri 78

Tablo 4.4. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 4'te bulunan değişiklikler ve özellikleri 80

Tablo 4.5. Olgu 4 ve iki kardeşinde yapılan moleküler kayotipleme sonucu tespit edilen ortak değişiklik bölgeleri ve özellikleri 83

Tablo 4.7. Moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 6'da bulunan CNV'ler ve özellikleri. 88

Tablo 4.8. Moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 7'ye ait değişiklikler ve özellikleri 90

Tablo 4.9. Olgu 8'de bulunan değişiklikler ve özellikleri 92

Tablo 4.10. Olgu 9'da bulunan değişiklikler ve özellikleri 94

Tablo 5.1. Moleküler karyotipleme sonucunda 1p36.32 bölgesinde kazancı olan Olgu 1, 2, 6, 9'un ve veri tabanlarında örtüşen kazancı bulunan olguların özellikleri..... 102

Tablo 5.2. Moleküler karyotipleme sonucunda 15q11.1-11.2 bölgesinde kaybı olan Olgu 3 ve 9 ile veri tabanlarında örtüşen kaybı bulunan olguların özellikleri 106

Tablo 5.3. Moleküler karyotipleme sonucunda 15q11.1-11.2 bölgesinde kazancı olan Olgu 5 ile veri tabanlarında örtüşen kazancı bulunan olgunun özellikleri 109

Tablo 5.4. Moleküler karyotipleme sonucunda 16p13.11 bölgesinde kaybı olan Olgu 6, 8, 9 ile veri tabanlarında örtüşen kaybı bulunan olguların özellikleri..... 113

Tablo 5.5. Olgu 9 da saptanan 16. Kromozomun p12.3 lokusunda bulunan kayıp bölgesini içeren vakaların karşılaştırılması..... 114

Tablo 5.6. Olgu 9'da 3p21.2 lokusundaki kazanç bölgesi ve bu bölgeyle örtüşen kazançları bulunan vakaların karşılaştırılması..... 120

Tablo 5.7. Olgu 9'da 20q13.31 lokusundaki kazanç bölgesi ve bu bölgeyle örtüşen kazançları bulunan vakaların karşılaştırılması..... 122

ŞEKILLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 2.1. Mental retardasyon ve /veya çoklu konjenital anomalileri olan bireylerde bulunan CNV'lerin klinik olarak değerlendirilmesi..... 41

Şekil 3.1. Olgu 3 (IV-4)'e ait aile ağacı 48

Şekil 3.2. Olgu 4 (III-5)'e ait aile ağacı. Ok probandı işaret etmektedir. 50

Şekil 3.3. Olgu 8'in fizik muayene ve dismorfik bulguları. 57

Şekil 3.4. Array 2.7 çalışmasının basamakları 62

Şekil 3.5. **a)** Array çipinin görüntüsü **b)** Örneklerin küçük bölmelere yüklenişi. 69

Şekil 4.1. Olgu 1'de bulunan 1. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi. 74

Şekil 4.2. Olgu 1'de bulun 3. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi 75

Şekil 4.3. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 2'de bulunan değişikliklerin karyogramdaki görüntüsü. 77

Şekil 4.4. Olgu 2'nin 16. kromozomunda bulunan kazanç bölgesinin segment olarak görüntüsü..... 77

Şekil 4.5. Olgu 3'e ait moleküler karyotipleme sonuçlarının karyogramdaki görüntüsü ile 15. kromozoma ait kayıp bölgesinin segment analizi 79

Şekil 4.6. Olgu 3'ün 16. kromozomuna ait kazanç bölgesi 79

Şekil 4.7. Olgu 3'ün 13. kromozomundaki kayıp bölgesi; segment analizinde gen içermediği görülmektedir. 80

Şekil 4.8. Olgu 4 ve 2 kardeşinde yapılan çalışma sonucunda 6. kromozomda bulunan kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak görüntüsü 84

Şekil 4.9. Olgu 4 ve 2 kardeşinde yapılan çalışma sonucunda 16. kromozomda bulunan kayıp bölgesinin lokus ve segment olarak görüntüsü 84

Şekil 4.10. Olgu 5'e ait moleküler karyotipleme 85

Şekil 4.11. Olgu 5'de bulunan 22. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi 86

Şekil 4.12. Olgu 5 ve annesinin 15. kromozoma ait kazanç bölgesi açısından karşılaştırılması 87

Şekil 4.13. Olgu 6'da bulunan 8. kromozomun sentromerindeki kazanç bölgesi 89

Şekil 4.14. Olgu 7'de moleküler karyotipleme sonucu bulunan 7. kromozoma ait kayıp bölgesi 91

Şekil 4.15. Olgu 8'de tespit edilen 9q34.2-q34.3 duplikasyon bölgesinin karyogram ve segment analizi görüntüsü 93

Şekil 4.16. Olgu 9'un 16 numaralı kromozomunun kısa kolunda tespit edilen ardışık 3 kayıp bölgesinin segment analizindeki görüntüsü 95

Şekil 4.17. Yapılan çalışmada bulunan sonuçların analizinde kullanılan algoritma 96

1. GİRİŞ

Mental retardasyon kişinin temel bakım, uyum, ve sosyal becerilerinde bozulma ile algılama kapasitesinin azalmasıdır (1). Mental retardasyon tek başına bulunabileceği gibi çeşitli doğumsal anomaliler veya dismorfik yüz bulguları ile birlikte de seyredebilir. Genel olarak toplumda nadir görülen mental retardasyon, eşlik edebilecek ek anomaliler ile birlikte etiyolojik spektrumu geniş olan bir hastalık gurubudur. Bu hastalık gurubunun henüz %50-80'inde herhangi bir neden bulunamamıştır (2-3).

Mental retardasyonun sebepleri arasında en büyük yeri genetik hastalıklar oluşturmaktadır. Etiyolojisinde genetik neden düşünülen mental retardasyonlu hastalarda, konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle sayısal kromozomal anomaliler ve 5 Mb'dan büyük olan yapısal kromozomal düzensizlikler tespit edilebilmektedir (4). Kromozom analizi normal, fakat klinik bulguları belirli bir mikrodelesyon sendromuyla uyumlu olan hastalarda, özel olarak hazırlanmış lokus spesifik probların kullanıldığı flouresan in situ hibridizasyon yöntemi (FISH) ile tanıya gidilebilmektedir (5). Karyotip analizi normal, fakat bulgularıyla herhangi bir genetik sendrom ile ilişkilendirilmeyen hasta grubu "nedeni açıklanamamış" olarak değerlendirilmektedir. Bu hastalarda öncelikle kromozomal değişikliklerin daha sık olabildiği telomer bölgelerine uygun FISH problarıyla tüm kromozomların subtelomerik bölgeleri araştırılmaktadır. Subtelomerik FISH analizi ile bu gruptaki hastaların yaklaşık %4,5'unun

etiyolojisi açıklanabilmektedir (6). İntersitisyel bölgelerde bulunan küçük delesyon ve duplikasyonların aydınlatılması için ise daha yüksek çözünürlükte konvansiyonel ve moleküler sitogenetik teknikleri birleştiren yöntemler kullanılmalıdır (2). Bu yöntemler arasında bulunan ve son yıllarda gelişen mikroarray teknolojisi, karyotipi normal olup kliniği belirli bir sendrom ile örtüşmeyen, mental retardasyonu olan hastalarda, submikroskobik kromozomal değişimleri saptamada duyarlılığı oldukça yüksek olan bir yöntemdir (4).

Array bazlı sistemler; sitogenetik tanıyı mikroskoptan bilgisayara taşıyan, aynı anda genomda bilinmeyen binlerce bölgeyi tarayıp dengesiz karyotipleri saptayan, FISH'in lokus spesifik özelliği ile yüksek çözünürlükle kromozomların tüm genomunu gösteren yöntemlerdir. Özellikle gelişme geriliği, mental retardasyon ve pre/postnatal çoklu konjenital anomalilerin tanısında çok büyük önem taşımaktadır (7).

Bu çalışma ile sebebi açıklanamayan mental retardasyonu ve/veya çoklu doğumsal anomalisi olan, kromozom analizi ve subtelomerik FISH analizi normal bulunan 9 hastanın tüm genomu "Affymetrix Genome Wide Human SNP Array 2.7" ile taranarak, diğer yöntemler ile saptanamayan mikrodelesyon ve duplikasyonlar yönünden araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Zeka

2.1.1. Zekanın Tanımı

Zeka tanımı itibariyle göreceli bir kavram olup farklı zaman dilimlerinde, farklı toplumlarda ve farklı disiplinlerde farklı biçimlerde tanımlanmıştır. Kimilerine göre zeka bilimsel bir kavram olmaktan çok insanların icat ettiği kültürel bir kavramdır. Uzmanların çoğu zekayı "bilişsel yetenek" olarak düşünürken, bazıları da "gerçek yaşamda karşılaşılan sorunları çözme" şeklinde tanımlamaktadır. Zeka, "amaca yönelik uyumsal davranış" olarak da açıklanabilir. Sonuç olarak; problem çözme, sebep bulma, özet düşünme, programlama, deneyimle öğrenebilme becerisi ve kişinin yaşadığı çevreyi anlayabilme kapasitesi bir bütün olarak zekayı oluşturmaktadır (8).

Bireyin varlığını oluşturan temel unsurlardan biri olan zeka, bireyin genetik yapısı ve fizyolojik gelişiminin yanısıra, dış uyaranlardan ve içinde bulunduğu ortamdan da etkilenmektedir (9).

2.1.2. Zekanın Genetik Temeli

Zeka, genom boyunca farklı bölgelerde tanımlanmış çok sayıda gen ile çevrenin etkileşimi sonucu gelişen multifaktöriyel/poligenik kalıtımlı bir özelliktir. Beyinde bulunan nöronların öğrenerek iç yapısını değiştirmesi ve sinaps sayılarını artırmasıyla nöron ağının genişlemesi sonucu zeka gelişmektedir. Zeka gelişiminde bugüne kadar çok sayıda gen bildirilmiş olup, bu genler çoğunlukla

nöron iskeletini meydana getiren akson ve dendrit yapılarını oluşturan, nöronda iletimi sağlayan, sinaptik fonksiyonları düzenleyen aktin filamanlarının yapısında ve görevlerinin düzenlenmesinde görev alan proteinleri eksprese etmektedirler (10). Zeka gelişimi ile ilişkili ilk tanımlanmış genlerden olan GDI, PAK3, ARHGEF6 genleri RhoGTPaz yolağında; RPS6KA3, ATRX genleri kromatin yeniden şekillenmesinde; SYN1, SLC6A8, NLGN4 ve DLG3 genleri nöronlar arasındaki sinaptik fonksiyonda; ZNF41, 81 ve 674 genleri ise transkripsiyon faktörü olarak görev yapmaktadır (11). Yani zeka, genomdaki çok sayıda genin birçok yolağı düzenlemesi ve bunlara çevreden gelen uyarıların eklenmesiyle gelişmektedir. Zekayı etkileyen yukarıda belirtilen genler ve çevresel etmenler ile henüz tespit edilmemiş genlerde meydana gelebilecek değişiklikler zekanın gelişimini etkilemektedir.

2.1.3. Zeka Ölçümünde Kullanılan Testler

Zekanın soyut bir kavram olması, ölçülmesi konusunda zorluklara sebep olmaktadır. Zeka ölçümü için ilk psikolojik ölçek Fransız psikolog Alfred Binet ve arkadaşı Theodore Simon tarafından 20. yüzyılın başlarında tasarlanmıştır. Bu ölçekte; çocukların ortalama yeteneklerinin anlaşılmasında, eğitimle değil de deneyimle öğrenebilecekleri başlıklar bulunmakta ve bu konu başlıkları da yaş seviyelerine göre ayrılmaktaydı. Örneğin 6 yaşında bir çocuk, 6 yaş ölçeğinde % 60-70 başarılı olurken, 5 yaşında bu başarının % 40-50'si, 7 yaşında ise %80-90'ı sağlanabilmekteydi. Bu testin tamamlanmasıyla çocukta bir "Mental Age"(MA,

zeka yaşı) belirlenmekteydi. Buna göre, 6 yaşındaki bir çocuk kendi yaş ölçeğini başarıyla tamamlarsa MA: 6.0 olarak hesaplanmaktaydı (12).

Bu dönemde gelişen diğer bir kavram olan zeka oranı (IQ: intelligence quotient) ise zeka yaşının takvim yaşına bölünüp 100 katsayısı ile çarpılmasıyla elde edilmişti. Bu durumda zeka yaşı kronolojik yaşına eşit olan kişinin IQ değeri 100 olarak hesaplanırken; zeka yaşının kronolojik yaştan küçük olması 100'den düşük, büyük olması ise 100'ün üzerinde bir IQ değerini göstermekteydi (12).

Binet ve Simon'un prensibine göre hazırlanmış ilk Stanford- Binet Zeka ölçeği 1916'da Stanford Ünivesitesi'nde psikolog Lewis Therman tarafından yayımlanmıştır. 1937'de yine Stanford Ünivesitesi'nde psikolog Maud Merill tarafından ölçeğin yeni baskısı yayımlanmış ve bu ölçekte uygulama hatalarını önlemek için tekrarlanılan L ve M formu yeralmıştır (12).

1960'da Stanford- Binet ölçeğinin yeniden revizyonu ile IQ hesaplanmasında kullanılan zeka yaşının kronolojik yaşa bölünmesi yerine, zeka yaşının normalden sapmasına dayalı IQ değerleri kullanılmaya başlanmıştır. Wechsler tarafından yayımlanan yetişkinlerde kullanılan "Erişkinler için Wechsler Zeka Ölçeği (Wechsler Adult Intelligence Scale, WAIS)" ve çocuklarda zeka ölçümü için kullanılan "Çocuklar için Wechsler Zeka Ölçeği (Wechsler Intelligence Scale of Children, WISC)" ise toplum içindeki zeka düzeylerini bir çan eğrisi modeli ile değerlendirmiştir (13). Flynn etkisi olarak adlandırılan toplumdaki zeka düzeyinin, teknolojinin gelişmesi ile görsel, işitsel ve sosyal uyaranların artmasına bağlı olarak yükselmesi, zeka ölçümü testlerinin belirli

aralıklarla güncellenmesini gerektirmektedir (14). Bundan dolayı günümüzde halen WAIS ve WISC testlerinin (Wechsler 1949, 1991, 2003, 2008) 2008'de yayımlanan son versiyonu kullanılmaktadır. Günümüzde kullanılan popüler zeka ölçeklerinden; "Denver Gelişim Envanteri", "Ankara Gelişim Tarama Envanteri (AGTE)" ve "Stanfort-Binet testi" klinik uygulamalarda yer almaktadır (15).

2.2. Mental Retardasyon

2.2.1. Mental Retardasyonun Tanımı

Mental Retardasyon (MR- zeka geriliği, öğrenme güçlüğü) kavramının geçerli ve sıklıkla kullanılan iki tanımı vardır (1):

a) Amerikan Psikiatri Derneği'nin (American Psychiatric Association) "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Zihinsel Bozukluklar için Tanı ve İstatistik El Kitabı, DSM-IV)" isimli kitabında bu kavram "zeka geriliği" adıyla çocukluk ya da ergenlikte tanısı konan bozukluklar başlığı altında yer almaktadır ve bu tanım çerçevesinde MR'nin özellikleri şu şekilde sıralanmaktadır:

- Genel zihinsel işlevselliğinin anlamlı olarak normalin altında olması,
- Zihinsel işlevselliğin normalin altında olmasına bağlı olarak uyum işlevlerinde (iletişim, özbakım, ev yaşamı, toplumsal/ kişiler arası beceriler, toplumsal olanakları kullanma, kendini yönetip yönlendirme, okul işlevselliği) yetersizlik ve bozuklukların olması,
- Başlangıç yaşının 18'den önce olması.

Yukarıda sıralanan kriterleri sağlayan bireye MR tanısı konulmaktadır. Genel zihinsel işlevsellik olarak, bireysel zeka testlerinden elde edilen zeka bölümü puanı temel alınmaktadır. Genel zihinsel işlevselliğinin anlamlı olarak normalin altında olması ise test puanının 70'in altında kalmasıdır.

b) Amerikan Zihinsel Özürlüler Derneği'nin (American Association for Mental Deficiency- AAMD) tanımı: Ortalamanın altında zihinsel işlevsellikle birlikte, bireysel güvenlik, sağlık, ev yaşantısı, sosyal beceriler, toplumsal işleyiş, kendini yönlendirme ve okul başarısı gibi alanlarda sınırlılıkların olması ve bu durumun 18 yaşından önce başlamasıdır.

2.2.2. Mental Retardasyon'un Epidemiyolojisi

Toplumdan topluma veya ırktan ırka insidansı değişebilmekle birlikte, dünya çapında popülasyonun %2-3'ünde mental retardasyon bildirilmiştir. Bunların yaklaşık %1'ine santral sinir sistemi, kardiyovasküler, ürogenital sistem gibi major organ sistemlerini etkileyen defektler eşlik etmektedir (16). MR erkeklerde kadınlardan daha sık gözlenmektedir. Erkek/kadın oranı farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda 1.3/1 ile 2.2/1 arasında tespit edilmiştir (16-19). Otizm spektrumu hastalıklarının, toplumun erkek çocuklara olan hassasiyetinden dolayı erkeklerde daha fazla tanı alması ve X'e bağlı MR'nin erkekleri etkilemesi, MR'nin erkeklerde daha sık rastlanılmasının sebepleri arasında sayılabilir (20).

2.2.3. Mental Retardasyon Sınıflandırması

MR, DSM-IV'e göre dört başlıkta incelenir (1):

Hafif MR: IQ değerleri 55–70 arasında olan gruptur. Tüm MR'li olguların %75-80'ini oluştururlar. Eğitimsel kategori olarak "eğitilebilir" adını alır. Okul yaşına kadar normal çocuklardan ayırt edilmeyebilirler. Eğitimle kendi yaşamlarını sürdürebilecek düşük seviyede sosyal ve mesleki yetenek kazanabilirler.

Orta MR: IQ değeri 35-40 ile 50-55 arasında değişen gruptur. Olguların %12'sini oluştururlar. Okul öncesi yıllarda konuşarak iletişim kurmayı öğrenirler. Özel eğitimden fayda görürler. Yetişkin dönemde korunaklı ortamlarda basit işlerde çalışabilecek ve temel bakımlarını karşılayabilecek kapasitededirler.

Ağır MR: IQ değeri 20-25 ile 35-40 arasında olan gruptur. Tüm MR'li olguların %7'sini oluştururlar. Konuşmada ve motor fonksiyonlarda gerilik vardır. Özel eğitimle kendi öz bakımlarını sağlayabilecek düzeye gelebilirler.

Çok ağır MR: IQ değeri 20-25'in altında olan gruptur. Tüm MR'li olguların %1-2'si bu gruptadır. Gelişme geriliği ve ek organ anomalileri eşlik edebilir. Olgular genellikle bakıma muhtaçtır. Özel eğitimle bazı motor becerileri kazanabilirler.

Derecesi belirlenememiş MR: Zekası standart testlerle ölçülemeyen, ancak zeka özürlü olduğu düşünülen olgular bu grupta sınıflanır. Bebekler ve uyumsuz kişiler bu grup için örnek olarak verilebilir.

2.2.4. Mental Retardasyon Etiyolojisi

Mental retardasyonun etiyolojisi ortaya çıkma dönemi açısından prenatal, perinatal ve postnatal olarak üçe ayrılır (12). Bu dönemlerdeki etiyolojik nedenler Tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. MR sebeplerinin ortaya çıktığı döneme göre sınıflandırılması*

Prenatal Sebepler	**Perinatal Sebepler**	**Postnatal Sebepler**
Kromozomal hastalıklar	Prematürite	Kafa travması
Tek gen hastalıkları	Perinatal problemler	Enfeksiyonlar
Tekrarlayan dizi hastalıkları		Dejeneratif Hastalıklar
Multifaktöriyel hastalıklar		Epileptik bozukluklar
Gelişimsel beyin/ nörolojik anomaliler		Toksik- metabolik hastalıklar
Maternal enfeksiyon		Malnutrisyon
Maternal toksisite		Çevresel etkenler
Diğer perinatal çevresel nedenler		

*Tablo kaynak 12'den faydalanılarak hazırlanmıştır.

Olguların yaklaşık %62'sinde MR'nin sebebi prenatal döneme dayanmaktadır. Bu döneme dayanan MR'ye genellikle major veya minor multipl konjenital anomaliler (MKA) eşlik etmektedir. Prenatal dönemde MR'ye sebep olabilecek en büyük gurup, genetik hastalıklardır. Bunların yaklaşık yarısını

kromozomal anomaliler, diğer yarısını ise tek gen hastalıkları, mendeliyen kalıtıma uymayan genetik hastalıklar ve multifaktöriyel hastalıklar oluşturmaktadır (16).

TORCH grubu hastalıkların prenatal dönemde fetüsü etkilemesi MR sebepleri arasında yer almaktadır. Annenin maruz kaldığı teratojen, kimyasal ve X-ray de prenatal dönemde MR'ye sebep olabilmektedir. Annede bulunan organik, anatomik veya psikiyatrik hastalıklar dolaşım bozukluklarına ve plasental yetmezliğe sebep olarak, fetüste intrauterin büyüme geriliği veya MR oluşturabilir. Perinatal dönemde enfeksiyonlar, doğum travması, asfiksi ve prematürite gibi nedenler MR sebepleri arasında görülmektedir. Postnatal dönemde ise, beslenmenin başlamasıyla genetik nedenli metabolik hastalıklar MR'in başlıca nedenidir. Fenilketonüri ve Biotinidaz eksikliği gibi erken tanı ve tedavi ile MR'nin önlenebileceği metabolik hastalıkların yanı sıra ağır MR ile sonuçlanan metabolik ve nörodejeneratif hastalıklar da bulunmaktadır. Yine enfeksiyonlar, entoksikasyonlar ve düşük sosyo-ekonomik seviye postnatal dönemdeki MR nedenleri arasında sayılabilmektedir (Tablo 2.1).

Günümüzde idiyopatik olarak nitelendirilen ve nedeni aydınlatılamamış MR'li hastalar olguların yaklaşık %50-80'ini oluşturmaktadır (2).

2.2.5. Mental Retardasyonlu Olgulara Tanısal Yaklaşım

MR'nin 5 yaşın altındaki çocuklarda tanımlanması zordur. Bu gurupta MR yerine gelişme geriliği tanımı kullanılır ve bu tanım konuşma, öğrenme ve motor gelişmedeki geriliği kapsar. Okul çağında ise okul başarısındaki düşüklük,

arkadaş ve çevre ile iletişimde gerilik bulunması hastaların MR tanısı almalarını sağlayan nedenlerdir.

MR'li bir olguya yaklaşımda öncelikle prenatal-natal ve postnatal öyküyü içeren ayrıntılı hikaye alınması ve 3 kuşağı içeren aile ağacı çizilmesi etiyolojiye yönlendirecek en önemli basamaklardandır. Bu olgularda büyüme ve gelişmenin derecesini belirleyen ölçümler (boy, vücut ağırlığı, baş çevresi, ekstremite oranları) ve minor dismorfik bulgulara dikkat edilerek ayrıntılı fizik muayene yapılmalıdır.

Hastaya, düşünülen etiyolojiye yönelik olarak gerekli laboratuvar testleri, görme ve işitme ile ilgili değerlendirmeleri, santral sinir sistemi görüntülemesi yapılmalı ve gerektiğinde iç organ anomalilerine yönelik malformasyon araştırmasına başvurulmalıdır.

2.2.6. Mental Retardasyon'a Sebep Olan Genetik Nedenler

MR izole olabileceği gibi eşlik eden anomalilerle birlikte bir sendromun parçası olabilir. Sendromik ve non-sendromik MR'nin muayene sırasında ayırt edilebilmesi, tanıya ulaşmayı ve etiyolojinin açıklanabilmesini kolaylaştıracaktır.

MR'ye sebep olan genetik nedenler 3 ana gupta toplanabilir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. MR'ye neden olan genetik nedenler

Otozomal- gonozomal kromozom anomalileri	**Mendeliyen kalıtım**	**Nonmendeliyen kalıtım**
Sayısal kromozomal anomaliler	Otozomal dominant	Mitokondriyal kalıtım
Poliploidi	Otozomal resesif	Genomik damgalanma
Anöploidi	X'e bağlı dominant	Multifaktöriyel kalıtım
Yapısal kromozomal anomaliler	X'e bağlı resesif kalıtım	
Translokasyonlar		
İnversiyonlar		
Delesyonlar/duplikasyonlar		
Marker kromozomlar		
Halka kromozomlar		
Mikrodelesyon sendromları		
Subtelomerik yeniden düzenlenimler		

2.2.6.1. Kromozomal Anomaliler

Kromozomlar insan vücut hücrelerinde DNA dizisinin paketlenmiş hali olarak bulunan genetik bilginin kalıtımını sağlayan materyallerdir. Hücre çekirdeğinde genleri de içeren DNA dizileri histon ve nonhiston proteinlerle birleşerek kromatin halinde paketlenir. Hücre bölünmesi sırasında kromatidler yoğunlaşarak kromozomal yapıyı oluşturur. Kromozomlar mitoz bölünme ile yavru hücrelere eşit olarak aktarılır ve böylece nesilden nesile genomik devamlılık sağlanır (21).

Sağlıklı bir insan somatik hücresinde 23 (n: haploid) çift olmak üzere toplam 46 (2n: diploid) kromozom bulunmaktadır. Bunların 22 çifti otozomal kromozomlar olup her iki cinsiyette ortak olarak bulunur. Diğer 2'si ise cinsiyet kromozomlarıdır ve dişilerde XX, erkeklerde XY olarak bulunur (21).

Kromozomal anomaliler; MR ve/veya MKA'lı bireylerde sıklıkla rastlanılan önemli bir etiyolojik faktördür (22). Yenidoğanların %0,8'inde anormal fenotip ve MR ile sonuçlanan yapısal veya sayısal kromozom anomalisi bulunur (23).

2.2.6.1.1. Sayısal Kromozomal Anomaliler

Sayısal kromozomal anomaliler poliploidiler (n sayısının >2 katlarını içeren kromozom sayısı) ve anöploidiler (2n'den fazla veya eksik kromozom olması) olmak üzere iki grupta incelenebilir.

Poliploidiler içinde triploidi (3n=69) ve tetraploidi (4n=92) yer alan anomalilerin saptandığı vakalar yaşamla bağdaşmadığı için anne karnında veya neonatal dönemde kaybedilirler. Triploidinin oluşum mekanizması sıklıkla iki spermin tek ovumu döllemesi iken, tetraploidi oluşumundan zigotun erken aşamada sitoplazma bölünmesini tamamlayamaması sorumludur (21).

Mayoz bölünmede ayrılamama nedeniyle oluşan anöploidiler içinde trizomiler ve monozomiler yer alır. Bir hücrede herhangi bir kromozomun 3 kopya bulunması trizomiyi; tek bulunması ise monozomiyi tanımlar. Klinikleri iyi tanımlanmış olan 13, 18 ve 21. kromozomların trizomisi, cinsiyet kromozomlarının çoklu artışı ve monozomi X dışındaki anöploidiler hayatla bağdaşmamaktadır (21).

2.2.6.1.1.1. Down Sendromu

MR sebepleri arasında en büyük yeri tutan anöploidi sendromu; 21. kromozomun trizomisi (Down Sendromu) olup 800-1000 yeni doğanda bir görülmektedir (24). Down sendromlu bireylerde orta-ağır düzeylerde izlenebilen MR yanında tipik yüz görünümü ve büyüme geriliği mevcuttur. Ayrıca konjenital kalp hastalıkları, işitme kaybı ve hematolojik malignensiler sendroma sıklıkla eşlik eden sistemik problemlerdir (25). İleri anne yaşı Down sendromu etiyolojisinden sorumlu tutulsa da mayoz bölünmedeki ayrılma hataları her yaşta görülebileceğinden tüm gebelikler için risk söz konusudur (21).

2.2.6.1.1.2. Edwards Sendromu

Edwards Sendromu (Trizomi 18), Down sendromundan sonra 2. sıklıkla görülen, terme ulaşabilen otozomal trizomidir. Tüm gebeliklerin 1/3000'inde görülmesine rağmen, major organ anomalileri nedeniyle prenatal dönemde kaybedilmelerinden dolayı yeni doğanlardaki görülme oranı 1/6000'dir (26). MR yanında büyüme- gelişme geriliği, mikrosefali, yarık dudak/damak, omfalosel, artrogripozis, parmaklarda fleksiyon kontraktürü ve "rocker-bottom feet" sendroma eşlik eden bulgular arasındadır (27). Trizomi 18 sendromlu yenidoğanların başlıca ölüm sebepleri; konjenital kalp ve böbrek anomalileri ile apnedir (28, 29).

2.2.6.1.1.3. Patau Sendromu

Patau Sendromu, 10000 canlı doğumda bir görülen, etiyolojisinde ileri anne yaşının yanısıra translokasyon taşıyıcısı ebeveynin de olabildiği 13.

kromozomun trizomisidir. MR, holoprosensefali, mikrosefali, yarık dudak/damak, konjenital kalp, böbrek ve sindirim sistemi anomalileri sendromun sık rastlanılan bulgularındandır (30).

2.2.6.1.1.4. Klinefelter Sendromu

Klinefelter sendromu en sık görülen (1/500 canlı erkek doğum) cinsiyet kromozomu anöploidisidir. Klinefelter sendromlu erkeklerde X kromozomu sayısı birden fazladır (31). Bu hastalarda MR (daha çok sosyal ilişkilerde zayıflık, psikiyatrik problemler, konuşma geriliği), yetersiz virilizasyon, hipogonadizm, azospermi, infertilite, artmış plazma gonadotropinleri ve hedef boyun uzun olması gibi bulgular değişken derecelerde bulunabilir (32). En sık rastlanılan karyotip 47,XXY olmakla birlikte 48,XXXY ve 49XXXXY de bu grupta sınıflandırılmaktadır. X kromozomundaki her artış IQ değerinde 15 puanlık azalmaya neden olmaktadır (33). Sebebi bilinmeyen MR'li olguların 1.2'sini Klinefelter sendromu oluşturmaktadır (34).

2.2.6.1.1.5. Turner Sendromu

Turner sendromu, bireyin hücrelerinin tamamında veya mozaik olarak bazı dokularında X kromozomunun bir tane bulunmasıdır ve sıklığı 50/100,000 canlı kız doğumdur (35). Karyotipi 45,X olan fetüslerin ancak %1'i doğuma kadar ulaşabililer ve spontan düşüklerin %10'undan bu durum sorumludur. Turner sendromlu kızlarda klasik zeka testlerinde test edilen verbal fonksiyonlar normal veya normale yakınken, nonverbal fonksiyonlarda gerilik tespit edilmekle birlikte Turner spektrumunda bulunan ring X kromozomlu vakalarda değişken düzeylerde

MR bildirilmiştir. Turner sendromunun karakteristik bulguları arasında gonadal disgenezis, kısa boy ve lenfödem bulunmaktadır (36).

2.2.6.1.2. Yapısal Kromozomal Anomaliler

MR sebepleri arasında yer alan yapısal kromozomal anomaliler; bir veya daha fazla kromozomun bütünlüğünün bozulup yeni bir formasyon oluşmasıyla meydana gelirler. Sayısal kromozom anomalilerinden daha nadir görülen yapısal kromozomal anomaliler; DNA tamiri ve rekombinasyon sırasında oluşabileceği gibi, mayozda eşit olmayan krossing over, iyonize radyasyon, viral enfeksiyonlar veya kimyasal ajanların neden olduğu kromozomal kırıklar ve yeniden düzenlenimlerle oluşabilmektedir (21).

Yapısal kromozomal anamaliler arasında; delesyon/duplikasyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, ring kromozomlar, izokromozom ve marker kromozomlar yer almaktadır. Kromozomal kayıp veya kazanç ile kırık bölgesinin gen bütünlüğünün bozulduğu durumlara dengesiz, herhangi bir kaybın ve fonksiyonel değişimin olmadığı durumlara ise dengeli kromozomal yapısal yeniden düzenlenimler denilmektedir. Dengesiz yeniden düzenlenimlerde fenotip, değişimin tipine ve içeriğine göre değişmektedir (37).

Kromozomun herhangi bir bölgesindeki kayıba delesyon, kazanca ise duplikasyon denmektedir. Delesyon ve duplikasyonlar içeriklerine ve büyüklüklerine bağlı olarak klinikte MR ve/veya dismorfik bulgular ve /veya çoklu organ anomalileri ile karşımıza çıkabilmektedir. Konvansiyonel sitogenetik

yöntemlerle tanımlanabilecek büyüklükte olabileceği gibi ileri genetik yöntemler kullanılmasını gerektirecek kadar küçük de olabilirler (21).

Translokasyonlar resiprokal, Robertsonian ve insersiyon tipi olarak üç grupta incelenirken hem dengeli hem de dengesiz kromozomal yeniden düzenlenimler olarak değerlendirilirler. İki homolog olmayan kromozom arasında karşılıklı kromozomal parça değişimini tanımlayan resiprokal translokasyonlar yaklaşık olarak 1/600 oranında görülür ve kırık bölgeleri translasyonel olarak aktif bir gen içermiyorsa veya parça kaybı yoksa dengeli yapısal değişimler grubunda yer alır. Dengeli resiprokal translokasyon taşıyıcısı bireylerde klinikte herhangi bir anomali beklenmezken, mayoz bölünme sırasındaki farklı segregasyon paternlerinden dolayı dengesiz gametler oluşabilir. Dengesiz gamet ile oluşacak zigot bazı kromozom parçaları için monozomik, bazıları için tizomik olabilir. Robertsonian translokasyon akrosentrik kromozomlar arasında meydana gelir, parça kaybı yoktur fakat toplam kromozom sayısı 45'dir. İnsersiyon tipi translokasyonlarda ise en az 3 kromozomal kırık vardır. Genellikle iki kırıkla oluşan interstisyel parça tek kırık olan bir kromozomun parçaları arasına yerleşir (21).

İnversiyonlar sentromeri içerip içermemelerine bağlı olarak parasentrik ve perisentrik olarak tanımlanırlar ve bir kromozomda oluşan 2 kırığın arasındaki parçanın ters dönerek yapışmasıyla oluşurlar. Kırık bölgelerinin içeriğine göre klinik bulgu verebilirler (37).

Marker kromozomlar, normal kromozomlara ek olarak bulunan, yapısal olarak belirli bir kromozoma benzemeyen, içeriğine göre klinik bulgu veren, etiyolojisinde konvansiyonel karyotiplemeye ek olarak moleküler sitogenetik yöntemlerin özellikle de FISH yönteminin kullanıldığı, yapısal olarak anormal kromozomlardır. Halka (ring) kromozomlar ise herhangi bir kromozomda iki kırık oluşması ve bu kırık noktalarının birleşmesiyle oluşurlar. Marker ve halka kromozomlar mitotik olarak sabit olmadıklarından genellikle mozaik olarak bulunurlar (37).

2.2.6.1.2.1. Mikrodelesyon Sendromları

Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilemeyen, büyüklüğü yaklaşık 100 kb-4Mb olan klinik bulguları iyi tanımlanmış sendromlardır. Ardışık gen delesyon sendromu (Contiginious gene deletion) veya segmental monozomi olarak da adlandırılırlar. Klinik bulgularıyla spesifik bir mikrodelesyon sendromundan şüphelenilen vakalarda lokusa özgü problar kullanılarak FISH yöntemi ile delesyon gösterilebilir (21). Klinikte sık rastlanılan bazı mikrodelesyon sendromları Tablo 2.3'te sunulmuştur.

Tablo 2.3. Klinik olarak tanınabilen mikrodelesyon sendromları*

Sendrom	Lokus	İnsidans	Major gen
22q11.2	Di George/ Velokardiyofasyal Sendrom	1/4000	TBX1
15q11-q13	Angelman Sendromu	1/15000	UPD, maternal alel delesyonu(%70), UBE3A mutasyonu
15q11-q13	Prader Willi Sendromu	1/15000	UPD, paternal alel delesyonu(%70)
7q11.23	Williams Sendromu	1/25000	Elastin
17p11.2	Smith Magenis Sendromu	Nadir	RAI1
17p11.3	Miller Dieker Sendomu	Nadir	LIS1
5p15	Cri du Chat Sendromu	Nadir	Fazla sayıda
13q14	Retinoblastom	Nadir	RB1
16p13.3	Rubinstein Taybi Sendromu	Nadir	%10 vakada CREB delesyonu
4p16.3	Wolf Hirschorn Sendromu	Nadir	WHSC1
11p13	WAGR	Nadir	PAX6, WT1

*Tablo, 22 numaralı kaynaktan çevrilerek alınmıştır.

Mikrodelesyon sendromlarında; MR yanında klinik olarak ayırıcı tanıya yardımcı her biri için ayrı dismorfik yüz bulguları, kardiyak anomaliler, davranış problemleri ve ekstremite anomalileri gibi bulgular tanımlanmıştır. Ayrıca klinik olarak tanı konulabilen bu sendromların bazılarının etiyolojisinde mikrodelesyonun yanında uniparental dizomi, tek gen mutasyonları veya imprinting hataları bulunmaktadır (22).

2.2.6.1.2.2. Subtelomerik Yeniden Düzenlenimler

Klinik değerlendirme ve konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle herhangi bir anomali tespit edilemeyen hastalarda, yapısal anomalilerin daha sık görülebileceği subtelomerik bölgelerin araştırılması MR'li olguların %4,5 gibi bir bölümünün daha etiyolojisinin aydınlatılmasına katkı sağlamaktadır (6).

Kromozom telomerleri timin ve guanin (TG) nükleotidlerince zengin 6'lı dizilerin (TTAGGG) tekrarından oluşan 2-15 kb boyutundaki yapılarıdır. Bu telomerik bölgelerin hemen yanında, çeşitli tekrarlayan DNA dizilerini içeren ve homolog olmayan kromozomlarda ortak olarak bulunabilen bölgeler subtelomerik bölge adını alır. Subtelomerik bölge çoğu kromozomda ortak olarak bulunan 10-15 kb boyutundaki distal parça ve 10-40kb büyüklüğündeki proksimal parçadan oluşur (38). Subtelomerik bölgelerdeki tekrar dizilerinin çeşitli kromozomlarda ortak olması nedeniyle mayozda yanlış eşleşmeler ve kromozomal rekombinasyonlar daha sık görülebilmektedir. Bu durum yapısal kromozomal anomalilerin neden, daha sık bu bölgelerden kaynaklandığını açıklamaktadır (39). Subtelomerik bölgelerin fonksiyonel gen bakımından zengin olması submikroskobik delesyon veya duplikasyonların kliniğe ağır bir fenotiple yansımasının sebebi olarak görülmektedir (40). Subtelomerik bölge araştırmaları klinikte açıklanamamış MR'nun yanı sıra, infertilite, tekrarlayan abortuslar ve hematolojik malignitelerin etiyolojisini aydınlatmak için de kullanılmaktadır (38).

2.2.6.2. Tek Gen Hastalıkları

Tek gen hastalıkları otozomal resesif, otozomal dominant, X'e bağlı resesif ve X'e bağlı dominant kalıtım tipleriyle Mendeliyen kalıtım kuralları içinde kalıtılırlar. Bu gurup içinde en büyük yeri doğuştan metabolizma hastalıkları ve X'e bağlı MR oluşturmaktadır. Etiyolojisinde tek bir genin bulunduğu genetik sendromlar ile nörometabolik hastalıklarda bulunan MR'a sıklıkla MKA ve dismorfik yüz bulguları eşlik etmektedir.

2.2.6.2.1. X'e bağlı Mental Retardasyon

Monogenik kalıtılan MR'ler içinde, X'e bağlı kalıtılan MR (XLMR) büyük bir yer tutmaktadır, çünkü X kromozomu otozomal kromozomlara göre MR'ye sebep olan genler açısından yaklaşık 2 kat daha zengindir (41). XLMR erkeklerde 1.83/1000 oranında görülmektedir (42). Erkekler X kromozomunda taşınan hastalıklar açısından hemizigot olduklarından XLMR'den daha çok etkilenmektedirler. XLMR, X kromozomunun "skewed" (dengesiz) inaktivasyon paternine bağlı olarak kızlarda da görülebilmekte fakat daha hafif bir klinikle seyretmektedir (43). XLMR'nun daha çok erkekleri etkilemesi de MR'nin erkeklerde daha sık görülmesinin nedenlerinden biridir (16).

XLMR olgularda sadece MR ile kendini gösterebileceği gibi ek konjenital anomalilerin eşlik ettiği sendromlar veya nöromusküler etkilenimin olduğu hastalıklar olarak da ortaya çıkabilir (44). Şimdiye kadar tanımlanan toplam XLMR hastalığından 97'sinin yeri haritalama çalışmalarıyla tespit edilmişken, bunların 82'sinden sorumlu gen klonlanmıştır (Tablo 2.4).

Tablo 2.4. X'e bağlı kalıtılan MR hastalıklarının genel sınıflandırılması*

	Toplam	Haritalanmış	Klonlanmış
Sendromlar	**98**	**31**	**38**
Nöromüsküler hastalıklar	**51**	**16**	**28**
Non-spesifik MR	**66**	**50**	**16**
Toplam	**215**	**97**	**82**

*Tablo, 45 numaralı kaynaktan çeviri yapılarak alınmıştır.

2.2.6.2.1.1. Fragil X Sendromu

Frajil X sendromu (1/2500 sıklık) XLMR sendromlarının yaklaşık %20'sini oluşturan ve kalıtsal MR sebepleri arasında büyük yer tutan bir hastalıktır (46, 47). Frajil X sendromu CGG trinükleotitlerinin artmasıyla karakterize, dinamik mutasyonların neden olduğu tekrarlayan dizi hastalığıdır. Bu üçlü tekrar sayıları stabil değildir ve nesilden nesile kalıtımla artmakta ve hastalık ortaya çıkmaktadır. Bu duruma antisipasyon denilmektedir. Normal bireylerde 6-54 arasında CGG tekrarı bulunurken, premutasyon taşıyıcısı denilen ve hastalık görülmeyen kişilerde tekrar sayısı 55-200 arasındadır (48). Xq27.3 lokusunda bulunan FMR1 geninin 5'untranslated bölgesindeki CGG tekrarlarının 200'ün üzerinde olması ise fullmutasyon olarak tanımlanır ve bu artış, genin promotor bölgesinde bulunan CpG adacıklarının hipermetilasyonuna ve genin transkripsiyonel olarak sessizleştirilmesine neden olur. FMR1 geni ile kodladan FMRP ise nöronal gelişim için önemli bir proteindir (46).

Hastalığın bulguları arasında MR, otistik davranışlar, karakteristik yüz görünümü (uzun, dar yüz, büyük kulaklar, interoküler mesafenin darlığı), makroorşidizm yer almaktadır (49). Fragil X sendromu; kızlarda skewed X inaktivasyonu olduğundan hafif bulgular verir. Premutasyon taşıyıcısı annelerin erkek çocuklarında antisipasyonla fullmutasyon görülebilmektedir. Ayrıca premutasyon taşıyıcısı veya fullmutasyonu olan kadınlarda premature over yetmezliği görülebilmektedir (50).

2.2.6.2.2. Metabolik Hastalıklar

Doğumsal metabolizma hastalıkları, çoğunlukla otozomal resesif olarak kalıtılan tek gen hastalıklarıdır ve akraba evliliğinin sık yapıldığı ülkemizde %5 oranında görülmektedir. Hastalıklı genin ürünü olan protein; genellikle ana metabolik yolaklarda (anabolik veya katabolik) görev alan bir enzim veya enzimin kofaktörüdür. Son ürünün üretilememesi veya ara ürünlerin çeşitli organ ve dokularda birikmesine bağlı bulgular ortaya çıkar. Tedavilerinde biriken son ürünlerden kısıtlı diyet, üretilemeyen ürünlerin veya enzimin takviyesi esas alınır (51).

Doğuştan metabolizma hastalıklarının çoğunda MR bulunmakla birlikte, erken tanı ve uygun tedavi ile bu gruptaki bazı hastalıklarda MR önlenebilir. Ülkemizde sık görülen ve ulusal yeni doğan tarama programı içinde yer alan Fenilketonüri hastalığına erken tanı konulmakta ve hastalar fenilalaninden kısıtlı diyetle normal/normale yakın zeka düzeyine sahip olabilmektedirler (52).

2.2.6.3. Non-Mendeliyen Kalıtım

2.2.6.3.1. Mitokondriyal Hastalıklar

Mitokondriyal DNA'da oluşan mutasyonlar da genom mutasyonları gibi MR'ye sebep olabilmektedir. Mitokondri genomik DNA'dan ayrı olarak kendi içerisinde 16,5 kb büyüklüğünde halkasal yapıda DNA molekülü içerir. Mitokondriyal DNA'da ribozomal ve transfer RNA'nın bazı tipleri ile oksidatif fosforilasyonda görevli proteinler kodludur. Mitokondri işlevleri için gerekli bazı polipeptidler ise nükleer genomda kodlanmıştır. Mitokondriyal DNA anneden kalıtılır. Mitokondriyal DNA'da oluşan herhangi bir mutasyon, mitokondrinin bölünmesi ve yavru hücrelere aktarılması sırasında hücrelerin tamamında mutant ya da tamamında normal (homoplazmi) veya hücre içinde hem mutant hem normal (heteroplazmi) mitokondri bulunmasına göre klinik bulgu verir. Bu da mitokondriyal DNA'daki mutasyonla oluşan hastalıklardaki değişken fenotipi açıklamaktadır. Mitokondriyal genomdaki mutasyonlara bağlı oluşan hastalıklarda görülebilen değişken fenotipin bir diğer nedeni de hücrelerde bulunan mutant mitokondri oranının belirli bir eşik değerinin üzerinde olmasıdır (53).Mitokondri enerji metabolizmasından sorumlu hücre içi organeldir. Hastalıklarında da özellikle enerji ihtiyacı fazla olan nöromusküler sistem etkilenimleri görülmektedir. Anneden kalıtılan veya sporadik delesyon/mutasyonlarla oluşmuş mitokondriyal mutasyonlar ile nükleer genom mutasyonlarına bağlı oluşan mitokondriyal hastalıklarda sıklıkla MR görülebilmektedir (21).

2.2.6.3.2. Uniparental Dizomi

Uniparental dizomi (UPD) herhangi iki homolog kromozom çiftinin veya segmentinin tek bir ebeveynden köken alması olarak tanımlanmaktadır. Söz konusu kromozom veya kromozom segmenti anneden kaynaklanıyorsa maternal UPD, babadan kaynaklanıyorsa paternal UPD olarak adlandırılır. Eğer UPD gelişmiş kromozom veya kromozom segmenti, köken aldığı ebeveynin tek kromozomunun duplike olması ile oluşursa izodizomi, iki homolog kromozomunu da içeriyorsa heterodizomi olarak adlandırılır. UPD genellikle gametogenez esnasında mayoz bölünmede veya erken embriyonik dönemdeki bir bölünme hatası sonucu oluşmuş trizomik embriyonun trizomiden kurtulması, daha nadir olarak da monozomiyi tamamlaması nedeniyle oluşmaktadır (54).

Etiyolojisinde büyük oranla mikrodelesyonun bulunduğu ve MR ile seyreden hastalıklardan olan Prader Willi sendromundan yaklaşık %20-25 oranla paternal UPD 15q11.2 sorumluyken, Angelman sendromlu hastaların yaklaşık %3-7'sinde maternal UPD 15q11.2 sorumludur (55).

2.2.6.3.3. Multifaktöriyel kalıtım sonucu oluşan Mental Retardasyon

İnsanlarda bazı özelliklerin ortaya çıkmasında tek bir gen veya tek bir faktör etkili değildir. Boy, vücut ağırlığı, göz-saç rengi ve zeka böyle özelliklerdendir. Etiyolojilerinde genetik nedenler yanında çevresel etmenlerin de rol aldığı özellikler veya hastalıklar multifaktöriyel kalıtımlıdır. Kişinin DNA dizisinde farklı genlerde meydana gelen mutasyonlar veya hastalığa yatkınlık oluşturan küçük değişikliklerin (polimorfizm) toplamı ile çevresel etmenler

çoğunlukla tekli konjenital malformasyonların (yarık dudak-damak, nöral tüp defektleri vb.) ve erişkin çağı kronik hastalıkların (Diabetes Mellitus, Alzeihemer hastalığı gibi) sebebi olarak görülmektedir (21).

Otizm spektrumu hastalıklar multifaktöriyel kalıtımlı MR'ye verilebilecek en iyi örneklerdendir. Otizmi olan hastaların yaklaşık %75'inde MR bulunmaktadır (56). Şimdiye kadar otizmi olan hastalarda yapılan çalışmalarda hastalıktan sorumlu çok sayıda gen bulunmuş ve yüksek genetik heterojenite saptanmıştır (57). Bununla birlikte aynı mutasyonu taşıyan fakat farklı çevresel etmenlere maruz kalan monozigotik ikizlerde kliniğin değişkenlik gösterdiği görülmüş ve otizm multifaktöriyel bir hastalık olarak değerlendirilmiştir (57).

2.2.6.4. Mental Retardasyon Oluşumunda Epigenetik Mekanizmaların Rolü

DNA diziliminde herhangi bir değişiklik olmaksızın genin ifadelenmesini düzenleyen ve kalıtılmayan değişiklikler epigenetik değişiklikler olarak tanımlanmaktadır. DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve RNA interferans gibi mekanizmalar epigenetik değişiklilere sebep olmaktadır (58).

DNA metilasyonu ile bir genin herhangi bir bölgesinde hipermetilasyon meydana gelmekte ve genomik damgalanmaya (genomik imprinting) sebep olmaktadır. Genomik damgalanma ile o gen sessizleştirilmekte, yani ifade bulamamaktadır. Bazı genlerin anneden gelen aleli ifade bulurken bazılarının babadan gelen aleli ifadelenmektedir. Bu değişken ifadelenme durumuna göre genler germ hücre aşamasında metillenmektedir. Özellikle kadınlarda MR

etiyolojisinde büyük yer tutan Rett sendromunda MeCP2 (metil CpG bağlayıcı protein 2) geni hipermetile olarak, ifade edilememektedir (58).

Genin susturulmasında etkili mekanizmalardan biri de histon modifikasyonlarıdır. DNA hücre çekirdeğinde histon proteinleri ile kondanse olarak paketlenir. Histon proteinleri, metilasyon, fosforilasyon, asetilasyon, ubiquitinasyon, ADP ribozilasyon ve sumoyilasyon gibi işlemlerle modifiye edilerek hedef genin ifadelenmesi bozulabilir. CREB geninin mutasyonu veya delesyonu ile oluşan Rubinstein Taybi Sendromu; aynı zamanda CREB geninin regülasyon bozukluğuna sebep olan histon hipoasetilasyonu ile de meydana gelebilmektedir (59).

Diğer bir epigenetik mekanizma olan RNA interferans ise gen transkripsiyonu ve translasyonunda değişikliklere sebep olarak genlerin aktivitesini baskılamaktadır. Bu mekanizma ile Down Sendromunda bazı genlerin ekspresyonu azaltılmaktadır (59).

2.2.6.5. Genetik Varyasyonlar ve Mental Retardasyon ile İlişkileri

İnsan genomu yaklaşık %99.9'luk bir oranla benzerlik göstermektedir. %0.1'lik oran ise insanlar arası farklılıklara sebep olmaktadır. Bu değişikliklerden en sık görüleni tek nükleotid polimorfizmleri (SNP-Single Nucleotide Polymorphism) olup, genom boyunca dağınık olarak bulunan ve en sık görülen genetik varyasyon tipidir. Tek bir baz değişimi ile oluşmaktadır. Fonksiyonel bir gen içinde bulunan SNP'lerin mutasyondan farkı, oluşacak olan proteinin yapısını

değiştirmemesi veya fonksiyonuna olumsuz katkıda bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Yaklaşık olarak 10 milyonun üzerinde SNP Haplotip haritası projesinde (HapMap) kataloglanmıştır (60, 61).

Diğer bir genetik varyasyon tipi ise, basit bir baz değişiminden çok değişken büyüklükte olan delesyonlar, duplikasyonlar veya insersiyonlardan oluşan polimorfizmleridir. En sık insersiyon/ delesyon tipi polimorfizmler tekrarlayan dizi bölgelerinde meydana geldiğinden dolayı bunlara "değişken sayıda sıralı tekrar polimorfizmleri (VNTR- Variable Number of Tandem Repeat)" denilmektedir. VNTR'ler tekrarlayan ünitenin büyüklüğüne göre alt guruplara ayrılır. Eğer tekrar ünitesi 10 ila birkaç 100 baz çifti içeriyorsa minisatellit olarak adlandırılırken, 2 ila 6 bp içerikli tekrar ünitelerinden oluşan VNTR'ler basit ardışık tekrar dizileri (STR- Simple Tandem Repeat) veya mikrosatellit tekrarlar olarak sınıflandırılır. Eğer insersiyon/ delesyon olayı 1 kb ile birkaç Mb arasında değişen büyüklükte olursa "kopya sayısı değişikliği (CNV- Copy Number Variation)" olarak adlandırılır ki bu CNV'ler ardışık tekrar eden diziler arasındaki rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (60). CNV'ler toplumda %1'den fazla sıklıkta görülürse kopya sayısı polimorfizmi (CNP- Copy number polymorphism) olarak kabul edilmektedirler (63). Tablo 2.5'de genomdaki varyasyonlar özetlenmiştir.

Tablo 2.5. İnsan genomundaki yapısal ve dizi varyasyonları*

Varyasyon tipi	Özellik
Segmental duplikasyon	Genomdaki farklı bir bölge ile >%90 benzerlik gösteren duplikasyonlardır. Nonalelik homolog rekombinasyonda görev alırlar
Kopya sayısı değişiklikleri (CNV)	Kopya sayısı referans genomla karşılaştırıldığında değişiklik gösteren, 1 kb'den büyük DNA segmentleridir. Kopya sayısı polimorfizmi popülasyonda >%1 sıklığa sahiptir.
Tek Nükleotid polimorfizmi (SNP)	SNP'ler sıklığı %1'den fazla olan, tek nükleotid seviyesinde oluşan varyasyonlardır. Şimdiye kadar yaklaşık 12 milyon SNP kataloglanmıştır.
Ardışık tekrar bölgeleri (Tandem repeat)	Ardışık tekrarlar genomun farklı bölgelerinde lokalize olabilmektedir. Minisatellit ve mikrosatellit tekrarlar bu guruba girmektedir. Genomun yaklaşık %10'unu oluşturan bu tekrar dizileri çoğunlukla DNA'nın heterokromatin bölgelerinde bulunur.
Dağınık tekrar elementleri (Interspersed repeated element)	Uzun ve kısa dağınık tekrar elementleri (LINES-SINES) genomun önemli bir kısmını oluşturmaktadır.

*Tablo 60 numaralı kaynaktan çevrilerek alınmıştır.

Yapılan çalışmalarda insan genomunda ortalama 0.3-1 kb'lık aralıklarla yerleşmiş 5-10 milyon SNP bulunmaktadır. Genom dizilenmesinin tamamlanmasından sonra 600,000'den fazla VNTR tanımlanmıştır. Tanımlanması en güç olan genetik değişiklik ise, sayısı SNP ile VNTR arasında bulunan, >%1 popülasyon sıklığına sahip olan CNV'lerdir (63). Genomun yaklaşık olarak %12'si kopya sayısı değişikliğine sahiptir ve bu değişikliklerin %10-60'ı fonksiyonel bir gen içerisinde bulunmaktadır (64, 65).

CNV'ler fonksiyonel bir gen içinde bulunup, fenotipik değişiklik oluşturmalarına göre benign ve patojenik olarak ikiye ayrılmaktadırlar. CNV'ler fenotipik etki oluştursa bile kişinin sağlığını olumsuz etkilemiyorsa yine benign olarak sınıflandırılmaktadır. Benign CNV'ler kalıtımla nesiller arasında

aktarılabilirler ve sağlıklı kişilerde de tespit edilebilirler (62). Patojenik CNV'ler ise hastalıklara yatkınlık oluşturabilmekte veya bazı hastalık/ sendromlardan direk sorumlu tutulmaktadırlar. Patojenik CNV'lerin meydana gelmesindeki mekanizma ise parental gametlerde mayoz sırasında oluşan sporadik değişikliklerdir (66). Hastalıklara sebep olan veya yatkınlık oluşturan bazı CNV'ler Tablo 2.6'de özetlenmiştir.

Tablo 2.6. Hastalıklarla ilişkilendirilmiş CNV örnekleri

CNV Loküsü	**Sitogenetik lokalizasyon**	**Hastalık**
PMP22	17p11.2	Charcot-Marie-Tooth Nöropati Tip 1
CCL3L1	17q11.2	HIV yatkınlığı
NRXN1	2p16.3	Otizm spektrumu hastalıkları
SMN1	5q13	Spinal Musküler Atrofi
DEFB4	8p23.1	Crohn hastalığı yatkınlığı

İnsan genomundaki bazı varyasyonlar protein aşamasında değişikliğe sebep olabilirken, çoğu CNV buna sebep olmamaktadır. Fakat gen fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli etkilere sahip olabilmektedirler. DNA dizi analizleri ve array tabanlı genom hibridizasyonu gibi yeni teknolojiler; bu CNV'lerin kanser gibi bazı hastalıkların oluşumuna nasıl yatkınlık sağladıklarını, MR gibi genetik hastalıkların gelişimine sebep olma mekanizmalarını ve tedaviye cevaptaki kişisel farklılıkların nasıl ortaya çıktığı ile ilgili yeni bilgilerin edinilmesine imkan sağlamışlardır (60-62, 67).

CNV araştırmalarında en büyük endikasyonu, sebebi bulunamamış MR ve /veya MKA'sı olan hastalar oluşturmaktadır. Bu hastalarda konvansiyonel karyotipleme ile yapılan kromozom analizleri normaldir ve bunlar klinik olarak da herhangi bir tek gen veya mikrodelesyon sendromuyla örtüştürülememişlerdir (68).

MR ve/veya MKA'sı olan hastaların %50-80'inde tüm araştırmalar yapılmasına rağmen neden tam olarak bulunamamıştır (2). Nedeni belirlenememiş bu grupta MR'nin sebepleri arasında genomik submikroskobik kayıp veya kazançların büyük yer tuttuğu düşünülmektedir. Aynı zamanda otozomal veya X'e bağlı genetik hastalıklarda, hastalığa sebep olan değişikliklerin çoğu da dozaj bağımlıdır (69). Yine CNV içerikleri fazla olan Di George ve Williams Beuren gibi mikrodelesyon sendromlarında delesyona uğrayan bölgeler ticari olarak üretilen prob içeriğine dahil olmayabilir ve lokusa özgü FISH testinde yalancı negatif sonuçlar verebilir. Tüm bu sayılan nedenlerden dolayı MR etiyolojisinde CNV gibi normal bireylerde bir polimorfizm olarak bulunabilen genomik varyasyonların önemi büyüktür (65).

2.3. Mental Retardasyonun Sebebinin Araştırılmasında Kullanılan Genetik Yöntemler

MR, gelişme geriliği ve/veya konjenital anomali ile başvuran hastalarda yapılacak ilk genetik yöntem konvansiyonel karyotiplemedir (22). Periferik kandan yapılan lenfosit kültüründen elde edilen kromozomların Giemsa-bantlama yöntemiyle boyanarak ışık mikroskopunda 400-550 bant seviyesinde analizi ile

sayısal kromozomal anomaliler ve büyüklükleri 10 Mb civarında olan kromozomal yeniden düzenlenimler saptanabilmektedir. Yüksek çözünürlüklü bantalama (HRB-High Resolution Banding) ile ise kromozomlar 550 ve üzeri bant seviyesinde analiz edilebilmekte ve 5 Mb'dan küçük değişimler tanınabilmektedir (67).

Kromozom analizinin ağır MR'li olgularda (IQ<50) tanı değeri %13 (%3.8'i yapısal, %7.8'inde sayısal kromozomal anomali); orta-hafif dereceli MR'li olgularda (IQ: 50-70) %4.1 oranındadır (70). Diğer yapısal submikroskopik anomalilerin araştırmasında kullanılabilecek yöntemler arasında multiprob/lokus spesifik FISH, MAPH (Multiplex amplifiable probe hybridization), MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification) ve CGH (Comperative Genomic Hibridization) bulunmaktadır (67).

MR'nin klinik sitogenetik tanısındaki teknolojiler son 30 yılda G-bantlama, FISH, telomer FISH, MLPA ve mikroarraye kadar gelişmiştir. G-bantlama ile 3-5 Mb'dan büyük değişiklikler tanımlanabilirken, mikroarray ile <500 kb'lik yeniden düzenlenimler tanı alabilmektedir. Sebebi açıklanamamış MR'si olan hastalarda yapılan çalışmalar; yeni MR genleri bulunmasına zemin hazırlamakta ve ileride MR tanısının moleküler yöntemlerle kesin olarak konulabileceğini göstermektedir (9).

2.3.1. Subtelomerik FISH Yöntemi

Nedeni açıklanamamış MR ve /veya konjenital anomalili hastalarda etiyolojiden %0,5-16,3 (%5-7) oranla subtelomerik yeniden düzenlenimler

sorumlu tutulmuştur (39, 71, 72). Yapısal subtelomerik kromozomal anomalilerin saptanmasında çeşitli yöntemler kullanılmakla birlikte çoklu prob kullanılarak yapılan FISH analizi güvenilirlik ve ulaşım bakımından en çok tercih edilen yöntemdir (39). Subtelomerik bölgelerin araştırılmasında kullanılabilecek yöntemler ve özellikleri Tablo 2.7'de avantaj ve dezavantajları yönünden karşılaştırılmıştır.

Tablo 2.7. Subtelomerik değişimleri göstermekte kullanılabilecek yöntemlere genel bakış *

Yöntem	Yorumlar	Kanıtlama ihtiyacı	Dengesiz yeniden oluşumları tanıma	İzodizomi tanıma gücü	Ticari olarak ulaşılabilirlik
Multiprob FISH	Güvenilir fakat fazla iş gücü	Hayır	+	-	+
Mikrosatellit genotiplendirme	Tüm kromozom sonlarındaki delesyonları tanımlayamaz ve ebeveyn DNA'sı gerekir	Evet	-	+	-
MAPH	Güvenilir ve hızlı	Evet	-	-	-
MLPA	Güvenilir ve hızlı	Evet	-	-	+
CGH	Geniş skalada tarama, güvenilir fakat pahalı ve array gerekebilir	Hayır	-	-	-

* Tablo, 39 numaralı kaynaktan çeviri yapılarak hazırlanmıştır.

2.3.2. Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu

Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (Comperative Genomic Hybridization, CGH) ilk kez 1992 yılında uygulanmaya başlanmış, genom boyunca oluşmuş kayıp ve kazançların tespitinde kullanılan bir moleküler sitogenetik yöntemdir. CGH temel olarak FISH'e benzemekte olup, farklı floresan

boya ile boyanmış test (hasta) ve referans DNA örneklerinin normal kromozomlara bağlanması ile elde edilen floresan renk farklılıklarına göre değerlendirilmekte ve en az iki genomun karşılaştırılmasına imkan vermektedir (73).

Özellikle solid tümörlerde kullanılmakta olan yöntem ile tümörlü dokuya ait olan DNA dizisindeki kopya sayısı değişiklikleri (kayıp veya kazançlar), normal kromozomlar üzerinde haritalanmaktadır. Kaliteli metafaz kromozomlarının eldesinin zor olduğu tümör dokularında, prenatal ve postnatal olarak saptanan markır kromozom orjininin belirlenmesinde, az miktarda DNA ile tüm genomdaki CNV'lerin tespitini sağlayan CGH yöntemi oldukça kullanışlıdır (74).

2.3.3. Mikroarray Teknolojisi ve Moleküler Karyotipleme

Mikroarray teknolojisi temel olarak; DNA parçacıklarından oluşan bir matriks üzerine, hasta DNA'sının hibridize edilmesi esasına dayanmaktadır. Günümüzde tüm genomu taramak ve submikroskopik değişimleri (delesyon ve duplikasyonlar) saptamak için array tabanlı sistemler sıklıkla kullanılmaktadır. Array tabanlı sistemler ayrıca; hastalıklara sebep olan veya yatkınlık oluşturan genlerin tespitinde, mutasyon analizlerinde, meme ve kolorektal kanserler ile lenfomalar başta olmak üzere kanser araştırmalarında, yapısal kromozomal anomalilerde etkilenen lokusun tespitinde, mikrodelesyon sendromlarının tanısında, telomerik anomalilerin bulunmasında, SNP ve CNV taramalarında, genotiplendirmede ve posttranslasyonel modifikasyonların tayininde oldukça

faydalı bir yöntem olarak kullanılmaktadırlar (75,76). DNA mikroarrayleri; gen ekspresyon analizlerinde, gen fonksiyonlarının anlaşılmasında, eksprese olmayan genlerin saptanmasında, yeniden dizilemede (resequencing) ve yeni gen tespitine büyük katkı sağlamaktadır (77,78).

CGH'in çözünürlüğünün düşük olması sebebiyle 1997'de Solinas-Toldo ve arkadaşları CGH tekniğini mikroarray teknolojisi ile birleştirerek Array-CGH yöntemini geliştirmişlerdir (79). Bu yöntem, konvansiyonel yöntemlerle kromozom analizi normal olarak belirlenen hastalarda submikroskopik kromozomal yeniden düzenlenimleri tespit edebileceğinden aynı zamanda yüksek çözünürlüklü moleküler karyotiplendirme olarak da isimlendirilmektedir (68).

CNV'lerin saptanmasında kullanılabilecek etkili bir yöntem olan Array CGH; temel olarak floresan boya ile işaretlenmiş hasta DNA'sının ve referans DNA'nın, DNA parçacıklarının (fragman) oluşturduğu bir matrikste hibridize edilmesi ve hibridizasyon oranlarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Bu DNA fragmanları Bakteriyel artık kromozomlar (Bacterial Artificial Chromosomes, BAC), kısa ve uzun oligonükleotidler olmak üzere üçe ayrılır. Sentetik oligonükleotid problar 25-85 baz çiftinden; çoğaltılmış DNA parçalarını içeren BAC probları ise 75 ila 200 baz çiftinden oluşmaktadır. 1Mb çözünürlüklü BAC platformları düşük çözünürlüğe rağmen birçok CNV'nin saptanmasına katkı sağlamışlardır ve hala bazı araştırma çalışmalarında kullanılmaktadır (80, 81).

Array-CGH ile yapılan ilk çalışmalarda BAC klonları kullanılmış ve 100 ve daha büyük CNV'ler tespit edilebilmiştir. Günümüzde ise array –CGH

araştırmaları her bir mikroarray için büyüklükleri 2.1 milyon Mb (2.1M)'a kadar ulaşabilen uzun oligonükleotidler kullanılarak yapılmaktadır. Bir CNV'nin tespiti için en az 3 ila 10 ardışık probdan sinyal alınması gerekmektedir. Array-CGH platformlarının en önemli avantajlarından olan ulaşılabilirliği ve yüksek çözünürlüğü klinikte karyotip analizi normal olan, gelişme geriliği ve MR'u bulunan hastalarda kullanım kapasitesini artırmıştır. Array CGH'de test edilecek örnek ve referans örnek arasındaki sinyal oranı normalize edilir ve kopya sayısı için kullanılan logaritmik değişim oranı 2'ye (log2) dönüştürülür. Buna göre log2 oranındaki bir artış kopya sayısındaki kazanca, tam tersi bir durum olarak log2 oranındaki azalış kopya sayısı kaybına işaret edecektir (81).

SNP arraylerinin de temelinde hibridizasyon olmakla birlikte CGH teknoloijisinden birkaç farklılığı bulunmaktadır. Öncelikle hibridizasyon her mikroarray için tek bir örnekte yapılır. Logaritmik değişim oranları; birçok örnekteki her bir prob için yoğunlukların kümelendiği bölgeler değerlendirilerek hesaplanır. SNP platformaları, DNA dizileri arasındaki tek nükleotid farklılıklarına spesifik probların düzenlenmesinden dolayı avantaj sağlamaktadırlar. SNP mikroarraylarının tek dezavantajı, array CGH platformlarına göre sinyal gürültü oranının daha az olması yönündedir (81).

SNP arraylerinde analiz edilen örnek ile referans hibridizasyonlar arasındaki sinyal yoğunlukları karşılaştırılır. SNP mikroarrayin en önemli avantajlarından biri ise SNP alele özgün prob kullanılmasıdır. Bu özelliği ise, CNV duyarlılığını artırır, alellerin ayrımını yapar ve uniparental dizomi bölgelerini belirler. SNP arrayleri CNV tespit çalışmalarında sıklıkla

kullanılmaktadır ve toplumda bulunan CNV'lerin keşfinde kendini ispatlamıştır. İlk SNP arraylerindeki prob içeriği yeterince CNV'yi kapsamıyorken günümüzde Affymetrix 6.0, 2.7 SNP Arrayleri ve Illumina 1M platformları gibi sistemler genomdaki polimorfik olmayan kopya sayısı değişikliklerini ve birçok SNP'yi içermektedir. Diğer önemli bir değerlendirme ise seçilen toplumdur. Toplumda bulunan ortalama heterozigosite SNP'lerin oranına etki etmektedir. Bu durum ise aranan bir değişikliğin tespiti için daha fazla prob kullanmayı gerektirebilir (81, 82).

Array platformu seçimindeki başka bir değerlendirme ise, hangi büyüklükte bir değişiklik aranıldığına göre yapılmaktadır. Bunlar da çözünürlüklerine göre Array tipleridir ki, kullanılan proba göre bir ayırıcılığa sahiptir. Örneğin 250K array, genomu 250 kilobazlık aralıklarla taramaktadır. Dolayısıyla çözünürlük arttıkça kullanılan prob sayısı artmaktadır. Sonuç olarak, SNP ve CNV mikroarrayları uygulanan probun büyüklüğüne göre genomda birkaç düzineden yüzlerce adete kadar olan değişiklikleri saptayabilmektedir (81-84).

Mikroarray sistemleri ile moleküler karyotipleme, en başta nedeni açıklanamamış MR ve/veya MKA'sı olan bireylerde kullanılmakla birlikte, etiyolojsinde submikroskopik genomik değişikliklerin rol oynadığı birçok farklı durumda da kullanılabilmektedir. Bunların başında gelen prenatal tanı için, anöploidi teşhisinde kullanılabileceği gibi konvansiyonel yöntemlerle belirlenemeyen marker kromozomların orjinini tespit etmek için kullanılabilmektedirler. Ayrıca infertilite ve kötü obstetrik öyküsü olan bireylerin

araştırılmasında, mozaisizm tespitinde ileri moleküler bir yöntem olarak yerini almaktırlar. Mikroarray sistemlerinin dengeli translokasyonları tespit edememesi ise dezavantajlarındandır (85).

2.4. Array Tabanlı Sistemlerin Mental Retardasyon Araştırmalarında Kullanımı

Sendromik olmayan MR sıklıkla kromozomal anomaliler ile ilişkilidir. Konvansiyonel karyotipleme, çözünürlük yaklaşık olarak 5-10 Mb arasında olduğu için, MR sebeplerinden ancak sayısal anomaliler ile büyük yapısal değişiklikleri açıklayabilmektedir ki bu oran trizomi 21 dahil olmak üzere %10 ila 16 arasında değişmektedir. Klinik bulguları iyi bilinen mikrodelesyon sendromları ile subtelomerik bölgelerdeki CNV artış veya azalışları ise, lokus spesifik FISH, MLPA gibi yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Fakat çok daha küçük ve klinik etkileri henüz kesinleşmemiş CNV kayıp veya kazançlarının saptanması ancak tüm genomu büyük çözünürlükte kapsayan array tabanlı sistemlerle mümkün olmaktadır (68).

Array tabanlı sistemler tüm genomu yüksek çözünürlükte tarayarak tüm CNV'leri belirleyebilmektedirler. Butterworth ve arkadaşları MR ve /veya konjenital anomalileri olan, toplam 13,926 bireyde yapılmış 19 meta-analizi derlemişlerdir. Yapılan bu meta-analize göre Array CGH'in MR ve /veya konjenital anomalilere sebep olan tüm anomalileri tanıma oranı %10, sebep olan anomaliyi ek bir yöntemle teyit etmeyi gerektiren anomali oranı %10 ve yanlış pozitif olarak bulunan anomali oranı ise %7'dir. Bulunan değişikliklerden bir kısmı iyi bilinen mikrodelesyon sendromlarıyla aynı lokusta olmalarına rağmen,

FISH ile tespit edilemeyecek kadar küçük olduğundan, ancak moleküler karyotipleme yöntemi ile tespit edilebilmektedir. Bu teknolojinin yanlış pozitif sonuçlar verebilme olasılığına karşı, hastaların klinik olarak dikkatli değerlendirilmeleri ve bulunan değişikliğin ek bir yöntemle doğrulanması gerektiğini vurgulamışlardır (86).

Mikroarray sistemleri, submikroskopik anomaliler sonucunda gelişen hastalıkların teşhisinde belirgin başarı sağlamaktadır. Bu amaçla özellikle MR ve /veya konjenital anomalileri olan bireylerin araştırılmasında konvansiyonel sitogenetik yöntemlerden sonra ilk sırada kullanılmaya başlanmışlardır. Klinik tanıda, fenotip-genotip yaklaşımının yanı sıra genotip-fenotip yaklaşımını da bu moleküler karyotipleme sistemleri getirmiştir. Bruno ve arkadaşları SNP mikroarray sistemi ile yaptıkları çalışmada MR ve/veya konjenital anomalileri bulunan 6500 hastanın 14'ünde tek nükleotid değişiminin neden olduğu otozomal dominant tek gen hastalığı tespit etmişlerdir. Yapılan araştırma ile klinik olarak tanı konulan 9 hastada teşhis moleküler olarak kesinleştirilirken (fenotip-genotip yaklaşımı), 5 hastada ise bulunan değişikliklerden yola çıkılarak fenotip belirlenmiştir (genotip-fenotip yaklaşımı) (87).

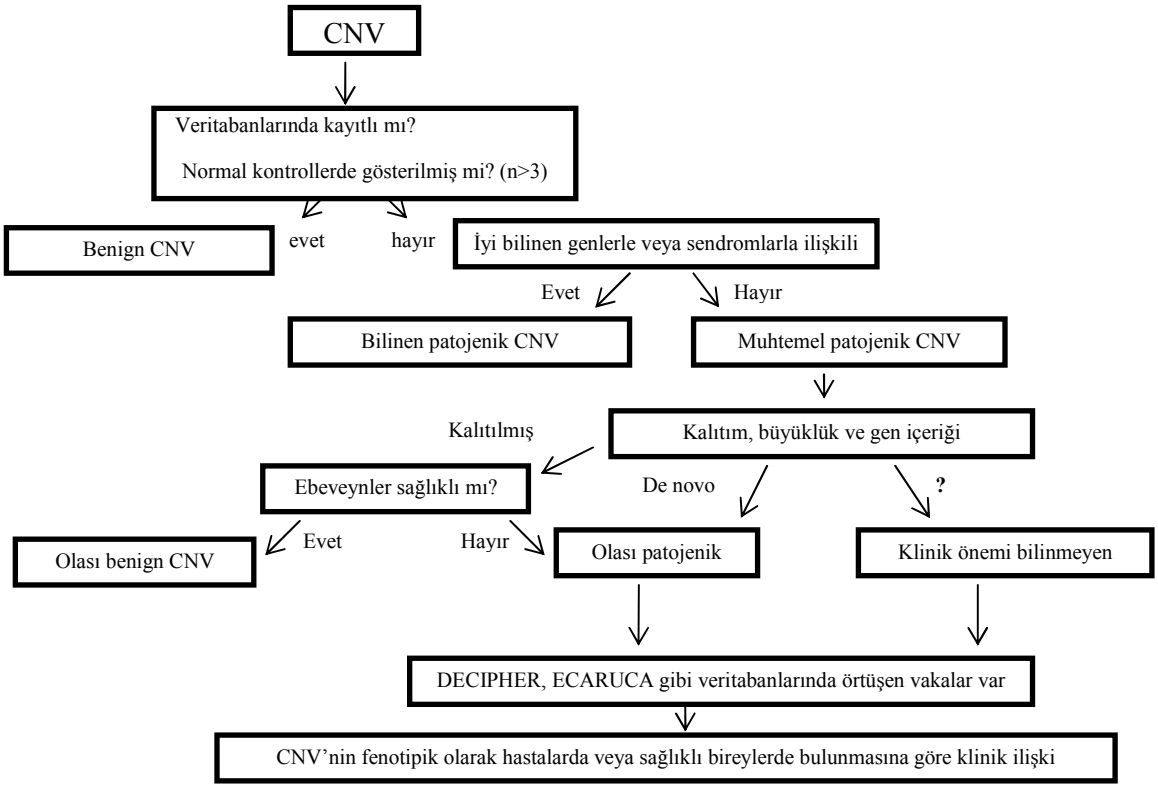
MR'li çok sayıda hastada Array CGH kullanılarak yeni mikrodelesyon ve mikroduplikasyon sendromları tanımlanmaktadır. Klinik olarak tanı konulan sık görülen mikrodelesyon sendromlarının yanında, mikroarray yöntemi ile araştırılan vakalarda belirli bazı bölgelerdeki CNV kayıp ve kazançlarına daha sık rastlanmaktadır. Slavotinek ve arkadaşlarının yaptığı derlemede Array-CGH ile araştırılan vakalarda sıklıkla saptanan 17q21.31 delesyon ve 17q21.31 duplikasyon sendromu, 15q13.3 delesyon sendromu, 16p11.2 delesyon sendromu,

15q24 delesyon sendromu, 1q41-q42 delesyon sendromu, 15p16.1 delesyon sendromu ve 9q22.3 delesyon sendromları ve tipik klinik bulguları özetlenmiştir. Zaman içerisinde tanımlanan bu kromozomal değişikliklerin fenotipik karakterizasyonlarının iyi belirlenmesi ile sık rastlanan mikrodelesyon sendromları gibi klinik olarak tanınabileceklerini ileri sürmüşlerdir (5).

Array tabanlı yöntemler sağlıklı bireylerde olduğu gibi sebebi bulunamamış MR ve/veya konjenital anomalileri olan hastalarda da birçok CNV'nin bulunmasına olanak sağlamaktadırlar (88). Bulunan bu CNV'lerin klinik olarak bir öneminin olup olmadığını anlamak için araştırmacılar çeşitli izlem şemaları kullanmışlardır (89, 90).

Şekil 2.1'de de MR ve /veya konjenital anomalileri olan bireylerde microarray teknolojileri ile saptanan CNV'lerin yorumlanması için kullanılabilecek bir akış şeması verilmiştir. İnsan genomunda yaklaşık olarak %12 oranında CNV bulunmaktadır (65). Bu CNV'lerin bir kısmı sağlıklı bireylerde de bulunabilir. Sağlıklı bireylerde de bulunan ve daha önce anlatıldığı gibi benign olarak adlandırılan CNV'ler internet üzerinde bulunan genomik varyasyon veri tabanlarından (DECIPHERv4.1, Ensemble, Database of Genomic Variants ve ECARUCA) araştırılmalıdır (91-94). Ayrıca gelişmiş bazı laboratuvarlar kendi test ettikleri hastalar arasından sağlıklı kişilerde tespit ettikleri CNV'lerin kayıtlarını yaparak kendi referans sistemlerini oluşturmaktadırlar (88). Eğer tespit edilen CNV bilinen bir sendrom lokusunda bulunursa veya bir gen bölgesini içeriyorsa patojenik CNV olarak değerlendirilir. Sağlıklı bireylerde bulunmayan ve bilinen bir mikrodelesyon/mikroduplikasyon sendromuyla uyum göstermeyen CNV'lerin potansiyel olarak patojenik olduğu düşünülür. Bu durumda izlenecek

yol bulunan değişikliğin büyüklüğünü, gen içeriğini değerlendirmek ve ilk defa araştırılan bireyde çıkıp çıkmadığını anlamak için ebeveyn çalışması yapmak olacaktır (Şekil 2.1). Tespit edilen varyasyon, sağlıklı bir ebeveynden kalıtılıyorsa muhtemel olarak benign olarak değerlendirilir. Hasta ebeveynden kalıtılan, de novo saptanan veya hiçbir gruba uymayan CNV'ler muhtemel olarak patojenik CNV olarak kabul edilirler. Bu durumda ise, bilinen genomik varyasyon veri tabanlarından fenotipik olarak örtüşen vakalar araştırılarak moleküler karyotipleme ile saptanan değişikliğin klinikle olan ilişkisi belirlenir (88).



Şekil 2.1. Mental retardasyon ve /veya çoklu konjenital anomalileri olan bireylerde bulunan CNV'lerin klinik olarak değerlendirilmesi*

*Şekil 88 numaralı kaynaktan çeviri yapılarak çizilmiştir.

2.4.1. Affymetrix 2.7 SNP Array

Affymetrix tüm genom 2.7 sitogenetik array platformu 400,103 tanesi SNP olmak ürere toplam 2,761,979 oligonükleotid markırın yüksek çözünürlüğü ile tüm genomun taranmasını sağlamaktadır. Kullanılan bu SNP'ler, SNP veritabanından (dbSNP) seçilmiş olup, heterozigosite kayıplarnın (Loss of Heterozygosity, LOH) tespitine de imkan vermektedir. Kullanılan 2,370,000 polimorfik olmayan markır ise RefSeq (Reference Sequence) genlerini, sitogenetik kritik noktalarını ve sık görülen CNV'leri kapsayacak şekilde seçilmiş ve sisteme uyumu sağlanmıştır.

Yapılan çalışmada kullanılan "Affymetrix® Cytogenetics Whole-Genome 2.7M Array" platformu firma tarafından daha önce kullanılan SNP Array 6.0'ın gelişmiş formudur. SNP Array 6.0'dan farkı, kullanılan polimorfik olmayan markır sayısının artırılması ve SNP yanında CNV'lerin de tespitine daha çok olanak sağlamasıdır. Sistem, tarayıcı (GeneChip® Scanner 3000), sıvı istasyonu (GeneChip® Fluidics Station 450) ve hibridizasyon fırını (GeneChip® Hybridization Oven 640) olmak üzere üç cihazdan oluşmaktadır. Ayrıca GeneChip® Operating yazılımının yüklü olduğu bir bilgisayar sistemi de kullanılmaktadır (95).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmaya 2005-2009 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine kendisi başvuran veya diğer bölümlerden danışılan, nedeni bilinmeyen MR ve/veya MKA ve/veya dismorfik yüz görünümü bulunan 9 hasta dahil edilmiştir.

Çalışma için Etik Kurul onayı, 23 Haziran 2010 tarihli Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 057 karar numarasıyla alınmıştır.

Çalışmaya alınan hastalar; orta veya ağır öğrenme güçlüğü olan, dismorfik bulguları ve/veya konjenital anomalileri bulunan, aşırı büyüme veya büyüme geriliği saptanan, davranış problemleri, nörolojik bulguları olan, spesifik bir sendrom ile klinik olarak ilişkilendirilememiş, kromozom analizi normal bulunmuş, FISH ile subtelomerik mikrodelesyon/duplikasyon saptanmayan hasta grubundan seçilmişlerdir.

3.1. OLGULAR

3.1.1. Olgu 1

Mental motor retardasyon ve büyüme geriliği nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda takip edilen 5 yaşındaki kız hastada prenatal olarak yapılan ultrasonografide (USG) hidronefroz saptanmıştır. Normal vajinal yolla zamanında doğan hastanın, doğum ağırlığı, boyu ve baş çevresi bilgileri öğrenilememiştir. Hasta postnatal olarak sol üreteropelvik darlık nedeniyle opere olmuştur.

Konuşması ve yürümesi olmayan, sadece desteksiz oturabilen hasta mental ve motor geriliği nedeniyle özel eğitim almaktadır.

Aralarında akrabalık bulunmayan sağlıklı anne ile hepatit B taşıyıcısı babanın altıncı çocuğu olan hastamızın 18 yaşında mesane disfonksiyonu olan bir kız kardeşi bulunmaktadır. Olgunun aynı zamanda 16 ve 10 yaşlarında sağlıklı iki kız kardeşi ile 12 ve 7 yaşlarında sağlıklı iki erkek kardeşi olduğu öyküsünden öğrenilmiştir.

Olgunun 2 yaş 2 aylıkken yapılan fizik muayenesinde; boyu 73 cm (<3p), vücut ağırlığı 8,5 kg (<3p), baş çevresi 43cm (<3p) olup; brakisefali, aşağı dönük palpebral fissürler, anteverte nostril, silik filtrum, asimetrik kulaklar, displastik sol kulak, bilateral hipoplazik kulak memeleri, retromikrognati, kubbe damak, belirgin fötal parmak pedleri ve sırtında tüylenme artışı belirlenmiştir. Nörolojik muayenesinde; dört ekstremitede hipotonisite, dirseklerde bilateral 1. derece ekstansiyon spastisitesi ve bunun dışındaki tüm eklemlerde hiperlaksisite saptanmıştır.

Kranial MRI (Manyetik Rezonans Imaging) görüntülenmesinde serebral atrofi, myelin maturasyonunda gecikme, asimetrik kranium, mastoid sinüslerde bilateral efüzyon saptanan hastanın periventriküler ve supraventriküler beyaz cevher alanlarında yer yer minimal sinyal değişikliğinin mevcut olduğu, bunun da gliotik süreç lehine değerlendirilebileceği ve korpus kallozumun bir miktar ince görünümde olduğu belirtilmiştir. Rutin biyokimya ve hemogram tetkikleri, idrar

organik asit, kanda amonyak değerleri; işitme testi, göz muayenesi ve motor gelişme geriliği nedeniyle yapılan kas biyopsisi normal olarak değerlendirilmiştir.

Kemik yaşı 1 yıl geri olan (standart sapma o yaş için 2 ay) hastanın her iki bacak ve femur grafisinde, osteopeni belirlenmiştir. Ekokardiyografide patent foramen ovale saptanan hastanın Elektroensefalografisi (EEG) normal olarak raporlanmıştır. Ayrıca hastanın kranial MRI görüntülemesi kraniosinostoz açısından Beyin Cerrahisi tarafından değerlendirildiğinde kranial süturlara ait patoloji saptanmadığı belirtilmiştir.

Periferik kan kültüründen yapılan kromozom analizinde 46,XX normal karyotip saptanan hasta mevcut bulguları ile bilinen herhangi bir sendrom ile ilişkilendirilememiştir. Tüm kromozomların subtelomerik bölgelerine ait problarla yapılan subtelomerik FISH analizi ile de hastamızın bulgularını açıklayacak bir patoloji saptanmamıştır.

3.1.2. Olgu 2

Mental motor retardasyon, korpus kallozum agenezisi ve uyku düzensizliği nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda takip edilen 10 yaşındaki kız hasta normal vajinal yolla, zamanında 3085 gr, 50 cm olarak doğmuştur. Postnatal olarak herhangi bir sorunu olmayan hastanın 2 yaşında febril konvülzüyon öyküsü bulunmaktadır. Nöromotor gelişim basamakları geri olan hasta, iki kelimeli basit cümleleri 5-6 yaş civarında kurmaya başlamış olup sosyal ilişkilerinin iyi olmadığı, sıcağa tahammül edemediği ve çabuk sinirlenen bir kişilik yapısı olduğu öğrenilmiştir.

Anne baba arasında 1. derece kuzen evliliği olan olgunun 13 yaşındaki kız kardeşi de boy kısalığı nedeniyle kliniğimizde takip edilmektedir. Hastanın soy geçmişinde başka bir özellik bulunmamaktadır.

Olgunun 6 yaş 3 aylıkken yapılan fizik muayenesinde; vücut ağırlığı 19 kg (25-50 p), boyu 101 cm (<3p), baş çevresi 48 cm (<2 SD) olup, yuvarlak yüz, dar alın, düşük alın saç çizgisi, kısa ve belirgin filtrum, kalın dudaklar, sivri dişler, kısa ve kalın boyun, bilateral klinodaktili, kısa ve kalın el parmakları, ödemli görünümde el ve ayak sırtları, kısa bilateral ayak başparmakları ve yürümede dengesizlik tespit edilmiştir.

Olgunun rutin biyokimyasal, metabolik ve tiroid fonksiyon testleri normal aralıkta saptanmış, görme normal sınırlarda değerlendirilmiştir. Kranial MRI görüntülenmesinde korpus kallozum agenezisi belirlenen hastanın elektroensefalografisi (EEG) serebral disfonksiyon lehine yorumlanmıştır. Ağrı ve duyu sensitivitesi azaldığı için yapılan elektromiyografisi (EMG) normal olarak saptanan hastanın, işitmesi ise uyum göstermediği için değerlendirilememiştir. Öksürük ve hırıltılı solunumu olan hastada pulmoner hemosiderozis ön tanısı ile çekilen akciğer tomografisi ve bronkoskopi ile alınan akciğer biyopsisi normal olarak raporlanmıştır.

Olgunun karyotip analizi 46,XX olarak belirlenmiştir. Bulguları bilinen herhangi bir sendromla uyumlu olmayan hastaya MR etiyolojisine yönelik yapılan subtelomerik FISH analizi de normal olarak raporlanmıştır.

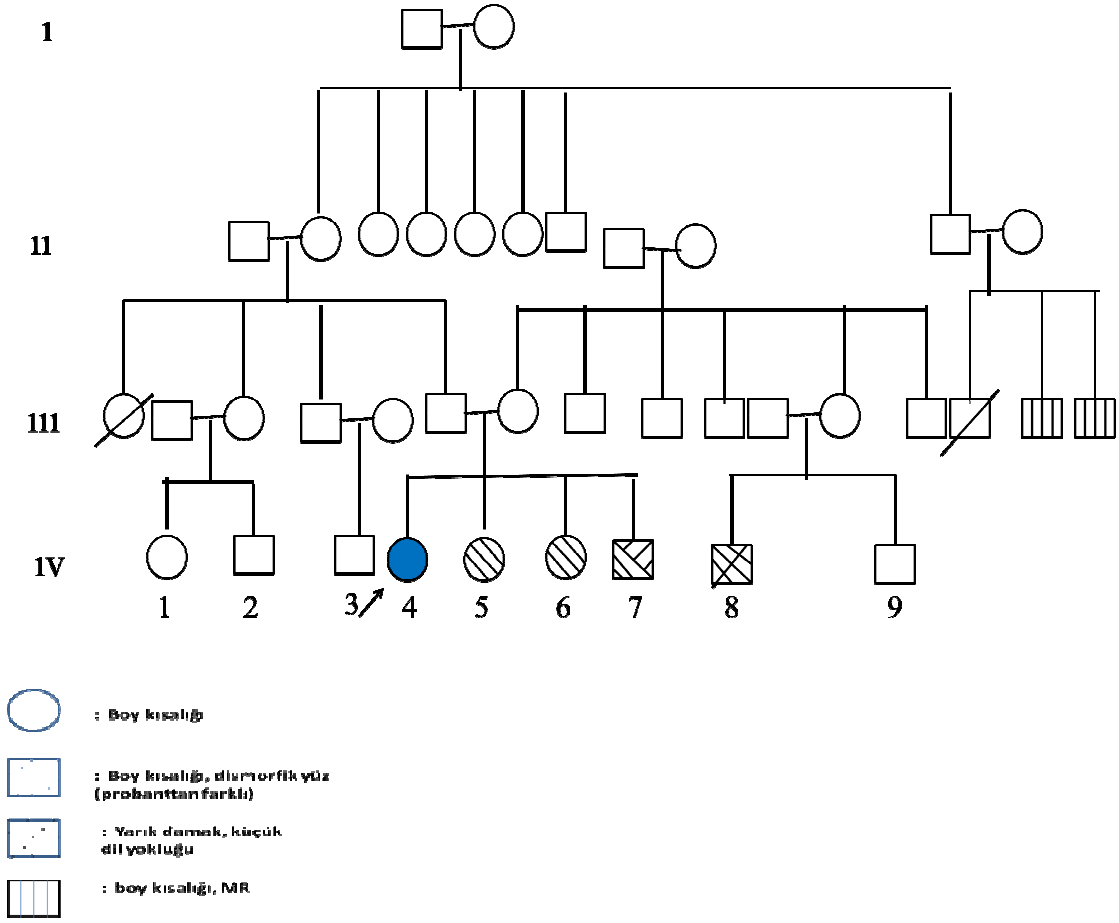
3.1.3. Olgu 3

Mental motor retardasyon ve boy kısalığı nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda takip edilen prenatal olarak herhangi bir özellik tanımlanmayan 14 yaşındaki kız olgu zamanında, normal spontan vajinal yolla 3300 gr olarak doğmuştur. 9 aylıkken desteksiz oturmaya, 1,5 yaşında yürümeye başlayan hastanın, okul başarısının ve sosyal ilişkilerinin kötü olduğu öğrenilmiştir. Hiperkinetik bozukluk nedeniyle Çocuk Psikiatrisi bölümü'nce takip edilen hasta Ritalin® kullanmaktaydı. Ailesinde birden fazla MR tanısı almış kardeşi olan olgunun aile ağacı Şekil 3.1'de gösterilmiştir.

11 yaşında yapılan fizik muayenesinde; vücut ağırlığı 29 kg (10p), boyu 124 cm (<3p), baş çevresi 50 cm (<2SD), kulaç boyu 34 cm, oturma yüksekliği 65 cm olup, dar alın, upsweep, uzun kirpikler, belirgin columella, anteverte nostriller, uzun filtrum, ince üst dudak, bilateral yapışık kulak memeleri tespit edilmiştir.

Boy kısalığı nedeniyle Çocuk Endokrinoloji bölümünce de takip edilen hastada insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteini ve büyüme hormonu normal olarak ölçülmüştür. Hastanın hemogram tetkikinde sınırda anemisi ve MCV düşüklüğü bulunması ile dismorfik yüz bulguları nedeniyle "Alfa Talasemi Mental Retardasyon Sendromu" ön tanısı ile yapılan hemoglobin elektroforezi normal olarak değerlendirilmiştir. Hastanın takibi sırasında yaşının büyümesi ile

değişen yüz bulguları nedeniyle belirtilen ön tanıdan da uzaklaşılmıştır.



Şekil 3.1. Olgu 3 (IV-4)'e ait aile ağacı

Kromozom analizinde normal karyotip belirlenen hastanın mental retardasyon etiyolojisini araştırmak amacıyla yapılan subtelomerik FISH testinde de herhangi bir mikrodelesyon/duplikasyon saptanmamıştır.

3.1.4. Olgu 4

MR'li ve dismorfik yüz görünümlü kardeşi olması ve kendisinin de MR ve konvülziyon geçirme öyküsü bulunması nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilen 4 yaşında kız hasta'nın prenatal öyküsünde sorun

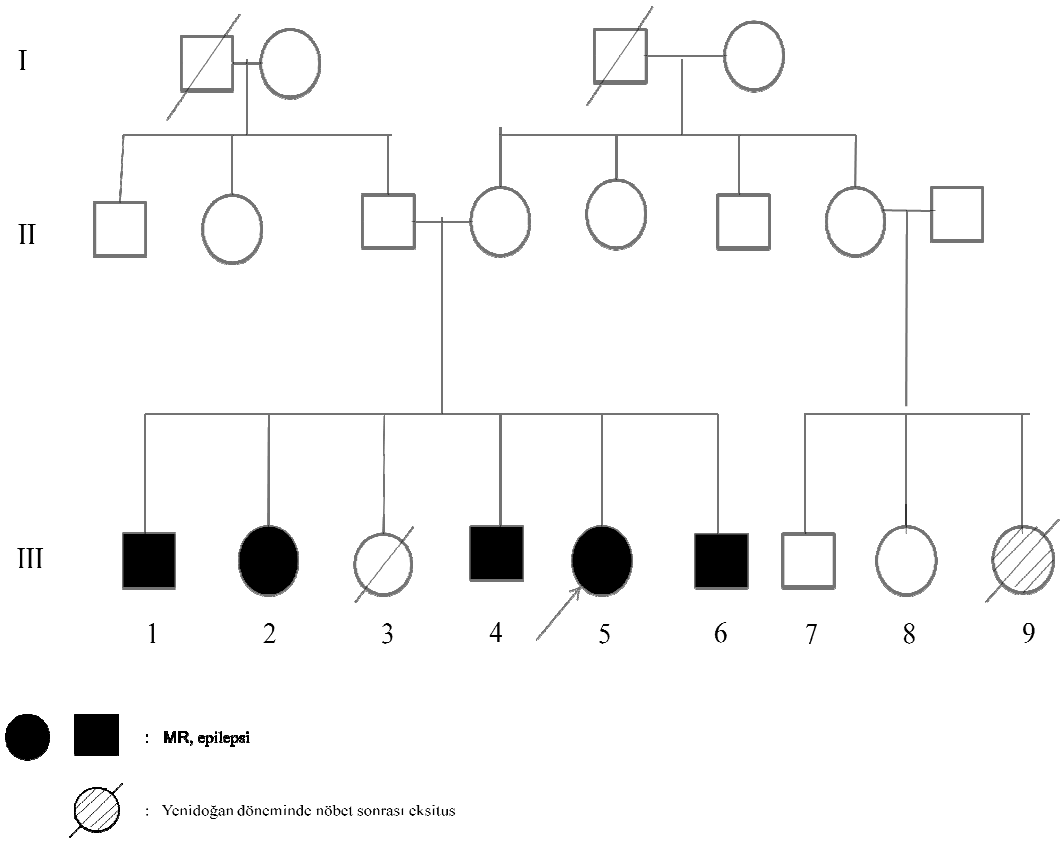
olmadığı, zamanında, sezeryan doğum (C/S) ile, 3990 gr, 52 cm olarak doğduğu öğrenildi. Postnatal 7. aya kadar herhangi bir sorunu olmayan hastamızın bu dönemde 2 kez febril konvülzüyon, sonrasında febril olmayan konvülzüyon öyküsü vardı. Çocuk Nöroloji bölümünce de takip edilen hasta Depakin® ve Rivotril® kullanmaktaydı. Başını 6 aylıkken tutmaya başlayan hasta yürümeye 3,5 yaşında başlamıştı.

Ebeveynleri aynı köyden olan hastamızın 4 kardeşi de klinik ağırlıkları değişmekle birlikte, kendisindekine benzer bulguları nedeniyle değişik merkezlerde araştırılmış ve herhangi bir neden bulunamamıştı. Kardeşlerinin klinik bulguları Tablo 3.1'de ve vakamıza ait aile ağacı Şekil 3.2'de özetlenmiştir.

Hastamızın 8 aylıkken yapılan fizik muayenesinde; vücut ağırlığı 10.5 kg (75-90 p), boyu 72 cm (75-90 p) ve baş çevresi 46.5 cm (90-97 p) olarak tespit edilmiştir. Santral hipotonisi bulunan hasta; sarışın, renkli gözlü, makrosefalik görünümlü ve yuvarlak yüzlü idi. Kulak memelerinde hafif uplift bulunan hastada upslanting palpebral fissürler, kısa boyun, ense ve oksipital bölgede hemanjiyom, ayrık yerleşimli meme başları, bilateral inverted nipple, belirgin parmak pedleri, hipoplazik ayak tırnakları ve sakral dimple saptanmıştır.

Konvülziyon etiyolojisine yönelik incelenen hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile metabolik hastalıklara yönelik taramaları normaldi. İdrar, kan ve beyin omurilik sıvısından (BOS) yapılan kültür örneklemelerinde üreme olmamış, EEG ve beynin bilgisayarlı tomografi (BT) ile görüntülenmesinde de konvülziyon sebebine yönelik bir değişiklik izlenmemişti.

Kromozom analizi 46, XX normal karyotip olarak belirlenen hasta bilinen herhangi bir genetik sendromla ilişkilendirilmemiş ve MR etiyolojisine yönelik tüm kromozomların subtelomerik bölgelerinin araştırılması için yapılan FISH analizinde de kayıp veya kazanç saptanmamıştır.



Şekil 3.2. Olgu 4 (III-5)'e ait aile ağacı. Ok probandı işaret etmektedir.

Tablo 3.1. Olgu 4'ün kardeşlerinin klinik bulgularının özeti

	III-1	**III-2**	**III-3**	**III-4**	**III-6**
Yaş, cinsiyet	26 yaş, erkek	24 yaş, kız	9 aylıkken penisilin alerjisi nedeniyle exitus, kız	19 yaş,erkek	2 yaş, erkek
İlk konvülziyon geçirme yaşı	15 günlük	3,5 ay	Hiç geçirmemiş	6,5 ay	2,5 ay
Şimdiki durumu	MR, konuşma, yürüme yok	MR, konuşma yok, yürüme: 6 yaş		MR, konuşma yok, yürüme: 2,5 yaş, Nedensiz gülme	Gelişme geriliği, halen yürüme, konuşma yok
Dismorfik bulgular	Muayene edilmedi	Sarışın, renkli göz, yüz uzun, upslanting palpebral fissürler, bilateral epikantus, parmak pedleri belirgin, parmaklar fusiform.	Muayene edilmedi	Sarışın, renkli göz, hafif hipotelorizm, parmak pedleri belirgin parmaklar fusiform	Muayene edilmedi
Kranial MR/BT		Kranial MRI: Hipoksik iskemik ensefalopati ile uyumlu periventriküler lökomalazi.			

3.1.5. Olgu 5

Onsekiz yaşındaki erkek hasta, Çocuk Kardiyoloji bölümünde çarpıntı nedeniyle yapılan Ekokardiyografide mitral kapak prolapsusu tespit edilmesi ve MR görünüm nedeniyle tarafımıza konsülte edilmişti. Hasta, prenatal ve postnatal dönemde herhangi bir sorun yaşamamış olup; zamanında, normal spontan vajinal yolla 4500 gr olarak doğmuştu. 4 yaşına kadar anne sütü alan hasta yürümeye 3 yaşında, 2-3 kelimelik cümle kurmaya 6 yaşında başlamıştı ancak muayene

anında hala kelimeleri tam telaffuz edemeyip, anlaşılır cümle kuramıyordu. IQ değeri 65 saptanan hasta özel eğitim almaktaydı. Agresif tavırları nedeniyle sosyal geri çekilmesi mevcuttu.

Herhangi bir sağlık problemi olmayan, aralarında 1.derece kuzen evliliği (3. derece akrabalık) bulunan anne babanın 3. çocuğu olan hastamızın 20 ve 22 yaşlarında iki sağlıklı kız kardeşi vardı. Aile bireyleri arasında hastanın fenotipik olarak en çok benzediği kişi annesiydi.

Olgunun 17 yaşındayken yapılan fizik muayenesinde; vücut ağırlığı 65 kg (25p), boyu 182 cm (50-75p) olarak ölçülmüş, fakat agresif davranışlarından dolayı baş çevresi ölçülememiştir. Dismorfik bulguları arasında dar uzun yüz, gür kaşlar, sinofris, anteverte nostriller, ince üst dudak, düzensiz diş yapısı, kulak memelerinde hafif uplift, sol el 4. parmağında mediyale deviasyon ve uzun parmaklar saptanmıştır. Nörolojik muayenesi normal olan hastanın, diz ve dirseklerinde eklem laksisitesi tespit edilmiştir.

Kromozom analizi normal saptanan hastanın dismorfik yüz bulguları, mental ve motor retardasyonu, konuşma bozukluğu ile agresif davranışları nedeniyle klinik olarak Smith Magenis Sendromu düşünülmüştür. Bu sendromun etiyolojisinde delesyona uğrayan 17p11.3 bölgesi lokus spesifik FISH yöntemi ile analiz edilmiş ve bu bölgeye ait bir anormallik izlenmemiştir. Sonrasında yapılan subtelomerik FISH yöntemi ile tüm kromozom telomerlerinin analiz edilmesiyle de hastanın kliniğini açıklayacak bir değişiklik bulunamamıştır.

3.1.6. Olgu 6

MR, gelişme geriliği ve dismorfik yüz görünümü nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilmekte olan prenatal dönemde bir sıkıntısı olmayan, 7 yaşındaki kız hasta; 39 haftalıkken normal spontan vajinal yolla doğmuştur. Doğum ağırlığının 3200 gr ve boyunun 48 cm olduğu öğrenilmiştir. Postnatal dönemde fizyolojik sarılık dışında sorun yaşamayan hasta; 18 ay anne sütü ile beslenmiş, desteksiz oturmaya 1 yaşında, yürümeye 2 yaşında başlamış ve konuşma gecikmesi nedeniyle incelendiğinde sağ kulakta sensörinöral işitme kaybı tespit edilmiştir. Yapılan psikometrik testlerde yaşıtlarına göre gelişme geriliği belirlenmiş olup özel eğitim almaktaydı. Hastanın ayrıca özgeçmişinden; gözlerinde kuruluk ve ağlarken yaş gelmemesi nedeniyle 3 yaşındayken sol gözünden lakrimal kanal tıkanıklığı nedeniyle opere olduğu ve 2 yaşındayken bilateral inguinal herni onarımı ameliyatı geçirdiği öğrenildi.

Aralarında akrabalık bulunmayan sağlıklı ebeveynlerin tek çocuğu olan hastanın anne-babasının aynı zamanda yeni bir gebelik için prenatal tanı isteği bulunmaktaydı.

Olgunun 5 yaşındayken yapılan fizik muayenesinde; vücut ağırlığı 17 kg (25p), boyu 103 cm (3-10p), baş çevresi 50 cm (3-10p) olarak belirlenmiştir. Dismorfik bulgular arasında; kıvırcık ve frontotemporal bölgede seyrek saçlar, seyrek ve dağınık kaşlar, bilateral epikantus, uzun kirpikler, ayrık ve büyük ön üst kesici dişler, yüksek damak, ellerde ve ayaklarda bilateral kısa 5. parmaklar,

ellerde 3 ve 4. parmaklarda belirgin parmak pedleri, hipoplazik ayak tırnakları ve sakral dimple tespit edilmiştir.

Kranial MRI incelemesinde korpus kallosum agenezisi ve pontin hipoplazi saptanan hastanın işitme kaybına yönelik yapılan kulak MRI görüntülemesinde iç kulak yapıları ile 7. ve 8. kranial sinirler normal olarak izlenmiştir. Sakral dimple için yapılan yüzeyel ultrasonografide dimple'in koksigeal kartilaja uzanım göstermekte olduğu fakat spinal kanal ile ilişkisi bulunmadığı belirlenmiştir.

Kromozom analizi normal olarak belirlenen hastanın yüz hatlarının hafif kaba olması ve 5. parmak kısalığı nedeniyle Coffin Siris Sendromu ön tanısı ile el- bilek grafisi istenmiştir. Grafide 5. parmakların medial falankslarında kısalık olup distal falankslarda kısalık olmaması nedeniyle ön tanı dışlanmıştır. Hastada mental retardasyon ve çoklu konjenital anomalilerin etiyolojisini araştırmak için yapılan subtelomerik FISH analizi de normal olarak değerlendirilmiştir.

3.1.7. Olgu 7

MR, boy kısalığı ve dismorfik yüz görünümü nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilen 16 yaşında erkek hastanın prenatal öyküsünde herhangi bir anormallik olmayıp, zamanında normal vajinal yolla doğduğu ve vücut ağırlığının ve boyunun çok düşük olduğu ancak rakamsal değerlerini bilmedikleri öğrenildi. Motor ve mental gelişim basamakları geri olan olgu, halen uzun cümleler kuramıyor, bazı harfleri düzgün telaffuz edemiyor ve

özel eğitim alıyordu. Hasta alerjik konjunktivit ve vernal konjunktivit nedeniyle Göz Hastalıkları polikliniğinde de takip edilmekteydi.

İkinci derece kuzen evliliği yapmış olan anne-babanın 2. çocuğu olan Olgu 7'nin 17 yaşında sağlıklı bir kız kardeşi ve 9 yaşında doğuştan görme bozukluğu ve 5 yıl önce tanı konulmuş epilepsisi olan bir kız kardeşi daha bulunmaktadır. Ayrıca Olgu 7'nin bir erkek kardeşinin de doğumundan 1 hafta sonra karın şişliği nedeniyle eksitus olduğu öğrenilmiştir.

Hastanın 9 yaşındayken yapılan fizik muayenesinde; vücut ağıtlığı 32,9 kg (3-10p), boyu 134,9 cm (<3p) ve baş çevresi 50,5 cm (<2p) olarak ölçülmüştür. Olgunun diğer bulguları arasında; gür saçlar, upsweep, düz alın, kavisli ve seyrek kaşlar, upslanting palpebral fissürler, belirgin kolumella, uzun filtrum, küçük ağız ve kulaklar, ince üst dudak, küçük dişler, kuru cilt ve bilateral el 5. parmaklarında klinodaktili belirlenmiştir.

Hastanın hemogram, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri ile tiroid fonksiyon testlerinde herhangi bir anormallik izlenmemiştir. Boy kısalığına yönelik incelenen Somatomedin C ve insülün benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteini (ILGFBP) de normal aralıkta tespit edilmiştir. Olgunun 12 yaş 7 aylıkken çekilen el bilek grafisinde kemik yaşı 11 yaş 6 ay ile uyumlu bulunmuş ve standart deviasyon eklenince kemik yaşı takvim yaşı ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Klinik olarak herhangi bir sendromla ilişkilendirilemeyen hastanın kromozom analizi ve subtelomerik FISH analizi normal olarak değerlendirilmiştir.

3.1.8. Olgu 8

Mental retardasyon, dismorfik yüz görünümü nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilen 22 yaşında erkek hasta yetiştirme yurdunda barındığı için prenatal, natal, postnatal öyküsü ile aile hikayesi alınamamıştır. Epilepsi nedeniyle Nöroloji bölümünce takip edilen hasta Tegretol®, kendisine zarar vermesi ve aynı cinse ilgisi olması nedeniyle Serequel® kullanmaktaydı. IQ değeri 45 puan olarak değerlendirilen hasta özel eğitim almaktaydı.

Hastanın 18 yaşındayken yapılan fizik muayenesinde; boyu 172 cm (25-50p), baş çevresi 54 cm (3-10p) olarak ölçülmüş fakat hastanın vücut ağırlığı kooperasyon eksikliğinden dolayı değerlendirilememiştir. Fizik muayenesinde; mikrosefalik görünüm, dar alın, belirgin glabella, belirgin burun kökü, yüksek burun köprüsü, kısa filtrum, dar damak, karışık diş yapısı, retrognati, uzun boyun, ensede hemanjiom, kuru cilt, uzun parmaklar, 3-5. parmaklarda daha belirgin olmak üzere proksimal interfalangeal eklemlerinde bilateral kontraktür, sol ayakta 3. parmakta kontraktür, açıklığı sola bakan torakolomber skolyoz ve kifoz tespit edildi (Şekil 3.3). Genital muayenesi normal olarak değerlendirildi.



Şekil 3.3. Olgu 8'in fizik muayene ve dismorfik bulguları a) Olgunun yüz görünümü, b) skolyoz ve kifoz, c-d) ellerde kendine zarar vermeye bağlı travma sonrası sargı ve parmaklarda araknodaktili, fleksiyon kontraktürleri, e) ayak parmaklarındaki fleksiyon kontraktürü izlenmektedir (Fotoğraflar olgunun yasal velisinin izniyle kullanılmıştır).

Epilepsi ve MR etiyolojisi için yapılan kranial MRI normal sınırlarda bulunurken, hastanın rutin biyokimya, hemogram ve idrar tetkiklerinde patoloji saptanmadı.

Kromozom analizi normal karyotip olarak belirlenen hasta, klinik bulgularıyla herhangi bir genetik sendromla ilişkilendirilmedi. Tüm kromozomların telomerlerinde, kliniği açıklayabilecek olası mikrodelesyon veya

mikroduplikasyonların araştırılması amacıyla yapılan subtelomerik FISH testinde de anormal bir yeniden düzenlenim izlenmedi.

3.1.9. OLGU 9

Mental motor retardasyon nedeniyle Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğinde takip edilen 10 yaşındaki kız hastanın ailesi sağlıklı çocuk sahibi olabilmek için prekonsepsiyonel danışmanlık almak istiyordu. Hastanın annesi ovulasyon indüksiyonu için ilaç kullanmakta iken gebe kalmış olup, prenatal dönemde bir problem yaşamamıştı. Zamanında C/S ile, vücut ağırlığı 3200 gr ve boyu 51 cm olarak doğan hasta mekonyum aspirasyonu nedeniyle 1 hafta küvözde izlenmişti. Başını tutmak dahil hiçbir motor gelişim basamağını tamamlayamayan hasta hipotoni ve 22 aylıktan beri olan dirençli epilepsi nedeniyle Çocuk Nöroloji bölümünce de takip edilmekteydi. Kullandığı ilaçlar; Topamax®, Sabril®, Depakin® ve Firuzum®'du.

Aralarında 3. derece akrabalık bulunan sağlıklı anne babanın ikinci çocuğu olan hastanın 9 yaşındaki kız kardeşi, kendisi doğmadan 5 yıl önce besin aspirasyonu nedeniyle eksitus olmuştu. Olgunun kardeşinin de kendisi gibi hipotonisitesi ve yutma güçlüğü olduğu, kranial görüntülenmesinde "Dandy Walker" malformasyonu ve serebral atrofi tespit edildiği dosya bilgilerinden ve ailesinden öğrenildi.

Hastanın 6 yaşındayken yapılan fizik muayenesinde vücut ağırlığı 23 kg (75-90 p), boyu 108 cm (25-50p) ve baş çevresi 47 cm (<3p) idi. Olgunun dismorfik bulguları arasında kıvırcık saçlar, anormal kafa şekli (pleigosefali),

sinofris, uzun kirpikler, upslanting palpebral fissürler, strabismus, kısa burun, anteverte nostril, açık ağız, aralıklı ve düzensiz yerleşimli dişler, ense saç çizgisinde yaklaşık 3X4 cm büyüklüğünde hemanjiom, bilateral fusiform el parmakları, kalın proksimal falankslar, pes planus ve ayaklarda bilateral 2-3. parmaklar arasında sindaktili belirlenmiştir. Nörolojik muayenesinde belirgin hipotoni, artmış derin tendon refleksleri ile klonus patolojik refleksi pozitif olarak saptanmıştır.

Kardeş ölüm öyküsü nedeniyle prenatal dönemde amniyosentez materyalinden dış merkezde yapılmış olan kromozom analizi normal karyotip olarak raporlanmıştı. Kromozom analizi ile eş zamanlı olarak Spinal Musküler Atrofi açısından analiz edilen SMN geni ekzon 7 ve 8'de de delesyon saptanmamıştı. Yapılan BT'de serebellar vermis inferiorunda hipoplazi saptanmıştı. Kranial MR incelemesinde ise Dandy Walker varyantı, minimal triventriküler hidrosefali ve oksipital hornda asimetrik dilatasyon izlenmişti. İşitme testinde herhangi bir anormallik saptanmayan hastanın Ekokardiyografik değerledirilmesi ve vertebra grafisi de normal olarak belirlenmiştir.

Olgunun postnatal olarak yapılan yüksek rezolüsyonlu kromozom analizinin de normal saptanması üzerine MR etiyolojisini araştırmak için yapılan subtelomerik FISH analizinde de kromozomların telomerlerinde herhangi bir yeniden düzenlenim izlenmemiştir.

3.2. DNA ELDESİ

3.2.1. DNA Eldesi İçin Gerekli Malzemeler

- Otoklavlanmış bidistile su (Applichem®)
- Proteinaz K (20 mg/ml) (Applichem®)
- Lysis buffer (10 mM TrisCl, 400 mM NaCl, 2 mM Na2EDTA pH: 8.2) (Applichem®)
- SDS (sodyumdodesil sülfat) (Merck®)
- Amonyum asetat (Merck®)
- Absolü etanol (Riedel-De Haen®)
- TE Buffer (10 mM Tris-HCI, 1 mM Na2EDTA pH=7.5) (Applichem®)

3.2.2. DNA Eldesi Yöntemi

DNA'lar "Yüksek Tuz Konsantrasyonlu DNA İzolasyon Yöntemi" ile elde edilmiştir.

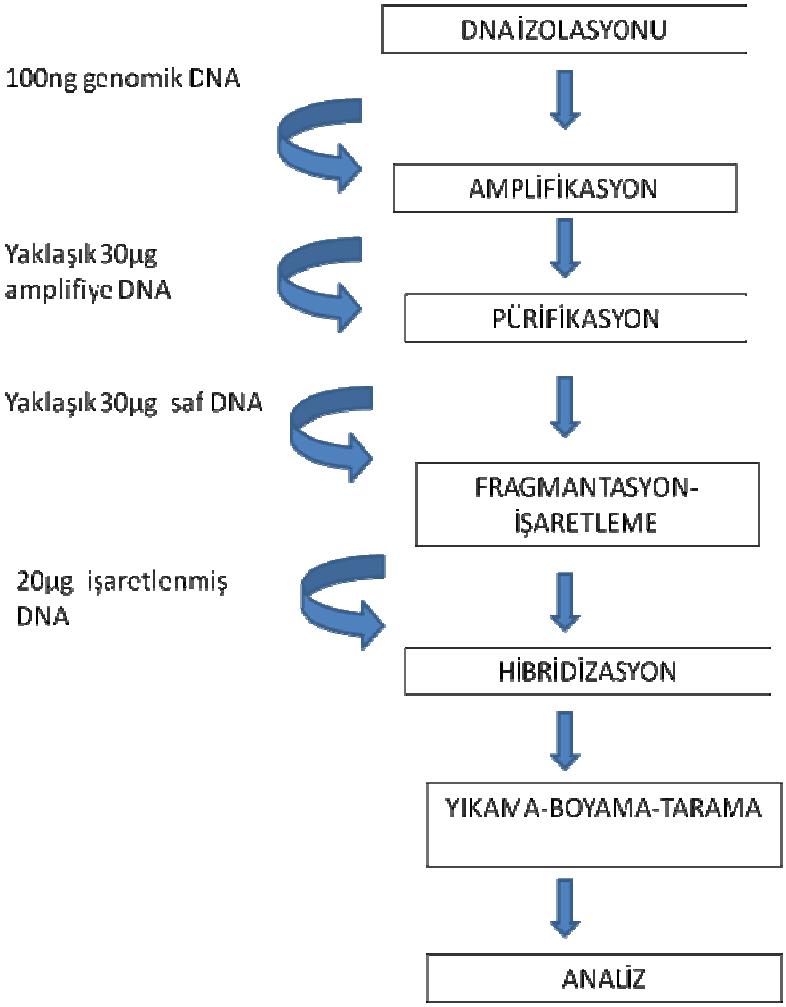
- 2,5 ml kan 15 ml'lik steril tüpe alınıp, üzerine 15 ml'ye tamamlayacak şekilde önceden hazırlanmış otoklavlanmış soğuk bidistile su konulmuştur.
- Aşağı yukarı çalkalayarak 2-3 dk hızlı olarak karıştırıldıktan sonra 2000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir.

- Süpernatant atılıp pelletin üzerine tekrar soğuk su ilave edilip santrifüj yapılmış, bu işlem 5 kez daha tekrarlanıp, son boşaltmada tüpler bir kağıt havlunun üzerine ters çevrilip, süzülmesi sağlanmıştır.
- Süzüldükten sonra tekrar çevrilerek üzerine 750 µl nükleolizis buffer, 40 µl Proteinaz K (20 mg/ml), 50 µl SDS konup çalkalanmış ve bir gece 37 °C de bekletilmiştir.
- Ertesi gün 500 µl Amonyum asetat eklenip, aşağı yukarı hızla karıştırılarak 10 dk oda ısısında bekletilmiş ve 3500 rpm de 20 dk santrifüj edilip, üzerindeki süpernatant başka 15 ml tüpe aktarılmıştır.
- Tüpün içindekinin iki katı kadar absolü etanol konulup, hafif karıştırılarak içindeki DNA belirginleştirilmiştir.
- Önceden içerisine 150 µl TE konan ependorflara pipet ucuyla alınan DNA konulup, 1 gün oda sıcaklığında bekletilmiş ve çözünmesi sağlanmıştır.
- Çözünmüş olan DNA %1'lik agaroz jelde yürütülmüş ve Nanodrop ND-1000 USA spektrofotometrede ölçülmüştür. OD260/OD280 oranı ve optik dansitesi kaydedilmiştir.
- Çözündükten sonra kullanılıncaya kadar deepfreze kaldırılmıştır (-20°C).

3.3. CYTO 2.7 MARKER ASSAY ARRAY ÇALIŞMASI

- Array çalışması sistem sağlayıcı firmanın protokolüne uyularak yapılmıştır (95).

- Çalışmanın basamakları Şekil 3.4'te özetletlenmiştir.



Şekil 3.4. Array 2.7 çalışmasının basamakları

- Array çalışmasında kullanılacak olan DNA'ların konsantrasyonları spektrofotometrede ve yaklaşık olarak 250 ng/µl yoğunluğunda ölçülmüştür. Tüm DNA'ların OD260/OD280 (optik dansite) oranının 1.8 ile 2 arasında bulunmasına dikkat edilmiştir.
- Elde edilen DNA'lar %1'lik agaroz jelde yürütülerek degrade olmadığından emin olunmuştur.

- Moleküler karyotiplemede 33 ng/µl DNA kullanılacağı için, hastaların kanından elde edilen yaklaşık olarak 250 ng/µl yoğunluğundaki DNA'lar, 1xTE (Tris EDTA) buffer ile dilüe edilmiştir.

3.3.1. Tüm Genom Amplifikasyonu

Bu basamak ve sonraki basamaklarda kullanılacak olan tüm malzemeler sağlayıcı firma tarafından Affymetrix® USA markası altında tedarik edilmiştir.

Gerekli malzemeler:

- Cyto 10x Denaturasyon Solüsyonu (DS) (-20 Cº)
- Cyto 10x Nötralizasyon Solüsyonu (NS) (-20 Cº)
- Cyto Amplifikasyon reaksiyonu Bufferı (-20 Cº)
- Cyto Amplifikasyon enzimi (-20 Cº)
- Cyto Water (oda sıcaklığı)
- 1,5 ml'lik ependorf

Yöntem:

- DS, NS ve Amplifikasyon bufferı -20 Cº'den çıkarılarak oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiştir. Amplifikasyon bufferı çözündükten sonra kuvvetlice vortekslenip, maksimum hızda spin yapılmış ve buz üzerinde bekletilmiştir. DS ve NS ise oda sıcaklığında bekletilmiştir.

- 10x DS ve 10x NS, 1x haline dilüe edilmiş, vorteks ve spin yapılmıştır.

- 1,5 ml'lik ependorflara 33 ng/µl'ye dilue edilmiş genomik DNA'dan 3'er µl konulmuştur (3x33= 99, yaklaşık 100 ng).
- Üzerine oda sıcaklığında 1x DS 3 µl eklenmiş ve vorteks-spin yapılmıştır.
- 3 dk oda sıcaklığında beklendikten sonra örnekler üzerine 1x NS'den 6'şar µl eklenip, vorteks spin yapılarak toplamda 12 µl olan örnekler buza konulmuştur.
- Hiç beklenilmeden, buzda bulunan amplifikasyon bufferdan 50 µl ve -20 Cº'deki amplifikasyon enziminden 2,5 µl eklenerek elde edilmiş toplam 64,5 µl'lik her bir örnek vortekslenerek spin yapılmıştır.
- Hazırlanan örnekler amplifikasyon için 30 Cº'ye ısıtılmış ısı döngüleyiciye (Thermal cyclar) yerleştirilmiş ve Tablo 3.2'de verilen program uygulanmıştır.

Tablo 3.2. Isı döngüleyicide uygulanan amplifikasyon programı

Cyto Amplifikasyon Programı	
Sıcaklık	Zaman
30 ºC	16 saat
65 ºC	3 dakika
4 ºC	Bekleme

3.3.2. Pürifikasyon

Gerekli Malzemeler:

- Cyto Elution Buffer (oda sıcaklığı)
- Cyto Pürifikasyon Yıkama Buffer (oda sıcaklığı)
- Cyto Magnetik Bead (+4 Cº)

Yöntem:

- Kit ilk açıldığında Cyto pürifikasyon yıkama bufferına %100'lük etanolden 10,5 ml eklenmiştir.
- +4 Cº'den çıkarılan Cyto Magnetik Bead homojen olacak şekilde vortekslenmiştir.
- 64,5 µl'lik amplifiye olmuş örnekler, altı düz olan 2ml'lik ependorflara alınmış ve üzerlerine 90 µl Magnetik Bead eklenmiştir.
- 10 kez pipetaj yapılıp, 5 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra ependorflar manyetik alan üzerine alınarak sıvı tam şeffaf olana kadar bekletilmiştir (yaklaşık 5 dk).
- Manyetik Bead'lere bağlanarak ependorfun manyetik alan yönünde bulunan yüzeyine yapışan DNA'ya dokunulmadan şeffaf süpernatanlar pipet ile çekilmiştir.
- Manyetik alandan çıkarılan ependorf üzerine daha önceden %100'lük etanol eklenmiş haldeki Cyto pürifikasyon yıkama buffer'ından 200 µl eklenmiştir. 1 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra yine manyetik alanda sıvı şeffaflaşana kadar (yaklaşık 1 dk) bekletilmiş ve

şeffaf süpernatan atılmıştır. Bu yıkama işlemi aynı şekilde 2 kez tekrarlanmıştır.

- Ependorf içindeki çökeltinin kurumasına müsade edilmeden 50 µl Cyto elution buffer ilave edilmiş ve 15-30 dk sıvı homojen olana kadar en yüksek hızda vorteks yapılmıştır.
- 1500 rpm'de 1 dk spin yapıldıktan sonra, manyetik alan üzerinde 15 dk ependorfun kapağı kapalı, 15 dk açık olacak şekilde bekletilmiş ve şeffaf süpernatanlar (yaklaşık 45 µl) yeni ependorflara alınmıştır.
- Vorteks-spin yapıldıktan sonra spektrofotometrede ölçülmek üzere örnekler 1/10 oranında sulandırılmıştır. Ölçümde yoğunluğun 1-2 µg/ml, OD260/OD280 oranının ise 1.8 ile 2 arasında olmasına dikkat edilmiştir.

3.3.3. Fragmantasyon- İşaretleme

Bu aşamada amplifiye edilmiş ve saflaştırılmış gDNA, parçalara ayrılarak işaretleme yapılmıştır.

Gerekli Malzemeler:

- Cyto Frag-Label Buffer (-20 Cº)
- Cyto Frag-Label Enzimi (-20 Cº)

Yöntem:

- Oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiş Cyto Frag-Label Buffer vorteks-spin yapıldıktan sonra, Cyto Frag-Label enzimi ise direk olarak buz üzerine yerleştirilmiştir.
- Buz üzerinde yeni ependorflara pürifiye edilmiş örneklerden 37'şer µl konulduktan sonra üzerlerine 10 µl Frag-Label Bufferı, 3 µl Frag-Label enzimi eklenerek elde edilmiş toplam 50 µl olan örnekler vorteks-spin yapıldıktan sonra Tablo 3.3'de verilen programa göre ısı döngüleyiciye yerleştirilmiştir.

Tablo 3.3. Isı döngüleyicide uygulanan fragmantasyon ve işaretleme programı

Cyto Frag-Label Programı	
Sıcaklık	Zaman
37 ºC	2 saat
95 ºC	10 dakika
4 ºC	Bekleme

- Reaksiyon sonrasında örnek, fragmantasyonun kontrolü için %4'lük agaroz jelde yürütülmüştür. 2,5 µl örnek, 2,5 µl'orange dye'ile boyanarak marker eşliğinde jele yüklenmiş, 140 voltta 20 dk yürütülmüştür. Bant yoğunluğu 50-200 bp arasında görülerek fragmantasyon kontrol edilmiştir.

3.3.4. Hibridizasyon

Bu aşamada array çiplerini sağlayan firmaya ait hibridizasyon fırını kullanılmıştır. Hibridizasyon buz üzerinde yapılmıştır.

Gerekli malzemeler:

- Cyto Hibridizasyon Buffer (-20 Cº)
- Array 2.7 çipi
- Hibridizasyon fırını (Affymetrix Hybridization Oven 640)

Yöntem:

- Hibridizasyon bufferı kullanılmadan önce 15 dk buzda bekletilmiştir. Sonrasında buz üzerindeki her bir örnek üzerine 100 µl hibridizasyon bufferı eklenerek elde edilen 147,5 µl hacimli örnekler vorteks ve spin yapıldıktan sonra denature edilmek üzere aşağıda verilen programa ayarlanmış ısı döngüleyiciye yüklenmiştir. (Tablo 3.4)

Tablo 3.4. Isı döngüleyicide uygulanan denatürasyon programı

Cyto Denatürasyon Programı	
Sıcaklık	Zaman
95 ºC	5 dakika
50 ºC	15 dakika
50 ºC	Bekleme

- Denatüre olan örnekten 130'ar µl pipete çekilerek Şekil 3.5'de gösterildiği üzere array çipinin bölmelerine yavaşça yüklenmiştir.

Yuvarlak etiketlerle bölmeler kapatılarak 50 ºC'ye ısıtılmış hibridizasyon fırınında 60 rpm'de çevrilecek şekilde 16 ila 19 saat arasında inkübe edilmiştir.



Şekil 3.5. a) Array çipinin görüntüsü **b)** Örneklerin küçük bölmelere yüklenişi.

3.3.5. Yikama, Boyama ve Arraylarin Taranmasi

Bu aşamada arrayler yıkanıp boyanarak analiz edilmek üzere tarama işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın bu basmağında da yıkama, boyama ve tarama işlemlerinde sağlayıcı firmaya ait cihazlar kullanılmıştır.

Gerekli malzemeler:

- Sıvı İstasyonu 450 (Affymetrix Genechip® Fluidics Station 450)
- Tarayıcı (Affymetrix Genechip® Scanner 3000)

- 1,5 ml ependorf (doğal, mavi ve kırmızı)
- Sitogenetik Reagent kiti:
  - Cyto Boyama Buffer 1 (4 Cº - amber)
  - Cyto Boyama Buffer 2 (4 Cº - amber)
  - Cyto Holding Buffer (4 Cº - amber)
  - Cyto Yıkama Buffer A (oda sıcaklığı- turuncu)
  - Cyto Yıkama Buffer B (oda sıcaklığı- turuncu)

Yöntem:

- Yıkama İstasyonunda (Fluidics station) bulunan boş şişelere 500'er ml Cyto Yıkama Buffer A ve B eklenmiştir. Su şişesi doldurulmuş, çöp şişesi boşaltıldıktan sonra sistem ön yıkama yapması için PRIME-450 programı ile çalıştırılmıştır.
- Bu sırada 4 ºC'de bulunan Cyto Boyama buffer 1 ve 2 ile Holding Buffer oda sıcaklığında bekletilmiş ve Tablo 3.5'de gösterildiği gibi 1,5ml'lik tüplere alınmıştır.
- 1,5 ml'lik renkli tüplerde bulunan Cyto Boyama buffer 1 ve 2 ile Holding Buffer Şekil F1'deki gibi yıkama istasyonuna yerleştirilmiştir. "*Cytogenetics Focused Array 450"* protokolü seçilerek cihaz çalıştırılmıştır. Sonra kartuş kartları array çiplerini yerleştirmek üzere açılmıştır.

Tablo 3.5. Yıkama ve Holding Bufferların Tüplere bölünmesi

Reagent	Tüpün rengi	Tüplere konulan volüm
Cyto Boyama Buffer 1	Amber	500 µl
Cyto Boyama Buffer 2	Mavi	500 µl
Cyto Holding Buffer	Natural	800 µl

- Hibridizasyon fırınından alınan array çipleri (tek seferde 4 adet olmak üzere) üzerindeki yuvarlak kapama etiketleri kaldırıldıktan sonra yıkama istasyonuna yerleştirilmiş ve barkotları okutularak sistem yıkama ve boyama yapması için çalıştırılmıştır.
- Program sonlandığında array çipleri çıkarılarak bölmelerin üzerine tekrar kapama etiketi yapıştırılmıştır. Tarama yapılacak bilgisayara tekrar barkodları okutturulan array çipleri tarayıcıya yüklenerek sistem çalıştırılarak tarama işlemi yapılmıştır.

3.3.6. Sonuçlarin Değerlendirilmesi

Çalışmanın sonuçları "Chromosome Analysis Suite (ChAS) v1.2.1 Software (Affymetrix)" programı ile analiz edilmiştir. Olgulara ait veriler "CEL" dosyalarına dönüştürülmüş ve analiz edilmek üzere taramaların gerçekleştirildiği sistemin yüklü olduğu bilgisayardan analizlerin yapılacağı Anabilim dalımızdaki bir bilgisayara taşınmıştır. Analizlerin yapıldığı bilgisayara;

- Affymetrix® Chromosome Analysis Suite (ChAS) v1.2.1 Software,

- Cytogenetics Array NetAffix® Analysis fileset version NA32 (hg19) programları firma tarafından yüklenmiştir.

Bu program yüksek çözünürlükte bir "CytoScan Array" ile kullanıldığında submikroskopik kromozomal yeniden düzenlenimlerin tespitine ve analizine imkan vermektedir. Kromozomal anomaliler açısından araştırılan hastaların verilerinin yorumlanmasına, bulunan değişikliklerin karyogram üzerinde ve bazı grafiklerde gösterilmesine, değişikliğin içerdiği genleri ve bu genleri veri tabanlarında araştırmayı sağlayan bağlantıları içerdiğinden özelleşmiş sitogenetik araştırmalara olanak sağlamaktadır (95).

Çalışmada araştırılan olgularda tespit edilen kayıp ve kazançlar (Gain/loss) için 100 kb'lik sınır belirlenmiştir. Kullanılan markır sayısı en az 10 olacak şekilde seçilmiştir. Yalnız Olgu 6 ve 8'in sonuçlarında çok sayıda parazit görüntü olması nedeniyle bu hastalarda analiz edilen değişiklik boyutları 300 kb olarak sınırlanmıştır.

Sonuçlarda bulunan değişiklikler; DECIPHERv4.1 (DatabasE of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembel Resources), Enemble (Genome Browser), DGV (Database of Genomic Variants) ve ECARUCA (European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations) gibi internet üzerinden ulaşılabilen veri tabanları ile OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) ve PubMed (the U.S. National Library of Medicine) gibi online kütüphaneler kullanılarak değerlendirilmiştir (91-94, 96, 97).

4. BULGULAR

Array 2.7 ile yapılan çalışmanın analizleri yapılmış ve bulunan sonuçlar "Affymetrix® Chromosome Analysis Suite (ChAS) v1.2.1 Software" programı ile değerlendirilmiş ve elde edilen bulgular her bir olgu için ayrı ayrı sunulmuştur. Bulgularda her bir hasta için sunulan tablolardaki veriler ve şekillerdeki karyogram ve segment analizi görüntüleri belirtilen programdan alınmıştır.

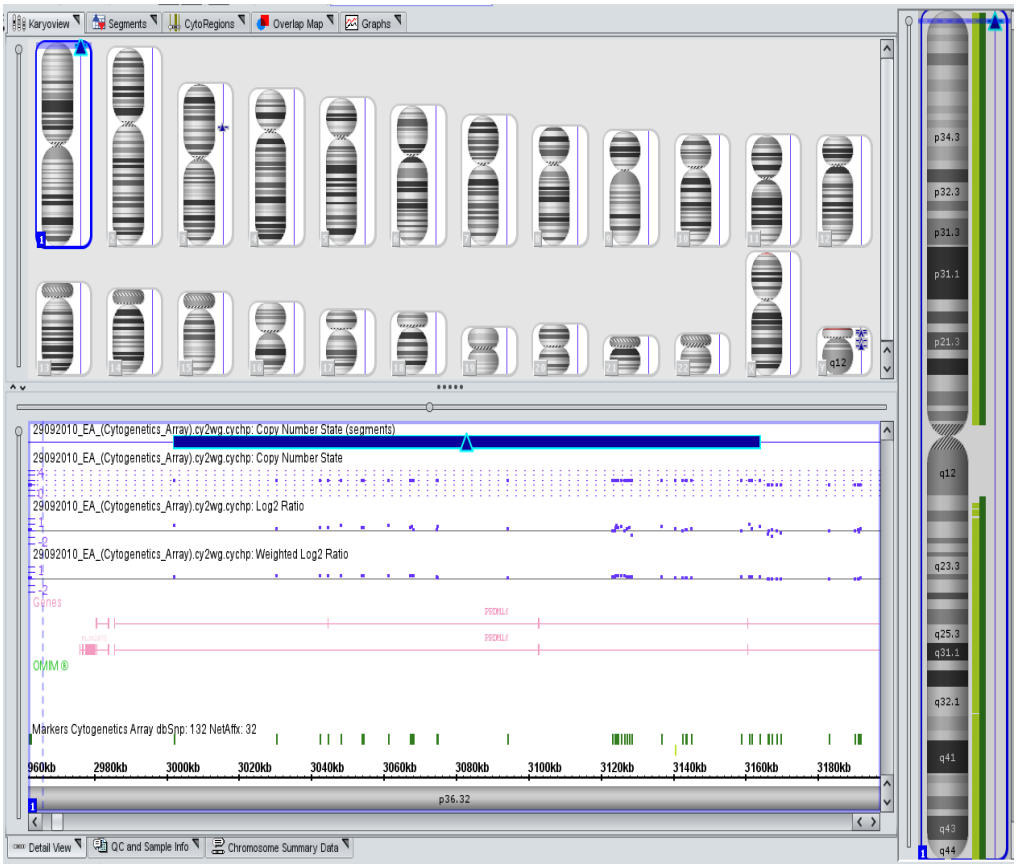
4.1. Olgu 1

Olgunun yapılan moleküler karyotipleme çalışmasında 1. ve 3. kromozomlara ait kazanç bölgeleri bulunmuştur (Şekil 4.1, 4.2). Konvansiyonel sitogenetik çalışma ile tespit edilemeyecek olan bu submikroskopik kazanç bölgelerinden biri 1. kromozomun kısa kolunda 36.32 bant bölgesinde bulunmakta olup, 161 kb büyüklüğündedir. Bu bölge çalışmada bulunan 34 marker ile tespit edilmiştir. İkinci kazanç bölgesi ise 3. kromozomun kısa kolunun 21.2 bölgesinde olup, 42 marker ile tespit edilmiş ve boyut olarak 131 kb büyüklüğünde olan bir değişikliktir. Olgu 1 için bulunan bu değişiklikler Tablo 4.1'de özetlenmiştir.

Birinci kromozomda bulunan kazanç bölgesinde PRDM16 ve MIR4251 genleri bulunmaktadır. Üçüncü kromozomda tespit edilen kazanç bölgesi ise GPR62, PCBP4, ABHD14B, ABHD14, AACY1, RPL29, DUSP7, C3orf74 ve POC1A genlerini içermektedir.

Tablo 4.1. Olgu 1'de bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	Kromozom - Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kazanç	1:3002202-3163805	p36.32	p36.32	161.603	PRDM16 MIR4251 GPR62, PCBP4 ABHD14B	34
Kazanç	3:51985760 -52117179	p21.2	p21.2	131.419	ABHD14A, ACY1 RPL29, DUSP7 C3orf74 POC1A	42



Şekil 4.1. Olgu 1'de bulunan 1. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi.



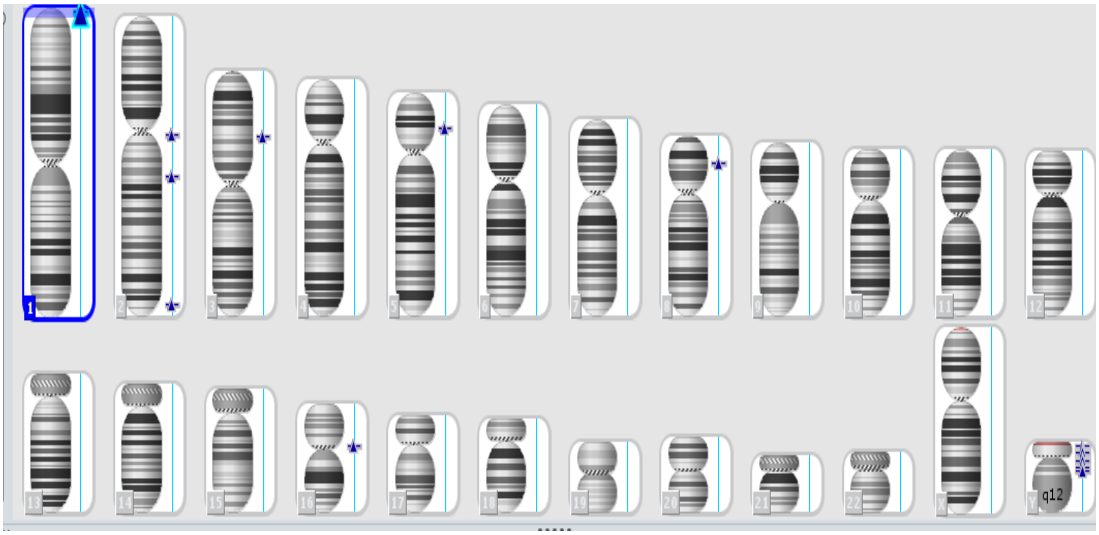
Şekil 4.2. Olgu 1'de bulun 3. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi

4.2. Olgu 2

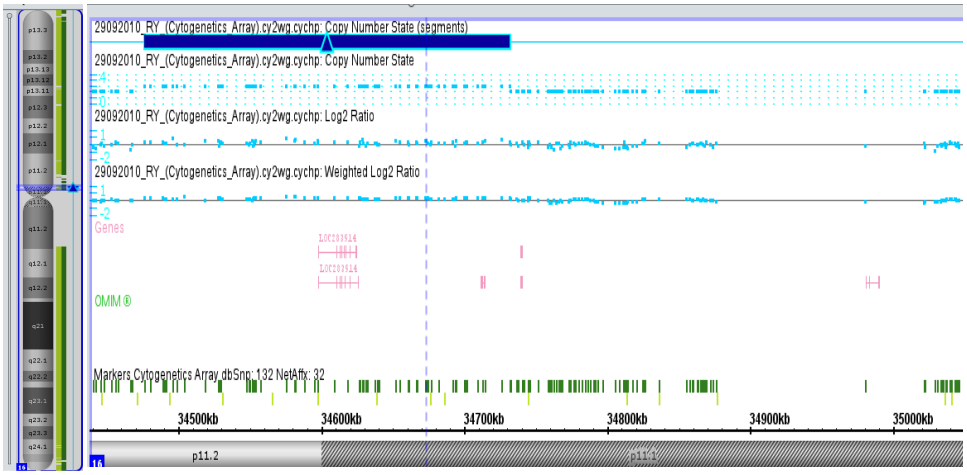
Yapılan moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 2'ye ait 9 adet kazanç bölgesi tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Bu CNV'lerden en büyüğü 16p11.2'de 255 kb büyüklüğünde olup 66 marker tarafından görülmüştür.

Tablo 4.2. Olgu 2'de moleküler karyotipleme sonucu bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kazanç	16:34476235-34731771	p11.2	p11.1	255.536	LOC283914 LOC146481	66
Kazanç	1:2962610-3161061	p36.32	p36.32	198.451	FLJ42875 PRDM16 MIR4251	33
Kazanç	2:96115786-96298998	q11.1	q11.1	183.212	TRIM43B TRIM43	60
Kazanç	3:51964004-52125656	p21.2	p21.2	161.652	RRP9, PARP3, GPR62, PCBP4, ABHD14B, ABHD14A,ACY1 RPL29,DUSP7, C3orf74, POC1A	72
Kazanç	8:21902252-22027057	p21.3	p21.3	124.805	FGF17, EPB49, FAM160B2, NUDT18 HR, REEP4, LGI3, SFTPC, BMP1	26
Kazanç	5:29065416-29186594	p13.3	p13.3	121.178	-	111
Kazanç	2:129014884-129130182	q14.3	q14.3	115.298	HS6ST1	67
Kazanç	2:233184664-233298639	q37.1	q37.1	113.975	DIS3L2 ALPP ECEL1P2, ALPPL2	25
Kazanç	2:95932085-96037191	q11.1	q11.1	105.106	PROM2, KCNIP3	90



Şekil 4.3. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 2'de bulunan değişikliklerin karyogramdaki görüntüsü.



Şekil 4.4. Olgu 2'nin 16. kromozomunda bulunan kazanç bölgesinin segment olarak görüntüsü

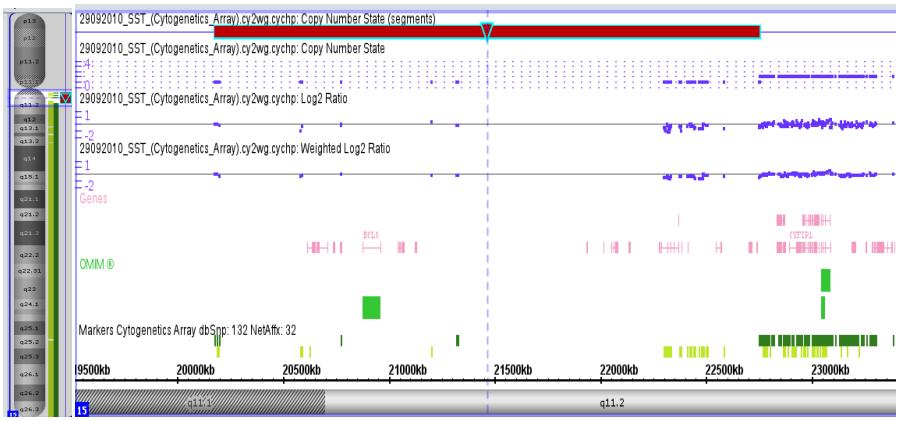
4.3. Olgu 3

Yapılan çalışma sonucunda Olgu 3'e ait ikisi kayıp biri kazanç olmak üzere 3 CNV bölgesi tespit edilmiş ve özellikleri Tablo 4.3'de sunulmuştur.

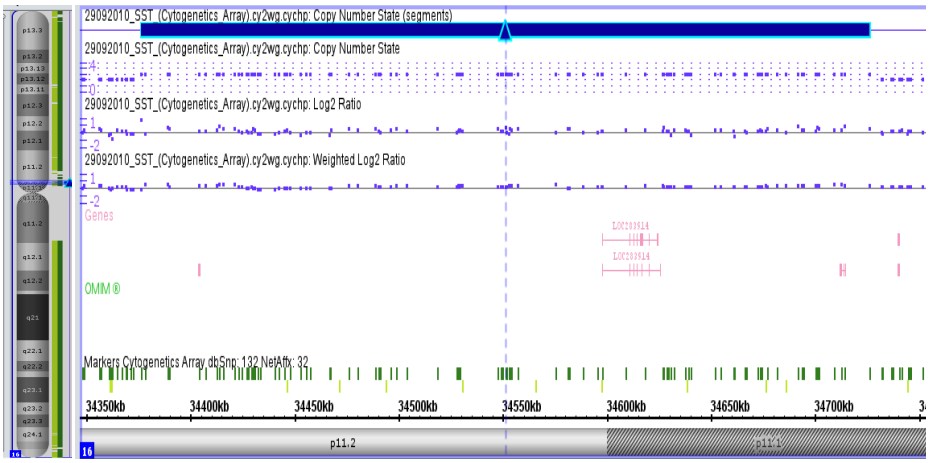
Tablo 4.3. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 3'de bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	**Kromozom-Pozisyon**	**Başlangıç lokusu**	**Bitiş lokusu**	**Boyut (kb)**	**Bulunan Genler**	**Marker Sayısı**
Kayıp	15:20175623-22752987	q11.1	q11.2	2.577.364	HERC2P3 GOLGA6L6 GOLGA8C BCL8 POTEB NF1P1 LOC646214 CXADRP2 LOC727924 OR4M2 OR4N4 OR4N3P,REREP3 GOLGA8DP GOLGA6L1	53
Kazanç	16:34376226-34726234	p11.1	p11.2	350.008	UBE2MP1 LOC283914 LOC146481	94
Kayıp	13:57877686-58050461	q21.1	q21.1	172.775	-	116

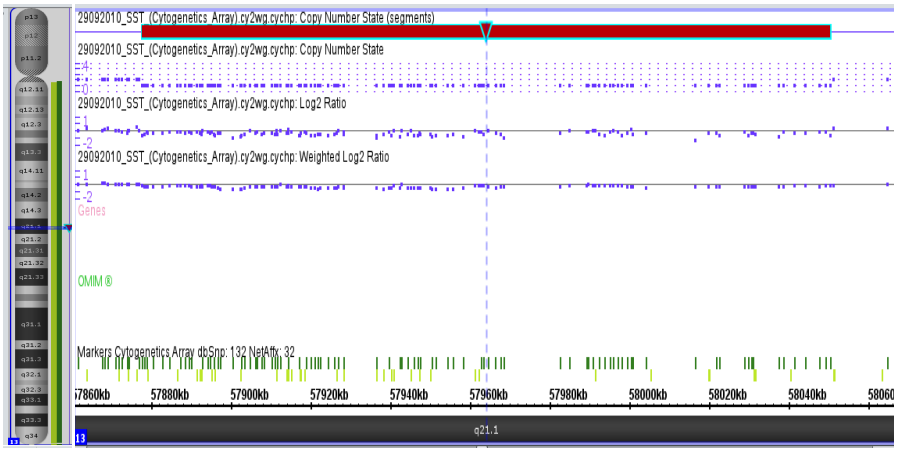
Olgu 3'ün 15. kromozomunda tespit edilen yaklaşık 2.5 Mb büyüklüğündeki kayıp bölgesi 53 marker tarafından görülmüştür. Bu bölgenin karyogramdaki görüntüsü ve segment analizi Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Kromozm 13 ve 16'da saptanan değişiklikler de Şekil 4.6 ve 4.7'de sunulmuştur.



Şekil 4.5. Olgu 3'e ait moleküler karyotipleme sonuçlarının karyogramdaki görüntüsü ile 15. kromozoma ait kayıp bölgesinin segment analizi



Şekil 4.6. Olgu 3'ün 16. kromozomuna ait kazanç bölgesi



Şekil 4.7. Olgu 3'ün 13. kromozomundaki kayıp bölgesi; segment analizinde gen içermediği görülmektedir.

4.4. Olgu 4

Yapılan çalışma sonucunda Olgu 4'e ait 7'si kayıp, 16'sı kazanç olmak üzere toplam 23 CNV bölgesi tespit edilmiş olup özellikleri Tablo 4.4'te sunulmuştur. Tespit edilen kayıplardan en büyüğü 14q11.2 lokusunda 553 kb büyüklüğünde olup 220 marker tarafından tespit edilmiş gen içermeyen bir değişikliktir. Olgu 4'te saptanan en büyük kazanç bölgesi ise 9q34.2-34.3 bölgeleri arasındaki 41 markır tarafından görülmüş 2.2 Mb büyüklüğünde bir bölgedir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 4'te bulunan değişiklikler ve özellikleri

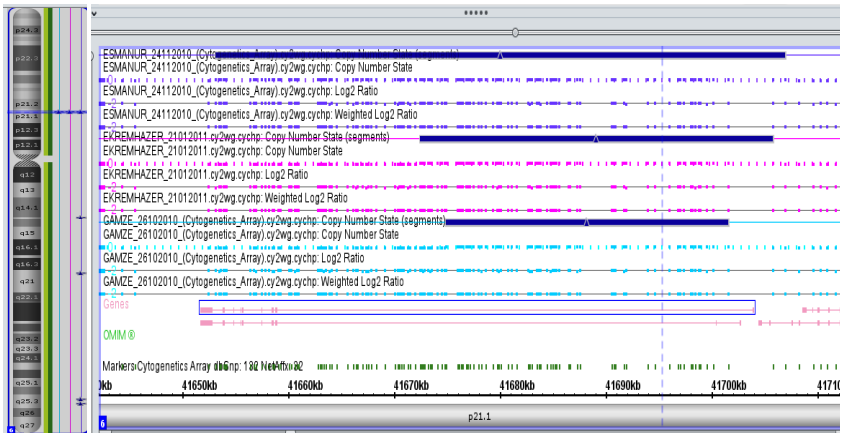
Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kazanç	9:136144109-138416973	q34.2	q34.3	2.272.864	ABO, SURF6, MED22, RPL7A, SNORD24, SNORD36B, SNORD36A, SNORD36C, SURF1, SURF2, SURF4, C9orf96, REXO4, ADAMTS13, C9orf7, SLC2A6, TMEM8C, ADAMTSL2, FAM163B, DBH, SARDH, VAV2, NCRNA00094, BRD3, WDR5, RNU6ATAC, RXRA, COL5A1, FCN2, FCN1, OLFM1, KIAA0649, C9orf116, MRPS2, LCN1	41
Kayıp	14:22408697-22961712	q11.2	q11.2	553.015		220
Kazanç	8:145254735-145788684	q24.3	q24.3	533.949	HEATR7A, SCXA, SCXB, C8orf30A, BOP1, HSF1, DGAT1, SCRT1, C8ORFK29, FBXL6, GPR172A, ADCK5, CPSF1, MIR939, MIR1234, SLC39A4, VPS28, NFKBIL2, CYHR1, KIFC2, FOXH1, PPP1R16A, GPT, MFSD3, RECQL4, LRRC14, LRRC24, MGC70857, ARHGAP39	33
Kazanç	7:2469337-2761035	p22.3	p22.3	291.698	CHST12, LFNG, C7orf27, IQCE, TTYH3, AMZ1	36
Kazanç	22:22998049-23288385	q11.22	q11.22	290.336	MIR650, IGLL5	17
Kazanç	8:143174482-143448589	q24.3	q24.3	274.107	NCRNA00051, TSNARE1	34
Kazanç	15:31456030-31700022	q13.3	q13.3	243.992	KLF13	48
Kazanç	2:233181185-233412564	q37.1	q37.1	231.379	DIS3L2, ALPP, ECEL1P2, ALPPL2, ALPI, ECEL1, LOC646960, CHRND, CHRNG	42
Kazanç	17:42257053-42465672	q21.31	q21.31	208.619	C17orf65, TMUB2, ATXN7L3, UBTF, SLC4A1, RUNDC3A, SLC25A39, GRN, FAM171A2, ITGA2B	87

Kayıp	X:49166441-49355288	p11.23	p11.23	188.847	GAGE10, GAGE12J, GAGE13, GAGE2E, GAGE8, GAGE2D, GAGE2A, GAGE2C, GAGE4, GAGE5, GAGE12I, GAGE7, GAGE12F, GAGE2B, GAGE12D, GAGE12E, GAGE12G, GAGE12C, GAGE12H, GAGE12B, GAGE6	24
Kayıp	X:75660436-75845853	q13.3	q13.3	185.417	-	70
Kayıp	8:145789810-145960871	q24.3	q24.3	171.061	ARHGAP39, ZNF251	44
Kazanç	3:51968120-52127028	p21.2	p21.2	158.908	RRP9, PARP3, GPR62, PCBP4, ABHD14B, ABHD14A, ACY1, RPL29, DUSP7, C3orf74, POC1A	70
Kayıp	X:75139833-75296732	q13.3	q13.3	156.899	-	63
Kazanç	8:21902252-22046804	p21.3	p21.3	144.552	FGF17, EPB49, FAM160B2, NUDT18, HR, REEP4, LGI3, SFTPC, BMP1	35
Kazanç	17:21354194-21496099	p11.2	p11.2	141.905	C17orf51	140
Kazanç	20:25178391-25304763	p11.21	p11.21	126.372	ENTPD6, PYGB, ABHD12	54
Kazanç	7:128473816-128599257	q32.1	q32.1	125.441	FLNC, ATP6V1F, LOC100130705, KCP, IRF5, TNPO3	22
Kazanç	14:103546316-103658135	q32.32	q32.32	111.819	C14orf73, TNFAIP2, LOC100131366	13
Kazanç	10:135265280-135373919	q26.3	q26.3	108.639	LOC619207, CYP2E1, SYCE1	14
Kazanç	17:76271159-76379058	q25.3	q25.3	107.899	SOCS3, PGS1	25
Kayıp	X:64367232-64474200	q11.2	q11.2	106.968	-	33
Kayıp	8:1496092-1602178	p23.3	p23.3	106.086	DLGAP2	32

Olgu 4'te çok sayıda CNV bölgesi tespit edilmesi üzerine etken olan bölgeyi belirlemek amacıyla projede ek bütçe istemi yapılmış ve olgunun kendisi ile aynı bulgulara sahip, Şekil 3.2'de sunulan aile ağacında III-2 ve III-4 numaralı kardeşlerine de moleküler karyotipleme yapılmıştır. Olgu 4 ve iki kardeşine yapılan 2.7 Array çalışması sonucunda 6 ve 16. kromozomlarda ortak değişiklikler saptanmış (Şekil 4.8, Şekil 4.9) ve bu değişikliklerin özellikleri Tablo 4.5'de sunulmuştur. Üç vakanın ortak analizleri yapılırken anlamlı değişiklik arandığı için markır sayısı 50'ye çıkarılmış, boyutta ise bir sınırlama getirilmemiştir.

Tablo 4.5. Olgu 4 ve iki kardeşinde yapılan moleküler kayotipleme sonucu tespit edilen ortak değişiklik bölgeleri ve özellikleri

Değişiklik tipi-Kromozom	**Vaka**	**Başlangıç lokusu**	**Bitiş lokusu**	**Boyut (kb)**	**Başlangıç Pozisyonu**	**Bitiş Pozisyonu**	**Bulunan Genler**	**Marker Sayısı**
6.kromozom-Kazanç	Olgu 4	p21.1	p21.1	53.803	41653129	41706932	TFEB, PGC	113
	III-2	p21.1	p21.1	33.321	41672435	41705756	TFEB, PGC	65
	III-4	p21.1	p21.1	26.706	41674885	41701591	TFEB	54
16.kromozom-Kayıp	Olgu 4	q23.1	q23.1	101.186	78354050	78455236	WWOX	76
	III-2	q23.1	q23.1	89.475	78365026	78454501	WWOX	73
	III-4	q23.1	q23.1	79.871	78365026	78444897	WWOX	63



Şekil 4.8. Olgu 4 ve 2 kardeşinde yapılan çalışma sonucunda 6. kromozomda bulunan kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak görüntüsü



Şekil 4.9. Olgu 4 ve 2 kardeşinde yapılan çalışma sonucunda 16. kromozomda bulunan kayıp bölgesinin lokus ve segment olarak görüntüsü

4.5. OLGU 5

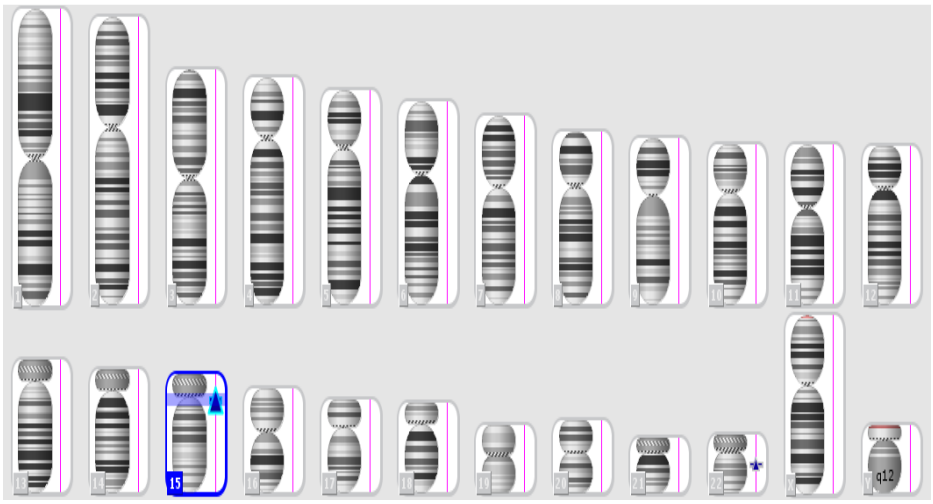
Yapılan moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 5'te 2 adet kazanç bölgesi tespit edilmiştir (Şekil 4.10). Bunlardan bir tanesi 15. kromozomun q11.1-q11.2 lokuslarında bulunan yaklaşık 2.5 Mb büyüklüğünde, 50 markır tarafından tespit edilmiş bir kazanç bölgesidir. Bu bölgede HERC2P3, GOLGA6L6, GOLGA8C, BCL8, POTEB, NF1P1, LOC646214C, XADRP2, LOC727924D,

R4M2, OR4N4, OR4N3P, REREP3, GOLGA8DP ve GOLGA6L1 genleri bulunmaktadır (Tablo 4.6).

Olguda tespit edilen diğer değişiklik ise 22. kromozomun uzun kolunun 11.23 bant bölgesindeki 0.197 Mb büyüklüğündeki submikroskopik bir duplikasyondur. Bu bölge 52 marker tarafından görülmüştür ve IGLL3P, LRP5L genlerini içermektedir (Tablo 4.6, Şekil 4.11).

Tablo 4.6. Olgu 5'te moleküler karyotipleme sonucu bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	**Kromozom-Pozisyon**	**Başlangıç lokusu**	**Bitiş lokusu**	**Boyut (kb)**	**Bulunan Genler**	**Marker Sayısı**
Kazanç	15:20175623-22749949	q11.1	q11.2	2.574.326	HERC2P3, GOLGA6L6, GOLGA8C, BCL8, POTEB,NF1P1,LOC64214,CXA,DRP2 LOC727924 DR4M2,OR4N4, OR4N3P,REREP3, GOLGA8DP, GOLGA6L1	50
Kazanç	22:25629750-25826780	q11.23	q11.23	197.03	IGLL3P, LRP5L	52

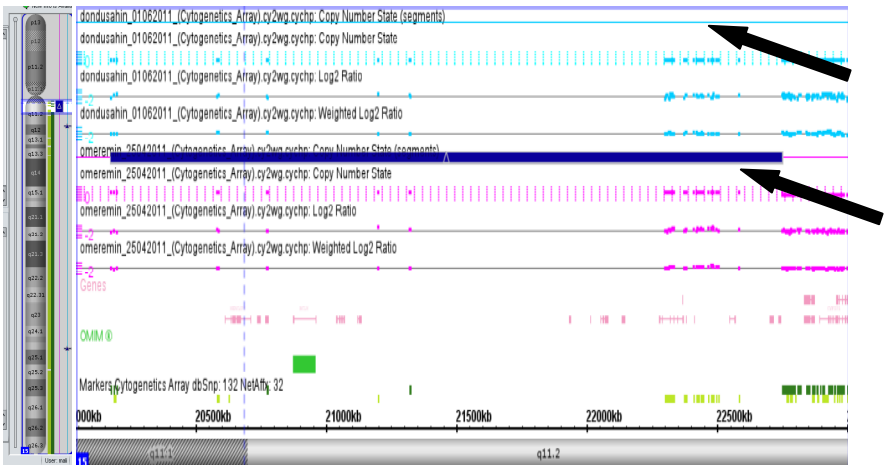


Şekil 4.10. Olgu 5'e ait moleküler karyotipleme



Şekil 4.11. Olgu 5'de bulunan 22. kromozoma ait kazanç bölgesinin lokus ve segment olarak gösterilişi

Olgu 5'in 15. kromozomunda bulunan duplikasyon bölgesinin ön analizi yapıldığında bu bölgedeki duplikasyonun hastamızın klinik bulgularını açıklayabileceği düşünülmüştür. Saptanan 2,5 Mb büyüklüğündeki duplikasyonun ebeveynlerden kalıtımla mı geçirildiği, yoksa de novo bir değişiklik mi olduğunu araştırmak amacıyla ebeveyn çalışması yapılması planlanmıştır. Projeye sağlanan gelirin kısıtlı olması nedeniyle ebeveynlerden fenotipik olarak olguya benzediği için yalnızca anneye moleküler karyotipleme çalışması yapılmıştır. Kromozom 15'de bulunan değişiklik annede izlenmemiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Olgu 5 ve annesinin 15. kromozoma ait kazanç bölgesi açısından karşılaştırılması: Kazancın annede bulunmadığı gösterilmiştir (üstteki ok annenin, alttki ok çocuğun analizini göstermektedir).

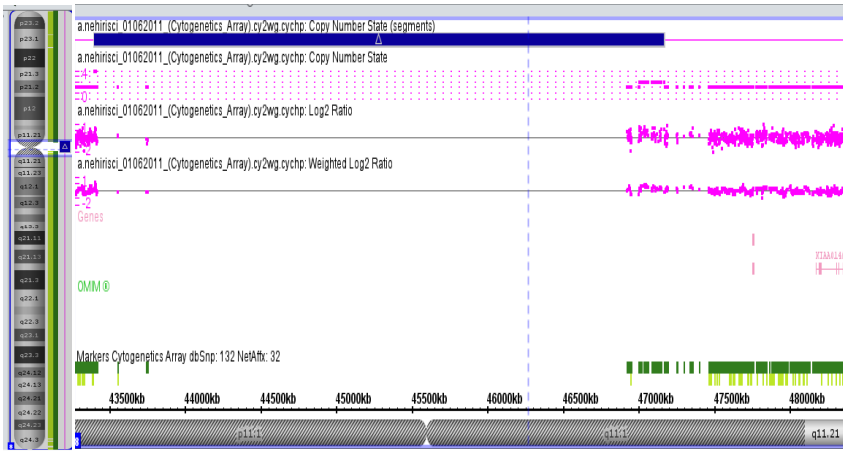
4.6. Olgu 6

Yapılan çalışma sonucu Olgu 6'ya ait 4'ü kayıp, 14'ü kazanç olmak üzere toplam 18 değişiklik izlenmiştir (Tablo 4.7.). Bunlardan en büyüğü 3.7 Mb büyüklüğünde bir kazanç olup, 8. kromozomun sentromerine denk gelen bir polimorfizmdir (Şekil 4.13). Olgu 6'da saptanan 16q24.2 bölgesindeki 1.99 Mb büyüklüğündeki kazanç ile 12q24.33'teki 1.3Mb büyüklüğündeki kayıp bölgeleri fonksiyonu belirlenmiş genleri içeren ve olgunun klinik bulgularını açıklayabileceği düşünülen değişikliklerdendir.

Tablo 4.7. Moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 6'da bulunan CNV'ler ve özellikleri.

Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kazanç	8:43398159-47169878	p11.1	q11.1	3.771.719	-	108
Kazanç	16:87482407-89475740	q24.2	q24.3	1.993.333	ZCCHC14, JPH3, LOC100129637, KLHDC4, SLC7A5, CA5A, BANP, ZNF469, ZFPM1, ZC3H18, IL17C, CYBA, MVD, MGC23284, SNAI3, RNF166, CTU2, FAM38A, CDT1, APRT, GALNS, TRAPPC2L, PABPN1L, CBFA2T3, ACSF3, C16orf81, CDH15, ZNF778, ANKRD11	108
Kayıp	12:129329020-130654618	q24.33	q24.33	1.325.598	GLT1D1, TMEM132D, LOC100190940, FLJ31485, FZD10	65
Kazanç	7:46845-1204894	p22.3	p22.3	1.158.049	FAM20C, LOC100288524, LOC442497, PDGFA, FLJ44511, PRKAR1B, HEATR2, SUN1, GET4, ADAP1, COX19, CYP2W1, C7orf50, MIR339, GPR146, GPER, ZFAND2A	51
Kazanç	10:48628603-49461613	q11.22	q11.22	833.01	PTPN20B, PTPN20A, FRMPD2P1, BMS1P1, BMS1P5, FAM25C, FAM25B, FAM25G, LOC399753, FRMPD2	127
Kazanç	10:125614086-126365894	q26.13	q26.13	751.808	CPXM2, CHST15, OAT, NKX1-2, LHPP, FAM53B	214
Kazanç	17:77089753-77781387	q25.3	q25.3	691.634	RBFOX3, ENPP7, CBX2, CBX8	100
Kayıp	7:74488896-75156540	q11.23	q11.23	667.644	WBSCR16, GTF2IRD2B, NCF1C, GTF2IP1, LOC100093631, GATSL2, SPDYE8P, PMS2L2, STAG3L1, TRIM74, TRIM73, NSUN5P1, POM121C, SPDYE5, PMS2P3	132
Kazanç	1:2556155-3215010	p36.32	p36.32	658.855	MMEL1, ACTRT2, FLJ42875, PRDM16, MIR4251	72
Kayıp	16:16299959-16831610	p13.11	p12.3	531.651	ABCC6, NOMO3, MIR3179-2, MIR3179-1, MIR3179-3, MIR3180-3, MIR3180-1, MIR3180-2, PKD1P1	97
Kazanç	1:53735681-54166098	p32.3	p32.3	430.417	LRP8, FLJ40434, DMRTB1, GLIS1	222
Kazanç	10:72658183-73088257	q22.1	q22.1	430.074	UNC5B, SLC29A3	66

Kazanç	11:63701388-64130580	q13.1	q13.1	429.192	NAA40, COX8A, OTUB1, MACROD1, FLRT1, STIP1, FERMT3, TRPT1, NUDT22, DNAJC4, VEGFB, FKBP2, PPP1R14B, PLCB3, BAD, GPR137, KCNK4, C11orf20, ESRRA, TRMT112, PRDX5, CCDC88B, RPS6KA4	114
Kazanç	3:125367211-125758281	q21.2	q21.2	391.07	MIR548I1, LOC100125556, ALG1L, ROPN1B, SLC41A3	92
Kazanç	16:66952191-67333608	q22.1	q22.1	381.417	CDH16, RRAD, FAM96B, CES2, CES3, CES4A, CES8, CBFB, C16orf70, B3GNT9, TRADD, FBXL8, HSF4, NOL3, KIAA0895L, EXOC3L, E2F4, ELMO3, MIR328, LRRC29, TMEM208, FHOD1, SLC9A5, PLEKHG4, KCTD19	145
Kazanç	17:71303196-71655115	q25.1	q25.1	351.919	CDC42EP4, SDK2	103
Kayıp	7:66342510-66689431	q11.21	q11.21	346.921	C7orf42, SBDS, TYW1	159
Kazanç	22:39820400-40142625	q13.1	q13.1	322.225	TAB1, MGAT3, SMCR7L, ATF4, RPS19BP1, CACNA1I, ENTHD1	70



Şekil 4.13. Olgu 6'da bulunan 8. kromozomun sentromerindeki kazanç bölgesi

4.7. Olgu 7

Yapılan moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 7'ye ait 22'si kayıp, 5'i kazanç olmak üzere 7 değişiklik tespit edilmiştir (Tablo 4.8). Bu değişikliklerin en büyüğü 7. kromozomdaki q11.21 bölgesinde 469 kb büyüklüğünde bir delesyon olup 133 markır tarafından saptanmıştır (Şekil 4.14).

Tablo 4.8. Moleküler karyotipleme sonucunda Olgu 7'ye ait değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kayıp	7:64621287-65090561	q11.21	q11.21	469.274	INTS4L1, ZNF92	133
Kazanç	8:46933354-47170907	q11.1	q11.1	237.553	-	78
Kazanç	2:233179568-233402519	q37.1	q37.1	222.951	DIS3L2, ALPP, ECEL1P2, ALPPL2, ALPI, ECEL1, LOC646960, CHRND	40
Kazanç	8:143174482-143389348	q24.3	q24.3	214.866	NCRNA00051, TSNARE1	17
Kayıp	8:137682483-137850448	q24.23	q24.23	167.965	-	56
Kazanç	3:125773960-125895873	q21.2	q21.3	121.913	SLC41A3, ALDH1L1	104
Kazanç	10:73393134-73504610	q22.1	q22.1	111.476	CDH23, C10orf105	28



Şekil 4.14. Olgu 7'de moleküler karyotipleme sonucu bulunan 7. kromozoma ait kayıp bölgesi

Bulunan 7 değişiklikten Tablo 4.8'de gösterilen ilk 5 tanesi bilinen CNV'lerle uyumlu iken, tablo sonunda belirtilen 3 ve 10. kromozomlara ait kazanç bölgeleri bilinen varyasyonlarla uyumsuz bulunmuştur.

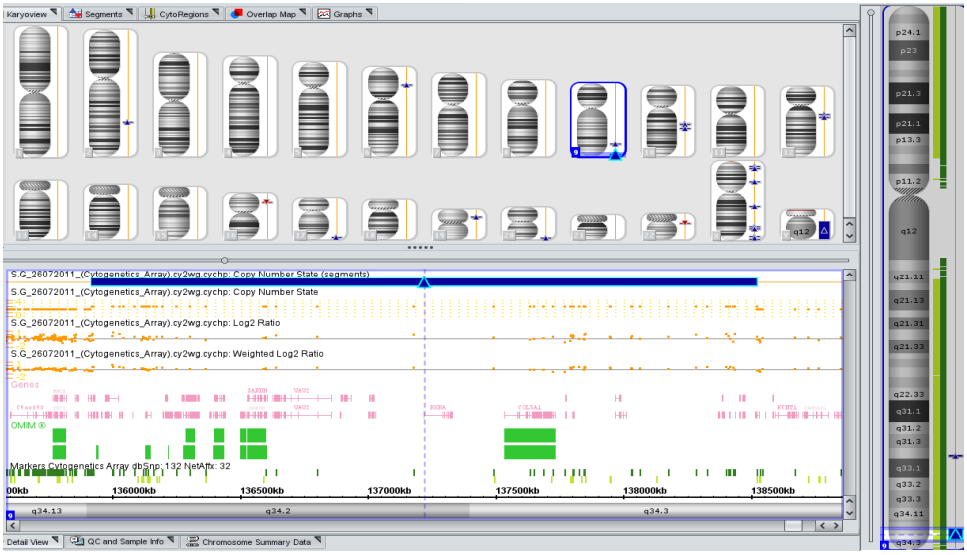
4.8. Olgu 8

Yapılan mikroarray çalışması sonrası Olgu 8'e ait 2'si kayıp, 12'si kazanç olmak üzere toplam 14 değişiklik saptanmıştır (Tablo 4.9). Kromozom 9'un q34.2-34.3 bölgesindeki 2.6 Mb büyüklüğündeki kazanç, 9q34 duplikasyon sendromu ile uyumlu olup, segment analizi Şekil 4.15'de gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Olgu 8'de bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kazanç	9:135920384-138520804	q34.2	q34.3	2600.42	GTF3C5, CEL, CELP, RALGDS, GBGT1, OBP2B, ABO, SURF6, MED22, RPL7A, SNORD24, SNORD36B, SNORD36A, SNORD36C, SURF1, SURF2, SURF4, C9orf96, REXO4, ADAMTS13, C9orf7, SLC2A6, TMEM8C, ADAMTSL2, FAM163B, DBH, SARDH, VAV2, NCRNA00094, BRD3, WDR5, RNU6ATAC, RXRA, COL5A1, FCN2, FCN1, OLFM1, KIAA0649, C9orf116, MRPS2, LCN1, OBP2A, PAEP, LOC100130954, GLT6D1	61
Kazanç	20:60580457-61814713	q13.33	q13.33	1.234	TAF4, LSM14B, PSMA7, SS18L1, GTPBP5, HRH3, OSBPL2, ADRM1, LAMA5, RPS21, CABLES2, C20orf151, GATA5, C20orf200, C20orf166, MIR1-1, MIR133A2, SLCO4A1, LOC100127888, NTSR1, C20orf20, OGFR, COL9A3, TCFL5, DPH3P1, DIDO1, C20orf11, SLC17A9, BHLHE23, LOC63930, NCRNA00029, LOC100144597, HAR1B, HAR1A, MIR124-3	65
Kazanç	17:77361450-78079209	q25.3	q25.3	717.759	RBFOX3, ENPP7, CBX2, CBX8, CBX4, TBC1D16, CCDC40, GAA	93
Kazanç	10:80808598-81444980	q22.3	q22.3	636.382	LOC283050, ZMIZ1, PPIF, ZCCHC24, EIF5AL1, SFTPA2, SFTPA1, LOC650623	218
Kazanç	10:72987953-73597906	q22.1	q22.1	609.953	UNC5B, SLC29A3, CDH23, C10orf105, C10orf54, PSAP	143
Kazanç	9:116747742-117176542	q32	q32	428.8	ZNF618, AMBP, KIF12, COL27A1, MIR455, ORM1, ORM2, AKNA, DFNB31	59
Kazanç	12:53209474-53615244	q13.13	q13.13	405.77	KRT79, KRT78, KRT8, KRT18, EIF4B, LOC283335, TENC1, SPRYD3, IGFBP6, SOAT2, CSAD, ZNF740, ITGB7, RARG	110
Kayıp	16:16337248-16717587	p13.11	p13.11	380.339	NOMO3, MIR3179-2, MIR3179-1, MIR3179-3, MIR3180-3, MIR3180-1, MIR3180-2, PKD1P1	68
Kazanç	6:33650890-34005210	p21.31	p21.31	354.32	ITPR3, C6orf125, IP6K3, LEMD2, MLN, MIR1275, GRM4	187

Kazanç	19:13941932-14279788	p13.13	p13.12	337.856	ZSWIM4, LOC284454, MIR24-2, MIR27A, MIR23A, MIR181C, MIR181D, NANOS3, C19orf57, CC2D1A, PODNL1, DCAF15, RFX1, RLN3, IL27RA, PALM3, LOC113230, SAMD1, PRKACA, ASF1B, LPHN1	60
Kazanç	12:57910681-58238737	q13.3	q14.1	328.056	DDIT3, MBD6, DCTN2, KIF5A, PIP4K2C, DTX3, ARHGEF25, SLC26A10, B4GALNT1, OS9, AGAP2, LOC100130776, TSPAN31, CDK4, MARCH9, CYP27B1, METTL1, FAM119B, TSFM, AVIL, CTDSP2, MIR26A2	162
Kazanç	10:71382909-71708809	q22.1	q22.1	325.9	C10orf35, COL13A1	106
Kazanç	2:176925851-177246067	q31.1	q31.1	320.216	EVX2, HOXD13, HOXD12, HOXD11, HOXD10, HOXD9, HOXD8, MIR10B, HOXD4, HOXD3, LOC401022, HOXD1, MTX2	111
Kayıp	22:19258652-19562257	q11.21	q11.21	303.605	CLTCL1, HIRA, MRPL40, C22orf39, UFD1L, CDC45, CLDN5, LOC150185	64



Şekil 4.15. Olgu 8'de tespit edilen 9q34.2-q34.3 duplikasyon bölgesinin karyogram ve segment analizi görüntüsü

4.9. Olgu 9

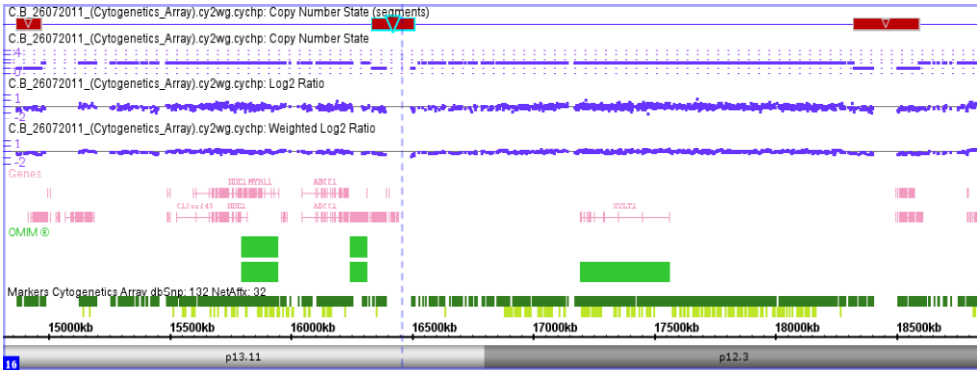
Çalışma sonucunda Olgu 9'a ait 13 adet submikroskopik kromozomal yeniden düzenlenim tespit edilmiştir. Bulunan bu değişikliklerin 6 tanesi mikrodelesyon, 7 tanesi mikroduplikasyon olup boyutları 2.321 ile 0.1 Mb arasında değişmektedir. Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 9'da bulunan submikroskopik değişiklikler ve özellikleri Tablo 4.10'de özetlenmiştir.

Tablo 4.10. Olgu 9'da bulunan değişiklikler ve özellikleri

Değişiklik tipi	Kromozom-Pozisyon	Başlangıç lokusu	Bitiş lokusu	Boyut (kb)	Bulunan Genler	Marker Sayısı
Kayıp	15:20175623-22497265	q11.1	q11.2	2.321.642	HERC2P3, GOLGA6L6, GOLGA8C, BCL8,POTEB, NF1P1, LOC646214, CXADRP2, LOC727924, OR4M2,OR4N4, OR4N3P	47
Kayıp	19:43210290-43593912	q13.2	q13.31	383.622	PSG3, PSG8, LOC100289650, PSG10,PSG1, PSG6,PSG7 PSG11, PSG2	212
Kayıp	16:18324884-18593111	p12.3	p12.3	268.227	MIR3180-1, MIR3180-3,MIR3180-2 MIR3179-3 MIR3179-2, MIR3179-1, NOMO2,ABCC6P1	61
Kazanç	2:233183145-233408350	q37.1	q37.1	225.205	DIS3L2,ALPP, ECEL1P2, ALPPL2, ALPI,ECEL1, LOC646960,CHRND, CHRNG	39
Kazanç	1:2962610-3163805	p36.32	p36.32	201.195	FLJ42875,PRDM16 MIR4251	35
Kayıp	16:16337248-16509239	p13.11	p13.11	171.991	NOMO3, PKD1P1 MIR3179-1, MIR3179-3 MIR3179-2, MIR3180-1 MIR3180-3,MIR3180-2	30
Kazanç	3:51969590-52127959	p21.2	p21.2	158.369	RRP9,PARP3, GPR62 PCBP4, ABHD14B ABHD14A, ACY1, RPL29,DUSP7, C3orf74, POC1A	69
Kayıp	14:22590876-22747055	q11.2	q11.2	156.179	-	79

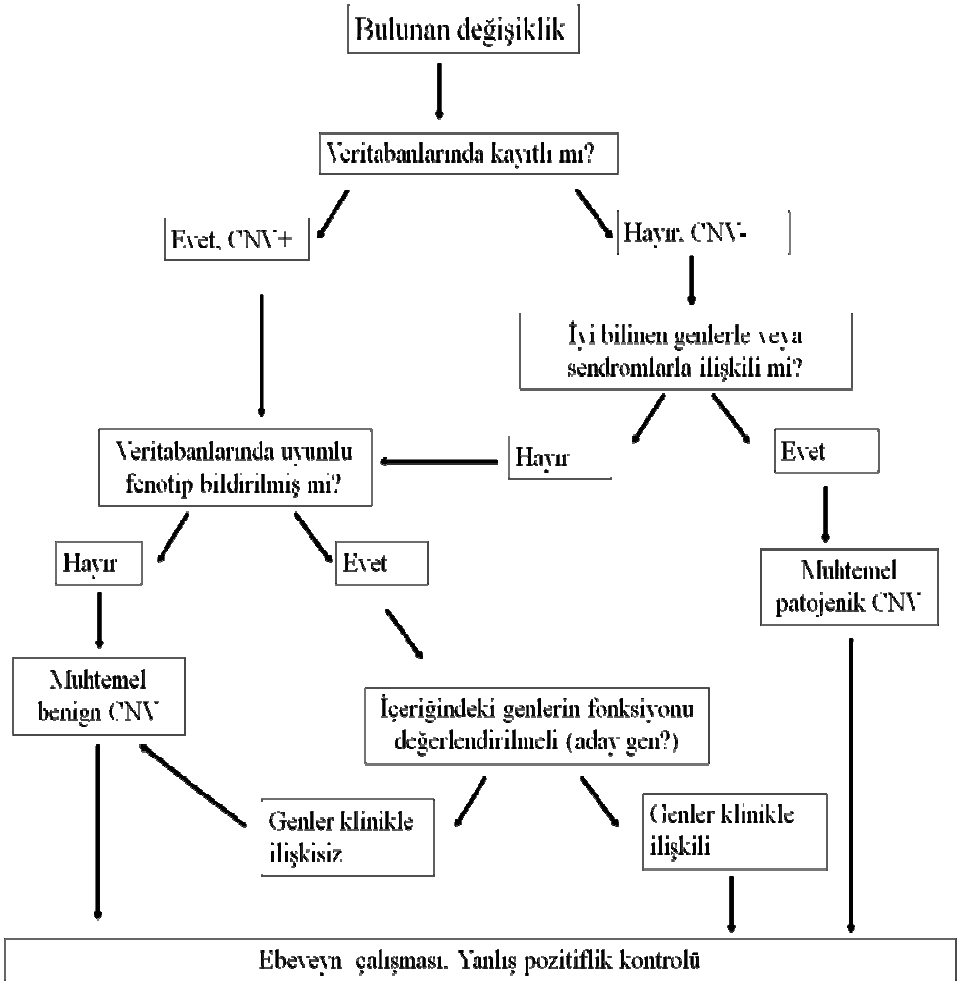
Kazanç	17:48205078-48358743	q21.33	q21.33	153.665	SAMD14, PPP1R9B, SGCA, HILS1,COL1A1, TMEM92	76
Kazanç	3:129236741-129354832	q22.1	q22.1	118.091	IFT122,RHO, H1FOO,PLXND1	25
Kazanç	20:55952885-56066910	q13.31	q13.31	114.025	RAE1,RBM38	43
Kazanç	2:129026644-129131750	q14.3	q14.3	105.106	HS6ST1	58
Kayıp	16:14868767-14969218	p13.11	p13.11	100.451	ABCC6P2, NOMO1	27

Olgu 9'da 16. kromozomun kısa kolunda 100, 171 ve 268 kb büyüklüklerinde ardışık 3 kayıp bölgesi tespit edilmiştir. Bu kayıplar, 16p mikrodelesyon sendromundaki kritik bölgeleri içermemektedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Olgu 9'un 16 numaralı kromozomunun kısa kolunda tespit edilen ardışık 3 kayıp bölgesinin segment analizindeki görüntüsü

Çalışmada araştırılan olgularda saptanan tüm değişiklikler, literatürde önerilen ve Şekil 2.1'de göserilen algoritmadan faydalanılarak hazırlanmış olan Şekil 4.17'da belirtilen algoritma izlenerek analiz edilmiştir.



Şekil 4.17. Yapılan çalışmada bulunan sonuçların analizinde kullanılan algoritma

5. TARTIŞMA

Yapılan çalışmada nedeni bilinmeyen MR ve/veya konjenital anomali ve/veya dismorfik yüz bulguları olan 9 olgu Array 2.7 platformu (Affymetrix®) ile submikroskopik mikrodelesyon/duplikasyonlar açısından araştırılmış ve bu olgularda en az 2, en fazla 23 adet değişiklik tespit edilmiştir. Saptanan bu değişikliklerin bazıları benign varyasyon olarak değerlendirilmiş, bazılarının muhtemel patojenitesi nedeniyle ek çalışma planlanmış ve bulunan bir değişikliğin ise klinikten sorumlu olduğu düşünülmüştür.

Mikroarray yöntemi; karyotipi normal olup kliniği spesifik bir sendrom ile örtüşmeyen, MR'si olan hastalarda, submikroskobik kromozomal değişimleri saptamada duyarlılığı oldukça yüksek olan bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda bu yöntemin, nedeni bilinmeyen MR'li olguların tanısında başarı oranının %10-24 arasında olduğu bildirilmektedir (86, 98, 99). Yapılan Array 2.7 ile 9 hastanın MR etiyolojisi yönünden araştırıldığı çalışmanın analizleri sonucunda Olgu 8'de tespit edilen 9q34'deki duplikasyon bölgesinin olgunun kliniğini açıkladığı ve sonuç olarak çalışmada mikroarray yönteminin tanı gücünün %11.1 olarak literatürdeki belirtilen oran aralığında bulunduğu gösterilmiştir. Mikroarray teknolojisi ile yapılan bu tip araştırma çalışmalarında hasta ile birlikte anne ve babasının da çalışmaya dahil edilmesi sonuçların daha informatif olmasını sağlayabilecektir. Her ne kadar çalışmada araştırılan hasta sayısı genel bir değerlendirme için yeterli olmasa bile; bu çalışma ile moleküler karyotipleme yönteminin tanı gücünün konvansiyonel sitogenetik yöntemlere göre fazla olduğu gösterilmiştir.

Array tabanlı moleküler karyotiplendirme yöntemleriyle 100 kb'lik submikroskobik kromozomal değişimler saptanabilmektedir. Bert ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada sebebi bilinemeyen 100 MR'li hasta ve onların ebeveynlerinde Array CGH uygulanmış, hastaların %97'sinde tekrarlanabilir DNA kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Bu değişikliklerin çoğunun normal ebeveynlerden "geniş aralık kopya sayısı değişikliği" (large scale CNV) olarak kalıtıldığı gösterilmiş ve hastaların %10'unda klinikle ilişkili de novo değişiklikler saptanmıştır. Boyutları 540 kb ile 12 Mb arasında değişen bu değişikliklerden 3'ü duplikasyon, 7'si delesyon olarak tespit edilmiş ve sonuçta; array CGH'in standart GTG bantlı karyotiplemeye göre tanı gücünün en az 2 kat daha fazla olduğu ileri sürülmüştür (100). Yaptığımız çalışmada ise 9 hastanın tümünde daha önce bildirilmiş ve varyasyon olarak kabul edilen CNV'ler ve bazı muhtemel patojenik CNV'ler tespit edilmiştir. Saptanan bu muhtemel patojenik CNV'lerin sağlıklı ebeveynlerden kalıtılıp kalıtılmadığı, projeye sağlanan gelirin kısıtlı olması nedeniyle ispatlanamamıştır. Yukarıda da belirtildiği gibi ebeveyn çalışması yapılması bulunan sonuçların daha informatif olmasını sağlayacağından, sistemin tanı oranını artıracaktır. Bazı hastalarımızda, gen içeriği nedeniyle muhtemel patojenik olduğu düşünülen CNV'ler için aile çalışması ve yanlış pozitifliği dışlamak için ek çalışmalar planlanmıştır.

Moleküler karyotipleme çalışmalarının analizi için Gijsbers ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada belirledikleri ve Şekil 2.1'de sunulan algoritma, saptanan değişikliklerin fenotiple ilişkisini ortaya çıkarmak için kullanışlı bir değerlendirmedir (88). Belirttikleri algoritmaya göre; bulunan değişikliklerin uluslararası veri tabanlarında bildirilmiş olmasından sonra, benign diyebilmek için, tespit edilen değişikliklerin araştırma yapılan toplumda en az 3

sağlıklı bireyde daha gösterilmiş olması gerekmektedir. Moleküler karyotipleme konusunda yapılan araştırmaların kısıtlı olması nedeniyle, Türk toplumu için sağlıklı bireylerle ilgili kontrol veri tabanı bulunmamaktadır. Ayrıca bizim çalışmamızda CNV'lerin kalıtılmış mı yoksa de novo mu olduğunun gösterilmesi için yapılması gereken ebeveyn çalışması yapılamamıştır. Tüm bu sebeplerden dolayı bu çalışmada verilerin analizi için Gijsbers ve arkadaşlarının belirlediği algoritma baz alınarak uyarlanmış olan Şekil 4.17'daki algoritma kullanılmıştır. Bulunan değişiklik, veri tabanlarında kayıtlı bir CNV olsa bile, normal kontrol verileri bulunmadığı için, veri tabanlarında aynı bölgede değişikliği saptanmış olan, fenotipik olarak benzer vakalar araştırılmıştır. Ayrıca ebeveyn çalışması yapılamadığı için tespit edilen tüm değişiklik bölgelerinin içeriğinde bulunan genler hastalıkla ilişkileri ve fonksiyonları bakımından irdelenmiştir. Sonuç olarak; bazı eksik noktalarının bulunmasına rağmen, yapılan moleküler karyotipleme çalışması ile bulgular Şekil 4.17'da verilen algoritma izlenerek analiz edilmiş ve sebebi bulunamayan MR'u olan 9 hastadan bir tanesinde muhtemel patojenik etmen tespit edilmiştir.

Mikroarray teknolojisi ile nedeni bilinmeyen MR'si olan çok sayıda hastanın yüksek çözünürlüklü moleküler karyotipleme ile araştırıldığı çalışmalarda, çok fazla kromozomal değişik saptanması ve bunların analizinin yapılmasındaki güçlükler nedeniyle bazı pratik öneriler ileri sürülmüştür. Hanemaaijer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada klinikle ilişkisi bulunan değişikliklerin 200 kb'den fazla olması nedeniyle mikroarray teknolojisi ile araştırılan hastaların analizlerinde, bulunan değişikliklere 200 veya 300 kb sınırı getirilebileceğini belirtmişlerdir (68, 101). Mikroarray teknolojisini geliştiren firmalardan olan ve sunulan çalışmanın da yapıldığı Affymetrix ise bulunan

değişikliklerin anlamlı olabilmesi için en az 50 markır ile tespit edilmiş olması gerektiğini bildirmektedir (95). Yapılan çalışmada hastaları daha küçük kromozomal kayıp/kazançlar açısından araştırabilmek için bulunan değişiklikler analiz edilirken boyut olarak 100 kb sınırı getirilmiş olup, tabanda 10 markır baz alınmıştır.

MR sebeplerinin bulunmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen henüz MR'nun %50-80'inde herhangi bir neden bulunamamıştır (2). Kromozomal anomaliler, MR/gelişme geriliği ve fasial dismorfizmi içeren çoklu doğumsal anomali sendromlarının çok sık rastlanan bir nedenidir. Mikroarray yöntemi bu bilinen kromozomal anomalileri tanımada çoğu sitogenetik yöntemi geride bıraktığı gibi, submikroskopik mikrodelesyon/duplikasyonların, sebebi bilinemeyen MR gurubunun bir kısmından sorumlu olduğunu götermektedir. Yapılan bir çalışmada, nedeni bilinmeyen MR ve dismorfik bulguları olan 41 çocuk Array CGH yöntemi ile araştırılmıştır. Tüm hastalar için 450 bant seviyesinde yapılan kromozom analizi ve 30 vakada FISH yöntemiyle, 11 hastada da spektral karyotipleme ile bakılan subtelomerik bölgelerin analiz sonuçları normal olarak saptanmıştır. Söz konusu çalışmada 4 hastada (%9.8) büyüklüğü 2 ila 14 Mb arasında değişen de novo kromozomal delesyonlar saptanmıştır. Araştırmacılar, Array CGH yönteminin MR/gelişme geriliğine neden olan kromozomal dengesizlikleri ve genleri belirlemede önemli bir tanı yöntemi olduğunu ileri sürmüşlerdir (4). Bizim yaptığımız çalışmada bu düşünceyi desteklemekle birlikte, bu konuda yapılacak kapsamlı çalışmalar ile sebebi bilinemeyen MR oranının küçüleceğini düşünmekteyiz.

Söz konusu yöntemin planlanması ve analizleri için bazı sınırlamaların bulunmasının yanı sıra, Array 2.7 çalışması yapılırken karşılaşılan güçlüklerden bir tanesi de DNA eldesi problemi olmuştur. Yeterli kalitede olmayan DNA'lar çalışmada kullanılamayacağı için bazı hastalar tekrar çağrılıp kan alınarak istenilen kalitede DNA eldesi yapılmıştır. Ayrıca çalışmanın basamakları arasında yapılan kontrollerde, örnekler agaroz jelde markır eşliğinde yürütülerek görüntülenmiştir. İstenilen baz çifti (bkz Gereç ve Yöntem- Fragmantasyon ve işaretleme) aralığında görülmeyen örneklerin ait olduğu hastalarda, çalışmanın o basamağı tekrar edilmiştir. Çalışmada kullanılacak DNA'nın kalitesi ve ara basamakların kontrolü, yanlış pozitiflilik oranını ve önemsiz parazit görüntülerin oluşmasını etkileyeceğinden çalışmanın sonuçları için çok önemlidir.

Yapılan çalışma sonucunda, en sık değişiklik saptanan bölgelerden biri olan 1p36.32 bölgesinin kazancı Olgu 1, 2, 6, 9'da tespit edilmiştir. Bu bölge bilinen varyasyonlarla uyumlu olmakla birlikte, veri tabanlarında bildirilen ve bu bölge ile örtüşen "kazancı" olan vakalar ile, çalışmada ele alınan olgularda, MR ve gelişme geriliği ortak olarak bulunmaktadır. Bu bölgede tüm olgularda ortak olarak bulunan PRDM16 geni, herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olup, 17 ekzonlu 400 kb büyüklüğünde transkripsiyonun aktivasyonunu düzenleyen bir gendir. PRDM16 geninin overekspresyonunda lösemi, özellikle akut miyeloid lösemi gelişimi ve miyeloid öncüllerin kahverengi yağ hücresi dönüşümünde artış gösterilmiştir (97, 102, 103). Bu kazancın tespit edildiği 1p36.32 bölgesinin içeriğinde; zeka gelişimi üzerinde etkisi bulunan bir gen olmaması, bildirilen olgularda MR dışında farklı klinik bulguların da olması (Tablo 5.1) nedeniyle muhtemelen benign bir değişiklik olduğu ve olgularımızda bulunan fenotipik bulgulardan sorumlu olmadığı düşünülmüştür. Yine de saptanan CNV bölgesinin

de novo mu kalıtılmış mı olduğunu anlamak için öncelikle ebeveyn çalışması, sonrasında yanlış pozitiflik durumunun teyidi için ileri genetik analizler gerekmektedir (Şekil 4.17).

Tablo 5.1. Moleküler karyotipleme sonucunda 1p36.32 bölgesinde kazancı olan Olgu 1, 2, 6, 9'un ve veri tabanlarında örtüşen kazancı bulunan olguların özellikleri*

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak Klinik Bulgular	Diğer Klinik Bulgular
Olgu 1	0.16	2	1:3002202-3163805	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/ gelişme geriliği	Bakisefali Aşağı dönük palpebral fissürler Displastik kulaklar Hipotoni Serebral atrofi Hidronefroz
Olgu 2	0.19	3	1:2962610-3161061	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/ gelişme geriliği	Dar alın Kısa filtrum Nöbet Agresivite Korpus kallozum agenezisi
Olgu 6	0.65	5	1:2556155-3215010	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/ gelişme geriliği	Epikantus Konuşma geriliği Korpus kallozum agenezisi
Olgu 9	0.2	3	1:2962610-3163805	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/ gelişme geriliği	Brakisefali Trigonosefali Yukarı dönük palpebral fissürler Yutma güçlüğü Hipotoni Nöbet Serebellar hipoplazi Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
251289	0.19	2	1:2857758-3049319	Normal ebeveynlerden kalıtılmış	MR/ gelişme geriliği	-
251615	0.57	3	1:2705716-3273063	Ebeveynler analiz edilmemiş/bilgi verici değil	MR/ gelişme geriliği	Kapiller hemanjiom Hipotoni Nöbet

* Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Olgu 1'de 3. kromozomda bulunan kazanç bölgesi bilinen CNV'lerle uyumlu olmakla birlikte, veri tabanlarında bu bölgenin kazancını içeren, fenotipik olarak benzer vakalara rastlanmamıştır (91-94, 97). Bu bölgede bulunan genlerden hastalıkla ilişkilendirilmiş tek gen olan ACY1D geninin delesyon veya mutasyonlarında "Aminoaçilaz 1 eksikliği (OMIM#609924)" olarak bilinen metabolik hastalık tanımlanmış olup duplikasyonu ile ilişkili hastalık bildirilmemiştir (97). Kromozom 3p21.2'deki kazanç bölgesinde fonksiyonu belirlenmiş genlerden DUSP7 geni; çeşitli enzimlerin defosforile edilerek aktivasyon kazanmalarında, PCBP4 geni; hücre döngüsünün düzenlenmesinde, RPL29 geni; heparin bağlayıcı proteinin ekspresyonunda görevli iken; GPR62 geninin beyinde eksprese olduğu belirlenmiştir (104). GPR62 geninin beyinde eksprese olması, bu genin zeka gelişimi için aday bir gen olma ihtimalini akla getirmektedir. Nitekim, Callier ve arkadaşlarının açıklanamamış MR'si, dismorfik bulguları olan; HRB ile kromozom analizi ve FISH ile subtelomerik delesyon analizleri normal saptanan 30 hastayı mikroarray sistemleri ile submikroskopik yeniden düzenlenimler açısından araştırdıkları çalışmada klinik bulguları Goldenhar sendromu ile uyumlu bir hastada 1p22.2-p31.1 interstisyel delesyon saptamışlardır. Hastanın klinik bulgularının Goldenhar sendromu ile uyumlu olması, 1p22.2-p31.1 bölgesinin sendromda kritik bölge olabileceğini düşündürmüştür. Bu bölgedeki genlerin fonksiyonları değerlendirilip, hayvan deneyleri ile ekspresyon çalışmaları yapılarak Goldenhar sendromundan sorumlu bir genin bulunabileceğini ileri sürmüşlerdir (105). Yani mikroarray teknolojisi klinik bulguları ve kalıtımı bilinen genetik sendromlarda, hastalıktan sorumlu

genin lokusunun tespitini sağlayabilecek iyi bir sitogenetik haritalama yöntemi olarak kullanılabileceği gibi, bazı hastalıklar ve klinik bulgular için aday genleri de tespit edebilen bir yöntemdir.

Olgu 2'de gözlenen 9 adet kazanç bölgesinden en büyüğü olan 16p11.2'de bulunan 255 kb büyüklüğündeki CNV perisentromerik bir artış olup, kapsadığı genler (Tablo 4.2) kodlanmayan RNA transkript varyantlarıdır. Veri tabanlarında da bu bölgenin kazancı için tanımlanmış fenotip bulunmamaktadır. Yine Olgu 2'de tespit edilen 2. kromozomun uzun kolundaki ardışık 4 adet kazanç bölgesi (Tablo 4.2), bilinen kopya sayısı varyasyonları ile uyumlu olmakla birlikte, veri tabanlarında klinik bulguları örtüşen vaka bildirilmemiştir. Ayrıca Tablo 4.2'de gösterilen ve bu CNV bölgelerinin içeriğinde bulunan genlerin duplikasyonlarına ait klinik bulgu literatürde ve veri tabanlarında bulunmamaktadır. Sonuç olarak, Olgu 2'nin 2. ve 16. kromozomlarında tespit edilen bu CNV bölgelerinin muhtemelen benign olduğu düşünülmektedir. Kesin sonuç için ebeveyn analizi ve yanlış pozitiflik açısından teyit gerekmektedir.

Olgu 2'de bulunan kazanç bölgelerinden 3p21.2'deki 161 kb, 8p21.3'teki 124 kb ve 5p13.3'deki 121 kb büyüklüklerindeki değişikliklerin; boyutlarının küçük olması, içerdikleri genlerin birçoğunun eksprese olmayan gen olması, eksprese olan genlerin ise duplikasyonlarına ait fenotip bulunmaması nedeniyle olgunun klinik bulgularını açıklayamayacağı düşünülmüştür (91-94, 97).

Moleküler karyotipleme sonucu Olgu 3'te bulunan 15q11.1-11.2 lokusları arasındaki 2.5 Mb büyüklüğündeki delesyon bölgesi Olgu 9'un 15.

kromozomunda yine aynı lokusta tespit edilen 2.3 Mb'lık kayıp bölgesiyle örtüşmektedir (Tablo 5.2). Bu bölge bilinen varyasyonlarla uyumlu olup burada bulunan genler herhangi bir hastalık ile ilişkilendirilmemiştir (91, 97). Sebat ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da; kromozom 15q11.1.-11.2 bölgesi geniş kopya sayısı olarak değerlendirilmiş ve araştırılan hastaların klinik bulguları ile ilişkilendirilmemiştir (106). Tablo 5.2'de gösterildiği gibi yaklaşık olarak aynı bölgenin kaybının bulunduğu iki olgumuzda (Olgu 3 ve 9) ve 251332 numaralı vakada MR/gelişme geriliği bulunurken, 1988 numaralı hastada hiçbir anormallik bulunmamaktadır (92, 94). Bu durum ise, bizim hastalarımızda ebeveyn çalışması yapılmamış olsa bile bu bölgenin benign bir varyasyon olduğu düşüncesini desteklemektedir. İnsan genomunda 100 kb'den binlerce Mb boyutlarına ulaşan geniş kopya sayısı değişiklikleri bulunmaktadır ve bu değişikliklerin insan hastalıklarında veya hastalıklara yatkınlıklarındaki etkileri array tabanlı sistemlerle yapılan araştırmalar çoğaldıkça netleşecektir düşüncesindeyiz.

Olgu 3'de bulunan diğer bir değişiklik olan 16p11.1-11.2 bölgesindeki 350 kb büyüklüğündeki kazanç ile 13q21.1'deki 175 kb büyüklüğündeki kayıp bölgesi bilinen varyasyonlarla uyumlu bulunmuştur (91). Veri tabanlarında bu kromozomlarda bulunan değişiklikler ile uyumlu fenotipik bulgu bildirilmezken, 13. kromozomdaki kayıp bölgesi gen içermeyip, 16. kromozomdaki kazanç bölgesinde bulunan genler de herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (92-94, 97).

Tablo 5.2. Moleküler karyotipleme sonucunda 15q11.1-11.2 bölgesinde kaybı olan Olgu 3 ve 9 ile veri tabanlarında örtüşen kaybı bulunan olguların özellikleri *

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak Klinik Özellikler	Diğer Klinik Özellikler
Olgu 3	2.5	15	15:20175623-22752987	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği	Konuşma geriliği Boy kısalığı
Olgu 9	2.3	12	15:20175623-22497265	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği	Brakisefali Trigonosefali Upslanting palpebral fissürler Yutma güçlüğü Hipotoni Nöbet Serebellar hipoplazi Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
1988	2.4	5	15:20330216-22727009	Ebeveynler analiz edilmemiş/bilgi verici değil		Bulgu yok
251332	2.24	9	15:20849110-23085096	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	MR/gelişme geriliği	Nöbet

*** Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.**

Olgu 4 ve kendisi ile aynı klinik bulgulara sahip iki kardeşine uygulanan Array 2.7 çalışması sonucunda 3 vakada ortak olarak tespit edilen değişikliklerden biri olan 6p21.1 lokusundaki kazanç bölgesi; bilinen CNV'lerle uyum göstermekte olup, içeriğinde şimdiye kadar herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmiş gen bulunmamaktadır. Üç vakada da ortak olarak kazanca uğrayan TFEB geni birçok lizozomal genin transkripsiyonunun kontrolünde görev alan bir gendir. Olgu 4 ve aile ağacında III-2 ile belirtilmiş kardeşinde ortak duplikasyonun saptandığı PGC geni ise gastrik mukozada pepsin öncülü pepsinojeni eksprese eden bir gendir. Her iki genin de duplikasyonunu içeren

fenotip veri tabanlarında izlenmemiştir (92-94). MR/gelişme geriliği, nöbet ve benzer yüz bulguları olan üç kardeşte tespit edilen diğer bir değişiklik ise 16q23.1 lokusunda bulunan ve 100-89-79 kb büyüklüklerindeki kayıp bölgesidir. Bu bölgede kayba uğrayan tek gen olan WWOX geni insan genomunda bulunan en sık frajil bölgelerden olan FRA16D'de bulunup, bir çok kanser tipinde değişken ekspresyonu gösterilmiş tümör büyümesini engelleyen bir tümör supresör gendir (107). Ayrıca mutasyon veya delesyonu özefagus skuamöz hücreli karsinomuna (OMIM#133239) yol açmaktadır. Yapılan çalışma sonuçları Olgu 4 ve kardeşlerindeki klinik durumun submikroskopik bir yeniden düzenlenime bağlı olmadığını göstermiştir ancak üçünde de aynı bölgenin delesyonu olgularda özefagus kanseri geliştirme veya diğer kanserlere yatkınlık riskini gündeme getirmektedir. Olgu 4 ve kardeşlerinin klinik durumunun araştırılması için; tek bir gendeki mutasyon açısından ebeveynlerin gonadal mozaisizmi, penetransı düşük ve ekspresivitesi değişken otozomal dominant bir hastalık veya anne babanın taşıyıcı olduğu otozomal resesif bir hastalık olma ihtimalleri ile ekzom dizileme yapılması planlanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda Olgu 5'in 15q11.1-11.2 lokusunda bulunan 2.57 Mb büyüklüğündeki duplikasyon sitogenetik olarak "15q11-q13 Duplikasyon Sendromu (#608636)" ile uyumlu bulunmuştur. Bu bölgenin maternal kalıtılan duplikasyonunun bulunduğu bireylerde MR/ gelişme geriliği, konuşma geriliği, otizme yatkınlık, kişilik ve davranış bozuklukları bildirilmiştir (108). Belirtilen sendromda duplikasyona uğrayan bölge moleküler düzeyde incelendiğinde, beyinde önemli bir nörotransmitter olan GABA (gama-aminobütirik asit)

reseptörünü eksprese eden GABRB3 geni; Prader Willi/ Angelman Sendromlarında meydana gelen delesyonlar için tanımlanmış 15q11.2'de bulunan kırık noktalası 1 (KN 1) ve KN 2 arasındaki 500kb büyüklüğündeki bölgede bulunmaktadır ve bu genin duplikasyonu 15q11-q13 duplikasyon sendromundaki klinik bulgulardan sorumlu tutulmuştur (109). Olgu 5'te bulunan duplikasyon bölgesi (15:20175623-22749949) ise GABRB3 genini içermeyip, KN1 ve KN 2 bölgelerinden daha proksimaldedir. Saptanan kazanç bölgesi bilinen CNV'ler ile uyumlu olup, bu bölgenin içeriğinde bulunan fonksiyonu belirlenmiş tek gen olan POTEB geninin prostat, over, testis ve plasentada eksprese edildiği belirlenmiştir (110). Ayrıca bu bölgenin anneden kalıtılmadığı da gösterilmiştir (Şekil 4.5.3). Fakat Tablo 5.3. incelendiğinde veri tabanlarında bildirilmiş olan 260421 numaralı vaka ile Olgu 5'in kazanç bölgeleri örtüşmekte ve klinik bulguları uyum göstermektedir (92). 260421 numaralı vakanın kazanç bölgesinde de GABR3 geni bulunmayıp, bizim vakamızdan farklı olarak nöronal dokularda eksprese olan ve Prader Willi/Angelman sendromlarında genomik damgalanmaya uğramayan ve mutasyonunda "Otozomal Dominant Spastik Parapleji 6 (#600363)" hastalığına sebep olan NIPA1 (non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 1) geni bulunmaktadır ve bu genin duplikasyonu ile ilişkili klinik henüz belirlenmemiştir (97). Bilindiği üzere kromozom 15 genomik damgalanmaya uğrayan genlerden biri olup henüz üzerinde bulunan tüm genlerin fonksiyonu, hastalıklarla ilişkisi ve genomik damgalanma paternleri belirlenmemiştir (111). Zaman içinde yapılacak olan ileri genetik çalışmalarla; 260421 numaralı vakanın klinik bulgularından duplikasyonu ile ilişkili fenotipin henüz bildirilmediği NIPA1 geninin mi sorumlu

olduğu yoksa Olgu 5 ile ortak olarak duplikasyona uğrayan bölgede bulunan ve fonksiyonu henüz belirlenmemiş, 15q duplikasyon sendromundan sorumlu olduğu ileri sürülen GABR3 geninden başka bir genin mi sorumlu olduğu açığa kavuşacaktır inancındayız.

Tablo 5.3. Moleküler karyotipleme sonucunda 15q11.1-11.2 bölgesinde kazancı olan Olgu 5 ile veri tabanlarında örtüşen kazancı bulunan olgunun özellikleri*

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak Klinik özellikler	Diğer Klinik Özellikler
Olgu 5	2.57	15	15:20175623-22749949	Annede bulunamadı, baba analiz edilmedi	MR Sinofris Bellirgin kaşlar Kısa dikkat süresi	Uzun yüz Anteverte nostriller Düzensiz diş yapısı Konuşma geriliği Davranış problemleri Mitral kapak prolapsusu
260421	3.19	10	15:20279565-23470963	Ebeveynle analiz edilmemiş/bilgi verici değil	MR/gelişme geriliği Belirgin kaşlar Kısa dikkat süresi	Mikrosefali Belirgin kulaklar

* Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Olgu 5'te bulunan diğer bir değişiklik olan 22q11.23 lokusundaki 0.19 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesi, bilinen CNV'ler ile uyumlu olup veri tabanlarında kazanç bölgesi bizimkiyle örtüşen bir vakada ise hiçbir fenotipik bulgu belirtilmemiştir (92-94). Ayrıca bu bölgede fonksiyonu belirlenmiş veya hastalıkla ilişkilendirilmiş gen bulunmamaktadır.

Olgu 6'nın 16q24.2-24.3 bölgesinde saptanan yaklaşık 2 Mb (1.99) büyüklüğündeki kazanç bölgesinde bulunan genlerden GALNS geninin mutasyonu Mukopolsakkaridoz tip 4A (Morque Sendromu)'ya sebep olurken, CDH15 geninin delesyonu veya mutasyonu otozomal dominant geçişli MR

sendromuna sebep olmaktadır (97, 112). CDH15 geni, Ca bağımlı hücre adezyonunu sağlayan kaderin ailesinden, iskelet kası diferansiyasyonu sırasında miyotübül uyarılmasını sağlayan bir gen olup duplikasyonu şimdiye kadar herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir. Decipher veri tabanında CDH15 genini içeren 0.3Mb büyüklüğünde duplikasyonu bulunan bir vakada (4611) belirtilen korpus kallozum agenezisi, MR/gelişme geriliği, konuşma geriliği, epikantus gibi klinik bulgular Olgu 6'nın fenotipi ile uyum göstermektedir (92). Bilindiği gibi bazı genlerin delesyonu, mutasyonu veya duplikasyonu aynı klinik tabloya yol açabilmektedir. Örneğin, Olgu 8'de 12q13.3- q14.1 bölgeleri arasında duplikasyonu saptanan bölgede bulunan genlerden CYP27B1(609506) geninin hem delesyonu, hem mutasyonu, hem de duplikasyonu sonucunda vitamin D bağımlı Rikets tip 1 meydana gelmektedir. Buna göre CDH15 geninin mutasyonu veya delesyonu sonucu oluşan otozomal dominant mental retardasyonun, bu genin duplikasyonu sonucunda da meydana gelip gelmeyeceği, bu konuda yapılacak olan çalışmaların sayısı arttıkça netleşecekir. Olgu 6'da 16q24.2-3 bölgesindeki duplikasyonun hastanın fenotipinden sorumlu olabileceği düşünülerek aile çalışması yapılması, sonrasında öncelikle MLPA yöntemi ile duplikasyonun teyidi planlanmıştır. Ayrıca moleküler karyotipleme ile saptanan delesyon veya duplikasyonlar için yanlış pozitifliğin kontrolünde FISH veya MLPA dışında mikrosatellit genotiplendirme, DNA dizileme veya başka bir array platformu gibi yöntemler kullanılarak teyit edilebilirler (62).

Olgu 6'nın 12q24.33 bölgesindeki 1.3 Mb büyüklüğündeki kayıp bölgesinde şimdiye kadar bir hastalıkla ilişkilendirilmiş bir gen bulunmamakla birlikte TMEM132D geninin; fare beyninde eksprese olduğu, ayrıca korpus

kallozumda, beyin spinal kord ve optik sinirin beyaz maddesinde bulunduğu gösterilmiştir (113). TMEM132D geninin de içinde bulunduğu aynı bölgede, 1.36 Mb büyüklüğünde delesyonu olan bir vakada da (vaka no: 250363, (92)) MR/gelişme geriliği bulunması; bu genin MR etiyolojisinde aday gen olarak yer alabileceğini düşündürmektedir.

İnsan genomundaki mikrodelesyon ve mikroduplikasyonların oluşum mekanizmalarında mayoz bölünme sırasında gerçekleşen, kromozom içinde komşu bölgelerde bulunan alelik olmayan bölgelerin homolog rekombinasyonu bulunmaktadır. Bu bölgeler segmental duplikasyonlar veya düşük kopya tekrarları (Low Copy Repeat, LCR) olarak adlandırılmaktadır. Kromozom 16 ise bu genomik yeniden düzenlenimlerin sebebi olan segmental duplikasyonlar bakımından zengin bir kromozomdur (115). Mikroarray tabanlı sistemlerin gelişmesi ve sebebi bilinemeyen MR/gelişme geriliği bulunan hastaların araştırılmasında kullanılması ile, bazı CNV'lerin, hasta bireylerde normal sağlıklı bireylere göre daha sık bulunduğu gözlenmiştir. 16p11.13 bölgesinin hem delesyonu hem de duplikasyonu patojenik olduğu düşünülen bölgelerden biridir. Bu bölgenin delesyonunun saptandığı vakalarda; MR/gelişme geriliği, mikrosefali, davranış problemleri gibi klinik bulgular olup, bu bulgular bölgede delesyona uğramış NDE1 ve NTAN1 genlerinin haploid yetersizliği (haploinsufficiency) ile ilişkilendirilmiştir (116). 16p11.13 duplikasyonu veya delesyonu olan vakalarda değişimin, bir distal kırık noktası (KN1) (16:14.7-14.75Mb) ve proksimal kırık noktası (KN2) (16:16,2-16,8Mb) arasında olduğunu saptanmıştır (116). Yapılan çalışmada en sık rastlanılan değişikliklerden biri olan 16p13.11 lokusundaki kayıp bizim olgularımızdan 6, 8 ve 9'da da tespit edilmiştir

(Tablo 5.4). Bu bölge bilinen CNV'lerle uyumlu olmakla birlikte içeriğindeki genlerden her üç olguda ortak kayba uğramış olan NOMO3 geni haritalanmış fakat henüz fonksiyonu tespit edilmemiş bir gendir. ABCC6 geni ise sadece Olgu 6'da kayba uğramış olup, bu genin mutasyonu veya delesyonunda bağ dokusunda bulunan elastin fibrillerdeki anormalliğe bağlı olarak; kardiyovasküler sistem, göz, beyin ve tüm bağ dokusu bulunan sistemlerde vasküler komplikasyonlarla seyreden "Psödoksantoma Elastikum (OMIM#177850)" hastalığına yol açmaktadır. Olgu 6'da şimdiye kadar bu hastalığa dair bir bulgu izlenmemiştir. Olgu 6, 8, 9'da delesyona uğrayan bölge; 16p13.11 mikrodelesyon sendromunda klinikten sorumlu tutulan NDE1 ve NTAN1 genlerini içermemekle birlikte; Hannes ve arkadaşlarının 16p13.11 mikrodelesyon/duplikasyon tespit ettikleri vakaları moleküler ve klinik olarak inceledikleri çalışmada, belirttikleri vakalarda oluşan değişikliklerden biri KN2 (16:16,2-16,8Mb)'ye denk gelmektedir. KN2 bölgesinin genomik değişikliklerin oluşmasından sorumlu LCR'lerden biri olduğunu ve bu bölgenin homolog olmayan rekombinasyonu ile 16p13.11 mikrodelesyon sendromunu oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Hannes ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada ayrıca 2 vakada atipik duplikasyon, 1 vakada ise delesyon saptanmış olup bu vakalarda oluşan değişimin distal kırık noktası KN1 (16:14.7-14.75Mb) iken, proksimal kırık noktası KN2 (16:16,2-16,8Mb) yerine, bu üç vaka için KN3 denilen ve 16p12.3'de bulunan 16:18.3-18.5 pozisyonudur (117). Yaptığımız çalışmada Olgu 9'da da 16p12.3'te 0.26 Mb büyüklüğünde bir de delesyon saptanmış olup veri tabanlarında kayıp bölgesi örtüşen vakaların özellikleri Tablo 5.5'de sunulmuştur. Özellikle olgu 9 başta olmak üzere, vakalarımızın klinik özellikleri bu bölgenin delesyonunu taşıyan vakalarla uyum göstermektedir. Bu konuda yapılacak olan ileri çalışmalar, bizim

hastalarımızda da delesyonu saptanan bu LCR bölgelerinin belirtilen sendrom sınırlarında olup olmayacağını gösterecektir.

Tablo 5.4. Moleküler karyotipleme sonucunda 16p13.11 bölgesinde kaybı olan Olgu 6, 8, 9 ile veri tabanlarında örtüşen kaybı bulunan olguların özellikleri*

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak klinik özellikler	Diğer Klinik özellikler
Olgu 6	0.53	9	16:16299959-16831610	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği	Epikantus Konuşma geriliği Korpus kallozum agenezisi
Olgu 8	0.38	8	16:16337248-16717587	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği	Belirgin glabella, Yüksek burun köprüsü Dar damak Retrognati Kısa filtrum Uzun boyun Ensede hemanjiom Uzun parmaklar Proksimal interfalengeal eklemlerinde kontraktür Skolyoz ve kifoz
Olgu 9	0.17	8	16:16337248-16509239	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği Nöbet	Brakisefali Trigonosefali Yukarı dönük palpebral fissürler Yutma güçlüğü Hipotoni Serebellar hipoplazi Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
248716	3.05	11	16:15492316-18546759	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	MR/gelişme geriliği	Paroksismal apne Serebellar hemisfer hipoplazisi İnfant dönemde beslenme problemleri Mega sisterna magna Ayakta postaksiyel polidaktili
250 291	3.31	13	16:15533023-18839788	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	-	Bulgu yok
251115	3.31	13	16:15533023-18839788	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	MR/gelişme geriliği Nöbet	Görme problemleri

* Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Tablo 5.5. Olgu 9 da saptanan 16. Kromozomun p12.3 lokusunda bulunan kayıp bölgesini içeren vakaların karşılaştırılması*

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak klinik Özellikler	Diğer Klinik Özellikler
Olgu 9	0.26	8	16:18324884-18593111	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği Serebellar hipoplazi	Brakisefali Trigonosefali Yukarı dönük palpebral fissürler Yutma güçlüğü Hipotoni Nöbet Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
248716	3.05	11	16:15492316-18546759	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	MR/gelişme geriliği Serebellar hemisfer hipoplazisi	Paroksismal apne İnfant dönemde beslenme problemleri Mega sisterna magna Ayakta postaksiyel polidaktili
250291	3.31	13	16:15533023-18839788	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	-	Bulgu yok
251115	3.31	13	16:15533023-18839788	Sağlıklı ebeveynlerden kalıtılmış	MR/gelişme geriliği	Nöbet Görme problemleri

* Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Olgu 6'da tespit edilen diğer kromozomlara ait kayıp ve kazanç bölgeleri bilinen varyasyonlarla uyumlu olup, içerdikleri genlerin MR etiyolojisini açıklayabilecek fonksiyonu bulunmamaktadır (91-94, 97). Yine de bu değişikliklerin de novo mu, kalıtılmış mı olduğunu anlamak için ebeveyn çalışmaları yapılmalıdır.

Yapılan Array çalışması ile Olgu 7'de bulunan 7 değişiklikten 6'sı bilinen CNV'ler ile uyumlu olup veri tabanlarında uyumlu fenotip bulunmamaktadır (91-94). Bilinen CNV'lerle uyumlu bu 6 değişiklikten 8q11.1'deki kazanç bölgesinde

hiç gen bulunmayıp, 7q11.21 ve 8q24.23 lokuslarındaki kayıp bölgeleri ile 8q24.3'teki kazanç bölgesinde hastalıkla ilişkilendirilmiş veya fonksiyonu belirlenmiş gen bulunmamaktadır (97). Hastalıkla ilişkilendirilmiş, gen içeren değişiklik bölgelerinden biri olan 2q37.1'de tespit edilen 222 kb'lik kazanç bölgesinde bulunan CHRND geninin mutasyonu veya delesyonu sonucu "Konjenital Miyasteni Sendromu (OMIM #601462)" meydana gelmektedir. Olgu 7'nin klinik özellikleri bu hastalıkla uyumlu olmayıp, bu genin duplikasyonu da henüz bildirilmemiştir (97).

Olgu 7'de tespit edilen CNV uyumlu hastalıkla ilişkilendirilmiş gen içeren diğer bir değişiklik olan 10q22.1'deki 111 kb'lik kazanç bölgesi, Olgu 8'in 10q22.1 lokusundaki 609 kb büyüklüğündeki kazanç bölgesiyle örtüşmektedir. Her iki olguda da bu bölgede bulunan ve duplikasyona uğramış olan CDH23 geninin mutasyonu veya delesyonu, iki alelik hastalık olan otozomal resesif sağırlık tip 12 (#601386) veya Usher Sendromu Tip 1D (#601067)'ye yol açmakla birlikte bu genin duplikasyonu ile ilişkili fenotip henüz bildirilmemiştir. Ayrıca, veritabanlarında bu varyasyonlarla uyumlu kazanç bölgeleri olan vakalar bulunamamıştır (92-94).

Olgu 7'de saptanan ve bilinen CNV'lerle uyum göstermeyen bir değişiklik olan 3q21.2-q21.3 lokusundaki 121 kb'lik kazanç bölgesi SLC41A3 ve ALDH1L1 genlerini içermektedir ve bu genler şimdiye kadar herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (97). Sonuç olarak yapılan çalışma ile Olgu 7'nin fenotipini açıklayabilecek net bir değişiklik bulunamamış olup, ebeveyn çalışması yapılması gerekmektedir.

Yapılan çalışmalarda bulunan sonuçların analizinde, mevcut kliniği açıklayabilecek en belirgin değişiklik Olgu 8'e ait 9. kromozomun q34.2-34.3 bölgesindeki 2.6 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesidir. 9q34 bölgesinin duplikasyonu ile klinik bulguları ilişkilendirip, "9q34 Duplikasyon Sendromu'nu geniş bir ailedeki 7 vakada tanımlayan ilk çalışma, Allderdice ve arkadaşları tarafından 1983'te yapılmıştır (118). Literatürde bu bölgede duplikasyonu bulunan vakalar genellikle dengeli translokasyon taşıyıcısı ebeveynlerin dengesiz gametlerine bağlı iken, de novo bildirilen vakalar da bulunmaktadır. Bildirilen çalışmalara göre 9q34 sendromunun klinik bulguları; duplike olan bölgenin büyüklüğüne ve translokasyon varsa etkilenen diğer kayıp veya kazanca uğrayan kromozomal bölgeye göre değişkenlik göstermekle birlikte, psikomotor retardasyon, hipotoni, konuşma geriliği, davranış problemleri, dar uzun asimetrik yüz, kısa palpebral aralık, yüksek burun kökü, uzun burun, displastik kulaklar, diş anomalileri, belirgin çeneyi içeren dismorfik yüz bulguları ile, skolyoz, kifoz, araknodaktili, kamptodaktili ve eklem kontraktürlerini içeren iskelet systemi anomalilerini içermektedir (119, 120). Bu bulgulara ek olarak bir vakada da; yiyecek kaçırma, obezite ve sekonder amenore bildirilmiştir (121). Yapılan çalışmalarda 9q34 bölgesinde çok sayıda fonksiyonel gen bulunduğu ve bu nedenle klinik bulguların multisistemik olduğu fakat henüz bu sendromda bulunan anomalileri açıklayacak kesin bir gen olmadığını ileri sürülmüştür (119). Bu bölgenin delesyonunda oluşan MR'den bu bölgede bulunan histon lizin metil transferaz ailesinden olan ve epigenetik histon modifikasyonu ile santral sinir sistemi gelişiminde rolü bulunan EHMT1 geninin haploid yetersizliği sorumlu tutulmuştur (122). Bu genin duplikasyonunun da yine MR'ye sebep olabileceğini ileri süren çalışmalar olduğu gibi duplikasyon bölgesinde EHMT1 geni olmayan

vakalar da bulunmaktadır (119, 123). Olgu 8'de bulunan MR/gelişme geriliği, dar, uzun yüz, yüksek burun kökü ve köprüsü, diş anomalileri, eklem kontraktürleri, araknodaktili, kamptodaktili, skolyoz ve kifoz, davranış problemleri gibi bulgular, tanımlanmış olan 9q34 duplikasyon sendromu ile uyumludur (Şekil 3.3). Olgu 8'de duplike olan 9q34.2-q34.3'teki 2.6 Mb büyüklüğündeki bölge içerisinde 45 tane gen bulunmakta olup; 38 tanesinin fonksiyonu belirlenmiş ve bu genlerin 7'sinin bir hastalıkla ilişkisi tespit edilmiştir. Fonksiyonu belirlenmiş genlerden ADAMSTS13 geni Trombotik Trombositobenik Purpura (#274150) ile, ADAMSTSL2 geni Geleofizik displazi 1 (OMIM#231050) ile, CEL geni MODY8 (Maturity-Onset Diabetes of the Young, Type 8, with Exocrine Dysfunction, OMIM #609812) ile, COL5A1 geni Ehler Danlos Sendromu Tip1 ve 2 (OMIM#130000-130010) ile, DBH geni Konjenital Beta Hidroksilaz Eksikliği (OMIM#223360) ile, SARDH geni Sarkozinemi ile, SURF1 ise Leigh Sendromu (OMIM#256000) ile ilişkilendirilmiş genlerdir. Olgu 8'de ve 9q34 duplikasyonu saptanmış diğer olgulardaki klinik bulguların; bu bölgede bulunan hücre döngüsü ve metabolizması, protein transportunda sinyal kontrolü, fibrinogenezis, bağ dokusu oluşumu gibi görevlerde fonksiyonu olan proteinleri eksprese eden genlere bağlı olduğu düşünülmektedir. 9q34 bölgesinin duplikasyonu bulunan vakalarla ilgili çalışmaların artmasıyla, duruma neden olan gen/genlerin daha kesin olarak belirlenebileceği inancındayız.

Olgu 8'de tespit edilen diğer değişikliklerden 20q13.33'teki 1.23 Mb, 10q22.3'deki 0.6 Mb, 9q32.2deki 0.4 Mb, 12q13.13'de 0.4 Mb, 6p21.31'deki 0.35 Mb, 10q22.1'deki 0.32 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgeleri bilinen varyasyonlarla uyumludur ancak veri tabanlarında bu kazanç bölgesi ile örtüşen

kazanımlara sahip fenotipik olarak benzer vakalar bulunmamaktadır (91-94). Ayrıca bu bölgelerin içeriğinde Olgu 8'in klinik bulgularını açıklayabilecek fonksiyonu olan gen bulunmamaktadır. Diğer bir CNV uyumlu, kazancında fenotipik olarak benzer vaka bulunmayan, 17q25.3'teki 0.7 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesinde bulunan CBX2 geninin; delesyon veya mutasyonunda sex reversal durumu oluşmakta iken duplikasyonu ile ilişkili fenotip bildirilmemiştir (97). Dış genitalyası muayede normal saptanan, iç genitalya ile ilişkili araştırma yapılmamış Olgu 8'de bulunan aynı cinse ilgi, cinsel sapkınlık olarak ifade edilen duygu durum bozukluğunun bu genin duplikasyonuna bağlı gelişip gelişmediği ile ilgili kesin sonuca ancak bu değişikliğin de novo olduğunun gösterilip, bu bölgenin duplikasyonu saptanan aynı bulgulara sahip vakaların bildirilmesi ile ulaşılacaktır.

Olgu 8'de 19p13.13-q13.12'de saptanan 0.33 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesinde yer alan CC2D1A geninin mutasyon veya delesyonunda "Otozomal Resesif Kalıtımlı Mental Retardasyon Tip 3 (OMIM#608443)" oluşmaktadır. Olgu 8'in ebeveynleri arasında akrabalık öyküsünün bilinmemesi, bu genin duplikasyonunun hiç bildirilmemiş olması 19p13.13'deki bu CNV uyumlu değişikliğin Olgu 8'in fenotipinden sorumlu olmadığını düşündürmektedir. 12q13.3-q14.1 bölgeleri arasında saptanan 0.32 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesi bilinen CNV'lerle uyumlu olmakla birlikte, veri tabanlarında bu bölgeyi de içeren 2.94 Mb büyüklüğündeki de novo kazancı olan MR'lu bir birey (olgu no: 257321) bildirilmiştir (92). Olgu 8'de duplikasyona uğrayan bu bölgede birçok fonksiyonu bilinen veya bir hastalıkla ilişkilendirilmiş gen bulunmakta olup CYP27B1 geni dışındakilerin duplikasyonu ile ilişkili fenotip

bildirilmemiştir. CYP27B1 geninin hem delesyonu hem mutasyonu hem de duplikasyonu sonucunda D vitamini bağımlı Rikets tip 1A meydana gelmektedir (124). Fakat olgumuzda Rikets'i düşündürecek bir bulgu olmamakla birlikte, D vitamini ölçümü yapılmasının yararlı olacağı düşüncesindeyiz.

Olgu 9'un 3 numaralı kromozomunun p21.2 bölgesinde saptanan 0.15 Mb büyüklüğündeki kazanç bölgesi veri tabanlarında araştırılmıştır ve bu bölge ile örtüşen kazanç bölgesi saptanan vakalar Tablo 5.6'da sunulmuştur. (92-94). Kazanç bölgesi ile örtüşen vakalardan "252186" numaralı hastanın MR/gelişme geriliği ve hipotoni bulguları olgu 9 ile uyumlu bulunurken diğer vakalarda fenotipik bir bulgu bulunmamaktadır (Tablo 5.6) (92). Vaka "252186"'daki kazanç 6,87 Mb olup 88 gen içermektedir (Tablo 5.6). Olgu 9 ve belirtilen vakada örtüşen klinik bulguların ortak olarak duplike olan 11 genden kaynaklanıp kaynaklanmadığını araştırmak üzere bu genlerin fonksiyonları değerlendirilmiştir. İki vakada ortak olarak bulunan RRP9, PARP3, GPR62, PCBP4, ABHD14B, ABHD14A, ACY1, RPL29, DUSP7, C3orf74 ve POC1A genlerinden RRP9, ABHD14B, ABHD14A, RPL29, C3orf74 ve POC1A genleri bugüne kadar herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (97). PARP3 geni mitoz kontrol noktalarında etkin; GPR62 beyinde eksprese olan fakat fonksiyonu henüz belirlenmemiş bir gendir. PCBP4, p53 gibi DNA hasarında apopitozisi uyararak hücre proliferasyonunu kontrol etmekte olan bir gen, ACY1 ise tüm çekirdekli hücrelerde eksprese olan amiloaçilaz enzimini kodlayan ve küçük hücreli akciğer kanserinde eksprese olmadığı için bir tümör supresör gen olduğu düşünülmektedir. Bu genlerin fonksiyonlarına bakılarak Olgu 9'daki kinik bulguları açıklayamayacağı görülmüş fakat sadece beyinde eksprese olan ve

fonksiyonu henüz belirlenmemiş olan GPR62 geninin MR etiyolojisinin araştırılmasında aday genler arasında olabileceği düşünülmüştür.

Tablo 5.6. Olgu 9'da 3p21.2 lokusundaki kazanç bölgesi ve bu bölgeyle örtüşen kazançları bulunan vakaların karşılaştırılması*

Kişi numarası	Mb	Gen sayısı	Pozisyon	Kalıtım	Ortak Klinik Özellikler	Diğer Klinik özellikler
Olgu 9	0.15	11	3:51969590-52127959	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği Hipotoni Nöbet	Brakisefali Trigonosefali Yukarı dönük palpebral fissürler Yutma güçlüğü Serebellar hipoplazi Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
252186	6.87	88	3:49977069-56846787	De novo	MR/gelişme geriliği Hipotoni Nöbet	Fontanellerin geç kapanması Üriner reflü
250174	43.15	336	3:20452936-63602558	De novo	-	Bulgu yok
258648	17.22	229	3:43438313-60661991	De novo	-	Bulgu yok

*Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Olgu 9'un 14. kromozomunun uzun kolunun 11.2 bant bölgesinde tespit edilen 0.156 Mb büyüklüğündeki kayıp, bu bölgede gen bulunmaması nedeniyle dikkate alınmamıştır. Kromozom 2, 3 ve 19'da saptanan kazanç bölgeleri ile örtüşen vaka bulunamamış ve bu bölgedeki kopya sayısı değişiklikleri benign olarak değerlendirilmiştir (91).

Olgu 9'un 17q21.33 lokusunda saptanan 153 Kb boyutundaki kazanç bölgesi veri tabanlarında araştırılmış ve bir tane kazanç bölgesi örtüşen vaka tespit edilmiştir (92-94). Veri tabanlarında "997" numara ile tanımlnan bu vakada 17q21.33'de 47738545-48841039 pozisyonunda 1.1 Mb büyüklüğünde ki kazanç

bölgesi, olgumuzdaki 48205078-48358743 pozisyonları arasındaki kazanç bölgesini kapsamaktadır (92). “997” numaralı hastanın klinik bulguları arasında; MR/gelişme geriliği, mikrosefali, yukarı dönük palpebral fissürler, epikantus, kulakta skin tag, yüksek damak, klinodaktili, ayak 2-3. parmakları arasında sindaktili, pes kavus, işitme kaybı, görme problemleri bulunmaktadır. Bu bulgulardan mikrosefali, MR/gelişme geriliği, yukarı dönük palpebral fissürler ve ayak 2-3. parmakları arasında sindaktili, olgu 9 ile ortak olarak bulunmaktadır. İki vakada ortak olarak duplikasyona uğramış ve fonksiyonları belirlenmiş genlerden PPP1R9B geni hücre büyümesinde görevli olup henüz bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (97). Hastalıkla ilişkilendirilmiş genlerden SGCA geninin mutasyonu veya delesyonunda “Limb-Girdle Müsküler Distrofi, Tip 2D (OMIM#608099)” meydana gelmekte fakat duplikasyonu herhangi bir fenotiple ilişkilendirilmemektedir (97). İki vakada ortak duplikasyona uğramış ve hastalıkla ilişkilendirilmiş diğer bir gen olan COL1A1 geninin ise delesyonu veya mutasyonu sonucunda osteogenezis imberfektanın çeşitli tipleri meydana gelmekte olup, genin duplikasyonu ise, infant dönemde ağır seyredip ölüme sebep olan “Osteogenezis İmperfekta, Tip 2, (OMIM#166210)” hastalığı ile sonuçlanmaktadır (125). Fonksiyonu ve hastalıklarla ilişkileri belirtilen genlerin duplikasyonun; Olgu 9’da bulunan kliniği açıklayamayacağı düşünülmüş ve bölgenin yanlış pozitiflik yönünden değerlendirilmesi ve aile çalışması yapılması planlanmıştır.

Olgu 9’da 20q13.31 lokusundaki kazanç bölgesi içerisinde yer alan RAE1 ve RBM38 genlerinin RNA bağlama ve taşınmasında görev alan proteinleri

eksprese ettikleri bilinmektedir. Tablo 5.9.5'de sunulan ve Olgu 9'un kazanç bölgesi ile örtüşen kazanç bölgeleri bulunan vakalarda duplike olan bölge çok büyük olduğundan ve çok sayıda gen içerdiğinden, olgu 9 ile ortak klinik bulguların RAE1 ve RBM38 genlerinin duplikasyonuna bağlı olduğu söylenememektedir.

Tablo 5.7. Olgu 9'da 20q13.31 lokusundaki kazanç bölgesi ve bu bölgeyle örtüşen kazançları bulunan vakaların karşılaştırılması*

Kişi numarası	**Mb**	**Gen sayısı**	**Pozisyon**	**Kalıtım**	**Ortak Klinik Özellikler**	**Diğer Klinik özellikler**
Olgu 9	0.114	2	20:55952885-56066910	Ebeveynler analiz edilmedi	MR/gelişme geriliği	Brakisefali Trigonosefali Yukarı dönük palpebral fissürler Yutma güçlüğü Hipotoni Nöbet Serebellar hipoplazi Hemanjiyom Fusiform el parmakları Ayakta 2-3 sindaktili
635	7.46	92	20:55353031-62814232	Ebeveynler analiz edilmemiş/bilgi verici değil	MR/gelişme geriliği	Hipotoni Mikrosefali
250209	2.08	24	20:55801532-57881280	De novo	-	Nistagmus Strabismus Gecikmiş kemik yaşı Hipotoni Büyüme hormonu eksikliği Kısa boy

*Tablo, 92-94 numaralı kaynaklardan faydalanılarak hazırlanmıştır.

Yapılan moleküler karyotipleme çalışmasında olgularda bulunan muhtemel benign, muhtemel patojenik, klinikle ilişkisiz ve klinik önemi tam olarak bilinemeyen tüm değişiklikler mutlaka yanlış pozitifliğin dışlanması için ek

bir genetik yöntemle teyit edilmelidir. Yapılan çalışmalarda mikroarray tabanlı sistemlerle bulunan değişikliklerin teyidi için genellikle o bölgeye özel tasarlanmış problarla lokus spesifik FISH yöntemi kullanılmaktadır. Yapılan bir derlemede yanlış pozitifliği dışlamanın diğer bir yolu olarak, araştırılan hastaların klinik açıdan dikkatli değerlendirilmeleri gerektiği vurgulanmıştır (86).

Yapılan çalışma ile Olgu 8'de bulunan ve kliniğini açıklayan duplikasyon bölgesi dışında tespit edilen diğer değişiklikler herhangi bir klinikle ilişkilendirilmese bile, Türk toplumunda ve kendi kliniğimizde yapılacak olan yeni çalışmaların analizinde fenotipik veya genotipik karşılaştırmaların yapılmasında kullanılabilecek veri niteliğindedirler. Belirtilen amaca yönelik olarak çalışmada bulunan veriler toplanarak bir veri tabanının temellerinin atılması planlanmaktadır.

Nedeni bilinmeyen MR'lu hastalarda yapılan bu moleküler karyotipleme çalışması üniversitemizde ilk olup, ülkemizde sayılı araştırmalar arasında yer almaktadır. Mikroarray ile tüm genomun taranması, Avrupa ve Amerika'da gelişmiş ülkelerde tanı amaçlı rutin testler arasında yer alırken ülkemizde halen sadece araştırma amaçlı kullanılmaktadır. Yapılan bu çalışma ve benzer çalışmaların artması ile, mikroarray tabanlı sistemler yalnızca araştırma amaçlı değil konvansiyonel sitogenetik testlerden sonra uygulanacak rutin bir tanı testi olarak kullanılmaya başlanacaktır düşüncesindeyiz. Böylece MR/ çoklu doğumsal anomalili çocuğu olan ve sağlıklı bir gebelik sahibi olmak isteyen aileler için moleküler karyotipleme yöntemi kullanılarak, prenatal veya preimplantasyon

genetik tanı olanağı sağlanabilecek ve sağlıklı çocuk sahibi olma hayallerine ışık tutulabilecektir.

Sonuç olarak mikroarray bazlı tüm genomu tarama yöntemi; sitogenetik tanıyı mikroskoptan bilgisayara taşıyan, aynı anda genomda bilinmeyen binlerce bölgeyi tarayıp dengesiz karyotipleri saptayan, FISH'in lokus spesifik natürü ile tüm genomun kromozomlar üzerindeki yüksek çözünürlüklü görüntüsünü birleştiren bir yöntemdir. Yani konvansiyonel ve moleküler sitogenetik teknikleri birleştiren mikroarray teknolojisi, gelecek yıllarda klinik sitogenetiğin temel taşı olacak gibi görünmektedir. Mikroarray teknolojisi; gelişme geriliği, MR ve pre/postnatal çoklu doğumsal anomalisi olan hastaların tanısında, yeni mikrodelesyon sendromlarının keşfinde, sebebi bilinmeyen genetik sendromlardan sorumlu genin tespitinde büyük önem taşımaktadır. Bu konuda yapılan çalışmaların sayısının artması ve gelişen teknolojinin getireceği yeniliklerle insan genomundaki bilinmezliklerin zamanla çözüme ulaşması hedeflenmektedir. Unutulmamalıdır ki; her hücrede küçük bir çekirdeğe sığan fakat nükleotidleri yan yana geldiğinde binlerce sayfalık ansiklopedileri doldurabilecek olan insan genomunun kapasitesi ve mucizevi işleyişi, araştırmacılar için daha uzun zaman boyunca keşifler sağlayacak kadar geniştir.

6. SONUÇ

Nedeni bilinmeyen MR'si olan hastaların araştırılmasında son derece etkili, ulaşılabilir, maliyeti uygun olan mikroarray teknolojisi bu konuda yapılacak çalışmaların artmasıyla güvenilirliğini ve etkinliğini ispatlayarak klinik moleküler sitogenetiğin temel taşı olacaktır.

Bu teknoloji, geniş bir etiyolojik spektrumu olan fakat henüz %50-80'inde neden bulunamamış olan MR'nin genetik yönünün araştırılmasına ve sebep olan yeni gen/genlerin yanı sıra mikrodelesyon sendromlarının tepitine de olanak sağlamaya devam edecektir.

Array tabanlı sistemlerin analizi güç olduğundan; araştırılacak hastaların öncelikle alanında uzman bir klinik genetik doktoru tarafından ayrıntılı olarak değerlendirilmesi, endikasyon konulması halinde mümkünse ebeveynleriyle birlikte çalışmaya dahil edilmesi gerekmektedir. Ayrıca sonuçların değerlendirilmesi aşamasında temel genetik bilgisi gerekmektedir. Sonuçların analizi için literatürde verilmiş algoritmalar kullanılmalı ve bulunan her bir değişiklik için veri tabanlarında ayrıntılı araştırmalar yapılmalıdır.

Yapılan çalışma ile araştırılan; nedeni bilinmeyen MR/çoklu doğumsal anomali/ dismorfik yüz bulguları olan, klinik olarak herhangi bir genetik hastalıkla ilişkilendirilmemiş, kromozom analizi ve subtelomerik FISH analizi normal saptanan 9 hastadan bir tanesinde muhtemel patojenik etmen tespit edilmiştir. Bu moleküler karyotipleme çalışması ile her ne kadar projeye sağlanan

gelirin kısıtlı olması nedeniyle az sayıda hasta araştırılmış ve araştırılan hastaların ebeveynleri çalışmaya dahil edilememiş olsalar da; uygun bir analiz algoritması geliştirilerek %11.1 oranla patojenik etmen tespit edilmiş olup array tabanlı sistemlerin tanı gücü doğrulanmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV-TR. 4th ed. Text revision 2000, Washington.

2. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polsta A, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. Eur J Med Genet 2009;52: 161–69.

3. Shaffer LG. American College of Medical Genetics guideline on the cytogenetic evaluation of the individual with developmental delay or mental retardation. Genet Med 2005: 7:650–54.

4. Schoumans J, Ruivenkamp C, Holmberg E, Kyllerman M, Anderlid BM, Nordenskjöld M. Detection of chromosomal imbalances in childeren with idiopathic mental retardation by array based comparative genomic hybridisation (array-CGH). J Med Genet 2005; 42: 699-705.

5. Slavotinek AM. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays. Hum Genet 2008; 124: 1-17.

6. Verdú Pérez A, García Murillo PL, García Campos O, López Grondona F, Arriola Pereda G, Alcaraz Rousselet MA, et al. Subtelomeric rearrangements in cryptogenic mental retardation. Ann Pediatr (Barc) 2011; 75(6): 365-71.

7. Edelmann L, Hirschhorn K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. Ann N Y Acad Sci 2009; 1151: 157-66.

8. Volkmar FR, Dykens E. Mental Retardation. Child and Adolescent Psychiatry. Oxford Publishing; 2002.

9. Ainsworth P, Baker PC. Understanding Mental retardation. 1st d. United States of America: University press of Missisippi; 2004.

10. Chechlacz M, Gleeson JG. Is mental retardation a defect of synapse structure and function? Pediatr Neurol 2003; 29: 11-17.

11. Raymond FL, Tarpey P. The genetics of mental retardation. Human Mol Genet 2006, Vol. 15, Review Issue No. 2.

12. Foreman P. Education of students with an intellectual disability. 1st ed. United States of America. Information age Publishing; 2009.

13. Wechsler D, A standardized memory scale for clinical use. Journal of Psychology, 1945: 19; 87-95.) (Wechsler Memory Scale—Fourth Edition (WMS—IV). 2008: Pearson.

14. Flynn JR, Massive I. IQ gains in 14 nations: What IQ tests really measure. Psychological Bulletin 1987; 101: 171-191.

15. Savasir I, N Sezgin, and N Erol, Ankara Gelişim Tarama Envanteri El Kitabı. 2. Baskı. Ankara. Reklamay Lim. Şti; 1998.

16. Lundvall M, Rajaei S, Erlandson A, Kyllerman M. Aetiology of severe mental retardation and further genetic analysis by high-resolution microarray in a population-based series of 6- to 17-year-old children. Acta Paediatr. 2011 Jul 18. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02417.x. [Epub ahead of print]

17. Siggberg L, Ala-Mello S, Jaakkola E, Kuusinen E, Schuit R, Kohlhase J, et al. Array CGH in molecular diagnosis of mental retardation—A study of 150 Finnish patients. Am J Med Genet Part A 2010; 152A: 1398–1410.

18. Stromme P. Aetiology in severe and mild mental retardation: a population-based study of Norwegian children. Dev Med Child Neurol 2000; 42: 76-86.

19. Wellesley D, Hockey A, Stanley F. The aetiology of intellectual disability in Western Australia: a community-based study. Dev Med Child Neurol 1991; 33: 963-73.

20. Bauters M, Esch H, Marynen P, Froyen G. X chromosome array-CGH for the identification of novel X-linked mental retardation genes. Eur J Med Genet 2005; 48: 263–75.

21. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boeerkoel III. Thompson & Thompson: Tıbbi Genetik. 6. Baskı, Günes Kitabevi, Ankara; 2005.

22. Sharkey F H, Maher E, FitzPatrick DR. Chromosome analysis: what and when to request. Arch Dis Child 2005; 90: 1264–69.

23. Gardner RJM, Sutherland GR. Chromosome abnormalities and genetic counselling. New York: Oxford University Press; 1996

24. Roubertoux PL, Kerdelhue B, Trisomy 21: from chromosomes to mental retardation. Behav Genet 2006; 36: 346–54.

25. Roizen NJ, Patterson D, Down's syndrome. Lancet 2003; 361: 1281–9.

26. Rodeck CH, Whittle MJ. Fetal Medicine.:Basic Science and Clinical Practice. Elsevier Health Sciences; 1999.

27. Embleton ND, Wyllie JP, Wright MJ, Bum J, Hunter S. Natural history of trisomy 18. Arch Dis Child 1996; 75: 38-41

28. Brewer CM, Holloway SH, Stone DH, Carothers AD, FitzPatrick DR. Survival in trisomy 13 and trisomy 18 cases ascertained from population based registers. J Med Genet 2002;39 (9): 54.

29. Carey JC. Trisomy 18 and trisomy 13 syndromes. In: Cassidy SB, Allanson JE. Management of Genetic Syndromes. 2nd. New York, NY: Wiley-Liss; 2005: 555-68.

30. Wyllie JP, Wright MJ, Burn J, Hunter S. Natural history of trisomy 13. Arch Dis Child 1994; 71: 343-5.

31. Verri A, Cremante A, Clerici F, Destefani V, Radicioni A. Klinefelter's syndrome and psychoneurologic function. Mol Hum Reprod 2010; 16(6):425-33.

32. Rovet J, Netley C, Keenan M, Bailey J, Stewart D. The psychoeducational profile of boys with Klinefelter syndrome. J Learn Disabil 1996; 29: 180-96.

33. Simpson JL, de la Cruz F, Swerdloff RS, Samango-Sprouse C, Skakkebaek NE, Graham JM, et al. Klinefelter syndrome: expanding the phenotype and identifying new research directions. Genet Med 2003; 5: 460–8.

34. Khalifa MM, Struthers JL. Klinefelter syndrome is a common cause for mental retardation of unknown etiology among prepubertal males. Clin Genet 2002; 61: 49–53.

35. Gravholt CH, Stochholm K. The epidemiology of Turner syndrome. International Congress Series 2006; 1298: 139–45.

36. Saenger P, Albertsson WK, Conway GS, Davenport M, Gravholt CH, Hıntz R, Hovatta O. Recommendations for the Diagnosis and Management of Turner Syndrome The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2001; 86 (7): 3061-9.

37. Ian D Young. Medical Genetics: Oxford Core Texts. Oxford University Press; 2005.

38. Knight SJ, Flint J. Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. J Med Genet 2000; 37: 401-409.

39. Rooms L, Reyniers E, Kooyn RF. Subtelomeric rearrangements in the mentally Retarded: a comparison of detection methods. Human mutation 2005; 25: 513-24.

40. Riethman HC, Xiang Z, Paul S, Morse E, Hu X-L, Flint J, et al. Integration of telomere sequences with the draft human genome sequence. Nature 2001; 409: 948–51.

41. Inlow JK, Restifo LL. Molecular and comparative genetics of mental retardation. Genetics 2004; 166: 835– 881.

42. Moog U. The outcome of diagnostic studies on the etiology of mental retardation: considerations on the classification of the causes. Am J Med Genet A 2005; 137: 228–31.

43. Plenge RM, Stevenson RA, Lubs HA, Schwartz CE, Willard HF: Skewed X-chromosome inactivation is a common feature of X-linked mental retardation disorders. Am J Hum Genet 2002; 71:168–73.

44. Chiurazzi P, Schwartz CE, Gecz J, Neri G. XLMR genes: update 2007. Eur J Hum Genet 2008; 16: 422–434

45. Elektronik veritabanı: http://xlmr.interfree.it/home.htm (Nisan 2012)

46. D'Hulst C, Kooy RF. Fragile X syndrome: from molecular genetics to therapy. J Med Genet 2009; 46: 577–584.

47. Hagerman PJ. The fragile X prevalence paradox. J Med Genet 2008; 45(8): 498–9.

48. Nolin SL, Brown WT, Glicksman A, Houck Jr GE, Gargano AD, Sullivan A, et al. Expansion of the fragile X CGG repeat in females with premutation or intermediate alleles. Am J Hum Genet 2003; 72: 454–64.

49. Merenstein SA, Sobesky WE, Taylor AK, Riddle JE, Tran HX, Hagerman RJ. Molecular-clinical correlations in males with an expanded FMR1 mutation. Am J Med Genet 1996; 64: 388–94.

50. Murray A, Webb J, Grimley S, Conway G, Jacobs P. Studies of FRAXA and FRAXE in women with premature ovarian failure. J Med Genet 1998; 35 (8): 637-40.

51. Kliegman, Stanton, St. Geme, Schor & Behrman. Nelson Textbook of Pediatrics, 19th Edition; International Edition; 2011.

52. Gokmen OH, Kucukkasap T, Koksal G, Kalkanoglu Sivri HS, Dursun A, Tokatli A, Coskun T. Does maternal knowledge impact blood phenylalanine concentration in Turkish children with phenylketonuria? J Inherit Metab Dis 2008; 35: 154-58.

53. GM, Hausman RE. The Cell. 3rd Ed. ASM Press USA; 2004.

54. Preece MA, Moore GE. Genomic imprinting, uniparental disomy and foetal growth. TEM 2000; 11: 7.

55. Nicholls RD. Genomic imprinting and uniparental disomy in Angelman and Prader-Willi syndromes: a review. Am J Med Genet 1993; 46: 16-25.

56. Feinstein C, Reiss AL. Psychiatric disorder in mentally retarded children and adolescents: the challenges of meaningful diagnosis. Child Adolesc Psychiatr Clin North Am, 1996; 5: 827-52.

57. Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. The Genetics of Autism. Pediatrics 2004; 113.

58. Urdinguio RG, Sanchez-Mut JV, Esteller M. Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. Lancet Neurol. 2009; 8: 1056–72.

59. Gropman AL, Batshaw ML. Epigenetics, Copy Number Variation, and Other Molecular Mechanisms Underlying Neurodevelopmental Disabilities: New Insights and Diagnostic Approaches. J Dev Behav Pediatr 2010; 31: 582–91.

60. Barnes MR, Breen G. Genetic Variation: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 628, Springer Science + Business Media, LLC; 2010.

61. Beckmann JS, Estivill X, Antonarakis SE. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotypic variability. Nat Rev Genet 2007; 8: 639–46.

62. Lee C, Iafrate AJ, Brothman AR Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders. Nat Genet 2007; 39:48–54.

63. McCarroll SA, Kuruvilla FG, Korn JM, Cawley S, Nemesh J, Wysoker A, et al. Integrated detection and population genetic analysis of SNPs and copy number variation. Nat Genet 2008; 40: 1166–74.

64. Shianna KV, Willard HF. Human genomics: in search of normality. Nature 2006; 444, 428–9.

65. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. Nature 2006; 444 (7118): 444-54.

66. Edelmanna L, Hirschhorna K. Clinical Utility of Array CGH for the Detection of Chromosomal Imbalances Associated with Mental Retardation and Multiple Congenital Anomalies. Ann NY Acad Sci 2009; 1151: 157–66.

67. Lisenka EL, Bert B A de Vries, Joris AV. Genomic microarrays in mental retardation: from copy number variation to gene, from research to diagnosis. J Med Genet 2010; 47: 289-297.

68. Wincent J, Anderlid B-M, Lagerberg M, Nordenskjo M, Schoumans J. High-resolution molecular karyotyping in patients with developmental delay and/or multiple congenital anomalies in a clinical setting. Clin Genet 2011: 79: 147–57.

69. Hochstenbach R, Buizer-Voskamp J.E, Vorstman JAS, Ophoff RA. 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. Cytogenet Genome Res 2011; 135: 174–202.

70. van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. Eur J Hum Genet 2005; 13: 6–25.

71. Park HK, Kim HJ, Han SH, Kim YJ, Kim SH. Screening of Subtelomeric Rearrangements in 100 Korean Pediatric Patients with Unexplained Mental Retardation and Anomalies Using Subtelomeric FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). J Korean Med Sci 2008; 23: 573-8.

72. Belligni EF, Biamino E, Molinatto C, Messa J, Pierluigi M, Faravelli F, et al. Subtelomeric FISH analysis in 76 patients with syndromic developmental delay/intellectual disability. Italian Journal of Pediatrics 2009; 35: 9.

73. Kallioniemi A, Kollioniemi OP, Sudar D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. Comparative Genomic Hybridization for moleculer cytogenetic analysis of solid tumor. Science 1992; 258 (5083): 818-21.

74. Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Piper J, Isola J, Waldman FM, Gray JW, et al. Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. Genes Chrom Cancer 1994; 10: 231–43.

75. Shaffer LG, Bejjani BA. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. Human Reproduction Update 2004; 10: 221-6.

76. Min YS, Choi JH, Lee SY, Yoo NC. Applications of DNA Microarray in Disease Diagnostics. J. Microbiol. Biotechnol 2009; 19 (7): 635–46.

77. Aitman TJ. DNA microarrays in medical practice. BMJ 2001; 323: 611-615.

78. Dalma-weıszhausz DD, Warrıngton J, Tanımoto EY, Mıyada G. The Affymetrix Genechip Platform: An Overview. Methods ın Enzymology, 2006; 410:3-27.

79. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridisation: biochips to screen for genomic imalances. Genes Chrom Cancer 1997; 20 (4): 399-407.

80. Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN, Listewnik ML, Donahoe PK, Qi Y, et al. Detection of large-scale variation in the human genome. Nat Genet 2004; 36: 949–51.

81. Alkan C, Coe BP, Eichler EE. Genome structural variation discovery and genotyping. Nat Rev Genet 2011; 12: 363–75.

82. Shaffer LG, Beaudet AL, Brothman AR. Microarray analysis for constitutional cytogenetic abnormalities. Genet Med 2007; 9: 654–662.

83. Lucito R, Healy J, Alexander J, Reiner A, Esposito D, Chi M, et al. Representational oligonucleotide microarray analysis: a high-resolution method to detect genome copy number variation. Genome Res 2003; 13 (10): 2291-305.

84. Pinkel D, Segraves R, Sudar D. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. Nat Genet 1998; 20 (2): 207-11.

85. Vermeesch JR, Fiegler H, de Leeuw N, Szuhai K, Schoumans J, Ciccone R, et al. Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. Eur J Hum Genet 2007; 15 (11): 1105-14.

86. Sagoo GS, Butterworth AS, Sanderson S, Shaw-Smith C, Higgins JP, Burton H. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. Genet Med 2009; 11: 139-46.

87. Bruno DL, Stark Z, Amor DJ, Burgess T, Butler K, Corrie S, et al. Extending the scope of diagnostic chromosome analysis: detection of single gene defects using high-resolution SNP microarrays. Hum Mutat. 2011; 32 (12): 1500-6.

88. Gijsbers ACJ, Schoumans J, Ruivenkamp CAL. Interpretation of Array Comparative Genome Hybridization Data: A Major Challenge. Cytogenet Genome Res 2011; 135: 222–7.

89. Gijsbers AC, Lew JY, Bosch CA, Schuurs-Hoeijmakers JH, van Haeringen A, et al: A new diagnostic workflow for patients with mental retardation and/or multiple congenital abnormalities: test arrays first. Eur J Hum Genet 2009; 17: 1394–402.

90. Koolen DA, Pfundt R, de Leeuw N, Hehir-Kwa JY, Nillesen WM, Neefs I, et al. Genomic microarrays in mental retardation: a practical workflow for diagnostic applications. Hum Mutat 2009; 30(3): 283-92.

91. Elektronik veritabanı: http://projects.tcag.ca/variation (Nisan 2012)

92. Elektronik veritabanı: http://decipher.sanger.ac.uk. (Nisan 2012)

93. Elektronik veritabanı: http://www.ecaruca.net. (Nisan 2012)

94. Elektronik veritabanı: http://www.ensembl.org. (Nisan 2012)

95. Elektronik veritabanı: http://www.affymetrix.com-usersmanual

96. Elektronik veritabanı: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) (Nisan 2012)

97. Elektronik veritabanı: http://www.omim.org (Nisan 2012)

98. Lybaek H, Meza-Zepeda LA, Kresse SH, Høysaeter T, Steen VM, Houge G. Array-CGH fine mapping of minor and cryptic HR-CGH detected genomic imbalances in 80 out of 590 patients with abnormal development. Eur J Hum Genet 2008; 16: 1318-28.

99. Liang JS, Shimojima K, Yamamoto T. Application of array-based comparative genome hybridization in children with developmental delay or mental retardation. Pediatr Neonatol 2008; 49: 213-7.

100. Bert B. A. de Vries, Rolph Pfundt, Martijn Leisink, David A. Koolen, Diagnostic Genome Profiling in Mental Retardation, Am J Hum Genet 2005; 77: 606–616.

101. Hanemaaijer NM, Sikkema-Raddatz B, van der Vries G, Dijkhuizen T, Hordijk R, van Essen AJ, et al. Practical guidelines for interpreting copy number gains detected by high-resolution array in routine diagnostics. Eur J Hum Genet 2012; 20 (2): 161-5.

102. Shing DC, Trubia M, Marchesi F, Radaelli E, Belloni E, Tapinassi C, et al. Overexpression of sPRDM16 coupled with loss of p53 induces myeloid leukemias in mice. J Clin Invest 2007; 117: 3696-707.

103. Kajimura S, Seale P, Kubota K, Lunsford E, Frangioni JV, Gygi SP, et al. Initiation of myoblast to brown fat switch by PRDM16/C/EBP-beta transcriptional complex. Nature 2009; 460: 1154-8.

104. Lee DK, George SR, Cheng R, Nguyen T, Liu Y, Brown M, et al. Identification of four novel human G protein-coupled receptors expressed in the brain. Molec. Brain Res 2001; 86: 13-22.

105. Callier P, Faivre L, Thauvin-Robinet C, Marle N, Mosca AL, D'Athis P, et al. Array-CGH in a series of 30 patients with mental retardation, dysmorphic features, and congenital malformations detected an interstitial 1p22.2-p31.1 deletion in a patient with features overlapping the Goldenhar syndrome. Am J Med Genet A 2008; 146A: 2109-15.

106. Sebat J, Lakshmi B, Troge J, Alexander J, Young J, Lundin P, et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. Science 2004; 23; 305 (5683): 525-8.

107. Aqeilan RI, Trapasso F, Hussain S, Costinean S, Marshall D, Pekarsky Y, et al. Targeted deletion of Wwox reveals a tumor suppressor function. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104 (10): 3949-54.

108. Cook EH, Jr Lindgren V, Leventhal BL, Courchesne R, Lincoln A, Shulman Cord C, et al. Autism or atypical autism in maternally but not paternally derived proximal 15q duplication. Am J Hum Genet 1997; 60: 928-34.

109. Burnside RD, Pasion R, Mikhail FM, Carroll AJ, Robin NH, Youngs EL et al. Microdeletion/microduplication of proximal 15q11.2 between BP1 and BP2: a susceptibility region for neurological dysfunction including developmental and language delay. Hum. Genet 2011; 130: 517-28.

110. Bera TK, Huynh N. Maeda H, Sathyanarayana BK, Lee B, Pastan I. Five POTE paralogs and their splice variants are expressed in human prostate and encode proteins of different lengths. Gene 2004; 337: 45-53.

111. Barber JC. Directly transmitted unbalanced chromosome abnormalities and euchromatic variants. J Med Genet 2005; 42 (8): 609-29.

112. Bhalla K, Luo Y, Buchan T, Beachem MA, Guzauskas GF, Ladd S, et al. Alterations in CDH15 and KIRREL3 in patients with mild to severe intellectual disability. Am J Hum Genet 2008; 83: 703-13.

113. Nomoto H, Yonezawa T, Itoh K, Ono K, Yamamoto K, Oohashi T, et al. Molecular cloning of a novel transmembrane protein MOLT expressed by mature oligodendrocytes. J Biochem 2003; 134: 231-8.

114. Inoue K, Lupski JR. Molecular mechanisms for genomic disorders. Annu Rev Genomics Hum Genet 2002; 3: 199–242.

115. Martin J, Han C, Gordon LA, Terry A, Prabhakar S, She X, et al. The sequence and analysis of duplication-rich human chromosome 16. Nature 2004; 432: 988–94.

116. Nagamani SC, Erez A, Bader P, Lalani SR, Scott DA, Scaglia F et al. Phenotypic manifestations of copy number variation in chromosome 16p13.11. Eur J Hum Genet 2011; 19 (3): 280-6.

117. Hannes FD, Sharp AJ, Mefford HC, de Ravel T, Ruivenkamp CA, Breuning MH, et al. Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant. J Med Genet 2009; 46 (4): 223-32.

118. Allderdice PW, Eales B, Onyett H, Sprague W, Henderson K, Lefeuvre PA, Pal G. Duplication 9q34 syndrome. Am J Hum Genet 1983; 35 (5): 1005-19.

119. Youngs EL, McCord T, Hellings JA, Spinner NB, Schneider A, Butler MG. An 18-year follow-up report on an infant with a duplication of 9q34. Am J Med Genet A 2010; 152A (1): 230-3.

120. Mizuno S, Fukushi D, Kimura R, Yamada K, Yamada Y, Kumagai T, Wakamatsu N. Clinical and genomic characterization of siblings with a distal duplication of chromosome 9q (9q34.1-qter). Am J Med Genet A 2011; 155A (9): 2274-80.

121. Gawlik-Kuklinska K, Iliszko M, Wozniak A, Debiec-Rychter M, Kardas I, Wierzba J, Limon J. A girl with duplication 9q34 syndrome. Am J Med Genet A 2007; 143A (17): 2019-23.

122. Kleefstra T, Brunner HG, Amiel J, Oudakker AR, Nillesen WM, Magee A, et al. Loss-of-function mutations in Euchromatin histone methyl transferase 1 (EHMT1) cause the 9q34 subtelomeric deletion syndrome. Am. J. Hum. Genet 2006; 79: 370-377.

123. Gijsbers AC, Bijlsma EK, Weiss MM, Bakker E, Breuning MH, Hoffer MJ, Ruivenkamp CA. A 400 kb duplication, 2.4Mb triplication and 130 kb duplication of 9q34.3 in a patient with severe mental retardation. Eur J Med Genet 2008; 51 (5): 479-87 .

124. Wang JT, Lin C-J, Burridge SM, Fu GK, Labuda M, Portale AA, Miller WL. Genetics of vitamin D 1-alpha-hydroxylase deficiency in 17 families. Am J Hum Genet; 63: 1694-702.

125. Cohn DH, Zhang X, Byers PH. Homology-mediated recombination between type I collagen gene exons results in an internal tandem duplication and lethal osteogenesis imperfecta. Hum Mutat 1993; 2: 21-27.

8. ÖZET

"Nedeni Açıklanmamış Mental Retardasyonu Olan Hastalarda Moleküler Karyotipleme Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Anomalilerin Araştırılması"

Mental retardasyon ve/veya konjenital anomaliler toplumda nadir görülen fakat etiyolojik spektrumu geniş olan bir hastalık grubudur. Yapısal kromozomal düzensizlikler; öğrenme güçlüğü, dismorfik yüz bulguları, çeşitli konjenital anomaliler, büyüme dengesizlikleri gibi bulgulara yol açan nedenler arasında önemli bir yere sahiptir. Bu düzensizliklerin ancak 5 Mb'dan büyük olanları konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Karyotipi normal saptanan hastalarda izlenecek algoritmada öncelikle subtelomerik veya lokus spesifik FISH yöntemi uygulanmaktadır. Yapılan analizleri normal fakat klinik bulguları kromozomal anomali düşündüren hastalarada, 3 Mb'dan küçük hatta kilobaz düzeyindeki değişikliklerin saptanmasında Array tabanlı yöntemler kullanılarak hastaların %10- 15'ine tanı verilebilmektedir. Sonuç olarak, yüksek çözünürlükte konvansiyonel sitogenetik ve moleküler sitogenetik teknikleri birleştiren mikroarray teknolojisi intersitisyel bölgelerde bulunan küçük delesyon ve duplikasyonların saptanmasına olanak sağlamaktadır.

Bu çalışma ile, sebebi açıklanamayan mental retardasyonu ve/veya konjenital anomalisi, gelişme geriliği olan, kromozom analizi ve subtelomerik FISH analizi normal bulunan 9 hasta "Genom Wide SNP 2.7 Array" ile taranarak

diğer yöntemler ile saptanamayan delesyon ve duplikasyonlar araştırılmış ve bir hastada muhtemel patojenik etmen bulunarak bu sistemlerin tanı gücü doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mental retardasyon, Mikroarray, Sitogenetik analiz

9. SUMMARY

"Investigation of Submicroscopic Chromosomal Anomalies on Patients with Idiopathic Mental Retardation with Molecular Karyotyping"

Mental retardation and/or congenital anomalies are rarely seen on general population, but have a large etiologic spectrum. Structural chromosomal abnormalities are one of the significant reasons of mental retardation, dysmorphism and congenital anomalies. Conventional cytogenetic techniques can only detect abnormalities greater than 5 Mb. In the diagnostic process there are locus specific or subtelomeric FISH analyses that can be performed on patients whose karyotype revealed as normal. If the clinical symptoms still make us think about chromosomal abnormality, array based methods can be useful to detect anomalies smaller than 3 Mb to kilobase levels with a ratio of % 10-15. As a result, small interstitial deletions and duplications could be detected with microarray technique that integrates conventional and molecular cytogenetic procedures.

In this study, 9 patients with idiopathic mental retardation and/or congenital anomaly, growth retardation and normal detected chromosome and subtelomeric FISH analyses, had been investigated for small deletions or duplications with "Genome Wide SNP 2.7 Array" and the diagnostic yield of these microarray technologies has been confirmed with detection of one causative anomaly on a patient.

Keywords: Mental retardation, Microarray, Cytogenetic analysis

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGiLER

Adı : Büşranur

Soyadı : ÇAVDARLI

Doğum Tarihi ve Yeri: 01.07.1983, Sivas

Eğitimi : 2007-2012 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'de Araş. Gör. Dr.

2001-2007 Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakultesi

1998-2001 Sivas Prof. Dr. Necati Erşen AÖL

1994-1998 Sivas Selçuk Anadolu Lisesi

1989-1994 Sivas- Hafik YİBO

Yabancı Dili : İngilizce

Üye Olduğu

Bilimsel kuruluşlar : Tıbbi Genetik Derneği

Bilimsel Etkinlikleri

Tamamlanmış Projeler:

2010- 2012"Nedeni Açıklanmamış Mental Retardasyonu Olan Hastalarda Moleküler Karyotipleme Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Anomalilerin Araştırılması"

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi. Araştırıcı

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1) Egritas O, Cavdarli B, Dalgic B, Ergun MA, Percin F, Ziegler M, Pohle B, Liehr T. Duplication 4q associated with chronic cholestatic changes in liver biopsy. Eur J Med Genet. 2010; 53(6): 411-4.
2) Cavdarlı B, Kayhan G, Karaoguz MY, Ergün MA, Biri AA, Percin EF. Molecular Karyotyping of an Isolated Partial Trisomy 11q Patient with Additional Findings. GENE-D-12-00232. Accepted May 2012.
3) Tug E, Cavdarli B, Karaoguz MY, Percin EF. A Patient With 9q Subtelomeric Deletion Syndrome With Additional Finding. Genet Couns. Accepted May 2012.

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1) Cavdarli B, Ozgen G, Göker B, Liehr T, Ergun MA, Percin EF. A Case With Double Translocation And Sjogren Syndrome. Türkiye Klinikleri- kabul edildi.

Ulusal bilimsel toplantılarda bildiri kitaplarında basılan sözlü sunumlar:

1) Cavdarli B, Karaer K, Percin E.F. Five Cases With FGFR Related Craniosynostosis Syndromes. IV. Dysmorphology Days, Taksim, 2009, İstanbul.

2) Cavdarli B, Percin E.F. A case with Joubert Syndrome. V. Dysmorphology Days, Taksim, 2009, İstanbul.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler:

1) Percin EF, Li Y, Cavdarli B, Wollnik B. Perrault syndrome: Evidence for genetic heterogeneity and whole-exome sequencing to identify novel molecular mechanisms. P12.193 – ESHG 2012.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Çavdarlı B, Karaer K, Ünlüsoy A, Perçin EF. Anhidrozisli konjenital ağrı duyarsızlığı. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi Çanakkale 06-09 Mayıs 2008. Kongre Bildiri Kitabı, s: 248 (İkincilik Ödülü)

2. Çavdarlı B, Karaer K, Ergün MA, Perçin EF. Weill Marchesani Sendromlu Bir Olgu. Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu, Bolu-Abant, 2009, Sempozyum Bildiri Kitabı, s: 93 (Birincilik Ödülü)

3) Odul E, Cavdarli B, Buket D, Ergun MA, Percin EF, Ziegler M, Pohle B, Liehr T. A Case With Partial Trisomy 4q (q25-qter). 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 1-5 Aralık 2010, İstanbul. Clinical Genetics

4) Cavdarli B, Karaoguz MY, Percin EF, Kaymak AO, Biri A. The First Prenatal Case of Partial Trisomy 11q Derivated From Jumping Translocation. 9. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi, 2010, İstanbul. Clinical Genetics

Katıldığı Kurslar:

1.Fetal-Prenatal Tanı Kursu, 2010, Nisan, Ankara

2.FISH kursu, 2010, Eylül Eskişehir

11. EKLER

EK 1.

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KURUMSAL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU
GAZİ UNIVERSTY MEDICAL FACULTY INSTITUTIONAL REVIEW BOARD
ANKARA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL ADI	"Nedeni Açıklanmamış Mental Retardasyonu Ola Hastalarda Moleküler Karyotipleme Yöntemi İle Submikroskobik Kromozomal Anomalilerin Araştırılması"
	SORUMLU ARAŞTIRICI UNVANI, / ADI	**Prof.Dr.E.Ferda Perçin**
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	**Belge Adı**	**Tarihi / değişiklik No.su** / **Dili Türkç**
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:**057**	**Tarih: 23 Haziran 2010**

Üniversitemiz Tıp Fakültesinde yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kay araştırma projesine ait dosya etik açıdan incelenmiş, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım yöntemler yönünden bütçe dışında uygun olduğuna karar verilmiştir.

Komisyonun kararı, projenin bütçesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafınd kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Komisyonumuza bildirilm gerekmektedir.

KURUMSAL ARAŞTIRMA DEĞERLENDİRME KOMİSYONU BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	**İYİ KLİNİK UYGULAMALAR KILAVUZU (2010 Versiyonu), BİYOETİK SÖZLEŞMESİ, KLİNİK ARAŞTIRMALAR HAKKINDA YÖNETMELİKTE DEĞİŞİKLİK YAPILMASINA DAİR YÖNETMELİK(11 Mart 2010 tarih ve 27518 say**

ÜYELER

Ünvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)		Katılım (**)		İmza
Prof.Dr.Aynur OĞUZ BAŞKAN	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları- Çocuk Onkoloji	G.Ü.T.F Çocuk Sağ.ve Hast.A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN YRD.	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F Halk Sağlığı A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Çağatay ÇİFTER ÜYE	Genel Cerrahi	G.Ü.T.F Genel Cerrahi A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Aysel ARICIOĞLU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	K		E		E	Katılmadı
				x	H	X	H	
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Öznur L. BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji	G.Ü.T.F Radyoloji A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT ÜYE	Fizyoloji	G.Ü.T.F Fizyoloji A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Prof.Dr.Galip GÜZ ÜYE	İç Hastalıkları - Nefroloji	G.Ü.T.F İç Hast A.D-Nefroloji B.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik	G.Ü.T.F Tıp Tarihi ve Etik A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D.	K		E	xx	E	
				x	H		H	
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E		E	xx	E	
				x	H		H	
Hukuk Müşaviri Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşaviri	G.Ü.Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E		E		E	Katılmadı
				x	H	X	H	

* Araştırma İle İlişki
** Toplantıda Bulunma