

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEKA GERİLİĞİNE NEDEN OLAN DELESYON VE DUPLİKASYONLARIN
TAM GENOM MİKROARRAY METODUYLA BELİRLENMESİ**

Deniz SÜNNETÇİ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

KOCAELİ
2010

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ZEKA GERİLİĞİNE NEDEN OLAN DELESYON VE DUPLİKASYONLARIN
TAM GENOM MİKROARRAY METODUYLA BELİRLENMESİ**

Deniz SÜNNETÇİ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Programı için Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışmanlar: Yard. Doç. Dr. Naci ÇİNE, Doç. Dr. Bülent KARA

KOCAELİ
2010

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tez Adı: **Zeka Geriliğine Neden Olan Delesyon Ve Duplikasyonların Tam Genom Mikroarray Metoduyla Belirlenmesi**

Tez yazarı: Deniz SÜNNETÇİ

Tez savunma tarihi: 14.06.2010

Tez Danışmanı: Naci ÇİNE, Bülent KARA

İşbu çalışma, jürimiz tarafından Tıbbi Genetik ve Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ		İMZA
ÜNVANI	ADI SOYADI	
BAŞKAN:		
ÜYE(DANIŞMAN):		
ÜYE:		
ÜYE:		
ÜYE:		

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../200..

Prof.Dr. Ümit BİÇER

Enstitü Müdürü

Özet

Zeka Geriliğine Neden Olan Delesyon ve Duplikasyonların Tam Genom Mikroarray Metoduyla Belirlenmesi

Zeka geriliği (Mental retardasyon) en sık görülen gelişimsel bozukluklardan biridir. Mental retardasyonun prevalansı yaklaşık %1-3 olarak kabul edilmektedir. Mental retardasyonun, doğumsal travmalar ve enfeksiyonlar gibi çevresel nedenleri ile 1000'den fazla bilinen genetik nedeni bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, mental retarde bireylerin büyük çoğunluğunda spesifik bir neden tanımlanamamaktadır.

Bu çalışmada, mental retarde bireylerde tüm genom taranarak kromozom hasarlarını saptamak amaçlanmıştır.

Çalışmamızda cinsiyet farkı gözetmeksizin, 0-18 yaş arası 52 mental retarde bireyden alınan periferik kan örnekleri DNA düzeyinde array-CGH yöntemiyle incelenerek, genetik hasarların en çok hangi moleküler bölgelerde yer aldığı taranmıştır. aCGH çalışmaları sonucunda; 38 (% 73) hastada genomun çeşitli bölgelerinde çeşitli boyutlarda aberasyonlar saptanmıştır. 14 (% 27) hastada ise herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır. Non-sendromik mental retarde hastaların 7'sinde (% 70), mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları olan hastaların 22'sinde (% 78.6), mental retardasyona eşlik eden epilepsi hastalarının 7'sinde (% 87.5) ve mental retardasyona eşlik eden epilepsili ve dismorfizimli hastaların 2'sinde (% 33.3) genomun çeşitli yerlerinde farklı boyutlarda aberasyonlara rastlanmıştır. En sık görülen aberasyon hemen hemen her hastada farklı boyutlar sergileyen 16p11.2 bölgesindeki delesyon olmuştur (toplam 52 hasta arasından 15 kişide görülmüştür).

Tam genom analizi üzerinde gerçekleştirilen bu çalışma ile mental retardasyon açısından yeni tanısal-genetik ve patognomonik belirteçler elde edilebilir. Verilerin verifikasyonu ve aynı bölgelere ait gen anlatım ve proteomiks çalışmaları, mental retardasyonun patogenezi mekanizması açısından önemli ipuçları sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: Mental retardasyon, delesyon, duplikasyon, mikroarray, CGH array

Abstract

Detection Of Deletions And Duplications That Cause Mental Retardation

By Whole Genome Microarray Method

Mental retardation is one of the most common developmental disorder. Prevalence of mental retardation is accepted as %1-3 percent of population. There are environmental factors like birth trauma and infections and over 1000 genetic causes for mental retardation. Besides this, in the majority of mentally retarded individuals a specific cause can not be identified.

Aim of this study was to determine chromosomal aberrations in patients with mental retardation by scanning whole genom.

In our study, regardless of the gender gap peripheral blood samples were taken from 52 individuals between the ages of 0-18 with mental retardation and the molecular regions of most genetic damages were detected on DNA level using array-CGH method. In aCGH studies, aberrations with various sizes were detected in various regions of the genome on 38 (73%) patients. No aberrations were found in 14 (27%) patients. Aberrations with different sizes were found in different parts of the genome on 7 (70%) of non-syndromic mental retardation patients, 22 (78.6%) of patients with mental retardation associated with dysmorphic findings, 7 (87.5%) of patients with mental retardation accompanied by epilepsy and 2 (33.3%) of patients with mental retardation associated with epilepsy and dismorphism. The most frequent aberration seen in almost all patients (were seen totally in 15 people through 52 patients) was deletion of 16p11.2 with different sizes.

By this study performed on whole genome analysis, new diagnostic-genetic and pathognomonic markers can be obtained in terms of mental retardation. Verification of data belonging to the same regions by gene expression and proteomics studies may provide important clues for mental retardation mechanism.

Keywords: Mental Retardation, deletion, duplication, microarray, CGH array

Teşekkür

Bilimin kapılarını aralayıp bana genetik alanında çalışma fırsatı veren, bilimsel konulardaki engin bilgisi ile iyi bir öğretici olan ve hayata dair konularda manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam Yard. Doç. Dr. Hakan SAVLI'ya; genetik biliminin karmaşıklığı içerisinde kaybolduğum zamanlarda genetiği en yalın haliyle sabırla öğreten, en yoğun olduğu anlarda bile sıkıntılarımı dinleyip bana yol gösteren değerli danışman hocam Yard. Doç. Dr. Naci ÇİNE'ye; Çocuk Nörolojisi alanında bilgili, özverili, paylaşımcı ve mükemmel bir klinisyen olan değerli hocam Doç. Dr. Bülent KARA'ya; yüksek lisans süresince büyük bilgi birikimlerini sabırla ve tüm içtenlikleriyle paylaşan hocalarım Doç. Dr. Murat KASAP ve Doç. Dr. Kemal BAYSAL'a; hastaların klinik değerlendirilmesinde yardımcı olan, her alanda hiçbir desteğini benden esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Esen ULAK GÜMÜŞLÜ'ye; tezde yer alan deneylerin gerçekleştirilmesinde tüm yardımseverliğiyle yanımda olan arkadaşım Uzm. Biyolog Nilüfer ÜZÜLMEZ'e; hastaların değerlendirilmesinde sitogenetik alanındaki engin bilgileriyle yardımcı olan arkadaşlarım Uzm. Biyolog Seda EREN ve Biyolog Buket ENGÜZEL'e; başta Nevin ÇALIK olmak üzere çalışma hayatımın her anında yardımlarını esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma; doğduğumdan bu yana hayatımın her anında koşulsuz yanımda olan ve beni destekleyen, en değerli hazinem AİLEM'e sonsuz teşekkürler...

Saygılarımla

Deniz SÜNNETÇİ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mental Retardasyon	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Sınıflandırma	6
2.1.4. Mental Retardasyon ile Birlikte Bulunan Engeller ve Psikiyatrik Bozukluklar	7
2.1.5. Etiyoloji	10
2.2. Mental Retardasyona Neden Olan Genetik Sebepler	14
2.2.1. Kromozomal Anomaliler	14
2.2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri	14
2.2.1.2. Parsiyel Kromozom Anomalileri	15
2.2.1.3. Sitogenetikle Görülemeyen Mikrodelesyonlar	16
2.2.1.3.1. İnterstisyel Delesyonlar	16
2.2.1.3.2. Subtelomerik Delesyonlar	16
2.2.2. Monogenik sebepler	17
2.2.2.1. Otozomal Dominant Mental Retardasyon	17
2.2.2.2. Otozomal Resesif Mental Retardasyon	18
2.2.2.3. X'e Bağlı Mental Retardasyon	18
2.2.3. Mitokondrial Mental Retardasyon	18
2.2.4. Poligenik Mental Retardasyon	19
2.3. Mental Retardarda Çocuklarda İnceleme	19
2.3.1. Laboratuvar İncelemeleri	20
2.4. Mental Retardasyon Olgularının Genetik Nedenlerinin İncelenmesi	21

2.4.1. Mikroarray'ler	21
2.4.1.1. DNA Mikroarray'leri	21
2.4.1.2. Mikroarray'in Tarihçesi	22
2.4.1.3. Mikroarray Teknolojisinin Prensipleri	22
2.4.1.4. Mikroarray'lerin Kullanım Alanları ve Tipleri	23
2.4.1.5. Mikroarray'lerin Üretimi	28
2.4.1.5.1. Yüzey Mühendisliği	28
2.4.1.5.2. Noktalı Ve Oligonükleotid Array'ler	28
2.4.2 Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (aCGH) Teknolojisi	30
2.4.3. aCGH Metodolojisi	33
2.4.4. aCGH Teknolojisinin Avantaj ve Dezavantajları	35
2.4.5. aCGH İLE Spesifik Kromozomal Bölgelerin Çalışılması	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Yöntem	37
3.1.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	38
3.1.2. DNA'ların Kantite ve Kalite Tayini	39
3.1.3. aCGH Metodu	39
3.1.3.1 DNA'nın İşaretlenmesi	40
3.1.3.1.1. DNA'NIN Pürifikasyonu	41
3.1.3.1.2. Örneklerin Kurutulması	41
3.1.3.2 Hibridizasyon	41
3.1.3.3 Yıkama	44
3.1.3.4 Tarama	45
3.1.4. Veri Analizi	47
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR DİZİNİ	69
ÖZGEÇMİŞ	75

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CNV: Copy Number Variation

Mb: Megabaz

Kb: Kilobaz

aCGH: array based Comperative Genomic Hybridization

PZR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

FISH: Fluorescence In Situ Hybridization

DLRS: Deriverative Log Ratio Spread

IQ: Intelligence Quotient

AAMR: American Association on Mental Retardation

ICD-10: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems-10

AAMD: American Association on Mental Deficiency

HRBT: high-resolution banding technique

US: Ultrasonografi

BBT: Bilgisayarlı Beyin Tomografisi

MRI: Magnetic resonance imaging

CGH: Comperative Genomic Hybridization

WISC-R: Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised

ULS: Universal Linkage System

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

GDO: Genetiği Değiştirilmiş Organizma

LOH: Loss Of Heterozygosity

CESH: Comparative Expressed Sequence Hybridisation

XLMR: X Linked Mental Retardation

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.2.1. Mental retardasyona sebep olan koşulların dağılımı	10
Şekil.2.2. Bir mikroarray çalışmasında gerekli olan basamaklar	23
Şekil.2.3. İnk-jet baskılama yöntemi ile oligo sentezinin genel mekanizması	30
Şekil 2.4. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH) metodolojisi	33
Şekil.3.1. NanoDrop ND-1000	39
Şekil.3.2. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide	42
Şekil 3.3. Syndrome Plus ISCA Design (v2) slide ve gasket slide	43
Şekil 3.4. Gasket slide'ın Hibridizasyon chamber üzerine yerleştirilmesi	43
Şekil 3.5. Agilent Hibridizasyon Fırını	44
Şekil.3.6. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide'ın yıkanması	45
Şekil.3.7. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide'ın tarayıcı Kasetlerine yerleştirilmesi	45
Şekil.3.8. Slide taşıyan kasetlerin tarayıcıya yerleştirilmesi	46
Şekil.3.9. Agilent Mikroarray Tarayıcısı G2505B Modeli.....	47
Şekil 4.1. Smith-Magenis sendromuna neden olan 17p11.2 delesyonu	59
Şekil 4.2. diGeorge/VCF sendromuna neden olan 22q11.21 delesyonu	60
Şekil 4.3. Mowat Wilson?/ Hirschsprung Disease Plus'a neden olan 2q22.3 Duplikasyonu	60
Şekil 4.4. X'e bağlı mental retardasyona neden olan Xq27.1 delesyonu	61
Şekil 4.5. 5q13.3-q14.1 , 5q14.3-q15 ve 5q15 bölgelerinde delesyonlar	61
Şekil 4.6. 9p23-p22.3 bölgesinde delesyon	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge.2.1. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre zeka seviyesinin sınıflandırılması	6
Çizelge.2.2. Mental retardasyon nedenleri	10
Çizelge.2.3. Ağır ve hafif mental retardasyon nedenleri.....	13
Çizelge.2.4. Mental retardasyona neden olan genetik sebepler	14
Çizelge.2.5. Mikroarray Teknolojileri ve Uygulamaları	24
Çizelge.2.6. Mikroarray uygulamaları ve prob/hedef tipleri	27
Çizelge.2.7. Ticari Mikroarray Tipleri	27
Çizelge.2.8. Array CGH, FISH ve Karyotip analizinin teknolojik açıdan karşılaştırılması	32
Çizelge.4.1. Dismorfik bulguların hastalar üzerindeki dağılımı	50
Çizelge.4.2. Çizelge. 52 mental retarde bireye ait özellikler	51
Çizelge.4.3. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon (Non-sendromik) olan 10 hastadan elde edilen veriler.....	52
Çizelge.4.4. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm olan 28 hastadan elde edilen veriler.....	53
Çizelge.4.5. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Epilepsi olan 8 hastadan elde edilen veriler	56
Çizelge.4.6. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm + Epilepsi olan 6 hastadan elde edilen veriler	57
Çizelge.4.7. Dismorfik bulguları bilinen hastalarda aCGH ile saptanan aberasyonların Dağılımı.....	58

1. GİRİŞ

Mental retardasyon en sık görülen gelişimsel bozukluklardan biridir. Amerikan Mental Retardasyon Birliği (AAMR) tarafından “genel entelektüel işlevlerin anlamlı olarak normalden düşük olmasına ek olarak uyumsal becerilerden en az ikisinde (iletişim, kendine bakım, sosyal beceriler, akademik beceriler, iş, kendi kendine karar verme, boş zaman meşguliyetleri, sağlık ve/veya güvenlik) anlamlı kısıtlılıklar olması ve bu sorunların 18 yaşından önce başlamış olması şeklinde tanımlanmıştır. Mental retardasyon tanısında sıklıkla zeka bölümü (IQ) sayısal değeri kullanılmaktadır. Buna göre mental retardasyon için eşik değer AAMR tarafından 70-75, The American Psychiatric Association Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) tarafından 70 olarak önerilmiştir.

Mental retardasyonun bilinen genetik nedenleri 1000'den fazladır. Genetik teknikler ilerledikçe bu sayının artması beklenmektedir. Mental retardasyonun diğer nedenleri arasında çevresel nedenler ve etyolojisi belirlenmeyenler yer almaktadır .

Genetik çevresel ve kişisel yaşam tecrübeleriyle birlikte kognitif potansiyelin en önemli belirleyicisidir. IQ düzeylerindeki değişkenliklerin en az %50'sinin genlerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Farklı genlerin rolü olduğu ve her birinin farklı etkileri olduğu varsayılmaktadır (kantitatif özellikler lokusu). Çevresel deneyimlerin zamanlaması, yoğunluğu ve tipi genetik potansiyeli etkileyebilmektedir. Bu faktörler biyolojik (beslenme, kurşun, prenatal alkol maruziyeti, hipoksi, vb) veya sosyal (fakirlik, uyaran yoğunluğu, beslenme, annenin eğitim düzeyi, vb) olabilir.

Klinik başvuru mental retardasyonun derecesiyle ters orantılıdır. Bununla birlikte, dismorfik bulguların varlığında sütçocukluğu döneminde de mental retardasyondan kuşkululanabilir. Çoğu çocukta ağır mental retardasyon bulguları ilk 2 yıl içinde belirgin global gelişimsel gerilik nedeniyle farkedilir. Hafif ve orta mental retardasyon tanısı ise 3-4 yaşa kadar gecikebilir. En sık başvuru nedeni konuşmanın gecikmesidir.

Aşağıdaki gelişimsel gecikmelerin varlığı anormal kabul edilmeli ve hızla değerlendirilmelidir:

- 6 aya kadar seslere yönelmeme
- 9 aya kadar anlaşılmaz seslerin çıkarılamaması
- 13 aya kadar adıyla seslenildiğinde bakmama
- 18 aya kadar parmakla göstermenin başlamaması

- 24 aya kadar 10-25 tek kelimenin olmaması
- 26 aya kadar iki kelimeli cümlelerin başlamaması
- 36 aya kadar 3 kelimeli cümlelerin başlamaması
- 36 aya kadar anlamlı, işlevsel konuşmanın başlamamış olması
- Herhangi bir yaşta dil gelişiminde gerileme

Mental retardasyon tanısının birbirinden farklı ve bağımsız iki bölümü vardır: 1)AAMR ya da DSM-IV-TR ölçütlerine göre klinik olarak mental retardasyon tanısının konması, 2)altta yatan özgül medikal sorunun araştırılması. Fizik muayenede saptanan dismorfik özellikler (Down sendromu, 5p delesyonu, vb) ya da davranış bozuklukları (Williams sendromu, Rett sendromu, Angelman sendromu, vb) özgül tanının konmasına yardımcı olabilir.

“Online Mendelian Inheritance in Man” bilgi bankasında mental retardasyon ile birliktelik gösteren 1200'den fazla genetik bozukluk ve 250'den fazla mental retardasyon ile ilişkili gen kayıtlıdır. Genetik bozuklukların tanısında kullanılan yöntemler son yıllarda çok artış göstermekle birlikte, çoğu sadece bazı gelişmiş laboratuvarlarda yapılabilmektedir. Down sendromu rutin kromozom çalışmasında kolaylıkla gösterilebilmektedir. Delesyon, inversiyon, translokasyon, duplikasyon gibi daha gizli kromozom anomalilerini gösterebilmek için yüksek rezolüsyonlu (en az 500 band) kromozom analizi gereklidir ve etyolojisi aydınlatılmamış tüm mental retardasyon olgularında temel laboratuvar incelemesidir. Belirli bir sendrom şüphesi olduğunda bölgeye özgül problama yöntemleri (FISH) kullanılabilir. Son yıllarda subtelomerik FISH incelemesiyle genden zengin subtelomerik bölgenin daha ayrıntılı incelenmesi ve bu bölgedeki delesyon ve yeniden düzenlenmelerin gösterilebilmesi mümkün hale gelmiştir. Tüm genomun incelenebildiği “mikroarray” yöntemi ise yüksek rezolüsyonlu kromozom analizi ve subtelomerik FISH ile tanı konamayan yaklaşık %5 kadar olguda etyolojinin aydınlatılmasına yardımcı olabilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MENTAL RETARDASYON

2.1.1. Tanım

Zeka Geriliği (Mental Retardasyon- MR) sıkça görülen ve tanı koymak için çoğu zaman çok sayıda araştırma yapılan klinik bir durumdur (Çoğulu ve ark., 2006). Mental retardasyon ve diğer nörogelişimsel engellilikler genel pediatrik uygulamada sık sık görülmektedir. Populasyonun yaklaşık olarak %10'unda öğrenme güçlüğü, %3'ünde de çeşitli derecelerde mental retardasyon gözlenmektedir. Bu rakamlar, öğrenmeyle ilgili bozuklukların, çocukluk çağı hastalığı olan astıma rakip olduğunu göstermektedir. Ayrıca başka rahatsızlıklarla kıyaslanacak olursa serebral felçten 10 kat, nöral tüp defektlerinden 28 kat, körlükten 25 kat daha sık karşılaşılan bir durumdur (Çoğulu ve ark., 2006).

Mental retardasyon bir hastalık, sendrom ya da bozukluk değildir (Çoğulu ve ark., 2006). Mental retardasyonu tanımlamak çoğu zaman sorun olmuştur. Bunun nedeni bilim adamlarının zekayı tam olarak neyin oluşturduğu konusunda halen fikir birliğine varamamalarıdır. Uzmanların çoğu zekayı "bilişsel yetenek" olarak düşünürken, bazıları da "gerçek yaşamda karşılaşılan sorunları çözme" şeklinde tanımlamaktadır. Zeka, "amaca yönelik uyumsal davranış" olarak da açıklanabilir. Son yıllarda bilişsel zekadan ayrı olarak sosyal zeka ve bunun alt kümesi olan duygusal zeka kavramlarının da ileri sürülmesi tanımlamayı daha karmaşık hale getirmiştir. Günümüzde zeka hem bilişsel yetenek hem de toplumsal uyum ölçütlerini kapsayacak şekilde tarif edilmektedir.

Çağımızda mental retardasyon anlamında "zeka yetersizliği", "zeka özürü", "normal altı zeka", "oligofreni" ve yakın zamanda "gelişimsel engellilik" ve "gelişimsel gecikme" gibi terimler kullanılmaktadır. A.B.D.'de 1970'den beri kullanılan "gelişimsel özürlülük" (Developmental Disability) terimi ise, mental retardasyon, serebral palsi, otizm ve mental retardasyon ile yakından ilişkisi olan diğer nörolojik bozukluklar gibi ileri derecede ve süregelen zihinsel ve fiziksel bozuklukları tanımlamak için kullanılmaktadır (genbilim.com).

Amerikan Mental Retardasyon Birliği (AAMR) tarafından 2002 yılında yapılan ve genel olarak kabul edilen mental retardasyon tanımı; "zihinsel işlevsellik ve uyumlu davranışlar ile kavramsal, sosyal, pratik ve uyumsal becerilerde ciddi sınırlılık ile karakterize yeti yitimi" şeklindedir. Bu yeti yitimi 18 yaşından önce belirir ve bireyin işlevsel olma kapasitesinde, işlevsel olma yeteneğinde (örn, etkinlik ile ilgili sınırlılıkları) ve işlevsel olma olanaklarında (örn, katılım sınırlılıkları) ortaya çıkan sorunlarla kendini

gösterir. Bu tanım Hastalıkların Uluslararası Sınıflandırılması onuncu baskısında yer alan tanım ile (ICD-10) de aynıdır (Güzel E., 2009).

Amerikan Zeka Yetersizliği Birliği (American Association on Mental Deficiency, AAMD)'nin mental retardasyon için yaptığı tanımlamaya göre ise, mental retardasyon; gelişim döneminde meydana gelen, uyumsal davranıştaki bozukluklarla birlikte bulunan ortalamanın altındaki zeka işlevidir. Bu tanım mental retardasyonda, şimdiki uyum sorununu ve işlevsellikteki sınırlılığı şart koşar. Ortalamanın altındaki zeka işlevi ile birlikte iletişimde, kendine bakımda, evdeki yaşamda, sosyal becerilerde ve toplumsal yararlılıkta, kendini yönlendirmede, sağlığı korumada, akademik işlevsellikte ve çalışma alanında iki veya daha fazla bozukluğun olması öngörülür (genbilim.com).

Amerikan Psikiyatri Birliği (American Psychiatric Association) mental retardasyonu; ölçülen IQ değerinin 70 veya altında olması, öğrenme ve sosyal uyum ile ilgili sorunlar, 18 yaşından önce başlayan belirtiler kombinasyonu şeklinde tanımlamaktadır.

2.1.2. Epidemiyoloji

Son 50 yılda mental retardasyon yaygınlığını ve insidansını; mental retardasyon tanımındaki değişimler, tıbbi bakım ve teknolojideki gelişmeler, mental retarde bireyin tedavisi ve kabulüne ilişkin toplumsal tutum, yetersizliği olan çocukların doğumdan 21 yaşına kadarki eğitim süreçleri etkilediği görülmektedir. Mental retardasyon yaygınlığının belirlenmesinde kullanılan teorik yaklaşım, IQ değeri belirli değer altında seyreden bireylerin sayısını saptayan normal çan eğrisidir. Tahminlere göre insan popülasyonunun %1-3'ünün IQ seviyesi 70'in altında seyretmektedir (Curry ve ark., 1997; Roeleveld ve ark., 1997; Croen ve ark., 2001). İngiltere popülasyonunun % 2.3'ünün IQ değeri 70'in altında seyretmekte, % 5.5'inin ise IQ değerleri 75'in üzerinde bulunmaktadır. Buna rağmen, bu tahmin adaptif davranış becerilerini açıklamamaktadır.

Son epidemiyolojik çalışmalardan birinde total popülasyon temel alındığında mental retardasyon yaygınlığının yaklaşık olarak % 1.25 olduğu bildirilmektedir (McLaren ve Bryson., 1987). Okul çağı çocukları yaygınlık istatistiği kaynağı olarak ele alındığında, her bir devlet oranlarını özel eğitim servisi uygunluğunu, uygunluk süreci içerisinde saptanan özellikleri (örneğin, gelişim geriliği, öğrenme yetersizliği, otizm,ve/veya mental retardasyon) ve devlet içerisindeki çevresel ve ekonomik koşullarını belirlemede kullanılan kriterlere göre % 0.3'- %2.5 olarak bildirmektedir (U.S. Department of Education, 1994). Bu çocukların yaklaşık %89'unda hafif mental retardasyon, %7'sinde orta derecede mental retardasyon ve %4'ünde de ağır mental retardasyon olduğu düşünülmektedir. Bununla

birlikte mental retardasyon yaygınlığının yaklaşık olarak 20 yaşına kadar yaşla birlikte belirgin olarak erkek çocuklarında kız çocuklarına göre daha çok artacağı bildirilmektedir (McLaren ve Bryson., 1987).

Mental retardasyona Amerika popülasyonunun %1.6-3'ünde rastlanmaktadır. Aberdeen, İskoçya'da yürütülen bir çalışmada ağır mental retardasyonun 300 kişide 1, hafif mental retardasyonun ise 77 kişide 1 görüldüğü bildirilmektedir. Kadınlara oranla erkeklerde ağır mental retardasyon daha fazladır (erkek/kadın oranı 1.2:1), yine hafif mental retardasyon erkek çocuklarında kız çocuklarına oranla daha sık görülmektedir (erkek/kadın oranı 2.2:1).

Mental retardasyon görülme sıklığının erkekler arasında fazla olmasının nedenleri olarak şunlar ileri sürülmektedir: Erkekler, merkezi sinir sisteminde hasar meydana getiren dış etmenlere daha dayanıksız görülmekte ve bu nedenle zihinsel gelişimleri etkilenmektedir. Erken doğum, yenidoğan ölümü ve ölü doğum gibi doğmalık anomaliler erkek çocuklarda daha sıktır. X'e bağlı mental retardasyon gibi kalıtsal etmenler erkeklerde fazladır. Erkek çocuklar engellenmelere kızlardan daha fazla saldırganlıkla cevap verirler. Bundan dolayı, okul öncesinde ve ilkokulda yönetici ve öğretmenlerin bu gibi sorunlu erkek çocuklarla karşılaşma olasılığı ve bunların ruhsal ve zihinsel değerlendirilmeleri için uzmanlara gönderilmeleri daha sıktır.

Yaygınlık oranları ülkeden ülkeye değişmekle birlikte, yaygınlık değişkenliği sapmalara, standartizasyon metodlarına ve zaman içinde IQ skorlarında meydana gelen yukarı sapmalara bağlı olabilmektedir. Böyle bile olsa, yaygınlık istatistiklerindeki en büyük varyans sapmaların geniş olduğu hafif mental retardasyon kategorisinde bulunduğu muhtemeldir.

Genel popülasyondaki %0.8'inde mental retardasyon gözlenen bireylerde şizofreni görülme oranı da %3'tür.

Değişik ülkelerde farklı şekilde yapılan araştırmalarda toplumun %1-4 oranında eğitimden yararlanma düzeyi düşük kitlelerden oluştuğu, %6-9 oranda ise normal eğitim sistemi içinde ancak özel bir tutumla başarılı olabilecekleri saptanmıştır. Mental retardasyon vakalarının % 75'i hafif, % 10'u orta, % 5'i ise ağır gruba girer. Bu dağılım yaşa, sosyo-ekonomik faktörlere ve kültürel yapıya göre değişkenlik gösterir. Uyarı yoksunluğu, proteinden yetersiz beslenme ve öğrenim güçlüğüne neden olabilen yaşam koşulları nedeniyle sosyoekonomik düzeyi düşük gruplarda hafif mental retardasyon oranı yüksektir. Ancak yine de biyolojik yapının bir dereceye kadar hafif mental retardasyon

gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Orta ve ağır mental retardasyon ise, toplumun her sosyoekonomik kesiminde aynı oranda görülmektedir.

Ülkemizde ise mental retardasyonun görülme sıklığı yada yaygınlığına ilişkin yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır.

2.1.3. Sınıflandırma

Mental retardasyonun derecesi zeka katsayısı (ZK =Intelligence Quotient =IQ= ZB) ile belirlenir. Zeka katsayısı çocuğun içinde yaşadığı toplum için standartlaştırılmış testlerle değerlendirilerek aynı yaştaki çocuklarla karşılaştırılmasıdır. Ölçülebilen zeka yaşı / gerçek yaş x 100 formülüyle gösterilir. Buradan elde edilen sonuçlar kesin değerler olmayıp çocuğun eğitimden faydalanabilme yeteneğinin kaba bir göstergesidir.

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)'ne göre zeka seviyesinin sınıflandırılması Çizelge.2.1'de gösterilmektedir.

Çizelge.2.1. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre zeka seviyesinin sınıflandırılması

Deha	130 ve üzeri
Parlak zeka	120-129
Üstün zeka	110-119
Normal zeka	90-110
Donuk normal zeka	80-89
Sınır Mental retardasyon	70-79
MENTAL RETARDASYON	69 ve altı
Hafif Mental retardasyon	52-69
Orta derecede Mental retardasyon	36-51
Ağır Mental retardasyon	20-35
Derin Mental retardasyon	20'den daha düşük

Normal ortalama 90-110 olarak kabul edilmektedir. Hiçbir çocuk en az üç ay arayla yapılan iki ayrı IQ testinden 70'in altında puan almadıkça mental retardasyon olarak isimlendirilmemelidir. Genellikle iki yaş öncesi çocuğun zeka katsayısından bahsetmemek gerekmektedir. Çünkü yaşamın ilk iki yılı içinde bu testlerde kötü performans gösteren bir

çocuk, uygun şartlarda dört yaşına kadar bu geriliği kapatabilmektedir (Okan ve ark., 2005).

Mental retardasyonun değerlendirilmesinde standartize zeka ölçüm testleri kullanılır. Çağdaş zeka testleri genel olarak ezberlenmiş bilgi, algısal-motor (Gestalt) yetenekler ve mantıksal işlemler gibi şeyleri ölçer. Bu testlerin en önemli özelliği baskın kültürü temsil eden nüfusun normlarına uygun olmasıdır. Çocuk psikiyatrisinde, 4-6 yaş çocukları için “Wechsler Okul Öncesi ve Birinci Sınıf Zeka Ölçeği” (Weschler Preschool and Primary Scale of Intelligence, WPPSI) ve 6-16 yaş çocukları için “Weschler Çocuklar için Zeka Ölçeği” (Weschler Intelligence Scale for Children, WISC) en sık kullanılanlardır. Ayrıca, 2-18 yaş grubu için “Stanford-Binet Zeka Ölçeği” de kullanılır. Erişkinlere ise “Wechsler Erişkin Zeka Ölçeği” (Weschler Adult Intelligence Scale, WAIS) uygulanmaktadır (genbilim.com).

Mental retardasyon, dismorfik özellikler ile ilişkilendiriliyorsa sendromik mental retardasyon; dismorfizm ya da anomali ile ilişkilendirilmiyorsa non-sendromik mental retardasyon olarak da kategorize edilebilmektedir.

2.1.4. Mental Retardasyon ile Birlikte Bulunan Engeller ve Psikiyatrik Bozukluklar

Mental retarde olan bir kişi ayrıca bir veya birden fazla fiziksel veya ruhsal bozukluk gösterirse buna “çoğul engellilik” denilmektedir. Çoğul engellilik eğitimsel, toplumsal ve iş uyumunda önemli etkiler yapmaktadır.

1. Fiziksel Engeller:

a. Görme bozuklukları: Mental retarde olan bireylerin %10’unda görme bozuklukları görülmektedir. Bu oran ileri mental retarde olan bireylerde ise %15’e kadar artış göstermektedir.

b. İşitme kaybı: Mental retarde olan nüfusta yapılan araştırmalar %10-15 oranında işitme sorunlarının olduğunu bildirmektedir. İleri derecede mental retarde olanların %80’inde, ağır mental retarde olanların %51’inde odiyometrik incelemelerin yapılamadığı belirtilmektedir.

c. Konuşma ve dil sorunları: Mental retarde olan bireylerin %50’sinde çeşitli derecelerdeki konuşma bozuklukları mevcuttur. Gecikmiş veya bozuk konuşma %44, kekemelik ise %5 oranlarında gözlenmektedir. Bireylerin %30’unda da sözel iletişim bulunmamaktadır.

d. Epilepsi: Mental retarde olanlarda epilepsinin epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler kısıtlıdır. Bunun bir nedeni sözel iletişimi olmayan ağır ve ileri derecede mental retarde olanlarda epileptik nöbetleri epileptik olmayan davranışlardan ayırmadaki güçlük, bir diğer nedeni

de kendini yaralama, dönemsel saldırganlık, sakarlık ve aşırı tepkisel davranışların epileptik durum ile karışmasıdır. Bu güçlüğe karşın, mental retarde olanlarda olmayanlara göre daha sık ve ileri derecede epileptik nöbetlerin olduğu da gösterilmiştir. Kurumlarda bakılanların %31'inde, kurum dışında yaşayanların %15-18'inde epileptik nöbet öyküsünün olduğu saptanmıştır. Zeka bölümü azaldıkça epilepsi riski de artmaktadır. Örneğin, normal nüfusta %0.7 olan epilepsi görülme sıklığı hafif derece mental retarde olanlarda %3-6, zeka bölümü 35-49 arasında olanlarda %23 ve zeka bölümü 20'nin altında olanlarda ise %50 oranında saptanmaktadır.

e. Serebral palsy: Serebral palsy ile mental retarde çoğunlukla birlikte görülür. Serebral palsili çocukların büyük kısmında ağır ve ileri derece mental retardasyon da bulunur. Serebral palsili olanlarda mental retardasyon oranı %37'den %71'e kadar değişiklikler göstermektedir. Çeşitli araştırmaların bir ortalamasından söz edilecek olursa serebral palsili insanların %45'inde aynı zamanda mental retardasyon da gözlenmektedir.

2. Ruhsal Engeller:

Mental retardasyon, uyum sorunu olan bu kişilerin sorunlarıyla başa çıkma yeteneğini azalttığından ruhsal bozuklukların riskinde bir artışa neden olmaktadır. Mental retarde olanlarda ruhsal bozuklukların gerçek dağılımı iyi bilinmemekle birlikte %27'den %71'e kadar değişim gösterdiği belirtilmektedir. Toplum sorgulaması yöntemi ile yapılan araştırmalar, mental retarde olan çocukların %20-35'inde bazı ruhsal bozuklukların olduğunu ortaya koymuştur. Ruhsal bozukluklar ile yapısal beyin hasarı ve epilepsi arasında anlamlı ilişkilerin olduğu gösterilmiştir. Zeka bölümleri normal olan, fakat yapısal beyin hasarı olmayıp yalnız epilepsileri olan çocuklarda ruhsal bozukluk sıklığı %28.6; epilepsisi olmayan fakat yapısal beyin hasarı olanlarda %37.5; her ikisi de bulunan çocuklarda %58.3'tür. Bu bulgular, yapısal beyin hasarı ve epilepsinin ruhsal bozukluk meydana getirmede birikerek artan bir etki yaptığını göstermektedir.

A. Psikotik bozukluklar: Birçok araştırmacıya göre, psikozlara, mental retarde olanlar normallere göre psikozlara daha yatkındırlar. Mental retarde olanlarda psikozların görülme sıklığı %3-12 kadardır. Şizofreni, mental retarde olanlarda en sık rastlanan psikozdur. Paranoid bozuklukların da az görüldüğü bildirilmektedir. Mental retardasyonda tek kutuplu depresyonun seyrek görüldüğü ile ilgili genel bir kanı vardır. Yazında iki kutuplu duygulanım bozukluklarının bunlardan daha fazla görüldüğü yer almaktadır.

Hafif derecede mental retarde olan ve sözel iletişimi iyi olan bireylerde şizofreni tanısı konulması, mental retarde olmayanlardan farklı değildir. Fakat ileri derecede mental retarde olanlarda tanı koymak zordur. Belirtilerin mental retardasyonunu, yoksa psikoz

belirtisine mi ait olduğunu belirlemek güçtür. Belirgin dezorganize davranışlar ve negatif belirtiler var ise, premorbidden belirgin farklılık gözleniyorsa başka türlü adlandırılmayan (BTA) psikotik bozukluk tanısı konabilir. Hayali arkadaş ile konuşmalar işitsel sanılar ile karıştırılmamalıdır.

B. Nevrotik bozukluklar: Mental retarde olanlarda nevroitik bozuklukların görülme sıklığı %4-6 kadardır. Bu oran genel nüfustaki orandan daha fazladır. Hafif ve orta derecede mental retardasyonda konversiyon bozukluğu en sık görülendir. Diğerleri anksiyete tepkileri, obsesif-kompulsif ve fobik bozukluklardır. Distimik bozukluk da normallerden daha fazla görülür. Çeşitli düzeylerde mental retardasyon olan 110 kişi üzerinde yapılmış olan bir çalışmada ise anksiyete bozukluklarının şizofreni, depresyon, kişilik bozuklukları, uyum bozuklukları ve organik beyin sendromundan daha az görüldüğü belirtilmektedir.

C. Kişilik bozuklukları: Yapılan kişilik bozukluklarının %25 gibi yüksek bir oranda olduğu bildirilmektedir. Suçlular arasında yapılan çeşitli araştırmalarda mental retardasyon oranı %0.5 ile %55 arasında bulunmuştur. Mental retarde olanların en fazla işledikleri suçlar homosid ve cinsel suçlar olarak belirtilmektedir. Mental retarde olanlarda intihar sıklığı, alkol ve madde kötüye kullanımı hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Mental retarde olanlar arasında yaşam olaylarına bağlı olarak kendine yönelik zararlı davranışlar (self-mutilasyon), kişiye ve mala yönelik fiziksel saldırılar diğer ruhsal bozukluğu olanlara göre anlamlı düzeyde farklı bulunduğu bildirilmektedir. Ağır ve ileri derece mental retarde olan 251 deneklik bir grupta kendini yaralama davranışı %36, saldırganlık %30, ajitasyon %13, hiperaktivite %10 ve diğer davranış bozuklukları %47 olarak saptandığı belirtilmektedir.

D. Çocukluğun psikiyatrik bozuklukları: Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocukların çoğu aynı zaman da mental retardasyona sahiptir. Otistik bozukluğu olan çocukların %75'i mental retardasyon kriterlerini karşılar. Otistik bozuklukta karşılıklı sosyal etkileşimde ve sözel-sözel olmayan sosyal iletişimde önemli derecede bir bozulma vardır. Buna karşın mental retarde çocukların karşılıklı sosyal etkileşimlerinde önemli bir bozulma yoktur, sosyal iletişime girerler, gelişim düzeylerine uygun olarak sözel veya sözel olmayan (göz teması, jestler gibi) iletişim kurarlar.

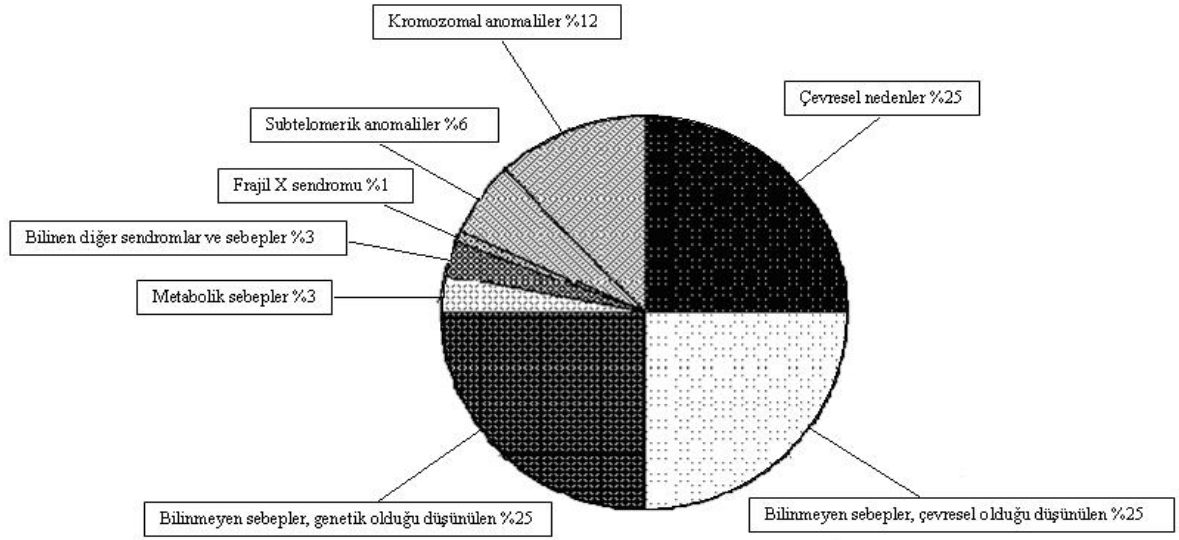
Mental retarde bireylerde, dikkat eksikliği ve aşırı hareketlilik psikiyatriye müracaatın sık nedenleri arasındadır. Bu popülasyonda dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHB) nun yaygınlığı normal popülasyona benzer olup, tahminen %4-11 arasındadır.

Hafif derecede mental retarde çocuk ve ergenlerde davranış bozukluğu yaygınlığı %33 olarak bildirilmektedir.

Mental retarde çocuklar arasında stereotipik davranışlara, kendine zarar verici davranışlara ve pika gibi yeme bozukluklarına da sık rastlanmaktadır.

2.1.5. Etiyoloji

Mental retardasyon nedenleri çok çeşitlidir ve yapılan tüm incelemelere karşın olguların yaklaşık % 40-60 ında etyoloji belirlenememektedir.



Şekil.2.1. Mental retardasyona sebep olan koşulların dağılımı (Curry ve ark., 1997)

Çizelge.2.2. Mental retardasyon nedenleri (Okan ve ark., 2005)

I. Prenatal nedenler:

A. Genetik nedenler

1. Metabolizma hastalıkları

Doğuştan kalıtsal aminoasit metabolizması bozuklukları (Fenilketonüri)

Organik asidemiler

Lizozomal depolanma ile giden metabolik hastalıklar

Peroksizomal hastalık

Mitokondrial hastalıklar

- Mukopolisakkaritler
- 2. Kromozom anomalileri
 - Ailevi mikrosefali
 - Kraniosinostoz
 - Konjenital hidrosefali
- 3. Nörökütan hastalıklar
 - Noröfibromatozis
 - Tuberosklerozis
- 4. Kromozom hastalıkları
 - Trizomiler
 - Frajil X sendromu
 - Kedi miyavlaması hastalığı
 - Klinefelter sendromu
- B. Anne-fetüs enfeksiyonları
 - 1. TORCH
 - 2. Enfeksiyöz hepatit
 - 3. Kabakulak
- C. Gelişimsel serebral anomaliler
- D. Radyasyon
 - 1. Nükleer ve x ışınları (7-15. haftada)
- E. Hipotiroidi
- F. Anneye ait nedenler
 - Maternal fenilketonüri
 - İyot eksikliği
 - Vitamin eksiklikleri (riboflavin)
 - Diyabet (hipoglisemi, hipokalsemi, hipomagnezemi, polisitemi)
 - Alkol
 - İlaçlar (folik asit antagonistleri, steroidler)
- G. Diğerleri
 - 1. Prematürite
 - 2. Plasental anomaliler
 - 3. Toksemi
 - 4. Annenin ilaç alması
 - 5. Beslenme bozukluğu

6.Nikotin ve civa alımı

II.Perinatal nedenler

A.Doğum travması

Asfiksi

Hipoksi

B. Edinsel metabolik bozukluklar

Hipoglisemi

Hiperbilirubinemi

C. Enfeksiyonlar

Bakteriyel menenjit, sepsis

Konjenital enfeksiyonlar

D.İntraventricüler kanama

E. Multipl konjenital deformiteler

F. Neonatal konvülsiyonlar

III.Postnatal nedenler

A. Enfeksiyonlar ve inflamatuvar hastalıklar

Menenjit

Ensefalit

Post-enfeksiyöz lökoensefalit

Aşılama ile ilişkili ensefalopati

B. Kafa travmaları

C. İntoksikasyonlar

Kurflun ensefalopatisi

Kronik antikonvülsan intoksikasyonu

D. Çevresel nedenler

E. Doğumsal metabolizma hastalıkları

F. Subselüler organel hastalıkları (lizozom, peroksizom, mitokondri)

G.Diğerleri

Asfiksi

Reye sendromu

Beyin tümörleri

Böbrek, karaciğer yetmezlikleri

Merkezi sinir sistemi tutulumu ile giden nöromusküler hastalıklar

Çizelge.2.3. Ağır ve hafif mental retardasyon nedenleri (Çoğulu ve ark., 2006)

Ağır

1. Prenatal (%55):
 - a. Kromozomal ve diğer genetik faktörler (%34)
 - b. Multipl konjenital anomaliler ve spesifik sendromlar (%12)
 - c. Gebelikte meydana gelen dış etkenler (%8)
2. Perinatal (%15)
 - a. Hipoksi/asfiksi (%12)
 - b. Santral sinir sistemi enfeksiyonları (%3)
3. Postnatal (%12)
4. Nedeni bilinmeyen (%18)

Hafif

1. Prenatal (%23):
 - a. Kromozomal ve diğer genetik faktörler (%5)
 - b. Multipl konjenital anomaliler ve spesifik sendromlar (%10)
 - c. Gebelikte alınan alkol (%8)
2. Perinatal (%18)
 - a. Hipoksi/asfiksi (%17)
 - b. Santral sinir sistemi enfeksiyonları (%1)
3. Postnatal (%4)
4. Nedeni bilinmeyen (%55)

Etyolojinin belirlenmesinde önemli olan etmenler şunlardır:

- Ailenin tanı isteği ve işbirliği
- İncelemelere erken yaşta başlanması
- Eşlik eden anomalilerin olması
- Yakın akrabaların muayene edilebilmesi
- İzleme (zamanla gelişen spesifik fiziksel veya davranış fenotipleri ve yeni testler)

2.2. Mental Retardasyona Neden Olan Genetik Sebepler

Çizelge.2.4. Mental retardasyona neden olan genetik sebepler (Winnepenninckx ve ark., 2003)

Kromozomal anomaliler

Sayısal kromozom anomalileri

Parsiyel kromozom anomalileri

Sitogenetikle görülemeyen mikrodelesyonlar

İnterstisyel delesyonlar

Subtelomerik delesyonlar

Monojenik sebepler

Otozomal dominant

Otozomal resesif

X'e bağlı

Poligenik sebepler

Mitokondriyel bozukluklar

2.2.1. Kromozomal Anomaliler

Mental retardasyon vakalarının %28'inde kromozom anomalileri neden olarak gösterilmektedir (Curry ve ark., 1997).

2.2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri

Sayısal kromozom anomalisi, 46 kromozomdan oluşan normal kromozom setinde ekstra (=poliploidi) yada kayıp (=monozomi) kromozomların bulunmasından kaynaklanmaktadır. Bildirilen canlı-doğan otozomal kromozom poliploidileri Trizomi 13 (Patau Sendromu), 18 (Edward Sendromu) ve 21(Down Sendromu) dir. Edward ve Patau sendromları nadir görülürken Down sendromu 1500 bireyde 1 görülmektedir ve risk annenin yaşıyla birlikte artış göstermektedir. Patau ve Edward sendromu hastaları genelde çoğu özelliği paylaşmaktadır. Bu hastalarda çoğunlukla ağır mental retardasyon

görülmekte ve çoğu etkilenmiş hastanın yaşamı doğumdan bir hafta sonra ölümle sonuçlanmaktadır.

Herhangi bir kromozomda görülen monozomi embriyonik yaşamın erken safhalarında ölümcül olmaktadır.

Sayısal cinsiyet kromozom anomalileri sayısal otozomal kromozom anomalilerinden daha sık görülmektedirler, fakat her zaman mental retardasyon ile ilişkilendirilmesi beklenmemektedir. Turner sendromu (dişi bireyler X kromozomundan sadece bir kopya taşır) ve Klinefelter sendromu (XXY kromozom düzenine sahip erkek bireyler) hastaları zeka olarak normal olabilmektedirler. Ancak, X kromozomu sayısı ikiyi geçtiği durumlarda (örneğin, XXX) hastalarda daima mental retardasyon görülmektedir.

2.2.1.2. Parsiyel Kromozom Anomalileri

Delesyonlar, inversiyonlar, insersiyonlar, translokasyonlar herhangi bir kromozomun herhangi bir bölgesinde meydana gelebilmektedir. Translokasyonlar, dengeli olduğu, genetik materyalde herhangi bir kayba ya da kazanıma sebep olmadığı ve herhangi bir gende bozulmaya neden olmadığı sürece klinik bir belirti görülmemektedir. En iyi bilinen örnek; iki akrosentrik kromozomun (13, 14, 15, 21 veya 22) sentromer bölgelerinde ya da sentromere yakın bölgelerinde kırılma meydana geldiği ve uzun kolları arasında füzyon olduğu Robertsonian translokasyonudur. Burada oluşan hibrit kromozom iki kromozomun uzun kollarından oluşmaktadır (örneğin, 14. kromozom ve 21. kromozom) Bu akrosentrik kromozomların kısa kolları sadece ribozomal dizileri içermektedirler ve Robertsonian translokasyon taşıyıcıları bu translokasyondan etkilenmemektedirler. Fakat böyle bir hastanın dölleri 14. kromozoma ait ekstra uzun kol kalıtılabilmekte, bunun yanı sıra 14. kromozomun üzerine 21. kromozoma ait ekstra bir uzun kol kalıtılabilmekte ve Down Sendromu'na sebep olabilmektedir.

Delesyonlar, delesyonun yerine ve büyüklüğüne göre farklı fenotiplere neden olmakta, fakat hemen hemen hepsinde mental retardasyon görülmektedir. Genel bir kural olarak, toplam genomun %2'sinden fazlasını içeren delesyonlar yaşamsal olarak değerlendirilmemektedir. Minimum büyüklük olarak tek bir kromozom bandında meydana gelen delesyonlar ya da 5-15 Mb büyüklüğündeki delesyonlar mikroskop altında saptanabilmektedirler. Bu tür sitogenetik olarak görülebilir delesyonlara örnek olarak mental retardasyon ve çocukluk çağında kedi-benzeri ağlama ile karakterize olan cri-du-

chat sendromu verilebilir. Karyotip testlerine göre, 5. kromozomun kısa kolunda özellikle 5p15.2-p15.3 bölgesinde değişen büyüklerdeki delesyonlar bu sendromun görülmesine neden olabilmektedir.

2.2.1.3. Sitogenetikle Görülemeyen Mikrodelesyonlar

2.2.1.3.1. İnterstisyel Delesyonlar

Sitogenetikte her delesyon görülememektedir. Bazı delesyonlar mikroskop altında saptamak için çok küçüktürler. Bu tür submikroskopik delesyonlar, belirli kromozomal segmentlerin ve birkaç genin kaybını içermekte ve komşu gen sendromlarına neden olmaktadır. Bu delesyonlar genomda rastgele meydana gelmemekte, spesifik bölgelerde toplanmaktadır. Örneğin, 7q11.23 segmentinin submikroskopik delesyonu fenotipik özellik, asimetric kognisyon profili ile kombine olan mental retardasyon ile ilişkili Williams-Beuren Sendromu'na neden olmaktadır. Diğer bir örnek olarak, 17p11.2 bölgesinin bir kısmında meydana gelen delesyon sonucu psikomotor ve büyüme geriliği ve davranış problemleri gibi dikkat çekici fenotiple ilişkili olan Smith-Magenis Sendromu'dur. Yarık damak, kardiyak anomaliler, tipik yüz görünümü ve öğrenme engelliliği ile karakterize olan ve 22q11 mikrodelesyonu ile meydana gelen Velokardiofasial Sendrom ise bir diğer örnektir. Böyle delesyonlar rutin olarak karyotip analizi ile görülememektedir. Fakat deneyimli bir klinisyenin isteği üzerine bu bölgelere özgü problemler ile Floresans in Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemiyle bu delesyonlar saptanabilmektedir.

2.2.1.3.2. Subtelomerik Delesyonlar

Sitogenetikte görülebilen bir diğer spesifik altkategori kromozom sonlarında (telomerlerde) oluşan delesyonlardır. Telomerlerde meydana gelen kromozomal düzenlenmeler idiyopatik (Flint ve ark., 1995) ve ailesel mental retardasyona (Holinski-Feder ve ark., 2000) neden olmaktadır. Telomerler, tüm omurgalılarda benzer olan TG bakımından zengin tekrarlardan (TTAGGG) oluşmaktadır. Bu basit dizi birkaç yüz ya da birkaç bin kez tekrarlanmakta ve bireylerde yaşla birlikte çeşitlilik göstermektedir. Bu tekrarlara yakın bölgelerde birçok kromozom arasında paylaşıldığı düşünülen tekrarlayan DNA aileleri yer almaktadır (Mefford ve Trask, 2002). Birkaç yüz kilobazdan oluşan bu subtelomerik dizilerin fonksiyonları bilinmemektedir. Yüksek derecede dizi benzerliği, düzenlenmeleri oluşturduğu düşünülen "çaprazlama"lara neden olmaktadır. Telomerik

bölgelerin gen bakımından zengin olması, bu bölgelerde meydana gelen delesyonların Miller-Dieker Sendromu (17p telomerik delesyonu) ve α -talasemi/ mental retardasyon sendromunda (16p telomerik delesyonu) olduğu gibi neden mental retardasyona neden olduğunu açıklamaktadır.

Önceki çalışmalarda idiopatik mental retardasyon vakalarının %5-10'unda subtelomerik delesyonların tanımlandığı belirtilmektedir (Knight ve ark., 1999). Subtelomerik delesyonların rutin karyotip analizi ile sitogenetik olarak saptanamamasından dolayı bu mutasyonların sıklığı halen bilinmemektedir. Bu düzenlenmeleri saptamada en sık kullanılan yöntem, genomik DNA'ya hibridize olan floresans telomer-spesifik problemlerin kullanıldığı FISH yöntemidir.

Geniş sayıda subtelomerik delesyonları taramada kullanılmak üzere geliştirilen yöntemlerden biri de kısa amplifiye edilebilir problemlerin kullanıldığı Multipleks Amplifiye edilebilir Prob Hibridizasyonu (MAPH)'dur. Bazı laboratuarlarda da tüm telomerleri görüntüleme için kullanılmak üzere Multipleks Kantitatif PZR reaksiyonları üzerine çalışılmaktadır (Winnepenninckx ve ark., 2003).

2.2.2. Monogenik sebepler

Tek bir gen üzerinde meydana gelen mutasyonlar genin fonksiyonunu bozarak mutant genin fonksiyonuna ve mutasyonun fonksiyon üzerindeki etkisine bağlı olarak mental retardasyona ve mental retardasyon ile ilişkili olan birçok fenotipe neden olabilmektedir. Hastalık gruplarının her bir alt bölümü için kalıtım biçimleri esas alınmıştır.

2.2.2.1. Otozomal Dominant Mental Retardasyon

Mental retarde bireyler nadiren çoğaldıklarından, otozomal dominant mental retardasyon soyağacına seyrek rastlanılmaktadır. Buna rağmen, otozomal dominant formundaki mental retardasyon Rubinstein-Taybi Sendromu vakalarında olduğu gibi ortaya çıkan yeni mutasyonlar sonucu meydana gelebilmektedir (Petrij ve ark.,1995). Rubinstein-Taybi Sendromu, gelişim geriliği, boy, karakteristik yüz görünümü, geniş başparmak, büyük ayak parmakları ile karakterize olup 16p13.3 bölgesinde yer alan CREB geni üzerindeki mutasyondan kaynaklanmaktadır. Az etkilenmiş hastalarda hafif otozomal dominant mental retardasyon çeşitli fenotipik ekspresyonlarla birlikte gizli kalırken, bu hastaların tanısı ancak hastalığın ağır bir şekilde etkilenmiş aile üyesinde tanımlanmasından sonra konulmaktadır.

2.2.2.2. Otozomal Resesif Mental Retardasyon

Otozomal resesif geçiş, sıklıkla metabolik hastalıklarda grlmektedir. Enzimlerin eksikliği işlenmemiş substratların hücre içi birikimine, ürün azlığına, hcreesel enerjinin tkutilmesine ya da aşırı miktarda metabolit salınmasına yol açarak bu tür hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır. Fenilketonuri, Fenilalanin hidroksilaz eksikliğinden kaynaklanan doğumsal metabolizma kusuru olup otozomal resesif mental retardasyonun en sık görülen nedenidir. Enzim bozukluğuna bağlı olarak Fenilalanin birikimi gerekleşiirken Tirozin kitlediği meydana gelmektedir. Diğer bir örnek ise, mental retardasyon ve multipl konjenital anomali ile karakterize olan Smith-Lemli-Opitz Sendromu'dur. Hastalık, Sterol delta-7-redüktaz (DHCR7) geninin her iki kopyasında mutasyon meydana gelmesi sonucu oluşmaktadır. Bunların yanı sıra birçok izole mental retardasyon vakaları, nadir otozomal resesif mutasyonlardan oluşabilmektedir, fakat non-sendromik mental retardasyonun bu tür izole vakalarına sebep olan ilk gen klonlanmıştır. PRSS12 nrotripsin genindeki dört bazlık delesyon non-sendromik otozomal resesif mental retardasyon olan geniş soyağalarında mental retardasyon ile ilişkilendirilmiş olduğu bildirilmektedir (Molinari ve ark., 2002). Buna rağmen, böyle otozomal resesif bir mutasyonun populusyondaki sıklığı hakkında çok az şey bilinmektedir.

2.2.2.3. X'e Bağlı Mental Retardasyon

Mental retardasyonun erkek bireylerde dişi bireylere göre daha sık görülmesi, X'e bağlı gen defektlerinin mental retardasyonun önemli nedenleri arasında yer aldığını düşündürmektedir. Klinik gözlemler ve aileler üzerinde yapılan bağlantı analizleri, X'e bağlı mental retardasyonun (XLMR) heterojen bir koşul olduğunu ortaya koymuştur.

X'e bağlı mental retardasyonun en sık görülen formu Frajil X sendromudur (Fra (X)). Frajil X sendromu, X kromozomunun uzun kolunun distal bölgesinde yer alan bir sitogenetik markırda meydana gelen gen defekti ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu durum daha sonra FMR1 geninin klonlanmasına yol açmıştır. O günden bu yana klonlanan XLMR genleri artış göstermektedir (Ropers ve Hamel; 2005).

2.2.3. Mitokondrial Mental Retardasyon

Otozomal ya da cinsiyet kromozomları üzerindeki bozukluklara ek olarak mitokondrial genlerdeki hasarlar da mental retardasyona neden olabilmektedir. Bu tür soyağalarına maternal kalıtımın sonucu rastlanmaktadır.

2.2.4. Poligenik Mental Retardasyon

Poligenik, yani birden fazla genin neden olduğu mental retardasyon formlarında hastalar hafif olarak etkilenmektedirler. mental retardasyonun tek gen hasarına dayanan daha ağır olan formlarına kıyasla hafif mental retardasyon, Mendel kalıtım paternine uyum göstermemektedir. Ortalamanın altında sosyo-ekonomik statüden gelen soylarda daha sık görölmektedir. Buna rağmen hafif mental retardasyonun genetik sebepleri hakkında henüz hiçbir bilgi bulunmamaktadır. Genel olarak, fenotip oluşumunda gerekli olan birçok genin hastalığa katkısı bulunmadığı varsayılmaktadır (Plomin, 1999).

2.3. Mental Retarde Çocuklarda İnceleme

- Klinik İnceleme
- Öykü ve aile ağacı
- Fizik muayene
- Disiplinler arası işbirliği ve konsültasyon
- Laboratuvar İnceleme
- Genetik testler (Kromozom, DNA)
- Metabolik testler
- Görüntüleme yöntemleri

Öykü: Mental retarde bireye ait ayrıntılı obstetrik, tıbbi öykü ve aile öyküsü alınmalıdır. Ailede gelişme geriliği veya mental retardasyonu olan birinin olup olmadığını araştırmak için çocuğun akrabalarından liseyi bitiremeyen, araba kullanamayan, kendi başına yaşayamayan veya hiç iş sahibi olamamış kişi olup olmadığını sorulması önerilmektedir. Gebelik dönemi, prenatal bakım düzeyi, prenatal testler (serum α -fetoprotein düzeyi, fetal ultrasonografi gibi), gebeliğin komplikasyonları, amniyotik sıvının miktar ve özelliği, reçeteli ve reçetesiz ilaç veya kanun dışı ilaç kullanımı, fetal hareket sıklığı ve kuvveti ve gebelik döneminde yaşanan kronik veya akut sağlık problemleri hakkında detaylı bilgi sahibi olunmalıdır (2007;Pediatri Cilt-2 Kısım- 4 sf. 1049).

Aile ağacı:Öğrenme güçlüğü, psikiyatrik bozukluk, otizm ve mental retardasyon yönünden üç kuşaklı soruşturan bir aile ağacı çıkarılmalıdır (genbilim.com), soyağacı tüm gebelik ve sonuçları içermeli, etkilenmiş ve etkilenmemiş bireyler belirtilmeli ve her bireyin doğum tarihi ve ölüm nedenini içermelidir (2007;Pediatri Cilt-2 Kısım- 4 sf. 1049).

Fizik muayene: Deneyimli bir klinikçinin yaptığı fizik ve nörolojik muayene genetik değerlendirmede en önemli basamağı teşkil etmektedir. Kafadan ayak parmağına kadar

dikkatle yapılmalı ve özellikle yüzle ilgili ve spesifik sendromlar için yol gösterici olabilen dismorfik bulgulara dikkat edilmelidir.

Mümkün olduğunca eski ve yeni fizik ölçümler (baş çevresi, büyüme parametreleri) alınmalı ve normal değerlerle karşılaştırılmalıdır. Nörolojik muayene tam ve ayrıntılı olarak yapılmalıdır.

Fizik muayene esnasında saptanan tüm anormal bulgular kaydedilmeli ve fotoğraflarla belgelendirilmeli, çocukta rastlanan minor anomaliler anne, baba ve kardeşlerle karşılaştırılması gerekmektedir.

Davranış fenotipinin değerlendirilmesi de bazı sendromların tanınmasını kolaylaştırmaktadır. Davranış fenotipinin, yürüme şeklinin, hareketlerin değerlendirilmesinde video kayıtları yararlı olabilmektedir (Frajil X Sendromu, Angelman Sendromu, Rett Sendromu gibi).

Ayrıca, odyolojik, oftalmolojik ve psikometrik değerlendirme ilk başvuruda yapılmalı ve belirli aralarla yinelenmelidir.

2.3.1. Laboratuvar İncelemeleri

Mental retardasyon incelenmesinde kullanılan çok sayıda test seçeneği vardır, ancak bu testlerin her hasta için selektif ve amaca yönelik olarak yapılması önerilmektedir. 1.Kromozom analizi (Sitogenetik): 500 bant düzeyinde rutin bantlama (trizomi veya monozomiler, büyük yapısal anomaliler) ve yüksek rezolüsyonlu bantlama (HRBT; bazı minor yapısal anomaliler) yöntemleri kullanılmaktadır.

Mental retarde bireylerde kromozom anomalisi saptayabilme oranı %4-28 arasındadır.

Ağır mental retardasyon ve eşlik eden konjenital anomaliler (minor veya major) varsa kromozom patolojisi oranı artmaktadır. Görünürde minor yada major anomali olmasa bile kesin bir tanısı olmayan tüm zeka geriliklerinde karyotip bakılması önerilmektedir.

2.Frajil X testi (moleküler)

3.FISH (sitogenetik+moleküler yöntemler) (minor yapısal anomaliler)

4.Metabolik testler (aminoasit ve organik asitler)

5.Görüntüleme (US, BBT ve MRI ve diğer)

6.Spesifik tanıya yönelik testler: Enzimler, FISH ve DNA testleri, kas biyopsisi ve iskelet grafileri (genbilim.com)

2.4. Mental Retardasyon Olgularının Genetik Nedenlerinin İncelenmesi

2.4.1. Mikroarray'ler

Biyomedikal araştırmalar, yalnızca bilginin derlenmesi yönünde değil aynı zamanda yeni teknolojilerin ortaya çıkması yönünde ilerlemektedir. Gen ifedelerini araştırmak için kullanılan klasik metodlar araştırmacıların belirli bir zaman içerisinde az sayıdaki geni inceleyebilmelerine olanak tanımaktadır. Yeni teknolojilere duyulan ihtiyaç karşılaşılan problemlerin çözümünü ve terapide kullanılacak yeni potensiyel hedeflerin bulunmasına imkan tanımıştır. Mikroarray'ler araştırmacıların tek bir deneyde hızlı ve verimli bir şekilde birçok genin ifadesini incelemesine olanaklı kılmaktadır. Mikroarray'ler büyük metodolojik ilerleme göstermekte ve araştırmacılara yeni teknolojilerin ne kadar güçlü araçlar olduğunu izah etmektedir. Bilim adamları mikroarray teknolojisini büyüme ve gelişimi farklı açılardan anlamak ve birçok hastalığın altında yatan genetik sebeplerin keşfi için kullanmaktadırlar.

2.4.1.1. DNA Mikroarray'leri

DNA Mikroarray'i, moleküler biyoloji ve tıpta kullanılan multipleks bir teknolojidir. DNA Mikroarray'i "Features" denen ve herbiri prob (reportör) olarak bilinen pikomol seviyesindeki spesifik DNA sekanslarından oluşan binlerce mikroskobik DNA oligonükleotid noktacığının dizilenmiş serilerinden oluşmaktadır. Bu problemler, yüksek kararlılıkta cDNA ya da cRNA örneğini (*hedef* olarak bilinir) hibritlemede kullanılan kısa bir gen parçası ya da diğer DNA elemanı olabilmektedir. Prob- hedef hibridizasyonu, genellikle hedefteki nükleik asit veriminin göreceli olarak saptanması için florofor, gümüş ya da kemiluminesans –işaretle hedeflerin taranmasıyla incelenir ve kantifiye edilir. Bir array binlerce probun onlarcasından oluştuğu sürece bir mikroarray çalışması bir çok genetik testin aynı anda gerçekleştirilmesine olanak tanımaktadır. Bu durum birçok keşfin hızlanmasını sağlamaktadır.

Standart mikroarray'lerde problemler yüzey mühendisliği yolu ile katı bir yüzeye (kimyasal matris= epoksi-silan, amino-silan, lizin, poliakrilamid ve ya diğerleri) kovalent bağ yardımıyla tutturulmaktadır. Katı yüzey cam ya da silikon çip olabileceği gibi mikroskobik boncuklardan da oluşabilmektedir.

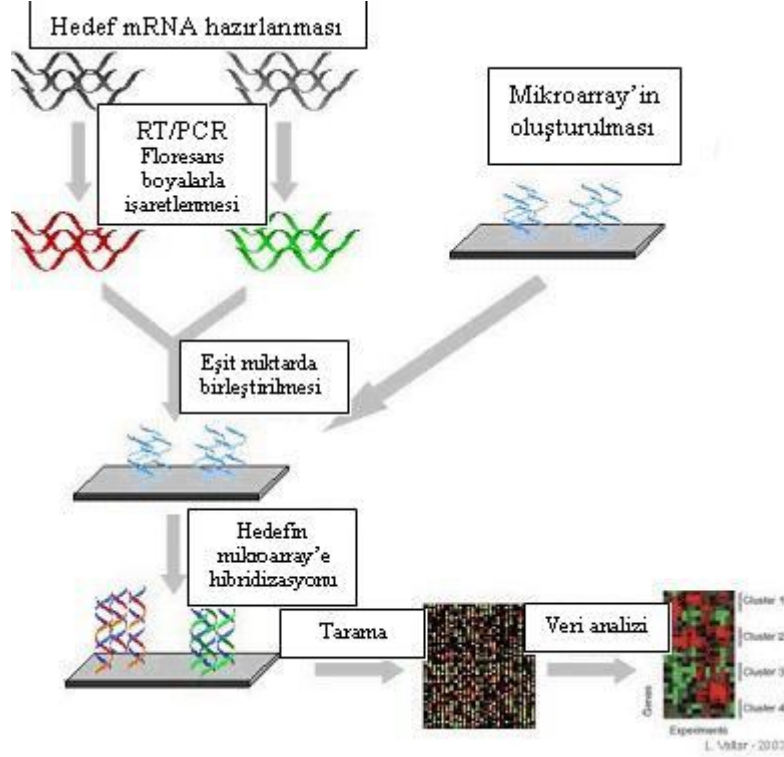
DNA mikroarray'leri ekspresyon seviyelerindeki değişimlerin ölçülmesi, SNP'lerin taranması, mutant genomların sekanslanması ve genotiplemede kullanılmaktadır. Mikroarray'ler fabrikasyon, çalışma, verim, hassasiyet ve maliyet bakımından farklılık göstermektedirler.

2.4.1.2. Mikroarray'in Tarihçesi

Mikroarray teknolojisi, fragmente DNA'nın bir substrata tutturularak ve daha sonra bilinen bir gen ya da fragment ile prob olarak çalışılan Southern Blot'tan geliştirilmiştir. Array'lerde ekspresyon profili için farklı DNA topluluklarının kullanılması ilk olarak 1987 yılında açıklanmış ve array'lenen bu DNA'lar interferon tarafından ifadeleri değişen genlerin tanımlanması için kullanılmıştır (Kulesh ve ark., 1987). Bu ilk array'ler iğne-spotlama aracının kullanılması ile filtre kağıdı üzerine cDNA'ların spotlanması sonucu oluşturulmuştur. Miniatürize mikroarray'lerin gen ekspresyon profilinde kullanılması ilk olarak 1995 tarihinde bildirilmiş (Schena ve ark., 1995) ve mikroarray üzerinde tam ökaryotik genomu (*Saccharomyces cerevisiae*) 1997 yılında yayımlanmıştır (Lashkari ve ark., 1997).

2.4.1.3. Mikroarray Teknolojisinin Prensibi

Mikroarray ardındaki temel prensip iki DNA ipliği arasındaki hibridizasyon, birbirleriyle ile spesifik olarak baz çiftleri arasında hidrojen bağı oluşturarak eşleşen komplementer nükleik asit sekanslarının yapısıdır. Bir nükleotid sekansındaki yüksek sayıdaki komplementer baz çiftleri iki iplik arasında sıkı bir non-kovalent bağın olduğu anlamına gelmektedir. Non-spesifik olarak bağlanan sekansların yıkanmasından sonra, sadece hibridize olmuş olan eşleşmiş kuvvetli iplikler kalmaktadır. Böylece, bir prob sekansına bağlanan floresans işaretli hedef sekanslar, eşleşen bazların sayısı, hibridizasyon koşulları (sıcaklık gibi) ve hibridizasyon sonrası yıkama tarafından belirlenen hibridizasyon gücüne bağlı olarak sinyal oluşturmaktadırlar. Bir noktacıktan (feature) gelen toplam sinyal gücü, bu noktacığın üzerinde mevcut olan problemlere bağlanan hedef örneğin miktarına bağlı olmaktadır. Mikroarray'lerde, prob yoğunluklarının farklı koşullar altındaki yoğunlukları ile karşılaştırılmasında ve yeri bilinen probun özelliğinin belirlenmesinde göreceli kantitasyon kullanılmaktadır.



Şekil.2.2. Bir mikroarray çalışmasında gerekli olan basamaklar
(www.microarray.lu/images/overview_1.jpg).

2.4.1.4. Mikroarray'lerin Kullanım Alanları ve Tipleri

Birçok array çeşidi mevcut bulunmakta ve geniş ayrımları yüzeyemi yoksa kodlu boncuklar üzerine mi düzenlenmiş olmalarına göre yapılmaktadır:

- Klasik katı-faz array'i, "feature" olarak bilinen düzenli mikroskobik "spot"ların toplu halidir ve herbiri spesifik bir proba cam, plastik ya da silikon bioçip (genel olarak *genom çipi*, *DNA çipi* veya *gen çipi* gibi katı bir yüzeye tutturulmuştur. Binlerce prob tek bir mikroarray üzerinde belirli lokasyonlara yerleşmiştir.
- Alternatif boncuk array'i, hedef sekansta kullanılan farklı olarak iki veya daha fazla boya ile herbiri spesifik bir prob olan mikroskobik polistren boncukların toplu halidir

DNA mikroarray'leri, DNA'yı taramak için (karşılaştırmalı genomik hibridizasyonda olduğu gibi-CGH) ya da proteinlere dönüşen ya da dönüşmeyen RNA'yı (çoğu genellikle reverse transkripsiyon sonrası cDNA'lardır) taramak için kullanılmaktadır. cDNA ile gen

ekspresyonunun ölçülmesi süreci *ekspresyon analizi* ya da *ekspresyon profili* olarak adlandırılmaktadır.

DNA/oligonükleotid mikroarray'lerinin en sık görülen kullanım alanı gen ekspresyon analizleridir. Bu teknikte, iki örnekten izole edilen RNA'lar büyük sayıda cDNA/oligonükleotidleri içeren cam mikroskop slide'ı üzerine hibritlenmeden önce iki farklı florokrom (genellikle yeşil olan siyanür 3-Cy3 ve kırmızı olan siyanür 5-Cy5) ile iâşretlenmektedirler. Uyulması gereken koşullarda gerçekleştirilen hibridizasyon sonrası, mikroarray tarayıcısında iki florokrom belirli dalgaboylarında uyarılır ve biyolojik örnekteki transkript seviyeleriyle orantılı olan floresans emisyon sinyalleri tarayıcı tarafından kaydedilir. Mikroarray verileri, ortak biyolojik fonksiyonları taşıdığı düşünölen, benzer ekspresyon paterni gösteren genlerin gruplandırılmasına olanak tanıyan spesifik yazılım programları ile analiz edilmektedir.

Çizelge.2.5. Mikroarray teknolojileri ve uygulamaları

Teknoloji/ Uygulama	Açıklama
Gen ekspresyon profili	Binlerce genin ekspresyon düzeyleri, belirli tedavilerin, hastalıkların ve gelişim basamaklarının gen ekspresyonu üzerine etkisi incelenmektedir.
Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH)	Farklı hücre ve yakın ilgili organizmalarda genom içeriğinin (delesyon ve duplikasyon açısından) değerlendirilmesini sağlamaktadır.
GeneID	Çoğu PZR ve mikroarray teknolojisini birleştirmektedir. Besin ve yemlerdeki GDO'ların, hastalık teşhisinde hücre kültürlerindeki mikoplazmaların ya da patojenlerin ID'lerinin saptanmasında kullanılan küçük çaplı array'lerdir.
Çip üzerinde kromatin immünopresipitasyonu (ChIP)	Belirli proteine bağlanan DNA sekansları bu proteinin immünopresipitasyonu ile izole edilebilmektedir. Bu fragmentler daha sonra

	<p>mikroarray (tiling array) üzerine hibritlenmekte ve genom boyunca protein bağlanma bölgelerinin saptanması olanaklı hale gelmektedir.</p>
DamID	<p>ChIP'in analogudur. İlgilenilen proteinin bağlandığı genomik bölgelerin izolasyonu ve bağlanma bölgelerinin saptanması için mikroarray'i probamada kullanılmaktadır. ChIP'in aksine, DamIP'de antikor gerekliliği yoktur. Ancak protein bağlanma bölgelerinde adenin metilasyonu gerekmektedir. Bu sayede bu bölgeler seçici olarak amplifiye edilmektedir.</p>
SNP taraması	<p>Populasyon içerisinde ya da populasyonlar arasında allellerdeki tek nükleotid polimorfizmlerinin saptanmasını sağlamaktadır. Genotipleme, adli tıp analizleri, hastalığa eğilimin ölçülmesi, ilaç aday tanımlanması, bireylerde germline mutasyonların oluşumu, kanserlerdeki somatik mutasyonlar, LOH, genetik bağlantı analizlerinde kullanılmaktadır.</p>
Alternatif splicing taraması	<p>"Exon junction array" dizaynı, bir genin öngörülen ekzonlarının bilinen ya da potansiyel splice bölgelerine spesifik proplar kullanılmaktadır. Tipik gen ekspresyon array'i (gen başına 1-3 prob) ve tiling array (gen başına yüzlerce-binlerce prob) arasında bir yoğunluk ya da sahaya sahiptir. Bir genin alternatif splice formlarının ekspresyonunun incelenmesinde kullanılmaktadır. Ekzon array'leri farklı dizayna sahiptir, bilinen ya da öngörülen</p>

	genler için herbir ekzonu saptamak adına düzenlenen probları kullanmakta ve farklı splicing izoformlarını tespit etmede kullanılabilir. kullanılabilmektedir.
Füzyon gen mikroarray'leri	Kanser örneklerinde olduğu gibi füzyon transkriptlerinin taranmasında kullanılmaktadır. Bu durumun temelindeki prensip alternatif splicing mikroarray'lerine dayanmaktadır. Oligo dizayn stratejisi kimerik transkript bağlatılarının ölçümleri ile füzyon çiftlerinin ekzon yönünde ölçümlerinin bileşiminden oluşmaktadır.
Tiling array	Genom tiling array'leri ilgilenilen genomik bölgeyi (bezen tam bir kromozom kadar büyük bir bölge) yoğun bir şekilde temsil eden örtüşen problardan oluşmaktadır. Daha önce bilinmeyen ya da öngörülemeyen transkriptlerin ve alternatif splice formalarının ekspresyonlarının empirik olarak saptanmasında kullanılmaktadır.

Çizelge.2.6. Mikroarray uygulamaları ve prob/ hedef tipleri

Prob	İşaretlenmiş Örnek (Hedef)	Teknik	Uygulama
Genomik DNA (YAC, BAC)	Genomik DNA fragmentleri	Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (CGH)	Gen kopya sayısı mutasyon çalışması
Genomik DNA	mRNA(cDNA)	Karşılaştırmalı Eksprese Olmuş Sekans Hibridizasyonu (CESH)	Kromozomal lokasyona bağlı göreceli ekspresyon (tüm genler)
cDNA/uzun oligo'lar	mRNA/cDNA	Ekspresyon Profili	Göreceli ekspresyon (bilinen ya da öngörülen genler)
Kısa/uzun oligo'lar	Genomik DNA fragmentleri	Genetik görüntüleme	Genotipleme Polimorfizm
Proteinler	Proteinler	Protein array	Protein ağları, metabolizma...

Çizelge.2.7. Ticari mikroarray tipleri

Hibridize Olan Örnek Sayısı			
<i>Tek-kanal</i>	<i>Dual-kanal</i>		
	cDNA spot array'i (Stanford)	<i>cDNA Kütüphanesi</i>	Prob Oluşum Metodu
Affymetrix (25-mer) NimbleGen (50-75-mer) Agilent (60-mer) Illumina (50-mer)	NimbleGen Agilent Illumina	<i>Sentezlenen</i>	

2.4.1.5. Mikroarray'lerin Üretimi

Mikroarray'ler prob sayısına, maliyete, müşteri talebine ve sorulan bilimsel sorunun tipine göre farklı yollarla üretilebilmektedir. Array'ler, 10 probtan 2.1 milyon mikrometre-ölçekli proba kadar olabilmektedir.

2.4.1.5.1.Yüzey Mühendisliği

İlgili uygulamaya yönelik en iyi yüzey özelliklerini elde etmek için DNA mikroarray üretiminin ilk basamağı substrat yüzey mühendisliğidir. En uygun yüzey özellikleri, ilgili DNA hedefleri için yüksek sinyal/gürültü oranı sağlayanlardır. Genel olarak bu özellik, ilgili hedef bölgelerin spesifik olmayan bağlanmalarını minimize ederken prob yüzey yoğunluğunu ve aktivitesini arttırmaktadır. Yüzey mühendisliğinin metodları; platform materyaline, tasarıma ve uygulamaya göre çeşitlilik göstermektedir.

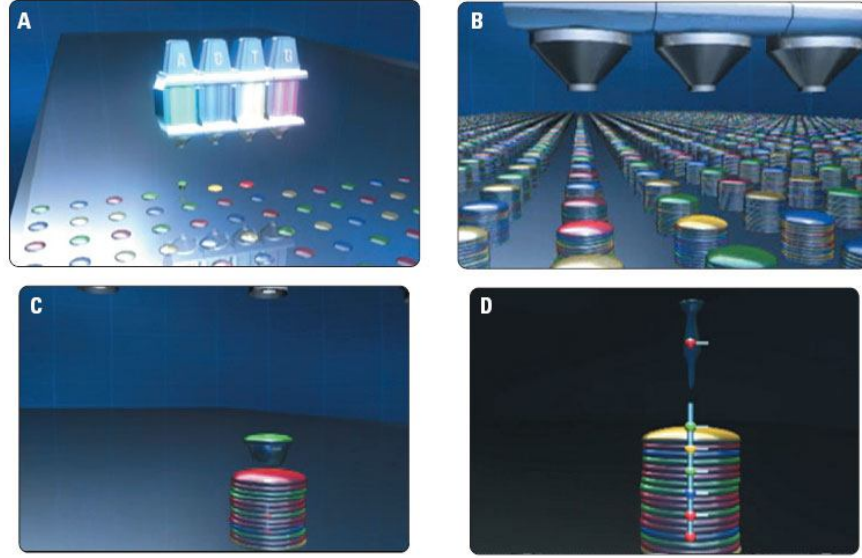
2.4.1.5.2.Noktalı Ve Oligonükleotid Array'ler

Mikroarray'ler; cam slaytlar üzerine küçük punto-noktalı iğne ile baskılama, önceden hazırlanmış kalıplar ile fotolitografi, dinamik mikroayna aygıtları kullanılarak fotolitografi, ink-jet baskılama ya da mikroelektrod array'lerde elektrokimya gibi çeşitli teknolojilerle üretilebilmektedir.

Noktalı mikroarray'lerde proplar; mRNA'lara tekabül eden oligonükleotidler, cDNA ya da PCR ürünlerinin küçük fragmentleridir. Proplar, array'ler üzerine yerleştirilmeden önce sentezlenirler ve daha sonra cam üzerine "noktalanırlar". Ortak yaklaşım; DNA probları içeren kuyucuklara daldırılan ve daha sonra her bir prob array yüzeyindeki tasarlanmış yerlere yerleştiren, robotik bir kol tarafından kontrol edilen küçük punto iğne array'lerini kullanmaktadır. Propların oluşturduğu "hat" hazırlanan propların nükleik asit profillerini göstermekte ve deneysel ya da klinik örneklerinden türetilen tamamlayıcı cDNA ya da cRNA hedeflerini almaya hazır hale gelmektedir. Bu teknik, dünyanın her yerinde araştırmacılar tarafından kendi laboratuvarlarında "in-house" baskılı mikroarray'lerin üretimi için kullanılmaktadır. Bu array'ler her bir deney için kolaylıkla tasarlanabilir, çünkü araştırmacılar array'ler üzerindeki probları ve baskılama yerlerini seçebilirler ve probları kendi laboratuvarlarında sentezleyebilirler ve array'leri lekeleyebilirler. Hibridizasyon için lekelenmiş örneklerini meydana getirebilirler, örnekleri array'ler üzerine hibritleyebilirler ve son olarak da array'leri kendi cihazlarıyla tarayabilirler. Bu durum, her çalışma için tasarlanabilen düşük maliyetli array'ler sağlar ve araştırmacının

ilgilenmediği muazzam sayıdaki genleri taşıyan pahalı ticari array'lerin alış maliyetlerini önler. Literatürde, küçük boyut ve baskılama veriminin az olmasından dolayı in-house noktalı mikroarray'in ticari oligonükleotid array'ler ile aynı seviyede hassasiyete sahip olmadığını gösteren birçok yayın bulunmaktadır.

Oligonükleotid mikroarray'lerinde proplar, bilinen ya da umulan açık okuma çerçeveleri sekanslarıyla eşleşmek için tasarlanmış kısa sekanslardır. Sıklıkla oligonükleotid propların "noktalı" mikroarray'lerde kullanılmasına rağmen, "oligonükleotid array" çoğunlukla spesifik bir üretim tekniğini tanımlar. Oligonükleotid array'ler, kısa oligonükleotid sekansların yüzey üzerine baskılanmasıyla üretilmektedir. Bu sekanslar bir geni ya da gen ailesini temsil etmektedir ve intakt sekansın yüzeye yerleştirilmesi yerine direkt olarak yüzeye sentezlenmektedir. Sekanslar, arzu edilen amaca göre uzun (Agilent tasarımında 60-mer proplar) ya da kısa (Affymetrix tarafından üretilen 25-er proplar) olabilir: uzun proplar hedef gene spesifik olurken, kısa proplar array boyunca yüksek yoğunlukta noktalanırlar ve üretilmeleri daha ucuzdur. Oligonükleotid array'lerin üretiminde kullanılan bir teknik de; ışık ve ışığa duyarlı maskeleme ajanlarının sekans oluşturmada kullanıldığı silika substrat üzerine fotolitografik sentezdir. Her bir uygulanabilir prob, array'i tek nükleotid içeren solüsyonda yıkamadan önce seçici olarak "maskesiz"dir. Daha sonra maskeleme reaksiyonları gerçekleşirken, diğer prob seti farklı nükleotid maruziyetine kalmadan önce yine maskesizdir. Birçok tekrardan sonra bütün propların sekansları oluşturulmuş olur. Sıklıkla, NimbleGen sisteminde kullanılan Maskesiz Array Sentezi, geniş prob sayısı ve esneklik sağlar.



Şekil.2.3. İnk-jet baskılama yöntemi ile oligo sentezinin genel mekanizması. A: Aktif mikroarray yüzeyi üzerine nükleotidlerin birikerek ilk tabakayı oluşturması. B: Nükleotidlerin slide üzerine basılması ile multiple tabakalar meydana gelmesi ve oligoların uzaması. C, D: Zincire yeni bir bazın eklenmesi.

(www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint_ABCD.jpg)

2.4.2. Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (aCGH) Teknolojisi

Genetik materyalin net kaybı ya da kazanımı şeklinde meydana gelen dengesiz kromozomal anormallik sonucu insanlar üzerinde birçok genetik bozukluk oluşmaktadır. Klasik olarak, sitogenetikçiler bu tür anormallikleri bireylerin kromozomlarından karyotip elde ederek ve bu karyotiplerdeki bant paternlerini analiz ederek saptamaktadırlar. Ayrıca, 1970'lerdeki gelişmelerden bu yana, bant paterninin sitogenetik analizi çeşitli konjenital anomalisi olan bireylerin klinik değerlendirilmesinde kullanılan primer tekniklerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. İdeal koşullar altında, yaklaşık 5 megabaz (Mb) büyüklüğündeki bozukluklar bant analizi ile saptanabilmektedir ki bu tür kromozomal düzenlenmeler "mikroskobik" olarak adlandırılmaktadır.

Giemsa ile boyalı metafaz kromozomlarının sitogenetik analizi, dengeli ve dengesiz yapısal ve sayısal kromozom anomalilerini saptayabilmektedir. Ancak ince kromozom düzenlenmelerini (< 4 Mb)nin saptanması için yeterince hassas değildir. Floresans *in situ* Hibridizasyon (FISH) tekniği ise, tanı çözünürlüğünü arttırmış ve bu zamana kadar kromozomal dengesizlik ve düzenlenmelerin saptanmasında kullanılan bir yöntem olmuştur. FISH analizinde, floresans işaretli DNA problrarı interfaz hücrelerine ya da metafaz kromozomlarına spesifik genomik segmentlerin varlığını, yerini ve sayısı

belirlemek amacıyla hibridize edilmektedir. Ancak, FISH analizi zaman alıcı ve ilgili kromozomal bölge hakkında aday kromozomal bölgeler (örneğin; subtelomerik bölgeler) ve ifade olmuş bölgeler (örneğin; mikrodelesyon sendromu) açısından ön bilgi gerektiren hedefli bir metoddur. FISH analizi, beklenmedik dengesizliklerin genom düzeyinde taranmasını sağlamamakta ve yalnızca klinisyen tarafından fenotipin klinik değerlendirmesi sonucu sorulan sorunun cevabını verebilmektedir.

Metafaz CGH'i başlangıçta tümör sitogenetiğinde kullanılan bir araç olarak geliştirilmiştir. Bu teknikte, hasta ve referans genomik DNA'ları farklı renkte işaretlenerek birlikte bir cam slide üzerindeki normal metafazlara hibridize edilmektedir. Farklı hibridizasyon sinyalleri ile tüm genom boyunca yaklaşık 3-10 Mb çözünürlüğündeki kromozomal düzenlenmeler bu teknik kullanılarak saptanabilmektedir.

Metafaz CGH, tanıda kullanışlı bir yöntem gibi görünmesine rağmen, tanı konulmamış gelişim geriliği ve konjenital anomali vakalarının yaklaşık %10'unu açıklığa kavuşturmuş, metafaz kromozomlarının düşük çözünürlüğü ve teknik deneyim bu teknolojinin uygulama yaygınlığını sınırlamıştır.

Klasik CGH ile ilgili bazı limitasyonların üstesinden gelmek için araştırmacılar, CGH prensibini mikroarraylerin kullanımı ile birleştirmişlerdir (Sчена ve ark., 1995).

Metafaz kromozomlarının yerini, robotik olarak cam mikroskop slide'ı üzerine metal iğne ya da cam kapiller ile sabitlenen hedef DNA'ların alması çözünürlüğü belirgin bir biçimde arttırmış ve analiz prosedürünü kolaylaştırmıştır.

Artık araştırmacılar, kromozomal dengesizlikleri tüm genomda hızlı bir tarama yapmak amacıyla array CGH (aCGH) yöntemini kullanmaktadırlar.

Moleküler Karyotipleme olarak da bilinen Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (array based Comparative Genomic Hybridization; aCGH), yüksek çözünürlük, segmental genomik kopya sayısı varyasyonlarının (CNV) genom düzeyinde taranması için geliştirilen bir tekniktir. aCGH, yüzlerce farklı genomik lokusun DNA kopya sayısı kaybı ve kazanımı açısından kapsamlı bir şekilde sorgulanmasına olanak tanımaktadır.

aCGH teknolojisi ilk olarak 1997 yılında Solinas-Toldo ve ark. Tarafından hedef dizinin cam matriks üzerine immobilize edilmesiyle ortaya çıkmıştır. Konvansiyonel CGH in üzerine kurulmuş gibi görünse de duyarlılık alanı açısından çok daha ileri bir yöntemdir. Bu alandaki gelişmeleri, 1999 yılında Pollack ve ark. tarafından array platformu üzerine cDNA dizisinin immobilize edilmesi ve DNA'daki kopya sayısındaki değişimleri genom düzeyinde ortaya çıkarmak izlemiştir. Böylece, farklı renklerdeki florokrom boyaların

kullanılması ile DNA kopya sayısındaki değişimlere bağlı olarak ortaya çıkan kromozom anomalileri, genom boyunca güvenilir bir şekilde tespit edilebilecek ve sınıflandırılacaktır.

aCGH metodunda, metafaz kromozomlarını kullanmak yerine, analizde hedef olarak kullanılan küçük DNA segmentleri ile dizilenmiş slide'lar kullanılmaktadır (Lucito *ve ark.*, 2003). Bu mikroarrayler, cam slide gibi katı bir destek üzerine küçük DNA segmentlerinin (*prob* olarak bilinirler) düzenli bir şekilde yerleştirilmesiyle tasarlanmaktadır. Problar, ilgili bölgeyi temsil eden oligonükleotidler (25-85 baz çifti)den yapay bakteri kromozomu (Bacterial Artificial Chromosomes; BAC) gibi genomik klonlara kadar değişen boyutlarda mevcuttur. aCGH klasik CGH'e göre, problemlerin metafaz kromozomlarından daha küçük olmasından dolayı daha yüksek çözünürlüğe sahiptir. Çözünürlük seviyesi, problemlerin büyüklüğüne ve DNA problemleri arasındaki genomik uzaklığa bağlı olarak belirlenir.

Son birkaç yılda aCGH'in gelişimi ve klinik uygulamaları birçok genetik hastalığın moleküler temelini aydınlatılmasını ve tanı çalışmalarını oldukça kolaylaştırmıştır. İlk olarak kanserdeki genomik denegesizliklerin araştırılmasında kullanılmak üzere araştırma tekniği olarak geliştirildikten sonra, aCGH rutinde kullanılan gerekli bir teknik haline gelmiş ve birçok laboratuvar da sitogenetik metodların yerini almaya başlamıştır.

Çizelge.2.8. Array CGH, FISH ve Karyotip analizinin teknolojik açıdan karşılaştırılması

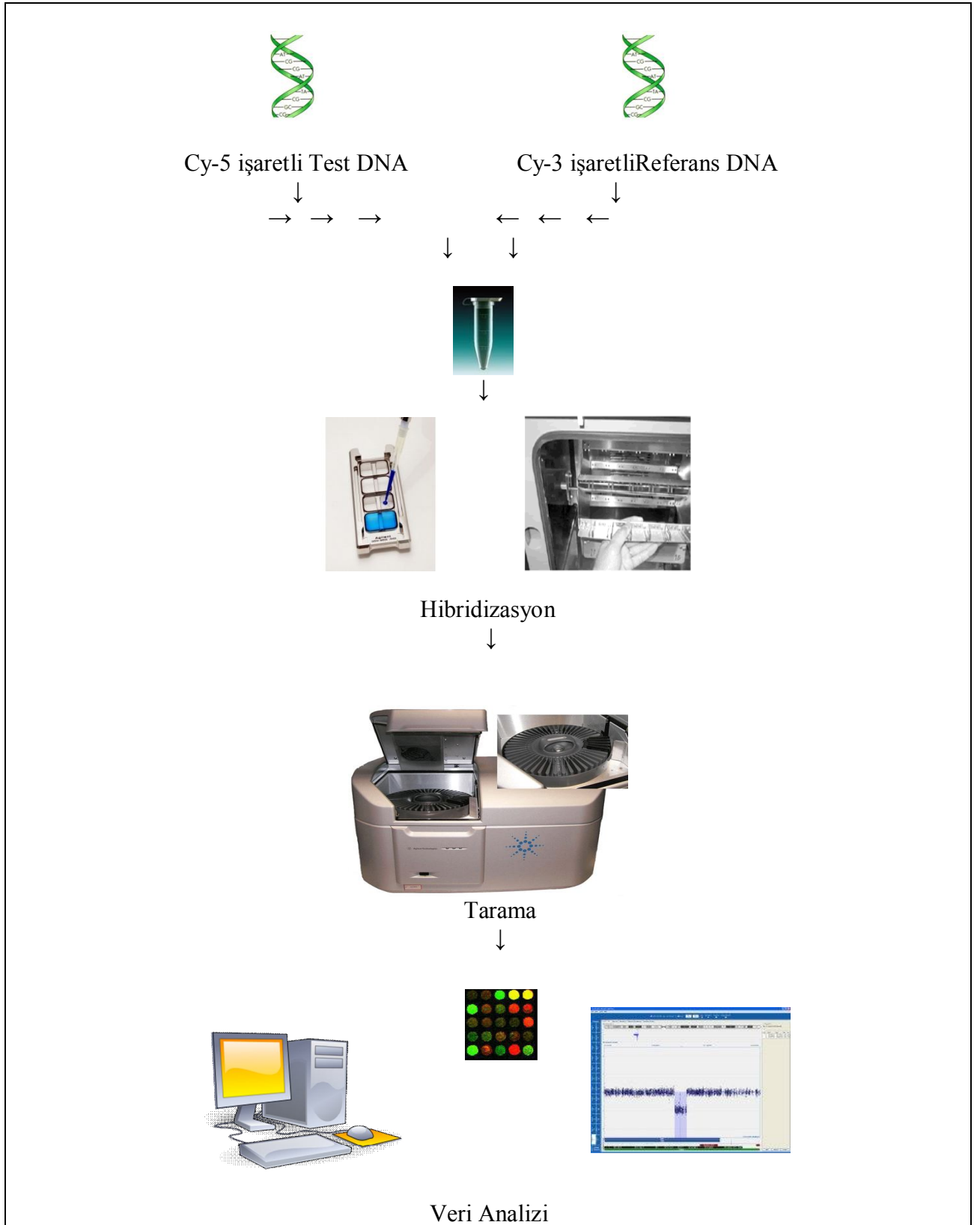
Parametre	Array-CGH	FISH	Karyotip analizi
Çözünürlük ^b	++	++	+
Analitik hassasiyet ^c	+	+++	+
Hücre bölünmesi	Gerekli değil	Gerekli değil	Gerekli
Dengeli anomalilerin saptanması	-	+	+
Çoklu klonları belirleme	-	+	+
Bilinmeyen anomalilerin saptanması	+	-	+

^a Artı ve Eksi işaretlerinin her bir metod için göreceli dereceleri belirtmektedir.

^b Saptanabilir en küçük anomali

^c Anomaliyi saptamada gerekli olan minimum anormal hücre yüzdesi (Maciejewski ve Mufti, 2008)

2.4.3. aCGH Metodolojisi



Şekil 2.4. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (aCGH) metodolojisi

aCGH’de, test örneği (kan, cilt, amniyosentez örnekleri gibi) ve referans örneğinden elde edilen eşit miktarlardaki işaretli genomik DNA’lar, birlikte DNA hedefleri içeren array’ler üzerine hibridize edilmektedir. Bazı laboratuvarlar havuzlandırılmış erkek ve dişi kontrol DNA’ları kullanırken, bazı laboratuvarlar da bireysel erkek ve dişi kontrol DNA’ları kullanmaktadır. Farklı laboratuvarlarda aynı-cinsiyet ya da karşıt-cinsiyet kontroller de kullanılmaktadır. Hasta ve kontrollere ait genomik DNA’lar Cyanine 3 (Cy3) ve Cyanine 5 (Cy5) ile farklı işaretlenmektedirler. Tekrarlı sekansların hibridizasyonları ise Cot-1 DNA ile bloke edilmektedir. Slide’lar mikroarray tarayıcıları kullanılarak görüntü dosyaları olarak taranmaktadır. Nokta yoğunlukları ölçülmekte ve görüntü dosyaları Feature Extraction yazılım programlarıyla nicel olarak değerlendirilmekte ve niceliksel analiz programından çıkan text dosyaları kopya sayısı analizleri için yazılım programlarına yüklenmektedir. Floresans yoğunluk oranları, referans ve hasta genomik DNA’larındaki DNA sekanslarının kopya sayısı ile orantılı çıkmaktadır. Bir prob üzerindeki floresans boya yoğunlukları eşit oluyorsa hasta DNA’sı ile referans DNA’nın eşit kantiteye sahip oldukları; eğer değişen bir Cy3: Cy5 oranı var ise hasta DNA’sının spesifik bir bölgesinde kayıp ya da kazanı varolduğu sonucu çıkarılmaktadır. Bu genomik dengesizlikler metafaz veya interfaz FISH analizleri, long-range ve kantitatif PZR metodları, özelleştirilmiş multipleks ligasyon prob amplifikasyonu (MLPA) deneyleri ve yüksek çözünürlüklü diğer aCGH platformları gibi diğer sitogenetik ve moleküler metodlar ile valide edilebilmektedir.

Problar (hedefler); yapay bakteri kromozomları (BAC’lar), ya da P1 (PAC) klonları (75-200 kb boyutlarında) formlarında insan genomik DNA parçaları olabildiği gibi, kozmit (30-40 kb boyutlarında) ve fozmit (40-50 kb boyutlarında) veya oligonükleotid (25-85 mer) gibi daha küçük insört klonları olabilmektedir. Farklı aCGH platformlarının genomik çözünürlüğü, DNA problemlerinin aralık ve uzunlukları ile belirlenmektedir. Birçok klinik olarak eleverişli aCGH platformu; anöploidi, tanımlı mikrolelesyon veya mikroduplikasyon sendromları ve subtelomerik veya diğer dengesiz kromozomal düzenlenmeleri saptamak için tasarlanmış “targeted mikroarrayler”dir. Ayrıca hedeflerin 1 klon/Mb ya da 1 klon/100 kb gibi olacak şekilde eşit aralıklarla genomu örttüğü tam-genom aCGH platformları da mevcuttur. Ticari tam-genom oligonükleotid arraylerinde 1 prob/6kb’den 1 prob/70 kb’ye kadar olanları mevcuttur. Bazı klinik açıdan elverişli aCGH’ler BAC’ları taklit eden veya rastgele genomik sekansları hedef alan oligonükleotidlerden oluşmuştur. Ortalama BAC boyutundan daha küçük değişimleri

değerlendirebilen “Focused” ya da tam-genom oligonükleotid arrayleri kullanmanın avantajı, yüksek çözünürlük ve geliştirilmiş dinamik aralıktır (sinyal/gürültü oranı).

Test örneğinden (kan hücreleri, cilt hücreleri, fetal hücreler gibi) DNA izole edilmektedir. Kontrol (referans) örneği DNA’sı farklı bir floresans boya ile boyanırken test DNA’sı spesifik başka bir renkteki floresans boya ile boyanmaktadır. Test ve referans genomik DNA’ları birleştirilerek mikroarrayler üzerine uygulanmaktadır. DNA’lar denatüre edildikten sonra tek zincirli olduklarından dolayı, slide üzerine yayıldıklarında dizilenmiş tek zincirli probler ile hibridize olmaktadır. Daha sonra, dijital görüntüleme sistemleri yardımıyla slide’in bir resmi çekilmekte ve her bir hedefe hibridize olan işaretli DNA problerinin göreceli floresans şiddetleri ölçülmektedir. Test ve referans hibridizasyon sinyallerinin floresans oranı, genom boyunca farklı pozisyonlarda tanımlanır ve normal genoma göre test genomunda meydana gelen kopya sayısı değişimleri hakkında göreceli bilgi vermektedir. İnsan genomunun son sekanslanması ve genetik materyalin katı bir yüzeyde robotik olarak taranmasında kullanılan yüksek verimlilikteki methodların gelişimi benzeri görülmemiş bir düzeyde submikroskopik kromozomal delesyon ve duplikasyonlar tespitini kolaylaştırmaktadır (DeRisi *ve ark.*, 1996; Schena *ve ark.*, 1995; Shaffer *ve ark.*, 2007).

2.4.4. aCGH Teknolojisinin Avantaj ve Dezavantajları

aCGH teknolojisinin primer avantajı, array üzerindeki temsili lokuslarda anöploidi, delesyon, duplikasyon ve/veya amplifikasyonları aynı anda tarayabilmesidir. Bu tekniğin kullanılmasıyla gerçekleştirilen bir deney binlerce FISH analizine eşdeğerdedir, aynı zamanda emek ve masraftan da tasarruf edilmektedir. Bunun yanı sıra, aCGH’in idiopatik mental retardasyon ve çeşitli doğum hasarları olan bireylerde submikroskopik kromozomal anomalilerin saptanmasında kullanılan güçlü bir araç olduğu kanıtlanmıştır. Birçok geniş ölçekli çalışma, aCGH’in mental retardasyon /gelişim geriliği olan bireylerde kromozomal anomalileri 10%–20% oranında saptadığını göstermişlerdir. Bu anomalilerin yalnızca 3%–5% kadarı diğer yöntemlerle saptanabilmiştir (Shaffer *ve ark.*, 2007).

aCGH’in temel dezavantajı, dengeli düzenlenmeleri saptayamamasıdır. Kopya sayısı varyasyonları (Copy Number Variation; CNV) ise aCGH’in şüphe uyandıran kısmıdır. CNV’ler fenotipik olarak normal bireylerde bulunmuştur ve genel populasyonda yüksek frekansta görülebilirler. CNV’ler çoğunlukla kalıtsaldır ve genomun önemli bir kısmını teşkil edebilirler. Tahmin ettiğimizden çok daha fazla CNV olduğu ve CNV’lerin çok daha

sık görüldüğü düşünülmektedir. CNV'lerin nasıl genetik varyabiliteye neden olduğu da henüz kesinlik kazanmış değildir.

2.4.5. aCGH İLE Spesifik Kromozomal Bölgelerin Çalışılması

aCGH multiple anomalilerin aynı anda saptanmasını sağlayıp klasik sitogenetik metodlarına göre daha yüksek çözünürlük sunduğundan dolayı araştırmacılar kromozomların belirli bölgelerindeki düzenlenmelere odaklanmışlardır. Son yıllarda, aCGH subtelomerik ve perisentromerik düzenlenmelerde oldukça kullanışlı olmaktadır.

Subtelomerik düzenlenmeler üzerine yapılan çalışmalar, aCGH'in insan genomunun kompleksliği hakkında beklenmedik oranda bilgi sunmuştur. 13, 14, 15, 21, 22. kromozomların kısa kolları ve subtelomerik bölgeler çalışmaların büyük bir kısmını oluşturmaktadır, çünkü bu bölgeler gen bakımından oldukça zengindir (Saccone ve ark., 1992) ve birçok mekanizma tarafından yeniden düzenlenmeye meyildir (Ballif ve ark., 2003, 2004). Bunun yanı sıra, subtelomerik bölgelerdeki yeniden düzenlenmeler idiopatik mental retarde bireylerde yüksek oranda anomali göstermektedir.

aCGH, her kromozomda tekrarlı sentromerik bölgelere doğrudan komşu olan perisentromerik bölgelerin yeniden düzenlenmelerini de saptamaya olanak tanımaktadır. Perisentromerik bölgeler instabiliteye meyillidiler, dolayısıyla Williams, DiGeorge ve Prader-Willi sendromlarına neden olanları gibi birçok mikrodelyasyon bu bölgelerde gerçekleşmektedir. Yüksek derecede tekrarlı dizi içerdiklerinden ve klasik G-bantlama ile tanımlanmaları değişkenlik gösterdiğinden bu bölgelerin kromozom analizi ile değerlendirilmeleri oldukça zordur. Dizayn edilen yeni mikroarrayler sayesinde perisentromerik bölgelerdeki kopya sayısı değişimleri saptanabilmektedir.

3. GEREÇ-YÖNTEM

3.1. Yöntem

Çalışmada, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarına rutin tanı amaçlı genetik inceleme için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Nörolojisi Polikliniği tarafından sevk edilen, 2-6 yaşındakilerin Stanford- Binet, 6 yaş üzerindeki WISC-R testleriyle mental retardasyon tanısı/öntanısı almış ya da mental retardasyon klinik bulgusu olan 0-18 yaş arası hastalar arasından, cinsiyet farkı ve sendromik ya da non-sendromik oluşu gözetmeksizin 52 hasta yer aldı. Herbir hastadan mor kapaklı EDTA'lı hemogram tüpüne yaklaşık 2 cc. periferik kan alındı ve kan materyalinin 400 uL kadarı aCGH çalışması için genomik DNA izolasyonunda kullanıldı. DNA izolasyonu sırasında DNeasy Blood&Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) kullanıldı. DNA kalitesi agaroz jel elektroforezi ile kantitesi ise spektrofotometre (NanoDrop ND-1000; NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) kullanılarak tayin edildi. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH array) platformu olarak CytoSure (Oxford Gene Technology, Oxford, UK) kullanıldı. Yeterli kalite ve kantiteye sahip hasta DNA'sı ve referans DNA (Human Genomic DNA: Male/Female; Promega Corporation, Madison, USA) CytoSure protokolüne uygun olarak işaretlendi (işaretlenme verimi:1,50-3.00). İşaretlenen hasta DNA'sı ile referans DNA birleştirildi ve protokole uygun olarak CytoSure Syndrome Plus ISCA Design (v2) Microarray 4x44K (Oxford Gene Technology, Oxford, UK) formatındaki mikroçipler ile hibridizasyon fırınında (Agilent Microarray Oven; Agilent Technologies, Palo Alto, CA) 65°C'de 24 saat boyunca hibridizasyona bırakıldı. Hibridizasyon süresi sonunda CytoSure protokolüne uygun olarak yıkanan mikroçipler, Agilent Mikroarray tarayıcı (Agilent Microarray Scanner; Agilent Technologies, Palo Alto, CA) ile tarandı. Görüntü yoğunluğu verileri kaydedildi ve metin dosyaları içine transfer edildi (Feature Extraction (FE) software A.4.0.45; Agilent Technologies, Palo Alto, CA). Veriler, Agilent Feature Extraction yazılım programından toplandı ve CytoSure Analysis Software v.3.0.6 yazılımı (Oxford Gene Technology, Oxford, UK) kullanılarak normalize edildi. Normalize veriler, CGH array için nokta değişim tanımlama tekniği olarak geliştirilen CBS (Circular Binary Segmentation) ile analiz edildi. Analiz esnasında minimum delesyon ve duplikasyon eşik değeri olarak log₂'de 0,3 kullanıldı. Analiz sonrası elde edilen görüntü ve gen listesi kaydedildi.

Çalışmanın etik açıdan uygunluğu, Kocaeli Üniversitesi Etik Kurulu tarafından değerlendirildi ve onaylandı. Çalışmaya alınan her hastanın aileleri aydınlatılmış onam formunu imzalamış ve çalışmada yer almayı kabul etmiştir.

3.1.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Kullanılan Malzemeler:

- QIGEN DNeasy Blood&Tissue Kit (50) Cat No:69504
 - QIAGEN Proteinase K Cat No: 19133-10 mL
 - MERCK Ethanol Absolute GR for analysis, 2.5 L Cat No: 1.009.832.500
 - % 80'lik etanol
 - AppliChem Water (Molecular biology grade), 500 mL CAS-No:7732-18-5
 - 1,5 mL'lik Eppendorf tüp
1. 1,5 mL'lik eppendorf tüpe 40 uL Proteinase K, 400 uL kan ve 400 uL Buffer AL pipetlendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi.
 2. Karışım, 56°C ısıtıcı blokta 10 dak. inkübe edildi.
 3. İnkübasyon sonrasında karışıma 400 uL absolute alkol eklendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi.
 4. Karışımın tümü DNeasy Mini Spin kolonuna eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi. (Kolon karışımın tamamını almadığı takdirde işlem 2 kez tekrarlandı.)
 5. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı. Filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
 6. Filtreye 500 uL uL % 80'lik etanol eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
 7. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı ve filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
 8. Filtreye 500 uL AW1 eklendi ve 8000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
 9. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı, yeni bir collection tüp alındı.
 10. Filtreye 500 uL % 80'lik etanol eklendi ve 14 000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
 11. Toplanan sıvı atıldı. Tüp boş haliyle 20 000 g'de 3 dak. santrifüj edildi.
 12. Filtre 1,5 mL'lik eppendorf tüpü içine yerleştirildi ve 100 uL nuclease içermeyen su eklendi.
 13. Oda sıcaklığında 1 dak. inkübe edildi ve 10 000 g'de 1 dak. santrifüj edildi.
Filtre atıldı, eppendorf tüp içerisinde toplanan DNA -20°C'de muhafaza edildi.

3.1.2. DNA'ların Kantite ve Kalite Tayini

DNA'nın kantitesi NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE) cihazında DNA-50 opsiyonu kullanılarak yapıldı. DNA'ların 260/280 oranlarının 1,8-2,0 arası; 260/230 oranlarının ise 2,0 ve üzeri olmasına dikkat edildi.



Şekil.3.1. NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE)

DNA'ların kalite tayinleri agaroz jel elektroforez yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla % 1'lik agaroz jel hazırlamak için 0.5 g agaroz tartılarak 50 ml 1×TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) içerisinde kaynatılarak çözüldü. Katılaşmayacak kadar soğutulan agaroz çözeltisi tarak ihtiva eden jel tablasına dökülerek jelin polimerleşmesi beklendi. Jel katılaştıktan sonra, tarak çıkarılarak içerisinde 1×TBE tamponu bulunan elektroforez tankı içerisine yerleştirildi. Jelin ilk kuyusuna DNA markır yüklendi. Jel elektroforez tankı güç kaynağına bağlandı ve jel 1 saat süre ile 100 Volt akım uygulanarak yürütüldü. DNA'ların, intakt olmasına dikkat edildi.

3.1.3. aCGH Metodu

Gerekli Malzemeler

- Kreatech aCGG ULS Labelling kit

Cy3-ULS

Cy5-ULS

Labelling buffer

KreaBlock

Kreapure Columns

- Agilent Hybridisation Kit

10X CGH blocking buffer

2XHybridization Buffer

- Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K array
- 4X44K Gasket slides
- Agilent CGH Wash Buffer 1
- Agilent CGH Wash Buffer 2
- Human CotI 1mg/uL (Invitrogen)
- Referans DNA-Male (250 ng/uL) Promega
- Referans DNA-Female (250 ng/uL) Promega
- 500 ng hasta DNA'sı
- 0,2 mL'lik PZR tüpü
- 1,5 mL'lik Eppendorf tüpleri

3.1.3.1 DNA'nın İşaretlenmesi

0,2 mL'lik PZR tüplerine DNA'lar aşağıdaki tablodaki miktarlara göre pipetlendi.

Materyal	Hasta	Referans
DNA	500 ng=x uL	2 uL
Nukleaz içermeyen su	8-x uL	6 uL
Toplam Hacim	8 uL	8 uL

1. DNA PZR cihazında 95°C'de 10 dak. boyunca ısı ile fragmente (Heat Fragmentation) edildi.
2. Fragmentasyon süresi sonunda 3 dak. buzda inkübe edildi.
3. Ayrı bir tüpte Master mix hazırlandı.

Materyal	Reaksiyon başına (Cy5)	Reaksiyon Başına (Cy3)
Nukleaz içermeyen su	0,5 uL	0,5 uL
ULS-Cy3	-	0,5 uL
ULS-Cy5	0,5 uL	-
10X Labelling solution	1 uL	1 uL

4. Master Mix'ten 2'şer uL DNA'lara eklendi.
5. Tüpler PZR cihazında 85°C'de 30 dak. boyunca ULS'e göre işaretlendi.

6. Süre sonunda 3 dak. boyunca buzda inkübe edildi.
7. 16000 x g'de 1 dak. santrifüj edildi.
8. Her bir tüpe 10 uL nükleaz içermeyen su eklendi.

3.1.3.1.1. DNA'NIN Pürifikasyonu

1. Her bir tüpe 1,5 mL'lik Eppendorf tüp hazırlandı.
2. Kreapure kolonları, kapakları üzerinde vortekslendi.
3. Kapağı ¼ oranında çevirilerek 2 mL'lik collection tüplerine yerleştirildi ve 16000 x g'de 1 dak. santrifüj edildi.
4. Collection tüplerinde toplanan sıvı atıldı ve her bir kolona 300 uL nükleaz içermeyen su pipetlendi.
5. 16000 x g'de 1 dak. santrifüj edildi.+
6. Her bir kolon 1,5 mL'lik Eppendorf tüplerine yerleştirildi ve kolonların tam ortasına işaretlenen DNA'lar pipetlendi.
7. Kapak ¼ oranında kapatıldı ve 16000 x g'de 1 dak. santrifüj edildi.
8. Kolonlar atıldı ve NanoDrop ND-1000 cihazında, DNA-50 opsiyonunda, 2 uL işaretli DNA ile kantite ölçümleri yapılır.

NanoDrop'ta pmol/uL ve ng/uL oranları dikkate alındı. Bu oranlar yardımıyla DOL (Degree Of Labelling) değeri hesaplandı.

$$DOL = 340 \times \text{pmol/uL}$$

$$\text{ng/uL} \times 10$$

DOL %1-2,5 aralığında olmalıdır.

3.1.3.1.2. Örneklerin Kurutulması

1. Her bir hasta DNA'sı ile Referans DNA'sı aynı tüpte birleştirildi (toplam hacim yaklaşık olarak 37 uL olur).
2. Tüpte sadece işaretli DNA'ya ait pellet kalacak şekilde Speedvac cihazında 45°C'de, 30 dak. boyunca yüksek vakumda santrifüj edildi.
3. Süre sonunda işaretli DNA'lara 22 uL nükleaz içermeyen su eklendi.

3.1.3.2 Hibridizasyon

1. Hibridizasyon mix'i hazırlandı.

Materyal	Hibridizasyon 1
İşaretili DNA	22 uL
CotI	5 uL
Agilent 100X Blocking Agent*	1 uL
Agilent 2X Hybridisation Buffer (HİRPM)	55 uL

*100X Blocking Agent'in Hazırlanışı: Agilent hibridizasyon kitinden çıkan tüpe 135 uL nükleaz içermeyen su eklendi, vortekslendi ve 1 sa. boyunca oda sıcaklığında inkübe edildi. Karışım -20°C'de muhafaza edildi.

2. Her bir tüp PZR cihazında 94°C'de 3 dak. boyunca denatürasyona bırakıldı.
3. Süre sonunda 37°C'de 30 dak. inkübasyona bırakıldı.
4. Her bir tüpe 27 uL KreaBlock eklendi.
5. Hibridizasyon chamber içine gasket slide yerleştirildi ve hastalara özgü array alanlarına tüplerden 100 uL pipetlendi.
6. Hangi hasta hangi alana pipetlendiyse slide düzenine göre kayıt edildi.
7. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide Agilent tarafı alta, barkod kısmı üste bakacak şekilde gasket slide üzerine yerleştirildi.



Şekil.3.2. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide



Şekil 3.3. Syndrome Plus ISCA Design (v2) slide ve gasket slide



Şekil 3.4. Gasket slide'in Hibridizasyon chamber üzerine yerleştirilmesi

8. Önceden ısıtılmış Hibridizasyon Fırını içerisinde 65°C’de, 20 rpm’de, en az 24 sa. boyunca hibridizasyona bırakıldı.

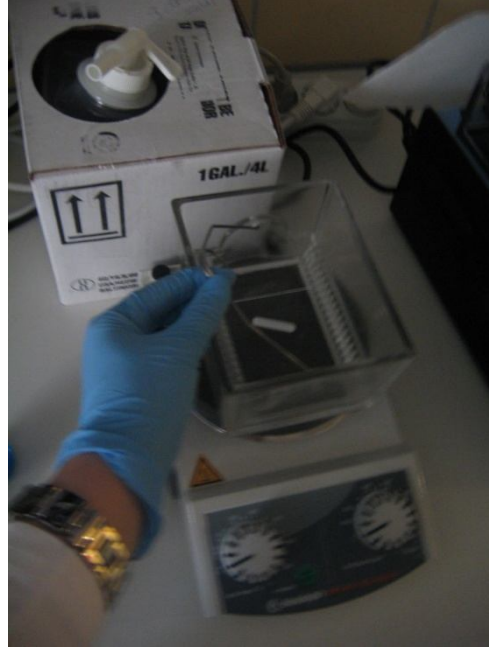


Şekil 3.5. Agilent Hibridizasyon Fırını

3.1.3.3 Yıkama

1. 3 adet 500 mL’lik cam yıkama kabı çıkarıldı.
2. Wash Buffer 2’nin konulacağı kap 37°C’deki etüvde yıkama işlemine kadar bekletildi.
3. Yıkama aşaması aşağıdaki koşullarda gerçekleştirildi.

Cam Kap No	Buffer	Koşul	İşlem
1	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığı	Gasket slide ile Syndrome Plus ISCA Design (v2) slide’ı pens yardımıyla birbirinden ayrıldı
2	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığı 5 dak Manyetik karıştırıcı ile	Syndrome Plus ISCA Design (v2) slide yıkandı
3	Wash Buffer 2	37°C 1 dak Manyetik karıştırıcı ile	Syndrome Plus ISCA Design (v2) slide yıkandı



Şekil.3.6. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide'ın yıkanması

4. Yıkama işlemi sonunda yüksek basınçlı O₂ gazıyla slide'lar kurutuldu ve hemen tarama işlemine geçildi.

3.1.3.4 Tarama

1. Slide'lar Agilent kısımları üste gelecek şekilde tarayıcı kasetlerine yerleştirildi.



Şekil.3.7. Syndrome Plus ISCA Design (v2) 4X44K slide'ın tarayıcı kasetlerine yerleştirilmesi

2. Tarayıcı karuselinde “Home” pozisyonu haricindeki numaralı her yere slide’lar yerleştirilebilir.



Şekil.3.8. Slide taşıyan kasetlerin tarayıcıya yerleştirilmesi

3. Agilent tarayıcı yazılım programı, masaüstündeki “Agilent Scan Control” ikonu yardımıyla açıldı.
4. Tarama işlemi aşağıdaki ayarlara göre yapıldı.

Slide	Slide’lar karusel üzerinde kaç numaralı pozisyonlarda yerleştirilmişse işaretlendi
Tarama alanı (Scan Region)	61 x 21.6 mm
Channels (Kanallar)	Red&Green
Resolution (Rezolüsyon)	5 um
TIFF	16 bit
PMT	%100
XDR	İşaretlenmeyecek
Browse	Tarayıcıdan çıkan görüntünün kayıt yeri seçildi

5. Ayarlama işlemi bitince “Scan Slot” ikonuna basılır ve tarama işlemi başlatıldı.



Şekil.3.9. Agilent Mikroarray Tarayıcısı G2505B Modeli

3.1.4. Veri Analizi

Agilent Mikroarray tarayıcısının çıktısı, TIF uzantılı bir dosyadır. Bu dosya, Feature Extraction yazılım programı ile ekstrakte edildiğinde txt, xml, pdf gibi uzantısı olan ve slide hakkında çeşitli bilgiler içeren dosyalar oluşturuldu. Bu dosyalardan pdf uzantılı olanlar, kalite kontrol (QC-Quality Control) dosyaları olup hibridizasyonun kalitesi hakkında çeşitli parametreler sunmaktaydı. En doğru sonuçların elde edilmesi açısından QC dosyalarındaki parametreler kontrol edildi. Veri analizini olumsuz yönde etkileyebilecek en önemli parametre DLRS (Derivative Log Ratio Spread)'tir. Bu değer iki prob arasındaki gürültünün log oranı cinsinden hesabıdır. Bu değer 0,2'den küçük ya

da 0,2-0,3 aralığında olması gerekmektedir. 0,3'ten büyük olan değerler yıkama aşamasında problem olduğuna ve verinin analiz edilemeyecek kadar gürültülü olduğuna işaret etmektedir. Deneylerimizde DLRS değerlerinin 0,3'ün altında bulunduğu gözlenmiştir.

Kalite bakımından kontrol edilen hasta örneklerine ait, txt uzantılı dosyalar Cytosure Analysis yazılım programına (3.0.6 versiyonu) girildi ve veriler normalize edildi. Normalize veriler, CGH array için nokta değişim tanımlama tekniği olarak geliştirilen CBS (Circular Binary Segmentation) ile analiz edildi. Analiz esnasında minimum delesyon ve duplikasyon eşik değeri olarak \log_2 'de 0,3 kullanıldı. Analiz sonrası elde edilen görüntü ve gen listesi kaydedildi.

4. BULGULAR

Çalışmada, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarına Mart 2009- Ocak 2010 tarihleri arasında rutin tanı amaçlı genetik inceleme için Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Nörolojisi Polikliniği tarafından sevk edilen, 2-6 yaşındakilerin Stanford- Binet, 6 yaş üzerindeki WISC-R testleriyle mental retardasyon tanısı/öntanısı almış ya da mental retardasyon klinik bulgusu olan 0-18 yaş arası hastalar arasından, cinsiyet farkı ve sendromik ya da non-sendromik oluşu gözetmeksizin 52 hasta yer aldı. 52 hastanın 25'i (% 48.1) dişi, 27'si (% 51.9) erkek bireylerden oluşmaktaydı. Hastaların yaş ortalaması 8.0 olarak saptandı. Hastalardan 8'inde (% 15.4) hafif mental retardasyon, 2'sinde (% 3.8) ağır mental retardasyon görüldü. Orta mental retardasyon hiçbir hastada görülmedi. 42 (% 80.8) hastaya ait mental retardasyon seviyesi hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktaydı. Hastaların 34'ünde (% 65.4) fasiyal dismorfik bulgu mevcut iken 18'inde (% 34.6) herhangi bir dismorfik bulgu görülmedi. Dismorfik bulguları bilinen hastalar arasındaki bulguların hasta bazındaki dağılımı Çizelge. 4.1'de gösterilmektedir. Hastalar arasında akraba evliliğine ilişkin dağılım Çizelge.4.2'de gösterilmektedir. 10 hastada non-sendromik mental retardasyon, 28 hastada mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulgular, 8 hastada mental retardasyon ve epilepsi, 6 hastada ise mental retardasyon, epilepsi ve dismorfik bulgular bulunmaktaydı.

Çizelge.4.1. Dismorfik bulguların hastalar üzerindeki dağılımı

Dismorfik Bulgu	Hasta Sayısı ve % Oranı
Epikantus	3 (% 13)
Mikrosefali	3 (% 13)
Tubuler Burun	8 (% 34.8)
Basık Burun Kökü	2 (% 8.7)
Simian Çizgisi	1 (% 4.3)
Hafif Yukarı Çekik Palpebral Fissurler	1 (% 4.3)
Küçük Kulaklar	1 (% 4.3)
Hafif Prognati	1 (% 4.3)
Aşağı Çekik Palpebral Fissurler	3 (% 13)
Büyük Kulaklar	1 (% 4.3)
Bozuk Diş Yapısı	3 (% 13)
Yüksek Damak	4 (% 17.4)
Prognati	3 (% 13)
Badem Şeklinde Göz Yapısı	1 (% 4.3)
Sol Kulak Kepçesinde Pit	1 (% 4.3)
Belirgin Alın	1 (% 4.3)
Çekik Gözler	1 (% 4.3)
Sol Gözde Kayma	1 (% 4.3)
Uzun Filtrum	1 (% 4.3)
Düz Filtrum	2 (% 8.7)
Klinodaktili	2 (% 8.7)
Retrognati	4 (% 17.4)
Bitemporal Basıklık	1 (% 4.3)
Hipertelorizm	1 (% 4.3)
Yukarı Çekik Palpebral Fissurler	3 (% 13)
Kısa Filtrum	2 (% 8.7)
Bulböz Burun	1 (% 4.3)
5. Parmak Klinodaktili	1 (% 4.3)
Hidrocefali	1 (% 4.3)
Dextrokardi	1 (% 4.3)
Situs Inversus Totalis	1 (% 4.3)
Derin Yerleşimli Gözler	1 (% 4.3)
Yana Çekik Palpebral Fissurler	1 (% 4.3)
Happy Puppet	1 (% 4.3)
İnce-Uzun Parmaklar	2 (% 8.7)
Yüksek-Dar Damak	2 (% 8.7)
Hipotelorizm	1 (% 4.3)
Fallot Tetralojisi	1 (% 4.3)
Displastik Ala Nasiller	1 (% 4.3)
Küçük Ağız	1 (% 2.9)
Uzun Yüz	1 (% 2.9)
Dar Alın Yapısı	1 (% 2.9)
Mikrognati	1 (% 2.9)
Aşağı Çekik Fissurler	1 (% 2.9)
Bilateral Epikantus	1 (% 2.9)

Çizelge.4.1. Dismorfik bulguların hastalar üzerindeki dağılımı (DEVAM)

Dismorfik Bulgu	Hasta Sayısı ve % Oranı
Sırtta Tüylenme	1 (% 2.9)
Ala Nasilleri Geçen Burun Ucu	1 (% 2.9)

Çizelge.4.2. Çizelge. 52 mental retarde bireye ait özellikler

Özellik	Değer ^a	
Cinsiyet	Dişi	25 (% 48.1)
	Erkek	27 (% 51.9)
Mental Retardasyon Seviyesi	Hafif	8 (% 15.4)
	Orta	-
	Ağır	2 (% 3.8)
	Bilinmiyor	42 (% 80.8)
Akraba Evliliği	Var	12 (% 23.1)
	Yok	23 (% 44.2)
	Bilinmiyor	17 (% 32.7)
Fasiyal Dismorfik Bulgular	Bulgu Var	34 (% 65.4)
	Bulgu Yok	18 (% 34.6)

^a Aksi belirtilmediği sürece hasta sayısını ve % dağılımını belirtmektedir.

Yapılan aCGH çalışmaları sonucunda; 38 (% 73) hastada genomun çeşitli bölgelerinde çeşitli boyutlarda aberasyonlar saptanmıştır. 14 (% 27) hastada ise herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır. Non-sendromik mental retarde hastaların 7'sinde (% 70) (Çizelge. 4.3), mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları olan hastaların 22'sinde (% 78.6) (Çizelge.4.4), mental retarde ve epilepsi hastalarının 7'sinde (% 87.5) (Çizelge.4.5) ve mental retardasyona eşlik eden epilepsili ve dismorfizmli hastaların 2'sinde (% 33.3) (Çizelge.4.6) genomun çeşitli yerlerinde farklı boyutlarda aberasyonlara rastlanmıştır. En sık görülen aberasyon hemen hemen her hastada farklı boyutlar sergileyen 16p11.2 bölgesindeki delesyon olmuştur (toplam 52 hasta arasından 15 kişide görülmüştür). Aberasyonların hasta bazındaki dağılımları, kromozom lokasyonları, başlangıç ve bitiş noktaları ile Mb seviyesindeki büyüklükleri, aberasyon içerisindeki önemli OMIM genleri (mevcut ise) ve aberasyonun tekabül ettiği sendrom bölgeleri (mevcut ise) Çizelge.4.6'da gösterilmektedir. Dismorfik bulguları bilinen hastalar arasındaki aberasyonların dağılımı ise Çizelge.4.7'de verilmektedir.

Çizelge.4.3. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon (Non-sendromik) olan 10 hastadan elde edilen veriler

Kromozom No	Aberasyon	Başlangıç	Bitiş	Boyut (Mb)	Aberasyon içerisinde yer alan önemli OMIM Genleri	Aberasyon içerisinde yer alan Sendrom Bölgesi	Aberasyonun görüldüğü hasta sayısı ve yüzdesi
8	del(8)(p23.1)	6905456	7727586	0.822	-	-	1 (% 10)
16	del(16)(p11.2)	31974463	33769613	1.795	-	-	6 (% 60)
		31974463	33841424	1.866	-	-	
		31977857	34054687	2.076	-	-	
		31977857	33841424	1.863	-	-	
		31974463	33868735	1.894	-	-	
X	del(X)(p22.33)	31977857	34054687	2.076	-	-	1 (% 10)
		2710078	2805860	0.095	XG	-	
X	del(X)(q27.1)	139412742	139415410	0.0020	-	-	1 (% 10)

❖ Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon (Non-sendromik) olan 10 hastanın 3'ünde (% 30) herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır.

Çizelge.4.4. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm olan 28 hastadan elde edilen veriler

Kromozom No	Aberasyon	Başlangıç	Bitiş	Boyut (Mb)	Aberasyon içerisinde yer alan önemli OMIM Genleri	Aberasyon içerisinde yer alan Sendrom Bölgesi	Aberasyonun görüldüğü hasta sayısı ve yüzdesi
2	dup(2)(q22.3)	144898448	144985591	0.087	ZEB2	Mowat-Wilson? Hirschsprung Disease Plus	1 (% 3,6)
5	del(5)(p14.3)	20729563	21759656	1.03	-	-	1 (% 3,6)
5	del(5)(q13.3-q14.1)	74613669	77231375	2.617	HMGCR	-	1 (% 3,6)
5	del(5)(q14.3-q15)	90694868	92306124	1.611	-	-	1 (% 3,6)
5	del(5)(q15)	94180161	95950127	1.769	PCSK1	-	1 (% 3,6)
7	del(7)(q11.23)	75823444	76648742	0.82	-	-	1 (% 3,6)
7	del(7)(q21.3)	96922334	97325521	0.403	-	-	1 (% 3,6)
8	del(8)(p23.1)	6928936	7727586	0.798	-	-	1 (% 3,6)
9	del(9)(p23-p22.3)	14014160	16167989	2.153	-	-	1 (% 3,6)
14	dup(14)(q21.3)	47567681	48143730	0.576	-	-	1 (% 3,6)
16	del(16)(p13.3)	795403	976470	0.181	-	-	1 (% 3,6)
16	del(16)(p11.2)	31977857	34054687	2.076	-	-	8 (% 28.6)
		31974463	33841424	1.866	-	-	

16	del(16)(p11.2-p11.1)	31977857	34397220	2.419	-	-	3 (% 10,7)
		31974463	33769613	1.795	-	-	
		32862230	33769613	0.907	-	-	
		31977857	33769613	1.791	-	-	
		31974463	33769613	1.795	-	-	
		31974463	33868735	1.394	-	-	
		34054628	35004834	0.95	-	-	
17	del(17)(p11.2)	31567512	34471321	2.903	-	-	2 (% 7,1)
		32191055	34524647	2.333	COL2A1, VDR	-	
		17334048	19918260	2.584	AKAP10, LLGL1, ATPAF2, MYO15A, ALDH3A2, RAI1	Smith-Magenis	
		16663726	20331759	3.568	MYO15A, TNFRSF13B, ATPAF2, RAI1, AKAP10, ALDH3A2, LLGL1, FLCN		
		45896463	46655653	0.759	SOX9	-	
		17021420	19787610	2.766	GP1BB, SNAP29, RTN4R, COMT,	diGeorge/VCF	
21	del(21)(q22.3)						1 (% 3,6)
22	del(22)(q11.21)						1 (% 3,6)

						TBX1, DGCR2, PRODH		
X	dup(X)(p22.2)	11201632	11823757	0.62		AMELX	-	1 (% 3,6)
X	dup(X)(p22.31)	6564861	7892908	1.328		STS	-	1 (% 3,6)
X	del(X)(q21.1)	81966290	83108172	1.141		-	-	1 (% 3,6)
X	del(X)(q27.1)	139412742	139415410	0.0020		SOX3	X'e bağılı ZG	3 (% 10,7)
		139412286	139414662	0.0020		ZIC3	-	
		139412742	139497502	0.084		SOX3	X'e bağılı ZG	
X	dup(X)(q27.3)	146218384	146837335	0.618		FMR1	-	1 (% 3,6)

❖ Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm olan 28 hastanın 6'sında (% 21.4) herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır.

Çizelge.4.5. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Epilepsi olan 8 hastadan elde edilen veriler

Kromozom No	Aberasyon	Başlangıç	Bitiş	Boyut (Mb)	Aberasyon içerisinde yer alan önemli OMIM Genleri	Aberasyon içerisinde yer alan Sendrom Bölgesi	Aberasyonun görüldüğü hasta sayısı ve yüzdesi
1	dup(1)(p34.3-p34.2)	34557599	41149151	6,591	COL9A2, PPT1, GJB4, KCNQ4, ZMPSTE24, GJB3, COL8A2	-	1 (% 12.5)
2	del(2)(p11.2-p11.1)	88960923	91050997	2.09	IGKC	-	1 (% 12.5)
2	del(2)(q37.3)	242504957	242651761	0.146	-	-	1 (% 12.5)
13	dup(13)(q12.3)	29181691	29664816	0.483	-	-	1 (% 12.5)
14	del(14)(q22.3-q23.1)	56692657	57467179	0.774	-	-	1 (% 12.5)
16	del(16)(p11.2)	31974463	33769613	1.795	-	-	1 (% 12.5)
X	dup(X)(p22.33)	1804303	2133458	0.329	-	-	1 (% 12.5)
X	dup(X)(q26.2)	130503486	130790802	0.287	-	-	1 (% 12.5)

❖ Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Epilepsi olan 8 hastanın 1'inde (% 12.5) herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır.

Çizelge.4.6. Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm + Epilepsi olan 6 hastadan elde edilen veriler

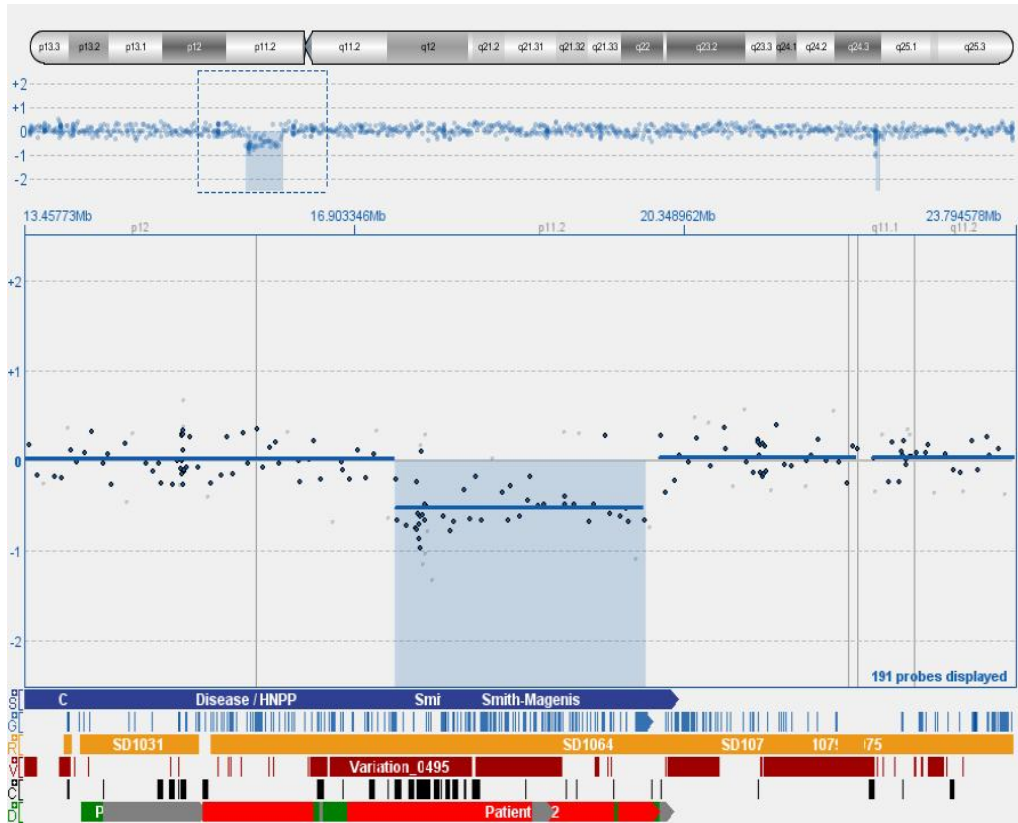
Kromozom No	Aberasyon	Başlangıç	Bitiş	Boyut (Mb)	Aberasyon içerisinde yer alan önemli OMIM Genleri	Aberasyon içerisinde yer alan Sendrom Bölgesi	Aberasyonun görüldüğü hasta sayısı ve yüzdesi
16	del(16)(p13.3)	795403	976470	0.181	-	-	1 (% 16,7)
X	dup(X)(p22.33)	113071	2709818	2.596	XG, CSF2RA, SHOX	-	1 (% 16,7)
X	del(X)(q27.1)	139413532	139497502	0.083	SOX3	X'e bağlı ZG	1 (% 16,7)
X	dup(X)(q28)	154213419	154877054	0.663	-	-	1 (% 16,7)

❖ Klinik bulgusu/ ön tanısı Mental Retardasyon + Dismorfizm + Epilepsi olan 6 hastanın 4'ünde (% 66,7) herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır.

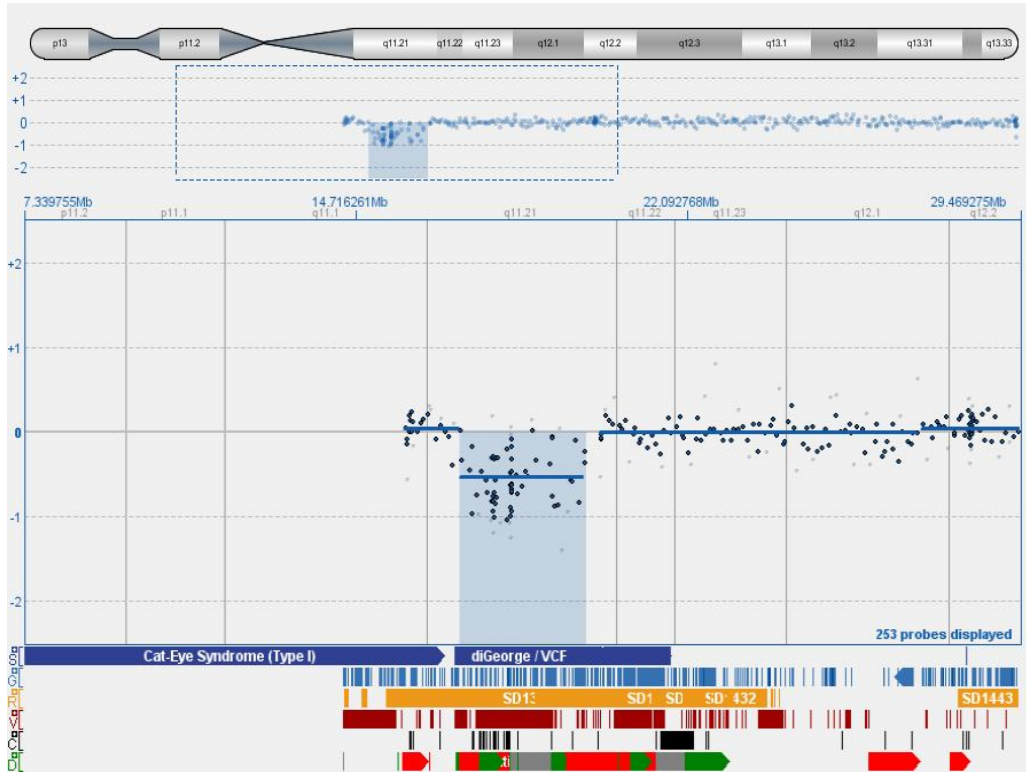
Çizelge 4.7. Dismorfik bulguları bilinen hastalarda aCGH ile saptanan aberasyonların dağılımı

Hasta	Dismorfik Bulgular	Saptanan Aberasyonlar
1	Epikantus,mikrosefali	Aberasyon saptanmadı
2	Epikantus	Aberasyon saptanmadı
3	Tubuler burun	Aberasyon saptanmadı
4	Basık burun kökü, simian çizgisi	del(16)(p11.2), del(X)(q21.1)
5	Hafif yukarı çekik palpebral fissurler, tubuler burun, küçük kulaklar, hafif prognati	Aberasyon saptanmadı
6	Aşağı çekik palpebral fissurler, büyük kulaklar, bozuk diş yapısı, yüksek damak	del(8)(p23.1)
7	Prognati, badem şeklinde göz yapısı, sol kulak kepeğinde pit	del(X)(q27.1)
8	Belirgin alın, çekik gözler, sol gözde kayma, uzun filtrum	del(16)(p11.2-p11.1)
9	Aşağı çekik palpebral fissurler, düz filtrum, yüksek damak, klinodaktili, retrognati, bitemporal basıklık	del(7)(q21.3), del(16)(p11.2)
10	Aşağı çekik palpebral fissurler, düz filtrum, yüksek damak, klinodaktili	dup(14)(q21.3), del(16)(p11.2)
11	Hipertelorizm, bozuk diş yapısı, basık burun kökü	dup(X)(q27.3), del(16)(p11.2)
12	Prognati, bozuk diş yapısı, yukarı çekik palpebral fissur, kısa filtrum, bulböz burun, 5. parmak klinodaktili	Aberasyon saptanmadı
13	Hidrocefali	Aberasyon saptanmadı
14	Mikrosefali	dup(X)(p22.31)
15	Retrognati	del(17)(p11.2)
16	Yüksek damak, tubuler burun, dextrokardi, situs inversus totalis	del(16)(p13.3), del(X)(q27.1)
17	Tubuler burun, mikrosefali	del(16)(p11.2)
18	Prognati, derin yerleşimli gözler, yana çekik palpebral fissurler, happy puppet	del(16)(p11.2)
19	Tubuler burun	del(16)(p11.2)
20	Tubuler burun, ince-uzun parmaklar, retrognati	del(16)(p11.2-p11.1), del(21)(q22.3), del(X)(q27.1)
21	İnce-uzun parmaklar, retrognati, tubuler burun, yüksek-dar damak, hipotelorizm, yukarı çekik palpebral fissurler	del(5)(p14.3), del(7)(q11.23), del(16)(p11.2)
22	Fallot tetralojisi, yukarı çekik palpebral fissurler, tubuler burun, displastik ala nasiller, küçük ağız, yüksek-dar damak, uzun yüz	Aberasyon saptanmadı
23	Dar alın yapısı, mikrognati, aşağı çekik fissurler, bilateral epikantus, sırta tüylenme, kısa filtrum, ala nasilleri geçen burun ucu	dup(X)(q22.2)

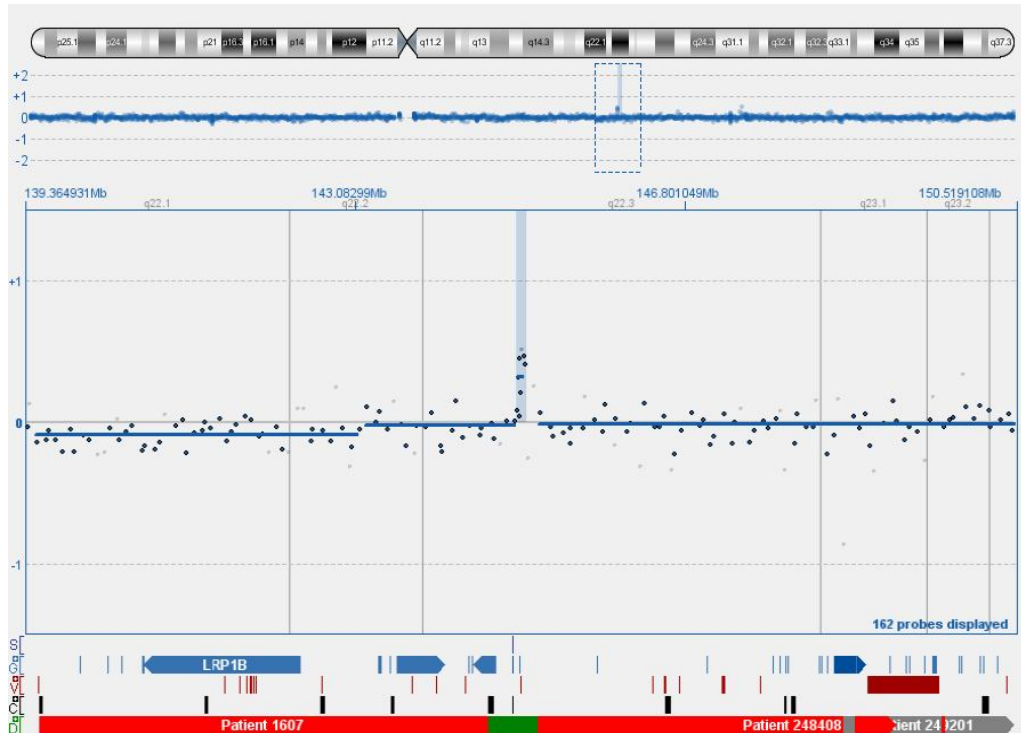
Toplam 52 mental retarde birey arasından 2'sinde Smith-Magenis sendromu bölgesine tekabül eden 17p11.2 delesyonu (Şekil.4.1), 1'inde diGeorge/VCF sendrom bölgesine tekabül eden 22q11.21 delesyonu (Şekil.4.2.), 1'inde Mowat Wilson?/ Hirschsprung Disease Plus bölgesine tekabül eden 2q22.3 duplikasyonu (Şekil.4.3), 3'ünde ise X'e bağlı mental retardasyon bölgesine tekabül eden Xq27.1 delesyonu (Şekil.4.4) saptanmıştır. Mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları bulunan 4 yaşındaki erkek çocukta multiple aberasyonlar saptanmıştır: 5q13.3-q14.1 bölgesinde 2.617 Mb boyutunda delesyon, 5q14.3-q15 bölgesinde 1.611 Mb boyutunda delesyon, 5q15 bölgesinde 1.769 Mb boyutunda delesyon (Şekil.4.5.) ve 9p23-p22.3 bölgesinde 2.153 Mb boyutlarında delesyon varlığı (Şekil.4.6) saptanmıştır. Bu bölgelerin hiçbiri herhangi bir sendrom bölgesi içerisinde yer almıyordu.



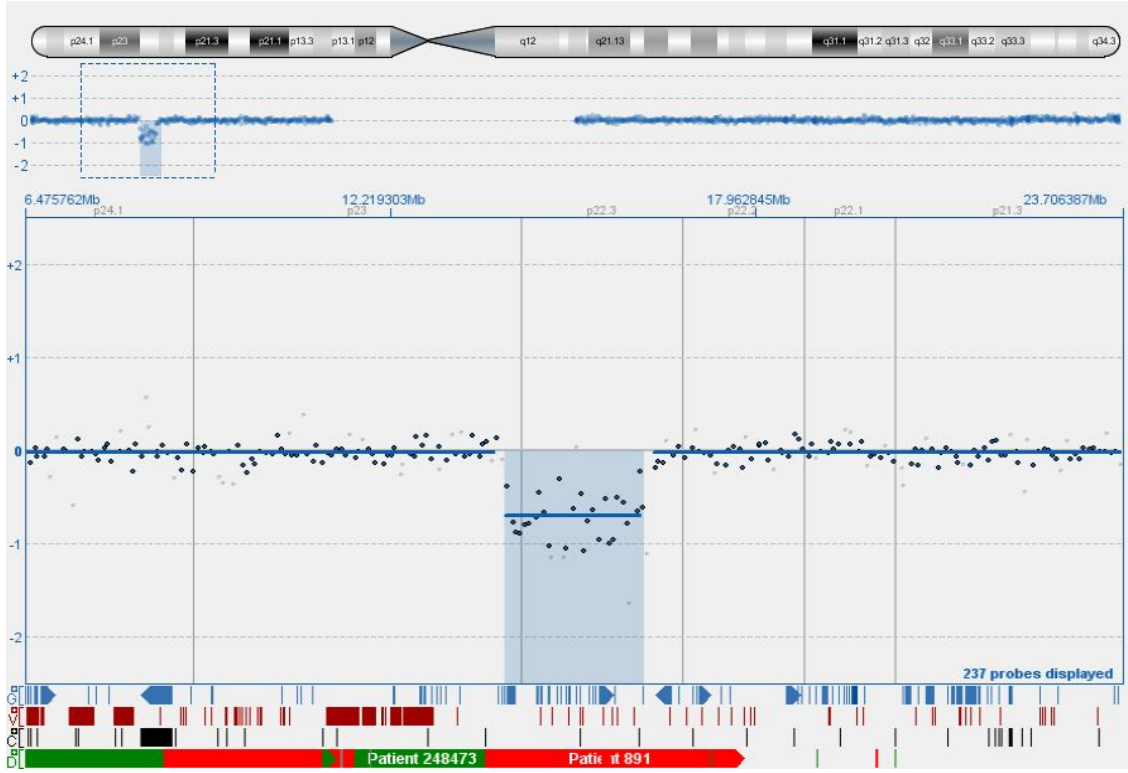
Şekil 4.1. Smith-Magenis sendromuna neden olan 17p11.2 delesyonu



Şekil 4.2. diGeorge/VCF sendromuna neden olan 22q11.21 delesyonu



Şekil 4.3. Mowat Wilson?/ Hirschsprung Disease Plus'a neden olan 2q22.3 duplikasyonu



Şekil 4.6. 9p23-p22.3 bölgesinde delesyon

5. TARTIŞMA

Mental retardasyon ve/veya multipl konjenital anomali görülen hastaların Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (aCGH) ile çalışılması çok sayıda yeni mikrodelesyon ve mikroduplikasyonların tanımlanmasını sağlamıştır.

Array CGH, konvansiyonel sitogenetik (karyotip) analizi ve floresans in situ hibridizasyon (FISH) na tamamlayıcı olan nispeten yeni bir tekniktir. Karyotip analizi ve aCGH, belirli kromozomal bölgeleri problandırmanın sınırlı olduğu FISH'e göre, bilinmeyen anomalilerin taranması için daha uygundur. Özellikle aCGH taraması, karyotiplemenin başarısız olduğu durumlarda (örneğin hücre kültüründe yetersiz üreme var yada hiç üreme yoksa) daha kullanışlı olduğu savunulmaktadır. Ayrıca aCGH'in çözünürlüğü, dengesiz genomik anomalileri saptamada konvansiyonel karyotiplemeye göre daha büyüktür. Buna rağmen, aCGH ile translokasyon ve inversiyonlar saptanamamaktadır. Tanı ve prognostik açıdan belirgin dengeli anomalilerin saptanmasında konvansiyonel karyotipleme ve FISH kullanılmaktadır. Hem FISH hem aCGH ile, karyotiplemenin göremediği gizli genomik değişiklikler saptanabilmektedir (Schwaenen ve ark., 2004; Kuchinskaya ve ark., 2008).

Birçok geniş ölçekli çalışma, aCGH'in mental retardasyon /gelişim geriliği olan bireylerde kromozomal anomalileri 10%–20% oranında saptadığını göstermişlerdir. Bu anomalilerin yalnızca 3%–5% kadarı diğer yöntemlerle saptanabilmiştir. Örneğin; bir çalışmada aCGH ile analiz edilen 8,789 vakanın 1,049 (11.9%)'u klinik ile ilgili kromozomal anomaliye sahip olduğu bulunmuştur (Shaffer ve ark., 2007).

8p distal bölgesinde görülen delesyonların konjenital kalp rahatsızlıklarıyla ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu bölge ile ilişkisi olduğu düşünülen diğer majör klinik bulgular mikrosefali, intrauterin gelişim geriliği, mental retardasyon ve karakteristik hiperaktivite ile impulsif davranışlardır (Devriendt K ve ark., 1999). Öntanısı/ klinik bulgusu mental retardasyon olan 52 hasta üzerinde gerçekleştirdiğimiz aCGH analizleri sonucunda 2 hastada 8p23.1 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Bu hastalardan birinde mental retardasyona eşlik eden yüksek damak, aşağı çekik palpebral fissürler, büyük kulaklar ve bozuk diş yapısı gibi dismorfik bulgular eşlik etmekteydi. Saptadığımız 8p23.1 delesyonu, bu bölgenin ve bu bölgede yer alan mental retardasyon oluşumunda rol oynayan genlerin ileri moleküler teknikler ile tanımlanmasında bir başlangıç noktası sayılabilir.

15 hastada 16p11.2 bölgesinde çeşitli büyüklüklerde (0.907- 2.903 Mb) delesyon saptanmıştır. Ancak bu bölge varyatif bir bölge olduğundan patojenik ya da benign olup olmadığının belirlenmesi için aileye yönelik ek bir aCGH çalışması gerektirmektedir.

16p11.2 bölgesindeki kopya sayısı varyasyonunun (CNV) otizm hastalarının %1'inde görüldüğü bildirilmiş, çeşitli aCGH platformları kullanılarak mental retardasyon / multipl konjenital anomalili 4284 hastada yapılan analizlerde de otizmlili hastalardakine benzer şekilde 16p11.2 bölgesinde delesyon saptanmıştır (Bijlsma EK ve ark, 2009). Bu bulgular, 16p11.2 delesyonlarında bir veya birden fazla genin kaybının çeşitli klinik sonuçlar doğurduğu düşünülmektedir. 16p11.2 delesyonunun neden olduğu fenotipik spektrum, mental retardasyon ve/veya multipl konjenital anomali, otizm, öğrenme ve konuşma problemlerinden normal fenotipe kadar uzanmaktadır.

Madelung deformitesi olan bir anne ve kısa boy ve hafif-orta iskelet anomalisine sahip iki oğlunda gerçekleştirilen bir çalışmada SHOX ve ARSE genlerini de kapsayan Xp22.33 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Küçük çocukta öğrenme güçlüğü ve dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu; büyük çocukta ise hafif mental retardasyon ile dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun mevcut olduğu bildirilmektedir (Boycott KM ve ark., 2003). Bu durum, Xp22.33 bölgesinde öğrenme ve dikkat gelişiminde rol oynayan bir ya da birden fazla genin olduğunu düşündürmektedir.

Mental retardasyon, Xp22.33 duplikasyonu içerisinde bulunan SHOX geni duplikasyonunun daha önce primer amenore ve uzun boyu olan dişi bir bireyde saptanmış (Ogata T ve ark., 2000), son yapılan bir çalışmada erkek bir bireyde görülen SHOX geni duplikasyonunun kısa boya sebep olduğu bildirilmiştir (Iughetti L ve ark., 2010).

Mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları bulunan 2 hastada RAI1 (Retinoic Acid-Induced gene 1) genini içeren 17p11.2 delesyonu saptanmış ve daha önce yapılan aCGH çalışmalarında (Rosenberg ve ark., 2006) bu delesyonun Smith-Magenis Sendromu ile ilişkili olduğu gösterilmiş ve Smith-Magenis Sendromu'nda görülen klinik bulguların hastalarımızda görülen klinik bulgularla örtüştüğü belirlenmiştir.

Dismorfik bulguları ve mental retardasyonu olan 1 hastada GP1BB, SNAP29, RTN4R, COMT, TBX1, DGCR2, PRODH genlerinin yer aldığı 22q11.21 delesyonu saptanmıştır. Bu delesyonun tanımlandığı aCGH çalışmaları bulunmaktadır (de Vries BBA ve ark, 2005). Bu delesyonun iyi bilinen ve klinik olarak tanınabilen bir sendrom olan DiGeorge/VCF'de rol oynadığı bilinmektedir.

Dismorfik bulgular, mental retardasyon ve epilepsi görülen 8 yaşındaki bir erkek hastada Xq28 bölgesinde 0,663 Mb boyutunda duplikasyon ve Xp22.33 bölgesinde XG, CSF2RA, SHOX genlerini kapsayan 2,596 Mb boyutunda bir duplikasyon varlığı

saptanmıştır. Rosenberg C ve ark. da yaptıkları bir çalışmada mental retardasyon ve çeşitli dismorfik bulguları olan bir erkek hastada Xq28 bölgesinde 1.3 Mb'lık bir duplikasyona rastlamışlardır (Rosenberg C ve ark., 2006). Literatürde Xp22.33 duplikasyonuna ait aCGH çalışması bulunmamaktadır. Bu lokusta yer alan genlerin fonksiyonlarının ve fenotipe olan etkilerinin araştırılması önerilmektedir. Mental retardasyona eşlik eden dismorfizm ve epilepsi fenotipine neden olan yeni bir mikroduplikasyon olabileceği düşünülebilir. Aynı bölge mental retardasyon ve epilepsisi olan 11 yaşındaki bir başka erkek hastada da 0,329 Mb boyutlarında görülmüştür, Fakat bu bölgede herhangi bir gen yer almamaktadır. Bu aberasyonun de novo olup olmadığı aileye yönelik aCGH çalışması ile açıklanabilecektir. Herhangi bir dismorfik bulgunun eşlik etmediği mental retardasyon olan 14 yaşındaki dişi bireyde Xp22.33 bölgesinde XG genini içeren 0,095 Mb'lık delesyon varlığı saptanmıştır. Literatürde 0,095 Mb boyutunda Xp22.33 delesyonu bulunmamaktadır. Gen bazında ileri çalışmalar ve CNV araştırması yapılması düşünülmelidir.

Ağır mental retardasyona eşlik eden epilepsisi olan 9 yaşındaki dişi bir bireyde 1p34.3-p34.2 bölgesinde COL9A2, PPT1, GJB4, KCNQ4, ZMPSTE24, GJB3, COL8A2 genlerini de içeren 6,591 Mb boyutunda bir duplikasyon varlığı saptanmıştır. De Vries BBA ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ağır mental retardasyon, fasiyal dismorfizm, gelişim geriliği, mikrosefali ve gecikmiş beyin miyelinizasyonu olan hastada aynı lokusta 3.93 Mb boyutunda delesyon varlığını tespit ettikleri bildirilmektedir (de Vries BBA ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda yer alan hastadaki klinik bulguların yalnızca mental retardasyon ve epilepsi ile kalması, herhangi bir fasiyal dismorfizm gözlenmemesi bulduğumuz sonucun delesyon değil duplikasyon olmasından kaynaklandığını düşündürebilir.

Mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları bulunan 14 yaşındaki bir erkek hastada 5p14.3 bölgesinde 1,03 Mb'lık delesyon, 7q11.23 bölgesinde 0,82 Mb'lık delesyon ve 16p11.2 bölgesinde 1.394 Mb boyutunda delesyon varlığı saptanmıştır. 7q11.23 bölgesinde meydana gelen delesyonlar, fasiyal özellikler ve supralvular aortik stenoz gibi diğer medikal problemler olduğunda Williams – Beuren sendromunu düşündürmektedir (Shaffer LG ve ark., 2007). Ancak hastamızın klinik bulgularında ince-uzun parmaklar, retrognati, tubuler burun, yüksek-dar damak, hipotelorizm, yukarı çekik palpebral fissurler ve bunlara eşlik eden hiperaktivite mevcut idi. Harhangi bir kardiyak probleme dair bir kanıt bulunmadığı gibi, bulduğumuz delesyon bölgesi Williams – Beuren sendrom bölgesi dışında kalmaktadır. Hastamızdaki bu delesyonun fenotipine nasıl bir etkide bulunduğunu saptamak için bu bölgede bulunan genlerin tek tek etki mekanizmaları

üzerinde çalışılması gerekmektedir. Lee JA ve ark. da konuşma bozukluğu, gelişim geriliği ve mental retarde bir hastada 7q11.23 lokusunda 1,6 Mb'lık bir duplikasyon saptamışlardır (Lee JA ve ark., 2006). 5p14.3 bölgesinde saptanan delesyon 3 adet psödogeni kapsamaktadır (AC138951.2-2, AC138951.2-3, AC138951.2-1). Bu genlerin delesyonu ile ilgili bir aCGH çalışması literatürde bulunmamaktadır. Bu delesyon ile ilgili elde ettiğimiz veri yeni bir mikrodelesyon olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu bölgede meydana gelen delesyonun de novo olup olmadığının araştırılması için aileye yönelik çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Dismorfizm ve motor- mental retarde 4 yaşındaki bir erkek hastada multipl aberasyonlar saptanmıştır: 5q13.3-q14.1 bölgesinde 2,617 Mb'lık delesyon, 5q14.3-q15 bölgesinde 1,611 Mb'lık delesyon, 5q15 bölgesinde 1,769 Mb'lık delesyon ve 9p23-p22.3 bölgesinde 2,153 Mb'lık delesyon varlığı. Cardoso C ve ark. da yaptığı bir çalışmada epilepsi, mental retardasyon ve bilateral periventriküler heterotopi görülen 3 hastada 5q14.3-q15 delesyonu saptamışlardır (Cardoso C ve ark., 2009). Literatürde 5q13.3-q14.1, 5q15 ve 9p23.3-p22.3 bölgelerinde görülen delesyonlara ait aCGH çalışmaları bulunmamaktadır. Bu veriler ışığında bulgularımızın, yeni mikrodelesyonlara aday bulgular olduklarını söyleyebiliriz. Ancak, bu delesyonların fenotip üzerine olan etkileri, bu delesyon bölgeleri içerisinde yer alan genlerin fonksiyonları üzerine çalışmalar yapılarak gösterilebilir.

Mental retardasyon, dismorfizm ve epilepsi görülen 10 yaşındaki erkek hastada SOX8 ve LMF1 genlerini içeren 16p13.3 bölgesinde 0,181 Mb boyutunda delesyon ve Xq27.1 bölgesinde 0,083 Mb boyutunda delesyon varlığı saptanmıştır. Literatürde 16p13.3 bölgesinde 0,181 Mb kadar küçük bir delesyona ait aCGH çalışması bulunmamaktadır. Fakat Pfeifer D ve ark.'nın FISH analizi yaptıkları bir çalışmada alfa talasemi ve mental retardasyon ile karakterize ATR-16 sendromlu hastada SOX8 geninin delete olduğunu saptamışlar ve SOX8 geninin ATR-16 hastalarında görülen mental retardasyona neden olan aday bir gen olduğunu ortaya koymuşlardır (Pfeifer D ve ark., 2000). Xq27.1 bölgesinde lokalize olan SOX3 geninin delesyonu, X' bağlı mental retardasyon ile ilişkilidir. Çeşitli dismorfik bulgular ve mental retardasyonu olan ve Xq26.3-q27.3 bölgesinde bulunan FMR1 ve SOX3'ün delesyonu sonucu Frajil X sendromu meydana gelen hastalarda yapılan çalışmalar Frajil X sendromuna neden olan FMR1 gen delesyonu yanında SOX3 geninin de nöral gelişimde rol oynayan aday bir gen olduğu ve delesyonunun ağır fenotiplere neden olabileceği ortaya konulmuştur (Wolff DJ ve ark., 1997).

Hafif mental retardasyona eşlik eden hipertelorizm, bozuk diş yapısı, basık burun kökü gibi Frajil X sendromu olduğunu düşündüren dismorfik bulgular taşıyan 7 yaşındaki erkek çocukta Xq27.3 bölgesinde bulunan, FMR1 genini içeren 0,618 Mb boyutunda bir duplikasyon varlığı saptanmıştır. Probst FJ ve ark.'nın obesite, hafif dismorfik bulguları ve mental retardasyonu olan 6 yaşındaki bir kız çocuğunda gerçekleştirdikleri aCGH deneyleri sonucunda Xq27.3-Xq28 bölgesinde delesyon saptamışlar ve bu delesyon bölgesi içerisinde FMR1, FMR2 ve IDS genlerinin bulunduğunu vurgulamışlardır (Probst FJ ve ark., 2007). FMR1 geninde meydana gelen bir mutasyon Frajil X sendromuna; FMR2 geninde meydana gelen bir mutasyon FRAXE sendromuna ve IDS geninde meydana gelen bir mutasyon ise Hunter sendromuna neden olmaktadır. Frajil X sendromu X'e bağlı zeka geriliklerinin en sık görüldüğü sendromdur. Frajil X sendromu FMR1 geninde delesyon meydana gelmesi sonucu oluşur, ancak duplikasyonu nadir görülmekle birlikte genlerde fonksiyonel disomiye öncülük etmekte ve erkek bireylerde çeşitli mental retardasyon vakalarına sebebiyet vermektedir. Xq27.3q28 bölgesinde, özellikle FMR1 genini kapsayan bir duplikasyonun kısa boy, hipogonadizm ve fasiyal dismorfizm ile karakterize yeni bir X'e bağlı mental retardasyon sendromu bildirilmiştir ve bu sendromun Frajil X sendromu "karşıt-tip" olarak sunulması önerilmiştir (Rio M ve ark., 2010). Bu veriler doğrultusunda FMR1 duplikasyonu ve neden olduğu fenotip ile hastamızda gözlenen fenotip birbiri ile uyum sağlamaktadır.

aCGH, sınırlı büyüklükteki kromozomal değişikliklerin belirlenmesinde, aday genlerin tanımlanmasında, malformasyonlar ve kortikal gelişim üzerine verilen genetik danışmada güçlü bir tanı aracı olmuştur. Submikroskobik kromozomal delesyon ve duplikasyonların taranmasında ve mental retarde hastalarda terapötik seçeneklere imkan tanıyan ileri test olanağı sunmaktadır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmada, yapılan aCGH çalışmaları sonucunda; 38 (% 73) hastada genomun çeşitli bölgelerinde çeşitli boyutlarda aberasyonlar saptanmıştır. 14 (% 27) hastada ise herhangi bir aberasyona rastlanmamıştır. Non-sendromik mental retarde hastaların 7'sinde (% 70), mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları olan hastaların 22'sinde (% 78.6), mental retardasyona eşlik eden epilepsi hastalarının 7'sinde (% 87.5) ve mental retardasyona eşlik eden epilepsili ve dismorfizimli hastaların 2'sinde (% 33.3) genomun çeşitli yerlerinde farklı boyutlarda aberasyonlara rastlanmıştır. En sık görülen aberasyon hemen hemen her hastada farklı boyutlar sergileyen 16p11.2 bölgesindeki delesyon olmuştur (toplam 52 hasta arasından 15 kişide görülmüştür).

Toplam 52 mental retarde birey arasından 2'sinde Smith-Magenis sendromu bölgesine tekabül eden 17p11.2 delesyonu, 1'inde diGeorge/VCF sendrom bölgesine tekabül eden 22q11.21 delesyonu, 1'inde Mowat Wilson?/ Hirschsprung Disease Plus bölgesine tekabül eden 2q22.3 duplikasyonu, 3'ünde ise X'e bağlı mental retardasyon bölgesine tekabül eden Xq27.1 delesyonu saptanmıştır. Mental retardasyona eşlik eden dismorfik bulguları bulunan 4 yaşındaki erkek çocukta multiple aberasyonlar saptanmıştır: 5q13.3-q14.1 bölgesinde 2.617 Mb boyutunda delesyon, 5q14.3-q15 bölgesinde 1.611 Mb boyutunda delesyon, 5q15 bölgesinde 1.769 Mb boyutunda delesyon ve 9p23-p22.3 bölgesinde 2.153 Mb boyutlarında delesyon varlığı saptanmıştır. Bu bölgelerin hiçbiri herhangi bir sendrom bölgesi içerisinde yer almıyordu.

Verilerin verifikasyonu ve aynı bölgelere ait, gen anlatım ve proteomiks çalışmaları hastalığın patogenez mekanizması açısından önemli ipuçları sağlayabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Ballif BA, Arnaud L, Cooper JA. (2003) Tyrosine phosphorylation of Disabled-1 is essential for Reelin-stimulated activation of Akt and Src family kinases. *Brain Res Mol Brain Res.* 117(2):152-9.

Ballif BC, Wakui K, Gajecka M, Shaffer LG. (2004) Translocation breakpoint mapping and sequence analysis in three monosomy 1p36 subjects with der(1)t(1;1)(p36;q44) suggest mechanisms for telomere capture in stabilizing de novo terminal rearrangements. *Hum Genet.* 114(2):198-206.

Biesecker, L. G. (2002) The end of the beginning of chromosome ends. *American Journal of Medical Genetics* 107, 263–266

Bijlsma EK, Gijbbers AC, Schuurs-Hoeijmakers JH, van Haeringen A, Franssen van de Putte DE, Anderlid BM, Lundin J, Lapunzina P, Pérez Jurado LA, Delle Chiaie B, Loeys B, Menten B, Oostra A, Verhelst H, Amor DJ, Bruno DL, van Essen AJ, Hordijk R, Boycott KM, Parslow MI, Ross JL, Miller IP, Bech-Hansen NT, MacLeod PM. (2003). A familial contiguous gene deletion syndrome at Xp22.3 characterized by severe learning disabilities and ADHD. *Am J Med Genet A.* 122A(2):139-47.

Boycott KM, Parslow MI, Ross JL, Miller IP, Bech-Hansen NT, MacLeod PM. (2003) A familial contiguous gene deletion syndrome at Xp22.3 characterized by severe learning disabilities and ADHD. *Am J Med Genet A.* 122A(2):139-47.

Cardoso C, Boys A, Parrini E, Mignon-Ravix C, McMahon JM, Khantane S, Bertini E, Pallesi E, Missirian C, Zuffardi O, Novara F, Villard L, Giglio S, Chabrol B, Slater HR, Moncla A, Scheffer IE, Guerrini R. (2009) Periventricular heterotopia, mental retardation, and epilepsy associated with 5q14.3-q15 deletion. *Neurology.* 72(9):784-92.

Check, E. (2005) Patchwork people. *Nature* 437, 1084–1086

Croen LA, Grether JK, Selvin S. (2001) The epidemiology of mental retardation of unknown cause. *Pediatrics.* 2001 Jun;107(6):E86.

Curry CJ, Stevenson RE, Aughton D, Byrne J, Carey JC, Cassidy S, Cunniff C, Graham JM Jr, Jones MC, Kaback MM, Moeschler J, Schaefer GB, Schwartz S, Tarleton J, Opitz J. (1997) Evaluation of mental retardation: recommendations of a Consensus Conference: American College of Medical Genetics. *Am J Med Genet.* 72(4):468-77.

Çoğulu Ö, Karaca E, Özkınay F. (2006) Mental Retardasyon ve Kromozomlarda Subtelomerik Bölge. *Bakırköy Tıp Dergisi;* 2:73-81

DeRisi J, Penland L, Brown PO, Bittner ML, Meltzer PS, Ray M, Chen Y, Su YA, Trent JM. (1996) Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer. *Nat Genet.* 14(4):457-60.

Devriendt K, Matthijs G, Van Dael R, Gewillig M, Eyskens B, Hjalgrim H, Dolmer B, McGaughan J, Brøndum-Nielsen K, Marynen P, Fryns JP, Vermeesch JR. (1999)

Delineation of the critical deletion region for congenital heart defects, on chromosome 8p23.1. *Am J Hum Genet.* 64(4):1119-26.

de Vries BB, Pfundt R, Leisink M, Koolen DA, Vissers LE, Janssen IM, Reijmersdal S, Nillesen WM, Huys EH, Leeuw N, Smeets D, Sistermans EA, Feuth T, van Ravenswaaij-Arts CM, van Kessel AG, Schoenmakers EF, Brunner HG, Veltman JA. (2005) Diagnostic genome profiling in mental retardation. *Am J Hum Genet.* 77(4):606-16.

Edelmann, L; Hirschhorn, K. (2009) Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1151: 157-166

Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE.(1995) The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet.* 9(2):132-40.

Hilger Ropers, Ben C. J.Hamel. (2005) X linked Mental Retardation. *Nat Rev Genet.* Jan;6(1):46-57.

Holinski-Feder E, Reyniers E, Uhrig S, Golla A, Wauters J, Kroisel P, Bossuyt P, Rost I, Jedele K, Zierler H, Schwab S, Wildenauer D, Speicher MR, Willems PJ, Meitinger T, Kooy RF. (2000) Familial mental retardation syndrome ATR-16 due to an inherited cryptic subtelomeric translocation, t(3;16)(q29;p13.3). *Am J Hum Genet.* 66(1):16-25.

Iughetti L, Capone L, Elsedfy H, Bertorelli R, Predieri B, Bruzzi P, Forabosco A, El Kholy M. (2010). Unexpected phenotype in a boy with trisomy of the SHOX gene. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 23(1-2):159-69.

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D. (1992) Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258, 818–821

Knight S.J., Regina Regan, Alison Nicod, Sharon W Horsley, Lyndal Kearney, Tessa Homfray, Robin M Winter, Patrick Bolton, DrJonathan Flint. (1999) Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet* 354, 1676–1681

Kuchinskaya E, Heyman M, Nordgren A, Schoumans J, Staaf J, Borg A, Soderhall S, Grander D, Nordenskjold M & Blennow E. (2008) Array-CGH reveals hidden gene dose changes in children with acute lymphoblastic leukaemia and a normal or failed karyotype by G-banding. *Br J Haematol* 140:572-577

Kulesh DA, Clive DR, Zarlenga DS, Greene JJ (1987). Identification of interferon-modulated proliferation-related cDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 (23): 8453–8457

Lashkari DA, DeRisi JL, McCusker JH, Namath AF, Gentile C, Hwang SY, Brown PO, Davis RW (1997). Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (24): 13057–13062.

Lee JA, Lupski JR. (2006) Genomic rearrangements and gene copy-number alterations as a cause of nervous system disorders. *Neuron*. 52(1):103-21.

Lucito R, John Healy, Joan Alexander, Andrew Reiner, Diane Esposito, Maoyen Chi, Linda Rodgers, Amy Brady, Jonathan Sebat, Jennifer Troge, Joseph A. West, Seth Rostan, Ken C.Q. Nguyen, Scott Powers, Kenneth Q. Ye, Adam Olshen, Ennapadam Venkatraman, Larry Norton, Michael Wigler. (2003) Representational oligonucleotide microarray analysis: A high-resolution method to detect genome copy number variation. *Genome Research* 13, 2291–2305

Lupski, J. R. (1998) Genomic disorders: Structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits. *Trends in Genetics* 14, 417–422

Maciejewski JP, Mufti GL. (2008) Whole genome scanning as a cytogenetic tool in hematologic malignancies. *Blood*. ;112:965-974.

McCarroll, S. A., Altshuler, D. M. (2007) Copy number variation and association studies of human disease. *Nature Genetics* 39, S37–42

McLaren J, Bryson SE. (1987) Review of recent epidemiological studies of mental retardation: prevalence, associated disorders, and etiology. *Am J Ment Retard*. 92(3):243-54.

Mefford HC, Trask BJ. (2002) The complex structure and dynamic evolution of human subtelomeres. *J Biol Chem*. 277(13):11050-7. Epub 2002 Jan 16.

Molinari F, Rio M, Meskenaite V, Encha-Razavi F, Augé J, Bacq D, Briault S, Vekemans M, Munnich A, Attié-Bitach T, Sonderegger P, Colleaux L. (2002) Truncating neurotrypsin mutation in autosomal recessive nonsyndromic mental retardation. *Science*. 298(5599):1779-81.

Ogata T, Kosho T, Wakui K, Fukushima Y, Yoshimoto M, Miharu N. (2000) Short stature homeobox-containing gene duplication on the der(X) chromosome in a female with 45,X/46,X, der(X), gonadal dysgenesis, and tall stature. *J Clin Endocrinol Metab*. 85(8):2927-30.

Okan M, Özdemir Ö. (2005) Çocuklarda Mental Retardasyon. *Güncel Pediatri* 2005 ; 3 : 62-66

Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, Tommerup N, van Ommen GJ, Goodman RH, Peters DJ, et al. (1995) Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature*. 376(6538):348-51.

Pfeifer D, Poulat F, Holinski-Feder E, Kooy F, Scherer G. (2000). The SOX8 gene is located within 700 kb of the tip of chromosome 16p and is deleted in a patient with ATR-16 syndrome. *Genomics*. 63(1):108-16.

- Plomin R. (1999) Genetic research on general cognitive ability as a model for mild mental retardation. *International Review of Psychiatry* 11(1): 34-46.
- Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, Jeffrey SS, Botstein D, Brown PO. (1999) Genom-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat. Genet.* 23(1): 41-46
- Probst FJ, Roeder ER, Enciso VB, Ou Z, Cooper ML, Eng P, Li J, Gu Y, Stratton RF, Chinault AC, Shaw CA, Sutton VR, Cheung SW, Nelson DL. (2007). Chromosomal microarray analysis (CMA) detects a large X chromosome deletion including FMR1, FMR2, and IDS in a female patient with mental retardation. *Am J Med Genet A.* 143A(12):1358-65.
- Rio M, Malan V, Boissel S, Toutain A, Royer G, Gobin S, Morichon-Delvallez N, Turleau C, Bonnefont JP, Munnich A, Vekemans M, Colleaux L. (2010). Familial interstitial Xq27.3q28 duplication encompassing the FMR1 gene but not the MECP2 gene causes a new syndromic mental retardation condition. *Eur J Hum Genet.* 18(3):285-90.
- Roeleveld N, Zielhuis GA, Gabreëls F. (1997) The prevalence of mental retardation: a critical review of recent literature. *Dev Med Child Neurol.* 39(2):125-32.
- Ropers HH, Hamel BCJ. (2005) X-linked mental retardation. *Nature Reviews Genetics* 6, 46-57
- Rosenberg C, Knijnenburg J, Bakker E, Vianna-Morgante AM, Sloos W, Otto PA, Kriek M, Hansson K, Krepischi-Santos AC, Fiegler H, Carter NP, Bijlsma EK, van Haeringen A, Szuhai K, Tanke HJ. (2006). Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. *J Med Genet.* 43(2):180-6.
- Saccone S, De Sario A, Della Valle G, Bernardi G. (1992) The highest gene concentrations in the human genome are in telomeric bands of metaphase chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89, 4913–4917
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270 (5235): 467–470.
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. (1995). Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science.* Oct 20; 270 (5235): 467-70
- Schwaenen C, Nessling M, Wessendorf S, Salvi T, Wrobel G, Radlwimmer B, Kestler HA, Haslinger C, Stilgenbauer S, Döhner H, Bentz M, Lichter P. (2004). Automated array-based genomic profiling in chronic lymphocytic leukemia: development of a clinical tool and discovery of recurrent genomic alterations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(4):1039-44.
- Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. (2007). The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 145C(4):335-45.

Shaffer, L. G., Lupski, J. R. (2000) Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans. *Annual Review of Genetics* 34, 297–329

Sikkema-Raddatz B, Verbruggen KT, Jongmans MC, Pfundt R, Reeser HM, Breuning MH, Ruivenkamp CA. (2009). Extending the phenotype of recurrent rearrangements of 16p11.2: deletions in mentally retarded patients without autism and in normal individuals. *Eur J Med Genet.* 52(2-3):77-87.

Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, Cremer T, Lichter P. (1997) Matrix-based comparative genomic hybridisation: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chromosomes Cancer.* 20(4):399-407

Speicher, MR; Carter NP. (2005) "The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology". *Nat. Rev. Genet.* 6: 782-792

Theisen, A. (2008) Microarray-based comparative genomic hybridization (aCGH). *Nature Education* 1

Winnepenninckx B, Rooms L, Kooy RF. (2003) Mental Retardation: A review of the genetic causes. *The British Journal of Developmental Disabilities* Vol. 49, Part 1, No. 96, pp. 29-44

Wolff DJ, Gustashaw KM, Zurcher V, Ko L, White W, Weiss L, Van Dyke DL, Schwartz S, Willard HF. (1997) Deletions in Xq26.3-q27.3 including FMR1 result in a severe phenotype in a male and variable phenotypes in females depending upon the X inactivation pattern. *Hum Genet.* 1997 100(2):256-61.

<http://www.lbl.gov/Education/ELSI/Frames/cancer-genes-f.html>

http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_microarray

<http://genome-www5.stanford.edu/>

<http://humangenetics.suite101.com/article.cfm/array-cgh--what-is-it>

<http://tez.sdu.edu.tr/Tezler/TF01254.pdf>

<http://www.affymetrix.com/>

<http://www.bio.davidson.edu/Courses/genomics/chip/chip.html>

<http://www.gene-chips.com/>

http://www.microarray.lu/en/MICROARRAY_Overview.shtml

<http://www.microarraystation.com/>

<http://www.nature.com/scitable/topicpage/Microarray-based-Comparative-Genomic-Hybridization-aCGH-45432>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/About/primer/microarrays.html>

www.chem.agilent.com/SiteCollectionImages/SurePrint_ABCD.jpg

www.microarray.lu/images/overview_1.jpg

www.unictbiolmol-lab.it/figure_didattica/arrays.pdf

ÖZGEÇMİŞ

1. Bireysel Bilgiler

- Adı Soyadı: Deniz SÜNNETÇİ
- Doğum yeri ve tarihi: İZMİT 06.01.1984
- Uyruğu: T.C.
- Çalıştığı kurum: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik A.D.
- İletişim Adresi ve telefonu: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası Tıbbi Genetik A.D. 41380 İzmit-KOCAELİ Tel: (262) 303 88 53

2. Eğitimi

EĞİTİM DURUMU

2003- 2007 : Çanakkale On Sekiz Mart Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

1999-2002 : Kocaeli Anadolu Lisesi

STAJLAR

01/ 07/2007- 01/ 09/2007 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik A.B.D.

01/ 07/2006- 28/ 07/2006 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji A.B.D.

20/ 06/2005- 22/ 07/2005 : Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji A.B.D

YABANCI DİL

İngilizce

ALDIĞI EĞİTİMLER

23/10/2009- 29/10/2009 : Microarray Training Course- Oxford Gene
Technology- İngiltere

06/04/2009- 06/04/2009 : Deney Hayvanları Kullanımı Sertifika
Kursu- Kocaeli Üniversitesi- Türkiye

07/02/2008- 08/02/2008 : MLPA (Dizi Analizi) Uygulaması-
Kocaeli Üniversitesi- Türkiye

16/11/2007- 20/12/2007 : Sitogenetik Eğitimi (CGH, FISH,
Karyotip Analizi)- Semmelweis Üniversitesi-
Macaristan

3. Unvanları

2007- : Biyolog

4. Mesleki Deneyimi

-Kan, doku, idrar, vücut sıvıları ve nükleik asit taşıma ortamından DNA, RNA veya total nükleik asit izolasyonu (Manuel ve MagNa Pure Compact System).

- Agaroz jel elektroforezi ve jel görüntüleme, kaydetme, yorumlama.

- Thermal Cycler'da PCR uygulaması ve burada oluşan çoğaltma ürünlerinden restriksiyon enzimi ile kesim yapma ve elde edilen ürünlerin jel elektroforezi ile incelenmesi, yorumlanması.

-Bioanalyzer ve NanoDrop ile nükleik asitlerin ve proteinlerin kalite ve kantite açısından incelenmesi.

-Mikroarray teknolojisi ile tam genomda gen ekspresyon araştırmaları ve aCGH yöntemi.

- LightCycler 1,5 cihazı uygulamalarının yapılması

5. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

6. Bilimsel Etkinlikler

Kongre Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Kronik Myeloid Lösemi Hastalarında Sekiz Genin (Bcl2, Bcl-X1, Bcl-W, Bax, Bik, Myc, Cyclin D1, Cyclin D2) Kantifikasyonu. Hakan Savlı, Naci Çine, **Deniz Sünnetçi**, Ömer Kurtaş, Emel Gönüllü, Abdullah Hacıhanefioğlu. (24/ 02/2008- 27/02/2008 Uluslararası Katılımlı 2. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, Poster Sunum Bildirisi)

Gene Network And Canonical Pathway Analysis In Hematopoietic And Soft Tissue Originated Malignancies: A Microarray Experience Of Medical Genetics Department Of Kocaeli University In 2007-2008. Savlı H, Çine N, **Sünnetçi D**, Üzülmöz N, Nagy B, Galimberti S, Baysal K, Limpaboon T, Limtrakul P. (8. Türk-Alman Jinekoloji Kongresi Antalya 29.04.2009-03.05.2009)

Angelman Sendromu'nda Mikroarray Tabanlı Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon (array CGH) Teknolojisi İle Genomik Analizler. Hakan Savlı, Naci Çine, Bülent Kara, **Deniz Sünnetçi**, Esen Gümüşlü, Nilüfer Üzülmöz, Zeynep Ünal, Buket Engüzel.(28-31 Ekim 2009 XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi.)

Hematopoetik Ve Yumuşak Doku Kökenli Malignensilerde Gen Ağları Ve Standart Altyol Analizleri: Kocaeli Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı 2007- 2009 Mikroarray Çalışması Deneyimi. Hakan Savlı, Naci Çine, **Deniz Sünnetçi**, Nilüfer Üzülmöz, Balint Nagy, Sara Galimberti, Kemal Baysal, Temduang Limpaboon, Pornngarm Limtrakul.(28-31 Ekim 2009 XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji Ve Genetik Kongresi Poster Sunum)



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU



ARAŞTIRMA ÖN ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROJE NO: 2009/102	İAEK 12/24
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ VE SEVİYESİ	Prospektif Yüksek Lisans Tezi
	ARAŞTIRMANIN ADI	Zeka geriliğine neden olan delesyon ve duplikasyonların tam genom mikroarray metoduyla belirlenmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Biyolog Deniz Sünnetçi, Yard.Doç.Dr.Naci Çine(danışman) Dr.Bülent Kara (2.danışman), Yard.Doç.Dr.Hakan Savlı
	ARAŞTIRMANIN YERİ	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD KOU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hast.AD
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	+
	GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME FORMU	+
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	+
	ARAŞTIRMANIN BÜTÇESİ	-

KARAR BİLGİLERİ Etik değerlendirme amacıyla başvuru projesi 26.06.2009 tarihinde İnsan Araştırmaları Etik Kurulu'nda İAEK çalışma esasları dikkate alınarak incelenmiş ve araştırma etiğine uygun tasarlanmış olmasından dolayı **ön onay** verilmesine karar verilmiştir.

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASLARI	İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, KOU İnsan Araştırmaları Etik Kurul Yönergesi				
ÜYELER					
Unvanı / Adı Soyadı	Uzmanlık	Kurumu	Cins.	İlişki *	Katılım/İmza
Prof. Dr. Ali DEMİRCİ Başkan	Radyoloji	KOU TF Dekani	E	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Prof. Dr. Nermin ERSOY Üye	Deontoloji	KOU TF Tıp Tarihi ve Etik AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Prof. Dr. B.Faruk ERDEN Üye	Farmakoloji	KOU TF Farmakoloji AD.	E	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	Eczacı	KOU TF Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	katılmadı
Prof. Dr. Sevinç KUŞKAY Üye	Biyokimya	KOU TF Biyokimya AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Prof. Dr. Zehra BİRCAN Üye	Pediyatri	KOU TF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Prof. Dr. İzzet YÜCESOY Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	KOU TF Kadın Hastalıkları ve Doğum AD.	E	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	katılmadı
Prof. Dr. Dilek URAL Raportör	İç Hastalıkları, Kardiyoloji	KOU TF Kardiyoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	
Doç. Dr. Sevgiye K. ÖZKARA Üye	Patoloji	KOU TF Patoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	katılmadı
Av. Füsün DOĞANAY Üye	Avukat	KOU Hukuk Bürosu	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	katılmadı
Aysun ZEYİNCİ Üye	Hasta Hakları Savunucusu	Hasta ve Yakınları Derneği (HAYAD)	K	<input type="checkbox"/> Var <input type="checkbox"/> Yok	katılmadı.

* Test ücretlerinin hasta tarafından karşılanması koşuluyla -

► **Araştırmacılara önemli not:** Çalışmanız tamamlandıktan sonra "etiğe uygunluk onayı" için ön onay almış olan bu çalışmanın özetiyle tekrar başvurmanız gerekmektedir.

Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu Raportörlüğü, Umuttepe Yerleşkesi, Eski İstanbul Yolu 10.km, 41380 Umuttepe / İZMİT
Tel: 0 262 303 81 21; 0 262 303 74 50 - Faks: 0 262 303 70 03 - e-posta: iaek@kou.edu.tr