

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

**NEDENİ AÇIKLANMAMIŞ ENTELEKTÜEL YETERSİZLİĞİ  
OLAN VE/VEYA DİSMORFİK HASTALARDA ARRAY -CGH  
YÖNTEMİ İLE SUBMİKROSKOBİK KROMOZOMAL  
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Hanife SAAT**

**TEZ DANIŞMANLARI  
Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN  
Prof. Dr. E. Ferda PERÇİN**

**ANKARA  
ŞUBAT 2016**

## TEŞEKKÜR

Asistanlık hayatım boyunca uzmanlık eğitimim için en iyi ve güncel bilgileri veren, çalışkanlığı ve dürüstlüğü ile her zaman bizlere örnek olan, tez çalışmamın her aşamasında yardımlarına başvurduğum başta tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Mehmet Ali Ergün'e emekleri için sonsuz teşekkür ederim. Ahlaki ve etik değerleri, disiplini ve çalışkanlığı ile örnek aldığım, ikinci tez danışmanım olan sayın hocam Prof. Dr. E. Ferda Perçin'e, tüm asistanlık hayatım ve tez çalışmalarım süresince emeğini ve bilimsel desteğini hiç esirgemediği için çok teşekkür ederim. Üzerimdeki hakkını ödeyemeyeceğim hocalarımdan; iş disiplini, eğitimciliği ve sosyalliğinin yanısıra yakınlığını bizden esirgemeyen, sevgi ve şefkati ile bizleri yetiştiren, çok değerli hocam Prof. Dr. Meral Yirmibeş Karaoğuz'a teşekkür ederim. Eğitimimiz konusunda desteğini ve yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Esra Tuğ'a çok teşekkür ederim. Bizlere bir abla samimiyeti ile yaklaşarak yardımlarını esirgemeyen Dr. Gülsüm Kayhan'a teşekkür ederim.

Birlikte sevgi, saygı ve yardımlaşma içerisinde çalıştığım, hepsini tanımış olmaktan mutluluk duyduğum arkadaşlarım Dr. Büşranur Çavdarlı, Dr. Guyem Özgen, Dr. Abdullatif Bakır, Dr. Bayram Taşkın, Dr. Nihal Dilek, Dr. Taha Bahsi, Dr. Pelin Özyavuz Çubuk, Dr. Aysel Ünal, Dr. Serdar Mermer, Dr. Selvihan Sağdıç ile Bio. Işıl Küçük Kiraz, Dr. Sezen Güntekin, Dr. Derya Karaer, Uzm. Bio. Ebru Aytekin, Esra Küçük ve sekreterlerimiz Ayşe Erdoğan ve Mehtap Yılmaz'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen, canım anneme ve aileme, zor durumlarımda beni hiç yalnız bırakmayan canım kardeşim Hilal Çoban’a çok teşekkür ederim.

Değerli eşim, hayat arkadaşım İbrahim Alper Saat’e ve bana en büyük armağan olan oğlum Yağız’a hep yanımda oldukları için çok teşekkür ederim.



ANNEM'E...



# İÇİNDEKİLER

|                                                                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR.....                                                                                                                                | II  |
| KISALTMALAR .....                                                                                                                            | VII |
| TABLolar DİZİNİ .....                                                                                                                        | IX  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                                                                         | X   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                                               | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                                                                                                      | 1   |
| 2.1 Entelektüel Yetersizlik Tanımı .....                                                                                                     | 1   |
| 2.2 Entelektüel Yetersizliğin Epidemiyolojisi .....                                                                                          | 4   |
| 2.3 Entelektüel Yetersizlik Etiyolojisi .....                                                                                                | 4   |
| 2.4 Entelektüel Yetersizliğe Sebep Olan Genetik Nedenler. ....                                                                               | 6   |
| 2.4.1 Kromozomal Anomaliler .....                                                                                                            | 6   |
| 2.4.2 Mendeliyen Kalıtılan Tek Gen Hastalıkları. ....                                                                                        | 11  |
| 2.4.3 Non-Mendeliyen Kalıtım Gösteren Hastalıklar .....                                                                                      | 12  |
| 2.4.4 Epigenetik Mekanizmalar ve Entelektüel Yetersizlik.....                                                                                | 13  |
| 2.4.5 Entelektüel Yetersizlik ve Genetik Varyasyonlar .....                                                                                  | 14  |
| 2.5 Entelektüel Yetersizlik Etiyolojisinin Araştırılmasında Kullanılan Genetik Tanı Yöntemleri .....                                         | 17  |
| 2.5.1 Subtelomerik FISH .....                                                                                                                | 19  |
| 2.5.2 MLPA.....                                                                                                                              | 20  |
| 2.5.3 Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu (CGH) ve Mikroarray Teknolojisi'nin Entelektüel Yetersizliği Bulunan Hastalarda Kullanılması..... | 20  |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                                                                                                     | 24  |
| 3.1 OLGULAR.....                                                                                                                             | 25  |
| 3.2 YÖNTEM.....                                                                                                                              | 30  |
| 4. MOLEKÜLER KARYOTİPLEME BULGULARI.....                                                                                                     | 34  |
| 4.1 OLGU 1.....                                                                                                                              | 35  |
| 4.2 OLGU 2.....                                                                                                                              | 35  |

|     |                 |    |
|-----|-----------------|----|
| 4.3 | OLGU 3.....     | 36 |
| 4.4 | OLGU 4.....     | 37 |
| 4.5 | OLGU 5.....     | 39 |
| 4.6 | OLGU 6.....     | 39 |
| 4.7 | OLGU 7.....     | 41 |
| 4.8 | OLGU 8.....     | 41 |
| 5.  | TARTIşMA .....  | 43 |
| 6.  | SONUÇ .....     | 61 |
| 7.  | KAYNAKLAR ..... | 62 |
| 8.  | ÖZET.....       | 75 |
| 9.  | SUMMARY .....   | 76 |
| 10. | ÖZGEÇMİş .....  | 77 |
| 11. | EKLER.....      | 79 |

## KISALTMALAR

|          |                                                                                                                |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| BAC      | Bakteriyel artık kromozomlar (Bacterial Artificial Chromosomes)                                                |
| BDMR     | Brakidaktili-Mental retardasyon Sendromu                                                                       |
| °C       | Derece                                                                                                         |
| CGH      | Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (Komperatif genomik hibridizasyon)                                        |
| CNV      | Kopya sayısı değişikliği (Copy Number Variation)                                                               |
| CNP      | Copy number polymorphism                                                                                       |
| DECIPHER | DatabasE of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources                               |
| DGV      | Database of Genomic Variants                                                                                   |
| DNA      | Deoksiribonükleik asit                                                                                         |
| dNTP     | Deoksiribonükleotid trifosfat                                                                                  |
| DSM      | Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Zihinsel Bozukluklar için Tanı ve İstatistik El Kitabı) |
| ECARUCA  | European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations                             |
| FISH     | Floresan in situ Hibridizasyon                                                                                 |
| HapMap   | Haplotip Haritalama                                                                                            |
| HRB      | High Resolution Banding                                                                                        |
| ID       | Entelektüel Yetersizlik                                                                                        |
| IQ       | Zeka katsayısı (intelligence quotient)                                                                         |
| ISCA     | Agilent Technologies, Inc., SantaClara CA                                                                      |
| Kb       | Kilobaz                                                                                                        |
| mg       | Miligram                                                                                                       |
| ml       | Mililitre                                                                                                      |
| µl       | Mikrolitre                                                                                                     |

|      |                                                            |
|------|------------------------------------------------------------|
| MAPH | Multiplex amplifiable probe hybridization                  |
| Mb   | Megabaz                                                    |
| MLPA | Multiplex Ligation Probe Amplification                     |
| MR   | Mental Retardasyon                                         |
| ng   | Nanogram                                                   |
| OMIM | On-Line Mendelian Inheritance in Man                       |
| p    | Persentil                                                  |
| PCR  | Polimeraz zincir reaksiyonu                                |
| RNA  | Ribonükleik asit                                           |
| RPM  | Dakikadaki devir sayısı                                    |
| SDS  | Sodyumdodesil Sülfat                                       |
| SKY  | Spektral Karyotipleme                                      |
| SNP  | Tek nükleotit polimorfizmi (Single Nükleotit Polimorphism) |
| STR  | Simple Tandem Repeat                                       |
| TAR  | Trombositopeni- Radius yokluğu                             |
| TG   | Timin ve Guanin                                            |
| UPD  | Uniparental Dizomi                                         |
| XLMR | X'e Bağlı Mental Retardasyon                               |
| VNTR | Variable Number of Tandem Repeat                           |
| VSD  | Ventriküler septal defekt                                  |
| VUR  | Veziko üreteral reflü                                      |

## TABLÖLAR DİZİNİ

### Sayfa No:

|                 |                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1</b>  | Entelektüel yetersizlik nedenleri.....                                                                                                                                  | 5  |
| <b>Tablo 2</b>  | Entelektüel yetersizlik ile ilişkilendirilmiş<br>mikrodelesyon/duplikasyon sendromları .....                                                                            | 11 |
| <b>Tablo 3</b>  | Epigenetik regülasyona uğrayan genler ve oluşan hastalıklar .....                                                                                                       | 14 |
| <b>Tablo 4</b>  | Entellektüel yetersizlik bulunan 1010 kişilik bir seride tespit<br>edilen CNV bölgeleri .....                                                                           | 17 |
| <b>Tablo 5</b>  | Kromozomal yeniden düzenlenimlerin tanımlanmasında<br>kullanılan yöntemler, platformlar ve karşılaştırmalı<br>özellikleri ..... <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |    |
| <b>Tablo 6</b>  | Mikroarray analizlerinde kopya sayısı değişikliği tespit<br>edilen 8 olgunun klinik bulguları .....                                                                     | 25 |
| <b>Tablo 7</b>  | Olgu 1’de bulunan kromozomal değişiklikler ..... <b>Hata! Yer işareti<br/>tanımlanmamış.</b>                                                                            | 5  |
| <b>Tablo 8</b>  | Olgu 2’de bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 36 |
| <b>Tablo 9</b>  | Olgu 3’te bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 37 |
| <b>Tablo 10</b> | Olgu 4’te bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 38 |
| <b>Tablo 11</b> | Olgu 5’te bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 39 |
| <b>Tablo 12</b> | Olgu 6’da bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 40 |
| <b>Tablo 13</b> | Olgu 7’de bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 41 |
| <b>Tablo 14</b> | Olgu 8’de bulunan kromozomal değişiklikler .....                                                                                                                        | 41 |
| <b>Tablo 15</b> | Entelektüel yetersizlik ile ilişkili yeni kopya sayısı<br>değişiklikleri .....                                                                                          | 46 |
| <b>Tablo 16</b> | Olgu 2 ve DECIPHERv94 veritabanında bulunan 290876,<br>270712 numaralı olguların klinik bulguları ve ortak kayıba<br>uğrayan genleri.....                               | 49 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No:

|                |                                                                                                    |    |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1</b> | Genetik varyasyonların boyutlarına göre kategorilenmesi.....                                       | 16 |
| <b>Şekil 2</b> | Entelektüel yetersizliği (ID) bulunan hastalarda tespit edilen<br>CNV’lerin değerlendirilmesi..... | 23 |



## 1. GİRİŞ

Entelektüel yetersizlik, bireyin zihinsel faaliyetlerinde, bilişsel davranışlarında kısıtlılıklar bulunması ve buna bağlı olarak dış dünya ile iletişim ve uyum yeteneğinde azalma olmasıdır (1). Görülme sıklığının dünyada % 2-3 oranında olduğu bildirilmiştir. Birçok olguda, motor gelişim, bilişsel gelişim ve konuşmada gecikme bulguları entelektüel yetersizliğe eşlik etmektedir (2). Entelektüel yetersizlik ve eşlik eden anomalilerin nedenleri oldukça geniş bir spektrumda incelenmektedir. Bu sebepler incelendiğinde en büyük payı genetik hastalıklar oluşturmaktadır. Bunlar arasında; sayısal ya da yapısal kromozomal anomaliler, mikrolelesyon sendromları ve tek gen hastalıkları etyolojide önemli bir yer tutmaktadır (3). Karyotip analizi ve floresan in situ hibridizasyon yöntemi (FISH) ile herhangi bir kromozomal değişim saptanmamış ya da genetik sendromların hiçbirisi ile ilişkilendirilemeyen hastalar ise “sebebi belirlenemeyen” olarak değerlendirilmektedir. Karyotip analizi normal, fakat bulguları bilinen bir mikrolelesyon sendromu ile ilişkilendirilebilmiş hastalarda lokus spesifik problemler kullanılarak yapılan FISH analizi ile tanıya gidilebilmektedir. Tüm bunlar ile açıklanamayan olgularda; kromozomal değişimlerin daha sık görüldüğü telomer bölgelerini kapsayan subtelomerik FISH analizi ile bu gruptaki olguların %6’sının tanısı konulabilmektedir (4,5). Konvansiyonel yöntemler ile tespit edilemeyen, daha küçük delesyon ve duplikasyonların belirlenebilmesi için ise yüksek çözünürlüklü moleküler sitogenetik yöntemler kullanılmalıdır (6).

Bu amaçla kullanılan, array tabanlı sistemler insan genomunda binlerce kromozomal bölgeyi aynı anda tarayarak, delesyon ve duplikasyonların yüksek

özünürlükte saptanabilmesi açısından oldukça önem teşkil etmektedir (5). Bu açıdan bakıldığında mikroyarray teknolojisi, nedeni belirlenememiş olan entelektüel yetersizliği bulunan hastalarda başarı sağlamış bir yöntemdir ve tanı oranı yaklaşık olarak %15-24 arasında değişim gösterebilmektedir. Ayrıca bu yöntem mikroduplikasyonların tanımlanabilmesi açısından diğer konvansiyonel yöntemlere göre daha avantajlıdır (7). Etkilenmiş olgularda spesifik kopya sayısı değişikliklerinin tanımlanması, yeni mikrodelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarının keşfine olanak sağlamıştır (2).

Bu çalışma ile entelektüel yetersizliği bulunan, beraberinde dismorfik özellikleri ya da organ anomalileri olabilen fakat konvansiyonel yöntemler ile nedeni tespit edilememiş 30 hastanın tüm genomu Array CGH (Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu) yöntemi ile taranarak kromozomal değişimler yönünden araştırılmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Entelektüel Yetersizlik Tanımı**

Zeka kavramı ile ilgili olarak bir çok tanım yapılmış olmakla birlikte, kişinin çevresindeki uyaranları algılayabilme kapasitesi, düşünebilme, öğrenebilme ve karşılaşılan sorunları çözebilme kapasitesi gibi yetilerinin tümü zekayı oluşturmaktadır (8). Zeka, tanımlanmış çok sayıdaki yatkınlık geni ve çevresel faktörlerin etkili olduğu multifaktöriyel kalıtım gösteren bir kavramdır (9). Zeka ile ilgili olarak tanımlanmış genler; hücre sinyal yolları, metabolik fonksiyonların düzenlenmesi, hücre içerisinde organeller arası iletişimin sağlanması, nöronlar arası

sinaptik fonksiyonların gerçekleştirilmesi gibi olaylarda görev alan proteinleri kodlamaktadırlar (10).

Zekâ'nın ölçümü için geliştirilmiş olan zeka oranı (IQ: intelligence quotient) kavramı şu şekilde oluşturulmuştur;  $(\text{Zeka yaşı} \div \text{Takvim yaşı}) \times 100$

Zeka yaşı takvim yaşına eşit olan kişinin IQ değeri 100 olarak kabul edilirken, zeka yaşının takvim yaşından küçük olması 100'den düşük, büyük olması ise 100'ün üzerinde bir IQ değerini tanımlamaktadır. Zeka yaşının düşük olması durumunda entelektüel yetersizlik kavramı ortaya çıkmaktadır.

Entelektüel yetersizlik kognitif fonksiyonlarda bozulma, sosyal yeteneklerde azalma, dil ve konuşma bozuklukları ile karakterizedir (11).

Entelektüel yetersizlik kavramı Amerikan Psikiyatri Derneği tarafından tanımlanan şekli ile (1);

- Zihinsel işlevlerin normalin altında olması
- Kişiler arası iletişim, toplumsal yaşamdaki beceriler, özbakım becerilerinde bozukluk olması
- 18 yaşından önce başlaması

Entelektüel yetersizlik DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)'e göre sınıflandırılmış olup, dört ana grupta incelenir (1):

Hafif: Olguların %75-80 kadarını bu grup oluşturur. IQ değerleri 55-70 arasındadır. Eğitim verildiği takdirde kendi yaşamlarını sürdürebilecek kadar yetenek kazanabilirler.

Orta: Olguların %12 kadarını oluşturur. IQ değerleri 35-55 arasındadır. Özel eğitim aldıklarında fayda görürler ve temel bakımlarını karşılayacak duruma gelebilirler.

Ağır: Olguların %7 kadarını oluşturur. IQ değerleri 20-35 arasındadır. Motor fonksiyonlarda ve konuşma yetisinde gerilik vardır.

Çok ağır: Tüm olguların %1-2'si bu gruptadır. IQ değeri 20-25'in altındadır. Olgularda gelişme geriliği ve eşlik eden anomaliler olabileceği için bakıma muhtaçtırlar.

Derecesi belirlenememiş grup: Zeka testi uygulanması açısından uyumsuz hastalar bu grupta yer alırlar.

## **2.2 Entelektüel Yetersizliğin Epidemiyolojisi**

Entelektüel yetersizliğin, dünya çapında görülme oranı % 2-3 olarak bildirilmekte olup bu oran toplumların sosyal ve demografik yapılarına göre farklılıklar gösterebilmektedir (11-13). Hafif formlarında (IQ yaklaşık 50-70) prevalans % 1,5 olarak tespit edilmiş iken daha ağır formlarında prevalans % 0,4 olarak bildirilmiştir (11). Erkeklerde ise kadınlara oranla daha sık görülmektedir (14). X'e bağlı mental retardasyon (MR) grubu hastalıkların erkekleri daha çok etkilemesi bu oranın erkeklerde yüksek olmasının sebepleri arasında sayılabilir (15).

## **2.3 Entelektüel Yetersizlik Etiyolojisi**

Entelektüel yetersizliğin etiyolojisi incelendiğinde farklı sınıflamalar yapılabilmektedir. Bunlardan ilki; entelektüel yetersizliğin altında yatan nedenler ele alındığında, genetik ve genetik olmayan nedenler olarak ikiye ayrılmaktadır (Tablo 1). Genetik nedenler entelektüel yetersizliği olan olgularda yaklaşık %40-50 oranında tespit edilmektedir (11).

Tablo1 : Entelektüel yetersizlik nedenleri

| <b>Genetik Nedenler</b>             | <b>Genetik Olmayan Nedenler</b>  |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| Kromozomal anomaliler               | Enfeksiyonlar                    |
| Tanımlanabilen dismorfik sendromlar | Toksik ajanlar                   |
| Bilinen monogenetik hastalıklar     | Perinatal dönem komplikasyonları |
| Mitokondriyal hastalıklar           | Çevresel etkenler (Travma v.s)   |
|                                     | Kültürel nedenler                |

\*Tablo kaynak 11'den faydalanılarak hazırlanmıştır.

Bir diğer etiyolojik sınıflama oluşum dönemi açısından prenatal, perinatal ve postnatal olmak üzere 3 gruba ayrılmaktadır (12).

- Prenatal sebepler arasında; kromozomal nedenler, tek gen hastalıkları, multifaktöriyel hastalıklar ile maternal enfeksiyonlar ve teratojenler yer almaktadır.
- Perinatal grubu doğum sırasında meydana gelen problemler ve prematürite oluşturmaktadır.
- Postnatal nedenler arasında; metabolik hastalıklar, toksik nedenler, santral sinir sistemini etkileyen travmalar, enfeksiyonlar, epilepsi ve malnütrisyon yer almaktadır.

Entelektüel yetersizliğe sebep olan bu üç grup arasında en çok görülen prenatal dönem hastalıklarıdır. Prenatal dönem hastalıklarının büyük çoğunluğunu ise genetik nedenler oluşturmaktadır. Bu dönemde görülen bir diğer etken başta TORCH grubu hastalıklar olmak üzere enfeksiyonlardır. Enfeksiyonların dışında çeşitli teratojenik

ajanlar ve radyasyon da entelektüel yetersizliğe sebep olan prenatal etkenler arasında yer almaktadır.

Tüm bu sınıflamalar dışında, sebebi tespit edilememiş olgular %30-50 kadar olup idiopatik olarak nitelendirilmektedir.

## **2.4 Entelektüel Yetersizliğe Sebep Olan Genetik Nedenler.**

Entelektüel yetersizliğe sebep olan genetik nedenler oldukça geniş olup, üç ana grupta toplanmaktadırlar.

- Kromozomal anomaliler: Sayısal ve yapısal olarak iki grupta incelenmektedir.
- Mendeliyen kalıtım gösteren hastalıklar
- Nonmendeliyen kalıtım: Mitokondriyal kalıtım, multifaktöriyel kalıtım

### **2.4.1 Kromozomal Anomaliler**

Entelektüel yetersizliğe neden olan kromozomal anomaliler sayısal ve yapısal değişimler olarak iki ana gruba ayrılmaktadırlar. Sayısal kromozomal anomaliler arasında en sık görüleni 21. kromozomun trizomisi olup rutin konvansiyonel yöntemler ile tespit edilebilmektedir. Yapısal kromozomal anomaliler daha az sıklıkla görülmekte olup 5. kromozomun delesyonu sonucu oluşan Cri du Chat Sendromu ve 4. kromozomun delesyonu sonucu oluşan Wolf-Hirschhorn Sendromu örnek olarak verilebilir. Bunun yanısıra 5 megabaz (Mb)'dan daha küçük yapısal kromozomal değişimler de olup bunların tanısı için FISH, MLPA (Multiplex Ligation Probe Amplification) ve mikroarray gibi moleküler sitogenetik yöntemlerin kullanılması gerekmektedir (11, 17).

#### **2.4.1.1 Sayısal Kromozomal Anomaliler**

Kromozomlar hücrenin çekirdeğinde bulunan, kromatidlerin yoğunlaşması ile oluşan genetik bilgiyi taşıyan materyallerdir (18). Sağlıklı bir insan hücresinde toplam 46 ( $2n$ =diploid) kromozom bulunmakta olup bunlardan iki tanesini cinsiyet kromozomları oluşturmaktadır. Kromozomlar, mitoz bölünme ile nesilden nesile aktararak genetik bilginin devamlılığı sağlanmaktadır. Sayısal kromozomal anomaliler iki ana gruba ayrılır; haploid sayının tam katı olan ve diploid sayıyı aşan kromozom sayısı poliploidi olarak adlandırılır. Tam katı sayıda olmamasına ise anöploidi adı verilir.

- Poliploidiler ( $n$  sayısının ikiden fazla katlarını içerir): Triploidi ( $3n=69$ ) ve tetraploidi ( $4n=92$ ) yaşamla bağdaşmazlar. Oluşum mekanizmaları göz önüne alındığında, triploidi en sık tek ovumu iki spermin döllemesi, tetraploidi ise zigotun sitoplazma bölünmesini erken aşamada tamamlayamamasından kaynaklanmaktadır (19).
- Anoploidiler ( $2n$  sayısından daha fazla ya da eksik kromozom içerir): Trizomi, bir kromozomdan üç kopya bulunması, monozomi ise tek kopya bulunmasıdır ve mayoz bölünme sırasında gerçekleşen ayrılamama nedeni ile oluşmaktadırlar (19,20). Trizomik ve monozomik embriyolar, insanlardaki tüm gebeliklerin yaklaşık %10 kadarlık kısmını oluşturlar (21).

Monozomi X ve cinsiyet kromozomlarındaki sayısal artışlar ile 13, 18 ve 21. kromozomların trizomisi hayatla bağdaşan anoploidilerdir (19).

#### **2.4.1.2 Yapısal Kromozomal Anomaliler**

Yapısal kromozomal anomaliler, sayısal değişimlere göre daha az sıklıkta görülmektedirler. Anöploidiler kromozom segregasyonundaki hatalar sonucu meydana gelirken, yapısal kromozomal değişimler DNA kırık tamiri, rekombinasyon ve crossing over sırasında oluşabilmektedir. Kendiliğinden oluşabileceği gibi,

radasyon, viral enfeksiyonlar ve bazı kimyasal ajanlar bu duruma sebep olmaktadır (18, 22). Kromozomal değişim sonucu, herhangi bir gen kaybı ya da fonksiyonel bir değişim yoksa dengeli, aksi durumda dengesiz olarak adlandırılırlar.

Yapısal kromozomal anamaler arasında; delesyon ve duplikasyonlar, translokasyonlar, inversiyonlar, insersiyonlar, izokromozom, ring kromozomlar ve marker kromozomlar yer almaktadır (18).

- Delesyon ve duplikasyonlar: Kromozomal materyalde kayıp olması delesyon, kazanç durumu ise duplikasyon olarak adlandırılır. Kazanılan ya da kaybedilen kromozomal bölgenin büyüklüğüne bağlı olarak hastalarda görülen klinik durum değişim göstermektedir. Genellikle; klinikte entelektüel yetersizlik, dismorfik bulgular ve iç organ anomalilerinin değişik kombinasyonları görülebilmektedir.
- Translokasyonlar: Dengeli ya da dengesiz yeniden düzenlenimler olabilmektedir.
  - ✓ Resiprokal translokasyonlarda, homolog olmayan iki kromozom arasında karşılıklı parça değişimi olarak tanımlanır. Bu değişim sırasında genetik materyal kaybı yoksa dengeli, kırık bölgelerinde gen kaybı olduğunda ise dengesiz kromozomal değişim olarak değerlendirilir. Dengesiz yeniden düzenlenimlerde kliniğe yansıyan anomaliler görülebilmektedir.
  - ✓ Robertsonian translokasyon akrosentrik kromozomlar arasında meydana gelir, toplam kromozom sayısı 45'tir.
- İnsersiyonlar: İki kırık sonucu oluşan interstisyel kromozomal parça, başka bir kırığın bulunduğu kromozoma yapışmaktadır.

- İnversiyonlar: İki kırık bölgesi arasındaki kromozomal parçanın ters dönerek tekrar yapışmasıdır. Sentromeri içerenler parasentrik, sentromeri içermeyenler ise perisentrik olarak tanımlanır.
- Ring kromozom: Herhangi bir kromozomun iki kırık ucundan birleşerek halka formasyonu oluşturmasıdır. Genellikle mozaiktirler.
- Marker kromozomlar: Herhangi bir kromozoma benzemeyen, normal karyotip yapısına ek olarak bulunan kromozomal yapılardır. İçerdikleri genomik materyale göre klinik bulgu verirler. Ring kromozomlar gibi genelde mozaik olarak görülürler.

#### **2.4.1.2.1 Subtelomerik Yeniden Düzenlenimler**

Telomer bölgeleri timin ve guanin (TG) nükleotidlerini içeren tekrar bölgelerinden oluşmaktadır. Bu tekrar bölgelerinin birçok kromozomda ortak olması nedeniyle, mayoz bölünme sırasında yanlış eşleşmeler olabilmekte ve kromozomal anomaliler ortaya çıkmaktadır (23). Aktif olan genler açısından zengin olan subtelomerik bölgelerdeki kromozomal anomaliler kliniğe belirgin bir biçimde yansımaktadır (24).

İdiyopatik entelektüel yetersizliğe sahip olguların yaklaşık % 4-5'lik kısmında etyolojiden sorumlu olan subtelomerik bölgelerdeki kromozomal değişimlerdir (25). Bu değişimler sıklıkla delesyon olarak görülmekle birlikte, duplikasyon ya da translokasyonlar şeklinde de olabilir (17). İlk olarak yaklaşık 40 yıl önce farkedilerek çeşitli genetik sendromlardan sorumlu olabileceği tespit edilmiştir (26). Konvansiyonel sitogenetik yöntemler ile herhangi bir anomali tespit edilemeyen olgularda subtelomerik FISH yöntemi ile bu bölgeler araştırılmalıdır. Sıklıkla kullanılan bu yöntemin yanısıra MLPA, CGH, real time PCR (Polimeraz zincir

reaksiyonu), spektral karyotipleme (SKY) gibi yöntemler de daha az sıklıkta kullanılabilmektedir (23).

#### **2.4.1.2.2 Mikrolelesyon Sendromları**

Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilemeyen, yakınındaki genleri de içeren delesyonlar olduğu için ‘ardışık gen delesyon sendromu’ (contiguous gene deletion) olarak da adlandırılan sendromlardır (18).

Klinik olarak entelektüel yetersizliğe sebep olabildikleri gibi, kaybedilen bölgedeki genlere bağlı olarak sendromlara özgü tipik yüz bulguları, iç organ anomalileri, iskelet sistemi defektleri de görülebilmektedir. Hasta bireyler klinik bulguları ile değerlendirildiğinde söz konusu sendromlardan şüpheleniliyor ise ilgili lokusa özgü proplar kullanılarak FISH yöntemi ile delesyon bölgesi tespit edilebilir. Bununla birlikte array CGH yönteminin kullanılmaya başlaması ile bilinmeyen ve çok küçük boyutlardaki mikrolelesyonların da tespiti sağlanmış ve genotip-fenotip korelasyonu çalışmalarında önemli gelişmeler elde edilmiştir (12).

Entelektüel yetersizlik ile ilgili olan bazı mikrolelesyon sendromları Tablo 2’de gösterilmektedir.

Tablo 2: Entelektüel yetersizlik ile ilişkilendirilmiş mikrobelesyon/duplikasyon sendromları

| Sendrom                            | Lokasyonu | Tipi                 | Boyutu (Kb) |
|------------------------------------|-----------|----------------------|-------------|
| Williams Sendromu                  | 7q11.23   | Delesyon             | 2000        |
| Cri du Chat Sendromu               | 5p15      | Delesyon             | 1200        |
| Wolf Hirschorn Sendromu            | 4p16.3    | Delesyon             | 3500        |
| Prader-Willi/Angelman Sendromları  | 15q11-q13 | Delesyon             | 4000        |
| Smith Magenis Sendromu             | 17p11.2   | Delesyon/duplikasyon | 5000        |
| DiGeorge/Velokardiyofasyal Sendrom | 22q11.2   | Delesyon             | 3000        |

Tablo 2 kaynak 12, 18 ve 27'dan faydalanılarak hazırlanmıştır.

#### 2.4.2 Mendeliyen Kalıtılan Tek Gen Hastalıkları.

Entelektüel yetersizliğin eşlik ettiği etyolojisinden tek bir genin sorumlu olduğu mendeliyen hastalıklar; otozomal resesif, otozomal dominant, X'e bağlı resesif ve X'e bağlı dominant olmak üzere farklı şekillerde kalıtılmaktadır. Bunlar arasında X'e bağlı kalıtılan mental retardasyon (XL-MR) hastalıkları önemli bir yer teşkil etmekte ve 1/600-1000 erkek oranında görülmektedir (28). Erkekler tek bir kopya X kromozomu bulundurdıklarından X'e bağlı kalıtılan hastalıklardan daha fazla etkilenmektedirler. Ancak, dengesiz X inaktivasyonu (skewed) görülen kız bireylerde de XL-MR görülebilmektedir (29). X kromozomu üzerinde bulunan genlerin yaklaşık %11 kadarı entelektüel yetersizlik etyolojisinde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda XLMR ile ilişkilendirilmiş olan 90'dan fazla gen tanımlanmıştır. Bu genlerden en çok bilinenleri; *FMR* (fragile X mental retardation), *MECP2* (methyl

CpG-binding protein 2) ve *ARX* (aristaless-related homeobox, X-linked) ilk olarak 1990'lı yıllarda tanımlanmışlardır (28).

### **2.4.3 Non-Mendeliyen Kalıtım Gösteren Hastalıklar**

#### **2.4.3.1 Uniparental Dizomi (UPD)**

Herhangi bir kromozom için UPD insidansı 3.500 canlı doğumda 1 oranında görülmektedir. Oluş mekanizması incelendiğinde, mayoz bölünme sırasında ya da erken embriyonik dönemde bölünme hatası sonucu oluşmuş trizomiden kaçış ya da monozominin tamamlanması sonucu oluşmaktadır. Günümüzde SNP arrayler tarafından UPD daha kolay tespit edilebilmektedir. Entelektüel yetersizliği olan olguların etyolojilerinin belirlenmesi amacı ile yapılan tüm genom UPD taramalarından çıkan sonuca göre bu gruptaki hastalarda UPD (izodizomi yada heterodizomi) çok nadir olarak görülmektedir. Bilinen herhangi bir yüzde oranı bulunmamakla birlikte Schroeder ve arkadaşlarının 322 entelektüel yetersizliği bulunan olguda yaptığı taramada hiç bir hastada UPD tespit edilememiştir (30, 31).

#### **2.4.3.2 Mitokondriyal Kalıtım Gösteren Hastalıklar**

MtDNA ile ilgili mutasyon ilk olarak 1988 tarihinde tanımlanmış olup, günümüze kadar yapılan çalışmalarda 250'den fazla patojenik mutasyon bildirilmiştir (32). Mitokondriyal kalıtılan hastalıklar heterojen bir grup olup, klinik variabilite ve değişken penetrans göstermektedir. Bu hastalıklarda en sık görülen bulgular arasında; entelektüel yetersizlik, epilepsi, görme problemleri ve nöromusküler sistem bozuklukları bulunmaktadır. Entelektüel yetersizlik görülen mitokondriyal hastalıklar arasında; Leigh's Sendromu ve Kearns-Sayre Sendromu sayılabilir (33).

#### **2.4.3.3 Multifaktöriyel Kalıtım**

Bazı özellikler ya da hastalıkların etyolojilerinde, genetik nedenlerin yanısıra çevresel nedenler de rol oynamaktadır ve bu durum multifaktöriyel kalıtım olarak adlandırılmaktadır. Zeka da bu şekilde kalıtılan özelliklerden birisidir. Multifaktöriyel olarak kalıtılan otizm spektrumu hastalıklarının yaklaşık %75 kadarında entelektüel yetersizliğin eşlik ettiği bilinmektedir (18, 34).

#### **2.4.4 Epigenetik Mekanizmalar ve Entelektüel Yetersizlik**

Bir organizmanın genotipinde herhangi bir değişiklik meydana getirmeden genin ifadenmesini düzenleyen ve fenotipi etkileyen faktörler epigenetik değişimler olarak adlandırılır. Entelektüel yetersizlik oluşumunda bu mekanizmaların da rolü vardır. DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu gibi mekanizmalar ile genlerin ifadenmesi bozulmaktadır. Tanımlanmış olan 20'den fazla entelektüel yetersizlik ile ilişkilendirilmiş epigenetik regülasyona uğrayan gen bulunmaktadır (35, 36) (Tablo 3).

Tablo 3: Epigenetik regülasyona uğrayan genler ve oluşan hastalıklar

| Gen            | Lokus    | Hastalık                                                |
|----------------|----------|---------------------------------------------------------|
| <i>ATRX</i>    | Xq13     | Alfa Talasemi Mental Retardasyon Sendromu               |
| <i>CHD7</i>    | 8q12     | CHARGE                                                  |
| <i>CREBBP</i>  | 16p13    | Rubinstein-Taybi Sendromu                               |
| <i>EP300</i>   | 22q13    | Rubinstein-Taybi Sendromu                               |
| <i>ERCC6</i>   | 10q11.23 | COFS                                                    |
| <i>NSD1</i>    | 5q35     | Sotos Sendromu<br>Weaver Sendromu                       |
| <i>BCOR</i>    | Xp11.4   | OFCD                                                    |
| <i>CDKL5</i>   | Xp22     | X'e bağlı İnfanıl Spazm Sendromu                        |
| <i>MECP2</i>   | Xq28     | RETT Sendromu<br>Angelman Sendromu<br>Nonsendromik XLMR |
| <i>Med12</i>   | Xq13     | FG/Opitz-Kaveggia Sendromu                              |
| <i>PHF6</i>    | Xq26     | Borjeson-Forssmann-Lehman Sendromu                      |
| <i>RPS6KA3</i> | Xp22     | Coffin-Lowry Sendromu                                   |
| <i>ZNF41</i>   | Xp11.3   | Nonsendromik XLMR                                       |
| <i>ZNF81</i>   | Xq21     | Nonsendromik XLMR                                       |

Tablo 3 kaynak 37'dan yararlanılarak hazırlanmıştır.

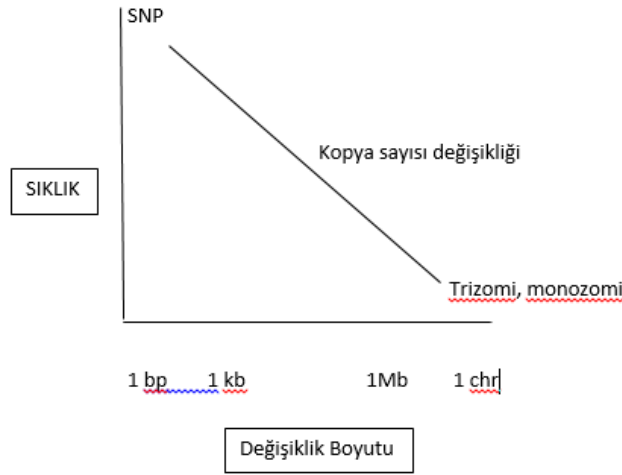
#### 2.4.5 Entelektüel Yetersizlik ve Genetik Varyasyonlar

Genomda insanlar arası farklılıklardan sorumlu değişikliklerin en sık görüleni tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)'dir. Tek bir baz değişimi ile oluşan SNP'lerin mutasyondan farkı; ilgili genin kodlamış olduğu proteinin fonksiyonunu değiştirmiyor olmasıdır. Genomda en sık görülen varyasyon tipi olan SNP'lerin sayısı, HapMap (Haplotip haritalama) projesinde yaklaşık 38 milyon olarak bildirilmiştir (37).

Diğer bir varyasyon tipi ise ‘değişken sayıda sıralı tekrar polimorfizmleri (VNTR- variable number of tandem repeat)’dir. VNTR’ler değişen büyüklüklerde delesyon, duplikasyon ya da insersiyonlardan oluşabilmektedir. En sık tekrarlayan dizi bölgelerinde meydana gelirler ve bu tekrar bölgesinin boyutuna göre sınıflandırılırlar (38);

- Minisatellit tekrarlar: 10-100 baz çifti arasında değişir.
- Mikrosatellit tekrarlar (STR- simple tandem repeat): 2-6 bp içerikli tekrar ünitelerinden oluşurlar.

Bir diğer varyasyon tipi, ‘kopya sayısı değişikliği’ (CNV- copy number variation)’dir. CNV’ler büyük delesyon, duplikasyon ya da insersiyonları içerebilirler; 1-50 bp büyüklüğündeki delesyon ve insersiyonlardan, 1 Mb’dan büyük kromozomal değişimlere kadar farklı boyutlarda olabilmektedirler. Genetik varyasyonların boyutlarına göre kategorilenmesi Şekil 1’de şematize edilmiştir. Toplumda % 1’den fazla sıklıkta görülen CNV’ler, kopya sayısı polimorfizmi (CNP- copy number polymorphism) olarak isimlendirilirler. Genoma geniş bir şekilde dağılmış olan CNV’ler, popülasyonlardaki farklılıklardan ve bazı hastalıklardan sorumludurlar. Array CGH, SNP array ve tüm genom dizileme gibi tekniklerin gelişmesi ve kullanılmaya başlanması ile varyantların keşfi mümkün olmuştur. Bu teknolojiler sayesinde sebebi bilinemeyen entellektüel yetersizlik ve kanser gibi hastalıkların oluşumundaki rolleri ile ilgili yeni bilgilerin elde edilmesi sağlanmıştır (39, 40).



Şekil 1: Genetik varyasyonların boyutlarına göre kategorilenmesi. Şekil kaynak 39'ten faydalanılarak hazırlanmıştır.

CNV'ler fonksiyonel bir gen içererek fenotipi etkilemelerine göre benign ve patojenik olarak sınıflandırılırlar. Fenotipik değişiklik oluşturmalarına rağmen herhangi bir hastalığa yol açmıyor ise yine benign olarak adlandırılırlar. Hastalıklara yatkınlık oluşturan ya da hastalıklarla direkt ilişkisi bulunan CNV'ler ise patojeniktirler. Büyüklüğü 500 kb üzerinde olan, de novo olarak görülen ve toplumda daha az sıklıkta bulunan CNV'ler genellikle patojenik olarak kabul edilirler (39). Heather ve arkadaşları tarafından yaklaşık bin entellektüel yetersizlikli bireyde yapılan çalışmada elde edilen CNV'ler Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 4: Entellektüel yetersizlik bulunan 1010 kişilik bir seride tespit edilen CNV bölgeleri

| <b>Patojenik</b>                         | <b>Muhtemel patojenik</b>       | <b>Önemi bilinmeyen</b> | <b>Polimorfik</b>                     |
|------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|
| 1q21.1 duplikasyonu                      | 15q11.2 delesyonu               | 7q11 delesyonu          | <i>NPHP1</i> delesyon ve duplikasyonu |
| 15q11 delesyonu                          | 16p13 duplikasyonu              | 10q11 delesyonu         | 1q21.1 (TAR) bölgesi duplikasyonu     |
| 15q24 delesyonu                          | 17q12 duplikasyonu              | 15q11.2 duplikasyonu    | 22q11.22-q11.23 delesyonu             |
| 16p11.2 delesyon ve duplikasyonu         | 22q11 distal bölge duplikasyonu | 11q13 duplikasyonu      |                                       |
| 16p12.2-p11.2 delesyonu                  | VCFS distal bölge delesyonu     |                         |                                       |
| 16p13 delesyonu                          |                                 |                         |                                       |
| 17p11.2 delesyonu                        |                                 |                         |                                       |
| 17p12 delesyon ve duplikasyonu           |                                 |                         |                                       |
| 17q12 delesyonu                          |                                 |                         |                                       |
| 22q11.21 delesyonu (VCFS)ve duplikasyonu |                                 |                         |                                       |

Tablo 4 kaynak 40'tan faydalanılarak hazırlanmıştır.

## 2.5 Entelektüel Yetersizlik Etiyolojisinin Araştırılmasında Kullanılan Genetik Tanı Yöntemleri

Kromozom analizi, entelektüel yetersizlik, dismorfik bulgular ve konjenital anomaliler nedeniyle başvuran hastalarda yapılması gereken ilk genetik tanı yöntemidir. Konvansiyonel karyotip analizi ile 5-10 milyon baz çözünürlüğünde kromozomal değişiklikler saptanabilmekte ve nedeni belirlenemeyen entelektüel

yetersizlik bulunan hastalara yaklaşık %5 oranında tanı konulabilmektedir (41). Periferik kandan yapılan lenfosit kültüründen elde edilen kromozomların Giemsa-bantlama yöntemiyle boyanarak ışık mikroskopunda 400-550 bant seviyesinde analizi yapılabilmektedir. Yüksek çözünürlüklü bantlama (HRB-High Resolution Banding) ile ise kromozomlar 550 ve üzeri bant seviyesinde analiz edilebilmektedir (42).

Entelektüel yetersizlik tanısında kullanılan moleküler sitogenetik yöntemler; lokus spesifik FISH, MLPA, MAPH (Multiplex amplifiable probe hybridization) ve CGH'dir (25). (Tablo 5). Bunlar arasında, çözünürlüğü en yüksek yöntem olan mikroarray teknolojisi ile 500 kb'ın altındaki kromozomal değişimler saptanabilmektedir. Yöntem, nedeni açıklanamamış entelektüel yetersizliği bulunan hastalarda, etyolojinin aydınlatılmasında, yeni genlerin keşfinde, bilinmeyen delesyon ve duplikasyon sendromlarının tanımlanmasında önemli bir rol oynamaktadır (43, 44).

Tablo 5: Kromozomal yeniden düzenlenimlerin tanımlanmasında kullanılan yöntemler, platformlar ve karşılaştırmalı özellikleri

| <b>Teknik</b>                 | <b>Çözünürlük</b> | <b>Tespit edilebilenler</b>                          | <b>Kısıtlamalar</b>                                           |
|-------------------------------|-------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| G-bantlama                    | Kromozom bandı    | Translokasyon, duplikasyon, delesyon                 | Bölünen hücrelerin gerekli olması<br>Düşük düzeyde çözünürlük |
| FISH                          | 10 kb             | Translokasyon, duplikasyon, delesyon                 | Bilinen kromozomal değişimlerin tespit edilebilmesi           |
| Multicolor FISH (SKY, M-FISH) | 10 Mb             | Translokasyon, duplikasyon, delesyon                 | Bölünen hücrelerin gerekli olması<br>Düşük düzeyde çözünürlük |
| CGH                           | 2 Mb              | Segmental kazanımlar ve kayıplar                     | Düşük düzeyde çözünürlük                                      |
| BAC aCGH                      | 0.1-1 Mb          | Segmental kazanımlar ve kayıplar                     | Orta düzeyde çözünürlük                                       |
| SNP oligonükleotid mikroarray | <30 Kb            | Segmental kazanımlar ve kayıplar, alelik dengesizlik | Dengeli translokasyonlar, inversiyonlar                       |

Tablo 5 kaynak 45’den faydalanılarak hazırlanmıştır.

### 2.5.1 Subtelomerik FISH

Subtelomerik kromozomal değişimler, sebebi belirlenemeyen MR’li hastalarda yaklaşık % 6 oranında bulunmaktadır (46). İlk olarak 1980’li yıllarda geliştirilmiş olan FISH yöntemi subtelomerik yeniden düzenlenimlerin görüntülenmesinde başarıyla kullanılan ve en sık tercih edilen yöntem olmuştur (2). Ardından MLPA gelmektedir. Tespit edilen değişimler arasında en çok görülen delesyonlardır (17). Sadece bilinen

kromozomal değişimlerin tespit edilebiliyor olması FISH yönteminin kısıtlamasını oluşturmaktadır (45).

### **2.5.2 MLPA**

MLPA yöntemi delesyon ve amplifikasyonları gösterebilmekte oldukça başarılı olması nedeni ile sebebi bilinmeyen entelektüel yetersizlikli olgularda, altta yatan kromozomal değişikliklerin tespitinde kullanılabilmektedir. FISH ile karşılaştırıldığında, çok daha kısa diziler hedeflendiğinden daha küçük boyutlu kopya sayısı değişiklikleri tespit edilebilmektedir. Tüm genomu hedefleyen taramalar için ise uygun bir yöntem değildir. Bu noktada mikroarray teknolojilerinin üstünlüğü devreye girmektedir (47).

### **2.5.3 Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu (CGH) ve Mikroarray Teknolojisi'nin Entelektüel Yetersizliği Bulunan Hastalarda Kullanılması**

Karşılaştırmalı genom hibridizasyonu (Comperative Genomic Hybridization, CGH) delesyon ve duplikasyonların tespitinde kullanılan, ana çalışma prensibi olarak FISH yöntemine benzeyen moleküler sitogenetik bir yöntemdir. Hasta ve referans DNA örnekleri farklı floresan boyalar ile boyanıp ve ardından metafaz kromozomlarına hibridize edilmektedir. Böylece iki örneğin karşılaştırılmasını sağlamaktadır. Kopya sayısı değişimini saptamada çözünürlüğü 5-10 Mb kadardır. Ayrıca tümör dokularındaki kromozomal değişimlerin saptanmasında kullanılabilmektedir (43, 48).

CGH tekniğinin çözünürlüğünün yeterli olmaması sebebi ile, 1997 yılında yapılan çalışmalar ile CGH ve microarray teknolojisi biraraya getirilmiş ve array-CGH yöntemi ortaya çıkmıştır (49).

Mikroarray teknolojisi, DNA parçacıklarından oluşan solid bir yüzey üzerine, hasta DNA'sının hybridize edilmesi ilkesine dayanmaktadır. Tüm genomda yüksek çözünürlükte kopya sayısı değişimlerini saptayabilen array tabanlı sistemler klinikte bir çok hastalığın etyolojisinin belirlenmesinde fayda sağlamaktadırlar.

Kullanıldığı alanlar (50, 51);

- Hastalıklara sebep olan ya da yatkınlık oluşturan SNP ve CNV'lerin tespitinde
- Mikrodelesyon sendromlarında
- Telomer bölgelerindeki kromozomal değişimlerin saptanmasında
- Lösemi, lenfoma ve solid tümörlerdeki genetik etyolojilerin araştırılmasında
- Gen ekspresyon düzeylerinin ölçümünde
- Yeni genlerin keşfinde, büyük imkan sağlamaktadır.

İki farklı array teknolojisi bulunmaktadır;

Matriks üzerinde bulunan DNA parçacıklarını, 'Bakteriyel yapay kromozomları' (Bacterial Artificial Chromosomes, BAC) oluşturuyor ise BAC array adını almaktadır. Çözünürlüğü 50-100 kb ile sınırlıdır. Array-CGH ile yapılan ilk çalışmalarda BAC klonları kullanılmış olup günümüzde daha çok sentezlenmiş oligonükleotid prob lar kullanılmaktadır (43). Bir CNV'nin tespiti için en az 3 ila 10 ardışık probdan sinyal alınması gerekmektedir (52). Kopya sayısı değişimlerinin tespiti, hasta DNA'sı ve kontrol DNA arasındaki hibridizasyon patern yoğunluk farkı sayesinde mümkün olmaktadır (53).

SNP arrayler ise, hasta ve referans DNA örneği arasında bir karşılaştırma imkanı sunmazlar ve hibridizasyon tek bir örnek ile yapılır. Analizi yapılan örnekten alınan hibridizasyon sinyallerinin yoğunlukları, referans hibridizasyon sinyal yoğunlukları ile karşılaştırılır. SNP arrayler tek bir nükleotidde oluşan değişimleri

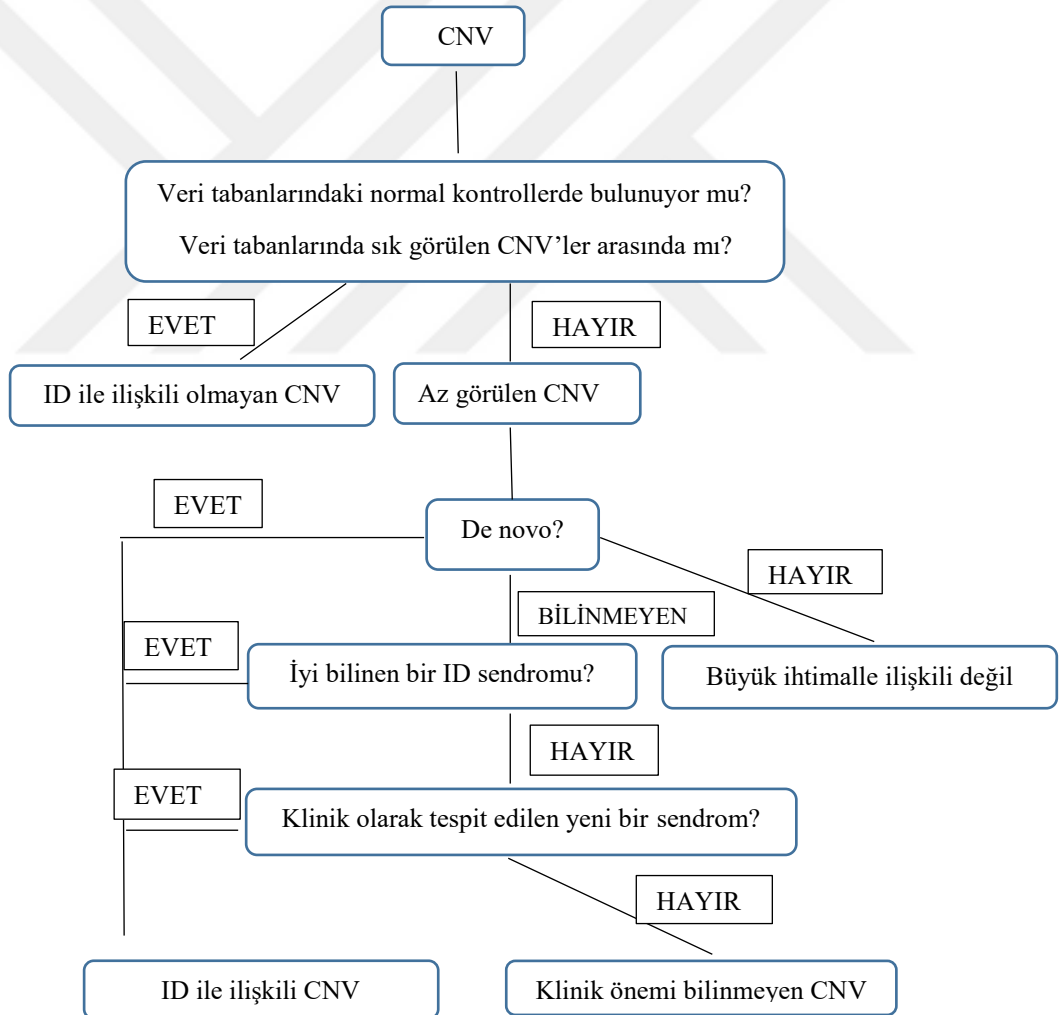
tespit edebilecek problemler ile dizayn edilmeleri nedeni ile daha avantajlıdır. Array-CGH platformlarından ayrılan bir diğer özelliği ise uniparental dizomiyi tespit edebiliyor olmasıdır. Günümüzde kullanılan SNP platformları, tek nükleotid değişimlerinin yanı sıra, kopya sayısı değişikliklerini de belirleyebilmektedir (54).

Array platformları çözünürlüklerine ve kullanılan problemlere göre de adlandırılabilirler. Problemlerin sayısı ne kadar fazla ise çözünürlük de aynı oranda artmakta, çözünürlük arttıkça da tanımlanabilen CNV'ler artmaktadır. Hastanın kliniği açısından önemli olan genomik bölgelere özgü dizayn edilen arraylerde ise ilgili bölge açısından çözünürlük daha da artırılabilir.

Hem array CGH, hem de SNP genotipleme platformları, gelişme geriliği ve entelektüel yetersizlik, çoklu konjenital anomaliler, nöropsikiyatrik bozukluklara sahip hasta gruplarının değerlendirilmesinde rutin olarak yararlanılan teknolojilerdir (54). Moleküler karyotipleme ile nedeni belirlenemeyen entelektüel yetersizliği bulunan olguların, dengeli kromozomal değişimler sonucu oluşan % 0.6'lık kısmında etyoloji tespit edilememektedir (55). Ayrıca düşük seviyeli mozaizmler de mikroarray platformları tarafından belirlenememektedir (53). Bu tür dezavantajlara rağmen bir çok çalışmada nedeni belirlenemeyen entelektüel yetersizlik ve konjenital anomalisi bulunan olgularda mikroarray teknolojisi ilk sırada uygulanabilecek olan test olarak gösterilmektedir (55, 56, 57).

Yanlış pozitif sonuçları eleayabilmek açısından elde edilen sonuçlar hasta kliniği ile birlikte değerlendirilerek, FISH ya da MLPA gibi ek bir yöntem ile doğrulama yapılması önerilmektedir (50). Gelişmiş laboratuvarlar, yanlış pozitif olarak tespit edilen CNV'lerin kayıtlarını tutarak kendi veritabanlarını oluşturmaktadırlar.

Sağlıklı bireylerde de tespit edilen ve benign olarak adlandırılan CNV'ler genomik varyasyon veri tabanlarından (DECIPHER, Ensemble, Database of Genomic Variants ve ECARUCA) araştırılmalıdır. Bilinen bir sendrom ile ilişkili olan, aktif bir gen içeren, de novo olarak görülen CNV'ler patojenik olarak değerlendirilmektedir (52). De novo olup olmadığını belirlemek için anne ve babaya aynı analizin yapılması önerilmektedir (58). Kopya sayısı değişikliği tespit edildiğinde izlenmesi gereken değerlendirme aşmaları Şekil 2'de şematize edilmiştir.



Şekil 2: Entelektüel yetersizliği (ID) bulunan hastalarda tespit edilen CNV'lerin değerlendirilmesi

Şekil kaynak 58'de çeviri yapılarak hazırlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmaya 2013-2014 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğine başvuran nedeni bilinmeyen entelektüel yetersizlik ve/veya konjenital anomali ve/veya dismorfik yüz görünümü bulunan 30 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan 8 tanesinde yapılan analizler sonucu kliniği açıklayan ya da hasta bulguları ile ilişkili olabilecek kromozomal değişimler saptanmıştır. Bu olgulardan 5 tanesinde kesin moleküler sonuç elde edilmiş, 3 hastada da klinik ile ilişkili olabilecek kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Olgular kısmında (3.1) bu 8 hastanın klinik özellikleri ve bulguları tablo halinde (Tablo 6) anlatılmıştır.

Çalışma grubuna dahil edilen hastalar; nedeni bilinmeyen entelektüel yetersizlik ve öğrenme güçlüğü olan, dismorfik bulguları ve/veya konjenital anomalileri bulunan, spesifik bir sendrom ile klinik olarak ilişkilendirilememiş, kromozom analizi normal bulunmuş hasta grubundan seçilmişlerdir.

### 3.1 OLGULAR

Tablo 6: Mikroarray analizlerinde kopya sayısı değişikliği tespit edilen 8 olgunun klinik bulguları

|                            | <b>Olgu 1</b><br><b>8 aylık kız olgu</b>             | <b>Olgu 2</b><br><b>5 günlük erkek olgu</b>       | <b>Olgu3</b><br><b>9,5 yaşında erkek olgu</b>                                     | <b>Olgu 4</b><br><b>18 yaşında erkek olgu</b>                                                             | <b>Olgu 5</b><br><b>5 yaşında kız olgu</b>                                                       | <b>Olgu 6</b><br><b>11 yaşında kız olgu</b>                                                         | <b>Olgu 7</b><br><b>3,5 yaşında kız olgu</b>                             | <b>Olgu 8</b><br><b>1,5 yaşında kız olgu</b>                                                         |
|----------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Perinatal Öykü</b>      | Normal doğum ağırlığı<br><br>Hipotoni                | Düşük doğum ağırlığı (<3p)<br><br>Polihidramniyoz | Normal doğum ağırlığı<br><br>Postnatal dönemde sarılık                            | Normal doğum ağırlığı<br><br>Akciğer yetmezliği ve beslenme güçlüğü nedeniyle 3 ay hastanede yatış öyküsü | Düşük doğum ağırlığı (<3p)<br><br>Doğum: 33. haftada C/S<br><br>IUGR nedeniyle 3 ay kuvöz bakımı | Haftasına göre normal doğum ağırlığı<br><br>Plasenta previa nedeniyle 34. Haftada doğum             | Normal doğum ağırlığı<br><br>Hipotoni                                    | Düşük doğum ağırlığı<br><br>Erken doğum nedeniyle 8 gün kuvöz bakımı                                 |
| <b>Gelişim Basamakları</b> | Başını tutabiliyor<br><br>Henüz desteksiz oturamıyor | -                                                 | Başını tutabilme ve desteksiz oturma ?<br><br>Yürüme 1,5 yaş<br><br>Konuşma 5 yaş | Başını tutabilme ?<br><br>Desteksiz oturma 1,5 yaş<br><br>Yürüme 2,5 yaş<br><br>Halen sadece anne ve baba | Başını tutabilme ve desteksiz oturma?<br><br>Yürüme 1,5 yaş<br><br>Konuşma 1,5 yaş               | Başını tutabilme 1 yaş<br><br>Desteksiz oturma 2,5 yaş<br><br>Yürüme 5 yaş<br><br>Konuşma halen yok | Başını tutabilme ?<br><br>Desteksiz oturma 1,5 yaş<br><br>Yürüme 2,5 yaş | Başını tutabilme ?<br><br>Destekli oturma 1,5 yaş<br><br>Yürüme yok<br><br>Halen sadece anne ve baba |

|                  |                           |                                                                  |                           |                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                              |                                                                                                                           |                                        |                                                                           |
|------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
|                  |                           |                                                                  |                           | kelimelerini söyleyebiliyor<br><br>11 yıldır özel eğitim alıyor                                                                                                                                                    |                                                                                              |                                                                                                                           | Konuşma halen yok                      | kelimelerini söyleyebiliyor                                               |
| <b>Özgeçmiş</b>  | -                         | Duodenal atrezi nedeniyle yenidoğan yoğun bakım ünitesinde takip | -                         | Skolyoz nedeniyle iki kez opere                                                                                                                                                                                    | 3,5 yaşından itibaren tekrarlayan kusma atakları                                             | 5. ayda PDA nedeniyle opere edilmiş<br><br>VUR nedeniyle takipli<br><br>Epileptik nöbetler nedeniyle ilaç tedavisi alıyor | Epilepsi ve raşitizm nedeniyle takipli | Tekrarlayan kusma ve ishal nedeniyle pediatri servisinde takip edilmiştir |
| <b>Soygeçmiş</b> | Akrabalık yok<br>G1P1Y1A0 | Akrabalık yok<br>G1P1Y1A0                                        | Akrabalık yok<br>G1P1Y1A0 | Akrabalık var (Derecesi aile tarafından tanımlanamadı)<br><br>G7 P3 Y1 A3 D\C1<br><br>G1: Kız, makat geliş nedeniyle doğumda ex<br><br>G2, G3 ve G6 : 2 aylık abortus<br><br>G4: Hastamız<br><br>G5: USG anomalisi | Anne baba 1.derece kuzen<br><br>G2 P2 Y2 A0<br><br>G1: Hastamız<br>G2: Sağlıklı erkek kardeş | Anne baba 1.derece kuzen<br><br>G3P3Y3A0<br><br>G1 ve G3: Sağlıklı erkek<br><br>G2: Hastamız                              | Akrabalık yok<br>G1P1Y1A0              | Akrabalık yok<br>G2P1Y1A1<br><br>G1: Abortus<br>G2: Hastamız              |

|                          |                                                                                                               |                                                                                                                                                     |                                                                                                                         |                                                                                                                             |                                                                                                                    |                                                                                                                                                      |                                                                                                                              |                                                                                                                                 |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                          |                                                                                                               |                                                                                                                                                     |                                                                                                                         | nedeniyle terminasyon<br><br>G7:Kız, 4 aylık ex, dismorfik görünüm, artroglipozis multipleks ön tanısı                      |                                                                                                                    |                                                                                                                                                      |                                                                                                                              |                                                                                                                                 |
| <b>Fizik Muayene</b>     | V.A:7250 gr (75-90p)<br><br>Boy:68 cm (50p)<br><br>Baş çevresi:41 cm (3p)                                     | V.A:2500 gr (<3p)<br><br>Boy:48 cm (3-10p)<br><br>Baş çevresi:33 cm (3-10p)                                                                         | V.A:30kg (25-50p)<br><br>Boy:133 cm (10-25p)<br><br>Baş çevresi:53,5 cm (+2SD)                                          | V.A: 70 (25-50p)<br><br>Boy: 155 cm (<3p)<br><br>Baş çevresi: 54 cm (10-25p)                                                | V.A: 12,5 kg (<3p)<br><br>Boy: 93 cm (<3p)<br><br>Baş çevresi: 44,5 cm (3p)                                        | V.A: 32 kg (10-25 p)<br><br>Boy:125 cm (<3 p)<br><br>Baş çevresi 49 cm (<3 p)                                                                        | V.A: 16 kg (50-75 p)<br><br>Boy: 98 cm (25-50 p)<br><br>Baş çevresi: 53 cm (97p)                                             | V.A: 4500 gr (<3p)<br><br>Boy: 64 cm (<3p)<br><br>Baş çevresi 39 cm (<3p)                                                       |
| <b>Dismorfik Muayene</b> | Rölatif mikrosefali<br><br>Upsweep<br><br>Ödematöz göz kapakları<br><br>Anteverté nares<br><br>Büyük kulaklar | Seyrek saçlar ve kaşlar<br><br>Kısa palpebral fissürler<br><br>Epikantus<br><br>Geniş ve yüksek burun köprüsü<br><br>Uzun filtrum<br><br>Retrognati | Sosyal iletişim kısıtlı<br><br>Tekrarlayan davranışlar<br><br>Hiperaktivite<br><br>Üçgen yüz görünümü<br><br>Geniş alın | Brakisefali<br><br>Belirgin supraorbital ridge<br><br>Kısa palpebral aralık<br><br>Yüksek burun köprüsü, belirgin columella | Ark şeklinde kaşlar<br><br>Yüksek burun kökü<br><br>Belirgin columella<br><br>İnce üst dudak<br><br>Çürümüş dişler | Alın saç çizgisi geriden yerleşimli<br><br>Upslant palpebral fissürler<br><br>Derin yerleşimli gözler<br><br>Strabismus<br><br>Kulak memeleri uplift | İnce ve seyrek saçlar<br><br>Derin yerleşimli gözler<br><br>Basık burun kökü<br><br>Orta yüz hipoplazisi<br><br>Kısa filtrum | Geniş ve belirgin frontal bölge<br><br>Ark şeklinde kaşlar<br><br>Hipertelorizm<br><br>Yüksek burun kökü ve geniş burun köprüsü |

|                                             |                                                                                           |                                                                                                                                                                                           |                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                |                                                                                      |                                                                            |                                                                                  |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|                                             |                                                                                           | <p>Yüksek damak</p> <p>El baş parmağının uzun ve geriden yerleşimli olması</p> <p>Sağ elde tek transvers çizgi</p> <p>Bilateral klinodaktili</p> <p>Hipospadiyas ve skrotal hipoplazi</p> | <p>Lateralde seyrek kaşlar</p> <p>Düzensiz dişler</p>                                   | <p>Kısa filtrum</p> <p>Büyük ve açık görünümlü ağız</p> <p>Küçük, seyrek ve düzensiz dişler</p> <p>Gevşek cilt yapısı</p> <p>Düşük ense saç çizgisi</p> <p>Düşük ve asimetrik omuzlar</p> <p>Dirseklerde kontraktür</p> <p>El parmaklarında kontraktürler, brakidaktili ve kamptodaktili</p> | Displastik kulaklar            | <p>Ayak baş parmaklarında çekiç parmak deformitesi</p>                               | <p>Düzensiz dişler</p> <p>Küçük ve dismorfik kulaklar</p>                  |                                                                                  |
| <b>Laboratuvar ve Görüntüleme Bulguları</b> | <p>Karyotip analizi: 46,XX</p> <p>EKO: Minimal triküspit yetmezliği, pulmoner stenoza</p> | <p>Karyotip analizi: 46,XY</p> <p>EKO: VSD</p> <p>Renal USG: Sol böbrek agenezik</p>                                                                                                      | <p>Karyotip analizi: 46,XY</p> <p><i>FMRI</i> mutasyon analizi: Normal (Dış merkez)</p> | <p>Karyotip analizi: 46,XY</p>                                                                                                                                                                                                                                                               | <p>Karyotip analizi: 46,XX</p> | <p>Karyotip analizi: 46,XX</p> <p>Subtelomerik FISH analizi: Normal (Dış merkez)</p> | <p>Karyotip analizi: 46,XX</p> <p>EEG: Hızlı dalga yavaş diken paterni</p> | <p>Karyotip analizi: 46,XX (Düşük çözünürlükte kromozom analizi yapılmıştır)</p> |

|                             |                                    |                                                                              |                                  |                      |                      |                                                                                                                                                 |                          |                                                               |
|-----------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------|
|                             | Kraniyal MRI:<br>Hipomyelinizasyon | Kraniyal MRI:<br>Korpus<br>kallozum ince<br>bir bant şeklinde<br>izlenmiştir | Kraniyal MRI:<br>Kortikal atrofi |                      |                      | Servikal ve lumbar<br>MRI: Sringomiyeli<br>görünümü ve<br>korpus kallozum<br>myelinizasyonunda<br>gecikme<br><br>EEG: Bifrontal<br>keskin dalga | Kraniyal MRI:<br>Normal  | EKO: ASD ve<br>PDA                                            |
| <b>Array-CGH<br/>Sonucu</b> | 2q37.3 delesyonu                   | 2p24.3-p23.3<br>delesyonu                                                    | 13q14.3-q21.1<br>amplifikasyonu  | 7q11.23<br>delesyonu | 14q11.2<br>delesyonu | 1p36.33-p36.31<br>delesyonu                                                                                                                     | Xp11.4<br>amplifikasyonu | 12q24.11-<br>q24.33<br>amplifikasyonu<br>10q26.3<br>delesyonu |

V.A: Vücut ağırlığı.

## 3.2 YÖNTEM

DNA'lar Array CGH 8x60K ISCA yöntemi ile analiz edilmiştir. Protokol aşağıda listelenmiş 10 ana aşamadan oluşur:

- A. DNA Eldesi
- B. Restriksiyon Enzim Kesimi
- C. Ligasyon
- D. PCR
- E. PCR Pürifikasyon
- F. PCR Ürünlerinin Ölçümü
- G. Fragmentasyon
- H. İşaretleme
- I. Hibridizasyon
- J. Yıkama/Boyama/Tarama

### A-DNA Eldesi

DNA aşağıda anlatılan “yüksek konsantrasyonlu tuzla çöktürme yöntemi” ile elde edilmiştir.

#### 1. gün

1- 2,5 ml. kan 15 ml.lik steril tüpe alınıp, üzerine 15 ml'ye tamamlayacak şekilde önceden hazırlanmış otoklavlanmış soğuk bidistile su konulur.

2- Aşağı yukarı çalkalayarak 2-3 dk. hızlı olarak karıştırılır.

3- 2200 rpm'de 10 dk. santrifüj edilir.

4- Süpernatant atılıp pelletin üzerine tekrar soğuk su ilave edilip santrifüj yapılır.

5- Arkasından yıkama işlemi 3 kez daha tekrarlanıp, son boşaltmada (içindeki pelletin sabit kalıp düşmeyecek şekilde olduğu zaman) tüpler bir kağıt havlunun üzerine ters çevrilip, süzülmesi sağlanır.

6- Süzüldükten sonra tekrar çevrilerek üzerine 37,5µl Proteinaz K (20 mg/ml), 750 µl lysis buffer, 50 µl SDS konup çalkalanır.

7- Bir gece 37 °C de bekletilir.

2. gün

8- 500 µl Amonyum asetat eklenip, 20 kez aşağı yukarı hızla karıştırılarak 10 dk. oda ısısında bekletilir.

9- 3500 rpm de 15 dak. Santrifüj edilip, üzerindeki süpernatant başka 15 ml tüpe aktarılır.

10- Tüpün içindekinin iki katı kadar absölü etanol konulup, hafif karıştırılarak içindeki DNA belirginleştirilir.

11- Önceden içerisine 250µl TE konan mikrosantrifüj tüplerine pipet ucuyla alınan DNA konulup, 1 gün oda sıcaklığında bekletilecek ve çözünmesi sağlanır. Çözündükten sonra derin dondurucuya kaldırılır (-20°C).

#### B-Restriksiyon Enzim Kesimi

Çalışmada 250 ng (50ng/ul) genomik DNA kullanılmıştır. Buz üzerinde uygun miktarlarda tampon kullanılan arraye uygun enzim, BSA ile kesim karışımı hazırlanır.

DNA ile karıştırılarak uygun inkübasyon programında koşullara göre 2-16 saat arası kesim reaksiyonu yapılır. Kesim sonrası örnekler agaroz jelde yürütülerek kontrol edilir ve örnekler -20°C’de saklanır.

#### C-Ligasyon

Buz üzerinde uygun miktarlarda tampon, ligaz enzimi, ve kesim enzimine uygun adaptör ile ligasyon karışımı hazırlanır. DNA ile karıştırılarak uygun inkübasyon programında yaklaşık 3 saat ligasyon reaksiyonu yapılır. Örnekler -20°C’de saklanır.

#### D-PCR

Ligasyon sonrası ürünler dilüe edilerek PCR aşamasına hazırlanır. PCR için gerekli olan malzemeler (enzim, primer, dNTP gibi) buzda karışım olarak hazırlanıp ve DNA eklenir. Kullanılacak PCR cihazına göre uygun program yazılıp ve PCR reaksiyonu yapılır. PCR sonrası örnekler agaroz jelde yürütülerek kontrol edilir.

#### E-PCR Pürifikasyon

Pürifikasyon için PCR reaksiyonuna uygun miktarda magnetics bead solüsyonu eklenir. Karışım magnetik stand de bekletilip tüpün alt kısmında toplanan DNA uygun mikropipetle alınır. İşlem sonu elde edilen ürünler spektrofotometrik analizle ölçülür. Örnekler -20°C’de saklanır.

#### F-PCR Ürünlerinin Ölçümü

Uygun cihaz kullanılarak pürifiye edilmiş PCR ürünlerinin konsantrasyonu ölçülür. Fragmentasyona hazırlık için ürünlere uygun tampon eklenip, vorteks ve spin yapılır.

#### G-Fragmentasyon

Pürifiye edilmiş PCR ürünü ve uygun tampon ile fragmentasyon karışımı hazırlanır. Fragmentation Reagent uygun miktarda dilüe edildikten sonra hazırlanan karışıma buzda eklenir. Termal Cycler’da uygun programla yaklaşık 45 dk fragmentasyon reaksiyonu yapılır. Fragmentasyon sonrası ürünler agaroz jelde yürütölüp kontrol edilir.

#### H-İşaretleme

Buzda enzim, tampon gibi malzemelerle işaretleme karışımı hazırlanıp fragmente olmuş DNA karışıma eklenir. Termal Cycler’da uygun programda yaklaşık 4 saat işaretleme reaksiyonu gerçekleşir. Örnekler -20°C’de saklanır.

#### I-Hibridizasyon

Hibridizasyon aşaması için gerekli solüsyonlar ve tamponlar önceden gereken miktarda hazırlanır. Bu solüsyonlardan uygun miktarlarda kullanarak bir karışım hazırlanır. Karışıma işaretlenmiş DNA örneği eklenip gereken sıcaklıklarda inkübasyondan sonra karışımdan uygun miktar arraylere mikropipet ile enjekte edilir. Arrayler Hibridizasyon Fırınına yerleştirilip ve 49°C, 60 rpm rotasyonla 16-18 saat hibridizasyon gerçekleştirilir.

#### J-Yıkama/Boyama/Tarama

Yıkama aşaması öncesi gerekli solüsyon ve tamponlar hazırlanır. Yıkama öncesi örneklerle ilgili bilgiler sistem bilgisayarına işlenir. Yıkama-Boyama ve Tarama aşamaları bilgisayar tarafından kontrol edildiği için bu aşama önemlidir. 16-18 saat Hibridizasyon sonrası array içinde olan sıvı mikropipet ile geri çekilip, yerine uygun miktarda tampon enjekte edilir. Solüsyonlar, boyalar ve array yıkama istasyonuna yerleştirilir. Arraye uygun yıkama protokolü bilgisayar programından seçilip, protokol

başlatılır. Yıkama işlemi bittikten sonra yine program yardımıyla tarama işlemi gerçekleştirilir.

#### K-Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışma verileri ‘Agilent CytoGenomics software’ programı ile analiz edilmiştir. Sonuçlar taramaların yapıldığı bilgisayardan, analizlerin yapılacağı Gazi Üniversitesi Tıbbi Genetik Bölümü’nde bulunan bilgisayara taşınmış ve olguların klinik bulguları göz önünde bulundurularak değerlendirmeleri yapılmıştır.

Program, bulunan kromozomal değişikliklerin boyutlarını, kayıp ya da kazanç bölgelerinin içerdiği genleri, ilgili bölgelerin elektronik veri tabanlarında araştırılmalarını sağlayan bağlantıları içermektedir (59).

Tespit edilen değişiklikler DECIPHER (Database of Chromosome Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources), DGV (Database of Genomic Variants) ve Ensembl (Genome Browser) gibi veri tabanları ile OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) ve PubMed (the U.S. National Library of Medicine) gibi online kütüphaneler kullanılarak değerlendirilmiştir (60-64).

## 4. MOLEKÜLER KARYOTİPLEME BULGULARI

Olguların teknik çalışmaları 60K ISCA array (Agilent Technologies, Inc., SantaClara CA) kullanılarak yapılmış olup, elde edilen sonuçlar ise “Agilent CytoGenomics software” programı ile değerlendirilmiştir. Klinik özellikleri ile ilişkili olabilecek genomik değişiklikler saptanan olguların array bulguları her bir olgu için ayrı ayrı sunulmuştur.

#### 4.1 OLGU 1

Olgunun yapılan array analizinde 14 ve 22. kromozomlara ait kazanç (amplifikasyon) ve 2. kromozoma ait kayıp (delesyon) bölgeleri tespit edilmiştir. Kazanç bölgelerinden ilki 14. kromozomun uzun kolunda, 32.33 bant bölgesinde, 292,832 kb büyüklüğünde olup *NCRNA00226*, *NCRNA00221* ve *ADAM6* genlerini içermektedir. Diğer kazanç bölgesi ise 22. kromozomun uzun kolunun 11.22 bant bölgesinde, 151,461 kb büyüklüğünde olup *MIR650* genini içermektedir.

Saptanılan tek kayıp bölgesi ise 2. kromozomun uzun kolunun 37.3 bant bölgesinde, 150,772 kb büyüklüğünde olup herhangi bir bilinen gen içermemektedir.

Olgu 1 için yapılan array analizi sonuçları Tablo 7’de özetlenmiştir.

Tablo 7: Olgu 1’de bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi | Gen (ler)                                            | Boyut (kb) | Delesyon/amplifikasyon |
|----------|--------------|------------------------------------------------------|------------|------------------------|
| 14       | q32.33       | <i>NCRNA00226</i> , <i>NCRNA00221</i> , <i>ADAM6</i> | 292,832    | Amplifikasyon          |
| 22       | q11.22       | <i>MIR650</i>                                        | 151,461    | Amplifikasyon          |
| 2        | q37.3        | -                                                    | 150,772    | Delesyon               |

#### 4.2 OLGU 2

Olgu 2’de yapılan moleküler karyotipleme çalışması sonucunda üç adet kromozomal kayıp bölgesi ve bir adet kazanç bölgesi tespit edilmiştir. Kayıp bölgelerinden en büyüğü 2. kromozomun kısa kolunun 24.3-23.3 bant bölgesinde yaklaşık 10,5 Mb boyutlarında ve 31 adet bilinen gen içermektedir. Feingold Sendromu’na sebep olan bu kayıp bölgesindeki *MYCN* geni hastalığın kliniğinden

sorumlu tutulmaktadır. Diğer kayıp bölgeleri ise 2. kromozomun kısa kolunun 22.1 bant bölgesinde ve 6. kromozomun kısa kolunun 24.2-24.1 bant bölgesindedir. Olguda tespit edilen tek kazanç bölgesi 14. kromozomun uzun kolunun 32.33 bant bölgesindedir. Olgu 2'ye ait tespit edilen kromozomal değişiklikler ve ilgili bölgelerin içerdiği genler Tablo 8'de özetlenmiştir.

Tablo 8: Olgu 2'de bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi     | Gen (ler)                                                                                                                                                                                                                                     | Boyut (kb) | Delesyon/<br>amplifikasyon |
|----------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------|
| 2        | p24.3 -<br>p23.3 | <i>NBAS, DDX1, MYCNOS, MYCN, VSNL1, SMC6, GEN1, MSGN1, KCNS3, OSR1, MATN3, SDC1, PUM2, HS1BP3, GDF7, APOB, FAM84A, FAM49A, RAD51AP2, RDH14, NT5C1B, RDH14, NT5C1B, FLJ12334, TTC32, WDR35, LAPTM4A, RHOB, C2orf43, KLHL29, ATAD2B, UBXN2A</i> | 10,508,524 | Delesyon                   |
| 6        | p24.2 -<br>p24.1 | <i>NEDD9, HIVEP1, EDN1, TMEM170B, C6orf105, PHACTR1</i>                                                                                                                                                                                       | 1,656,238  | Delesyon                   |
| 2        | p22.1            | <i>SOS1, THUMPD2, HNRPLL, GALM, SRSF7, GEMIN6, DHX57, MORN2, ARHGEF33, LOC375196, CDKL4, MAP4K3, LOC728730, TMEM178</i>                                                                                                                       | 1,481,169  | Delesyon                   |
| 14       | q32.33           | <i>ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221</i>                                                                                                                                                                                                          | 809,191    | Amplifikasyon              |

### 4.3 OLGU 3

Olgu 3 için yapılan array analizinde 7 adet kazanç bölgesi tespit edilmiştir. Bunlardan en büyüğü yaklaşık 6 Mb büyüklüğünde olup 13. kromozomun uzun kolunun 14.3-21.1 bant bölgesinde bulunmaktadır. Olguda tespit edilen diğer kazanç bölgeleri ve özellikleri Tablo 9'da özetlenmiştir.

Olguda tespit edilen 13q14.3-q21.1, 22q13.2-13.31 ve 14q24.3 kromozom bölgelerinde saptanmış olan kazançların veritabanlarında yapılan analizlerinde Olgu 3'ün klinik bulguları ile benzer özellikte hastalar olduğu görülmüştür.

Tablo 9: Olgu 3'de bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi  | Gen (ler)                                                                                                                                                 | Boyut (kb) | Delesyon/ amplifikasyon |
|----------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------------------------|
| 13       | q14.3 - q21.1 | <i>PCDH8, PCDH17, OLFM4, MIR1297, PRR20B, PRR20C, PRR20D, PRR20E, PRR20A</i>                                                                              | 6,144,795  | Amplifikasyon           |
| 22       | q13.2- q13.31 | <i>SULT4A1, PNPLA5, SAMM50, PRR5, ARHGAP8, NUP50, MPPED1, EFCAB6, PNPLA3, PARVB, PARVG, KIAA1644, LDOC1L, NCRNA00207, PRR5, ARHGAP8, PHF21B, KIAA0930</i> | 1,706,093  | Amplifikasyon           |
| 10       | q21.1         | <i>PCDH15</i>                                                                                                                                             | 1,295,399  | Amplifikasyon           |
| 5        | q11.2         | <i>PELO, ITGA1</i>                                                                                                                                        | 671,460    | Amplifikasyon           |
| 9        | p23           | -                                                                                                                                                         | 536,206    | Amplifikasyon           |
| 14       | q24.3         | <i>POMT2, GSTZ1, ISM2, SPTLC2, ALKBH1, TMED8, SAMD15, C14orf148, VIPAR, AHS1, C14orf156</i>                                                               | 390,797    | Amplifikasyon           |
| 14       | q32.33        | <i>NCRNA00221</i>                                                                                                                                         | 313,943    | Amplifikasyon           |

#### 4.4 OLGU 4

Olgu 4 için yapılan moleküler karyotipleme çalışmasında 7. kromozoma ait kayıp ve 8 ve 14. kromozomlara ait kazanç bölgeleri saptanmıştır. Saptanılan kayıp bölgesi 7. kromozomun uzun kolunun 11.23 bant bölgesinde bulunmaktadır ve yaklaşık olarak 1.3 Mb büyüklüğündedir. Adı geçen bölgede bulunan genler Tablo

10'da gösterilmekte olup, kayıp bölgesi Williams Sendromu'na yol açtığı bilinen *ELN* genini de içermektedir. Olguda *ELN* geninin kayıp olduğu ikinci bir yöntem (FISH) ile de doğrulanmıştır.

Tespit edilen kazanç bölgeleri ise, 8. kromozomun kısa kolunun 23.1 bant bölgesinde ve 14. kromozomun uzun kolunun 32.33 bant bölgesindedir. Olgu 4'e ait tespit edilen kromozomal değişiklikler ve ilgili bölgelerin içerdiği genler Tablo 10'da özetlenmiştir.

Tablo 10: Olgu 4'te bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi | Gen (ler)                                                                                                                                                                                                                                                            | Boyut (kb) | Delesyon/amplifikasyon |
|----------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------------|
| 7        | q11.23       | <i>FKBP6, FZD9, BAZ1B, BCL7B, TBL2, MLXIPL, VPS37D, STX1A, WBSCR26, CLDN3, CLDN4, WBSCR27, WBSCR28, ELN, LIMK1, EIF4H, LAT2, RFC2, CLIP2, GTF2IRD1, GTF2I, DNAJC30, WBSCR22, MIR4284, ABHD11, MIR590</i>                                                             | 1,367,020  | Delesyon               |
| 8        | p23.1        | <i>DEFB103A, FAM90A7, FAM90A14, FAM90A13, FAM90A19, FAM90A18, FAM90A8, FAM90A9, FAM90A10, DEFB4B, DEFB103B, SPAG11B, DEFB104B, DEFB104A, DEFB106B, DEFB106A, DEFB105B, DEFB105A, DEFB107A, DEFB107B, SPAG11A, DEFB4A, LOC100132396, FAM66E, DEFB109P1B, MIR548I3</i> | 811,102    | Amplifikasyon          |
| 14       | q32.33       | <i>ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221</i>                                                                                                                                                                                                                                 | 809,191    | Amplifikasyon          |

#### 4.5 OLGU 5

Olguya yapılan array analizinde iki adet kayıp bölgesi saptanmıştır. Bunlardan bir tanesi 14. kromozomun uzun kolunda q11.2 lokusunda bulunmakta olup yaklaşık olarak 1 Mb büyüklüğündedir. Hastada “14q11.2 mikrolelesyon sendromu” tespit edilmiştir. Sendroma ait fenotipik bulgulara sebep olarak gösterilen en önemli gen olan *CHD8* geni de kayıp bölgesinde bulunmaktadır. Bir diğer kayıp bölgesi 11. kromozomun q13.4 lokusunda saptanmıştır. Olguya ait array analizi sonuçları Tablo 11’de özetlenmiştir.

Tablo 11: Olgu 5’te bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi | Gen (ler)                                                      | Boyut (kb) | Delesyon/amplifikasyon |
|----------|--------------|----------------------------------------------------------------|------------|------------------------|
| 14       | q11.2        | <i>CHD8, RAB2B, METTL3, SALL2, TOX4, OR10G3, OR10G2, OR4E2</i> | 1,004,880  | Delesyon               |
| 11       | q13.4        | <i>ARRB1, RPS3, LOC441617, MIR326, SNORD15A, SNORD15B</i>      | 185,963    | Delesyon               |

#### 4.6 OLGU 6

Olgu 6’da yapılan moleküler karyotipleme çalışmasında iki adet kayıp ve bir adet kazanç bölgesi tespit edilmiştir. Kayıp bölgelerinden büyüğü 5 Mb olup 1. kromozomun kısa kolunun 36.33-36.31 bant bölgelerinde yer almaktadır. Bu sonuç olguda “1p36 delesyon sendromu” olduğunu göstermiştir. Kayıp bölgesinde bulunan *KCNAB2* ve *GABRD* genleri sendrom ile ilişkili klinik bulgulardan sorumlu tutulan en önemli genlerdir. Diğer kayıp bölgesi 11. kromozomun p12 lokusunda bulunmakta olup bilinen gen içermemektedir. Tek kazanç bölgesi ise 14. kromozomun q32.33

lokusunda tespit edilmiştir. Olgu 6'ya ait saptanmış olan kromozomal değişiklikler ve bu değişikliklerle ilişkili genler Tablo 12'de sunulmuştur.

Tablo 12: Olgu 6'da bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi    | Gen (ler)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Boyut (kb) | Delesyon/amplifikasyon |
|----------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------------|
| 1        | p36.33 - p36.31 | <i>TNFRSF18, TNFRSF4, SCNN1D, TASIR3, DVL1, MRPL20, VWA1, ATAD3B, ATAD3A, MMP23B, MMP23A, NADK, GNB1, CALML6, GABRD, PRKCZ, SKI, PEX10, PLCH2, PANK4, HES5, TNFRSF14, ACTRT2, PRDM16, MEGF6, WDR8, TP73, DFFB, AJAP1, NPHP4, KCNAB2, TTLL10, SDF4, B3GALT6, FAM132A, UBE2J2, ACAP3, PUSL1, CPSF3L, GLTPD1, MXRA8, AURKAIP1, CCNL2, LOC148413, LOC441869, TMEM88B, ATAD3C, C1orf70, SSU72, MIB2, CDK11B, SLC35E2, BCDK11A, SLC35E2, TMEM52, KIAA1751, C1orf86, LOC100128003, MORN1, LOC100129534, RER1, LOC115110, LOC100133445, C1orf93, MMEL1FLJ42875, MIR4251, ARHGEF16, MIR551ATPRG1L, KIAA0495, CCDC27, LOC388588, LRRC47, KIAA0562, C1orf174, LOC100133612, LOC284661</i> | 5,038,043  | Delesyon               |
| 14       | q32,33          | <i>NCRNA00226</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 398,536    | Amplifikasyon          |
| 11       | p12             | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 339,952    | delesyon               |

#### 4.7 OLGU 7

Olguya yapılan array analizinde üç adet kazanç bölgesi saptanmıştır. Bunlardan ilki 14. kromozomun uzun kolunun 32.33 bant bölgesinde, diğeri X kromozomu kısa kolunun 11.4 bant bölgesinde, en küçüğü ise 22. kromozomun uzun kolunun 11.22 bant bölgesinde yer almaktadır. Xp11.4 kromozomal bölgesinde saptanmış olan değişikliğin olguda görülen klinik bulgular ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kazanç bölgeleri ile ilgili değişikliklerin boyutları ve içerdiği genler Tablo 13’de sunulmuştur.

Tablo 13: Olgu 7’de bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi | Gen (ler)                                                           | Boyut (kb) | Delesyon/<br>amplifikasyon |
|----------|--------------|---------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------|
| 14       | q32.33       | <i>ADAM6</i> ,<br><i>NCRNA00226</i> ,<br><i>NCRNA00221</i>          | 552,248    | Amplifikasyon              |
| X        | p11.4        | <i>BCOR</i> , <i>ATP6AP2</i> ,<br><i>LOC347411</i> , <i>CXorf38</i> | 543,327    | Amplifikasyon              |
| 22       | q11.22       | <i>MIR650</i>                                                       | 151,461    | Amplifikasyon              |

#### 4.8 OLGU 8

Olgunun yapılan array analizinde 12. kromozoma ait kazanç ve 10. kromozoma ait kayıp bölgesi tespit edilmiştir. Kromozom 12’nin uzun kolunda 24.11-24.33 bant bölgesinde tespit edilen kazanç yaklaşık olarak 22 Mb büyüklüğündedir. Kromozom 10’un uzun kolunda 26.3 bant bölgesinde tespit edilen kayıp bölgesi ise yaklaşık 2 Mb’dır. Tespit edilen parsiyel 12q duplikasyonu ve parsiyel 10q delesyonunun içerdiği

genler Tablo 14’de verilmiştir. Kayıp bölgesinde bulunan *CALY* geni ve kazanç bölgesinde bulunan *PTPN11* ve *TBX5* genleri hastanın kliniği ile ilişkilendirilmiştir.

Tablo 14: Olgu 8’de bulunan kromozomal değişiklikler

| Kromozom | Bant bölgesi      | Gen (ler)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Boyut (kb) | Delesyon/<br>amplifikasyon |
|----------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|----------------------------|
| 12       | q24.11-<br>q24.33 | <i>RAD9B</i> , <i>PPTC7</i> , <i>PPP1CC</i> , <i>MYL2</i> , <i>SH2B3</i> , <i>ATXN2</i> , <i>BRAP</i> , <i>ALDH2</i> , <i>MAPKAPK5</i> , <i>ERP29</i> , <i>RPL6</i> , <b><i>PTPN11</i></b> , <i>RPH3A</i> , <i>OAS1</i> , <i>OAS3OAS2</i> , <i>DTX1</i> , <i>RASAL1</i> , <i>DDX54</i> , <i>TPCN1</i> , <i>SLC24A6</i> , <i>SDS</i> , <i>LHX5</i> , <b><i>TBX5</i></b> , <i>TBX3</i> , <i>FBXW8</i> , <i>TESC</i> , <i>FBXO21</i> , <i>NOS1</i> , <i>KSR2RFC5</i> , <i>PEBP1</i> , <i>HSPB8</i> , <i>PRKAB1</i> , <i>CIT</i> , <i>GCN1L1</i> , <i>RPLP0</i> , <i>PXN</i> , <i>SIRT4</i> , <i>PLA2G1BMSII</i> , <i>COX6A1</i> , <i>DYNLL1</i> , <i>POP5</i> , <i>ACADS</i> , <i>SPPL3</i> , <i>HNF1A</i> , <i>OASL</i> , <i>P2RX7</i> , <i>P2RX4</i> , <i>ANAPC5</i> , <i>RNF34</i> , <i>ORAI1</i> , <i>SETD1B</i> , <i>HPDPSMD9</i> , <i>BCL7A</i> , <i>MLXIP</i> , <i>B3GNT4</i> , <i>DIABLO</i> , <i>VPS33A</i> , <i>KNTC1</i> , <i>GPR109A</i> , <i>GPR109B</i> , <i>GPR81</i> , <i>HIP1R</i> , <i>VPS37B</i> , <i>ABCB9</i> , <i>ARL6IP4</i> , <i>MPHOSPH9</i> , <i>CDK2AP1</i> , <i>EIF2B1</i> , <i>ATP6V0A2</i> , <i>DNAH10</i> , <i>NCOR2</i> , <i>SCARB1</i> , <i>UBC</i> , <i>FZD10</i> , <i>PIWIL1</i> , <i>RIMBP2</i> , <i>STX2</i> , <i>RAN</i> , <i>MMP17</i> , <i>ULK1</i> , <i>PUS1</i> , <i>EP400</i> , <i>NOC4L</i> , <i>POLE</i> , <i>GOLGA3</i> , <i>CHFR</i> , <i>ZNF26</i> , <i>ZNF140</i> , <i>ZNF10</i> , <i>ZNF268</i> , <i>ARPC3</i> , <i>GPN3</i> , <i>C12orf24</i> , <i>VPS29</i> , <i>TCTN1</i> , <i>HVCN1</i> , <i>CCDC63</i> , <i>LOC100131138</i> , <i>CUX2</i> , <i>FAM109A</i> , <i>ACAD10</i> , <i>C12orf47</i> , <i>ADAM1</i> , <i>TMEM116</i> , <i>NAA25</i> , <i>TRAFD1</i> , <i>C12orf51</i> , <i>CCDC42B</i> , <i>C12orf52</i> , <i>IQCD</i> , <i>PLBD2</i> , <i>SDSL</i> , <i>RBM19</i> , <i>MED13L</i> , <i>MIR620</i> , <i>NCRNA00173</i> , <i>MAP1LC3B2</i> , <i>C12orf49</i> , <i>RNFT2</i> , <i>HRK</i> , <i>WSB2</i> , <i>VSIG10</i> , <i>TAOK3</i> , <i>SUDS3SRM4</i> , <i>LOC144742</i> , <i>CCDC60</i> , <i>TMEM233</i> , <i>MIR1178</i> , <i>CCDC64</i> , <i>RAB35</i> , <i>TRIAP1</i> , <i>GATC</i> , <i>SRSF9</i> , <i>COQ5</i> , <i>RNF10</i> , <i>CABP1</i> , <i>MLEC</i> , <i>UNC119B</i> , <i>NCRNA00262</i> , <i>C12orf43</i> , <i>CAMKK2</i> , <i>KDM2B</i> , <i>MORN3</i> , <i>TMEM120B</i> , <i>RHOF</i> , | 22,943,366 | Amplifikasyon              |

|    |       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |           |          |
|----|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|----------|
|    |       | <i>LOC338799, WDR66, LRRC43, IL31, CLIP1, ZCCHC8, RSRC2, DENR, CCDC62, OGFOD2, PITPNM2, MIR4304, C12orf65, SBNO1, SETD8, RILPL2, SNRNP35, RILPL1, MIR3908, TMED2, DDX55, GTF2H3, TCTN2, CCDC92, ZNF664, ZNF664, FAM101A, FAM101A, DHX37, BRI3BP, AACS, TMEM132B, LOC400084, LOC100128554, LOC387895, LOC440117, FLJ37505, TMEM132C, MIR3612, SLC15A4, GLT1D1, TMEM132D, LOC100190940, FLJ31485, GPR133, LOC116437, SFSWAPSNORA49, EP400NL, DDX51, GALNT9, LOC100130238, FBRSL1, LOC645277, P2RX2, PXMP2, PGAM5, ANKLE2, ZNF605, ZNF84, LOC647589</i> |           |          |
| 10 | q26.3 | <i>DPYSL4, INPP5A, GPR123, UTF1, ADAM8, PRAP1, ECHS1, SPRN, CYP2E1, SYCE1, TCERG1L, PPP2R2D, BNIP3, JAKMIP3, STK32C, LRRC27, PWWP2B, C10orf91, NKX62, C10orf92, C10orf93, KNDC1, VENTX, MIR202, TUBGCP2, ZNF511, CALY, C10orf125, MIR3944, PAOX, MTG1, LOC619207, SPRNP1</i>                                                                                                                                                                                                                                                                         | 2,324,846 | Delesyon |

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, sebebi açıklanamamış entelektüel yetersizlik ve beraberinde dismorfik özellikleri ya da organ anomalileri olan fakat konvansiyonel yöntemler ile bir patoloji tespit edilememiş 30 hasta Array CGH yöntemi ile taranarak kromozomal değişimler yönünden araştırılmıştır. Bu olgulardan 8 tanesinde klinikten sorumlu olduğu düşünülen kopya sayısı değişikliği tespit edilmiştir. Array CGH çalışmasının yanısıra Olgu 4'te tespit edilen 7q11.23'deki delesyon bölgesinde bulunan *ELN* geninin kaybı ikinci bir yöntem (FISH) ile de doğrulanmıştır.

Konvansiyonel karyotipleme yöntemi, çözünürlüğü yaklaşık olarak 5-10 Mb arasında olduğu için, entelektüel yetersizlik etyolojisinin araştırılmasında büyük yapısal değişikliklerin ancak % 10-15'ini açıklayabilmektedir. Bilinen mikrodelsyon sendromları ile subtelomerik bölgelerdeki kopya sayısı değişiklikleri ise, FISH ve MLPA gibi yöntemlerle tespit edilebilmektedir. Fakat çok daha küçük ve klinik etkileri henüz kesinleşmemiş CNV kayıp veya kazançlarının saptanması ancak tüm genomu büyük çözünürlükte tarayan array tabanlı sistemlerle mümkün olmaktadır. Bu sayede yeni mikrodelsyon ve mikroduplikasyon sendromlarının keşfi ve bu değişiklikler ile klinik bulguların korelasyonlarının kurulması mümkün olabilmektedir (2).

'International Standards for Cytogenomic Arrays Consortium', entelektüel yetersizlik, gelişme geriliği ve/veya konjenital anomalileri bulunan 21698 olguyu içeren 33 yayınlanmış çalışmanın derlemesini yaparak, mikroarray teknolojisinin pozitif genetik tanı oranını ortalama % 12 olarak saptamıştır (55).

Cooper ve arkadaşları ise 15767 hastanın verilerini değerlendirerek, array CGH analizleri ile entelektüel yetersizliğe sebep olan kopya sayısı değişikliklerinin oranını % 14 olarak tespit etmişlerdir (65).

Otuz olguyu kapsayan Array CGH 8x60K ISCA kullanılarak yapılan çalışmamızda, entelektüel yetersizlik ve eşlik eden anomalilere sebep olabilecek kopya sayısı değişiklikleri 8 hastada saptanmış olup, yaklaşık olarak % 25 oranında; literatürde bildirilen oranlardan biraz daha yüksek bir sonuç elde edilmiştir. Bu durum array CGH planlanan olguların rastgele seçilmemiş olması ve ayrıntılı bir incelemeden geçirilerek çalışmaya alınmış olması ile açıklanabilir. Tek gen mutasyonlarına bağlı oluşan sendromların düşünüldüğü hastaların dikkatli biçimde elenmesi ve submikroskopik yeniden düzenlenimlerin olduğu tahmin edilen olgularda array CGH uygulanması tanı oranını yükseltmiştir.

Bu tür çalışmalarda hasta ile birlikte anne ve babanın da array analizlerinin yapılarak, bulunan kopya sayısı değişikliklerinin daha fazla bilgi verici olması ve yanlış pozitifliğin ortadan kaldırılması mümkün olabilmektedir. Ancak yaptığımız bu araştırma retrospektif olup, rutin kapsamında yapılmış değerlendirmelerin sonuçlarını içermektedir ve söz konusu analizlerde geri ödeme kurumuna sadece olgular fatura edilebildiği için, bu olgulardan hiç birine anne-baba çalışması yapılamamıştır.

Olguların sonuçları değerlendirildiğinde birçoğunda tekrarlayan bölgelerde kopya sayısı değişiklikleri olduğu saptanmıştır. Benign olarak değerlendirilen bu değişiklikler;

- 8. kromozomun kısa kolunun 23.1 bant bölgesinde görülen kayıp, 12 olguda
- 14. kromozomun uzun kolunun 32.33 bant bölgesinde görülen kazanç, 18 olguda
- 10. kromozomun uzun kolunun 11.22 bant bölgesinde görülen kayıp, 5 olguda saptanmıştır.

Adı geçen bölgelerdeki kayıp ve kazançların genellikle birbirine yakın veya aynı boyutlarda olduğu gözlenmiştir. Olgularda saptanan 8p23.1'de bulunan kayıp ve 14q32.33'de bulunan kazancın yaklaşık 0,8 Mb büyüklüğünde olduğu saptanmıştır. Kromozom 10q11.22 bölgesindeki kopya sayısı değişikliğinin boyutu ise görüldüğü her bir olguda değişiklik göstermektedir.

Mikroarray sistemleri ile yapılan çalışmalarda farklı boyutlarda birçok kopya sayısı değişikliği tespit edilebilmektedir. Elde edilen verilerin doğru analiz edilerek, hastaların klinik bulgularına sebep olan değişikliklerin saptanmasında zorluklar yaşanmaktadır. Bu sebeple kopya sayısı değişikliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmak üzere 300 kb sınırı getirilmiştir (66).

Mikroarray teknolojileri, klinik ön tanısı konulmuş olguların kesin moleküler tanıları tespit etmekle beraber, klinik tanısı saptanamamış olgularda kromozomal değişiklikleri tespit edebilmesi ile genotip-fenotip yaklaşımını da getirmiştir (67). Bilinen sendromlara ait spesifik bulguları belirgin olarak taşımayan ya da atipik bulgular içeren vakalarda tanı gecikebilmekte, farklı ön tanımlarla hastalar yıllarca takip edilebilmektedir. Mikroarray sistemleri, başlıca bulguları arasında entelektüel yetersizlik olan, kopya sayısı değişikliklerinin neden olduğu bir çok hastalığa genotipten fenotipe giderek tanı koymayı sağlamıştır. Bizim çalışmamızda da, klinik olarak kesin tanı konulamamış üç olguda (Olgu 2, Olgu 4, Olgu 6) array CGH yapılması planlanmıştır. Analiz sonuçları ile Olgu 2’de Feingold Sendromu, Olgu 4’te Williams Sendromu ve Olgu 6’da 1p36 delesyon sendromu olduğu görülmüştür. Moleküler karyotipleme yöntemleri, bu bilinen kromozomal anomalileri tanımda çoğu sitogenetik yöntemi geride bıraktığı gibi, submikroskopik mikrolelesyon/duplikasyonları tespit ederek yeni mikrolelesyon ve mikroduplikasyon sendromlarının keşfine de olanak sağlamıştır. Bu sayede konu ile ilgili geniş kapsamlı çalışmalar devam ettikçe sebebi bilinmeyen entelektüel yetersizlik olgularının etyolojik nedenlerini aydınlatılabilecektir ve yaptığımız çalışma da bu görüşü desteklemektedir. .

Mikroarray sistemleri ile araştırılan entelektüel yetersizlik ve ilişkili hastalıkların bulunduğu olgularda bazı bölgelerdeki CNV kayıp ve kazançlarına daha sık rastlanmaktadır (68). Tablo 15’te entelektüel yetersizlik ile ilişkili saptanmış olan kopya sayısı değişiklikleri listelenmiştir.

Tablo 15: Entelektüel yetersizlik ile ilişkili kopya sayısı değişiklikleri

| <b>Kromozom Bölgesi</b> | <b>Hastalık ile İlişkili Delesyon</b>                        | <b>Hastalık ile İlişkili Duplikasyon</b>                                          |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 1q21.1                  | Entelektüel yetersizlik, şizofreni, çoklu konjenital anomali | Entelektüel yetersizlik, otizm                                                    |
| 3q29                    | Entelektüel yetersizlik, şizofreni                           | Entelektüel yetersizlik                                                           |
| 10q22-q23               | Entelektüel yetersizlik                                      | -                                                                                 |
| 15q11.2                 | Entelektüel yetersizlik, şizofreni, epilepsi                 | -                                                                                 |
| 15q13.3                 | Entelektüel yetersizlik                                      | -                                                                                 |
| 15q24                   | Entelektüel yetersizlik, otizm                               | -                                                                                 |
| 16p11.2                 | Entelektüel yetersizlik, otizm, obezite                      | Şizofreni                                                                         |
| 16p12                   | Entelektüel yetersizlik                                      | -                                                                                 |
| 16p13.11                | Entelektüel yetersizlik, epilepsi, otizm, şizofreni          | Entelektüel yetersizlik, otizm, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu sendromu |
| 17q12                   | Entelektüel yetersizlik, otizm, şizofreni                    | -                                                                                 |
| 17q21.3                 | Entelektüel yetersizlik                                      | -                                                                                 |

Tablo kaynak 2 ve 68'den yararlanılarak hazırlanmıştır.

Bulunan kopya sayısı değişikliklerinin klinik olarak bir öneminin olup olmadığı ayrıntılı şekilde araştırılmalı ve yorumlanmalıdır. İnsan genomunda % 12 oranında CNV bulunmaktadır. CNV'ler protein kodlayan bir gen olup, fenotipe etki

etmelerine göre benign ve patojenik olarak ikiye ayrılmaktadır (69). Çalışmanın ‘Genel Bilgiler’ kısmında da bu konuya değinilmiş olup, benign olarak adlandırılan CNV’lerin internet üzerinde bulunan genomik varyasyon veri tabanlarından (DECIPHERv9.4, Ensemble, Database of Genomic Variants ve ECARUCA) araştırılması gerekmektedir. Tespit edilen CNV’lerin değerlendirilmesi yine aynı başlık altındaki Şekil 2’de şematize edilerek özetlenmiştir.

Olgu 1’de 14 ve 22. kromozomlara ait kazanç ve 2. kromozoma ait kayıp bölgeleri tespit edilmiştir. Kromozom 14q32.33’deki kazanç bölgesi *NCRNA00226*, *NCRNA00221* ve *ADAM6* genlerini içermekte olup, daha önce bahsedildiği gibi; çalışmamızda bulunan bir çok olguda adı geçen bölgede kazanç olduğu görülmüş ve yanlış pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kromozom 22q11.22 bölgesindeki kazanç sadece *MIR650* genini içermektedir. *MIR650* gibi mikroRNA’lar küçük kodlama yapmayan, düzenleyici RNA’lardır (63). Söz konusu değişiklik olgunun kliniği ile ilişkilendirilmemiştir.

Kromozom 2q37.3’deki kayıp bölgesi ise yaklaşık 150 kb boyutlarındadır ve bilinen bir gen içermemektedir. Literatürde bildirilen 2q37 Delesyon Sendromu (Brakidaktili-Mental retardasyon Sendromu-BDMR) bir contiguous gen sendromu olup, 2q37.3 kromozomal bölgesinde bulunan *HDAC4* geni hastalığın kliniğinden sorumlu aday gen olarak gösterilmektedir (70). Wheeler ve arkadaşları tarafından 2014 yılında yapılan çalışmada ise *HDAC4* geninin bir kopyasının kaybının entelektüel yetersizliğe sebep olmadığı kanıtlanmıştır. Söz konusu çalışmada bir anne ve iki oğlunda 887 kb boyutunda kromozom 2q37.3’de heterozigot delesyon tanımlanmıştır. Bu bölge *HDAC4* geninin kodlanan bölgesini, 2 kodlanmayan RNA dizisini ve 4 mikroRNA’yı içermektedir. Olgulardan hiç birinde entelektüel yetersizlik bulunmamakla birlikte, anne ve büyük oğlunda tip E brakidaktili olduğu bildirilmiştir.

Bu sonuçlar ile Wheeler ve arkadaşları tarafından *HDAC4* geninin BDMR'ye sebep olabileceği fakat entelektüel yetersizlikten sorumlu olmadığı öne sürülmüştür (71). Tüm bu bilgiler ışığında 2q37.3 kromozomal bölgesindeki kayıp sonucu oluşan entelektüel yetersizlik durumuna sebep olan kritik genin henüz kesin olarak tanımlanamadığı görülmektedir. Bizim olgumuza ait kromozom 2q37.3'de bulunan 150 kb büyüklüğündeki kayıp bölgesi bilinen bir gen içermemesine rağmen, hastada görülen entelektüel yetersizliğin, bu bölge ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak mikroarray sistemleri kliniği ve kalıtımı bilinen genetik sendromlarda, hastalıktan sorumlu genin lokusunun tespitini sağlayabilecek iyi bir yöntem olmakla birlikte, bazı hastalıklar ve klinik bulgular için aday genleri de tespit edebilen bir yöntemdir.

Olgu 2'de saptanan 2p24.3-23.3 lokuslarındaki yaklaşık 10 Mb büyüklüğündeki delesyon bölgesi, olguda saptanmış olan üç adet kayıp bölgesinin en büyüğüdür. Bu bölgede bulunan *MYCN* geni, MYC ailesinin protein kodlayan bir üyesidir. Genin amplifikasyonu nöroblastoma başta olmak üzere bir çok onkojenik tümör ile ilişkilendirilmiştir (72). Germline mutasyonu ve delesyonunun ise Feingold Sendromu'na neden olduğu bilinmektedir (63). Sendroma neden olan mutasyonların da kopya sayısı kaybı yaparak hastalık fenotipini ortaya çıkardığı bildirilmiştir (73). Olgu 2'de görülen dismorfik bulgular (rölatif mikrosefali, kısa palpebral aralık, epikantus, el baş parmağının uzun ve geriden yerleşimli olması, klinodaktili) prenatal dönem gelişme geriliği, duodenal atrezi, ventriküler septal defekt (VSD) ve sol böbreğin agenezik olması Feingold Sendromu'nda görülen bulgular arasındadır (74).

DECIPHERv94 veri tabanında yapılan incelemelerde Olgu 2 ile benzer bölgelerde delesyon bulunan olgular olduğu görülmüştür. Veritabanında kayıtlı 290876 numaralı olguda 6.32 kb büyüklüğünde küçük bir kayıp bulunmakta olup,

sadece *MYCN* genini içermektedir. Fenotipte açığa çıkan bulguları ise; dolikosefali, mikrosefali, epikantus, basık burun köprüsü, parmak anomalileri ve konuşmada gecikme olup olgumuz ile benzerlik göstermektedir. Aynı veritabanındaki 270712 numaralı intrauterin gelişme geriliği, ılımlı postnatal gelişme geriliği, mikrosefali ve kalp defekti bulunan olguda yaklaşık 5 Mb büyüklüğünde delesyon bulunmakta olup, kayıp bölgesi *MYCN* genini içermemektedir. Bu olgu ile 2. Olgumuzdaki ortak delesyona uğrayan genler; *VSNL1*, *SMC6*, *GEN1*, *MSGN1*, *KCNS3*, *OSR1*, *MATN3*, *PUM2*, *HS1BP3*, *GDF7*, *APOB*, *RDH14*, *NT5C1B*, *TTC32*, *WDR35*, *LAPTM4A*, *RHOB*, *C2orf43* 'tür. Bu bulguların Olgu 2'de de görülmesi, fenotipten sorumlu genin sadece *MYCN* olmadığını işaret etmektedir. 270712 numaralı olguda kayıp bölgesinde bulunan tüm genler tarafımızdan tek tek araştırılmış ve içlerinden bir kısmının bazı hastalıklar ile ilişkilendirilmiş oldukları görülmüştür. Fakat adı geçen genlerin hiç birinde 270712 numaralı olgu ve/veya Olgu 2'nin kliniğine benzer bir fenotipten söz edilmemektedir ve klinik bulgulardan sorumlu bir aday gen tanımlanamamıştır.

Veritabanında kayıtlı bu iki olgu ile Olgu 2'nin karşılaştırılması Tablo 16'da gösterilmektedir.

Tablo 16 : Olgu 2 ve DECIPHERv94 veritabanında bulunan 290876, 270712 numaralı olguların klinik bulguları ve kayıba uğrayan ortak genler

|               | Lokasyon          | Delesyon bölgesindeki genler                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Klinik bulgular                                                                                                                                                                                       |
|---------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>OLGU 2</b> | 13664684-24173207 | <i>NBAS</i> , <i>DDX1</i> , <i>MYCNOS</i> , <i>MYCN</i> , <i>VSNL1</i> , <i>SMC6</i> , <i>GEN1</i> , <i>MSGN1</i> , <i>KCNS3</i> , <i>OSR1</i> , <i>MATN3</i> , <i>SDC1</i> , <i>PUM2</i> , <i>HS1BP3</i> , <i>GDF7</i> , <i>APOB</i> , <i>RDH14</i> , <i>NT5C1B</i> , <i>TTC32</i> , <i>WDR35</i> , <i>LAPTM4A</i> , <i>RHOB</i> , <i>C2orf43</i> , <i>FLJ12334</i> , <i>KLHL29</i> , <i>ATAD2B</i> , <i>UBXN2A</i> , <i>FAM84A</i> , <i>FAM49A</i> , <i>RAD51AP2</i> | Rölatif mikrosefali, kısa palpebral aralık, epikantus, el baş parmağının uzun ve geriden yerleşimli olması, klinodaktili, prenatal dönem gelişme geriliği, duodenal atrezi, VSD, sol böbrek agenezisi |

|               |                       |                                                                                                                                                                      |                                                                                                                    |
|---------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>290876</b> | 16080720-<br>16087043 | <i>MYCN</i>                                                                                                                                                          | Dolikosefali,<br>mikrosefali, epikantus,<br>basık burun köprüsü,<br>parmaklarda anormallik<br>ve konuşmada gecikme |
| <b>270712</b> | 18037765-<br>23062932 | <i>VSNL1, SMC6, GEN1, MSGN1,<br/>KCNS3, OSR1, MATN3, SDC1,<br/>PUM2, HS1BP3, GDF7, APOB,<br/>RDH14, NT5C1B, TTC32,<br/>WDR35, LAPTM4A, RHOB,<br/>C2orf43, TDRD15</i> | İnterauterin gelişme<br>geriliği, ılımlı postnatal<br>gelişme geriliği,<br>mikrosefali ve kalp<br>defekti          |

Olgularda ortak olarak kayıba uğrayan genler aynı renkte gösterilmiştir.

Olgu 2’de saptanan bir diğer kayıp bölgesi kromozom 2p22.1’de bulunmaktadır ve yaklaşık 1,5 Mb büyüklüğündedir. *SOS1, THUMPD2, HNRPLL, GALM, SRSF7, GEMIN6, DHX57, MORN2, ARHGEF33, LOC375196, CDKL4, MAP4K3, LOC728730* ve *TMEM178* genleri adı geçen bölgede delesyona uğrayan genlerdir. DECIPHERv94 veritabanındaki 249901 numaralı olgunun delesyon bölgesi olgumuzdaki delesyon bölgesini kapsamaktadır ve her ikisinde de entelektüel yetersizlik ve mikrosefali gibi ortak klinik bulguları vardır. Kayıp bölgesinde bulunan genler eksprese oldukları yerler, sorumlu oldukları fenotip açısından araştırıldıklarında, klinikten sorumlu olabilecek bir aday gen tespit edilememiştir.

Ayrıca bu genlerden biri olan *SOS1*’in missense mutasyonu sonucu Noonan Sendromu ortaya çıkmaktadır. Fakat Olgu 2’de Noonan Sendromu’na benzer bir fenotip görülmemektedir.

Olguda saptanan diğer kromozomal değişiklik 6p24.2-p24.1 lokusundadır. Delesyon bölgesi 1,6 Mb büyüklüğünde olup *NEDD9, HIVEP1, EDN1, TMEM170B, C6orf105, PHACTR1* genlerini içermektedir. Aynı veritabanında kayıtlı olan mikrosefali ve konuşma gecikmesi bulunan 308445 numaralı olgu ile ortak olarak delesyona uğramış genler *EDN1, HIVEP1* ve *PHACTR1*’dir. Yine her iki olgudaki

genler incelenmiş olup, 2p22.1 ve 6p24.2-p24.1 lokuslarındaki değişimlerin de hastanın kliniğinde etkili olmuş olabileceği düşünülmekle beraber kesin bir gen bölgesi saptanamamıştır.

Sonuç olarak Olgu 2, genotipik ve fenotipik özellikleri ile birlikte Feingold Sendromu tanısını almıştır. Bu olgu moleküler karyotipleme sistemlerinin getirdiği genotip-fenotip korelasyonunun kurulması ile tanıya ulaşılmasına iyi bir örnektir.

Olgu 3'te saptanan 7 adet kazanç bölgesinden en büyüğü olan 13q14.3-q21.1 lokusu yaklaşık 6 Mb büyüklüğündedir. Veri tabanındaki 259961 numaralı hasta ile davranış bozuklukları, tekrarlayıcı hareketler ve konuşmada gecikme benzer klinik bulgulardır. Kazanç bölgesinin örtüştüğü kısımda bulunan *PCDH17*, *PRR20A*, *PRR20B*, *PRR20C*, *PRR20D*, *PRR20E* genleri ortaktır. *PCDH17* geni bir nöronal hücre adezyon molekülünü kodlamakta olup, frontal ve anterior temporal korteks, talamus ve ventromedial striatal nöroepitelyumdan yüksek seviyelerde eksprese olmaktadır. Yapılan çalışmalarda genin ekspresyon değişikliğinin dil ve konuşma ile ilgili bozukluklara sebep olabileceği saptanmış ve ayrıca şizofreni ile de ilişkilendirilmiştir (75). *PRR20* genleri prolinden zengin proteinleri kodlamakta olup herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiştir (64). Sonuç olarak Olgu 3'te görülen konuşma bozukluğunun *PCDH17* geninde meydana gelen kopya sayısı değişikliği ile ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konu ile ilgili yayınlanmış çok sayıda çalışma olmaması sebebiyle olgumuz literatüre katkı sağlayabilecektir.

Olguda saptanan ikinci büyük kazanç bölgesi kromozom 22q13.2 lokusundadır. Bu bölge ile kazanç bölgesi kısmen örtüşen veritabanındaki 251335, 250383, 248262 numaralı olgularda; entelektüel yetersizlik, otizm ve konuşma bozukluğu gibi olgumuz ile benzer klinik bulgular tanımlanmıştır. Fakat bu kazanç

bölgelerindeki genler incelendiğinde olgularda ortaya çıkan fenotipe neden olabilecek bir aday gen tanımlanamamıştır.

Saptanan bir diğer kromozomal değişiklik 10q21.1 kromozomal bölgesindeki kazançtır ve bu lokusta *PCDH15* geni bulunmaktadır. *PCDH15* geninin retina ve kohleadan eksprese olduğu bildirilmiştir (76). Genin mutasyonunun Usher Sendromu Tip 1F'ye sebep olduğu bilinmektedir (77). Fakat amplifikasyonu sonucunda ortaya çıkacak fenotip ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Olgu 3'te saptanan diğer amplifikasyon bölgeleri ise herhangi bir hastalık ile ilişkilendirilememiştir. Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde olgunun klinik bulgularından, en büyük kazanç bölgesinde bulunan *PCDH17* geninin sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Olgu 4'te saptanan kromozom 7q11.23 bölgesindeki kayıp 1,3 Mb büyüklüğündedir. Bu bölgenin hemizigot delesyonu çoklu sistem hastalığı olan Williams-Beuren sendromuna yol açmaktadır. Williams-Beuren sendromu 26-28 gen içeren 1,5-1,8 milyon bazlık bir kromozomal bölgenin kaybı sonucu oluşan ardışık (contiguous) gen sendromudur (78). Hastalıktaki kardiyovasküler patolojilerden sorumlu olan gen *ELN*'dir ve bu genin delesyonu Williams sendromu tanısı alan olguların %96'sında saptanmıştır (79).

Sendromdan sorumlu olan genler ele alındığında genotip-fenotip korelasyonu çalışmalarında sorumlu olduğu klinik bulgu en net şekilde açıklanmış olan tek gen *ELN*'dir. Ayrıca sendroma ait diğer fenotipik bulgulardan hangi genlerin sorumlu olduğu ile ilgili çalışmalar da vardır. Entelektüel yetersizlik, bilişsel ve davranışsal bozukluklardan *LIMK1*, *CLIP2*, TFII-I transkripsiyon ailesi üyeleri olan *GTF2IRD1*, *GTF2I* genlerinin sorumlu olduğu düşünülmektedir (80-82). Vandeweyer ve

arkadaşları tarafından yapılan çalışmada karşıt görüş olarak CLIP2 geninin bilişsel fonksiyonlardan sorumlu kritik bir gen olmadığı iddia edilmiştir. Bu görüşü, sadece CLIP2 geninde heterozigot delesyon bulunan sağlıklı ikiz kardeşleri göstererek ileri sürmüşlerdir (83). BAZ1B geninin bir kopyasının kaybının ise hiperkalsemiye yol açabileceği ile ilgili ip uçları yapılan çalışmalarda elde edilmiştir (84). Ferrero ve arkadaşları, hafif dismorfik yüz bulguları olan, hafif formda Williams Sendrom'lu bir erkek çocukta yaptığı analizler sonucunda GTF2IRD1 ve GTF2I genlerini içermeyen bir delesyon saptamışlardır. Bu nedenle ilgili genlerin sendroma özgü dismorfik yüz bulgularından sorumlu olabileceğini bildirmişlerdir (85).

Bizim olgumuzda sendroma sebep olan kritik gen bölgesi tamamen delesyona uğramıştır. Hasta uzun süre çeşitli merkezlerde ağır mental yetersizlik tanısı ile takip edilmişti. Bunun yanısıra sendroma özgü küçük upturned burun, uzun filtrum gibi karakteristik yüz özellikleri yerine yüksek burun köprüsü, belirgin columella, kısa filtrum gibi klinik bulgular vardı. Ayrıca yine sendromun karakterisitik bulgularından olan kalp anomalileri ve hiperkalsemi öyküsü de bulunmamaktaydı ancak Willams sendromlu olgularda nadir olarak tanımlanmış skolyoz bulunmaktaydı. Kritik gen bölgesinin tamamının delesyona uğraması nedeniyle fenotipik bulgulardan sorumlu genler ile ilgili genotip-fenotip ilişkilendirmesi yapılamamıştır. Fakat atipik bulgulara sahip olan olgu, moleküler karyotipleme sistemleri ile tanıya gidilen olgulara bir örnek oluşturmaktadır.

Olgu 4'te tespit edilen, kromozom 8p23.1'deki kayıp ve kromozom 14q32.33'deki kazanç bölgesinin ise daha önce bahsedilmiş olduğu gibi benign bir değişiklik olduğu düşünülmüştür.

Moleküler karyotipleme çalışmaları sonucunda Olgu 5'te 14 ve 22. kromozomlara ait kayıp bölgeleri tespit edilmiştir. Kromozom 14q11.2'de bulunan 1

Mb boyutundaki delesyon bölgesi *CHD8*, *RAB2B*, *METTL3*, *SALL2*, *TOX4*, *OR10G3*, *OR10G2*, *OR4E2* genlerini içermektedir. Bu sonuç ile olguda 14q11.2 mikrolelesyon sendromu tanısına varılmıştır.

Terrone ve arkadaşlarının, 21 yaşında entelektüel yetersizliği, otizm bulguları, dismorfik yüz özellikleri ve ağır obezitenin görüldüğü kadın olguda yaptığı array CGH analizlerinde kromozom 14q11.2 bölgesinde kayıp saptanmıştır. Büyüklüğü 2,8 Mb olan delesyon bilinen 47 gen içermektedir. Bu genlerden en önemlileri *CHD8* ve *MMP14*'tür. *CHD8* bir kromodomain helikaz DNA bağlayıcı protein olup, otizm spektrumu hastalıkları ile ilişkilendirilmiştir. *MMP14* ise bir matriks metalloproteinazı olup obezite ve tip 2 diyabet ile bağlantısı vardır. Ayrıca bu çalışmada sunulan olgudan yola çıkarak, 14q11.2 mikrolelesyonunun Wolf Hirschhorn Sendromu (WHS) ile fenotipik özelliklerinin çok benzediği iddia edilmiştir (86).

Bu fenotipik özellikler; hipertelorizm, kısa burun, basık burun köprüsü, uzun filtrum, belirgin üst dudak ve kulak anomalileridir. Fenotipten, 35 kb büyüklüğünde *CHD8* ve *SUPT16H* genlerini içeren bir minimal kritik delesyon bölgesi sorumludur (87). WHS ise bir ardışık (contiguous) gen sendromu olup kromozom 4p16.3'de kayıp sonucu meydana gelir. Fenotipik özellikleri arasında mikrosefali, ark şeklinde kaşlar, hipertelorizm, epikantus, 'yunan miğferi' görünümlü burun, aşağı dönük ağız köşeleri ve mikrognatı vardır (88).

Bizim olgumuz da fenotipik olarak nadir görülen bir hastalık olan 14q11.2 mikrolelesyon sendromunda görülen bulguları taşımaktadır. Terrone ve arkadaşlarının tanımladığı olgudan farklı olarak delesyon bölgesi daha küçük boyutta olup *MMP14* genini içermemektedir. Bu gen ile ilişkilendirdikleri obezite ve tip 2 diyabet de olgumuzda görülmemektedir. Sonuç olarak Olgu 5'te 14q11.2

mikrodelesyon sendromundan sorumlu minimal kritik bölgenin delesyonu gösterilerek hastaya tanı konulmuştur.

Olguda tanımlanan bir diğer kayıp bölgesi olan 11q13.4'te bulunan genler ile klinik bulgular arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Olgu 6'da yapılan mikroarray analizleri sonucunda iki adet kayıp ve bir adet kazanç bölgesi olduğu görülmüştür. Kayıp bölgelerinden ilki 5 Mb büyüklüğünde olup kromozom 1p36.33-p36.31 lokusları arasında bulunmaktadır. Elde edilen bu sonuç ile olguya 1p36 delesyon sendromu tanısı konulmuştur. 1p36 delesyon sendromu bir ardışık gen delesyon sendromu olup, entelektüel yetersizlik ile birlikte çoklu doğumsal anomalilerin görüldüğü bir bozukluktur (89). Boy kısalığı, mikrosefali, belirgin alın, derin yerleşimli gözler, orta yüz hipoplazisi, kulak anomalileri, işitme kaybı, hipotoni, epileptik nöbetler ve doğumsal kalp defektleri sendromda görülen klinik bulgulardandır (90).

Fenotipe neden olan genler incelendiğinde, Gazecka ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada delesyon bölgesinde bulunan *KCNAB2* geni sendromda görülen epileptik nöbetler için aday gen olarak gösterilmiştir. *GABRD* geni ise sendromdaki nöropsikiyatrik anormalliklerden sorumlu tutulmuştur (91).

Konu ile ilgili bir diğer çalışma Rosenfeld ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Çalışmaya dahil edilen 5 hastada, kromozom 1p36.33 bölgesinde, 200-823 kb boyutları arasında değişen delesyon saptanmıştır. Bu hastalarda birbiri ile örtüşen en küçük kromozomal bölge 174 kb olup, 5 gen içermektedir. Hastalar arasından epileptik nöbetlerin görüldüğü ikisinde *GABRD* geninin delesyonu tespit edilmiş olup diğer hastalarda görülmemiştir (92).

De Leeuw ve Houge ise *PRDM16* genini sendromda görülen kardiyomiyopati bulgusunun nedeni olarak göstermişlerdir (93).

Epileptik nöbetleri olan Olgu 6'da *GABRD* ve *KCNB2* gibi önemli genler delesyona uğramış olup, olgumuz bu genlerde daha önce yapılan çalışmaları desteklemektedir. Kayıp bölgesinde bulunan bir diğer gen *PRDM16* olup olgumuzda kardiyomiyopati bulgusu saptanmamıştır. Özgeçmişinde sadece PDA kapatılma öyküsü vardır. Bu yönüyle De Leeuw ve Houge (2014) tarafından yapılan çalışmayı destekleyici bir bulgu elde edilmemiştir.

Olguda görülen kromozom 14q32.33 bölgesindeki kazanç benign değişiklik olarak değerlendirilmiştir. Kromozom 11p12 lokusundaki kayıp bölgesi ise bilinen bir gen içermeyip klinik ile ilişkilendirilmemiştir.

Olgu 7'de yapılan moleküler karyotipleme çalışmaları sonucunda 3 adet kazanç bölgesi olduğu görülmüştür. Bunlardan en büyüğü 14q32.33 kromozomal bölgesinde olup herhangi bir klinik önem teşkil etmemektedir.

İkinci kazanç bölgesi kromozom Xp11.4'te görülmüş olup 543 kb büyüklüğündedir. DECIPHER veritabanında yapılan araştırmalarda, kazanç bölgeleri olgumuzda bulunan kazanç bölgesinin içinde yer alan iki olgu tespit edilmiştir. Veritabanındaki 289188 numaralı hastada saptanmış olan 514 kb büyüklüğündeki kazanç bölgesi sadece *ATP6AP2* genini içermektedir ve bu hastada klinik bulgu olarak absans nöbetleri tanımlanmıştır. Veritabanında bulunan bir diğer olgu tanımlanan tek bulgunun öğrenme güçlüğü olduğu 289211 numaralı hasta olup, 88 kb büyüklüğünde sadece *ATP6AP2* genini içeren bir kazanç bölgesine sahiptir. Olgu 7'de entelektüel yetersizlik ve epilepsi nedeniyle takip edilmiş olup, çekilen uyku EEG'sinde hızlı dalga yavaş diken paterni olduğu görülmüştür. Bu durum kayıp bölgesindeki ortak gen

olan *ATP6AP2* geninin, olgularda görülen entelektüel yetersizlik ve nöbetlerden sorumlu olabileceğini göstermektedir. İlgili gen bir ATPaz olan Adenozin triptofaz ile ilişkilendirilmiş bir proteini kodlamaktadır. ATPazlar enerji korunumu, sekonder aktif transport, hücre içi pH homeostazında görev almaktadırlar (64). Hedera ve arkadaşları entelektüel yetersizlik, gelişme geriliği, konuşma bozukluğu ve epilepsi bulunan 7 hastada *ATP6AP2* geninde mutasyon tanımlamışlardır (94). Gendeki mutasyona bağlı olarak ortaya çıkan bu hastalık 'X'e bağlı Mental Retardasyon, Hedera tip' (OMIM 300423) adını almıştır. Ardından Ramser ve arkadaşları aynı gende 'ekzonik splicing enhancer' bölgesinde bulunduğu varsayılan bir mutasyon tanımlamışlardır (95). Yaptığımız araştırmalarda bu konu ile ilgili başka bir yayına rastlamamış olmakla birlikte, olgumuz adı geçen geni içeren kazanç bölgesi bulunması sonucu ortaya çıkan fenotip nedeniyle daha önce yapılan bu iki çalışmayı destekleyici niteliktedir.

*ATP6AP2* geninin ilişkilendirildiği bir diğer hastalık ise X'e bağlı Parkinsonizm'dir. İlk olarak Poorkaj ve arkadaşları tarafından 2010 yılında, parkinsonizm ve spastisite bulguları bulunan bir ailede yapılan bağlantı analizlerinde kromozomal bölge (Xp11.2-q13.3) tanımlanmıştır (96). Ardından Korvatska ve arkadaşları tarafından 2013 yılında *ATP6AP2* geninde aşırı ekspresyon ile sonuçlanan bir transisyon saptamışlardır (97). Olgumuz şu an itibari ile parkinsonizm bulguları göstermemekte olup, bundan sonraki yaşamında bu açıdan takip edilmesi önerilmektedir.

Olgu 7'de görülen son kazanç bölgesi kromozom 22q11.2 lokusunda olup sadece *MIR650* genini içermektedir. Bu değişiklik klinik ile ilişkilendirilmemiştir.

Yapılan mikroarray analizleri sonucu Olgu 8'de 12q24.11-q24.33 lokusları arasında yaklaşık 23 Mb büyüklüğünde kazanç ve 10q26.3 lokusunda 2,3 Mb büyüklüğünde bir kayıp saptanmıştır. Kayıp bölgesinde 33 gen bulunmakla birlikte

bunlardan ikisi (*CALY* ve *DPYSL4*) genleri nöronal gelişim ile ilişkilendirilmiştir (98). Yatsenko ve arkadaşları tarafından 10q26 delesyonu bulunan, kayıp bölgesinin *CALY* genini de içerdiği bir olgu tanımlanmıştır. Olguda görülen klinik özellikler; entelektüel yetersizlik, mikrosefali ve kısa boy olup bizim olgumuz ile benzerlik göstermektedir (99).

Plaisancie ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan olguda ise 10q26.2-26.3 kromozomal bölgesinde *CALY* genini de içeren bir delesyon bulunmaktadır. Olguda hafif entelektüel yetersizlik, hiperaktivite, anksiyete bozukluğu tanımlanmıştır (100). Olgu 8’de gelişme geriliği görülmekle birlikte psikometrik değerlendirme yapabilmek için hastanın yaşının küçük olması nedeni ile entelektüel yetersizlik ile ilgili kesin sonuç elde edilememiştir. Buna rağmen *CALY* geninde delesyon olan yukarıda bahsedilen olgularda benzer klinik özellikler ve entelektüel yetersizlik olduğu görülmektedir.

Olgu 8’de tespit edilen bir diğer önemli değişiklik kromozom 12q23.3-q24.31 bölgesindeki duplikasyondur. Bouman ve arkadaşları tarafından 16 yaşında erkek bir olguda yapılan çalışmada kromozom 12q24.21-24.23 bölgesinin fenotipten sorumlu kritik bölge olabileceği düşünülmüştür (101). Olgunun klinik özellikleri arasında gelişim basamaklarında gerilik, konuşmada gecikme, gastrointestinal sistem bozuklukları, ark şeklinde kaşlar, hipertelorizm, geniş burun kökü tanımlanmış olup Olgu 8’deki bulgular ile benzerlik göstermektedir. Duplikasyon bölgesindeki fenotipten sorumlu olabileceği düşünülmüş olan *PTPN11*, *TBX5* ve *TBX3* genlerinin Olgu 8’de de duplike oldukları görülmüştür. *PTPN11* geninin duplikasyonunun Noonan Sendromu’na yol açabileceği bildirilmiş olmakla birlikte, Olgu 8 Noonan Sendromu özelliklerini taşımamaktadır. *TBX5* ekspresyon artışının ise konjenital kalp

defektleri ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (102). Olgu 8 de EKO'da ASD ve PDA olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak mikroarray bazlı sistemler; sitogenetik tanıyı mikroskoptan bilgisayara taşıyan, aynı anda genomda binlerce bölgeyi tarayıp dengesiz kromozomal değişimleri saptayan teknolojilerdir. Array tabanlı sistemler ile tüm genomun taranması başlangıçta araştırma amaçlı kullanılmaya başlanmış olup, günümüzde rutin tanı testleri arasındaki yerini almıştır. Böylece entelektüel yetersizlik ve/veya çoklu doğumsal anomalileri bulunan hastalarda daha hızlı bir şekilde tanı konulabilmekte, nedeni bilinmeyen entelektüel yetersizlik grubunu oluşturan olgu sayısı giderek azalmaktadır. Klinik ön tanısı konulmuş hastaların kesin moleküler tanısının belirlenebileceği gibi, klinik olarak tanı konulamayan hastalarda genotip-fenotip korelasyonu kurularak tanıya gidilebilmektedir. Ayrıca yeni mikrodelsyon/mikroduplikasyon sendromlarının keşfine, sebebi bilinmeyen genetik sendromlardan sorumlu genlerin tespitine olanak sağlamaktadır. Hastalığa sahip çocuklara kesin moleküler tanının konulması ile sağlıklı bir gebelik sahibi olmak isteyen aileler için, prenatal veya preimplantasyon genetik tanı olanağı doğmaktadır. Umuyoruz ki zamanla bu konuda yapılan çalışmaların sayısının artması ile insan genomunun karanlık kısımları aydınlatılabilecektir.

## 6. SONUÇ

Nedeni bilinmeyen entelektüel yetersizlik, dismorfik yüz bulguları ve\veya çoklu doğumsal anomalileri bulunan, konvansiyonel karyotip analizlerinde herhangi bir patoloji saptanmamış 30 hasta array-CGH yöntemi ile analiz edilmiş ve 8 hastada patoloji saptanmış, uygun bir algoritma izlenerek tanıya gidilmeye çalışılmıştır. Mikroarray teknolojilerinin bu grup hastanın tanısında hızlı ve kesin çözüm olduğu gösterilmiş ve bazı olgularda literatüre katkı sağlayacak sonuçlar elde edilmiştir.

Patolojik bulguların yanısıra birçok olguda ortak olarak görülen benign değişiklikler de tespit edilmiştir. Bu değişiklikler;

- 8p23.1 bant bölgesinde delesyon, 12 olguda
- 14q32.33 bant bölgesinde görülen duplikasyon, 18 olguda
- 10q11.22 bant bölgesinde delesyon, 5 olguda saptanmıştır.

Bu teknoloji, geniş bir etiyolojik spektrumu olan fakat nedeni bulunamamış entelektüel yetersizlik olgularının moleküler sitogenetik yönünün araştırılmasına, sebep olan yeni genlerin keşfine ve bununla birlikte mikrodelesyon\mikroduplikasyon sendromlarının tespitine de olanak sağlamaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. American Association on Intellectual and Developmental Disabilities. Intellectual Disability: Definition, Classification, and Systems of Supports. Eleventh Edition. 2010. Washington.
2. Heather C. Mefford, Mark L. Batshaw and Eric P. Hoffman. Genomics, Intellectual Disability and Autism. N Engl J Med 2012; 366:733-43.
3. Park et al. The clinical application of array CGH for the detection of chromosomal defects in 20,126 unselected newborns. Molecular Cytogenetics 2013; 6:21
4. De Vries BB, Winter R, Schinzel A, van Ravenswaaij-Arts C. Telomeres: a diagnosis at the end of the chromosomes. J Med Genet 2003; 40:385–98.
5. C Shaw-Smith, R Redon, L Rickman, M Rio, L Willatt, H Fiegler, H Firth, D Sanlaville, R Winter, L Colleaux, M Bobrow, N P Carter. Microarray based comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. J Med Genet 2004; 41:241–248.
6. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polsta A, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. Eur J Med Genet 2009; 52:161–69.
7. J Schoumans, C Ruivenkamp, E Holmberg, M Kyllerman, B-M Anderlid, M Nordenskjöld. Detection of chromosomal imbalances in children with idiopathic mental retardation by array based comparative genomic hybridisation (array-CGH). J Med Genet 2005; 42:699–705.

8. Plomin, Robert; Spinath, Frank M. Intelligence: Genetics, Genes, and Genomics. *Journal of Personality and Social Psychology* 2004; 86(1):112-129.
9. G Davies, A Tenesa, A Payton, J Yang, S E Harris, D Liewald, X Ke, S Le Hellard, A Christoforou, M Luciano, K McGhee, L Lopez, A J Gow, J Corley, P Redmond, H C Fox, P Haggarty, L J Whalley, G McNeill, M E Goddard, T Espeseth, A J Lundervold, I Reinvang, A Pickles, V M Steen, W Ollier, D J Porteous, M Horan, J M Starr, N Pendleton, P M Visscher and I J Deary. Genome-wide association studies establish that human intelligence is highly heritable and polygenic. *Molecular Psychiatry* 2011; 16:996-1005.
10. Jennifer K. Inlow , Linda L. Restifo. Molecular and Comparative Genetics of Mental Retardation. *Genetics* 2004; 166: 835–881.
11. Andreas Tzschach, Hans-Hilger Ropers. Genetics of Mental Retardation. *Dtsch Arztebl* 2007; 104(20): A 1400–5.
12. Lisenka E. L. M .Vissers, Bert B. A. de Vries, Joris A. Veltman. Genomic microarrays in mental retardation: from copy number variation to gene, from research to diagnosis. *J Med Genet* 2010; 47:289e297.
13. Derek A. Chapman, Keith G. Scott, Tina L. Stanton-Chapman. Public Health Approach to the Study of Mental Retardation. *American Journal on Mental Retardation* 2008; Vol. 113.
14. Siggberg L, Ala-Mello S, Jaakkola E, Kuusinen E, Schuit R, Kohlhase J, et al. Array CGH in molecular diagnosis of mental retardation—A study of 150 Finnish patients. *Am J Med Genet Part A* 2010; 152A: 1398–1410.
15. Bauters M, Esch H, Marynen P, Froyen G. X chromosome array-CGH for the identification of novel X-linked mental retardation genes. *Eur J Med Genet* 2005; 48: 263–75.

16. Foreman P. Education of students with an intellectual disability. 1st ed. United States of America. Information age Publishing; 2009.
17. Jamel Chelly, Malik Khelfaoui, Fiona Francis, Beldjord Cherif, Thierry Bienvenu. Genetics and pathophysiology of mental retardation. *European Journal of Human Genetics* 2006; 14:701–713.
18. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel III. Thompson & Thompson: *Tıbbi Genetik*. 6. Baskı, Günes Kitabevi, Ankara; 2005.
19. Aneuploidy. *Encyclopedia of Cancer* 2012, pp 178-184.
20. Delhanty J.D.A. Mechanisms of aneuploidy induction in human oogenesis and early embryogenesis. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111:237–244.
21. So I, Nagaoka, Terry J, Hassold, Patricia A, Hunt. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nature Reviews Genetics* 2012; 13:493-504.
22. Aniek Janssen, Marja van der Burg, Karoly Szuhai, Geert J. P. L. Kops, René H. Medema. Chromosome Segregation Errors as a Cause of DNA Damage and Structural Chromosome Aberrations. *Science* 30 September 2011; 333: 1895-1898.
23. Liesbeth Rooms, Edwin Reyniers, R. Frank Koo. Subtelomeric rearrangements in the mentally retarded: A comparison of detection methods. *Hum Mutat* 2005; 25:513–524.
24. Riethman HC, Xiang Z, Paul S, Morse E, Hu X-L, Flint J, et al. Integration of telomere sequences with the draft human genome sequence. *Nature* 2001; 409: 948–51.

25. Gopalrao V. N. Velagaleti, Sally S. Robinson, Bobby M. Rouse, Vijay S. Tonk, Lillian H. Lockhart. Subtelomeric rearrangements in idiopathic mental retardation. *The Indian Journal of Pediatrics* August 2005; 72:679-685.
26. Yue Luo<sup>1</sup>, Karen E. Hermetz<sup>1</sup>, Jodi M. Jackson<sup>1</sup>, Jennifer G. Mulle, Anne Dodd, Karen D. Tsuchiya, Blake C. Ballif, Lisa G. Shaffer, Jannine D. Cody, David H. Ledbetter, Christa L. Martin and M. Katharine Rudd. Diverse mutational mechanisms cause pathogenic subtelomeric rearrangements. *Human Molecular Genetics* 2011; 20:19.
27. Elektronik veritabanı: <http://www.omim.org>
28. Jozef Gecz, Chery Shoubbridge and Mark Corbett. The genetic landscape of intellectual disability arising from chromosome X. *Trends in Genetics* 2009; 25:7.
29. Karen Helene Ørstavik. X chromosome inactivation in clinical practice. *Human Genetics*. 2009; 126:363-373.
30. Kazuki Yamazawa, Tsutomu Ogata and Anne C. Ferguson-Smith. Uniparental disomy and human disease: An overview. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2010 153C:329–334.
31. Christopher Schroeder, Arif Buğlent Ekici, Ute Moog, Ute Grasshoff, Ulrike Mau-Holzmann, Marc Sturm, Vanessa Vosseler, Sven Poths, Gudrun Rappold, Angelika Riess, Olaf Riess, Andreas Dufke and Michael Bonin. Genome-wide UPD screening in patients with intellectual disability. *European Journal of Human Genetics* 2014; 22:1233–123.
32. Helen A.L. Tuppen, Emma L. Blakely, Douglass M. Turnbull, Robert W. Taylor. Mitochondrial DNA mutations and human disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 2010; 1797:113–128.

33. Eric A. Schon, Salvatore DiMauro and Michio Hirano. Human mitochondrial DNA: roles of inherited and somatic mutations. *Nature reviews genetics* 2012; volume 13.
34. Feinstein C, Reiss AL. Psychiatric disorder in mentally retarded children and adolescents: the challenges of meaningful diagnosis. *Child Adolesc Psychiatr Clin North Am*, 1996; 5: 827-52.
35. Hans van Bokhoven, Jamie M. Kramer. Disruption of the epigenetic code: An emerging mechanism in mental retardation. *Neurobiology of Disease* 2010; Volume 39, Issue 1.
36. Jamie M. Kramera, Hans van Bokhoven. Genetic and epigenetic defects in mental retardation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2009; Volume 41, Issue 1.
37. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. The 1000 Genomes Project Consortium. *Nature* 2012 vol. 49.
38. Edward S. Tobias, Michael Connor, Macolm Ferguson – Smith. *Tıbbi Genetiğin Esasları*. 6. Baskı 2013.
39. Santhosh Girirajan, Catarina D. Campbell and Evan E. Eichler. Human Copy Number Variation and Complex Genetic Disease. *Annu. Rev. Genet.* 2011; 45:203–26.
40. Heather C. Mefford, Gregory M. Cooper, Troy Zerr, et al. A method for rapid, targeted CNV genotyping identifies rare variants associated with neurocognitive disease. *Genome Res.* 2009; 19: 1579-1585.
41. Bert B.A. de Vries<sup>1</sup>, Rolph Pfundt<sup>1</sup>, Martijn Leisink. Diagnostic Genome Profiling in Mental Retardation. *AJHG* 2005; Volume 77, Issue 4.
42. Anita Rauch, Juliane Hoyer, Sabine Guth. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet Part A* 140A:2063–2074.

43. Lisa Edelmann and Kurt Hirschhorn. Clinical Utility of Array CGH for the Detection of Chromosomal Imbalances Associated with Mental Retardation and Multiple Congenital Anomalies. *The Year in Human and Medical Genetics* 2009; 1151: 157–166.
44. Pawel Stankiewicz and Arthur L Beaudet. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Current Opinion in Genetics & Development* 2007; 17:182–192.
45. Roland Hubaux, Victor D. Martinez, David Rowbotham, Wan L. Lam. Comparative Genomic Hybridization and Array Based CGH in Cancer. *Molecular Testing in Cancer* 2014; 27-37.
46. J B Ravnan, J H Tepperberg, P Papenhausen, A N Lamb, J Hedrick, D Eash, D H Ledbetter, C L Martin. 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; 43:478–489.
47. D. M. Christofolini, M. A. De Paula Ramos, L. D. Kulikowski, F. T. Da Silva Bellucco, S. I. N. Belangero, D. Brunoni, M. I. Melaragno. Subtelomeric rearrangements and copy number variations in people with intellectual disabilities. *JIDR* 2010; 54:938-942.
48. Carolyn D Hurst, Heike Fiegler, Philippa Carr, Sarah Williams, Nigel P Carter and Margaret A Knowles. High-resolution analysis of genomic copy number alterations in bladder cancer by microarray-based comparative genomic hybridization. *Oncogene* 2004; 23:2250–2263.
49. Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Dohner H, et al. Matrix-based comparative genomic hybridisation: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chrom Cancer* 1997; 20 (4): 399-407.

50. Gurdeep S. Sagoo, Adam S. Butterworth, Simon Sanderson, Charles Shaw-Smith, Julian P. T. Higgins and Hilary Burton. Array CGH in patients with learning disability (mental retardation) and congenital anomalies: updated systematic review and meta-analysis of 19 studies and 13,926 subjects. *Genet Med* 2009; 11(3):139–146.
51. Min YS, Choi JH, Lee SY, Yoo NC. Applications of DNA Microarray in Disease Diagnostics. *J. Microbiol. Biotechnol* 2009; 19 (7): 635–46.
52. Alkan C, Coe BP, Eichler EE. Genome structural variation discovery and genotyping. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 363–75.
53. Melanie Manning and Louanne Hudgins. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med.* 2010; 12(11):742–745.
54. Joanna Wiszniewska, Weimin Bi, Chad Shaw et. al. Combined array CGH plus SNP genome analyses in a single assay for optimized clinical testing. *European Journal of Human Genetics* 2014; 22:79–87.
55. Rauch A, Hoyer J, Guth S, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet* 2006; 140:2063–2074.
56. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet* 2010; 86:749–764.
57. Hochstenbach R, van Binsbergen E, Engelen J, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet* 2009; 52:161–169.
58. David A. Koolen, Rolph Pfundt, Nicole de Leeuw, Jayne Y. Hehir-Kwa, Willy M. Nillesen, Ineke Neefs, Ine Scheltinga, Erik Sistermans, Dominique

Smeets, Han G. Brunner, Ad Geurts van Kessel, Joris A. Veltman and Bert B.A. de Vries. Genomic Microarrays in Mental Retardation: A Practical Workflow for Diagnostic Applications. Hum Mutat 2009; 30:283–292.

59. Elektronik veritabanı: <http://www.agilent.com/en-us/library/usermanuals>
60. Elektronik veritabanı: <http://decipher.sanger.ac.uk>
61. Elektronik veritabanı: <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>
62. Elektronik veritabanı: <http://www.ensembl.org>
63. Elektronik veritabanı: <http://www.omim.org>
64. Elektronik veritabanı: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>
65. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. Nat Genet 2011; 838:43-46.
66. Molecular and Human Genetics, Baylor College of Medicine.
67. Bruno DL, Stark Z, Amor DJ, Burgess T, Butler K, Corrie S, et al. Extending the scope of diagnostic chromosome analysis: detection of single gene defects using high-resolution SNP microarrays. Hum Mutat. 2011; 32 (12): 1500-6.
68. Tamim H. Shaikh, Xiaowu Gai, Juan C. Perin, et al. High-resolution mapping and analysis of copy number variations in the human genome: A data resource for clinical and research applications. Genome Res. 2009; 19: 1682-1690.
69. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. Nature 2006; 444 (7118): 444-54.
70. Williams, S. R., Aldred, M. A., Der Kaloustian, V. M., Halal, F., Gowans, G., McLeod, D. R., Zondag, S., Toriello, H. V., Magenis, R. E., Elsea, S. H. Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation

syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *Am. J. Hum. Genet.* 2010; 87: 219-228.

71. Wheeler, P. G., Huang, D., Dai, Z. Haploinsufficiency of HDAC4 does not cause intellectual disability in all affected individuals. *Am. J. Med. Genet.* 2014; 164A: 1826-1829.
72. W. Shoji et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2015; 461: 501e506.
73. Hans van Bokhoven, Jacopo Celli, Jeroen van Reeuwijk, Tuula Rinne, Bob Glaudemans, Ellen van Beusekom, Paul Rieu, Ruth A Newbury-Ecob, Chin Chiang & Han G Brunner. MYCN haploinsufficiency is associated with reduced brain size and intestinal atresias in Feingold syndrome. *Nature Genetics* 2005; 37:465 - 467.
74. Bettina Blaumeiser, Barbara Oehl-Jaschkowitz, Wiktor Borozdin and Jürgen Kohlhasse. Feingold syndrome associated with two novel MYCN mutations in sporadic and familial cases including monozygotic twins. *Am J Med Genet Part A* 146A:2304–2307.
75. Abrahams, B. S., Tentler, D., Perederiy, J. V., Oldham, M. C., Coppola, G., Geschwind, D. H. Genome-wide analyses of human perisylvian cerebral cortical patterning. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2007; 104: 17849-17854.
76. Alagramam, K. N., Yuan, H., Kuehn, M. H., Murcia, C. L., Wayne, S., Srisailpathy, C. R. S., Lowry, R. B., Knaus, R., Van Laer, L., Bernier, F. P., Schwartz, S., Lee, C., Morton, C. C., Mullins, R. F., Ramesh, A., Van Camp, G., Hageman, G. S., Woychik, R. P., Smith, R. J. H. Mutations in the novel protocadherin PCDH15 cause Usher syndrome type 1F. *Hum. Molec. Genet.* 2001; 10: 1709-1718.
77. Ahmed, Z. M., Riazuddin, S., Ahmad, J., Bernstein, S. L., Guo, Y., Sabar, M. F., Sieving, P., Riazuddin, S., Griffith, A. J., Friedman, T. B., Belyantseva, I. A., Wilcox, E. R. PCDH15 is expressed in the neurosensory epithelium of the

eye and ear and mutant alleles are responsible for both USH1F and DFNB23. *Hum. Molec. Genet.* 2003; 12: 3215-3223.

78. Pober, B. R. Williams-Beuren syndrome. *New Eng. J. Med.* 2010; 362: 239-252.
79. M C Lowery, C A Morris, A Ewart, L J Brothman, X L Zhu, C O Leonard, J C Carey, M Keating, and A R Brothman. Strong correlation of elastin deletions, detected by FISH, with Williams syndrome: evaluation of 235 patients. *Am J Hum Genet.* 1995 Jul; 57(1): 49–53.
80. C. Schubert. The genomic basis of the Williams – Beuren syndrome. *Cell. Mol. Life Sci.* 2009; 66: 1178 – 1197.
81. Young, E. J., Lipina, T., Tam, E., Mandel, A., Clapcote, S. J., Bechard, A. R., Chambers, J., Mount, H. T., Fletcher, P. J., Roder, J. C. and Osborne, L. R. Reduced fear and aggression and altered serotonin metabolism in *Gtf2ird1*-targeted mice. *Genes Brain. Behav.* 2008; 7:224 – 234.
82. Merla, G., Howald, C., Henrichsen, C. N., Lyle, R., Wyss, C., Zobot, M. T., Antonarakis, S. E. and Reymond, A. Submicroscopic deletion in patients with Williams-Beuren syndrome influences expression levels of the nonhemizygous flanking genes. *Am. J. Hum. Genet.* 2006; 79:332 – 341.
83. Vandeweyer, G., Van der Aa, N., Reyniers, E., Kooy, R. F. The contribution of CLIP2 haploinsufficiency to the clinical manifestations of the Williams-Beuren syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2012; 90: 1071-1078.
84. Kitagawa, H., Fujiki, R., Yoshimura, K., Mezaki, Y., Uematsu, Y., Matsui, D., Ogawa, S., Unno, K., Okubo, M., Tokita, A., Nakagawa, T., Ito, T., Ishimi, Y., Nagasawa, H., Matsumoto, T., Yanagisawa, J. and Kato, S. The chromatin remodeling complex WINAC targets a nuclear receptor to promoters and is impaired in Williams syndrome. 2003; 113: 905 – 917.

85. Ferrero, G. B., Howald, C., Micale, L., Biamino, E., Augello, B., Fusco, C., Turturo, M. G., Forzano, S., Reymond, A., Merla, G. An atypical 7q11.23 deletion in a normal IQ Williams-Beuren syndrome patient. *Europ. J. Hum. Genet.* 2010; 18: 33-38.
86. Terrone G, Cappuccio G, Genesio R, Esposito A, Fiorentino V, Riccitelli M, Nitsch L, Brunetti-Pierri N, Giudice ED. A case of 14q11.2 microdeletion with autistic features, severe obesity and facial dysmorphisms suggestive of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am. J. Med. Genet* 2013; Part A 164A:190-193.
87. Farah Zahir , Helen V Firth, Agnes Baross, Allen D Delaney, Patrice Eydoux, William T Gibson, Sylvie Langlois, Howard Martin, Lionel Willatt, Marco A Marra, Jan M Friedman. Novel deletions of 14q11.2 associated with developmental delay, cognitive impairment and similar minor anomalies in three children. *J Med Genet* 2007; 44:556-561.
88. Agatino Battaglia, Tiziana Filippi, John C. Carey. Update on the clinical features and natural history of Wolf-Hirschhorn (4p-) syndrome: Experience with 87 patients and recommendations for routine health supervision. . *Am. J. Med. Genet.* 2008; Part C 148C:246-251.
89. Shapira, S. K., McCaskill, C., Northrup, H., Spikes, A. S., Elder, F. F. B., Sutton, V. R., Korenberg, J. R., Greenberg, F., Shaffer, L. G. Chromosome 1p36 deletions: the clinical phenotype and molecular characterization of a common newly delineated syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 1997; 61: 642-650.
90. Battaglia, A., Hoyme, H. E., Dallapiccola, B., Zackai, E., Hudgins, L., McDonald-McGinn, D., Bahi-Buisson, N., Romano, C., Williams, C. A., Brailey, L. L., Zuberi, S. M., Carey, J. C. Further delineation of deletion 1p36 syndrome in 60 patients: a recognizable phenotype and common cause of developmental delay and mental retardation. *Pediatrics* 2008; 121: 404-410.
91. Gajecka M, Mackay KL, Shaffer LG. Monosomy 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet* 2007; 145C:346-356.

92. Rosenfeld, J. A., Crolla, J. A., Tomkins, S., Bader, P., Morrow, B., Gorski, J., Troxell, R., Forster-Gibson, C., Cilliers, D., Hislop, R. G., Lamb, A., Torchia, B., Ballif, B. C., Shaffer, L. G. Refinement of causative genes in monosomy 1p36 through clinical and molecular cytogenetic characterization of small interstitial deletions. *Am. J. Med. Genet.* 2010; 152A: 1951-1959.
93. de Leeuw, N., Houge, G. Loss of PRDM16 is unlikely to cause cardiomyopathy in 1p36 deletion syndrome. (Letter) *Am. J. Hum. Genet.* 2014; 94: 153-154.
94. Hedera, P., Alvarado, D., Beydoun, A., Fink, J. K. Novel mental retardation-epilepsy syndrome linked to Xp21.1-p11.4. *Ann. Neurol.* 2002; 51: 45-50.
95. Ramser, J., Abidi, F. E., Burckle, C. A., Lenski, C., Toriello, H., Wen, G., Lubs, H. A., Engert, S., Stevenson, R. E., Meindl, A., Schwartz, C. E., Nguyen, G. A unique exonic splice enhancer mutation in a family with X-linked mental retardation and epilepsy points to a novel role of the renin receptor. *Hum. Molec. Genet.* 2005; 14: 1019-1027.
96. Poorkaj, P., Raskind, W. H., Leverenz, J. B., Matsushita, M., Zabetian, C. P., Samii, A., Kim, S., Gazi, N., Nutt, J. G., Wolff, J., Yearout, D., Greenup, J. L., Steinbart, E. J., Bird, T. D. A novel X-linked four-repeat tauopathy with parkinsonism and spasticity. *Mov. Disord.* 2010; 25: 1409-1417.
97. Korvatska, O., Strand, N. S., Berndt, J. D., Strovass, T., Chen, D.-H., Leverenz, J. B., Kiianitsa, K., Mata, I. F., Karakoc, E., Greenup, J. L., Bonkowski, E., Chuang, J., Moon, R. T., Eichler, E. E., Nickerson, D. A., Zabetian, C. P., Kraemer, B. C., Bird, T. D., Raskind, W. H. Altered splicing of ATP6AP2 causes X-linked parkinsonism with spasticity (XPDS). *Hum. Molec. Genet.* 2013; 22: 3259-3268.
98. Melita Irving, Helen Hanson, Peter Turnpenny, Carole Brewer, Caroline Mackie Ogilvie, Angela Davies, and Jonathan Berg. Deletion of the Distal Long Arm of Chromosome 10; Is There a Characteristic Phenotype? A Report of 15 De Novo and Familial Cases. *Am J Med Genet* 2003; 123A:153–163.

99. S.A. Yatsenko, M.C. Kruer, P.I. Bader, D. Corzo, J. Schuette, C.E. Keegan, B. Nowakowska, S. Peacock, W.W. Cai, D.A. Peiffer, K.L. Gunderson, Z. Ou, A.C. Chinault, S.W. Cheung, Identification of critical regions for clinical features of distal 10q deletion syndrome, *Clin. Genet.* 2009; 76: 54-62.
100. Plaisancié J, Bouneau L, Cances C, Garnier C, Benesteau J, Leonard S, Bourrouillou G, Calvas P, Vigouroux A, Julia S, Bieth E. Distal 10q monosomy: New evidence for a neurobehavioral condition? *Eur J MedGenet.* 2014 Jan;57(1):47-5.
101. A. Bouman, A. Schuitema, R. Pfundt, G. Zande, T. Kleefstra. Clinical delineation of a patient with trisomy 12q23q24. *Eur J MedGenet.* 2013; 56:463-469.
102. Shchelochkov OA, Patel A, Weissenberger GM, Chinault AC, Wiszniewska J, Fernandes PH, Eng C, Kukulich MK, Sutton VR. Duplication of chromosome band 12q24.11q24.23 results in apparent Noonan syndrome. *Am J Med Genet* 2008; 146A:1042–1048.

## 8. ÖZET

“Nedeni Açıklanmamış Entelektüel Yetersizliği olan ve/veya dismorfik hastalarda array -CGH yöntemi ile submikroskopik kromozomal değişikliklerin araştırılması”

Entelektüel yetersizlik ve eşlik eden doğumsal anomaliler toplum içerisinde sıklığı az olmakla birlikte nedenleri incelendiğinde oldukça geniş bir etyolojik spektruma sahiptir. Entelektüel yetersizlik, dismorfik yüz bulguları, çeşitli konjenital anomaliler gibi bozukluklara yol açan nedenler arasında kromozomal değişiklikler önemli bir yer tutmaktadır. Bu değişikliklerden 5 Mb'dan büyük olanları konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle tespit edilebilmekle beraber karyotip analizi normal bulunan hastalarda etyolojinin aydınlatılabilmesinde mikroarray sistemlerinin önemi oldukça büyüktür. Array tabanlı yöntemler ile bu grup hastaların % 12- 14 kadarına tanı konulabilmektedir. Yüksek çözünürlükte moleküler sitogenetik bir yöntem olan Array-CGH küçük boyutlu delesyon ve duplikasyonları saptayarak, nedeni tespit edilemeyen entelektüel yetersizlik olgularının etyolojisinin aydınlatılmasına ve sebep olan yeni genlerin keşfine olanak sağlamaktadır.

Bu çalışma ile, nedeni açıklanmamış entelektüel yetersizliği olan ve/veya dismorfik hastalarda, kromozom analizi normal olan 30 hasta Array CGH 8x60K ISCA yöntemi ile taranarak konvansiyonel yöntemler ile saptanamayan delesyon ve duplikasyonlar araştırılmış ve 8 hastada patoloji saptanarak bu sistemlerin tanı gücü doğrulanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Entelektüel yetersizlik, Array CGH, Moleküler sitogenetik yöntemler

## 9. SUMMARY

“Investigation of Submicroscopic Chromosomal Anomalies on Patients with Unexplained Intellectual Disabilities with Molecular Karyotyping”

Intellectual disabilities and concomitant congenital anomalies are rarely seen on general population, but have a large etiologic spectrum. Chromosomal abnormalities are one of the significant reasons of intellectual disabilities, dysmorphism and various congenital anomalies. Conventional cytogenetic techniques can only detect abnormalities greater than 5 Mb. Microarray systems are mostly used to identify the etiology in patients whose karyotype revealed as normal. Array based methods can be useful to detect anomalies smaller than 3 Mb to kilobase levels with a ratio of % 12-14. As a result, small interstitial deletions and duplications could be detected and new genes could be discovered with microarray techniques.

In this study, 30 patients with idiopathic mental retardation and/or congenital anomaly and normal detected chromosome analyses, had been investigated for small deletions or duplications with “Array CGH 8x60K ISCA” and the diagnostic yield of these microarray technologies has been confirmed with detection of 8 causative anomaly on a patient.

**Keywords:** Intellectual disabilities, Array-CGH, Molecular cytogenetic techniques

## 10. ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı : Hanife

Soyadı : SAAT

Doğum Tarihi ve Yeri: 25.05.1988, Ankara

Eğitimi:

2011-2016 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD'de Araş. Gör. Dr.

2005-2011 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

2001-2005 Ankara- Çubuk Anadolu Lisesi

1997-2001 Ankara- Yavuz Selim İlköğretim Okulu

1994-1997 Ankara- Atatürk İlköğretim Okulu

Yabancı Dili: İngilizce

### Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

- 1) H. Saat, Y. Soysal, S. Kurtgoz, M.A. Ergun and E.F. Perçin. A Patient With Partial Chromosome 12q Duplication And 10q Deletion. Genetic Counseling, Vol. 26, No 4, 2015, Pp 401-407.

### Ulusal bilimsel toplantılarda yapılan sözlü sunumlar:

- 1) Hanife Çoban, E. Ferda Perçin. A Family with LADD Syndrome. 6. Dysmorphology Days, 2013, Salt Galata İstanbul.
- 2) Hanife Çoban. Atipik özelliklere sahip Williams Sendromu olgusu. 3. Ankara Genetik Günleri, Başkent Üniversitesi Hastanesi, 2013.

### Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

- 1) Hanife Çoban, E. Ferda Perçin. Larsen Sendromu. 10. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi Bursa 19-23 Aralık 2012.

2) Hanife Çoban, E. Ferda Perçin. A Family with LADD Syndrome. 6. Dismorfoloji Günleri İstanbul 3-4 Mayıs 2013.

3) Hanife Çoban, E. Ferda Perçin. 10q Delesyonu ve 12q Duplikasyonu Bulunan Olgu. 11. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi. İstanbul 24-27 Eylül 2014.

**Katıldığı Kurslar:**

1)Yeni Nesil Dizilemede Veri Tabanları ve in sliko Araçlar Uygulamalı Kursu, İstanbul 12 Mayıs 2015.



## 11. EKLER



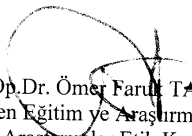
T.C.  
SAĞLIK BAKANLIĞI  
TÜRKİYE KAMU HASTANELERİ KURUMU  
Ankara İli Kamu Hastaneleri Birliği 2 Nolu Genel Sekreterliği  
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi Baştabipliği  
Klinik Araştırma Etik Kurulu

Sayı : 2012-KAEK-15/1057  
Konu: Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Etik Kurul Kararı

13.01.2016

**KEÇİÖREN EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMA  
ETİK KURULU**

“Nedeni Açıklanmamış Entelektüel Yetersizliği Olan Ve/Veya Dismorfik Hastalarda Array-CGH Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Değişikliklerin Araştırılması”adlı klinik araştırma değişikliği ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe,amaç,yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına ve kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığına arzına gerek olmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.

  
Op.Dr. Ömer Faruk TANNER  
Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı

---

Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  
Klinik Araştırmalar Etik Kurul  
Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad.  
Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA  
Web: [www.akeah.gov.tr](http://www.akeah.gov.tr)

# KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

|                                  |                                                                                                                                                             |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI            | Nedeni Açıklanmamış Entelektüel Yetersizliği Olan Ve/Veya Dismorfik Hastalarda Array-CGH Yöntemi İle Submikroskopik Kromozoma Değişikliklerin Araştırılması |
| VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU |                                                                                                                                                             |

|                      |                  |                                                                                      |
|----------------------|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| ETİK KURUL BİLGİLERİ | ETİK KURULUN ADI | Keçiören Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu 2012-KAEK-15 |
|                      | AÇIK ADRESİ:     | Pınarbaşı Mahallesi Sanatoryum Cad. Ardahan Sokak No:25 Keçiören / ANKARA            |
|                      | TELEFON          | 3569000/1117                                                                         |
|                      | FAKS             | 3569043                                                                              |
|                      | E-POSTA          | etikkurulkeah@gmail.com                                                              |

|                                  |                                                                                        |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|-------------------------------------|--------------|--------------------------|
| BAŞVURU BİLGİLERİ                | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI                                      | Arş. Gör. Dr. Hanife SAAT                                                      |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI                                      | Tıbbi Genetik                                                                  |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ                                    | Gazi Hastanesi Dekanlık Binası Tıbbi Genetik AD                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | VARSA İDARİ SORUMLU/YÜRÜTÜCÜ/UNVANI/ADI/SOYADI                                         |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | DESTEKLEYİCİ                                                                           |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için) |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ                                                       |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  | ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ                                                              | FAZ 1                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | FAZ 2                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | FAZ 3                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | FAZ 4                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | Gözetimsel ilaç çalışması                                                      | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | Tıbbi cihaz klinik araştırması                                                 | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları | <input type="checkbox"/>            |                          |        |                                     |              |                          |
|                                  |                                                                                        | İlaç dışı klinik araştırma                                                     | <input checked="" type="checkbox"/> | Uzmanlık Tezi            |        |                                     |              |                          |
| Diğer ise belirtiniz: Değişiklik |                                                                                        |                                                                                |                                     |                          |        |                                     |              |                          |
| ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER    | TEK MERKEZ                                                                             | <input checked="" type="checkbox"/>                                            | ÇOK MERKEZLİ                        | <input type="checkbox"/> | ULUSAL | <input checked="" type="checkbox"/> | ULUSLARARASI | <input type="checkbox"/> |

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Op. Dr. Ömer Faruk TANER  
İmza:

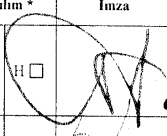
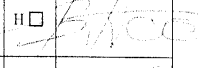
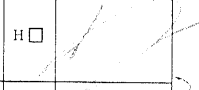
Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

|                                  |                                                                                                                                                              |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI            | Nedeni Açıklanmamış Entelektüel Yetersizliği Olan Ve/Veya Dismorfik Hastalarda Array-CGH Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Değişikliklerin Araştırılması |
| VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU |                                                                                                                                                              |

| DEĞERLENDİRİLEN BELGELER       | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Tarihi                              | Versiyon Numarası | Dili                                                                                                         |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                | ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                     |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                     |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | OLGU RAPOR FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                     |                   | Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/> |
|                                | ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                     |                   | Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>            |
| DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER | Belge Adı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                     |                   | Açıklama                                                                                                     |
|                                | SIGORTA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
|                                | ARAŞTIRMA BÜTÇESİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <input checked="" type="checkbox"/> |                   |                                                                                                              |
|                                | BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
|                                | İLAN                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
|                                | YILLIK BİLDİRİM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
|                                | SONUÇ RAPORU                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
|                                | GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | <input type="checkbox"/>            |                   |                                                                                                              |
| KARAR BİLGİLERİ                | Karar No:1057                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Tarih: 13.01.2016                   |                   |                                                                                                              |
|                                | Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerçekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir. |                                     |                   |                                                                                                              |

| KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU |                                                                                                        |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI      | İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu |
| BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: | Op.Dr.Ömer Faruk TANER                                                                                 |

| Unvanı/Adı/Soyadı                                | Uzmanlık Alanı                   | Kurumu                                 | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişki                                             |                                                       | Katılım *                                             |                                                       | İmza                                                                                  |
|--------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Op.Dr.Ömer Faruk TANER Bşk.                      | Plastik Ve Rekonstrüktif Cerrahi | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |  |
| Doç. Dr. Baran ACAR Bşk.Yardımcısı               | Kulak Burun Boğaz Hastalıkları   | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |  |
| Doç.Dr. Derun Taner ERTUĞRUL Bilgil. görevli üye | Endokrinoloji                    | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |  |
| Prof. Dr Ahmet ERGÜN                             | Fizyoloji                        | Ankara Üniv. Tıp Fakültesi             | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |  |

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Op. Dr. Ömer Faruk TANER  
İmza:

*Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.*

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

|                                  |                                                                                                                                                              |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI            | Nedeni Açıklanmamış Entelektüel Yetersizliği Olan Ve/Veya Dismorfik Hastalarda Array-CGH Yöntemi İle Submikroskopik Kromozomal Değişikliklerin Araştırılması |
| VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU |                                                                                                                                                              |

| Unvanı/Adı/Soyadı                  | Uzmanlık Alanı                          | Kurumu                                  | Cinsiyet                                                         | Araştırma ile ilişki                                             | Katılım *                                             | İmza |
|------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|------|
| Prof. Dr. Mehmet Ali ERGÜN         | Tıbbi Genetik                           | Gazi Ünv. Tıp Fakültesi                 | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | imza |
| Prof. Dr. Mustafa N. İLHAN         | Halk Sağlığı, İş Ve Meslek Hastalıkları | Gazi Ünv. Tıp Fakültesi                 | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Ecz. Dr. Işıl ÖZAKCA               | Farmakoloji (PhD)                       | Ankara Ünv.Ecz.Fakültesi                | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | imza |
| Doç. Dr. Nermin ÇAPAN              | Göğüs Hastalıkları                      | Atatürk Göğüs Hst. Ve Göğüs Cer. E.A.H. | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Op. Dr. Selim Şakir Erkinen GÜLHAN | Göğüs Cerrahisi                         | Atatürk Göğüs Hst. Ve Göğüs Cer.E.A.H.  | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç. Dr. Semih DEĞERLİ             | Anesteziyoloji ve Reanimasyon           | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Doç. Dr. Şamil HIZLI               | Çocuk Gastroenteroloji                  | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | imza |
| Doç.Dr.Selma UYSAL RAMADAN         | Radyodiagnostik                         | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  | E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | imza |
| Av. Abdullah Emin TEKİN            | Avukat                                  | Serbest                                 | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> |      |
| Necmettin TEKİN                    | Din Görevlisi                           | Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi  | E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> | E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/> | imza |

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı  
Unvanı/Adı/Soyadı: Op. Dr. Ömer Faruk TANER  
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.