



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ARRAY CGH (KARŞILAŞTIRMALI GENOM
HİBRİDİZASYONU) TEKNİĞİNİN MENTAL
RETARDASYONLU OLGULARIN RUTİN TANISINDAKİ
YERİ VE ÖNEMİ**

Hazırlayan

Bio. BETÜL İŞİN

Tez Danışmanı

Prof. Dr. ÖZTÜRK ÖZDEMİR

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

ÇANAKKALE-2017

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında desteklenmiştir. Proje No: BAP-TYL 2016/890

TEZ ONAY FORMU

Kurum Adı : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Enstitüsü
Program Adı : Tıbbi Genetik
Programın Seviyesi : Yüksek Lisans (X) Doktora ()
Anabilim Dalı : Tıbbi Genetik ABD
Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Bio. Betül İŞİN
Tez Başlığı : Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu)
Tekniğinin Mental Retardasyonlu Olguların Rutin Tanısındaki Yeri Ve Önemi
Sınav Yeri : Tıbbi Genetik ABD.
Sınav Tarihi : 01.02.2017

Yukarıda tanıtımı yapılan tez, Tez Sınav Jürisi tarafından okunmuş, kapsam ve kalite yönünden başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Sınav Jürisi

Danışman (Unvan ve Adı)	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan ve Adları)	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Prof.Dr.Fatma SILAN	ÇOMÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik ABD	
Yrd.Doç.Dr.Ayla SOLMAZ AVCIKURT	Balıkesir Üniversitesi Tıbbi Genetik ABD	

Tez sınav jürisi tarafından başarılı olarak kabul edilen Yüksek Lisans Tezi Enstitü Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

THESIS APPROVAL FORM

Institute Name : Canakkale Onsekiz Mart University Institute of Health Sciences
Programme Name : Medical Genetics
Programme Level : Master of Science (X) Doctor of Philosophy ()
Department : Medical Genetics Department
Student Name and Surname: Bio. Betul ISIN
Title of the Thesis : The Role And Importance of Array CGH (Comperative Genomic Hybridization) Technique In Mental Retardation Cases
Examination Place : Department of Medical Genetics
Examination Date : 01.02.2017

We have investigated the present thesis in regard to content and quality and have approved as a Master of Science Thesis.

Supervisor (Title and Name)	Institution	Signature
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Members of Examination Jury (Titles and Names)	COMU Faculty of Medicine	
Prof.Dr.Öztürk ÖZDEMİR	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Prof.Dr.Fatma SILAN	COMU Faculty of Medicine Department of Medical Genetics	
Yrd.Doç.Dr. Ayla SOLMAZ AVCIKURT	Balıkesir University Department of Medical Genetics	

The above examination jury decision has been approved by Administrative Board of Health Science Institute, Canakkale Onsekiz Mart University, with decision dated and numbered

BEYAN FORMU

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Madde 8’de belirtilen ve ayrıntılı olarak tanımlanan etiğe aykırı eylemleri (intihal, sahtecilik, çarpıtma, tekrar yayım, dilimleme, haksız yazarlık ve diğer etik ihlali türleri) yapmadığımı onurumla beyan ederim.

Tarih: 01.02.2017

Tez Sahibi Adı ve Soyadı: Betül İŞİN

İmza:

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecimde ve tezimin yürütülmesinde bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren sayın danışman hocam Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'e,

Çalışmalarında laboratuvardaki çalışma imkanını sağlayan, teorik bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sayın hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a,

Hastalarında seçilmesinde yardımları olan Asistan Dr. Mine URFALI'ya, yüksek lisans sürecimde desteğini ve yardımını esirgemeyen Asistan Dr. Onur YILDIZ'a ve tez sürecimde yardım ve destekleri olan Asistan Dr. Barış PAKSOY'a,

Yüksek lisans sürecimde laboratuvardaki teknikleri öğrenmemde büyük yardımları olan Biyolog Elif ARI'ya, tez sürecimde desteklerini esirgemeyen ve yanımda olan Biyolog Damla KARAAĞAÇLI, Mol. Biyolog Zeliha GÜLER ve Mol. Biyolog Banu KURU'ya, göstermiş oldukları hassasiyet ve destekleri için Biyolog Gaye ACAR, Biyolog Didem UYSAL, Kimyager Hülya HAS ve adını sayamadığım bu süreçte yanımda olan herkese,

Hayatta her adımda yanımda olan, beni her konuda yüreklendiren, sevgi ve desteklerini her zaman hissettiğim ve bugüne gelmemi sağlayan sevgili babam İrfan Mustafa IŞIN ve sevgili annem Gülay IŞIN'a, biricik babaannem ve çok sevgili kardeşim Ezgi IŞIN'a SONSUZ TEŞEKKÜRLERİMİ SUNUYORUM.

Saygılarımla,
Betül IŞIN

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Proje No: BAP-TYL-2016-890 olarak desteklenmiştir.

ÖZET

Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu) tüm kromozomlardaki olası delesyon ve duplikasyonlar ile bu anomalilerin boyutlarının saptanmasını sağlayan ileri bir tekniktir. Mental retardasyon bireyde sosyal ve uyumsal davranışların geriliği, akademik ve konuşma becerilerinde kısıtlılık şeklinde ortaya çıkan nörogelişimsel bozukluklardır. Projemizde mental retardasyon ön tanısı/tanısı almış 8 adet hastaya ait DNA bankası kullanılarak array CGH analizi ile olası mikrodelesyon ve duplikasyonların tespit edilmesi amaçlandı.

Çalışmamızda kullanılan 8 hastadan birinde 4p16.3 duplikasyonu saptandı ve ilgili genlerin analizi gerçekleştirildi. Bir hastada 15q11.2 mikrodelesyon sendromu saptandı. 5 hasta normal olarak sonuçlandırıldı. Normal olarak sonuçlandırılan iki hastada X'e bağlı mental retardasyona sebep olan ZNF41 geni aday gen olarak tespit edildi. Normal olarak değerlendirilen bebek hastada ise 1q31.3 duplikasyonu ve 22q12.3 bölgesinde duplikasyonu saptandı. Bu aberasyonlara bağlı olarak henüz nörolojik belirtiler gözlenmediği için normal olarak sonuç verildi. Hastanın gelişim dönemi boyunca takip edileceği ve duplikasyona uğrayan bölgelerdeki genlerin ilişkili olduğu nörolojik durumlar bakımından inceleneceği belirlendi.

Bu çalışma ile array CGH yönteminin mental retardasyon hastalarında ayrıntılı analiz gücü sunarak ileri tanı sağladığı ortaya konmuştur. Bu doğrultuda yüksek rezolüsyon sağlaması, hastalıktan sorumlu genlerin araştırılması ve aday genlerin belirlenmesine olanak sağladığı için, mental retardasyon hastalarında ileri tanı yöntemi olarak belirlenmiştir. Aday genlerin etki mekanizmalarına dair ileri çalışmalar yapılması mental retardasyona neden olan genlerin belirlenmesi açısından önem taşımaktadır.

Anahtar Kelimeler: Array CGH, Mental Retardasyon

ABSTRACT

The Role And Importance of Array CGH (Comperative Genomic Hybridization) Technique In Mental Retardation Cases

Array CGH (Comperative Genomic Hybridization) is an advanced technique that detect deletions and duplications on all chromosomes with their size. Mental retardation is a neurodevelopment disorder that restrict social and adaptive behavior and academic- speech skills. We aimed to detect possible microdeletion and duplications by array CGH analysis using DNA bank of 8 patients with pre-diagnosis/diagnosis of mental retardation in our project.

With this project one patient found as 4p16.3 duplication syndrome and genes related with syndrome was performed. In one patient analysed as 15q11.2 microdeletion syndrome. Five patients were found as normal molecular karyotype. ZNF41 gene was identified as a candidate gene in two patients, which normally resulted in X-linked mental retardation. In the case of normal infants, duplication of 1q31.3 and 22q12.3 was detected. As a result of these aberrations, neurological symptoms have not observed yet and the results evaluated as normal. It has been determined that the patient will be follow-up for neurological conditions during his developmental period.

In this study, it was revealed that array CGH method provides advanced diagnosis by providing detailed analysis power in mental retardation patients. In this regard, array CGH has been identified as a further diagnostic tool in patients with mental retardation, as it provides high resolution and allows investigation of genes responsible for disease and candidate genes. Further studies on the mechanism of action of candidate genes are important for the identification of genes that cause mental retardation.

Key Words: Array CGH, Mental Retardation

İÇİNDEKİLER LİSTESİ		SAYFA
NO		
	İÇ	KAPAK
I	TEZ ONAY	FORMU
II	BEYAN	FORMU
IV	TEŞEKKÜRLER	
V	ÖZET	
VI	ABSTRACT	
VII	İÇİNDEKİLER	
VIII	KISALTMALAR VE SİMGELER	LİSTESİ
XII	TABLolar	LİSTESİ
XIII	ŞEKİLLER	LİSTESİ
XIV	1. GİRİŞ	1
	2. GENEL BİLGİLER	3
	2.1. Mental Retardasyon	3
	2.1.1. Tanım	3
	2.1.2. Sınıflandırma	4
	2.1.2.1. Hafif Derecede Mental Retardasyon	5
	2.1.2.2. Orta Derecede Mental Retardasyon	5
	2.1.2.3. Ağır Derecede Mental Retardasyon	5

2.2.2.4. Çok Ağır Derecede Mental Retardasyon	5
2.1.3. Ayırıcı Tanı	6
2.1.4 Epidemiyoloji	6
2.1.5 Etiyoloji	7
2.1.5.1. Prenatal Nedenler	7
2.1.5.2. Perinatal Nedenler	8
2.1.5.3. Postnatal Nedenler	8
2.2. Mental Retardasyona Yol Açan Genetik Sebepler	8
2.2.1. Kromozomal Anomaliler	9
2.2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri	9
2.2.1.2. Yapısal Kromozom Anomalileri	9
2.2.1.2.1. Delesyonlar	9
2.2.1.2.2. Duplikasyonlar	9
2.2.1.2.3. Translokasyonlar	10
2.2.1.2.4. Mikrodelesyonlar	10
2.2.2. Monogenik Sebepler	12
2.2.2.1. Otozomal Dominant Mental Retardasyon	12
2.2.2.2. Otozomal Resesif Mental Retardasyon	12
2.2.2.3. X'e Bağlı Mental Retardasyon	12
2.2.3. Poligenik Mental Retardasyon	14
2.2.4. Mitokondrial Mental Retardasyon	14
2.3. Mental Retardasyon Tanısındaki Kriterler	14
2.3.1. Hasta Öyküsünde Değerlendirilmesi Gereken Durumlar	14
2.3.2. Klinik Değerlendirme	14
2.4. Mental Retardasyonlu Olguların Tanısındaki Tetkikler	15
2.4.1. Nörolojik Görüntüleme	15

2.4.2. Kromozom Analizi	16
2.4.3. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)	17
2.4.4. Tek Gen Analizleri	17
2.4.5. Metabolik Testler	17
2.4.6. Multipleks Ligasyon Bağımlı Prob Amplifikasyonu (MLPA)	17
2.4.7. Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu)	18
2.4.8. Yeni Nesil Sekanslama	18
2.5. Mikroarray Tipleri	18
2.5.1. CHG Array ve CGH+SNP Array	18
2.5.2. Kromotin İmmünoresipitasyon Array (ChIp to ChIP Array)	19
2.5.3. DNA Metilasyon Arrayi	19
2.5.4. Gen Ekpresyon Arrayi	19
2.5.5. miRNA Array	20
2.6. Mental Retardasyonlu Olguların Tanısında Kullanılan ACGH Tekniği	20
2.6.1. Array CGH'in Kullanım Alanları	20
2.6.1.1. Klinik Kullanım Alanları	20
2.6.1.1.1. Mental Retardasyon ve Dismorfizm	20
2.6.1.1.2. Translokasyonlar	20
2.6.1.1.3. Prenatal Çalışmalar	20
2.6.1.1.4. Kanser Araştırmaları	20
2.6.2. Araştırmada Kullanım Alanları	20
2.6.3. Array CGH Tekniği	21
2.6.4. Array CGH Prensibi	22
2.6.5. Array CGH Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları	23
3. GEREÇ YÖNTEM	24
3.1. Yöntem	24

3.1.1. Hastalara Ait DNA'ların Kandan İzolasyon Basamakları	25
3.1.2. Array CGH Metodu ve Uygulanması	26
3.1.2.1. Genomik DNA'nın Nicel ve Kantitatif Analizi	27
3.1.2.2. Restriksiyon Kesimi	27
3.1.2.3. DNA'nın İşaretlenmesi	28
3.1.2.4. Pürifikasyon Aşaması	28
3.1.2.5. Örneklerin Vakum Konsantratörde Kurutulması	29
3.1.2.6. Hibridizasyon Aşaması	29
3.1.2.7. Hibridizasyon Örneklerinin Array Slaytlarına Yüklenmesi	30
3.1.2.8. Yıkama	31
3.1.2.9. Tarama	32
4. BULGULAR	33
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
7. KAYNAKLAR	58
8. ÖZGEÇMİŞ	64
9. EKLER	66

KISALTMALAR ve SİMGELER

aCGH (Array CGH) : Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu Mikroarray Tipi (Comperative Genom Hybridization)

MR : Mental Retardasyon

MLPA : Çoklu Ligasyonla Prob Amplifikasyonu (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification)

FISH : Floresan In Situ Hibridizasyonu

DNA : Deoksiribonükleik asit

PCR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu

AAIDD : Amerikan Zihinsel ve Gelişimsel Engelli Birliği (American Association On Intellectual And Development Disabilities)

APA : Amerikan Psikiyatri Birliği (American Psychiatric Association)

DSM-4 : Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders 4. Basım

DSM-5 : Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders 5. Basım

SSI : Amerika Destekleyici Güvenlik Gelirleri (Supplemental Security Income)

IQ : Zeka Testi, Zeka Katsayısı (Intelligence Quotient)

S-MR : Sendromik Mental Retardasyon

NS-MR : Non Sendromik Mental Retardasyon

HapMap : Haplotip Haritalama Projesi

SNP : Tek Nükleotit Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)

CNV (KSV) : Kopya Sayı Varyantları (Copy Number Variation)

OMIM : İnsan Genleri Ve Genetik Hastalıkları Çevrimiçi Kaynağı (Online Mendelian Inheritance in Man)

Ng : Nanogram

µl : Mikrolitre

Kb : Kilobaz

Mb : Megabaz

mg : Mikrogram

ml : Mililitre

TABLolar LİSTESİ
NO

SAYFA

Tablo 1. Mental retardasyonun sınıflandırılması (Mental Disorders and Disabilities Among Low-Income Children, 2015)	4
Tablo 2. Restriksiyon işlemi için gerekli bileşenler ve miktarları	27
Tablo 3. Floresan işaretleme için gerekli bileşenler ve miktarları	28
Tablo 4. Hibridizasyon aşamasında gerekli olan bileşenler ve miktarları	29
Tablo 5. Yıkama aşamasında gerekli olan buffer tipleri ve koşulları	31
Tablo 6. Hastaların endikasyon, yaş-cinsiyet ve sitogenetik analiz verileri	33
Tablo 7. Hastalara ait array CGH analiz verileri	36
Tablo 8. 15q11.2 tip 1 mikrodelesyon sendromunda saptanan klinik bulgular ve yüzdeleri (Cox ve ark., 2015)	51

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

NO

Şekil 1. OMIM'de X'e bağlı MR sebebi olarak rapor edilen genlerin sınıflandırılması (Piton ve ark., 2013)	13
Şekil 2. Array CGH protokol aşamaları	27
Şekil 3a. Gasket array slaytının üzerine hasta örneklerin yüklenmesi. 3b. Yüklenen örneklerin üzerine barkodlu SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K slaytının yerleştirilmesi.	30
Şekil 4. Agilent hibridizasyon firmı	31
Şekil 5. Mikroarray slaytının tutucuya yerleştirilmesi	32
Şekil 6. Agilent Mikroarray Scanner (AGT-G4900DA SureScan Mikroarray Scanner)	33
Şekil 7. 1 nolu hastaya ait array CGH analizi sonucu normal karyotip sonucu	39
Şekil 8. 2 nolu hastaya ait farklı referans kullanılması sonucu ortaya çıkan X ve Y kromozomundaki aberasyonlar	40
Şekil 9. 3 nolu hastaya ait 4p16.3 duplikasyonunu gösteren array CGH analiz verisi	43
Şekil 10. 4 nolu hastaya ait 15q11.2 bölgesinde meydana gelen delesyon	44
Şekil 11. 5. hastaya ait array CGH analiz görüntüsü	45
Şekil 12. 6 nolu hastaya ait normal karyotip dizilimi ile birlikte X kromozomu üzerinde delesyon şüphesi taşıyan p11.23 bölgesi	45
Şekil 13. 7 nolu hastaya ait 2q.13 bölgesindeki delesyon	46
Şekil 14. 7 nolu hastaya ait X11.23 bölgesindeki şüpheli 3,894kb'lık delesyon bölgesi	47
Şekil 15. 8 nolu hastaya ait 1q31.3 kromozom bölgesinde 94,302kb'lık duplikasyon	47
Şekil 16. 8 nolu hastaya ait 22q12.3 bölgesinde 114,267 kb'lık duplikasyon	48
Şekil 17. 15q11.2 bölgesindeki Bp1 ve BP2 kırılma noktaları arasında kalan genler ve Tip1 15q11.2 delesyonu (Doornbos ve ark., 2009)	51



1. GİRİŞ

Mental retardasyon (MR) bireyin günlük yaşamsal becerilerinde gerilikler ile ortalamanın altında kalan zihinsel fonksiyonlarının olması durumlarını kapsayan nörogelişimsel bozukluklardır.

Amerikan Psikiyatri Birliğinin yayımlanmış olduğu DSM-5'te (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 2013) yer alan mental retardasyon tanıma göre ortalamanın altında kalan zeka, günlük temel davranışların yerine getirilmesinde aksaklıklar ve bu özelliklerin 18 yaş öncesi saptanmış olması olarak belirtmiştir. Bu hastalarda bilişsel, duyuşsal, konuşma ve motor becerileri, psiko sosyal durumlar, günlük belirli yaşamsal faaliyetlerini yerine getirme gibi belirli yönlerde eksiklik ya da kısıtlılık söz konusudur (Helen ve ark., 2007). Bunlar ile birlikte MR, birçok sendromu içerisinde barındıran genel bir terimdir. Bu sendromlar, tek bir genden kaynaklanan mutasyondan, kayıp veya ekstra kromozom varlığından veya kromozomun bir bölgesinde meydana gelen hatadan kaynaklanabilir. Örnek olarak ve FMR1 genindeki mutasyon sonucu oluşan Frajil X sendromu, extra bir kromozomun varlığı sonucu oluşan Down sendromu (47,XX+21/47,XY+21) ve mikrodelsiyon/duplikasyon sendromları verilebilir.

Kromozom analizleri Tıbbi Genetik laboratuvarlarının ilk tanı basamağını oluşturmaktadır. Fakat bu analizler 4-6 Mb'dan daha küçük yapısal kromozom anomalilerini ortaya çıkaramamaktadır. Bu genellikle mental retardasyon tanısında yetersiz kaldığı için tanı şansını artırabilmek için 50- 70 baz çifti kadar daha küçük kopya sayısı değişimlerini belirlemek için MLPA yöntemi ya da yine bölge spesifik problemler ile tanı şansı veren FISH yöntemi kullanılmaktadır. Fakat anomalileri teşhis etme olanağı seçilen prob ile sınırlı olduğu için spesifik bölge dışındaki anomalilerin analizine olanak vermezler. Array CGH tekniği kromozom analizi ve moleküler analizlerin yetersiz kaldığı, saptanamayacak düzeydeki mikrodelsiyon ve duplikasyonların tespitinde günümüzde en doğru tanıyı verebilen yöntemler arasındadır. Bu özellikleri sayesinde mental retardasyonlu olgularda tanı şansını yükselttiği için son zamanlarda diğer sitogenetik ve moleküler yöntemlerinin yerine tercih edilmeye başlanmıştır.

Tezimizin amacı mental retardasyon tanısı/öntanısı almış 8 hastada submikroskopik anomalilerin tespitini ve bu doğrultuda sorumlu gen ve aday genlerin belirlenmesidir. Bu bağlamda mental retardasyon tanısı/öntanısı almış hastalarda aCGH yöntemi moleküler karyotiplendirmesi yapılarak, hasta ve/veya birinci derece akrabalarına (anne-baba) etkin genetik danışma verilmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mental Retardasyon

2.1.1.Tanım

Mental retardasyon terimi yerine zihinsel engelli, bilişsel engellilik terimleri de kullanılmaktadır. 2007 yılına kadar Amerikan Mental Retardasyon Birliği olarak adlandırılan kuruluş, bu tarihten sonra adını Amerikan Zihinsel ve Gelişimsel Engelli Birliği (AAIDD) olarak değiştirerek mental retardasyon terimini açmıştır. AAIDD tanımına göre zihinsel engelli kişiler zihinsel ve uyumsal (sosyal ve bireysel davranışlar) açıdan belirgin kısıtlılığı olan ve bu durumun 18 yaşından önce ortaya çıkması olarak tanımlanmıştır (DSM-5, 2013).

DSM-5 kitabında zihinsel engellilerin tanımlanmasında üç kriter belirtilmiştir. Bunlar;

- a- Zihinsel fonksiyonların (muhakeme, problem çözme, planlama, soyut düşünme, karar verebilme, okul başarısı, yaşamsal tecrübelerin öğrenimi) geri olması. Bu durum hem klinik açıdan hem de standardize olmuş zeka testleri tarafından onaylanmalıdır.
- b- Bireysel bağımsızlık ve sosyal sorumluluk almada kısıtlılıklar, gelişimsel geriliklerin olması, bir ya da birden fazla günlük aktivitede uyumsal davranışların sosyokültürel standartların altında olması. Örneğin birçok alanda (ev, okul, iş, topluluk) iletişimde, sosyal katılımı, bireysel davranışların yönetiminde kısıtlılıklar ya da problemler olması.
- c- Bu zihinsel ve uyumsal geriliklerin gelişim çağında başlaması olarak belirtilmiştir.

Zihinsel fonksiyon diğer bir deyişle zeka, genel olarak öğrenme, problem çözebilme, mantıklı düşünebilmeyi içeren mental kapasiteyi belirtir. Zekayı belirleyen testlerden biri de zeka bölümü, zeka katsayısı ya da IQ testi olarak adlandırılan testlerdir. Genellikle çocukluk çağındaki bireyler için uygulanan bu testler kişinin hayat başarısı, eğitim başarısı, mesleki yaşantısında dahil olmak üzere belirli durumlar hakkında değerlendirme sunan ölçümlerdir.

2.1.2.Sınıflandırma

Amerikan Psikiyatri Birliği'nin yayımlanmış olduğu Diagnostic And Statistical Manual Of Mental Disorders kitabının 4. basımında (DSM-4) mental retardasyon IQ değerlerine göre sınıflandırılmış olup, bu kitabın 5. basımında (DSM-5) ise günlük yaşamsal aktivitelerini kendi başına gerçekleştirme gücüne göre sınıflandırılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sınıflandırmasına göre IQ testinde 70'in altındaki değerler zeka geriliğini içerisine alır. Bu skorlarda hafif, orta, ağır ve derin zeka gerilikleri olmak üzere dört bölümde incelenir. 50-69 arası hafif derecede, 35-49 orta derecede, 20-34 ağır derecede ve 0-19 arası çok ağır (derin) zeka geriliği olarak sınıflandırılmaktadır.

Tablo 1'de mental retardasyonun çeşitli kaynaklar tarafından sınıflandırma ölçekleri belirtilmiştir. Amerikan Zihinsel ve Gelişimsel Engelli Birliği (AAIDD), mental retardasyonu bireyin yardıma gereksinim düzeylerini temel alarak sınıflandırmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde engelli bireylerin destekleyici güvenlik gelirlerinden (SSI) yararlanmaları için IQ düzeylerine göre sınıflandırma yapılmıştır.

Tablo 1. Mental retardasyonun sınıflandırılması (Mental Disorders and Disabilities Among Low-Income Children, 2015)

Sınıf	Görülme Yüzdesi	DSM-4 Kriteri (IQ temel alınmıştır)	DSM-5 Kriteri (Temel davranışlar baz alınmıştır)	AAIDD Kriteri (Yardıma gereksinim temel alınmıştır)	SSI Kriteri
Hafif	% 85	Yaklaşık IQ değeri 50- 69	Minimum destekle günlük aktivitelerini, sosyal becerilerini halledebilir.	Durum değişikliklerinde aralıklı desteğe ihtiyaç duyar.	IQ 60- 70 değeri. Hafif derecede mental kısıtlılık vardır.
Orta	% 10	Yaklaşık IQ değeri 36- 49	Akademik başarı, sosyalleşme açısından akranlarından geç öğrenir.	Günlük durumlarda gerekli desteğe ihtiyaç duyar.	IQ 59 ya da aşağısı , geçerli derecede başarıma gücü
Ağır	% 3,5	Yaklaşık IQ değeri 20- 35	Yoğun bakıma ihtiyaç duyar. Öğrenme becerileri kısıtlıdır.	Günlük aktivitelerde yoğun desteğe ihtiyaç duyar.	IQ 59 ya da aşağısı , geçerli derecede başarıma gücü
Çok ağır (Derin)	% 1,5	IQ < 20	Günlük aktivitelerinde 7/24 bakıma bağımlıdır.	Günlük her aktivite için çok yoğun destek şarttır.	IQ 59 ya da aşağısı , geçerli derecede başarıma gücü

MR, şiddeti ve IQ düzeyine göre sınıflandırılmanın dışında aynı zamanda sendromik mental retardasyon (S-MR) ve non-sendromik mental retardasyon (NS-MR) olmak üzere ikiye ayrılır. S-MR’da hastada bir ya da birden fazla klinik durum ya da komorbiditeler vardır. NS-MR’un sınıflandırılmasını üzerine halen tartışmalar sürmektedir. Fakat geleneksel olarak tanımı sadece tek bir durumun mental retardasyonu ortaya çıkarmasıdır.

Ülkemizde genellikle 6 yaşından küçük çocuklar için Ankara Gelişim Tarama Envanteri kullanılmaktadır. Bununla birlikte 6 ile 16 yaş arası çocuk ve ergen bireyler için Weschler Çocuklar İçin Zeka Testi kullanılmaktadır (Milli Eğitim Bakanlığı- Çocuk Gelişimi/Zihinsel Engelliler, 2015).

2.1.2.1. Hafif Derecede Mental Retardasyon

Bu çocuklar genelde okula başladıklarında akranlarından geride bir seyri olduğunda ayırt edilirler. Normal bireylere yakın oldukları için çevreye de kolay uyum sağlarlar. Problem çözme, anlama gibi akademik becerilerde gecikme söz konusudur. İş becerisi kazanabilecek yetkinlikleri vardır.

2.1.2.2. Orta Derecede Mental Retardasyon

Zeka yaşları ortalama olarak 6 - 8,5 yaşları arasında sabit kalmaktadır. Çoğunlukla erken gelişim dönemlerinde fark edilirler. Gelişim özellikleri normal çocuklardan geridedir. Öğrenmeleri yavaştır fakat belirli günlük becerileri gerçekleştirebilme kapasitelerinin yanında çoğunlukla desteğe ihtiyaç duyarlar. Özel eğitim programlarıyla normal ilkokul öğretim programlarından yararlanabilirler. Akademik beceriler ve öz bakım becerileri geliştirilebilir bireylerdir. Kısmen iş becerisi kazanabilirler.

2.1.2.3. Ağır Derecede Mental Retardasyon

Bu bireylerin çok büyük bir kısmı doğumdan sonra fark edilirler. Öz bakım becerilerinde yoğun bakıma ihtiyaç duyarlar. Zeka geriliğinin yanı sıra motor problemler ve konuşma-dil becerilerinde sorunlar söz konusudur. Öğretim teknolojilerinin artmasıyla birlikte bu problemlerin derecelerini düşürmek mümkün hale gelmiştir. Özel eğitim kurumlarında eğitim alabilirler.

2.2.2.4. Çok Ağır Derecede Mental Retardasyon

Bu bireyler bir üst grubun aksine özel eğitim alamazlar. Günlük aktivitelerini gerçekleştirebilmeleri için yaşam boyu bakıma ve gözetime muhtaçlardır. Öz bakım

becerileri, konuşma-dil becerileri yoktur. Çocukluk dönemlerinde ölüm oranları yüksektir.

2.1.3. Ayırıcı Tanı

Majör ve Hafif Bilişsel Bozukluklar: Bilişsel fonksiyonların geriliği ile karakterizedir. Majör bilişsel bozukluklar mental retardasyon ile beraber gözlenebilir. Örneğin Down sendromu olan bireyde Alzheimer sendromunun meydana gelmesi ya da mental retardasyon olan bireyde başı vurmaya bağlı gelişen ileri bilişsel kapasitenin kaybı şeklinde olabilmektedir.

İletişim ve Spesifik Öğrenme Bozuklukları: Bu bireylerde zeka geriliği ve davranışsal anomali görülmez. Direkt olarak iletişimsel sorunlar ve öğrenmeyle ilgili problemler vardır.

Otizm Bozuklukları: Otizmlili bireylerde mental retardasyon yaygındır. Bu bireylerde yerinde mental retardasyon değerlendirilmesi zorunludur. Çünkü bu bireylerin gelişimsel süreçlerinde IQ değerleri değişkendir.

2.1.4 Epidemiyoloji

Genel olarak tüm popülasyonlarda görülme sıklığı yaklaşık olarak % 1'dir ve bu oran yaşa göre farklılaşmaktadır. Ağır mental retardasyon için görülme sıklığı 1000' de 6 olarak saptanmıştır (DSM-5, 2013). Ülkemizde ise 2002 yılında yapılan Türkiye Özürlüler Araştırması sonucunda zihinsel engelli bireylerin yaş, cinsiyet, yerleşim yeri ve bölgelere göre nüfus oranları belirtilmiştir. Buna göre ülkedeki zihinsel engelli erkek bireylerin oranı % 58 olarak, dişi bireylerin oranı ise % 38 olarak hesaplanmıştır. Dil ve konuşma engelli olanların oranı % 38 olarak, zihinsel engelli olanlar % 48 olarak saptanmıştır. Konjenital olarak ortaya çıkan zihinsel engelli bireylerin oranı % 47,92 olarak, sonradan bir mental retardasyon oluşan bireylerin oranı % 49,89 ve bilinmeyen nedenli ortaya çıkan mental retardasyonlu nüfus oranı % 2,19 olarak saptanmıştır (Türkiye Özürlüler Araştırması, 2002).

Mental retardasyon her ırkta görülebilir. Fakat toplumdaki sıklığı yapılan çalışmaların standardizasyonuna ve yine buna bağlı olarak ülkeden ülkeye göre değişebilmektedir. Bunun yanında erkekler mental retardasyona dişilerden daha meyillidir. Hafif seviye mental retardasyonda erkek:dişi oranı 1.6:1, ağır mental retardasyonda erkek:dişi oranı 1.2:1 şeklindedir. Yine de cinsiyet oranları rapor edilen çalışmalara göre farklılık gösterebilmektedir (DSM-5, 2013).

Mental retarde bireyler arasında en çok bireyin yer aldığı grup hafif dereceli zeka geriliği grubudur. Dağılım çevresel, kültürel ve yaş gruplarına göre değişimler içermektedir. Gebelikte annenin iyi beslenmesi, doğumdan sonra uygun besinleri alması ve olumlu çevresel etkileşimleri alması bireyin zekasının gelişmesinde yeri olan önemli kriterlerdir. Zekanın %75'i ilk 4 yıl içerisinde gelişmektedir. Zeka gelişiminin hızlı olduğu dönemlerde olumsuz çevre etkilerine maruz kalınması zeka bölümünü düşürmektedir.

2.1.5 Etiyoloji

DSM-5'e göre mental retardasyon nörogelişimsel bozuklukların içerisinde alınmıştır. Zeka geriliği olan bireylerin yaklaşık %35'inde genetik bir neden gösterilir. %10'undan daha azında bilinmeyen orijinli bir malformasyon sendromu tanımlanabilir. Prenatal, perinatal ve postnatal etmenler içinde yer alan enfeksiyon, travma, toksinler, doğum sorunları gibi etmenler vakaların yaklaşık 1/3'ünün nedenini açıklayabilmektedir (American Association on Intellectual Developmental Disabilities, 2010). Dolayısıyla MR etiyojisinde sınıflandırmalarda yüzdeler dilimler çalışmalara göre değişkenlik göstermekle birlikte en geniş grubu bilinmeyen sebepler oluşturur.

Okan ve ark. (2005), mental retardasyonda etiyojik nedenleri üç grupta incelenmiştir. Bunlar prenatal, perinatal ve postnatal olarak üzere ayrılmaktadır.

2.1.5.1. Prenatal Nedenler

Genetik sebepler, anne-fetus enfeksiyonları, gelişimsel serebral anomaliler, radyasyon, hipotiroidi, anneye ait nedenler ve diğer nedenler olmak üzere ayrılmaktadır.

Genetik sebepler dört grupta ele alınmıştır.

- Metabolizma Hastalıkları: Kalıtsal aminoasit metabolizma bozuklukları (Fenilketonüri), organik asidemiler, lizozomal depolanma hastalıkları, peroksizomal hastalıklar, mitokondrial hastalıklar, mukopolisakkaritler
- Nörokutan Hastalıklar: Nörofibromatozis, tuberosklerozis
- Kromozomal Hastalıklar: Frajil X Sendromu, Trizomi, Klinefelter Sendromu
- Anne- fetus enfeksiyonları: Virüslerin sebep olduğu intrauterin enfeksiyonlar (TORCH), enfeksiyöz hepatit

Radyasyon: Radyoaktif ışınlar

Anneye ait nedenler: Maternal fenilketonüri, iyot eksikliği, diyabet, riboflavin gibi vitamin eksiklikleri, ilaçlar, alkol, madde bağımlılığı

Diğer sebepler: Prematüre doğum, toksemi, beslenme bozukluğu, nikotin ve civa alımı

2.1.5.2. Perinatal Nedenler

Doğum travması, metabolik bozukluklar (hipoglisemi gibi), enfeksiyonlar (menenjit vs.), intraventriküler kanama, çoklu konjenital deformiteler, neonatal konvülsiyonlar şeklindeki nedenlerdir.

2.1.5.3. Postnatal Nedenler

Enflamatuar hastalıklar ve enfeksiyonlar, kafa travmaları, intoksikasyonlar, çevresel nedenler, doğumsal metabolizma hastalıkları, organel hastalıkları (mitokondri, lizozom), merkezi sinir sistemi tutulumu ile seyreden nöromüsküler hastalıklar olarak ele alınırlar.

Mental retardasyona neden olan kromozomal anomaliler en geniş görülme sıklığına neden olan durumdur (Rauch ve ark.,2006). Bu durumla ilgili FISH, PCR tabanlı moleküler yöntemler ve mikroarray teknikleri sayesinde pek çok farklı anomali saptanmıştır.

Patojenik kopya sayısı varyantlarının da mental retardasyon ile ilişkili olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Devam eden birçok araştırma ile mental retardasyona neden olan birçok gen de keşfedilmeye açıktır (Ropers ve Hamel 2005, Zahir ve Friedman 2007).

2.2. Mental Retardasyona Yol Açan Genetik Sebepler

Winnepenninckx ve ark. (2003) mental retardasyona neden olan genetik sebepleri dört ana başlık içerisinde incelemiştir.

- a. Kromozom Anomalileri
- b. Monogenik Sebepler
- c. Poligenik Sebepler
- d. Mitokondrial bozukluklar

2.2.1. Kromozomal Anomaliler

Kromozomal anomaliler mental retardasyona neden olan en geniş gruptur. Bununla birlikte mental retardasyon büyük bir heterojeniteye sahiptir ve etiyolojik tanı birçok vakada eksiklik göstermektedir (Lugtenberg ve ark., 2007, Mefford ve ark., 2012).

2.2.1.1. Sayısal Kromozom Anomalileri

Normal bir insana ait vücut hücrelerinde diploid şekilde 46 kromozom bulunur. Normal kromozom setinden fazla sayıda kromozomların bulunması poliploidi olarak adlandırılır. Kayıp kromozomların meydana getirdiği durum ise monozomi olarak adlandırılır. Canlı doğum olarak bildirilen poliploidiler Trizomi 13 (Patau Sendromu), Trizomi 18 (Edward Sendromu) ve Trizomi 21 (Down Sendromu) şeklindedir. Monozomi durumuna ise Turner Sendromu örnek verilebilir. Dişi bireylerde görülen bu durumda X kromozomlarından biri yoktur. Zeka olarak normal bireylerdir.

Sayısal cinsiyet kromozom anomalileri sayısal otozomal kromozom anomalilerinden daha sık görülmektedirler, fakat her zaman mental retardasyon ile ilişkilendirilmesi beklenmemektedir. Ancak, X kromozomu sayısı ikiyi geçtiği durumlarda (örneğin, XXX) hastalarda daima mental retardasyon görülmektedir (Winnepenninckx ve ark., 2003).

2.2.1.2. Yapısal Kromozom Anomalileri

Kromozom yapısında birçok farklı şekilde anomaliler meydana gelebilir. Bunlar kromozomun bir bölgesinin kaybı, artışı ya da kromozomlar arası parça değiş-tokuşu şeklinde meydana gelebilmektedir. Bu anomalilerin bir kısmı mikroskopta teşhis edilebildiği gibi bir kısmı ise submikroskopik boyutta olabilmektedir.

2.2.1.2.1. Delesyonlar

Kromozom yapısındaki bir parçanın kopması ya da kaybolması durumudur.

2.2.1.2.2. Duplikasyonlar

Kromozom yapısındaki bir bölgenin iki katına çıkmasıdır. O bölgedeki genetik materyal iki katı şeklinde artış göstermektedir.

5-15 Mb büyüklüğündeki delesyon ve duplikasyonlar mikroskop altında saptanabilmektedir. Fakat 5-15 Mb'dan daha küçük kromozomal artış ya da kayıplar için mikroskopi yöntemi yetersiz kalmaktadır.

2.2.1.2.3. Translokasyonlar

Bir kromozom parçasının kopup başka bir kromozoma eklenmesidir. Resiprokal translokasyon ve robertsonian translokasyon olmak üzere iki tipi vardır. Resiprokal translokasyon; non-homolog kromozomlar arasındaki parça değişimidir. Robertsonian translokasyon; her iki kromozom sentromere yakın kopmuşsa, sentrik birleşme ile yeni bir kromozomun meydana gelmesidir. Bu tip sentrik füzyon tipi olarak da adlandırılmaktadır. İki farklı akrosentrik kromozomun uzun kolları kopar ve sentromerden birleşir. Bunun sonucu olarak, karyotipte 45 kromozom görülür. Geriye kalan kısa kollar da birbirleriyle birleşebilir ya da genellikle kaybolur. Bu parça kaybından dolayı gen sayısında azalma olur ve genellikle düşük ya da sakatlıkla sonuçlanır. 13, 14, 15, 20, 21 ve 22. akrosentrik kromozomlarında meydana gelir. Diğer kromozomlarda da meydana gelebilir fakat fetüste belirgin bir anomali şeklinde gözlenmez. Özellikle 13. ve 14. kromozomlarının birbirleriyle olan translokasyon her 1300 kişide bir görülür. En sık görülen robertsonian translokasyon tiplerinden biri de 21. kromozomdan kopan bir parçanın 14. kromozoma yapışmasıyla meydana gelen down sendromudur. (http://www.genetiks.com.tr/dnabook-tr/kromozomal_hastaliklar/yapisal-kromozom-anomalileri/ Erişim Tarihi: 09.10.2016)

2.2.1.2.4. Mikrodelesyonlar

Geleneksel sitogenetik yöntemlerle gözlemlenemeyen kromozom anomalileridir.

İnterstitial Delesyonlar: Kromozom üzerinde iki farklı noktada meydana gelen delesyonlardır. Örneğin, 7q11.23 segmentinde 20'den fazla genin silinmesiyle ortaya çıkan Williams Sendromunda bireyde mental retardasyon, kardiyovasküler problemler ve yüzde malformasyonlar şeklinde klinik gösteren nörolojik bir bozukluktur (Marten ve ark., 2008).

Terminal Delesyonlar (Subtelomerik delesyon): Kromozom üzerindeki tek noktadan kırılması ya da kopması durumudur. Kırılma ya da kopma uçtan meydana gelir. Telomerlerde meydana gelen kromozomal düzenlenmeler idiopatik (Flint ve ark., 1995) ve ailesel mental retardasyona (HolinskiFeder ve ark., 2000) neden olmaktadır.

Önceki yapılan çalışmalarda idiopatik mental retardasyon vakalarının %5-10'unda subtelomerik delesyonların tanımlandığı belirtilmektedir (Knight ve ark., 1999).

Delesyonun meydana getireceği durumlar delesyonun büyüklüğüne göre değişiklik göstermektedir. Gen bölgesi içeren küçük delesyonlar intragenik delesyon olarak adlandırılır ve o gen bölgesinde inaktivasyona sebep olur (An Introduction to Genetic Analysis, 2000). 17q21.31 bölgesindeki 440.680 kb'lık intragenik KANSL1 delesyonu Koolen-de Vries sendromu olarak bilinen nadir bir genetik durumla ilişkilendirilmiştir. Bu sendrom kardiyak ve böbrekte bozukluklar, yüzde anomali, mental retardasyon ve gelişme geriliği ile karakterizedir (Ciaccio ve ark., 2016). İki ve daha fazla genin kaybını içeren delesyonlar ise multigenik delesyon olarak adlandırılırlar. Bu durum daha şiddetli sonuçları doğurmaktadır.

Kromozom anomalilerinin meydana gelme sebeplerinden biri incelenecek olursa en temel sebep hücre bölünmesi sırasında meydana gelen problemlerdir. Kromozom anomalileri genellikle hücre bölünmesinde meydana gelen hatalar nedeniyle meydana gelmektedir. Hücre bölünmesi vücut hücrelerinde mitoz bölünme, eşey hücrelerinde mayoz bölünme olarak gerçekleşir. Mitoz bölünme sonucunda ana hücre bölünerek iki hücre meydana getirir. Kromozom sayısı korunur. Mayoz bölünme sonucunda kromozom sayısı yarıya iner ve 23 adet olur. Bu durum üreme organlarında meydana gelir ve sonucunda dişide yumurta, erkekte ise sperm oluşur. Bu iki farklı bölünme sonunda doğru kromozom sayısı ile işlemin bitmesi gerekir. Eğer hücre bölünmesinde hata gerçekleşirse kromozomlarda fazla sayıda kopya ya da kayıp ile sonuçlanabilir. Kromozomlar duplike olurken bu hatalar meydana gelebilir. Anne yaşı ve çevresel etkenler bu hataların meydana gelmesinde risk artırıcı faktör olabilmektedir. Anne yaşı ilerledikçe doğacak çocukta anomali meydana gelme riski daha yüksektir. Çünkü dişilerde 1.mayoz bölünme fetal yaşamın yaklaşık 3. ayında gerçekleşir. Primordial germ hücrelerinden oogonyalar oluşur. 3. ayda oogonyalar primer oosite dönüşürler ve bu oositler birey olgunluğa erişinceye kadar profaz evresinde kalırlar. Bu oositler ilerleyen yaşlarda anne olmak isteyen bireylerde mayoz sırasında homolog kromozomların ayrılmama (non-disjunction) riskinin daha fazla olmasından dolayı anomalilere sebep olabilir. Erkekler yaşam boyunca sperm ürettikleri için yaşa bağılı olarak anomali riski

doğurmaz. Bunlara ek olarak çok çeşitli çevresel faktörlerde anomalilere neden olabilmektedir (An Introduction to Genetic Analysis, 2000).

2.2.2.Monogenik Sebepler

Tek bir gendeki mutasyon kromozomun fonksiyonunu bozabilir ve mental retardasyona sebep olabilir (Winnepenninckx ve ark., 2003).

Monogenik sebepler genellikle gen ürünündeki ciddi fonksiyon kaybı ile ilişkilidir (Raymond ve ark., 2010). Monogenik sebepler otozomal dominant MR, otozomal resesif MR ve X'e bağlı MR olarak 3 grupta incelenmiştir.

2.2.2.1. Otozomal Dominant Mental Retardasyon

Mental retarde bireyler nadiren çocuk dünyaya getirdiklerinden otozomal dominant MR daha nadir görülür. Bununla birlikte, otozomal dominant kalıtılan Rubinstein-Taybi Sendromu gibi yeni mutasyonlar sonucu da meydana gelebilmektedir (Petrij ve ark.,1995). Nörofibromatosiz tip1 (17.kromozomdaki mutasyon) ve Noonan sendromları otozomal dominant monogenik bozukluklara örnek verilebilir.

2.2.2.2. Otozomal Resesif Mental Retardasyon

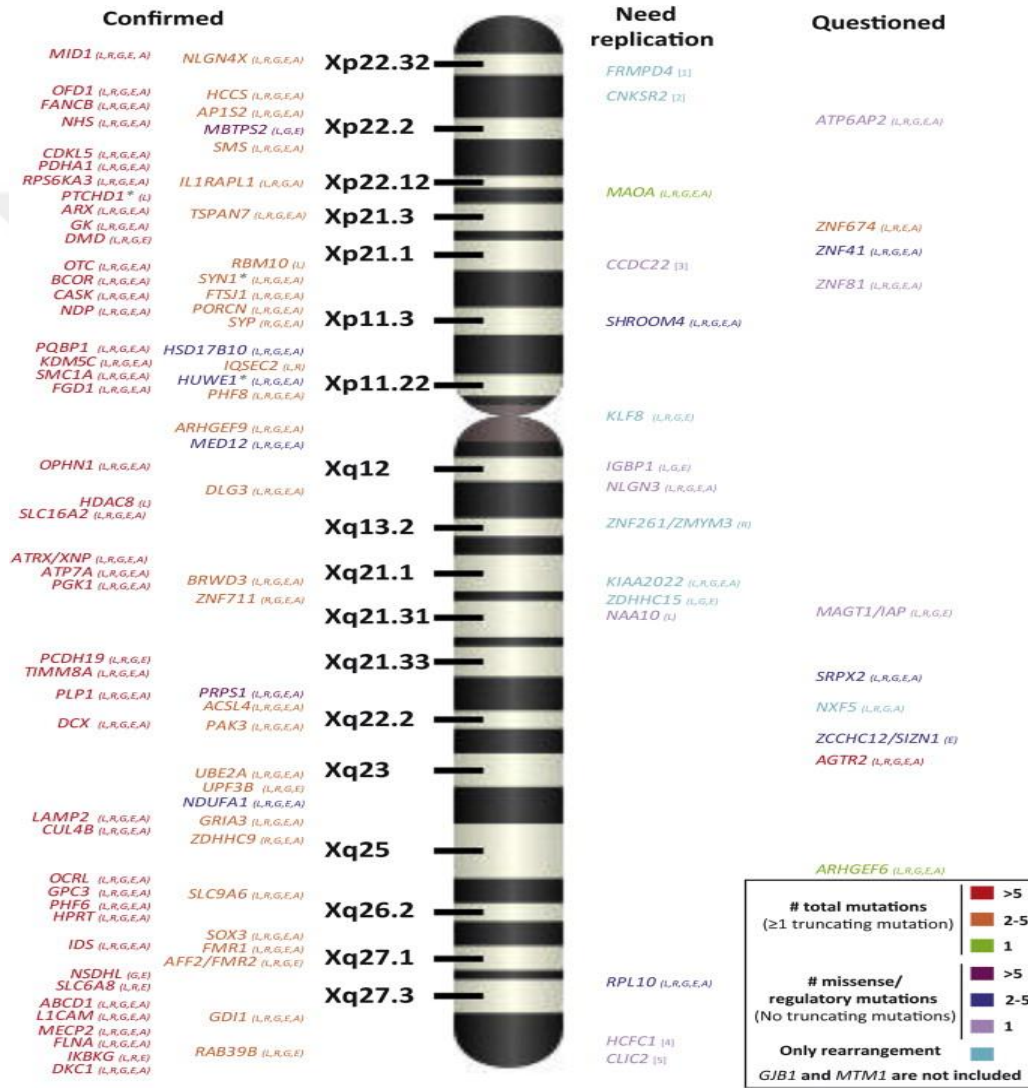
Otozomal resesif geçiş genellikle metabolik hastalıklarda görülmektedir. Enzimlerin eksikliği işlenmemiş substratların hücre içi birikimine, ürün azlığına, hücresel enerjinin tüketilmesine ya da aşırı miktarda metabolit salınmasına yol açarak bu tür hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır. Fenilketonuri, fenilalanin hidroksilaz eksikliğinden kaynaklanan doğumsal metabolizma kusurları olup otozomal resesif mental retardasyonun en sık görülen nedenleri içersinde yer alırlar. (Winnepenninckx ve ark., 2003).

2.2.2.3. X'e Bağlı Mental Retardasyon

X kromozomu 155 Mb uzunluğundadır ve haploid insan genomunun yaklaşık %5'ini kapsar (Ross ve ark, 2005). Dişiler iki X kromozomu taşırlar. Bir X kromozomunun herhangi bir bölgesinde meydana gelen değişiklik, diğer X kromozomunun aynı bölgesinde normal diziyeye karşılık geldiğinde normal büyüme gelişimi destekler. Bu durumda dişiler hasta olmayıp, taşıyıcıdırlar. Erkekler ise bir X kromozomuna bir Y koromozomuna sahiptirler. Dolayısıyla X kromozomu üzerinde meydana gelen değişikliği normal olarak destekleyebilecek bir X kromozomu daha olmadığı için erkekler hasta durumdadır. Bu durum X'e bağlı

resesif hastalıkların temelini oluşturmaktadır. X'e bağlı mental retardasyonun en sık görülen nedeni 5'UTR bölgesindeki FMR1 geninin trinükleotit tekrarlarıdır. Bu durum Frajil X sendromuna neden olur.

OMIM (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) verileri baz alınarak ortaya çıkan sonuçta göre; mental retardasyon ile ilişkili 2333 gen bildirilmiştir. Piton ve ark. (2013) Şekil 1'de, OMIM'de rapor edilmiş 106 tane X'e bağlı MR'a neden olan genlerin sınıflandırmasını yapmışlardır.



Şekil 1. OMIM'de X'e bağlı MR sebebi olarak rapor edilen genlerin sınıflandırılması (Piton ve ark., 2013)

Piton ve ark. (2013), sınıflandırma içerisinde yer alan bu genleri; sol tarafta X'e bağlı MR nedeni genler ve sağ tarafta ilişkili gösterilen ve tekrar sorgulanması gereken genler olarak ayırmışlardır.

2.2.3. Poligenik Mental Retardasyon

Birden fazla genin etkileşimi ile meydana gelir. Williams Sendromu, Cornelia de Lange Sendromu poligenik mutasyonlar sonucu meydana gelen nadir genetik hastalıklardandır. Williams Sendromu 25.000 doğumda bir görülen nadir genetik hastalıklardandır. 7. kromozom üzerindeki ardı ardına gelen 20'den fazla genin delesyonundan kaynaklanır. Bu bireylerin IQ değerleri genelde 55 aralığında olup orta seviyededir bununla birlikte 40-90 aralığında geniş bir skalaya da sahiptir (Handbook of Developmental Psychiatry, 2011, Korenberg ve ark., 2000).

2.2.4. Mitokondrial Mental Retardasyon

Otozomal ya da cinsiyet kromozomları üzerindeki bozukluklara ek olarak mitokondrial genlerdeki hasarlar da mental retardasyona neden olabilmektedir. Bu tür soyağaçlarına maternal kalıtım sonucu rastlanmaktadır (Winnepenninckx ve ark., 2003). Çünkü mitokondrial DNA maternal kalıtılır, bunun nedeni ise döllenme sırasında spermin mitokondri bulunduran boyun kısmının yumurta ile birleşen kısma dahil olmamasındandır. Kearns-Sayre Sendromu mitokondrial MR'a örnektir.

2.3. Mental Retardasyon Tanısındaki Kriterler

2.3.1. Hasta Öyküsünde Değerlendirilmesi Gereken Durumlar

Hastanın öyküsü ve mümkünse üç jenerasyona kadar aile ağacı çıkarılmalıdır. Akrabalık ilişkileri, MR geçmişleri, etkilenen dişiler ve erkekler, ölümler ve düşükler kayıt edilmelidir. Bebeğin prenatal döneminde annede eğer varsa diyabet, hipertansiyon, kullanılan ilaçlar sorulmalıdır. Ayrıca yine varsa plasental doppler, fetal malformasyonlar, intrauterin enfeksiyonu, fetal ultrasonografisi, fetal hareket durumu kayıt edilmelidir. Doğum ayrıntıları; boy, kilo, doğum şekli, baş çevresi öğrenilmelidir. Hastanın gelişimsel durumu gelişme gerilikleri, otistik hareketler vb. durumları alınmalıdır. Bunların yanında beslenme durumları, nöbetler, uyku bozuklukları, hiperaktivite, davranışsal problemler, tekrarlayan hareketler, görme ve duyma bozuklukları varsa kaydedilmelidir.

2.3.2. Klinik Değerlendirme

Puri ve ark. (2016), mental retardasyon vakalarının klinik anında öncelikli düşünülmesi ve değerlendirilmesi gereken durumları şu şekilde belirtmiştir.

- Primordial Kısalık Durumu: Cornelia de Lange sendromu, Rubinstein Taybii sendromu

- Mikrosefali: Down sendromu, kromozomal bozukluklar (sayısal ve yapısal), mikrolezyon sendromları, monogenik bozukluklar
- Makrosefali: Mukopolisakkarodozis, Sotos sendromu, Alexander hastalığı
- Yüzdeki malformasyonlar: Mukopolisakkarodozis, Mukolipidozis
- Nörokutanöz belirteçler ve pigmentasyon anomalileri
- Birleşik parmaklar: Mental retardation, X-linked hidrosefali
- Genital anomaliler: Smith Lemli Opitz syndrome, Fragile X
- Göz bozuklukları
- Tüylene anomalileri

Yukarıda belirtilen fiziki muayene dışında davranışsal anomalilerde dikkatle sorgunlanmalı ve incelenmelidir. Hiperaktivite, uyku bozuklukları, kendine zarar verme, stereotipik davranışlar bakımından fenotipik detaylı muayene yapılmalıdır (Poplawski, 2003).

Belirtilen durumlar temelde vakadan vakaya göre değişmektedir. Örneğin yüzdeki malformasyonların sebebi çok sayıda sendromun neden olduğu anomalilerden kaynaklanabilir. Dismorfizmleri saptamaya yönelik detaylı muayenenin tanıya güçlü katkıları vardır.

Klinik incelemede dikkatle değerlendirilmesi gereken durumlar genel itibariyle nörolojik durumu (spastisite, hipotoni vb. refleksler, normal olmayan hareketler), fizik muayenesi ve gelişimsel süreçteki davranış fenotiplerinin incelenmesidir.

2.4. Mental Retardasyonlu Olguların Tanısındaki Tetkikler

2.4.1. Nörolojik Görüntüleme

Nörolojik görüntüleme teknikleri bulguların varlığına göre tanı olasılığını yükseltmektedir. Görsel uyarılmış potansiyeller (VEP), elektroensefalogram (EEG), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), ve manyetik rezonans spektroskopisi (MRS) tetkikleri klinik açıdan değerlendirilmeye alınması gereken tetkiklerdendir. (Puri ve ark., 2016). Bununla birlikte bazı sendromların belirlenmesinde laboratuvar tekniklerinin verdiği sonucu desteklemesi halinde doğrudan tanıyı güçlü kılar. Örneğin manyetik rezonans görüntüleme sonucunda gözlenen serebellar vermis hipoplazisi ve molar diş işareti Joubert Sendromu ile ilişkilendirilmektedir.

Bouhadiba ve ark. (2000), MRI sonuçlarının mental retardasyon vakaların %49'daki yapısal malformasyonları teşhis ettiğini bildirmiştir. Manyetik rezonans spektroskopisi beynin yapısı, olgunluğu ve birçok bozukluğun teşhis edebilen bir tekniktir. Kreatin eksikliği sendromu ya da canavan sendromunu teşhis etmede temel role sahiptir (Martin ve ark., 2005, Verbruggen ve ark., 2009). Bu nedenle özellikle MRI ve diğer nörolojik görüntüleme teknikleri tanı için büyük önem taşımaktadır.

2.4.2. Kromozom Analizi

Kromozomlarının sayısal ve yapısal olarak incelenmesi ile genetik tayin yapılmasına karyotip analizi denilmektedir. Kelime anlamı itibariyle hücre genetiği anlamına gelen sitogenetik bilimi, laboratuvar tanı aşamasının ilk basamağını oluşturmaktadır. Bilinen kromozomal sendromların kesin tanısı, mental retardasyon ve/veya dismorfik özelliklerle birlikte olan monogenik anomaliler, gelişim anomalileri gibi başlıca şüpheli durumlarda ilk sitogenetik yöntemlere başvurulmaktadır. Klasik bantlama yöntemleri olarak adlandırılan konvensiyonel sitogenetik ile bireye ait kromozomlar taranmakta ve karyotip analizi çıkarılmaktadır.

Rutin bantlama 500 bant düzeyinde yapılır. Hücre kültürü, harvest, lam üzerine yayma, boyama ve bantlama işlem sıralarıyla uygun metafaz durumlarına göre analizleri yapılır ve karyotiplendirilir. G bantlama en çok kullanılan yöntemdir fakat bununla birlikte, C bantlama, R bantlama ve NOR bantlama yöntemleri de kullanılmaktadır.

Klasik sitogenetik yöntemlerle 4-6 megabaz (Mb) büyüklüğündeki yapısal kromozom anomalileri, genetik materyaldeki kayıp veya artışlar saptanabilmektedir ve mikroskobik gözlenebilen durumlardır. Fakat 4 Mb'dan daha küçük değerler için hassas değildir.

Konvensiyonel karyotip analizleri ile mental retardasyon ve gelişim geriliği olan bireyleri saptama oranı %3-15 arasındadır (Van Karnebeek ve ark., 2009, Ciccone ve ark., 2005, Rauch ve ark., 2006).

2.4.3. Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH)

FISH (Floresans in situ Hibridizasyon) tekniği günümüzde klasik sitogenetik yöntemlere göre daha iyi çözünürlük sağlayan bir tanı yöntemi haline gelmiştir. Özellikle mikrodelesyon şüphesi taşıyan mental retardasyon olgularında standart karyotip analizi normal sonuç verdiğinde FISH tekniği, sitogenetik laboratuvarında ikinci tanı aşamasını oluşturmaktadır. Bu yöntem ile bölge spesifik problemler kullanılarak şüphelenilen mikrodelesyon sendromları araştırılmaktadır. Floresan işaretili problemler hedef DNA bölgesi ile hibridize olmaktadır. Örneğin DiGeorge FISH (22q11.2 delesyon sendromu teşhisine yönelik FISH probu). Buna ek olarak yapısal kromozomal anomalilerin çoğunluğu telomerleri içermektedir ve bu telomerlerdeki delesyonlar konvensiyonel karyotipleme ile görüntülenebilmektedir. Fakat çeşitli subtelomerik bölgelerdeki mikrodelesyonlar bu karyotip analizlerinde gözlenememektedir. Bunun için de subtelomerik FISH problemleri kullanılmaktadır.

FISH analizi spesifik genomik bölgelerin varlığını ortaya çıkardığından genom boyu tanı şansını vermemektedir. FISH subtelomerik delesyon ve duplikasyonların sebep olduğu nedeni bilinmeyen mental retardasyon vakalarının %2,5- 5'ini teşhis edebilmektedir (Ballif ve ark., 2007, Ravnan ve ark., 2007).

2.4.4. Tek Gen Analizleri

FMR1 mutasyon analizi ve MECP2 sekanslaması ile sırasıyla belirtilen Frajil X sendromu ve Rett sendromu tanıları spesifik tek gen analizleri gerçekleştirilir.

2.4.5. Metabolik Testler

Kan ve idrar ile aminoasit ve organik asit düzeylerinin incelenmesidir. Tanısal değerleri çok düşük olan testlerdir. Bu testler hasta öyküsü ve muayenesi ile bağdaştırılmalıdır.

2.4.6. Multipleks Ligasyon Bağımlı Prob Amplifikasyonu (MLPA)

FISH ile tespiti mümkün olmayan 50- 70 nükleotitlik kk kopya sayısı değişimlerini tespit ederek tanı şansını artıran multipleks PCR yöntemidir. Fakat FISH tekniği gibi tüm kromozomları hedefleyen bir yöntem değildir. Spesifik problemler ile belirli bölgeleri çalışmaya yönelik bir tekniktir. Mikroarray tekniğine göre avantajı daha ucuz ve daha az emek gerektiren bir yöntem olmasıdır.

2.4.7. Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu)

Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu, kopya sayı varyantlarının tespiti ile bunun boyutlarını ve kayıp-artış bölgelerindeki hastalıkla ilişkili olabilecek genleri saptamaya yönelik ileri analiz yöntemidir. Redon ve ark. (2006), kopya sayı varyantlarını, referans genom ile karşılaştırma yaparak, 1 kb ve 1 kb'dan daha büyük olan DNA parçaları olarak tanımlamıştır. Referans DNA ile hasta DNA'sı arasındaki yüzlerce nükleotit farklılıkları saptayan, varsa mikrodelesyon ve duplikasyonları ortaya çıkaran bir tekniktir. Array CGH yöntemi mental retarde hastaların %14-20'sini teşhis etmektedir (Cappuccio ve ark., 2016).

Geleneksel sitogenetik ile gözlemlenemeyen submikroskopik aberasyonları tespit etme açısından yüksek rezolüsyon sağlayan bir tekniktir. FISH problemleri bölge spesifik oldukları için tüm kromozomlardaki aberasyonların incelenmesi açısından uygun bir teknik değildir. Keza MLPA yöntemi de bölge spesifik bir tekniktir ve her kromozomun incelenmesine olanak sağlamadığı için bu bağlamda uygun değildir. Array CGH, FISH ve MLPA yöntemlerine göre daha pahalı bir yöntem olmasına karşın mental retarde bireylerdeki mikrodelesyon, duplikasyon ve amplikasyonları göstererek, yüksek bir çözünürlükte saptayabildiği için diğer yöntemlere göre tanı şansı çok daha yüksek olan ileri bir tekniktir. Bununla birlikte dengeli kromozomal anomaliler içerisindeki inversiyonları, poliploidi, düşük seviye mozaizmlerini ve resiprokal translokasyonları tespit edememektedir.

2.4.8. Yeni Nesil Sekanslama

Yeni nesil sekanslama tüm genomu dizileme özelliği sunar. Mikroarrayde belirlenemeyen bazı değişiklikleri bu yöntemle belirlenmektedir. Hastalıklara neden olan genlerin tespitini en üst düzeyde gerçekleştirir. Nokta mutasyonlarını saptadığı için hastalıkların temelini saptamayı daha nitelikli kılan günümüzde en ileri teknikler arasındadır.

2.5. Mikroarray Tipleri

2.5.1. CHG Array ve CGH+SNP Array

Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu arrayleri kopya sayı değişiklikleri, heterozigosite kaybı, nötral aberasyonlar şeklindeki genomdaki farklılıkları saptar. Delesyon ve duplikasyonları belirleyerek, o bölgedeki gen kayıpları ya da artışlarının hangi anomalilere sebep olacağını, mental retardasyon gibi gen aberasyonlarının

neden olduğu hastalıklarda spesifik bozukluklara ya da malformasyonlara neden olan genleri ortaya çıkarması açısından kullanılır. Diğer bir deyişle etiyojisi bilinen ya da bilinmeyen durumları saptamak için lokustan lokusa 1 kb'a kadar ayrıntılı kopya sayı varyantlarını ortaya çıkarmak için tasarlanan mikroarray tipidir.

SNP (tek nükleotit polimorfizmi) arrayleri özellikle popülasyonda genetik varyasyonları belirlemek açısından özelleştirilmiş genotip araştırma platformlarıdır. Genellikle adli tıp, hastalıklara genetik yatkınlığın bulunmasında ya da DNA temelli ilaç çalışmalarında kullanılırlar (Pinkel ve Albertson, 2005, Ravel ve ark., 2007).

CGH ve SNP array kombinasyonu daha yüksek rezolüsyon sağlaması amacıyla kullanılmaktadır. Array CGH ve SNP arrayin birlikte kullanımı ile 270 farklı etnik kökenden (Avrupa, Afrika ve Asya) insan üzerinde haplotip haritalama projesi gerçekleştirilmiştir (HapMap). Belli bir kromozomda yer alan ve birbirini izleyen allel dizileri haplotip olarak adlandırılmaktadır. Tek bir kromozomdaki birbirine yakın SNP'lerin alelleri arasında ilişki olduğu kabul edilir.

Bu araştırma ile insan genomuna ait 1,447 submikroskopik değişken kopya bölgesi olduğu gösterilmiştir (Redon ve ark., 2006). Bu sayı genomun %12'sini kapsamaktadır ve yüzlerce genin delesyon, duplikasyon, insersiyon ve kompleks multi bölge varyantlarını içermektedir (Thomy ve ark., 2007). İnsan genomu yapısal varyantları kataloğunun küratörlüğünde Genomik Varyantlar Veritabanı (<http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) kurulmuştur. Genomik yapısal varyantların incelenmesine olanak sunar. Bu bağlamda SNP-CGH arraylerinde analiz açısından önem arz eder.

2.5.2. Kromotin İmmünoresipitasyon Array (ChIp to ChIP Array)

Gen ekspresyonları incelenir. Özellikle insan dışındaki model organizmalar ve canlılarla ilgili ekspresyon çalışmaları amacıyla kullanılır. Transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgelerinin araştırılmasında kullanılır (Horak ve Snyder, 2002; Iyer ve ark., 2001)

2.5.3. DNA Metilasyon Arrayi

Gene özgü metilasyon analizi ile genom boyu incelemeyi sağlayan array tipidir.

2.5.4. Gen Ekspresyon Arrayi

Genom boyu incelenen binlerce genin ekspresyon düzeylerini incelemeye özelleştirilmiş array tipidir.

2.5.5. miRNA Array

Apoptozis, hücre çoğalması, hücre farklılaşması ve metabolizma yollarında görev alan miRNA'ların ekspresyon çalışmalarını içerir. Genellikle kanser çalışmalarında kullanılır.

2.6. Mental Retardasyonlu Olguların Tanısında Kullanılan ACGH Tekniği

2.6.1. Array CGH'in Kullanım Alanları

Thomy ve ark. (2007), array CGH'in kullanım alanlarını klinik ve araştırma alanları olarak iki ayrı grupta ele almıştır.

2.6.1.1. Klinik Kullanım Alanları

2.6.1.1.1. Mental Retardasyon ve Dismorfizm

Klinik şüphe taşıyan MR vakalarında standart sitogenetik normal sonuç verdiğinde daha ayrıntılı analiz gücü ve tanı sağlayan array CGH kullanılmaktadır. Aynı zamanda dismorfik bireylerde bu anomalilere sebep olan bölgelerin araştırılmasında tercih edilmektedir.

2.6.1.1.2. Translokasyonlar

Array CGH ile sadece dengesiz kromozom anomalileri saptanabilir. Translokasyon kırılma noktalarındaki dozaj duyarlı genlerin ayrılması hastalarda mental retardasyon ya da dismorfik özelliklerin ortaya çıkması ile şüphelendirilmiştir. Array CGH ve sekans analizleri ile mental retarde hastalarda ve normal görünümlü dengeli translokasyon taşıyıcılarında insersiyon ve duplikasyonların yanında ayrıca translokasyon bölgelerindeki ayrılmış genlerinde analizleri gerçekleştirilmiştir (Baptista ve ark., 2008).

2.6.1.1.3. Prenatal Çalışmalar

Koryonik villus biyopsisi ya da amniyon sıvısı ile aCGH çalışmaları yapılarak prenatal tanıda kullanılabilirler.

2.6.1.1.4. Kanser Araştırmaları

Genomdaki bazı genetik alterasyon ve düzenlemeler kansere neden olabilir. aCGH ile kansere neden olan aberasyonlar belirlenir. Kanser sınıflandırması, ilerlemesi ve neden olan genler ile ilgili bilgileri verir (Bejjani ve Shaffer, 2006).

2.6.2. Araştırmada Kullanım Alanları

Gen identifikasyonu ve genotip- fenotip korelasyon araştırmalarında tercih edilmektedir. Moleküler karyotipleme analizi sayesinde submikroskopik

kromozomal dengesizliklerin belirlenmesini sağlar. Ayrıca gen identifikasyonu olarak verdiği için ayrıntılı tanı gücüne sahiptir. Van Buggenhout ve ark. (2005), FISH analizleri ve bu analizleri destekleyen array CGH yöntemi ile çalışılan 4 hastada 2q32.2q33 sendromu saptamışlardır. Sonrasında bu vakaların hepsinin minimal delesyonlar içerdiği ve bu delesyonların dört hastanın fenotipini aynı şekilde etkilediği tespit etmişlerdir. Fenotipteki etkinin sebebi olarak, delesyon bölgesi içerisinde yer alan SATB2 geninden kaynaklandığı ileri sürmüşlerdir.

2.6.3. Array CGH Tekniği

Kromozomlarda meydana gelen delesyon, duplikasyon, insersiyon ve translokasyonlar birçok anomaliye sebep olmaktadır. Bu anomalilerin teşhisi için birçok yöntem geliştirilmiştir.

FISH tekniğinden tüm kromozomları görüntüleme amacıyla geliştirilen karşılaştırmalı genomik hibridizasyon tekniği ile başlarda tümör genomundaki DNA kopya sayısının incelenmesi için amaçlanmıştır. (Speicher ve Carter, 2005, Bishop, 2010). Ardından araştırmacılar, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon prensibini mikroarraylerin kullanımı ile birleştirmişlerdir (Skena ve ark., 1995). Kromozomal aberasyonların her bir kromozomda ayrı ayrı incelenebilmesini sağlayan array CGH yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem ile moleküler boyutta karyotipleme yapılabilmektedir. Konvensiyonel sitogenetik ve moleküler analizlerle tespiti mümkün olmayan kopya sayı varyantlarını, hastalığa neden olan spesifik genlerin identifikasyonunu ve kromozomal anomalinin boyutunu teşhis etmektedir. Klasik sitogenetikteki saptanan aberasyonların iki katı kadar daha fazla anomali teşhis edilmektedir (Bejjani ve Shaffer, 2006). Shaffer ve ark. (2007), mental retardasyon/gelişim geriliği olan hastalarda aCGH ile kromozomal anomalileri %10-20 arasında bir değerde saptanmış ve bu anomalilerin yalnızca %5-7'sinin diğer yöntemlerle saptandığını belirtmişlerdir.

Mikroarray teknolojisi, DNA'nın bir substrata bağlanıp bilinen bir gen ya da fragment ile prob hazırlanması şeklinde tanımlanabilecek Southern Blot tekniğinden temel almıştır. Bu yeni teknikte membran yerine camın kullanılması, radyoaktivitenin yerini fluoresan işaretlerin alması ve bağlanmayı sağlayacak yöntemlerin hassaslaşmasıyla çalışmaların verimi ve elde edilen bilgilerin miktarı artmıştır.

Array CGH yöntemi ile kopya sayı varyantları olarak tanımlanan delesyon veya duplikasyonlar referans DNA ile karşılaştırılarak ortaya çıkarılmaktadır. Bu kopya sayı varyantları (KSV) kilobaz boyutundan megabaz boyutuna kadar ya da tüm kromozomu içeren (trizomi ve monozomiler) boyutlardaki anomalileri saptamaktadır (Mefford ve ark., 2012). Böylelikle hastalıkla ilişkisi gen boyutunda ortaya çıkarılmaktadır.

Hastada spesifik kopya sayı değişikliklerinin referans ile karşılaştırılarak tanımlanması mental retardasyon ve otizmle ilişkili yeni mikrodelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarının keşiflerinin hızlanmasına öncülük etmiştir (Mefford ve Eichler, 2009).

2.6.4. Array CGH Prensipleri

Kan, amniyon gibi vücut materyallerinden izolasyon yapılarak DNA elde edilir. Hasta DNA'sı ve referans DNA'nın miktarları aynı olacak şekilde eşitlenir. Bu işlemlerden sonra temelde dört işlem basamağı vardır.

1. DNA'nın restriksiyon enzimleriyle kesilmesi
2. Cy-3 ve Cy-5 problemleriyle hasta ve referans DNA'sının işaretlenmesi
3. Pürifikasyon
4. Hibridizasyon

Referans DNA olarak dişi bireyler için dişi referans, erkek bireyler için erkek referans kullanılır. Hasta ve kontrollerine ait genomik DNA'lar PCR aşaması ile restriksiyon enzimleriyle kesilirler. Daha sonra kesilmiş DNA'lar Cyanin-3 (Cy-3) ve Cyanin-5 (Cy-5) ile işaretlenmektedir. Cy-3 mavi, Cy-5 kırmızı renktedir. Bir sonraki aşamada referans ve hasta DNA'sı karıştırılıp aynı slayt üzerine uygulanır. Böylelikle slayt üzerine tutturulmuş problemlerden dizi eşleniği olanlar ile hibridize edilmiş olur. Elde edilen işaretlenmiş genomik DNA'nın spesifik aktivitesi hesaplanır. Bu sonuçlara göre işlemler tekrarlanır ya da işleme devam edilir. Hibridizasyon aşamasında tekrarlı sekansların hibridizasyonları ise Cot-1 DNA ile bloke edilmektedir. Blocking agent kullanılarak non-spesifik bağlanma azaltılır. Bu aşamalardan sonra mikroarray slaytına genomik DNA yüklenir ve hibridizasyon fırına konularak belirtilen süre ve sıcaklık doğrultusunda hibridizasyon aşaması tamamlanmış olur. Ardından mikroarray yıkaması gerçekleştirilir. Mikroarray slaytı mikroarray cam tutucu barın içerisine yerleştirilir ve cihaz analizi gerçekleştirir.

Temelinde hasta ve referans DNA'ların floresans boyalarla işaretlenir ve örnekler problarla yeniden hibridize olur. Her bir noktadaki floresan yoğunluğu ölçülerek, hasta ve referans arasındaki kopya sayı farklılıkları ortaya çıkarılmaktadır. Kopya sayısı değişikliklerinin boyutları kullanılan arraydeki prob sayısına göre değişmektedir (Mefford ve ark., 2012).

Problar yapay bakteri kromozomlarından (BAC'lar), P1 (PAC) klonları (75-200 kb boyutlarında) formlarında insan genomik DNA parçaları şeklinde veya sentetik oligonükleotidler (25-85 baz çifti) gibi daha küçük parçalar şeklinde olabilmektedir. Farklı aCGH platformlarının genomik çözünürlüğü, DNA problemlerinin aralık ve uzunlukları ile belirlenmektedir (Shaffer ve ark., 2007).

2.6.5. Array CGH Tekniğinin Avantajları ve Dezavantajları

Array CGH yöntemi neredeyse tüm dengesiz kromozomal anomalileri belirleyebilmektedir. Pratik olarak aCGH sıklıkla normal olarak rapor edilen karyotip analizlerindeki gözlemlenemeyen anomalileri ortaya çıkarmaktadır. Tipik olarak FISH ve MLPA yöntemlerinde bölgeye özgü için çoklu problemler kullanılır. Bu nedenle genom boyu anomalileri analiz edebilme güçleri yoktur. FISH analizlerinin tanı vermesi yüksek olmasına rağmen dezavantajları da vardır. Öncelikle klinisyenin hasta dismorfolojisini çok iyi teşhis edebilmesi gerekmektedir. İkinci olarak FISH genellikle metafaz kromozomlarını görüntüleme üzerinde kullanılmaktadır ve bazı durumlarda duplikasyonlar gözden kaçırılabilir. Üçüncü olarak FISH analizlerinin değerlendirilmesinde yoğun emek ve kişinin tecrübeli olması gerekmektedir.

Array CGH'in en temel avantajı yüzlerce FISH ya da MLPA testinin vereceği bilgiyi tek bir array CGH analizinin vermesidir. Karyotip analizinin aksine aCGH bölünmüş hücrelere ihtiyaç duymaz ve ayrıca genomik mosaizmleri teşhis edebilir. Yapılan çalışmalarda fazla sayıda çalışılan hasta gruplarında somatik mozaizmlerin konvensiyonel sitogenetik yöntemlerle saptanamadığı ortaya konmuştur. Anomalilerin mozaizm seviyeleri bir çalışmada %3-77 arasında diğer bir çalışmada %7-65 arasında bir değerde göstermektedir (Ballif ve ark., 2006, Schaeffer ve ark., 2004).

Array CGH'in dezavantajları ise temelde dengeli inversiyon ve translokasyonları, özellikle resiprokal translokasyonları ve ring kromozomlarını

yakalayamamasıdır. Dengeli translokasyonlar ise her 250-500 bireyde bir görülmektedir. Bununla birlikte G bantlamaya göre çok daha pahalı, emek ve tecrübe gerektiren bir yöntemdir.

Genetik bozukluklar sadece kromozomal dengesizliklerle değil, DNA'daki nokta mutasyonları olan tek bir baz çifti değişikliği ile de meydana gelebilir. Array CGH bu kadar küçük değişiklikleri tespit edememektedir. Bunlara ek olarak array CGH ile ortaya çıkan kopya sayı değişiklikleri fenotipik olarak normal bireylerde de saptanmaktadır. Bu kopya sayı değişiklikleri popülasyonda yüksek frekans göstermesi ile şüphe uyandıran kısmı oluştururlar. Bunun dışında iki normal insandaki kopya sayı değişikliklerine bakıldığında 50 ile 100 Mb'a kadar farklılık gösterebilmektedir. Yaklaşık 500 kb'lık bir DNA segmentine 3 ila 7 arası CNV eklendiği görülmüştür (Thompson&Thompson Genetics In Medicine, 2016).

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Yöntem

Çalışmada, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarına tanı amaçlı genetik inceleme için gelen ve Tıbbi Genetik kliniğine sevk edilen, mental retardasyon tanısı/öntanısı almış ya da mental retardasyon

linik bulgusu olan 12 hasta seçildi. 0-17 yaş arası cinsiyet farkı ve sendromik ya da non-sendromik oluşu gözetmeksizin Tıbbi Genetik Laboratuvarı gen bankasından araştırmaya dahil edilecek 12 hastanın DNA'sı bulundu. Bu 12 hastadan 4 tanesi array optimizasyonu için kullanılmıştır.

DNA miktarı ve saflığını nanofotometre cihazında (Nanodrop implen P330) ölçülmüştür. Array tabanlı karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH array) platformu olarak Agilent 60 K ISCA dizayn array CGH kiti kullanılmıştır. Hasta DNA'ları ve referans DNA (Agilent) miktarları nanofotometre cihazında ölçülerek ve gerekli uyarlamalar yapılarak eşitlenmiştir. Agilent Oligonucleotide Array-Based CGH for Genomic DNA Analysis Version 7.4 protokolüne uygun olarak hasta ve referans DNA'lar işaretlendi. Protokole uygun işlemlerden sonra genomik DNA'lar birleştirildi. SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K array slaytlarına yüklenip hibridizasyon fırınına (Agilent Microarray Fırını) yerleştirildi. 67°C'de 24 saat boyunca hibridizasyona bırakıldı. Hibridizasyon süresi sonunda CytoSure

protokolüne uygun olarak yıkanan mikroçipler, Agilent Mikroarray tarayıcı (AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner) ile tarandı. AgilentCytoGenomic3.0.2.11software programı ile mikroarray analizleri yapıldı, sonuçlar değerlendirilmiştir. Analiz sonucu hasta görüntüleri alınıp gen listeleri kaydedilmiştir. Hastalıktan şüpheli genler delesyon ve duplikasyon boyutları ve neden oldukları bozukluklara göre OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) de incelenmiştir.

Çalışma öncesince araştırmanın etik açıdan uygunluğu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş olup, onaylanmıştır.

3.1.1. Hastalara Ait DNA'ların Kandan İzolasyon Basamakları

Her hasta kanının izole edildiği DNA izolasyon kiti, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı'nda kayıt altına alınmaktadır.

Buna göre analiz için seçilen hastaların kanları PureLink Genomik DNA izolasyon kiti ile izole edilmiştir. Önceden izolasyonları yapılan bu DNA'ların izolasyon basamaklarını içeren protokol aşağıdaki basamaklar uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

1. 1,5 mL'lik eppendorf tüplere 40 µl Proteinase K, 200 µl kan ve 200 µl PureLink® Genomic Lysis/Binding Buffer eklendi ve vortekslerek eşit şekilde karışması sağlandı.
2. Karışım, 56°C ısıtıcı blokta 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyon sonrasında karışıma 200 µl %96–100 izopropil alkol eklendi ve vorteks ile homojen bir karışım elde edildi. (Elution buffer 70°C' ısıya ayarlanan ısıtıcıya konuldu.)
4. Tüp içindeki karışım spin kolana aktarıldı ve 8000 rpm de 1 dk santrifüj yapılır.
5. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı. Filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.
6. Filtreye 500 µl Wash Buffer 1 eklendi ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
7. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı ve filtre yeni bir 2 mL'lik collection tüpe konuldu.

8. Filtreye 500 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 10000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Kolonun dibinde toplanan sıvı atıldı, yeni bir collection tüp alındı.
10. Toplanan sıvı atıldı. Filtre 1,5 mL'lik eppendorf tüpü içine yerleştirildi.
11. 40 µl Elution Buffer eklendi.
12. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi ve 8000 rpm 1 dak. santrifüj edildi.
13. Filtre atıldı, eppendorf tüp içerisindeki elde edilen DNA -20°C'de muhafaza edildi.

3.1.2. Array CGH Metodu ve Uygulanması

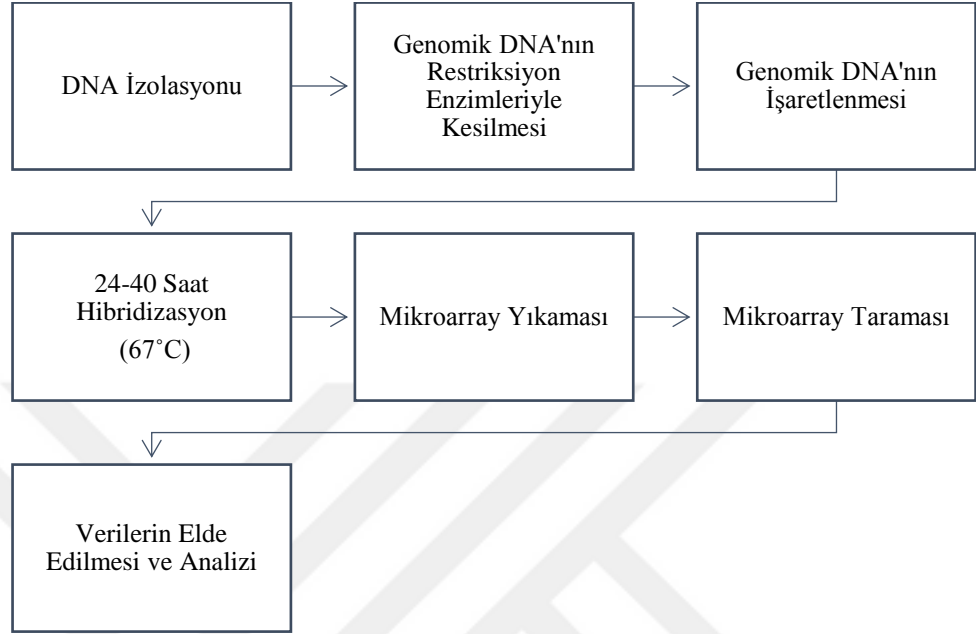
Array Kitinin İçeriği

- SurePrint G3 Human CGH Bundle, 8×60K
- SureTag Complete DNA Labeling Kit
- SureTag DNA Labeling Kit Purification Columns
- Oligo aCGH Hybridization Kit
- Hybridization gasket slides
- Human Cot-1 DNA
- Oligo aCGH Wash Buffer 1 and Oligo aCGH Wash Buffer 2

Diğer Gerekli Malzemeler

- 0,2 mL'lik PCR tüpü
- 1,5 mL'lik Eppendorf tüpleri
- Referans DNA-Male ve Female (250 ng/uL) Agilent
- 8×60K Gasget Slide
- Agilent CGH Wash Buffer 1
- Agilent CGH Wash Buffer 2
- TBE Buffer
- Kapak ısıtmalı termal cyclers
- Nanofotometre (implen P330)
- Vakum konsantrator cihazı (Christ RVC 2-18 CD Plus Vacuum Concentrator)
- Agilent hibridizasyon fırını

- AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner
Analizin Yapılacağı Bilgisayar Programları
- AgilentCytoGenomic3.0.2.11software



Şekil 2.Array CGH protokol aşamaları

3.1.2.1. Genomik DNA'nın Nicel ve Kantitatif Analizi

DNA izolasyonundan sonra referans DNA örnekleri (erkek-dişi) ve hasta DNA'larının hepsi Nanofotometre cihazında ölçümler yapılarak 50 ng olacak şekilde eşitlenmiştir. DNA miktarı 350 ng/μl den fazla olan DNA'lar 1:2 oranında TE buffer ile (ph:8) ile dilue edilmiştir.

3.1.2.2. Restriksiyon Kesimi

Tablo 2. Restriksiyon işlemi için gerekli bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Tek bir reaksiyon için gerekli miktar (μl)
Nukleaz İçermeyen Su	1 μl
10x Restriksiyon Enzim Buffer	1.3 μl
BSA	0.1 μl
Alu1	0.25 μl
Rsa1	0.25 μl

Her bir hasta için reaksiyon tübüne eklenmesi gereken master mix miktarı 2,9 μl'dir. Eklenecek olan DNA ile birlikte her bir hasta için toplam hacim 13 μl olacak

şekilde reaksiyon tüpleri hazırlandı. 37°C’de 2 saat ardından 65°C’de 20 dakika sürecek olan PCR işlemine alındı.

Fragmentasyon aşamasından sonra örnekler işaretlenme aşamasına getirildi. Diğer aşamaya geçerken örnekler bozulmamaları için buz kütleler üzerine alındı.

Bir sonraki aşama olan DNA denatürasyon ve fragmentasyonu için 98°C’de 3 dakikalık bir PCR aşaması gelir. Normalde PCR işlemlerinde bölge çoğaltılması için primerler kullanılır. Array CGH çalışmalarında spesifik bölge çoğaltma yapılmadığı için random primerler kullanılır. Bu primerler her yere bağlanabilir özelliktedir.

Genomik DNA’lar buz kütlelerinin üzerine alındıktan sonra 2,5 µl Random Primer hep bir reaksiyon tüpüne eklendi. 13 µl olan toplam hacim 15.5 µl hacme ulaştı. 3 dakika sürecek olan kısa bir PCR aşamasına alındı.

3.1.2.3. DNA’nın İşaretlenmesi

Tablo 3. Floresan işaretleme için gerekli bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Tek bir reaksiyon için gerekli miktar (µl)
5x Reaksiyon Buffer	5.0 µl
10x dNTP’ler	2.5 µl
Cyanin-3 (Cy-3)	1.5 µl
Cyanin-5 (Cy-5)	1.5 µl
Exo(-) Klenow (Enzim)	0.5 µl

Cyanin-3 ve Cyanin-5 için iki ayrı reaksiyon mixi hazırlandı. Cyanin-5 (Cy-5) ile hazırlanan master mix her bir hasta tüpüne 9.5 µl olarak paylaştırıldı (Mavi renk).

Cyanin-3 (Cy-3) ile hazırlanan master mix her bir hasta için ayrı ayrı hazırlanmış olan referans örneklerine yine 9.5 µl olacak şekilde paylaştırıldı (Pembe renk). PCR aşamasında 37°C’de 2 saat ardından 65°C’de 10 dakika olmak üzere işlem basamağına bırakıldı. PCR işlemi bittikten sonra ürünler -20 °C’de saklandı.

3.1.2.4. Pürifikasyon Aşaması

Pürifikasyon kolonları ve 2 mL’lik toplama tüpleri SureTag DNA Labeling Kit ile sağlandı. 2 mL’lik toplama tüpleri içerisine kolonlar yerleştirildi ve her bir reaksiyon tüpüne 430 µl 1x TE Buffer (pH 8.0) eklendi. Kolonların içerisine işaretlenmiş genomik DNA’lar yüklendi. 12000 rpm’de 10 dk santrifüj aşamasından sonra altta kalan sıvı döküldü ve aynı işlemler tekrar TE ekleyerek ve santrifüj ederek uygulandı. Kolonlar yeni 2 mL’lik tüplere ters konularak 3200 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi.

Bu işlemde 30 kilodaltonluk ürünlerin kolonlarda kalması diğer ürünlerin atılması amacıyla uygulanan bir basamaktır. Bağlanmayan bölgelerin ayıklanmasını amaçlamaktadır.

2 mL'lik tüplerde kalan ürünler pcr tüplerine yüklendi. Bu işlemlerden sonra ürünlerin işaretlenme ve spesifik aktivitelerinin ölçülmesi işlemi uygulandı.

Ürün (μg) = DNA Concentration ($\text{ng}/\mu\text{L}$) x Sample Volume (μL) /1000 $\text{ng}/\mu\text{g}$ formülüne göre nanofotometre cihazında ölçümler yaparak formüle uygun olarak hesaplandı.

3.1.2.5. Örneklerin Vakum Konsantratörde Kurutulması

1,5 mL lik RNAase free tüplerinde her bir hasta DNA'sı ve referans DNA'ları birleştirildi. Tüpte sadece işaretli DNA'ya ait pellet kalacak şekilde vakum konsantratör cihazında 1 saat boyunca 55 °C'de buharlaştırıldı. Toplam hacim 16 μL olacak şekilde uygulandı.

3.1.2.6. Hibridizasyon Aşaması

İlk olarak 10x Blocking Agent hazırlandı. Ardından hibridizasyon işlemleri gerçekleştirildi.

10x Blocking Agent hazırlanması: 1.350 μl saf su 10x aCGH Blocking Agent'a eklenir. 60 dakika oda sıcaklığında bekletilir.

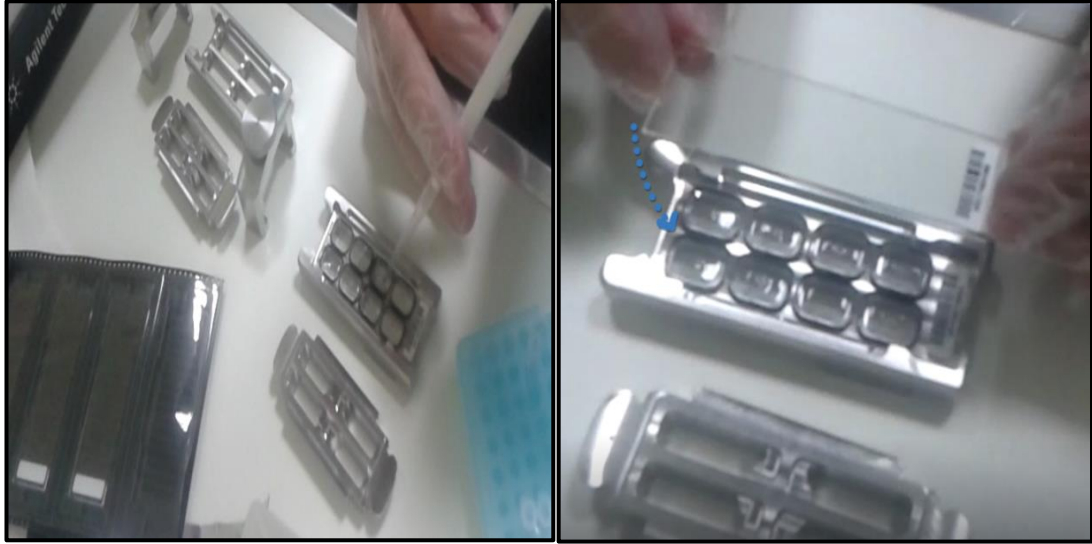
Tablo 4. Hibridizasyon aşamasında gerekli olan bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Tek bir reaksiyon için gerekli miktar (μl)
Cot-1 DNA (1.0 mg/mL)	2 μl
10x aCGH Blocking Agent	4.5 μl
2x HI-RPM Hibridizasyon Buffer	22.5 μl

Vakum konsantratör ile PCR tüplerindeki buharlaşma sonrası kalan ürünlerin üzerine Cot-1 DNA bileşeni olan master mix hazırlanarak her bir tüpe dağıtıldı. 2x HI-RPM Hibridizasyon Buffer'ı vizkozitesi yüksek olan bir sıvı olduğu için en son olarak pipetaj yapılarak dağıtıldı. Son olarak 98 °C'de 3 dakika, ardından 37 °C'de 30 dakika süren PCR işlemi ile denatürasyon işlemi gerçekleştirildi. PCR işleminden sonra 1 dakika santrifüj edildi.

3.1.2.7. Hibridizasyon Örneklerinin Array Slaytlarına Yüklenmesi

Mikroarray camının örnek yüklenecek yüzü doğru seçilmelidir. Çalışılan mikroarray (SurePrint G3 ISCA V2 CGH) 8×60K olduğu (her bir hasta için bir bölge olmak üzere ve toplamda bir mikroarray slaytında 8 bölme) için örnekleri 40 µl hacimde 8 bölgeye yüklendi. Mikroarray camının yüklenilen bölgesi aşağıda, numaralı bölge ise yukarıya bakacak şekilde mikroarray gasket slide üzerine yerleştirildi. Bu aşamada düzenekte baloncuk olmayacak şekilde yüklenmesine dikkat edildi. (Aksi takdirde değerlendirme aşamasını olumsuz yönde etkilemektedir.) Düzenek Agilent hibridizasyon fırınına yerleştirildi ve 24 saat 67°C ve 20 rpm’de hibridizasyon aşamasına bırakıldı.



Şekil 3a. Gasket array slaytının üzerine hasta örneklerin yüklenmesi. **3b.** Yüklenen örneklerin üzerine barkodlu SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K slaytının yerleştirilmesi.



Şekil 4. Agilent hibridizasyon fırını

3.1.2.8. Yıkama

Yıkama aşaması için Agilent Oligo aCGH/ChIP on ChIP Wash Buffer 1 ve 2 kullanılmıştır.

Tablo 5. Yıkama aşamasında gerekli olan buffer tipleri ve koşulları

Cam Kap No	Wash Buffer	Sıcaklık	Süre
1. Kap	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığında	
2. Kap	Wash Buffer 1	Oda sıcaklığında	5 dakika
3. Kap	Wash Buffer 2	37°C	1 dakika

Yıkamanın yapılacağı cam yıkama kapları birkaç defa bol su ve sonrasında kısa süre ile asetonitril ile yıkandı. Hibridizasyon fırınından çıkarılan array slaytları 1. kap içerisine yerleştirildi. Bu aşamada gasket slayt ile SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K slaytı pens yardımı ile birbirlerinden ayrıldı. Kuyucuklu olan gasket slayt bırakıldı ve işleme SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K array slaytı ile devam edildi.

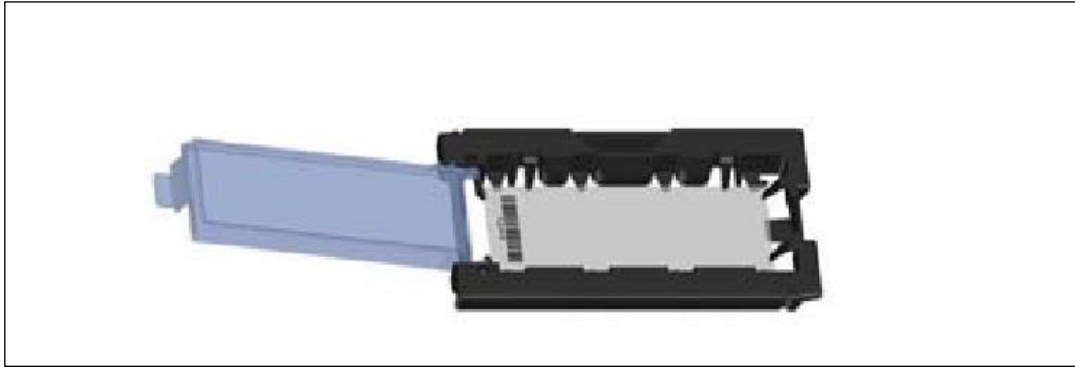
Bu işlemden sonra bekletilmeden oda sıcaklığındaki Wash Buffer 1 içeren 2. kap içerisindeki array slayt tutucu (şale) içerisine yerleştirildi ve 5 dakika beklendi. Etüvde 37°C sıcaklıkta tutulan Wash Buffer 2 yüklü kap etüvden çıkarıldı. Altına ısı kaybını engellemek amacıyla başka bir kap içerisine 60-70°C arası su konuldu ve Wash Buffer 2 içeren cam kap bu kabın içerisine yerleştirildi. Bu düzenek ısıtıcı üzerine yerleştirildi ve içerisine balık atıldı.

Array tutucu düzenek Wash Buffer 1 içerisinden çıkarılıp, Wash Buffer 2 içerisine yerleştirildi. 1 dakika bekleme süresi sonrasında slaytlar Wash Buffer 2 içerisinden çıkarıldı.

Yıkama işlemindeki ilk yıkama kabaca bir yıkama sağlar. Asıl yıkama işlemi 2. ve 3. işlemlerdir. Bu aşamalarda uygun sıcaklıklarda uygulanmasına özen gösterildi ve ozondan olabildiğince az etkilenmesi sağlandı.

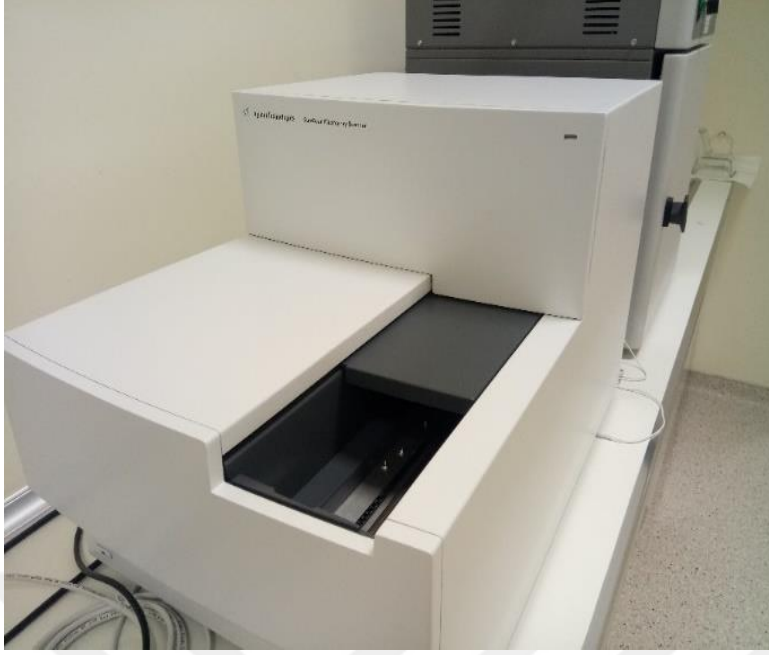
3.1.2.9. Tarama

Slaytların (SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8x60K) yıkama sonrasında ozondan etkilenmemesi için işlemler hızlıca gerçekleştirildi ve slayt tutucu içerisine Agilent barkod olan yüz üstte kalacak şekilde yerleştirildi.



Şekil 5. Mikroarray slaytının tutucuya yerleştirilmesi

Tarama aşamasında slayt tutucu içerisine yerleştirilen slayt düzeneği bilgisayardan komut verilen açılan tarayıcı kasetleri içerisinde herhangi bir bölmeye yerleştirildi. Bilgisayar üzerinden tarama komutu verildi.



Şekil 6. Agilent Mikroarray Scanner (AGT-G4900DA SureScan Microarray Scanner)

4. BULGULAR

Tez çalışması için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik laboratuvarında mental retardasyon tanısı/öntanısı almış veya mental retardasyon klinik bulgusuna sahip 0-17 yaş arası 12 hasta seçilmiştir. Bu hastalarda cinsiyet farkı ve sendromik ya da non-sendromik oluşu gözetilmemiştir. Bu hastalardan 4'ü mikroarray çalışmalarında optimizasyon amacıyla kullanılmış olup geri kalan 8 hastada array CGH ile genotiplendirme yapılarak elde edilen bulgular sonuçlandırılmıştır. Seçilen 8 hastanın 4'ü erkek, 4'ü dişi birey olarak belirlenmiştir. Tablo 6'da bu hastalara ait klinik tablo verilmiştir.

Tablo 6. Hastaların endikasyon, yaş-cinsiyet ve sitogenetik analiz verileri

Vaka	Klinik Endikasyonları	Yaş-Cinsiyet	Sitogenetik Sonucu
1	<ul style="list-style-type: none">Orta düzey MREpilepsiMikrosefali21 aylıkken ilk nöbetini geçirmiş.	8 - E	46,XY

2	<ul style="list-style-type: none"> • Öğrenme güçlüğü (Öğretmeni yönlendirmiş) • Okul başarısı düşük, otistik hareketler, sorulara cevap vermiyor. • Hiperaktivite • Tekrarlayan soruları var. Yürüme: 1 yaş Konuşma:4 yaş • Dismorfik kulak • Ellerde çizikler (kendini severken olduğunu söyledi.) 	8 - K	46,XX
3	<ul style="list-style-type: none"> • Panik nöbet • Dikkat eksikliği • MR • Hiperaktivite • Özel sınıfta eğitim görüyor. • Klinodaktili • Ayak baş parmağı büyük • Yüksek damak, üçgen yüz. • Doğumda hipertonsite, sarılık • Miyop • Radyolojik testler : Eko: Biküspid aort kapağı, batın USG:normal, boyun USG: sağ-sol farklı. • Psikiatrik değerlendirme: hafif derece zeka geriliği 	9 - K	46, XX,der(15) (t(4;15) (p15,2;p11,2), invdup(22) (q13,3)
4	<ul style="list-style-type: none"> • Zeka geriliği • Epilepsi (8 yıldır) • İdrar problemi • Dikkat eksikliği • Öğrenme güçlüğü • Hiperaktivite • Burun kökü basık, kaşlar birleşik • Klinodaktili iki elde • Obezite • Sezaryan: 9 aylık • Başını tutma: 1 ay Desteksiz oturma:5 ay, Yürüme:14 ay Konuşma:12 ay, tuvalet eğitimi:2,5 yaş • IQ: 55, hafif düzeyde zihinsel performans 	17 - K	46, XX, inv(15)(q12)

5	<ul style="list-style-type: none"> • Ön tanı: Otizm, konuşma geriliği. 3 yaşından itibaren otizmden takip ediliyor. • 1,5-2 yaşında çevreye ilgisizlik. (Süt emmemiş.) • 40 gün küvezde kalmış. • Alın genişliği 	10 - E	46,XY
6	<ul style="list-style-type: none"> • Akrabalık ilişkisi : Eşi amcasının torunu. • Yürüyemiyor, konuşamıyor (konuşma çok az). • Hikaye: Ayak eğriliği ve kas uzatılması için operasyon geçirmiş. • Yutkunma: ilk 6 ay zorla. • Sezaryan: 9 aylık • Başını tutma ve desteksiz oturma: 1 yaş sonrası, • Yürüme: Yok • Konuşma :Son 2 yıldır, tuvalet eğitimi: 8 yaş • Stature: sandalyede, ekstremitelerde: kas kontrüktörü 	15 - K	46,XX
7	<ul style="list-style-type: none"> • MR • Mental ve motor becerilerde gerilik • Minör fasial dismorfizm (kepçe kulaklar, hipertelorizm, bozuk diş yapısı, üçgen yüz görünümü) • Makroorşidi, konuşma bozukluğu 	E- 10	46, XY
8	<ul style="list-style-type: none"> • 37 hafta+4 günlük rahim içi gelişimi kısıtlı olan (IUGR) hasta • Beslenme eksikliği • Hipoglisemi • Anomali şüphesi 	E - 4 ay	Komplex anomali Marker kromozom

Hastaların array CGH analizleri sonucu saptanan duplikasyon ya da delesyonların hangi kromozom bölgesine ait oldukları, bu bölgelerde saptanan OMIM genleri ve OMIM’de bulunmayan genler ve oluşan mutasyonların boyutu hakkında veriler Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. Hastalara ait array CGH analiz verileri

Vaka	Kromozom No	Sitoband	Mutasyon Tipi	Başlangıç	Bitiş	Boyut (kb)	Aberasyon içerisindeki OMIM genleri	OMIM’de bulunmayan genler
1	19	q13.43	Duplikasyon	57,349,319	57,351,566	2,248	PEG3	ZIM2
3	4	p16.3- p15.2	Duplikasyon	45,882	27,428,268	27,382,387	<p>Direkt Hastalıklarla İlişkili Genler: ZNF141, PDE6B, IDUA, RNF212, UVSSA, FGFR3, NAT8L, SH3BP2, ADD1, HTT, DOK7, LRPAP1,ADRA2C,MSX1, EVC2,EVC, WFS1, HTRA3,HMX1, DRD5, SLC2A9, RAB28,NKX3-2,CC2D2A,PROM1,QDPR, SOD3, SEPSECS,SLC34A2,RBPJ,FGFR3</p> <p>Direkt Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler : ATP5I,MYL5,CPLX1,GAK,TMEM17 5,DGKQ,FGFRL1,SPON2,PI4K2B,C TBP1,MAEA,CRIPAK,SLBP,TMEM 129,TACC3,LETM1,WHSC1,C4orf48 ,POLN,HAUS3, ZFYVE28, RNF4,TNIP2,NOP14,GRK4,RGS12,H GFAC, OTOP1,ZBTB49,CYTL1,CRMP1,JA KMIP1,PPP2R2C,S100P,BLOC1S4,T BC1D14 ,TADA2B,GRPEL1,SORCS2,AFAP1, ABLIM2,MIR95,ACOX3,GPR78,CPZ ,USP17L9P,WDR1,CLNK,HS3ST1,O D1L1,CPEB2,FBXL5,BST1,CD38,FG</p>	

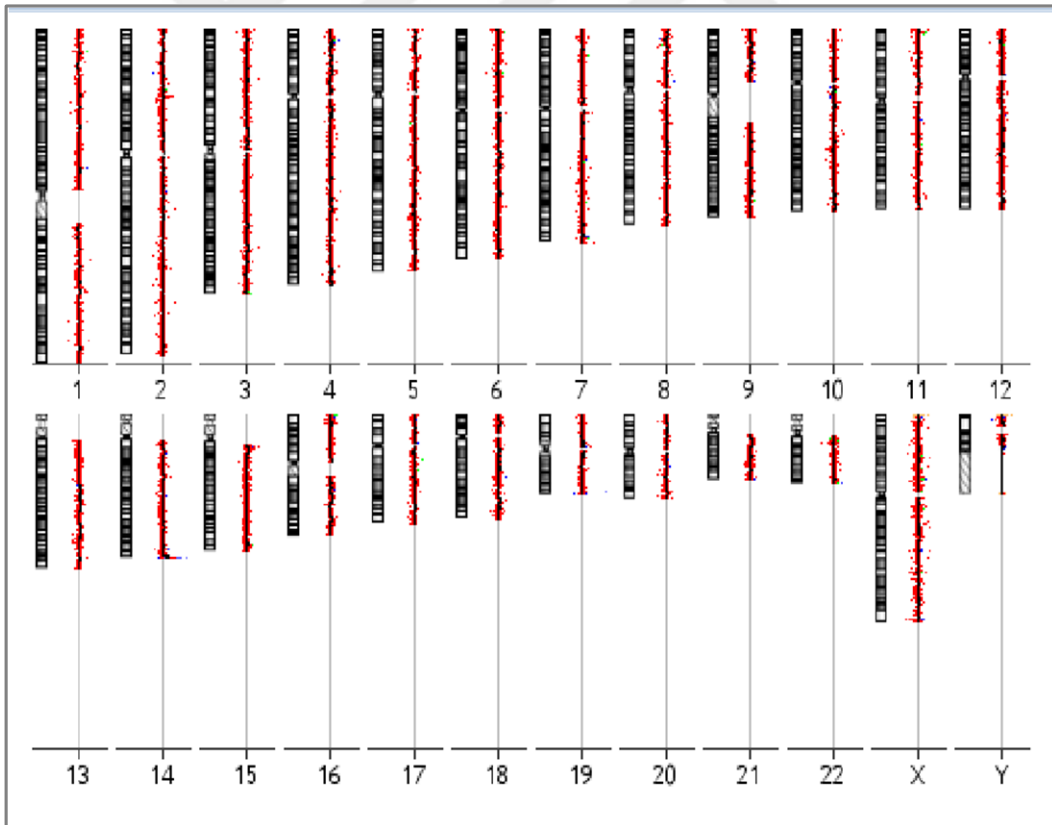
							FBP1,TAPT1,LDB2, MED28,NCAPG,LCORL,SLIT2,MIR 218- 1,KCNIP4,GBA3,PPARGC1A,DHX1 5, LGI2, PI4K2B,ZCCHC4,ANAPC4,CCKAR, STIM2, AFAP1	
4	15	q11.2	Delesyon	22,756,628	23,080,961	315,334	Doğrudan Hastalıklarla İlişkili Genler: NIPA1 Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: TUBGCP5,CYFIP1,NIPA2	
5	6	p25.3	Delesyon	255,350	289,174	33,825	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	
	14	q11.2	Delesyon	22,598,026	23,011,311	413,296	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	
	16	p11.2- 11.1	Duplikasyon	34,427,800	35,148,939	721,14		LINC01566, FRG2DP, TP53TG3HP , FLJ2645
	17	q24.2	Delesyon	66,166,296	66,318,318	152,023	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: AMZ2, ARSG	
6	7	p22.3	Duplikasyon	54,185	94,155	39,971	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	
	X	p11.23	Delesyon	47,320,380	47,324,273	3,893	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: ZNF41	
7	2	q13	Delesyon	110,862,477	110,964,737	102,261	Doğrudan Hastalıklarla İlişkili Genler: NPHP1 Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: MALL	
	3	q29	Duplikasyon	197,717,518	197,837,049	119,532	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: LMLN	LMLN-AS1, ANKRD18D P
	6	p25.3	Delesyon	259,318	339,802	80,485	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan	

							Genler: DUSP22	
	10	q11.22	Delesyon	46,984,913	47,074,861	89,949	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: GPRIN2	
	X	p11.23	Delesyon	47,320,380	47,324,273	3,894	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: ZNF41	
8	1	q31.3	Duplikasyon	196,705,001	196,799,302	94,302	Doğrudan Hastalıklarla İlişkili Genler: CFH3, CFHR3, CFHR1	
	2	q37.3	Delesyon	242,856,588	243,007,359	150,722		LINC01237, LOC102723 927
	6	p25.3	Delesyon	240,443	339,802	99,36	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: DUSP22	
	8	p23.1	Delesyon	7,169,490	8,130,689	961,2	Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: DEFB103A,DEFB4A	FAM66B,DE FB109P1B,U SP17
	14	q11.2	Delesyon	22,598,026	22,897,089	299,064	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	
	22	q12.3	Duplikasyon	37,311,308	37,225,574	114,267	Doğrudan Hastalıklarla İlişkili Genler: IFT27 Doğrudan Hastalıkla İlişkili Olmayan Genler: PVALB	LOC105373 021
	X	p22.33 p22.33	Duplikasyon	401,844 441,610	403,342 443,579	1,499 1,97	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	
	Y	p11.32 p11.32	Duplikasyon	351,844 391,610	353,342 393,579	1,499 1,97	Bu aralıkta gen bölgesi yoktur.	

Hastaların array CGH yöntemi ile moleküler karyotiplendirmeleri yapılmıştır. Olası duplikasyon ve delesyonlar belirlenmiş, boyutları tespit edilmiştir. Her bir hastaya ait elde edilen veriler aşağıda sırasıyla verilmiştir.

1.Hastaya Ait Veriler

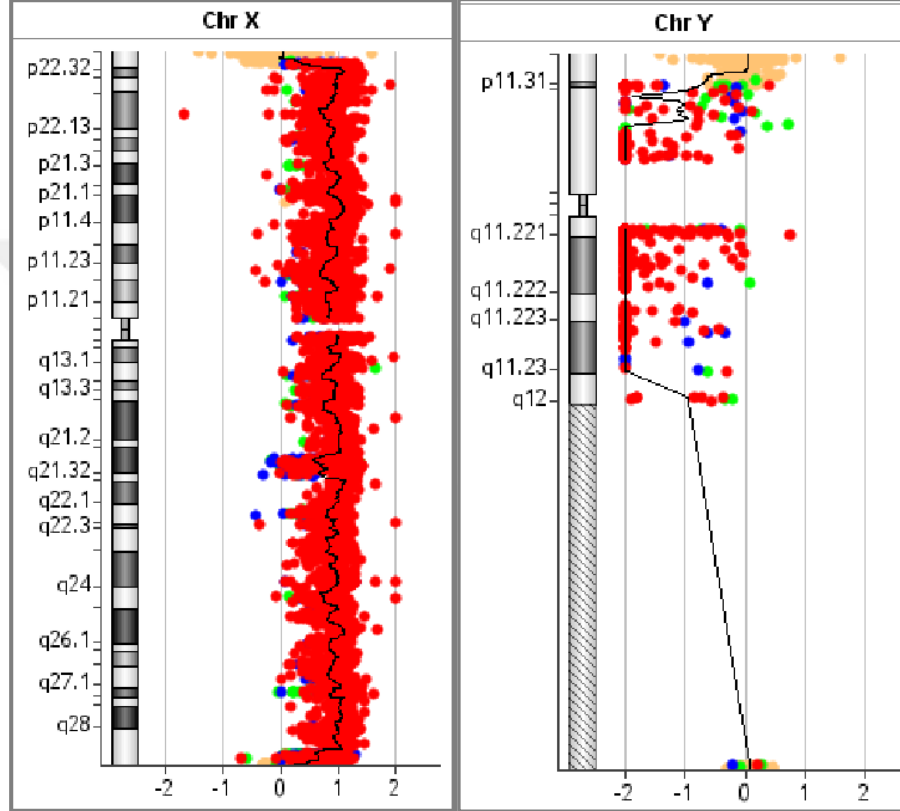
8 yaşındaki erkek hastanın 19. kromozomun q13.43 bölgesinde 2,248 kb'lık bir duplikasyon meydana gelmiştir. Bu bölgede doğrudan bir hastalıkla ilişkili olmayan PEG3 (Paternally expressed gene 3) geni ve OMIM'de bulunmayan ZIM2 (Zinc-finger gene 2 from imprinted domain) geni yer almaktadır. ZIM2 geni de literatürde herhangi bir sendrom ile ilişkilendirilmemiştir. Hastanın array CGH analizi sonucunda bu endikasyonları ile doğrudan ilişkili olabilecek bir sendrom ya da hastalık içermediği tespit edilmiştir. Hasta analiz sonucunda normal olarak değerlendirilmiş ve moleküler karyotip analizi sonucu arr(1-22)x2,(XY)x1 olarak genotiplendirilmiştir. Şekil 6'da hastaya ait normal moleküler karyotip sonucu gösterilmektedir.



Şekil 7. 1 nolu hastaya ait array CGH analizi sonucu normal karyotip sonucu

2.Hastaya Ait Veriler

Bu hasta için referans olarak erkek referans kullanılmıştır. Dolayısıyla referanslar cinsiyet olarak eşleşmediği için X kromozomları bakımından doğru bir sonuç elde edilememiştir. Bu nedenle X kromozomu üzerindeki anomaliler hastanın gerçek verilerini yansıtmamaktadır.



Şekil 8. 2 nolu hastaya ait farklı referans kullanılması sonucu ortaya çıkan X ve Y kromozomundaki aberasyonlar

3.Hastaya Ait Veriler

Hastanın aCGH analizi sonucu 4p16.3p15.2 bölgesinde 27.382.387 kb'lık duplikasyon saptanmıştır. Bu anomali 4p16.3 duplikasyonu ya da Trizomi 4p sendromu olarak adlandırılır. Bu bölgede yer alan ve doğrudan hastalıklarla ilişkili genler ve sebep olduğu problemler aşağıda gösterilmiştir.

- ZNF141 (Zinc finger protein-141) geni: Otozomal resesif olarak kalıtılan bu gende homozigot mutasyon meydana gelmesi durumunda postaksiyal polidaktili tip A6 (PAPA6) ile sonuçlandığı gösterilmiştir. (Kalsoom U ve ark., 2013)

- PDE6B geni: Konjenital durağan gece körlüğüne sebep olur.
- ATP5I geni: Mitokondrial ATP sentaz Fo kompleksinin alt birimini kodlar (Elliot ve ark., 1993).
- IDUA (Alpha-L-iduronidaz) geni: Bu gendeki homozigot ya da heterozigot bir mutasyon sonucu Hurler Sendromu meydana gelir. Hurler Sendromu; mental retardasyon, kaba bir dış görünüm, kornea bulanıklığı, karaciğer ve dalak büyümesi (hepatosplenomegali) ile ilişkilendirilmiştir. Bu sendromdaki çocuklar normal bir görünümle doğarlar fakat birinci yaşlarında hastalıkla bağlantılı karakteristik bir görünüm meydana gelir (Wraith ve ark.,1987).
- UVSSA (UV hassas sendromu 3) geni: Işığa hassasiyet ile ilgili problemler teşkil eden bir durumdur.
- FGFR3 (Fibroblast büyüme faktör reseptörü-3 geni): Bu gende meydana gelen heterozigot mutasyon sonucu akondroplazi meydana gelir. Kalıtsal bir cücelik tipi olup kol ve bacaklar gövdeye göre kısa olup, baş normalden büyüktür. Bu hastalarda motor gelişim geriliği de bildirilmiştir.
- NAT8L geni: L-aspartat ve asetil-CoA'dan beyine özel bir bileşik olan N-asetilazaspartat (NAA) maddesinin sentezlemesini sağlar (Wiame ve ark., 2009). NAA sinir sistemine spesifik asetil koenzim A'nın önemli bir depolama ve taşınımını sağlar. Protein kodlayan bir gen olan NAT8L'nin mutasyonu sonucunda primer NAA eksikliği meydana gelir.
- SH3BP2 geni : Yüzde şişiklik olarak gözlenen yuvarlak yüz hatları ve şişkin yanaklar yüzde karakterizedir. Çene bölgesinde de ağrısız sert görünümde dolgunluk ve genişlikler gözlenir. Bununla birlikte çene altında genişlemiş lenf nodları gözlenir. Geniş gözler (proptozis), alt göz kapağı retraksiyonu, optik nöropati, Marcus-Gunn gözbebeği, azalmış görme keskinliği ve görme alanı gibi göz problemleri mevcuttur. Oligodonti gibi dişte bir takım problemler vardır. Kemik kaybı ve çenedeki kemikler ile ilgili iskelet problemleri söz konusudur.
- ADD1 geni: Tuza duyarlılık ve hipertansiyon ile ilişkili bir genidir.
- HTT geni: Huntington hastalığı ile ilişkili olan nörodejeneratif rahatsızlığa sebep olan bir genidir. Genelde 30-50 yaşlarında meydana gelir. Otozomal dominant kalıtılır. Beyin ve sinir sistemini etkileyerek konuşma, günlük

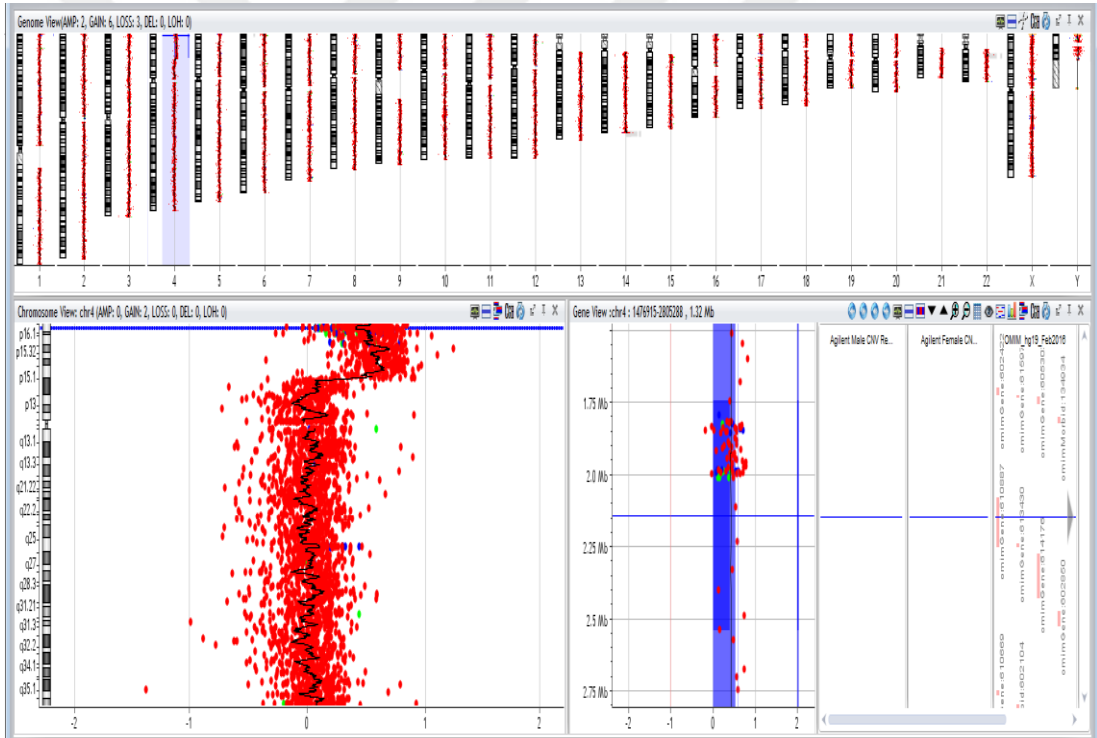
aktiviteler ve muhakeme yeteneğinde problemler ortaya çıkar (<http://hdsa.org/> Erişim Tarihi: 15.12.2016).

- DOK7 geni: Kasların nöromusküler aktivitelerini etkileyen zorunlu bir proteindir (Okada ve ark., 2006). Konjenital miyastenik sendromlar ile ilişkilendirilmiştir. Genellikle ilk yaşlarında ekstemite ve göz kaslarında güçsüzlük ile kendini belli eder. Nadir olarak geç yaşlarda çıkar bu durumda tanı koymak zorlaşır.
- LRPAP1 geni: Miyop ile ilişkilidir. Bu durum uzaktaki objelerin net görülemezliği, yakın mesefadaki objelerin rahat görülmesi şeklindedir. Hasta miyoptur.
- ADRA2C geni: Kalp rahatsızlıklarıyla ilişkilidir ve beta blokerlerden sorumludur. Gen yapısında intron olmayan bir genidir. Parkinson da dahil olmak üzere Huntington ve panik bozukluklar ile ilişkili olduğu görülmüştür (Riess ve ark., 1994).
- MSX1 geni: Witkop sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Birey normal saç ve kaşlara sahiptir. Doğuştan çeşitli dişlerin yoksunluğu sonra ve tırnaklarda anomali şeklinde gözlenir. Bir diş-tırnak sendromudur (Witkop.,1965).
- EVC ve EVC2 genleri: Ellis-van Grevelde sendromu ile ilişkilidir. Bu hastalıkta bireyde dental anomaliler, hipofiz bezinin ön lobunun kısmi ya da hiç çalışmaması sonucu meydana gelen cücelik, polidaktili ve el ile ayak tırnaklarında bozukluklar şeklinde gözlenir. Mental retarde bi hasta ile ilgili olarakta bu sendrom teşhis edilmiştir (Christian ve ark., 1980). Ellis-van Grevelde (EVC) sendromu kısa humerus, postaksiyal polidaktili ve kalp malformasyonu gibi klinik semptomları ortaya çıkarmaktadır (Hao ve ark., 2016).
- WFS1 geni : Katarakt ile ilişkili bir genidir. Otozomal dominant olarak kalıtılır.
- HMX1 geni : Otozomal dominant kalıtılır. Gözde birden fazla ileri seviye anomaliler ile ilgilidir.
- DRD5 geni (Attention Deficit-Hyperactivity Disorder; ADHD): Dikkat eksikliği- hiperaktivite ile ilişkilendirilmiştir.

4p16.3 duplikasyonu sendromu nadir görülen bir genetik hastalıktır. Hastanın endikasyonunda saptanan mental retardasyon, panik nöbet, dikkat eksikliği,

hiperaktivite, klinodaktili, ayak parmaklarındaki anomaliler, yüksek damak, üçgen yüz yapısı, miyopi ve radyolojik testlerinde çıkan sonuçlar ile uyum göstermektedir. Ayrıca psikiatrik değerlendirme sonucu ortaya çıkan hafif derecede zeka geriliği bu sendromun özelliklerini desteklemektedir.

4p16.3 duplikasyon sendromunun şiddeti kromozomun p kolu içerisindeki duplikasyona uğrayan bölgenin içerdiği genler ile ilgilidir. Fakat tipik olarak mental retardasyon, gelişim geriliği, davranışsal problemler ve dış görünüm ile yüzdeki farklılıklar ile karakterizedir. ZNF141; postaksiyal polidaktili, FGFR3; akondroplazi, LRPAP1; miyop, ADRA2C; kalp rahatsızlıklarıyla, EVC ve EVC2; Ellis-van Grevelde sendromu, WFS1 geni; katarakt, HMX1; gözde birden fazla ileri seviye anomaliler, DRD5; dikkat eksikliği, hiperaktivite ile ilişkili olan bu genler bu sendrom bakımından desteklenmektedir.

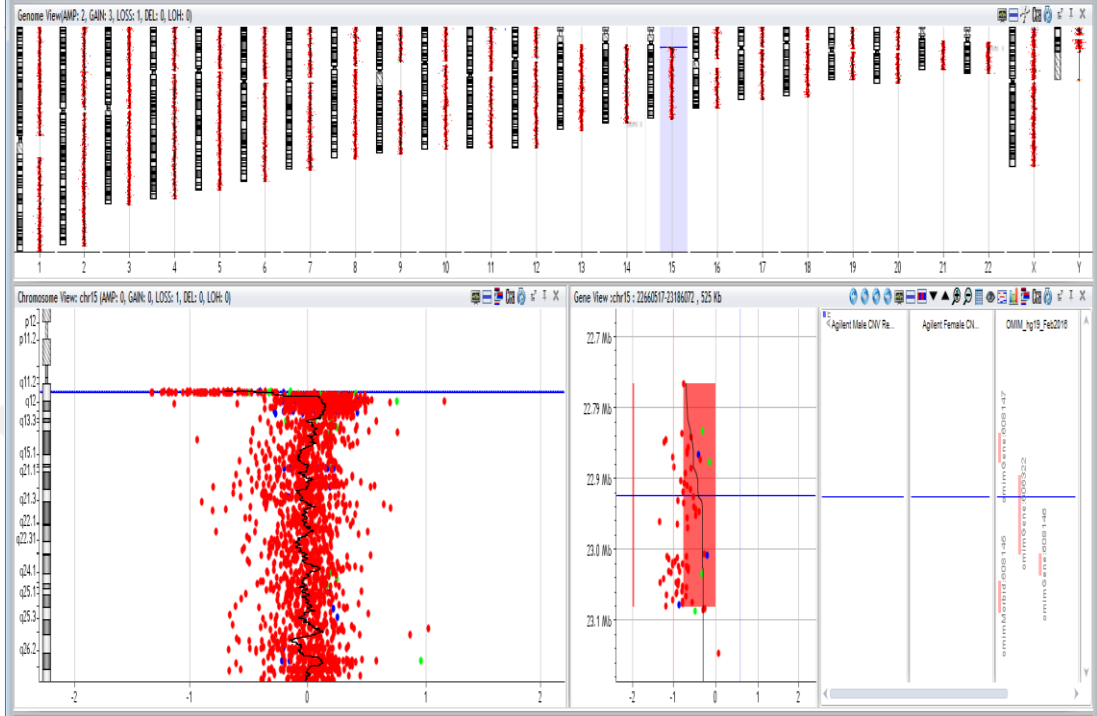


Şekil 9. 3 nolu hastaya ait 4p16.3 duplikasyonunu gösteren array CGH analiz verisi

4.Hastaya Ait Veriler

Hastada aCGH analizi sonucu 15q11.2 bölgesinde delesyon meydana gelmiştir. Bu delesyon bölgesi içerisinde OMIM’de doğrudan hastalıkla ilişkilendirilmiş NIPA1 geni bulunmaktadır. Bu gen otozomal dominant olarak kalıtım gösteren herediter spastik parapleji ile ilişkilidir. Ayrıca 15q11.2 bölgesinde olan 315,334 kb’lık delesyon saptanmıştır ve bu bölgede doğrudan hastalıkla ilişkili olmayan

CYFIP1, TUBGCP5, NIPA2 genleri bulunmaktadır. Hastada 315.334 kb'lık 15q11.2 mikrodelsiyon sendromu saptanmıştır. Array CGH analizine göre moleküler karyotip sonucu arr[hg19] 15q11.2(22,765,628-23,080,961)x1 olarak sonuçlandırılmıştır.



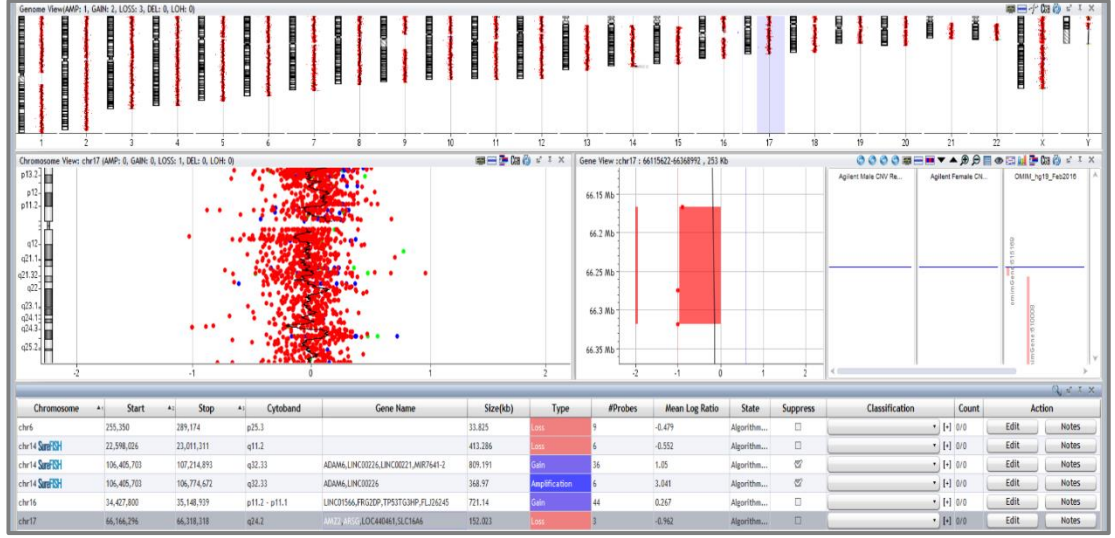
Şekil 10. 4 nolu hastaya ait 15q11.2 bölgesinde meydana gelen delesyon

5.Hastaya Ait Veriler

Hastada 6p25.3 bölgesinde 33,825kb'lık delesyon, 14q11.2 bölgesinde 413,296kb'lık delesyon saptanmıştır. Fakat bu bölgelerde gen bulunmamaktadır.

16 p11.2-11.1 bölgesinde 721,14 kb'lık duplikasyona uğramış bir bölgede ise MR ile ilişkili bir gen bulunmamaktadır. Bununla birlikte bu bölgede OMIM'de kayıtlı olmayan ve herhangi bir sendrom ile ilişkilendirilmeyen LINC01566, FRG2DP, TP53TG3HP ve FLJ2645 genleri bulunmaktadır. 17q24.2 bölgesinde meydana gelen delesyon bölgesi içerisinde AMZ2 ve ARSG genlerini yer almaktadır. Bu genler OMIM'de doğrudan bir hastalıkla ilişkili değildir.

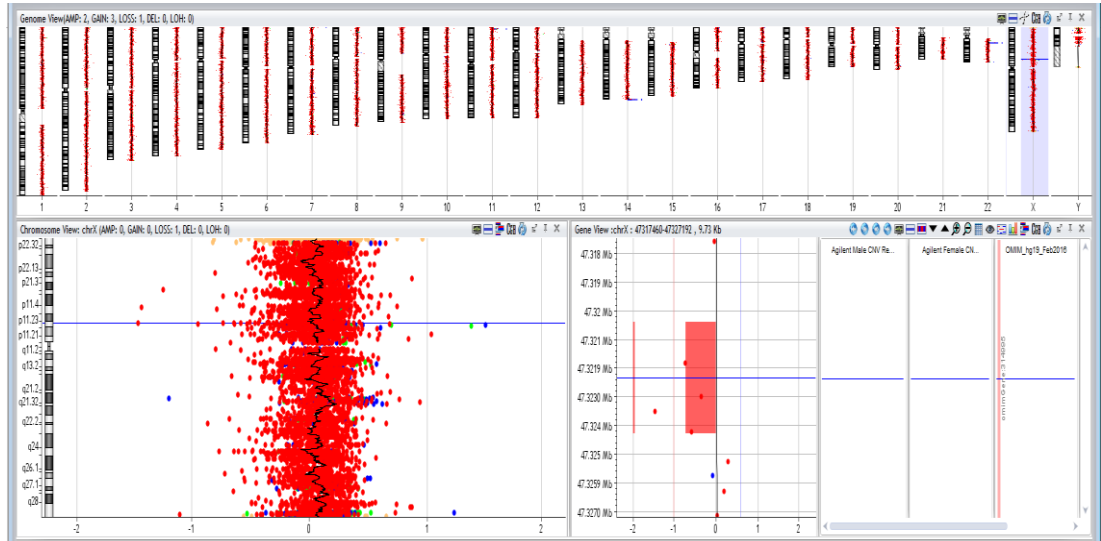
Hastanın array CGH analizi sonucunda MR ile ilişkili bir bölgede delesyon ya da duplikasyon yoktur. Array CGH analizi sonucunda hastanın moleküler karyotiplendirmesi arr(1-22)x2,(XY)x1 olarak değerlendirilmiştir. Şekil 10'da hastaya ait normal moleküler karyotip sonucu yer almaktadır.



Şekil 11. 5. hastaya ait array CGH analiz görüntüsü

6.Hastaya Ait Veriler

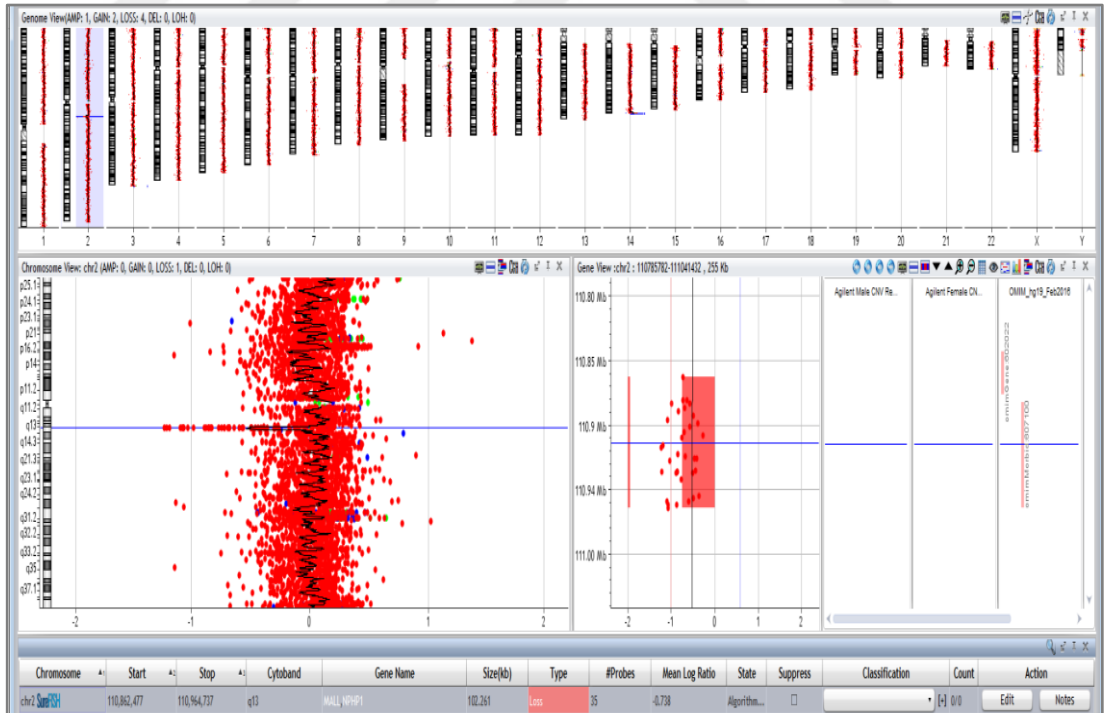
Hastanın X kromozomunun p11.23 bölgesinde 3,894 kb'lık delesyon meydana gelmiştir. Bu bölgede ZNF41 geni bulunmaktadır. Bu gen OMIM'de doğrudan bir hastalık veya sendrom ile ilişkili değildir. Bununla birlikte X'e bağlı mental retardasyon ile ilişkilendirilmiş iki tane allelik varyantı mevcuttur. Fakat hastanın analiz görüntüsünde bu doğrultuda yüksek çözünürlük olmadığından ve bölgeye bağlanan prob sayısı az olduğundan bu durum dışlanmıştır. Array CGH 60K moleküler karyotipleme sonucu hasta normal olarak değerlendirilmiştir ve arr(1-22)x2,(XX)x1 olarak sonuçlandırılmıştır.



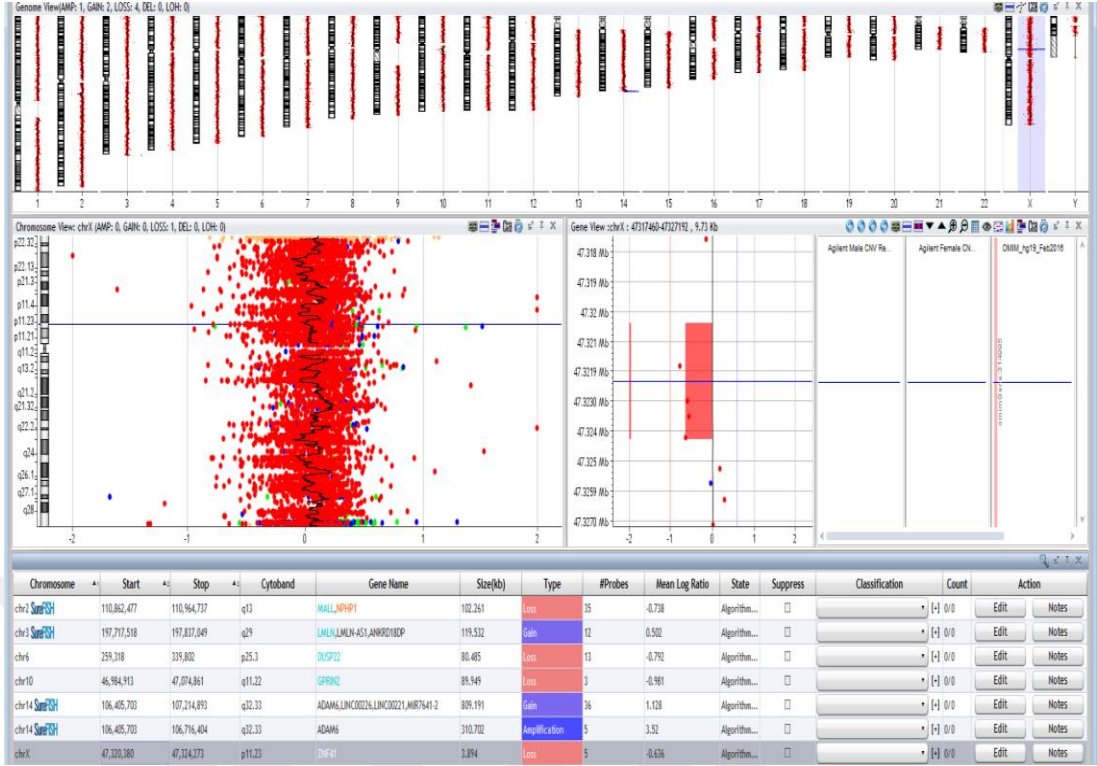
Şekil 12. 6 nolu hastaya ait normal karyotip dizilimi ile birlikte X kromozomu üzerinde delesyon şüphesi taşıyan p11.23 bölgesi

7.Hastaya Ait Veriler

Hastanın array CGH analizi sonucunda 2q13 bölgesinde 102,261kb'lık delesyon saptanmıştır. Bu bölgede saptanan iki genden biri olan NPHP1, Joubert Sendrom 4 ile ilişkilidir. Diğer gen MALL doğrudan bir hastalıkla ilişkili değildir. MALL geni de NPHP1 geni ile nefrofitizisten sorumlu 2q13 bölgesindeki diğer genlerdir. 3q29 bölgesinde yer alan 119,532 kb'lık duplikasyon içerisinde LMLN geni vardır. 6p25.3 bölgesinde 80,485kb'lık delesyon içerisinde DUSP22 geni vardır. 10q11.22 bölgesinde 89,949kb'lık delesyon içerisinde GPRIN2 geni vardır. Bu genler doğrudan OMIM'de hastalıkla ilişkili olmayan genlerdir. Hastanın endikasyonları ile uyumlu genler olmadıkları için bu genler array CGH analizinde dışlanmıştır. X11.23 bölgesinde 3,894kb'lık delesyon içerisinde ZNF41 geni vardır. Hastada mental retardasyon, mental motor gerilik ve dismorfik bir görünüm vardır. Fakat 6 nolu hastada gözleendiği gibi küçük bir delesyon bölgesidir ve değerlendirme bakımından problemler yetersiz kalmıştır. Hastanın array CGH 60K platformunda moleküler karyotiplendirmesi normal olarak arr(1-22)x2,(XY)x1 şeklinde saptanmıştır. Şekil12 ve Şekil 13'te hastaya ait şüpheli olan durumlar gösterilmiştir.



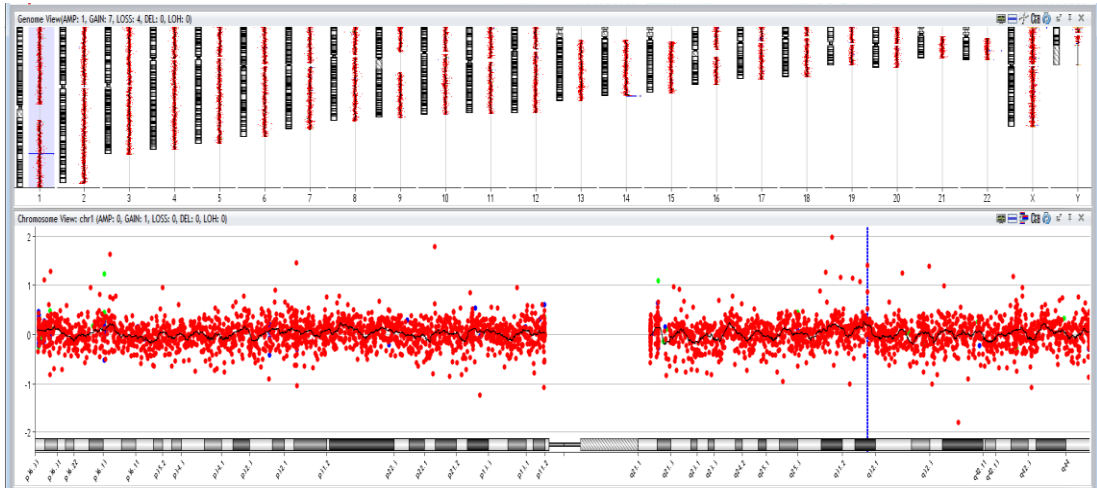
Şekil 13. 7 nolu hastaya ait 2q.13 bölgesindeki delesyon



Şekil 14. 7 nolu hastaya ait X11.23 bölgesindeki şüpheli 3,894kb'lık delesyon bölgesi

8.Hastaya Ait Veriler

1q31.3 kromozom bölgesinde 94,302kb'lık duplikasyon meydana gelmiştir. Bu bölgede doğrudan hastalık ile ilişkili üç adet gen saptanmıştır. Bunlar CFH3, CFHR3, CFHR1'dir.



Şekil 15. 8 nolu hastaya ait 1q31.3 kromozom bölgesinde 94,302kb'lık duplikasyon

Hastanın array CGH analizinde bu 3 gen (CFH, CFHR1 ve CFHR3) diğer problemlerle karşılaştırıldığında anlamlı durmamaktadır.

2q37.3 kromozom bölgesinde 150,722kb'lık delesyon saptanmıştır. Fakat bu

bölge gen içermeyen bir bölgedir. 6p25.3 kromozom bölgesinde 99,36 kb'lık delesyon meydana gelmiştir. Bu bölgedeki gen DUSP22'dir. 8p23.1 bölgesinde 961,2 kb'lık delesyon olmuştur. Doğrudan hastalıkla ilişkili olmayan genler içerir. Bunlar DEFB103A,DEFB4A'dır. 14q11.2 kromozom bölgesinde 299,064 kb'lık delesyon meydana gelmiştir fakat bu bölgede gen bulunmamaktadır.

22q12.3 bölgesinde 114,267kb'lık duplikasyon meydana gelmiştir. Bu bölgede IFT20 geni Bardet- Biedl sendromu 19 ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 16. 8 nolu hastaya ait 22q12.3 bölgesinde 114,267 kb'lık duplikasyon

Bu hasta ilerleyen gelişim dönemlerinde Bardet- Biedl sendromu açısından ve CFH, CFHR1 ve CFHR3 genlerinin nörolojik bakımdan ilişkili olduğu; nöbet, koma, bilişsel bozukluklar, istemli hareketlerin kaybolması ve konuşma bozuklukları bakımından izlenecektir.

5. TARTIŞMA

Array CGH yöntemi ile MR tanısı, diğer rutin tanı yöntemlerine göre çok daha yüksek ayrıntıda sonuç vermektedir. Bu teknik kopya sayı varyantlarını (delesyon, duplikasyon) ve boyutlarını analiz ettiği için hastaların daha net tanılarının konulabilmesi sağlar. Bu yönden array CGH yönteminin MR tanısındaki yeri büyüktür.

Orta seviyede MR şüphesi, mikrosefali ve epilepsi görülen 10 yaşındaki erkek hastanın array CGH analizinde sadece 19q13.43 bölgesinde 2,248 kb'lık küçük bir delesyon saptanmıştır. Bu bölgede yer alan PEG3 (Paternally expressed gene 3) geni OMIM'de doğrudan bir hastalıkla ilişkili olmayıp, bu genin litetaturde MR ile ilişkilendirilmiş bir vakası bulunmamaktadır. Bu bölgede yer alan bir diğer gen olan ve OMIM'de bulunmayan ZIM2 (Zinc-finger gene 2 from imprinted domain) geni de aynı şekilde herhangi bir sendrom ile ilişkilendirilmiş bir gen değildir. Kim ve ark. (2000) RT-PCR çalışmalarında ZIM2 geninin 2,5 ve 9.0 kb uzunluğunda transkript ürettiğini ve bu transkriptlerin yetişkin testislerinde yüksek oranda, fetal beyin ve böbrekte düşük oranda eksprese olduklarını bildirmişlerdir. Fakat bu genlerin delesyonları ile ilgili literatürde array CGH çalışmaları ya da tanıya yönelik elde edilen bulgular bulunmamaktadır. Bu bölgedeki delesyonun hastanın fenotipine ne şekilde etki ettiğini göstermek için bu genlerin etki mekanizmalarının üzerinde çalışılması gerekmektedir.

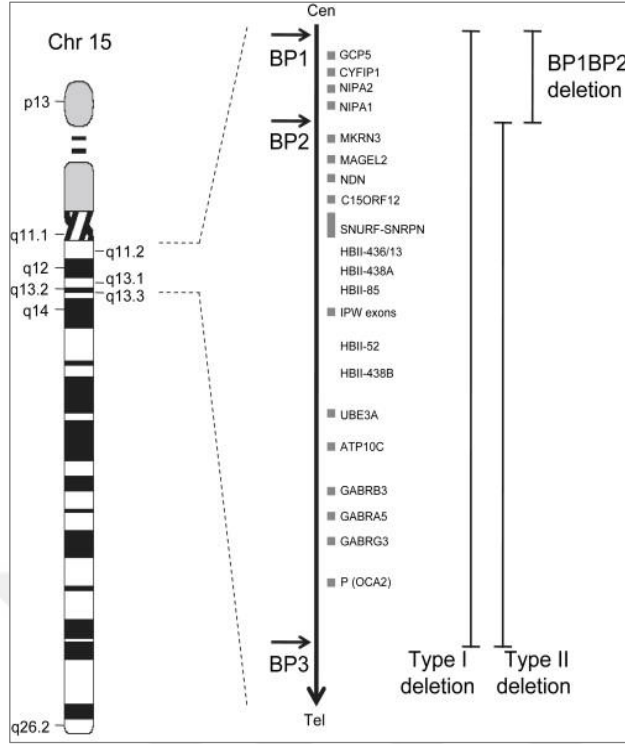
2 nolu hasta dişi birey olup, çalışmalarda referans olarak erkek referans kullanılmıştır. Bunun sonucunda farklı referans DNA kullanılmasından dolayı erkek-dişi kromozomal çakışma olmuştur ve hasta değerlendirilememiştir. Bu durum hastanın X kromozomunda çok sayıda anomalinin görülmesi şeklinde bir sonuç vermiştir ve bu veri hastanın gerçek sonucunu yansıtmamaktadır. Bu bağlamda array CGH çalışmalarında doğru referans DNA'sının kullanılmasının array CGH sonuçlarını ne denli önemli ölçüde etkilediğini ve doğru sonuçların alınmasında ne kadar etkili olduğunu sonucunu çıkartmıştır.

Hastalar içerisinde en büyük kopya sayı değişimi 3 nolu hastada 27.382.387 kb'lık bir 4p16.3 duplikasyonu şeklinde gözlenmiştir. Bu duplikasyon bölgesinde OMIM'de doğrudan hastalıkla ilgili 19 gen bulunmaktadır. Bununla birlikte OMIM'de doğrudan hastalıkla ilişkili olmayan ve OMIM'de yer almayan genler de

bu hastada çok sayıdadır. Bu 19 genin 4p16.3 duplikasyonu ile uyumlu olduğu ayrıca hastanın endikasyonunun desteklediği saptanmıştır.

4 nolu hastada 15q11.2 bölgesinde 315.334 kb'lık delesyon meydana gelmiştir. Bu bölgedeki NIPA1 geni herediter spastik pleji tip 6 ile ilişkili bir gendir. Bununla birlikte literatürde 15q11.2 mikrolelesyon sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Hastanın dismorfik özelliklerinde burun kökü basık, kaşları birleşik, iki elde klinodaktili şeklinde bulguları vardır. Bunlarla birlikte 15q11.2 mikrolelesyon sendromunda gelişme geriliklikleri, konuşma problemleri, dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu ve otizm şeklinde yaygın belirtileri vardır. 15q11.2 bölgesinde oluşan 315,334 kb'lık delesyon içerisinde yer alan CYFIP1, TUBGCP5, NIPA2 genleri OMIM'de doğrudan bir hastalık ile ilişkilendirilmemiştir. Fakat bununla birlikte CYFIP1 geni FMRP (Frajil X mental retardasyon sebebi proteini) ile etkileşim içerisinde olup FMR1 genini kodlamaktadır (Schenck ve ark., 2001). CYFIP1 geni ayrıca GTPaz RAC1 ile de etkileşim içerisine girer ki bu da nöronal yapının gelişimi ve onarımını kapsamaktadır (Kobayashi ve ark., 1998). TUBGCP5 (TUBG Complex-Associated Protein 5) geninin RT-PCR analizleri sonucu tüm dokularda ekspresyona uğradığı saptanmıştır. Bununla birlikte subtalamik nükleusta yüksek oranda eksprese görülmüştür (Nagase ve ark., 2001). Subtalamik nükleus, beyindeki karmaşık motor aktivitelerin yönetildiği bölüm olan bazal gangliyonun bileşenlerinden biridir. Bu nükleusta meydana gelen anomaliler dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu ve obsesif kompulsif bozukluk ile ilişkilendirilmiştir (François ve ark., 2004). NIPA 2 geni de tüm dokularda eksprese olan bir proteindir.

Fakat bu bilgilerle birlikte CYFIP1, TUBGCP5, NIPA1 ve NIPA2 genleri birlikte değerlendirildiğinde 15q11.2 sitobandında yer alan ve kırılma noktası 1(bp1) ile kırılma noktası 3(bp3) arasındaki bölgede yer aldıkları bildirilmiştir. Şekil 15'te kromozom üzerinde 15q11.2 sitobandında yer alan bu genler kırılma noktalarıyla birlikte gösterilmiştir. Bu bölgedeki delesyon tip 1 15q11.2 mikrolelesyon sendromu olarak adlandırılmıştır. TUBGCP5 dışındaki 3 gen merkezi sinir sisteminde yüksek oranda eksprese olmaktadır. Bu bölgeden orijinlenen sendromlar Prader-Willi Sendromu veya Angelman Sendromudur (Doornbos ve ark., 2009).



Şekil 17. 15q11.2 bölgesindeki Bp1 ve BP2 kırılma noktaları arasında kalan genler ve Tip1 15q11.2 delesyonu (Doornbos ve ark., 2009)

Cox ve ark. (2015), 15q11.2 mikrodelesyon sendromu tip 1 hastası olan 200 birey ile çalışmışlardır. Bunun sonucunda hastaları klinik özelliklerine göre 5 gruba ayırmışlardır.

Tablo 8. 15q11.2 tip 1 mikrodelesyon sendromunda saptanan klinik bulgular ve yüzdeleri (Cox ve ark., 2015)

Klinik Bulgular	Yüzdeler
Gelişim geriliği ve konuşma problemleri	%73- %67
Dismorfik kulak ve damak anomalileri	%46- %46
Yazma ve okuma güçlüğü	%60- %57
Hafıza problemleri ve sözlü IQ değerleri (≤ 75)	%60- %50
Davranış problemleri- beyin anomalisi	%55- %43

Tabloda sınıflandırılmaya alınmayan fakat dikkate alınan bulgular ise epilepsi (%26), otizm (%27), dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu (%35), şizofreni ve psikozlar (%20), motor gerilikler (%42) şeklinde değerlendirilmiştir.

Hastada zeka geriliği, 8 yıldır süren epilepsi, dikkat eksikliği, öğrenme güçlüğü, hiperaktivite bulguları literatür ile uyumluluk göstermektedir. Ayrıca hastanın IQ test sonucu 55 olup, hafif dereceli mental retardasyon bulgusu saptanmış olması mental

retardasyonu desteklemektedir.

5 nolu hastada 6p25.3 bölgesinde 33,825kb'lık delesyon, 14q11.2 bölgesinde 413,296kb'lık delesyon saptanmıştır. Fakat bu bölgelerde gen bulunmamaktadır. Bu sonucun de novo olup olmadığı hakkındaki bilgi ancak aileninde array CGH analizleri yapılarak açıklanabilecektir. 16p11.2-11.1 bölgesinde 721,14 kb'lık duplikasyona uğramış bir bölgede ise MR ile ilişkili bir gen bulunmamaktadır. Bununla birlikte bu bölgede OMIM'de kayıtlı olmayan genler mevcuttur. Bu genler LINC01566, FRG2DP, TP53TG3HP, FLJ2645 olmak üzere 4 tanedir ve literatürde herhangi bir sendrom ile ilişkilendirilmemişlerdir. 17q24.2 bölgesinde 152,023kb'lık bir delesyon vardır. Bu delesyon bölgesinde yer alan AMZ2 genini erkeklerde infertilite ile ilişkilendirmişlerdir. AMZ2 geni erkeklerde testislerde spermatosit olgunlaşmasının bloke olması ya da Sertoli cell-only sendromu olarak adlandırılan erkekte infertiliteden sorumlu genidir. (Lin ve ark., 2006). ARSG ise lizozomal bir enzim olup, heparan sülfatın (karaciğer ve akciğerde kan pıhtılaşmasını önleyen bir glikozaminoglikan) yıkılmasını sağlar (Kowalewski ve ark., 2012). 3 yaşından itibaren otizmden takip edilen 10 yaşındaki erkek hastamızda konuşma geriliği, 1,5-2 yaşlarından itibaren çevreye ilgisizlik ve alın genişliği bulguları vardır. Fakat hasta array CGH 60K mikroarray platformu ile belirlenen moleküler karyotipleme sonucu normal bulunmuştur. Hastada bu durumları oluşturan nedenlerin 60K platformunda saptanamadığı düşünülmüştür. Hastanın endikasyonları doğrultusunda tanısının aydınlatılabilmesi için daha yüksek çözünürlük sağlayan arrayler ya da tüm genom dizilmesine olanak sağlayan yeni nesil sekanslama yöntemlerinin uygulanması önerilmektedir. Array CGH ile baz düzeyinde mutasyonlar saptanamamaktadır. Hastanın durumunun bu mutasyonlardan kaynaklı olup olmadığını görebilmek için yeni nesil sekanslama yöntemi ile ileri analizinin yapılması önerilmektedir.

6 nolu hasta 15 yaşında dişi birey olup, Xkromozomunun p11.23 bölgesinde 3,894 kb'lık delesyon saptanmıştır. Bu bölgede bulunan ZNF41 geni ise OMIM'de doğrudan mental retardasyona sebep olduğu bildirilmemekle birlikte MR'a neden olan ve üzerinde çalışılması gereken genler kategorisinde yer almaktadır. Literatürde bu durumun mental retardasyon ile ilişkili olduğuna dair vakalar bildirilmiştir. Shoichet ve ark. (2003), gelişim geriliği olan 7 yaşındaki bir kız hastanın öyküsünde; 2 yaşındayken konuşma ve yürümesi daha başlamamış, psikomotor gelişimi

tamamlanmamış, yaklaşık 4 yaşında myoklonik epilepsi teşhisi konmuş ve 5 yaşındayken fiziksel gelişiminin normal olduğunu ayrıca dismorfik anomalilerin olmadığı rapor etmişlerdir. Yapmış oldukları analizlerde ZNF41 transkriptlerinin hastanın hücrelerinde bulunmadıklarını saptamışlar ve ZNF41 genindeki fonksiyon kaybını mental bozukluklar ile ilişkilendirmişlerdir. Buna ek olarak Piton ve ark. (2013), ZNF41'in X'e bağlı mental retardasyon oluşturacağı yönünde literatürde yeterli bilgi bulamadıkları için bu durumun X'e bağlı mental retardasyona yol açan genler içerisinde tekrar sorgulanması gereken genler kategorisinde ele almışlardır. (Şekil 1)

Piton ve ark. (2013), NHLBI Exome Variant Server'ı kullanarak ZNF41'in P111L varyantını 2 erkek ve 8 dişi bireyde teşhis etmişlerdir. Shoichet ve ark. (2003) X'e bağlı mental retardasyonu olan erkek bir hastada ise 479-42A-C mutasyonu saptamışlardır. Bunu ZNF41'in ek varyantlarının kaybı ile sonuçlanmışlardır. Bu hastada 10 yaşındayken ağır konuşma problemleri, matematiksel yeteneğinin olmadığı, hiperaktivite ve agresiflik gibi duygu durum bozuklukları ve bunlarla birlikte özel eğitim alması gerektiğini saptamışlardır. Hastanın annesinin mutasyonu taşıdığı, ablasının da mutasyondan hafif durumda etkilendiğini bildirmişlerdir.

Yürüyemeyen ve sandalyeye bağımlı olan hastamızda, son 2 yıldır konuşmaya başladığı, tuvalet eğitimini 8 yaşında kazanmadığı kaydedilmiştir. Literatürde bildirilen ZNF41'in X'e bağlı mental retardasyona yol açan şüpheli genler kategorisinde değerlendirilmiş olduğundan bu hasta da aynı şekilde mental retardasyon şüphesi taşımaktadır. Bununla birlikte hastada dismorfik bir anomalinin olmaması literatürdeki vaka ile benzerlik göstermektedir. Hastanın 11.kromozomunda 0.1 kb'lık bir delesyon saptanmıştır. Bu bölgede doğrudan hastalıkla ilişkili olan gen H19'tur. Bu gen Beckwith-Wiedemann syndrome ile ilişkilidir. Hastada saptanan bu kopya sayı varyantları küçük boyutlardadır. Ayrıca bu bölgedeki mutasyonu saptamaya yönelik prob sayısı azdır. Bu nedenle hastanın daha yüksek çözünürlük sağlayan bir array yöntemi ile ya da yeni nesil sekanslama ile analiz edilmesi önerilmiştir.

7 nolu 10 yaşındaki erkek hastamızda 2q13 bölgesinde saptanan 102,261 kb'lık delesyon OMIM'de Joubert Sendrom 4 ile ilişkilendirilmiştir. Parisi ve ark. (2004), 2 kardeşle hafif derecede Joubert Sendromu teşhis etmişlerdir. Kardeşlerden biri (10

yaşında) hafif motor kaybı, hafif kognitif bozukluk, hipotoni, konjenital baş eğikliği, anormal göz hareketleri ve nefrofitizis (otozomal resesif kalıtılan kistik renal hastalık) teşhis edilmiştir. Manyetik rezonans görüntüleme de serebellar vermis hipoplazisi ve molar diş işareti saptanmıştır. 8 yaşındaki diğer kardeşte ise normal kognitif özellikler ve renal hastalık dışında diğer bulgular aynıdır. Buna karşın retina distrofisi vardır. İki kardeştede NPHP1 geninin homozigot delesyonu saptanmıştır ve bu genin nadir Joubert Sendromuna neden olan gen olduğu kararı verilmiştir. Ayrıca bu genin nefrofitizisten de sorumlu olduğunu bildirmişlerdir.

10 yaşındaki erkek hastamızda MR, mental ve motor becerilerde gerilik, minör fasial dismorfizm (kepçe kulaklar, hipertelorizm, bozuk diş yapısı, üçgen yüz görünümü), makroorşidi ve konuşma bozukluğu vardır. Literatürdeki vaka ile mental retardasyon, motor becerilerin kaybı bakımından uyumluluk göstermektedir. Fakat bu hastaya ait manyetik rezonans görüntüleme sonuçları olmadığı için bu durum Joubert Sendromu ile ilişkili görülebilecek yeterli bilgiyi içermemektedir. Hastada X11.23 bölgesinde 3,893 ve 3,894 kb boyutlarında delesyon gözlenmiştir, bu bölgede ZNF41 geni bulunmaktadır. Bu gen bir önceki vakada olduğu hastanın array CGH görüntüsünde yüksek çözünürlük göstermediği için dışlanmıştır.

6 ve 7 nolu hastalarımızda ZNF41 geni küçük boyutlarda saptanmıştır. Bu genin delesyonunun hastanın fenotipindeki etkilerini daha net gösterilebilmesi için bu genin etki mekanizmasının üzerinde çalışılması gerekmektedir. 7 nolu hasta için ileri analiz yöntemleri ile bu genin araştırılması önerilmiştir.

8 nolu 4 aylık erkek bebek hastanın karyotip analizinde kompleks marker saptanmıştır. Array CGH analizinde ise 1q31.3 kromozom bölgesinde 94,302kb'lık duplikasyon saptanmıştır. Bu bölgedeki CFH3, CFHR3, CFHR1 genleri bulunmaktadır. CFH kardiyovasküler açıdan hipertansiyon ile ilişkilidir. Özellikle atipik hemolitik üremik sendromla (a-hus) bağlantılıdır. A-husun meydana gelme sebeplerinden biri genetik mutasyondur. A-hus hastalarının %48'inde erken başlangıçlı nöbetler, hipotoni, gelişim geriliği şeklinde nörolojik semptomlar ile ortaya çıkar (Neuhaus ve ark., 1997). Mutasyona uğrayan CFH geninden etkilenen protein Faktör H' dir. Görülme sıklığı %20-30' dur. A-hus ile ilişkili diğer genler olan CFHR1 ve CFHR3' den etkilenen proteinler CFHR1/R3'tür. Görülme sıklığı %6'dır (Noris ve ark., 2009, Noris ve ark., 2010). A-hus esas olarak vücuttaki

immün sistemin ölü hücrelerin yıkımında işlevsel kompleman sistemin kontrolsüz aktivasyonundan kaynaklanır. Kompleman sistem kendi yıkıcı etkisinden korunmasını sağlayan proteinler tarafından düzenlenir. A-hus bu proteinlerde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklanır.

Gastrointestinal bölgede küçük çocuklarda görülen, shigella tarafından meydana gelen tipik hus ya da E.coli 0157-H7 tarafından meydana gelen gastroenterik diyareler ile ilişkilidir. Genitoüriner sistemde böbrekleri etkiler. Akut renal yetmezlik, küçük çocuklarda altına kaçırma meydana gelebilir. Nörolojik olarak merkezi sinir sistemini etkileyebilir. Nöbet, koma, bilişsel bozukluklar, istemli hareketlerin kaybolması, konuşma bozuklukları ile ilişkilidir. Hematolojik sistemde eritrositlerde yıkım ile karakterize olan mikroanjiyopatik hemolitik anemi, trombositopeni, olgunlaşmamış eritrositler (retikülosit), parçalanmış ve boş hale gelen eritrosit (şistosit), böbrek yetersizliklerinde görülen çevresi dikensi çıkıntılarla çevrili eritrositler (ekinosit) ile ilişkili olabilirler. İmmünolojik sistemde kompleman sistemin düzenlenmesinde problemler, fonksiyonel faktör H eksikliği ile sonuçlanan faktör H antikoru oluşabilir. Laboratuvar analizleri sonucu azalan hemoglobinler, kanda artan üre nitrojen (BUN- azot miktarının incelenmesiyle böbrek fonksiyonlarının yeterliliğini ölçen test), fazla kreatinin, azalmış serum faktör H, serum faktör I, serum faktör C3, serum faktör B (a-hus ile ilişkili), artmış kolesterol (hiperlipidemi), von Willebrand factor-cleaving proteazın normal aktivitesi şeklinde bulgular gözlenir. Moleküler temelde ise tamamlayıcı faktör H genindeki mutasyonlar CFH, CFHR1 ve CFHR3 delesyonları ile ilişkilidir.

Hasta bu üç genin ilişkili olduğu bilişsel bozukluklar, istemli hareketlerin kaybolması ve konuşma bozuklukları gibi mental motor sebeplerin gerilikleri bakımından ilerleyen yaş dönemlerinde takip edilecektir.

Hastamızda 2q37.3 kromozom bölgesinde saptanan 150,722 kb'lık delesyon ve 14q11.2 kromozom bölgesinde saptanan 299,064 kb'lık delesyon bölgesinde gen bulunmamaktadır. Bu durumun de novo olarak meydana gelip gelmediğinin bilinmesi için aile bireylerindeki array CGH analizleri yapılması önerilir. Hastada bir diğer saptanan bulgu 22q12.3 bölgesinde 114,267kb'lık duplikasyondur. Bu bölgede IFT20 geni OMIM'de Bardet- Biedl sendromu 19 ile ilişkilendirilmiştir. Otozomal resesif kalıtım gösteren nadir bir hastalıktır. Bu sendrom retinopati,

polidaktili ve obezite ile karakterizedir. Aldahmesh ve ark. (2014), Bardet-Biedl sendromu olan iki hastada ek olarak nörolojik bakımdan mental retardasyonda saptamışlardır. Bu sendromun meydana gelmesinden sorumlu en az 20 gen teşhis edilmiştir. Klinik heterojenite göstermektedir (Priya ve ark., 2016). 22q12.3 bölgesinde ayrıca doğrudan bir hastalıkla ilişkili olmayan PVALB geni de saptanmıştır. Bebek olduğu için nörolojik bulguları henüz saptanamayan bu hastamızda hasta array CGH analizinde belirlenen durumlar bakımından izlenecektir.

Mental retardasyon büyük heterojeniteye sahip çoklu aberasyonları içeren nörolojik bir durumdur. Bu nedenle MR'da doğrudan hastalıkla ilişkilendirilmemiş birçok genin fonksiyonlarının anlaşılması için etki mekanizmalarına dair çalışmaların artırılması gerekmektedir. Mental retardasyonun etiyolojik nedenlerinde en büyük sınıfın bilinmeyen nedenleri oluşturması, analiz yöntemlerinin güçlerinin ya da çözünürlüklerinin kısıtlı olmasından kaynaklanmaktadır. Mental retardasyonun rutin tanısında kullanılan FISH ve MLPA yöntemlerinin aksine array CGH tüm genom analizine olanak sağladığı için moleküler düzeyde karyotiplendirme olanağı sunar. Array CGH, kopya sayı varyantlarının belirlenmesinde, doğrudan hastalıkla ilişkili olmayan genlerin aday genler olarak sınıflandırılabilmesine olanak sağlayan ve bu bağlamda yüksek çözünürlük gücü sunan bir tanı yöntemidir. Tüm kromozomların moleküler düzeyde karyotiplendirilmesine imkan sunarak mental retardasyon hastalarının daha net tanıların konulmasını sağlamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tezimizde array CGH ile analizleri gerçekleştirilen 8 hastanın 5'inde normal sonuç elde edilmiştir. Bir hastada 4p16.3 duplikasyonu saptanmıştır. Bir hastada 15q11.2 mikrolelesyon sendromu saptanmıştır. Bir hastada yanlış referans kullanılmasına bağlı olarak net sonuç elde edilememiştir. Bu sonuçlarla birlikte iki hastada mental retardasyon bakımından aday gen olan ZNF41 tespit edilmiş olup, bu genin etki mekanizmasının aydınlatılmasına dair hastaların ileri analizleri önerilmiştir. Normal saptanan bir hasta, bebek olması sebebiyle saptanan bulgu doğrultusunda nörolojik semptomları henüz göstermediği için ilerleyen gelişme dönemlerinde izlenmesi ve genetik danışma verilmesi önerilmiştir.

Bu tezimizde array CGH yönteminin rutinde kullanılan tanı yöntemlerine göre ileri bir teknik olduğu gözlemlenmiştir. Bu doğrultuda yüksek rezolüsyon sağlaması ve hastalıktan sorumlu genlerin de araştırılmasına olanak sağladığı için, mental retardasyon hastalarında ileri tanı yöntemi olarak belirlenmiştir.

7. KAYNAKLAR

- AAIDD (American Association on Intellectual Developmental Disabilities) Intellectual disability: Definition, classification, and systems of supports. Washington, DC: AAIDD; 2010.
- Aldahmesh MA, Li Y, Alhashem A, Anazi S, Alkuraya H, Hashem M, Awaji AA, Sogaty S, Alkharashi A, Alzahrani S, Al Hazzaa SA, Xiong Y, Kong S, Sun Z, Alkuraya FS. IFT27, encoding a small GTPase component of IFT particles, is mutated in a consanguineous family with Bardet-Biedl syndrome. *Hum Mol Genet.* 2014 Jun 15;23(12):3307-15.
- An Introduction to Genetic Analysis. 7th edition. Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC, Gelbart WM. New York: W. H. Freeman. 2000.
- APA (American Psychiatric Association) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5.Edition. Washington DC: APA; 2013. p.31-80
- Ballif BC, Rorem EA, Sundin K, Lincicum M, Gaskin S, Coppinger J, Kashork CD, Shaffer LG, Bejjani BA. Detection Of Low-Level Mosaicism By Array CGH In Routine Diagnostic Specimens. *Am J Med Genet A.* 2006 Dec 15;140(24):2757-67.
- Ballif BC, Sulpizio SG, Lloyd RM, Minier SL, Theisen A, Bejjani BA, Shaffer LG. The Clinical Utility Of Enhanced Sub-Telomeric Coverage In Array CGH. *Am J Med Genet A.* 2007; 143A:1850-7.
- Baptista J, Mercer C, Prigmore E, Gribble SM, Carter NP, Maloney V, Thomas NS, Jacobs PA, Crolla JA. Breakpoint Mapping and Array CGH in Translocations: Comparison of a Phenotypically Normal and an Abnormal Cohort. *Am J Hum Genet.* 2008. 11;82(4): 927-936
- Bardoni, B., Moro, A., Bagni, C., Mandel, J. L. A Highly Conserved Protein Family Interacting With The Fragile X Mental Retardation Protein (FMRP) and Displaying Selective Interactions With FMRP-Related Proteins FXR1P and FXR2P. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2001. 98: 8844-8849
- Bejjani BA, Shaffer LG. Application of Array-Based Comparative Genomic Hybridization to Clinical Diagnostics. *J Mol Diagn.* 2006 Nov; 8(5): 528-533.
- Batty GD, Deary IJ, Gottfredson LS. Premorbid (Early Life) IQ And Later Mortality Risk: Systematic Review. *Annals Of Epidemiology.* 2006. 17,278-288. doi:10.1016/j.annepidem.2006.07.010
- Bishop R. Applications Of Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) In Detecting Genetic Aberrations Of Medical Significance. *Bioscience Horizons.* 2010. 10.1093/biohorizons/hzq009
- Bouhadiba Z, Dacher J, Monroc M, Vanhulle C, Ménard JF, Kalifa G. MRI Of The Brain In The Evaluation Of Children With Developmental Delay. *J Radiol.* 2000;81:870.
- Christian JC, Dexter RN, Palmer CG, Muller J. A Family With Three Recessive Traits And Homozygosity For A Long 9qh+ Chromosome Segment. *Am J. Med. Genet.* 1980. 6: 301-308
- Ciccone R, Giorda R, Gregato G, Guerrini R, Giglio S, Carrozzo R, Bonaglia MC, Priolo E, Lagana C, Tenconi R, Rocchi M, Pramparo T, Zuffardi O, Rossi E. Reciprocal Translocations: A Trap For Cytogenetists? *Hum Genet* 2005;117:571-82.

- Cox DM, Butler MG. The 15q11.2 BP1–BP2 Microdeletion Syndrome: A Review. *Int J Mol Sci*. 2015 Feb; 16(2): 4068–4082.
- Deary IJ, Strand S, Smith P, Fernandes C. Intelligence and educational achievement. *Intelligence*. 2007. 35, 13-21.
- Doornbos M, Raddatz BS, Ruijvenkamp CAL, Dijkhuizen T, Bijlsma EK, Gijbbers ACJ, Hofstee YH, Hordijk R, Verbruggen KT, Frederikse WS, Essen TV, Kok K, Silfhout AT, Breuning M, Ravenswaaij CMA. Nine patients with a microdeletion 15q11.2 between breakpoints 1 and 2 of the Prader–Willi critical region, possibly associated with behavioural disturbances. *European Journal of Medical Genetics* 52 (2009) 108–115
- Elliott TS, Swartz DA, Paisley EA, Mangian HJ, Visek WJ, Kaput JF. 1Fo-ATPase subunit gene isolated in a screen for diet regulated genes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 190: 167-174, 1993.
- Evans BO. Mental Retardation. In: Evans BO Ed. *Manual of Child Neurology*. Edinburg, 1987; 149-57.
- Raymond FL, Knight SJL. Monogenic Causes of Mental Retardation, (ed): *Genetics of Mental Retardation*. *Monogr Hum Genet*. Basel, Karger, 2010, vol 18, pp 89–100
- Flint J, Wilkie AO, Buckle VJ, Winter RM, Holland AJ, McDermid HE. The detection of subtelomeric chromosomal rearrangements in idiopathic mental retardation. *Nat Genet*. 1995. 9(2):132-40.
- François C, Grabli D, McCairn K, Jan C, Karachi C, Hirsch E, Feger J, Tremblay L. Behavioral disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates 2. Anatomical study. *Brain*. 2004 Sep;127(Pt 9):2055-70. Epub 2004 Aug 3.
- Cappuccio G, Vitiello F, Casertano A, Fontana P, Genesisio R, Bruzzese D, Ginocchio VM, Mormile A, Nitsch L, Andria G, Melis D. New insights in the interpretation of array-CGH: autism spectrum disorder and positive family history for intellectual disability predict the detection of pathogenic variants. *Ital J Pediatr*. 2016; 42: 39. 2016 Apr12.
- Gottfredson LS, Deary IJ. Intelligence predicts health and longevity, but why? *Current Directions in Psychological Science*. 2004
- Handbook of Developmental Psychiatry*. Hans Steiner. Stanford University, USA. 2011.
- Holinski FE, 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. Familial mental retardation syndrome ATR-16 due to an inherited cryptic subtelomeric translocation, t(3;16)(q29;p13.3). *Am J Hum Genet*. 2000. 66(1):16-25.
- Horak CE, Snyder M. ChIP-chip: a genomic approach for identifying transcription factor binding sites. *Methods in enzymology*. 2002; 350:469–483.
- <http://hdsa.org/> Huntington's Disease Society of America
- <http://www.genetiks.com.tr/dnabook-tr/kromozomal-hastaliklar/yapisal-kromozom-anomalileri/>
- <https://www.genome.gov/11508982/chromosome-abnormalities-fact-sheet/#al-5>

- Iyer VR, Horak CE, Scafe CS, Botstein D, Snyder M, Brown PO. Genomic binding sites of the yeast cell-cycle transcription factors SBF and MBF. *Nature*. 2001; 409:533–538.
- Kalsoom U, Klopocki E, Wasif N, Tariq M, Khan S, Hecht J, Krawitz P, Mundlos S, Ahmad W. Whole exome sequencing identified a novel zinc-finger gene ZNF141 associated with autosomal recessive postaxial polydactyly type A. *J. Med. Genet.* 2013. 50: 47-53
- Kim J, Ashworth L, Branscomb E, Stubbs L. The human homolog of a mouse-imprinted gene, Peg3, maps to a zinc finger gene-rich region of human chromosome 19q13.4. *Genome Res.* 1997. 7: 532-540
- Knight SJ, Regan R, Nicod A, Horsley SW, Kearney L, Homfray T, Winter RM, Bolton P, Flint J. Subtle chromosomal rearrangements in children with unexplained mental retardation. *Lancet*. 1999. 354, 1676–1681
- Ciaccio C, Dordoni C, Ritelli M, Colombi M. Koolen-de Vries Syndrome: Clinical Report of an Adult and Literature Review. *Cytogenet Genome Res.* 2016 Nov 17.
- Korenberg JR, Chen XN, Hirota H, Lai Z, Bellugi U, Burian D, Roe B, Matsuoka R. Genome structure and cognitive map of Williams Syndrome, *J Cogn Neurosci* 2000; 12: 89-107.
- Kowalewski B, Lamanna WC, Lawrence R, Damme M, Stroobants S, Padva M, Kalus I, Frese MA, Lubke T, Lullmann RR, D'Hooge R, Esko JD, Dierks T. Arylsulfatase G inactivation causes loss of heparan sulfate 3-O-sulfatase activity and mucopolysaccharidosis in mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2012. 109: 10310-10315
- Kuroda S, Fukata M, Nakamura T, Nagase T, Nomura N, Matsuura Y, Kubomura NY, Iwamatsu A, Kaibuchi K. p140Sra-1 (specifically Rac1-associated protein) is a novel specific target for Rac1 small GTPase. *J. Biol. Chem.* 1998. 273: 291-295
- Lin YH, Lin YM, Teng YN, Hsieh TY, Lin YS, Kuo PL. Identification of ten novel genes involved in human spermatogenesis by microarray analysis of testicular tissue. *Fertil. Steril.* 2006. 86: 1650-1658
- Lugtenberg D, Veltman JA, van Bokhoven H. High-resolution genomic microarrays for X-linked mental retardation. *Genet Med.* 2007;9:560–5.
- Martens MA, Wilson SJ, Reutens DC. Williams Syndrome: a critical review of cognitive, behavioral, and neuroanatomical phenotypes. *Journal of Child Psychology & Psychiatry.* 2008: 576-608.
- Martin E, Keller M, Ritter S, Largo RH, Thiel T, Loenneker T. Contribution of proton magnetic resonance spectroscopy to the evaluation of children with unexplained developmental delay. *Pediatr Res.* 2005;58:754–60.
- Mefford HC, Batshaw ML, Hoffman EP. Genomics, intellectual disability, and autism. *N Engl J Med.* 2012;366:733–43.
- Mefford HC, Eichler EE. Duplication hotspots, rare genomic disorders, and common disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2009; 19:196–204. [PubMed: 19477115]
- Mental Disorders and Disabilities Among Low-Income Children. The National Academies Press. 2015
- Milli Eğitim Bakanlığı- Çocuk Gelişimi/Zihinsel Engelliler. 2015. Ankara

- Nagase T, Kikuno R, Ohara O. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XXI. The complete sequences of 60 new cDNA clones from brain which code for large proteins. *DNA Res.* 2001. 8: 179-187
- Noris M, Caprioli J, Bresin E, Mossali C, Pianetti G, Gamba S, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:1844-59.
- Noris M, Remuzzi G. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med.*2009; 361:1676-87.
- Okada K, Inoue A, Okada M, Murata Y, Kakuta S, Jigami T, Kubo S, Shiraishi H, Eguchi K, Motomura M, Akiyama T, Iwayama Y, Higuchi O, Yamanashi Y. The muscle protein Dok-7 is essential for neuromuscular synaptogenesis. *Science* 312: 1802-1805,2006
- Okan M, Özdemir Ö. (2005) Çocuklarda Mental Retardasyon. *Güncel Pediatri* 2005 ; 3 : 62-66
- Parisi MA, Bennett CL, Eckert ML, Dobyens WB, Gleeson JG, Shaw DWW, McDonald R, Eddy A, Chance PF, Glass IA. The NPHP1 gene deletion associated with juvenile nephronophthisis is present in a subset of individuals with Joubert syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2004. 75: 82-91
- Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, Tommerup N, van Ommen GJ, Goodman RH, Peters DJ. Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature.* 1995. 376(6538):348-51.
- Pinkel D, Albertson DG, 2005. Comparative Genomic Hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 6:331-354.
- Piton A, Redin C, Mandel JL. XLID-causing mutations and associated genes challenged in light of data from large-scale human exome sequencing. *Am. J. Hum. Genet.* 2013. 93: 368-383
- Poplawski NK. Investigating Intellectual Disability: A Genetic Perspective. *J Pediatr Child Health* 2003;39:492.
- Pratt HD, Greydanus DE. Intellectual Disability (Mental Retardation) in Children and Adolescents *Prim Care.* 2007 Jun;34(2):375-86; abstract ix.
- Priya S, Nampoothiri S, Sen P, Sripriva S. Bardet-Biedl syndrome: Genetics, molecular pathophysiology, and disease management. *Indian J Opt.* 2016 Sept; 64(9):620-627
- Puri RD, Tuteja M, Verma IC. Genetic Approach to Diagnosis of Intellectual Disability. *Indian J Pediatr* 2016. 83(10):1141–1149
- Rauch A, Hoyer J, Guth S, Trautmann U. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A.* 2006;140:2063–74.
- Ravnan JB, Tepperberg JH, Papenhausen P, Martin CL. Subtelomere FISH analysis of 11 688 cases: an evaluation of the frequency and pattern of subtelomere rearrangements in individuals with developmental disabilities. *J Med Genet.* 2006; 43:478–89.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Kyung Cho E, Dallaire S, Freeman JL, González JR, Gratacòs M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, MacDonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal

- T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006 444(7118):444–454
- Riess O, Thies U, Siedlaczek I, Potisek S, Graham R, Theilmann J, Grimm T, Epplen JT, Hayden MR. Precise mapping of the brain alpha 2-adrenergic receptor gene within chromosome 4p16. *Genomics*. 1994 Jan 15;19(2):298-302.
- Ropers HH, Hamel BC. X-linked mental retardation. *Nat Rev Genet*. 2005;6:46–57
- Ross MT. The DNA sequence of the human X chromosome. *Nature*. 2005; 434:325–337. [PubMed: 15772651]
- Salinas S, Proukakis C, Crosby A, Warner TT. Hereditary spastic paraplegia: clinical features and pathogenetic mechanisms. *Lancet Neurol* 2008;7:1127-38.
- Schaeffer AJ, Chung J, Heretis K, Wong A, Ledbetter DH, Lese Martin C. Comparative genomic hybridization-array analysis enhances the detection of aneuploidies and submicroscopic imbalances in spontaneous miscarriages. *Am J Hum Genet*. 2004 Jun;74(6):1168-74
- Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995. 270 (5235): 467–470.
- Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. 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*. 2007.145C(4):335-45.
- Shoichet SA, Hoffmann K, Menzel C, Trautmann U, Moser B, Hoeltzenbein M, Echenne B, Partington M, Van Bokhoven H, Moraine C, Fryns JP, Chelly J, Rott HD, Ropers HH, Kalscheuer VM. Mutations in the ZNF41 gene are associated with cognitive deficits: identification of a new candidate for X-linked mental retardation. *Am. J. Hum. Genet*. 2003. 73: 1341-1354
- Speicher MR, Carter NP. The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nat Rev Genet* 2005. 6: 782 –792.
- Strenze T. Intelligence and socioeconomic success: A meta-analytic review of longitudinal research. *Intelligence* 2007. 35, 401-426.
- Neuhaus TJ, Calonder S, Leumann EP. Heterogeneity of atypical haemolytic uraemic syndromes. *Arch Dis Child* 1997;76:518-521
- Thompson&Thompson *Genetics In Medicine*. 2016. 8th Edition. Sf: 48,55.
- Ravel TJL, Koen D, Jean PF, Jorris RV. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr* (2007) 166:637–643
- Türkiye Özürlüler Araştırması (Turkey Disability Survey). Demir Ö, Aysoy M. 2002.
- Van Buggenhout G, Van Ravenswaaij AC, Maas MN, Thoelen R, Vogels A, Smeets D, Salden I, Matthijs G, Fryns JP, Vermeesch JR. The del(2)(q32.2q33) deletion syndrome defined by clinical and molecular characterization of four patients. *Eur J Med Genet*. 2005. 48(3):276–289
- Van Karnebeek CD, Jansweijer MC, Leenders AG, Offringa M, Hennekam RC. Diagnostic investigations in individuals with mental retardation: a systematic literature review of their usefulness. *Eur J Hum Genet*. 2005;13:6–25.

- Verbruggen KT, Meiners LC, Sijens PE, Lunsing RJ, van Spronsen FJ, Brouwer OF. Magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy of the brain in the diagnostic evaluation of developmental delay. *Eur J Paediatr Neurol.* 2009;13:181–90.
- Wiame E, Tyteca D, Pierrot N, Collard F, Amyere M, Noel G, Desmedt J, Nassogne MC, Vikkula M, Octave JN, Vincent MF, Courtoy PJ, Boltshauser E, van Schaftingen E. Molecular identification of aspartate N-acetyltransferase and its mutation in hypoacetylaspartia. *Biochem. J.* 2009. 425: 127-136.
- Winnepenninckx B, Rooms L, Kooy RF. Mental Retardation: A review of the genetic causes. *The British Journal of Developmental Disabilities* 2003. Vol. 49, Part 1, No. 96, pp. 29-44
- Witkop CJ, Jr. Genetic disease of the oral cavity. In: Tiecke, RW. (ed.): *Oral Pathology*, New York: McGraw-Hill (pub.) 1965. 810-814.
- Wraith JE, Rogers JG, Danks DM. The mucopolysaccharidoses. *Aust Paediatr J.* 1987 Dec;23(6):329-34.
- Hao XY, Fan CN, He YH, Liu JL, Ge SP. Prenatal Diagnosis of Ellis–van Creveld Syndrome by Targeted Sequencing. *Chin Med J (Engl).* 2016 Aug 5; 129(15): 1882–1883.
- Zahir F, Friedman JM. The impact of array genomic hybridization on mental retardation research: a review of current technologies and their clinical utility. *Clin Genet.* 2007;72:271–87

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Betül	Soyadı	Işın
Doğum Yeri	Çanakkale/Merkez	Doğum Tarihi	09.05.1991
Uyruğu	T.C	TC Kimlik No	36577128212
E-mail	Betulisin91@gmail.com	Tel	+90 541 748 1717

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2017
Lisans	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	2013

Yabancı Dil Sınav Notu

YDS: 67,5

A-Laboratuvar Deneyimi

Kandan ve amniyon sıvısından DNA izolasyonu, PCR uygulamaları, Fragman analizi yöntemi ile QF-PCR (Multipleks PCR), Sekans Analizi ile Kistik Fibrozis, Connexin, Jel elektroforezi, MLPA tekniği, Nanodrop ile DNA- nükleik asit ve proteinlerin miktar ve kalite ölçümü, tez çalışmasında deneyimlenen array CGH tekniği

B-Uluslararası Bildirileri

Silan F, Ari E, Uludag A, Yildiz O, **Isin B**, Paksoy B, Ozdemir O. The microdeletion/microduplication profiles in spontaneously aborted fetal materials: Double blind results of QF-PCR and MLPA techniques. International Biotechnology Congress. 7-9 May 2015, Bucharest/ROMANIA. **Bu araştırma en iyi poster 3.'lüğü ile ödüllendirilmiştir.**

C-Ulusal Sözlü Bildirileri

C1- Sılan F., **Işın B.**, Oruc M., Yıldız O., Uludağ A., Özdemir Ö. Genetik Polikliniğine Doğrudan Klinefelter Sendromu Şüphesiyle Gelen Hastanın Karyotip ve FISH Analizi Sonucu Mozaik Klinefelter Sendromu Belirlenmesi. Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016 Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları Kongresi / Kayseri p. S10, OP07

C2- Sılan F., Has H., **Işın B.**, Uludağ A., Oruç M., Yıldız O., Özdemir Ö. Genetik Polikliniğine Doğrudan Klinefelter Sendromu Şüphesiyle Gelen Hastanın Karyotip ve FISH Analizi Sonucu Mozaik Klinefelter Sendromu Belirlenmesi. Gevher Nesibe Tıp Günleri 2016 Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları Kongresi/Kayseri p.S10, OP08

C3- Işın B., Sılan F., Uludağ A., Urfalı M., Özdemir Ö. Yenidoğan Döneminde Smith-Magenis Sendromu; Sitogenetik ve Moleküler Genetik Yaklaşım, Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016, 29-30 Nisan, p.93

D-Katıldığı Ulusal Kongreler

D1- Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları Kongresi / Kayseri, Şubat

D2- Trakya Üniversiteler Birliği Lisansüstü Öğrenci Kongresi 2016, 29-30 Nisan

E- Yurtdışı Eğitim

Erasmus Öğrenci Değişim Programı- Vilnius Üniversitesi/Litvanya. 2013

9. EKLER

EK 1

SPİRALLİ TEZ KONTROL FORMU

	Evet	Hayır
1) Amblem renkli ve 2x2 cm boyutunda olmalıdır.	X	
2) Kapakta sadece başlık bold ve 14 punto, diğer yazılar normal renkte ve 12 punto yazılmalıdır.	X	
3) Tez savunma sınavında kabul edilmiş tezler için, tezin sırtı tez yazım kılavuzuna uygun olarak düzenlenmiş olmalıdır.	X	
4) Kabul edilmiş tez konusu ile tezin baş sayfasındaki tez konusu aynı olmalıdır.	X	
5) Beyan eksiksiz ve imzalı olarak Tez Yazım Kılavuzundaki gibi konmalıdır.	X	
6) Özet ve Summary 250'şer kelimeyi aşmamalıdır. (1 sayfa)	X	
7) Anahtar kelimeler (en fazla) 5 adet olmalıdır.	X	
8) İngilizce özetin başında konu başlığı yazılmalıdır.	X	
9) Metin ve kaynakların tümü 1,5 aralıklı olmalıdır.	X	
10) Tezde yazım karakteri olarak "Times New Roman" kullanılmalıdır.	X	
11) Web sayfa kaynakları metin içinde de geçmelidir (parantez içinde güncelleme tarihi ile birlikte). Kaynaklar bölümünde de cümlelerin en sonunda Erişim adresi ve Erişim tarihi sırasıyla verilmelidir.	X	
12) Çalışmanın Etik Kurul onayı, varsa kurum onayı tezin en arkasına konmalıdır.	X	

Tarih: 01 /02 / 2017	Tarih: 01 /02 / 2017
----------------------	----------------------

Öğrenci Betül İŞİN	Danışmanın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR
-----------------------	--

EK2

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ SİRALLI/CİTLİ TEZ YAZIM KONTROL
LİSTESİ**

KONTROL BAŞLIĞI	ÖĞRENCİ	DANIŞMAN
Tez yazımında kullanılan yazı tipi	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfa kenar boşlukları	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kapak sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İç kapak sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Onay sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Beyan sayfası içeriği ve düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İçindekiler sayfası düzeni	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Teşekkür sayfası	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Türkçe özet	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
İngilizce özet	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Simgeler ve kısaltmalar dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekiller dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tablolar dizini	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin ön sayfalarının sıralaması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ön sayfaların numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sayfalarının numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Başlıklarının numaralandırılması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Şekil, resim ve tablo numaralandırması	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Yöntem ve Gereç	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Bulgular	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tartışma	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Sonuç ve Öneriler	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Kaynaklar	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Atıflar (alıntı ve göndermeler)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Ekler (etik kurul onayı, vs)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tez planı	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Dil (anlatım, yazım –imla)	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN

Kâğıt ve baskı özelliği	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tezin son şeklinin elektronik kopyası	<input type="checkbox"/> UYGUN	<input type="checkbox"/> UYGUN
Tarih: 01 / 02 / 2017 Öğrenci Betül IŞIN	Tarih: 01 / 02 / 2017 Danışmanın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR	

EK 3

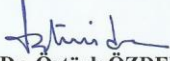




T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayın Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Array CGH (Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu) Tekniğinin Mental Retardasyonlu Olguların Rutin Tanısındaki Yeri ve Önemi" başlıklı 2011-KAEK-27/2016-E.11372 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 30/03/2016 tarih ve 06-17 nolu kararı aşağıdadır.
Bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR
Klinik Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

Karar Tarihi :30.03.2016 14:00

Karar No :2016-06

Karar-17)2011-KAEK-27/2016-E.11372 no'lu araştırma ile ilgili olarak, proje yürütücüsü Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR'in çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada "**ETİK KURUL ONAYINI ALIR.**" kararı verilmiştir. (Prof. Dr. Öztürk ÖZDEMİR projede yer aldığından dolayı bu araştırma önerisi için oy kullanmamıştır.)