

**ALİ GÖKGÖZ**

**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSTANBUL-2014**

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KONJENİTAL / İDİYOPATİK SKOLYOZLU  
HASTALARDA ARRAY TABANLI KARŞILAŞTIRMALI  
GENOM HİBRİDİZASYONU İLE TÜM GENOM ANALİZİ**

**ALİ GÖKGÖZ**

**DANIŞMAN  
DOÇ. DR. HAKAN ULUCAN**

**GENETİK ANABİLİM DALI  
GENETİK PROGRAMI**

**İSTANBUL-2014**

**TEZ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Genetik Yüksek Lisans Programında Ali GÖKGÖZ tarafından hazırlanan "Konjenital/İdiyopatik Skolyozlu Hastalarda Array Tabanlı Karşılaştırılmalı Genom Hibridizasyonu İle Tüm Genom Analizi" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

18 / 11 / 2014

Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1.Doç. Dr. Hakan ULUCAN (Cerr. Tıp Fak. Tıbbi Genetik Anabilim Dalı)	
2.Doç. Dr. Murat ULUDAĞ (Cerr. Tıp Fak. Fizik Tedavi ve Reh. A.D)	
3.Yard. Doç. Dr. Gülgün GÜVEN (Cerr. Tıp Fak. Tıbbi Genetik A. D.)	
4.	
5.	

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

ALİ GÖKGÖZ



## İTHAF

Fedakar anne ve babama ithaf ediyorum.

## TEŞEKKÜR

Tez danışmanlığımı üstlenen ve akademik çalışmalarımda desteğini esirgmeden her konuda gösterdiği anlayış ve paylaştığı bilgi birikimiyle yanımda olan saygıdeğer hocam Sn. Doç. Dr. Hakan Ulucan'a,

Yüksek Lisans eğitimime katkıları olan Sn.Prof.Dr. Mustafa Özen, Sn.Yrd. Doç.Dr. Gülgün S. Güven, Sn.Prof.Dr. Mehmet Seven, Sn.Uzm.Dr. Elif Fenercioğlu, örneklerin elde edilmesindeki katkılarından dolayı Sn.Yard.Doç.Dr. Tülay Tos'a

Bilimsel ve deneysel anlamda bilgilerini paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım, Esra GÜZEL, Ömer Faruk KARATAŞ, Betül YÜCETÜRK, İlknur SUER, Derya AKYÜZ, Dilek BAYRAKTAR ve Seda SALMAN'a,

Tıbbi Genetik Polikliniği asistanlarımız, Dr. Asuman-Erkan KOPARIR, Dr. Alper GEZDİRİCİ, Dr. Bahtiyar MAMMADOV, Dr. Emre KIRAT ve Dr. Buğrahan Düz'e

Çalışma arkadaşlarım Murat POLAT ve Nazlı BİLGE'ye, bölümümüz çalışanları Fatma ÖNER, Salih İSENÇ, ve Şenay SAYIN'a,

Ve tez çalışmamın laboratuvar aşamalarında destek olan, bütün bilgi birikimi ve becerisini kullanarak yardımcı olan sevgili dostum Uzm. Mol. Bio. Esra GÜZEL'e

Ve hayat boyu yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ali GÖKGÖZ

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 23608

## İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	x
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ .....	xi
ÖZET .....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Vertebral Kolonun Gelişimi ve Anatomisi .....	3
2.2. Skolyoz .....	7
2.2.1. Tanı .....	7
2.3. Epidemiyolojisi .....	9
2.4. Etyolojisi .....	10
2.5. Sınıflandırılması.....	11
2.5.1. Lokalizasyona göre sınıflandırılması .....	11
2.5.2. Etyolojiye göre sınıflandırma.....	11
2.5.2.1. Yapısal Skolyoz .....	12
2.5.2.2. Fonksiyonel Skolyoz.....	14
2.5.3. İdiyopatik Skolyoz .....	14
2.5.3.1. İnfantil idiyopatik skolyoz: .....	14
2.5.3.2. Jüvenil idiyopatik skolyoz: .....	15
2.5.3.3. Adölesan idiyopatik skolyoz: .....	15
2.5.4. Konjenital Skolyoz.....	15
2.5.5. Nöromusküler Skolyoz: .....	19
2.6. Array-CGH .....	19
2.6.1. Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon .....	19
2.6.2. Mikroarray .....	20

2.7. Mikroarray Çeşitleri .....	21
2.7.1. Nükleotid Mikroarrayleri .....	22
2.7.2. Ekspresyon arrayleri .....	22
2.7.3. Mutasyon/Polimorfizm arrayleri .....	22
2.7.4. MikroRNA arrayleri.....	22
2.7.5. Tekrar-Dizileme Arrayleri .....	22
2.7.6. Protein mikroarrayleri .....	23
2.7.7. Doku mikroarrayleri.....	23
2.7.8. Array-CGH.....	23
2.8. Mikroarray Tasarımı .....	24
2.8.1. Mikroarray Platformları .....	24
2.8.2. Prob hazırlanması ve işaretlenmesi .....	25
2.8.3. Array tasarımı .....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç .....	27
3.1.1. Örneklerin Eldesi .....	27
3.1.2. Gereç ve Cihazlar.....	27
3.1.2.1. Çalışmada Kullanılan Ekipman ve Sarf Malzemeleri .....	27
3.1.2.2. Solüsyonlar.....	28
3.1.2.3. Bilgisayar Programları .....	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Konjenital İdiyopatik Skolyoza Özgü Yüksek Rezolüsyonlu Array-CGH Tasarımı .....	29
3.2.2. Total DNA izolasyonu .....	41
3.2.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	42
3.3. Array-CGH Uygulama Protokolü .....	42
3.3.1. Örneklerin hazırlanması .....	42
3.3.1.1. Enzim Kesimi.....	43
3.3.1.2. İşaretleme .....	43
3.3.1.3. Saflaştırma.....	44
3.3.1.4. Hibridizasyon .....	45
3.3.1.5. Yıkama .....	45
3.3.2. Slaytların Taranması ve Sonuçların Değerlendirilmesi .....	46



4. BULGULAR.....	47
4.1. Hastaların Fenotipi.....	47
4.2. Array-CGH Bulguları .....	50
5. TARTIŞMA.....	61
KAYNAKLAR .....	68
ETİK KURUL KARARI .....	82
ÖZGEÇMİŞ .....	83

**TABLULAR LİSTESİ**

Tablo 2-1 Embriyogenez sürecinde iskelet sisteminin gelişiminde rol oynayan genler.	4
Tablo 2-2 Yapısal Skolyoz Sınıflandırması.....	13
Tablo 2-3 Konjenital ve idiyopatik skolyoz ile ilgili olarak aynı gen bölgesi içerisinde tanımlanmış aday genler .....	18
Tablo 3-1 KS/İS ve İskelet Displazileri ile ilişkilendirilen etyolojilerinde rol oynayan genler .....	31
Tablo 3-2 İşaretleme sırasında hazırlanan labeling master mix. ....	44
Tablo 3-3 Hibridizasyon aşamasında kullanılan solüsyonlar .....	45
Tablo 4-1 Hastalara ait klinik tanı ve fizik muayene bulguları .....	49
Tablo 4-2 Hasta ve referans örneklerinin DNA ve boya konsantrasyonlarının spektrofotometri ile ölçüm sonuçları .....	51
Tablo 4-3 Olguların submikroskopik değişiklik gösteren bölgeleri ve özellikleri .....	58
Tablo 4-4 Olgularda, Array-CGH’te değişim tespit edilen bölgelerdeki ilişkili genler .	60
Tablo 5-1 Hastalarımızın array analiz sonuçları .....	62

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 İnsan omurgasının yandan görünümü .....	6
Şekil 2-2 Skolyoz derecesi ölçmede Cobb metod kullanımı .....	8
Şekil 2-3 Vertebral malformasyonların farklı kategorileri; A.Formasyon Defektleri B.Segmentasyon Defektleri .....	17
Şekil 2-4 Mikroarray işlem süreci .....	21
Şekil 2-5 Array CGH Aşamaları.....	24
Şekil 4-1 Örneklerin enzim kesimi sonucu oluşan jel görüntüsü .....	50
Şekil 4-2 Slaytın taranması sonrası elde edilen görüntü.....	55
Şekil 4-3 Olgu 3'ün kalite kontrol raporu (QC) .....	56
Şekil 4-4 Olgu 3'e ait değişikliklerin karyogram üzerinde şematik görünümü.....	57
Şekil 4-5 Olgu 7'de tespit edilen 3755 bazlık delesyon görünümü .....	59

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

<b>AIS</b>	Adolösen İdiopatik Skolyoz
<b>Array-CGH</b>	Array Komperatif Genomik Hibridizasyon
<b>Bp</b>	Baz Çifti
<b>cDNA</b>	Koplementer DNA
<b>CGH</b>	Komperatif Genomik Hibridizasyon
<b>CNV</b>	Kopya Sayısı Değişikliği (Copy Number Variation)
<b>Cy3</b>	Cyanine-3
<b>Cy5</b>	Cyanine-5
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	Distile Su
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>FISH</b>	Floresan <i>In situ</i> Hybridisation
<b>IS</b>	İdiyopatik Skolyoz
<b>ISA</b>	Investigation/Study/Assay
<b>ISCA</b>	The International Standards For Cytogenomic Arrays
<b>KS</b>	Konjenital Skolyoz
<b>MM</b>	Mismatch Prob
<b>miRNA</b>	MikroRNA
<b>mRNA</b>	Mesajcı RNA
<b>NF</b>	Nörofibromatozis
<b>OD</b>	Otozomal Dominant
<b>OR</b>	Otozomal Resesif
<b>PCR</b>	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>PM</b>	Perfect Match Prob
<b>QC</b>	Kalite Kontrol
<b>RNA</b>	Ribonükleik Asit

**SNP**

Tek Nükleotid Polimorfizmi

**SRS**

Skolyoz Araştırma Derneği

**$\mu$ L**

Mikrolitre

## ÖZET

Gökgöz A. Konjenital idiyopatik skolyozlu hastalarda array tabanlı karşılaştırmalı genom hibridizasyonu ile tüm genom analizi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2014.

Skolyoz yanal omurga eğriliğinden meydana gelmektedir. Bu eğrilik genellikle omurganın düz durması yerine ‘‘s’’ veya ‘‘c’’ şeklinde görünmesinin nedeni olarak düşünülmektedir. Skolyoz konjenital, idiyopatik ve nöromusküler olarak üç sınıfa ayrılır. Konjenital skolyoz normal omurga gelişiminin kesintiye uğraması sonucu oluşan anormal yan omurga eğriliğidir. Nöromusküler skolyoz serebral palsi, Duchenne musküler distrofi, miyelomeningosel gibi hastalıkları içeren geniş kapsamlı bozukluklardan kaynaklanır. İdiyopatik skolyoz nedeni tespit edilemeyen bozukluk, hastalık anlamına gelmektedir.

Array Komperatif Genomik Hibridizasyon (CGH), submikroskopik DNA kopya sayısı değişikliklerini haritalama ve tespit olanağı sağlayan yüksek çözünürlükte yeni bir teknolojidir.

Array-CGH düzenli bir sıra ve boyutta genomun çok küçük bölgelerini kapsayan değişimlerin tespit edilmesine imkan sağlamaktadır. Bizde, bu amaçla skolyoza özgü yüksek rezolüsyonlu yeni bir array-CGH mikroçipi tasarladık. Dr. Sami Ulus Kadın Doğum ve Çocuk Sağlığı Hastanesi, Genetik Anabilim Dalına başvuran ve skolyoz tanısı konulan, ancak etyolojisinde bilinen herhangi bir kromozomal, metabolik veya moleküler nedenin tespit edilemediği 8 hasta çalışmaya alındı. Tüm genom incelenmesi için ISCA tarafından tasarlanan 44K array-CGH prob grubuna ilave olarak skolyoz ve iskelet displazilerinde tanımlanan 226 gen bölgesine spesifik olmak üzere ekzonik ve intronik alanları da kapsayacak şekilde 14127 adet prob kullanarak yeni bir mikroçip dizaynı yaptık. Tasarladığımız Array-CGH slaytlarından elde edilen verileri CytoGenomics programı kullanarak değerlendirdik. Çalışmaya dahil edilen 8 hastanın 6’sında anlamlı kopya sayısı değişikliği belirlendi. İki hastada herhangi bir değişiklik bulunamadı. Belirlenen bu değişiklikler içerisinde bir vakada tespit edilen kopya sayısı değişikliği, SHOX geni ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak, Yeni tasarladığımız bu array-CGH dizayn çalışması; firmalar veya kuruluşlar tarafından tasarlanmış olan mevcut tüm genom taramalarının oluşturacağı

yüksek miktardaki verinin yapılacak analizi komplike etmesi dezavantajından bu şekilde uzaklaşılabilceği ve sadece ilgili lokuslara fokuse olarak daha anlamlı, hassas ve analiz edilebilir veriye ulaşılabilceğini göstermiştir. Bu tasarımı modifiye şekilleriyle konjenital/idiyopatik skolyoz tanı kriterlerinin yeniden belirlenebileceği, yeni alt tiplendirmelere yol gösterebileceği ve etyolojisi bilinmeyen skolyozun moleküler temellerinin açıklanmasına imkan sağlayabileceği düşünölmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Skolyoz, Konjenital, İdiyopatik, Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu, Tüm Genom Analizi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 23608

## ABSTRACT

Gokgoz A. Whole genome array-CGH analysis of congenital idiopathic scoliosis patients Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. Master of Science Thesis. Istanbul. 2014

Scoliosis consists of a lateral curvature of the spine. It usually causes the spine to assume an "s" or "c" shape instead of being straight. Scoliosis is divided into three categories congenital, idiopathic and neuromuscular. Congenital scoliosis is an abnormal lateral curvature of the spine, resulting from disruption of normal vertebral development. Neuromuscular scoliosis is caused by a wide variety of disorders which include cerebral palsy, Duchenne muscular dystrophy and myelomeningocele. Idiopathic scoliosis means the identifying cause of the disease/disorder is unknown.

Array Comparative Genomic Hybridization (Array-CGH) is a new high resolution technology, which gives an opportunity to map and detect submicroscopic DNA copy number variations throughout the genome.

Array-CGH provides easy and understandable detection of small genomic changes. For this purpose, our aim is to design a specific high resolution array-CGH platform for disorders of scoliosis. 8 patients, who applied Dr. Sami Ulus Gynecology and Child Welfare Hospital, Department of Genetics, with the diagnosis of scoliosis, and none of the patients were included into the study if molecular, chromosomal or metabolic etiology were known. We designed an array chip which includes whole genome detectable 44K array-CGH probe group of ISCA and 14217 additional probes for intronic and exonic regions of the all known 226 scoliosis and skeletal dysplasias genes. The obtained data were assayed by the CytoGenomics software. We detected important copy number changes in 6 out of 8 patients. 2 patients had no definitive changes. One case of these copy number changes might be associated with *SHOX* gene.

As a result, This novel array-CGH design provides us with the advantage of overcoming difficulties in the analysis of the big amount of information obtained from current whole genome arrays, by giving us an opportunity to handle less amount, but more meaningful, accurate and clear data by focusing on certain specific loci. We think that custom designed microarray chips would be useful for more accurate definition and diagnostic criteria of the congenital idiopathic scoliosis, and also detecting new



molecular mechanisms causing disorders of scoliosis with unknown/less known etiology.

**Keywords;** Scoliosis, Congenital, Idiopathic, Comperative Genome Hybridization, Whole Genome Analysis

This study is supported by Istanbul University Scientific Research Projects Division  
Project Number: 23608

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Skolyoz, omurganın üç boyutlu 10 derece ve üzerindeki eğilme deformitesidir. Omurgada en sık rastlanılan deformitedir. Skolyoz yunanca “eğrilik, çarpıklık” anlamına gelen bir kelimedenden türetilmiştir. Sağlıklı bir insan omurgasında omurlar yukarıdan aşağıya yani boyun, sırt ve bel bölgelerinde düz bir hat şeklinde uzanırken skolyoz hastalarında ise omurlar sağa veya sola doğru yer değiştirir ve aynı zamanda kendi eksenleri etrafında döner (1,2,3).

Skolyoz eski çağlara dayanan tıbbi geçmişine rağmen tanı ve tedavisinde ilerlemeler kaydedilen fakat hala çözümlenmesi gereken bir çok problem içeren, ortopedik cerrahinin en önemli konularından birisidir. Skolyoz sırt ağrısına, hareketlerdeki zorlanma nedeniyle fonksiyonel kapasitede azalmaya, estetik kaygılara ve buna bağlı psikolojik sıkıntılara, hatta eğriliğin ileri derecelerinde kardiyopulmoner fonksiyonel kayba neden olabilir. Skolyoz ayrıca ileri dönemlerde tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, hipoksi, pulmoner rezistansta artma ve pulmoner hipertansiyon sonucu sağ kalp yetmezliği gibi ağır klinik bozukluklara yol açabilmektedir. Emosyonel bozukluklar ve kozmetik deformitelere de neden olabilir (4). Skolyoz çok değişik nedenlerle ortaya çıkabilir ve birçok çeşidi vardır. Olguların %75-80 kadarının nedeni bilinmemektedir ve bu tip skolyoz idiyopatik olarak adlandırılır ayrıca skolyoz sağlıklı bir çocukta ilerleyen dönemlerde farkedilmeden ortaya çıkabilir ve iskelet gelişimi ile birlikte ilerleme gösterebilir (4, 5).

Skolyoz çok farklı şekillerde ortaya çıkabilir. Örneğin nörolojik, sinir ve kas hastalıklarına (omurga kas atrofisi) bağlı olarak sekonder biçimde oluşabilir. Skolyoz omurlarla ilgili bozuklukların direk sonucu olarak oluşabilir veya doğumsal nedenlerle de meydana gelebilir.

Skolyozda erken tanıya ulaşabilmek için okul taramaları çok önemlidir. Risk kümesini 9-15 yaş dilimi oluşturmaktadır. Ancak, Skolyoz Araştırma Birliği (SAB) yıllık rutin taramaların 10-14 yaş diliminde yapılmasını uygun bulmaktadır, bununla birlikte birkaç yaş daha küçük kesimleri tarama kapsamına almakta çok önemli faydalar sağlayabilir.

Skolyozun erken tanısı, skolyoz nedeniyle zaman içerisinde ortaya çıkabilecek diğer deformitelerin engellenmesi ve hastalığın ilerleyişine neden olan etmenlerin tespit edilerek ortadan kaldırılmasını sağlayacağı gibi; hastaların tedaviden optimum düzeyde yararlanmaları içinde çok önemlidir (6,7).

Gelişen son teknolojiler Array-CGH ile yüksek çözünürlükte moleküler karyotipleme olanakları sağlamaktadır. Array-CGH küçük kopya sayısı değişikliklerinin tanı amaçlı tespit oranında artış, submikroskopik DNA kopya sayısı değişikliklerini haritalama ve tespit olanağı sağlayan yeni yüksek çözünürlükte bir teknolojidir. Array-CGH'de test edilecek bir genomun DNA'sı bir renkte (genelde kırmızı) floresan ile işaretlenir ve ikinci bir boya ile işaretli (genelde yeşil) normal olduğu bilinen referans bir genom ile hibridize edilir. İşaretli proplar genomda büyük benzersiz sekansların sunumuna olanak sağlayan tekrarlayan yapıları baskılayan Cot1 DNA'sıyla ön hibridizasyon yapılır. İki genom arasında eşit kopya sayılı bölgeler; test ve referans DNA eşleştirme miktarı eşit ve bölgeler kırmızı ile yeşil karışımı olarak gözükür. Test genomun herhangi bir bölgesinin delesyonunda referans DNA'nın test DNA'sından daha fazla eşleşmesine ve buraların yeşil gözükmesine neden olacaktır. Test genomun herhangi bir bölgesinin artışı veya kazanımında test DNA'nın referans DNA'sından daha fazla eşleşmesine ve buraların kırmızı gözükmesine neden olacaktır. Floresan oranın ölçümüyle, yüksek oranda kopya sayısı artış ve azalışını gösterir her bir metafaz kromozomunun dikey ve uzunlukları boyunca floresan oran profilleri oluşturulur. Array-CGH farklı birçok klinik örnekte submikroskopik dengesiz kromozomal yeniden düzenlenimi başarıyla tanımlamaya olanak sağladığı gösterilmiştir (8).

Biz çalışmamızda etyolojisi kısıtlı şekilde açıklanabilmiş, tanı kriterlerinin oluşturulmasında zorluk yaşanan skolyozda submikroskopik değişimlerin ortaya çıkarılmasını sağlamak amacıyla array tabanlı karşılaştırmalı genom hibridizasyonu ile tüm genom analizi yapmayı planladık. Bu çalışma; skolyoza yönelik olarak yapılan kopya sayısı değişimlerinin array tabanlı komperatif genomik hibridizasyon ile ilk tarama çalışması olması, skolyozun tanı kriterlerinin oluşturulması, yeni alt tiplendirmelerin yapılması ve idiopatik skolyoz için aday gen çalışmalarına olanak sağlaması amacıyla planlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Vertebral Kolonun Gelişimi ve Anatomisi

İskelet sistemini kıkırdak ve kemik dokuları oluşturur. Kıkırdak ve kemik dokuları embriyolojik dönemde mezodermden köken alırlar. Mezoderm ise embriyolojik gelişimin ikinci haftasının sonunda ektoderm ve endodermden notokord ile birlikte bu iki germyaprağı arasında oluşur. Ardından ektodermin kalınlaşma süreci yavaşlayarak nöral plak oluşur. Daha sonra ise nöral plağın uçlarının kıvrılması ile nöral oluk oluşur ve buradan da nöral tüp meydana gelir. Embriyolojik gelişimin on dokuzuncu gününde mezodermin segmentasyona uğraması ile birlikte somit çiftleri oluşur (9,10).

Embriyolojik gelişimin beşinci haftasında somitler oluşur. Bu somitlerden de bazılarının atrofiye uğramasıyla birlikte geriye kalan somitlerden vertebral kolon meydana gelir. Embriyogenez sürecinde iskelet sisteminin gelişimi, kıkırdak ve kemik dokusunun gelişiminde genetik faktörler çok önemli rol oynar. Embriyogenez sürecinde iskelet sisteminin gelişiminde rol oynayan genler Tablo 2-1’de verilmiştir.

Vertebral kolon 33 omurun üst üste sıralanmasıyla oluşan bir sütundur. Bu omurlar omurgadaki yer aldıkları bölgeye göre isimlendirilirler. Buna göre yedi omurdan servikal omurga, on iki omurdan torakal omurga, beş omurdan lomber omurga, beş omurdan sakral omurga ve dört omurdan ise koksigeal omurga meydana gelir (Şekil 2-1)(10, 11, 12).

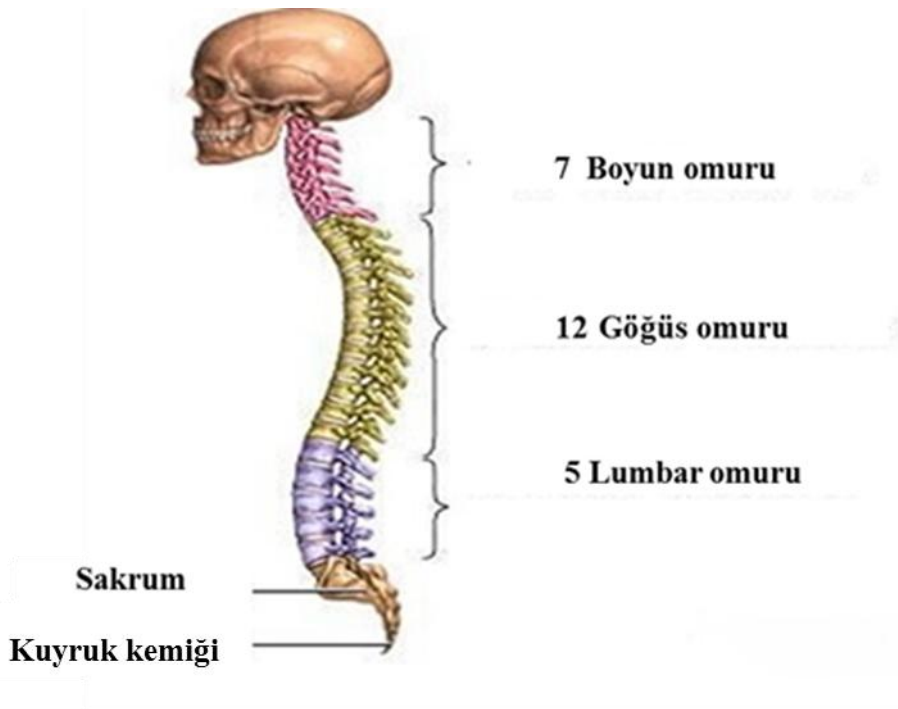
**Tablo 2-1 Embriyogenez sürecinde iskelet sisteminin gelişiminde rol oynayan genler**

Gen	Lokalizasyon	Uzunluk (bp)
HOXA (Gen Grubu)	7p15	
HOXB (Gen Grubu)	17p21	
HOXC (Gen Grubu)	12q13	
HOXD (Gen Grubu)	2q31	
BMP1	8p21.3	47,188
BMP2	20p12.3	12,166
Tbx-4	17q23.2	27,858
Tbx-5	12q24.21	37,840
Shh	7q36.3	9,410
Wnt1	12q14.3	4,161
Wnt7a	3p25.1	61,537
Wnt7b	22q13.31	56,761
MMP-13	11q22.2	12,743
Ihh	2q35	6,097
TGFB1	19q13.2	23,020
MSX-1	4p16.2	4,269
MSX-2	5q35.2	6,328
PAX-1	20p11.22	12,264
SOX9	17q24.3	5,400
Dhh	12q13.12	5,397
IGF-I	12q23.2	62,925
IGF-II	11p15.5	12,000
RUNX2	6p21.1	222,766
GDF5	20q11.22	128,948
PTH	11p15.2	3,967
FGF1	5q31.3	94,318
FGF2	4q27- q28	71,528
Alx4	11p11.2	49,439
COL1A1	17q21.33	17,544
COL1A2	7q21.3	560
COL2A1	12q13.11	15,507
COL3A1	2q32.2	2,664
COL4A1	13q34	158,187
COL4A2	13q34	205,743
COL4A3	2q36.3	7,083
COL4A4	2q36.3	161,849
COL4A5	Xq22.3	257,702
COL4A6	Xq22.3	282.822
COL5A2	2q32.2	53,858
COL5A3	19p13.2	50,911

---

Gen	Lokalizasyon	Uzunluk (bp)
COL6A2	21q22.3	34,731
COL6A3	2q37.3	37,436
COL7A1	3p21.31	31,088
COL8A1	3q12.1	65,297
COL8A2	1p34.3	5,007
COL9A1	6q13	87,044
COL9A2	1p34.2	16,898
COL9A3	20q13.33	4,741
COL10A1	6q22.1	7,212
COL11A1	1p21.1	232,030
COL11A2	6p21.32	26,779
COL2A1	12q13.11	15,507
COL12A1	6q13-q14	118,502
COL13A1	10q22.1	157,261
COL14A1	8q24.12	19,700
COL15A1	9q22.33	127,080
COL16A1	1p35.2	24,936
COL17A1	10q24.3-q25.1	32,850
COL18A1	21q22.3	2,680
COL19A1	6q13	238,104
COL21A1	6p12.1	122,014
COL22A1	8q24.2-q24.3	172,530
COL23A1	5q35.3	352,940
COL24A1	1p22.3	427,239
COL25A1	4q25	478,194
COL26A1	7q22.1	196,183
COL27A1	9q32	3,285

---



**Şekil 2-1 İnsan omurgasının yandan görünümü**

Ref(12)'den değiştirilerek alınmıştır

Omurganın görevi baş, göğüs ve karın içi organları taşımak, organlara destek oluşturmak, insan gövdesine stabilite sağlamak ve omurluğu korumaktır (13).

Omurga, gövdenin arkasında orta çizgi üzerinde uzanan çocukta 33-34 vertebranın, yetişkinde ise 26 vertebranın üst üste eklenmesiyle meydana gelen kemik kolonudur. Vertebral kolonun uzunluğu, orta boylu bir yetişkinde 73-76 cm arasındadır. Vertebral kolon, düz bir sütun biçiminde değildir, yandan görünüşüne göre işlev bakımından önemli sagittal eğrilikler gösterir; ki bu eğrilikler boyun, göğüs, bel ve sakrum bölgelerinde meydana gelir. Göğüs ve pelviste meydana gelen eğrilikler esas eğriliklerdir ve öne doğru içbükeydirler. Boyun ve bel eğrilikleri ise daha sonradan basınç ile oluşur. Boyun ve bel eğrilikleri öne doğru dışbükeydirler. Boyun ve bel omurlarının oluşturduğu sagittal eğrilikler sırasıyla "servikal lordoz", "lomber lordoz" olarak isimlendirilir (15,16,17).

Kadınlarda bel eğriliği daha fazladır. Göğüs eğriliğinin arkaya doğru olan dışbükeyliğinin patolojik olarak artmasına; "kifoz" denir, genellikle yaşlı kadınlarda görülür ve osteoporozla bağlı olarak gelişme gösterir. Omurgalar iskelette üst uçta baş, ortada

kostalar, alt uçta ise pelvis ile eklemlenirler. Vertebral kolonu oluşturan omurlar biçim ve büyüklük açısından pek çok farklılıklar barındırmalarına rağmen, bütün omurların pek çok ortak özellikleri de vardır (16,17).

Normal bir insanda fizyolojik eğrilikler bulunur. Bu eğrilikler kimi yazarlara göre değişkenlikler göstermesine rağmen genel olarak servikal bölgede ortalama  $40^{\circ}$  ( $30^{\circ}$ - $50^{\circ}$ ) lordoz, torakal bölgede ortalama  $35^{\circ}$  ( $20^{\circ}$ - $50^{\circ}$ ), lomber bölgede ortalama  $60^{\circ}$  ( $40^{\circ}$ - $80^{\circ}$ ) lordoz ve sakral bölgede  $50^{\circ}$  ( $40^{\circ}$ - $60^{\circ}$ ) şeklindedir (18,19,20).

## **2.2. Skolyoz**

Vertebral kolonda meydana gelen eğriliklerin on derecenin altında olması normal kabul edilir. Fakat on derece ve üzerindeki eğrilikler skolyoz olarak adlandırılır (21,22,23). Bu lateral eğrilikler ile çarpıklıklar frontal, sagittal veya aksial düzlemde meydana gelebilir. Lateral eğrilikler ve anterior-posterior açılışmalar nedeniyle oluşan skolyoz vertebral kolonu direkt olarak etkileyen üç boyutlu omurga deformitesidir.

Bu eğrilik genellikle omurganın düz durması yerine ‘‘s’’ veya ‘‘c’’ şeklinde görünmesinin nedeni olarak düşünülmektedir. Skolyoz çok farklı şekillerde ortaya çıkabilir. Örneğin nörolojik, sinir ve kas hastalıklarına (omurga kas atrofisi) bağlı olarak sekonder biçimde oluşabilir. Skolyoz ayrıca omurlarla ilgili bozuklukların direkt sonucu olarak veya doğumsal nedenlerle oluşabilir. Skolyozun gelişimi sağlıklı bireylerden farklı olarak ergenlik öncesi dönemde bariz bir şekilde gözlemlenebilir. Skolyoz genellikle okul çağı çocuklarda ve daha yoğun olarak kız çocuklarında görülür. Skolyoz görülme prevalansı gençler arasında %1-2 olmakla beraber altmış yaş üzeri kişilerde bu oran %50 boyutlarına ulaşabilmektedir. Skolyoz tedavisindeki temel amaç çocukluk döneminde başlayan hastalığın ilerleyişini engelleyebilmektir (24,25,26,27).

### **2.2.1. Tanı**

Skolyoz tanısı klinik muayene ve PA grafiği ile yapılır. Skolyoz tanısının klinik muayenesinde idiyopatik olmayan etyoloji ile ilgili bulgularda dikkate alınması gerekir. Skolyozlu hastaların takip ve tedavisinde etyoloji, Cobb açısı, lokalizasyonu, rotasyon eşiği, hastanın yaşı ve cinsiyeti gibi bulgular değerlendirilmelidir.

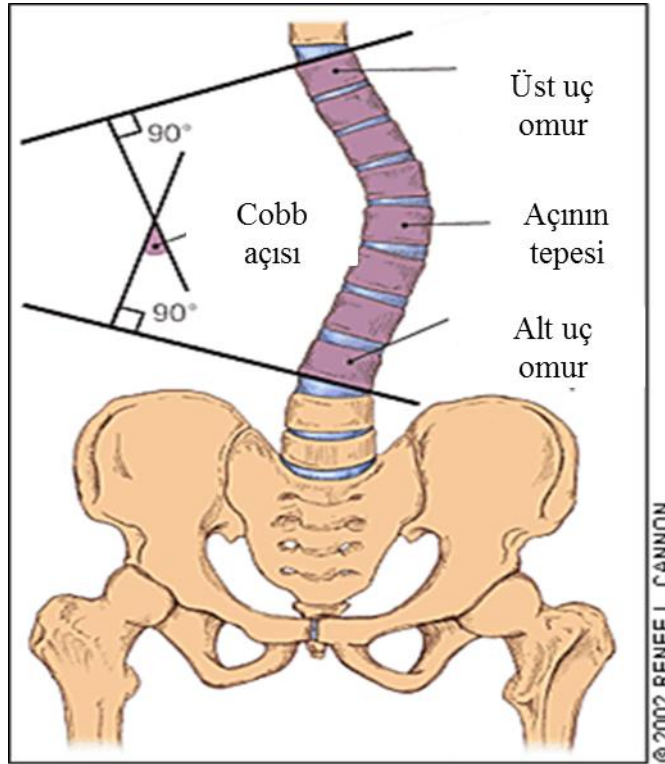
Skolyoz tanısı konabilmesi için omurgada oluşan eğriliğin on derece ve üzerinde olması gerekir. On derecenin altındaki eğriliklerde skolyoz tanısı konulamaz. Skolyotik eğriliğin ölçülmesi, tanı konmasında ve tedavinin seçiminde çok önemlidir. Skolyotik



eğrilik Cobb metodu kullanılarak ölçülür. Skolyotik eğriliğin ölçümü yalnızca cerrahiye alınacak hastaların seçimi için değil aynı zamanda doğru tedavinin verilebilmesi için de önemlidir. Cobb açısı hesaplanırken üstte ve altta orta hattın en fazla deviye olan, yönü dışa kaymış vertebra bulunur. Ölçüm uç vertebra'nın tespiti ile başlar. Üst uç vertebra'nın üst yüzeyine ve alt vertebra'nın alt yüzeyine dik hatlar çizilir. Bu çizgiler arasında oluşan açı 'Cobb açısı'dır. Skolyoz derecesi ölçmede Cobb metod kullanımı Şekil 2-2'de verilmiştir. (28,29,30).

Cobb açısının derecesine, skolyotik eğriliğin konumuna ve yönüne ayrıca eğriliğe herhangi bir rotasyonun eşlik edip etmediğine bakılarak tanı konur.

Ayrıca klinik tanıda iskelet olgunluğunun değerlendirilmesinde Risser işareti kullanılır. Risser işareti ile iliak apofizin kemikleşme durumuna bakılarak iskelet olgunlaşma değerleri saptanır. Risser işaret değerleri Risser 0 ile Risser 5 arasında değişim göstermektedir (31,32,33).



**Şekil 2-2 Skolyoz derecesi ölçmede Cobb metod kullanımı.**

Üst uç vertebra ile alt uç vertebra seçilir. Üst uç vertebra'nın üst yüzeyine ve alt vertebra'nın alt yüzeyine dik hatlar çizilir. Bu kesişen dik çizgiler arasında oluşan açı Cobb açısıdır. Ref(28)'den değiştirilerek alınmıştır

### 2.3. Epidemiyolojisi

Skolyoz hem erkeklerde hem de kızlarda görülen bir hastalıktır, bununla beraber kızlarda daha sık görülür. Ayrıca kızlarda görülen skolyozun seyri erkeklere oranlara daha hızlı bir ilerleme gösterir. Bunun sebebi henüz bilinmemektedir. Genellikle skolyoz hastalarının bazılarında tıbbi tedavi ve cerrahi müdahale gerektirecek ciddi skolyotik eğriler bulunmamaktadır.

Skolyoz ergenlik dönemindeki gençlerde yaklaşık %10 oranında ve farklı şiddetlerde görülmektedir. Skolyozlu hastalarda iki farklı durum söz konusu olabilmektedir. Birinci durumda skolyoz kendiliğinden düzelirken, ikinci durumda ise ilerleme gösterir. Bebeklik döneminde skolyoz gözlemlenmiş ve skolyotik eğriliği 30 derecenin altında olan hastaların %80inde herhangi bir tıbbi tedavi gerçekleştirmeksizin skolyotik eğriliğin kendi kendine kaybolduğu görülmüştür (34,35).

Yapılan bazı araştırmalar sonucunda konjenital skolyoz görülme sıklığı 0,5-1 /1000 olarak tespit edilmiştir. Skolyozun farklı derecelerinin görülme oranı toplumlar ve cinsiyetler arasında farklılıklar gösterir. Literatürde Delaware'de (ABD) Shands ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 14 yaş civarındaki skolyoz tanısı konmuş çocuklardaki değerlendirilme sonucunda prevalans, skolyotik eğriliği 10 derece ve üzerinde olanlar için %1,9, eğriliği 20 derece ve üzerinde olanlar içinse %0,5 olarak saptanmıştır. (36,37).

Ayrıca Wynne-Davies'in yapmış olduğu çalışmada sekiz yaşın altındaki çocuklarda skolyozun prevalansı 1.3/1000 olarak görülürken, sekiz yaşın üstündeki çocuklarda 1.8/1000 olarak saptanmıştır. Yine bu çalışmada skolyozun cinsiyete göre dağılımına bakıldığında; sekiz yaşın altındaki çocuklarda skolyoz prevalansı kız ve erkek çocuklarında eşit iken, sekiz yaşın üstündeki çocuklarda prevalans kızlarda 4.6/1000, erkeklerde ise 0.2/1000 olarak bulunmuştur (38).

Skolyozla ilgili olarak ülkemizde yapılan çalışmalarda ise İstanbul'da 2010 yılındaki bir taramada on dört yaş civarı çocuklarda skolyoz prevalansı % 2,5 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ki kız erkek oranı 2,5/1 dir. Çalışma sonunda skolyoz tanısı konan çocuklardaki Cobb açısı değerlendirildiğinde ise olguların %72,7 sinde skolyotik eğri 10 ila 20 derece arasında görülürken geriye kalan %27,3 lük kısımda ise eğrinin 20 derecenin üzerinde olduğu görünmüştür (39).

## 2.4. Etyolojisi

Skolyoz etyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Skolyoz tek başına bir tanı olmamakla beraber omurgada meydana gelen yapısal değişimleri içerir. Bununla birlikte bir çok nedenle ortaya çıkabilir. Skolyoz etyolojisiyle ilgili olarak, pek çok araştırma yürütülmesine rağmen tam olarak aydınlığa kavuşturulamamakla beraber çeşitli teoriler öne sürülmüştür. Genel olarak bu teoriler şöyle sıralanabilir; nörolojik köken, musküler imbalans, vertebral kemik gelişim bozukluğu, endokrin bozukluk, asimetrik büyümedir (40,41,42).

Skolyozun etyolojisi incelendiğinde multifaktöriyel bir hastalık olduğu kabul edilmektedir. Skolyoz tanısında hastalığın yerleşimi, skolyotik eğriliğin derecesi, yaş faktörü gibi bulgular ile genetik kalıtım açısından tekrarlama risklerinin farklılıklar göstermesi nedeniyle heterojen bir etyoloji görülmektedir (42,43).

Skolyoz genel olarak tek bir kalıtım modeli ile açıklanamayan kompleks bir deformitedir ve sporadik olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna rağmen X'e bağlı dominant kalıtım üzerinde daha fazla düşünülmüştür (42,44). Bazı araştırmacılar ise X'e bağlı resesif kalıtım modelini benimsemişlerdir (45). Ayrıca skolyoz sekonder olarak birçok genetik sendrom ile de beraber görülebilmektedir. Bu sendromlardan bazıları Marfan sendromu, Prader Willi, Charge sendromu, Di George sendromu, Nörofibromatozis (NF) dir. Bu sendromların genetiğinde genellikle kopya sayısı değişimleri (CNV) yer almaktadır (46,47).

Skolyozun alt sınıflarından olan idiyopatik skolyozla ilgili yapılan genetik çalışmalarda ise yine otozomal dominant kalıtım modeli kabul edilmiştir. İdiyopatik skolyozun etyolojisinde genetik faktörlerin çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Literatürde idiyopatik skolyoz hakkındaki diğer kalıtım modeli olarak multifaktöriyel kalıtımı kabul eden çalışmalarda mevcuttur.

İkizlerle ilgili yapılan çalışmalarda ise tek yumurta ikizlerinde konkordans %75 civarında gözlemlenirken, çift yumurta ikizlerinde ise %36 olarak saptanmıştır (41,48). Diğer bir çalışmada ise Wynne ve arkadaşları skolyozlu hastaların 1. derece akrabalarında skolyoz görülme sıklığını %11 olarak bulurken, bu sıklık oranını 2. derece akrabalarda %2,4 saptamışlardır (49).

Riseborough ve arkadaşlarının araştırması incelendiğinde skolyozlu hastaların 1. derece akrabalarında tekrarlama riski %11; 2. derece akrabalarında %2,4; 3. derece akrabalarında ise %1,4 olarak gösterilmiştir. Bu çalışma sonuçları skolyozun poligenik multifaktöriyel kalıtıma uygun olduğunu düşündürmektedir (50).

Skolyozun diğer bir alt tipi olan konjenital skolyozda ise yapılan çalışmalar incelendiğinde aile öyküsü bulunması ender olarak karşılaşılan bir durumdur. Bazı araştırmacılar bu durumu hemivertebral anomalisi gibi izole tek bir anomali ve sporadik olarak oluşan genetik risk taşımayan deformite olarak yorumlamışlardır (51).

Bütün bu çalışmalar ışığında genel bir değerlendirme yapıldığında skolyozun kızlarda daha çok ilerleme gösterdiği ve penetransının daha yüksek olduğu sonucuna varılırken, kalıtımının otozomal dominant veya resesif geçiş olup olmadığı hakkında kesin ve net bir yargıya ulaşmak mümkün değildir. Skolyoz pek çok genetik etmenin bir araya gelmesiyle ve belirli bir eşiği aşmasıyla oluşan bir deformitedir. Skolyoz etyolojisiyle ilgili olarak polimorfizmlerin, submikroskopik değişimlerin ve kopya sayısı değişimleri ile nokta mutasyonlarının genetik açıdan önemli yer tuttuğu düşünülebilir.

## **2.5. Sınıflandırılması**

Skolyoz sınıflandırmasında en yaygın olarak kabul gören sınıflandırma 1966 yılında Amerika'da kurulan Skolyoz Araştırma Derneğinin (SAD) lokalizasyon ve etyolojiye göre yapmış olduğu sınıflandırmadır:

### **2.5.1. Lokalizasyona göre sınıflandırılması**

Bu sınıflandırma skolyotik eğriliğin anatomik olarak bulunduğu konuma göre gerçekleştirilir.

- 1) Servikal eğrilik
- 2) Servikotorasik eğrilik
- 3) Torasik eğrilik
- 4) Torakolomber eğrilik
- 5) Lomber eğrilik
- 6) Lumbosakral eğrilik

### **2.5.2. Etiyolojiye göre sınıflandırma**

Bu sınıflandırma ise etyolojiye göre yapılan bir sınıflandırmadır.

### **2.5.2.1. Yapısal Skolyoz**

Yapısal skolyoz olgularında vertebral kolonda lateral eğrilik ve rotasyonel deformite gözlemlenir. Yapısal skolyoz sınıflandırılması Tablo 2-2’de verilmiştir.

**Tablo 2-2 Yapısal Skolyoz Sınıflandırması**

YAPISAL SKOLYOZ							
<b>1.İdiyopatik</b> <b>A. İnfantil (0-3 yas)</b> 1. Gerileyen 2. İlerleyen <b>B. Juvenil (3-10 yas)</b> <b>C. Adolesan (10 yas üzeri)</b>	<b>2.Konjenital</b> <b>A. Formasyon Bozukluğu</b> 1. Kama vertebra 2. Hemivertebra <b>B. Segmentasyon Bozukluğu</b> 1. Unilateral (ansegmente bar) 2. Bilateral <b>C. Karışık Tip</b>	<b>3. Mezenkimal Hastalıklar</b> <b>A. Marfan Sendrom</b> <b>B. Ehler Danlos Sendromu</b> <b>C. Diğerleri</b>	<b>4. Tramva</b> <b>A. Kırık</b> <b>B. Cerrahi</b> 1. Laminektomi sonrası 2. Torakoplasti sonrası <b>C. Radyoterapi</b>	<b>5.Osteokondrodistrofiler</b> <b>A. Distrofik dwarfizm</b> <b>B. Mukopolisakkaridozlar</b> <b>C. Spondiloepifizeal displazi</b> <b>D. Multipl epifizeal displazi</b> <b>E. Diğerleri</b>	<b>6. Tümörler</b> <b>A. Vertebral kolon tumorleri</b> 1. Osteoid osteoma 2. Histiositozis-X 3. Diğerleri <b>B. Spinal kord tumorleri</b>		
<b>7.Nöromusküler</b> <b>A. Noropatik</b> 1. Üst Motor Noron a. Serebral Palsi b. Spinocerebellar Dejenerasyon I. Friedreich ataksisi II. Charcot- Marie-Tooth Hastalığı III. Roussy-Levy hastalığı c. Sringomyeli d. Spinal Kord Tumorü e. Spinal Kord Travması f. Diğerleri 2. Alt Motor Noron a. Poliomyelit b. Diğer Viral Myelitler c. Travmatik d. Spinal Muskuler Atrofi I. Werdnig-Hoffmann	<b>II.Kugelberg-Welander</b> e. Myelomeningosel 3. Disotonomi 4. Diğerleri <b>B. Miyopatik</b> 1. Artrogripozis 2. Muskuler Distrofi a. Duchenne b. Limb-Girdle c. Fasioskapulohumeral 3. Fiber Tipi Orantısızlık 4. Konjenital Hipotoni 5. Distrofik Miyotoni 6. Diğerleri	<b>8. Metabolik Hastalıklar</b> <b>A. Raşitizm</b> <b>B. Osteogenezis imperfekta</b> <b>C. Homosistinuri</b> <b>D. Diğerleri</b>	<b>9. Lumbosakral Eklemlle İlgili Hastalıklar</b> <b>A. Spondilolizis ve spondilolistezis</b> <b>B. Bu bölgedeki konjenital hastalıklar</b>	<b>10. Ekstrapinal Kontraktürler</b> <b>A. Ampiyem sonrası</b> <b>B. Yanık sonrası</b>	<b>11.Kemik Enfeksiyonu</b> <b>A. Akut</b> <b>B. Kronik</b>	<b>12.Nörofibromatozis</b>	<b>13.Romatoid Hastalıklar</b>

### 2.5.2.2. Fonksiyonel Skolyoz

Fonksiyonel skolyoz olgularında sadece vertebral kolonda lateral eğrilik vardır.

- 1.Postural Skolyoz
- 2.Histerik Skolyoz
- 3.Sinir koku irritasyonu (Nükleus pulpozus herniasyonu,tümörler)
4. İnflamatuvar
- 5.Bacak uzunluk farkına bağlı
- 6.Kalça eklemi bölgesindeki kontraktürlere bağlı

### 2.5.3. İdiyopatik Skolyoz

İdiyopatik skolyoz (İS) etyolojik nedeni açıklanamayan deformitedir. İdiyopatik skolyoz tanısı konurken omurgada eğriliğe sebep olabilecek diğer bütün etmenler dışarda bırakılmaktadır. İS yaklaşık olarak % 75-80 oranında en sık rastlanan skolyoz tipidir (52). İS kızlarda daha çok rastlanan bir deformitedir. İdiyopatik skolyoz, normal sağlıklı bir çocukta herhangi bir neden bulunmaksızın ortaya çıkabilir ve çocuğun iskelet gelişimiyle beraber ilerler.

İdiyopatik skolyoz hastalığının başlangıç yaşına göre kronolojik olarak üçe ayrılır;

- 1) İnfantil İS : 0 - 3 yaş arasını kapsar.
- 2) Jüvenil İS : 4 - 9 yaş arası kapsar.
- 3)Adölesan İS : 10. yaştan iskelet gelişimi tamamlanıncaya kadar olan dönemi kapsar.

#### 2.5.3.1. İnfantil idiyopatik skolyoz:

İnfantil İS doğumdan sonra ortaya çıkar ve 3 yaşına kadar olan dönemi kapsar. Bu hastalık erkek çocuklarında daha sık görülmektedir ve skolyotik eğri genelde göğsün sol tarafına doğru kıvrılma göstermektedir. Bebeklik döneminde İS gözlemlenmiş olan ve skolyotik eğriliği 30 derecenin altında olan hastaların % 80 inde herhangi bir tıbbi tedavi uygulanmaksızın eğriliğin kendi kendine düzeldiği görülmüştür (53). Bununla beraber skolyotik eğriliği 20 derecenin üzerinde olan hastalarda skolyozun ilerleme hızının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. İnfantil İS de hastalığın seyri açısından

kendiliğinden düzelen ve ilerleme gösteren skolyoz olmak üzere iki tip durum vardır. Skolyozu ilerleme gösteren hastalar iki alt gruba ayrılır. Cerrahi müdahale gerektirmeyen tedavi uygulanan hastalık grubuna benign (iyi huylu), cerrahi müdahale gerektiren hastalık grubuna ise malign (kötü huylu) idiyopatik skolyoz denir (54).

#### **2.5.3.2. Jüvenil idiyopatik skolyoz:**

Jüvenil İS çocukluk dönemini kapsar. Genel olarak 4 ile 10 yaş arası dönemde görülür (55). Jüvenil idiyopatik skolyoz kızlarda daha sık görülür ve skolyotik eğrilik daha çok göğsün sağ tarafında meydana gelir (56).

#### **2.5.3.3. Adölesan idiyopatik skolyoz:**

Adölesan idiyopatik skolyoz, idiyopatik skolyozlar arasında en sık rastlanılan skolyoz tipi olup %80-85 oranında görülür. AİS ergenlik dönemini kapsar yani 10 yaşından başlayarak iskelet gelişiminin sonlanmasına kadar olan dönemde görülür (57). AİS’de meydana gelen skolyotik eğrilik genellikle jüvenil dönemde başlar ve ergenlik dönemindeki hızlı büyüme ve gelişmenin de etkisiyle eğrilikte artış gözlenir. Adölesan idiyopatik skolyozdan kimi kaynaklar ‘geç başlangıçlı’ skolyoz olarak da bahsederler. AİS’de deformite vertebral kolonun her üç bölgesinde de yani servikal, torakal ve lumbarda oluşabilir (58,59).

#### **2.5.4. Konjenital Skolyoz**

Konjenital skolyoz vertebranın oluşumu veya segmentasyonu sırasında ortaya çıkan ve bu anomaliler nedeniyle omurganın laterale eğimlenmesi ile oluşan skolyoz tipidir. Bu anomaliler embriyolojik dönemde ortaya çıkabilir ve omurgada deformiteye neden olabilirler (60). Konjenital skolyozun oluşmasında etken olan anomaliler çok çeşitlidir, bu nedenle konjenital skolyozun ilerleme sürecinde de farklılıklar meydana gelebilir. Bazı anomaliler doğumda oluşur ve herhangi bir ilerleme göstermeyip bu şekilde kalır. Bazı anomalilerde ise oldukça hızlı progresyon görülebilir ve bu hızlı progresyon nedeniyle de çok ciddi fonksiyonel bozukluklar meydana gelebilir (61,62).

Konjenital skolyoz diğer başka genetik sendromlarla birlikte görülebilir. Bu sendromlar Alagille, Spondilokostal Disostozis, Jarcho-Levin, Kaudal Disgenesis Kabuki make-up, Klippel-Feil, Lenz’s (X’e bağlı), Goldenhear sendromu, VATER/VACTERL ve Rubenstein-Taybi sendromudur (66). Konjenital anomaliler

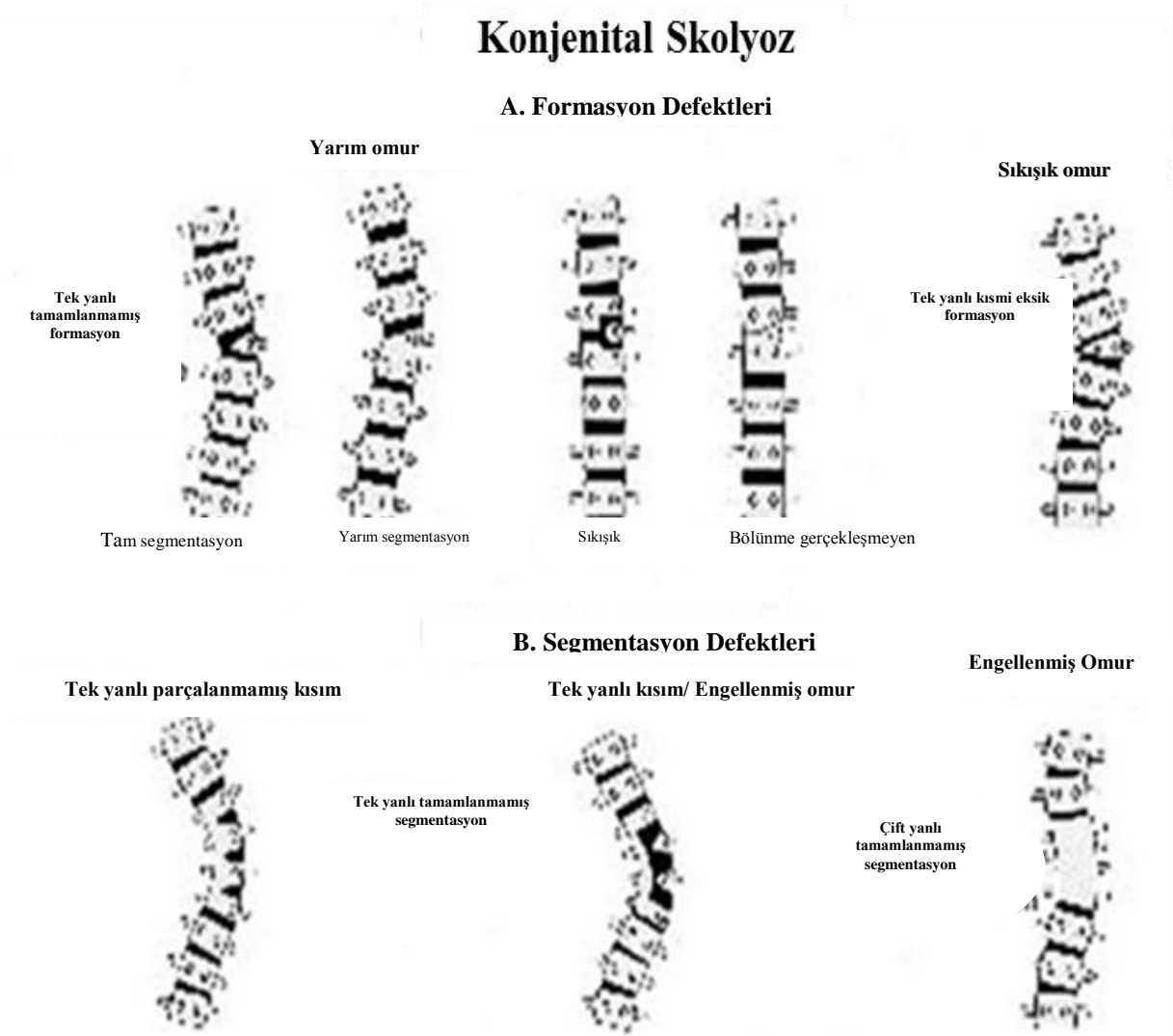


genel olarak segmentasyon defekti, formasyon defekti ve her ikisini de içeren karışık tip olmak üzere üç ana gruba ayrılır. Vertebral malformasyonların farklı kategorileri verilmiştir (Şekil 2-3).

Segmentasyon defekti serbest halde bulunması gereken bir omurun bir bölümünün altındaki veya üstündeki omurlar ile kemiksel bağlantı oluşturmasıdır. Bu segmentasyon defekti tek taraflı oluşursa unilateral, çift taraflı oluşursa blok vertebra olarak adlandırılır.

Formasyon defekti embriyolojik dönemde vertebranın eksik bir şekilde meydana gelmesidir. Formasyon defekti kısmi olarak gerçekleşirse wedge vertebra, eğer formasyon defekti tam gerçekleşirse hemivertebra olarak adlandırılır (63,65).

Konjenital skolyozun prevalansı hakkında kesin bir bilgi edinmek zordur. Genellikle pozitif aile hikayesi nadir olarak karşımıza çıkar. KS ve İS etyolojisiyle ilgili olarak fare ve insan genomunda aynı gen bölgesinde bulunan bazı genler karşılaştırılarak; KS ve İS'ye neden olabilecek aday genler belirlenmiştir. Konjenital ve idiyopatik skolyoz ile ilgili olarak aynı gen bölgesi içerisinde tanımlanmış aday genler Tablo 2-3'te verilmiştir (66).



**Şekil 2-3 Vertebral malformasyonların farklı kategorileri; A.Formasyon Defektleri  
B.Segmentasyon Defektleri**

Ref(47)'den değiştirilerek alınmıştır.

**Tablo 2-3 Konjenital ve idiyopatik skolyoz ile ilgili olarak aynı gen bölgesi içerisinde tanımlanmış aday genler**

Ref (66) dan değiştirilerek alınmıştır.

İS/KS için aynı gen bölgesi içerisinde tanımlanmış aday genler				
Mutant gen/ Loküs (fare)	Lokalizasyon (Kromozom cM)	İnsanda tanımlı bölge	Aday genler	Sendromlar
Dbf (Pax3,Ihh)	1,40	2q3	PAX3,IHH	Waardenburg, CFDH
Gli2	1.63	2q14	GLI2	
Lmx1a	1,88.2	1q21-q23	LMX1.1	
Ltap	1,93.4	1q21-q23	VANGL2	
Us - Lmx1b	2,14 -21	9q34	LMX1B	NP
rh – Hoxd	2,38 – 45	2q31	HOXD cluster	
Pax1 – dm	2,85-80	20p11	PAX1	
Jun	4,44.6	1p33-p32.	JUN	
Sks – sno	4,54.6 – 58.3	1p33-p32.2	COL942	MED type 2
ct	4,69	1p35	PAX7,CRTM	
lx	5,22	4p16.1	MSX1	Wolf-Hirschorn
hop	6,13	7q22-qter	PTN, PAX4	
tc	6,35.6	2p13- pII	TGFA	
Dll3	7,10	19q13.2-q13.3	DLL3	
Tks	9,9	11q22-q24/19p13.3-PI3.2	MMP cluster -ACP5	
lu	9,23	11q22-q24	MMP cluster	
Aft	9,32	15q23-q25	CSK, PML	
tk	9,48	6q12-q13	COL12A1	
Ky	9.56	3q21	MYLK	
Wnt3a	11,32	1q42	WNT3A	
Ts	11,73.5	17q25	TIMP2	
Rbt	11,74	17q25	TIMP2, CBX2	
Bst	16,31.5	3q13.2	COL8A1	
Sim2	16,67.6	21q22.2	SIM2	
mctl	17,18.5	6p21.3	COL11A2,RXRB	type 2 Stickler,OSMED
Fbn-2	18,29	5q23.3-q31	FBN2	CCA
Ocd	19,6	11q13	LTBP3	

### **2.5.5. Nöromusküler Skolyoz:**

Nöromusküler skolyoz; nörolojik, musküler hastalıklar, spinal kord tümörleri, serebral palsi gibi sendromları kapsayan oldukça geniş hastalık grubudur. Ayrıca nöromusküler skolyozda duyu bozuklukları, kas paralizileri ve kas dengesizliği nedeniyle oluşan kalça instabilitesi gibi problemler görülür. Nöromusküler skolyozun tedavisi oldukça zordur. Bunun sebebi nöromusküler skolyozda skolyotik eğriliği düzeltilmenin yanı sıra gövdeyi stabil duruma getirerek omurgada dik duruşu sağlamak zorunluluğu bulunmasıdır (67).

### **2.6. Array-CGH**

Comparative Genomic Hybridization (Array-CGH) sitogenetik analiz yöntemleri (FISH) ile birlikte mikroskobik ve submikroskobik kromozomal değişimlerin belirlenebilmesini sağlar. İki farklı genomun DNA'larının karşılaştırılması temeline dayanan CGH yöntemi karyotip analiz yöntemidir ve mikroarray teknolojilerinin geliştirilmesiyle genom parçaları halinde incelenebilmektedir (68,69). Array-CGH klasik CGH ile mikroarray teknolojilerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuştur (70).

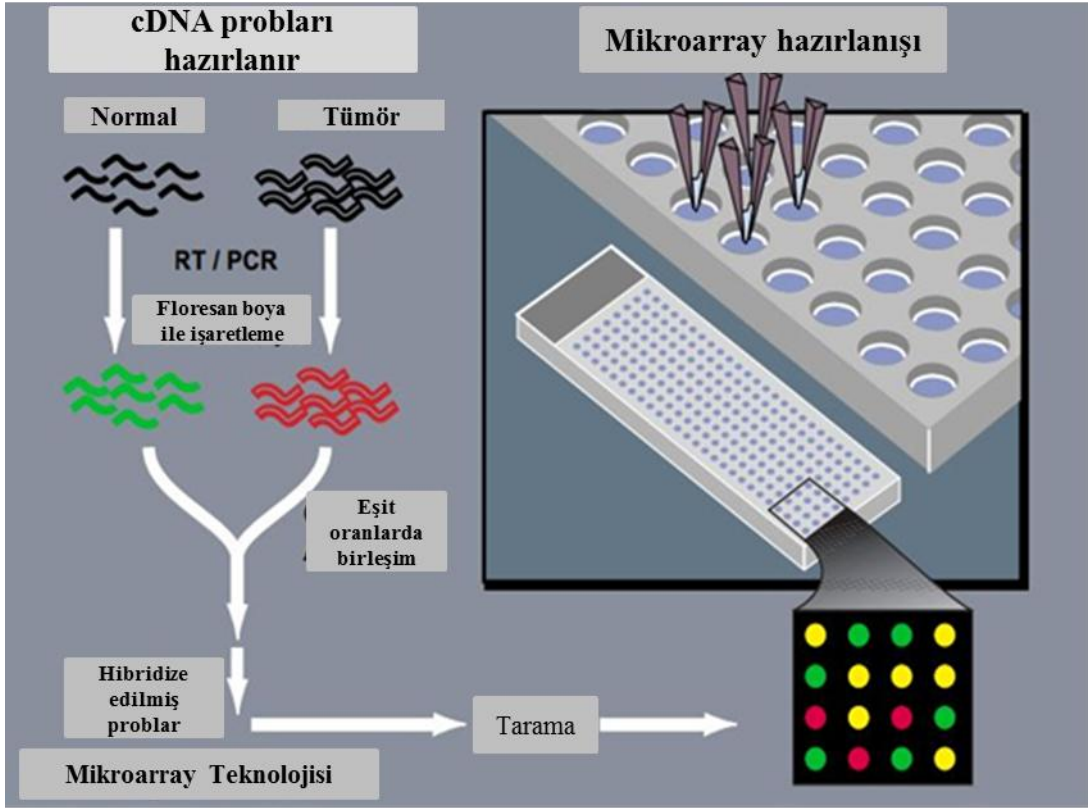
#### **2.6.1. Karşılaştırmalı Genomik Hibridizasyon**

CGH yönteminin gelişmesi genom içerisindeki kopya sayısı değişikliklerinin analizi için önemli adımlar atılmasını sağlamıştır (71). CGH'de test edilecek bir genomun DNA'sı bir renkte (kırmızı) floresan ile işaretlenir ve ikinci bir boya ile işaretli (yeşil) normal olduğu bilinen referans bir genom ile hibridize edilir. İşaretli problemler genomda büyük benzersiz sekansların sunumuna olanak sağlayan ve tekrarlayan yapıları baskılayan Cot1 DNA'sıyla ön hibridizasyon yapılır. İki genom arasında eşit kopya sayılı bölgeler; test ve referans DNA eşleştirme miktarı eşit olduğundan, bu bölgeler kırmızı ve yeşil karışımı olarak görünür. Test genomun herhangi bir bölgesinin delesyonunda referans DNA'sı test DNA'sından daha fazla eşleşir ve buralar yeşil görünür. Test genomun herhangi bir bölgesinin artışı veya kazanımında ise test DNA, referans DNA'dan daha fazla eşleşir ve buralar kırmızı görünür. Floresan oranının belirlenmesiyle, kopya sayısı değişimlerini gösterecek şekilde her bir metafaz kromozomunun uzunlukları boyunca floresan oran profilleri oluşturulur. CGH teknolojisi geliştirilirken asıl olarak metafaz kromozomu oluşturulması ve analizi zor olan solid tümörler üzerindeki çalışmalara olanak sağlanması amaçlanmıştır (72,73).

CGH yöntemi ile genom taraması ise yapısal anomali ve tekrarlanmayan yeniden düzenlenmelerin submikroskopik düzeylerde belirlenebilmesine olanak sağlar (74).

### 2.6.2. Mikroarray

Mikroarray tekniğinde nükleotid ve baz eşleşmesi temel alınmaktadır. Mikroarray tekniğinin en önemli avantajlarından biri de şu ana kadar belirlenmiş tüm insan genlerinin ekspresyonlarını tek bir reaksiyon ile gösterebilmesidir. Mikroarray çipleri, üzerindeki belirli noktalara binlerce farklı gen dizilerinin sabitlendiği veya eklendiği yüzeylerdir(75). Mikroarrayler çok çeşitli teknolojilerle üretilirler. Oligonükleotidler *in situ* olarak solid destekler üzerinde üretilirler. Ayrıca oligonükleotidler PCR ile üretilen fragmanlar ve cDNA'lar array üzerine print edilebilir. Mikroarrayler cDNA mikroarrayleri ve oligonükleotid mikroarrayleri olarak iki sınıfa ayrılabilir. cDNA arrayleri uzun, ilgilenilen mRNA'ya komplementer olurken oligonükleotid arrayler genelde 20-60 nükleotid uzunluğunda problemleri içerirler. Mikroarray teknolojisinde lam, silikon veya poliakrilamid gibi bir solid desteğin üzerine ilgilenilen materyalle ilgili (DNA, mRNA, protein, miRNA) problemler sırayla yerleştirilirler (76). Floresan boyalarla (Cy3, Cy5) işaretlenen örnekler problemlerin üzerine uygun koşullarda hibridize edilirler. Hibridasyon sonrasında yanlış bağlanan problemleri uzaklaştırmak için farklı tuz solüsyonları ile yıkama işlemi yapılır. Floresan boyalarının ışımaya yoğunlukları yüksek rezolüsyonlu tarayıcılarla belirlenir (Şekil 2-4) (77).



Şekil 2-4 Mikroarray işlem süreci

Ref(77)'den değiştirilerek alınmıştır.

## 2.7. Mikroarray Çeşitleri

Mikroarray teknolojisinin gelişimiyle beraber farklı genetik çalışmalar için çok çeşitli mikroarray teknolojileri üretilmiştir. Bu teknolojiler aşağıda liste olarak verilmiştir.

- 1) Nükleotid mikroarrayleri
- 2) Ekspresyon arrayleri
- 3) Mutasyon/Polimorfizm arrayleri
- 4) MikroRNA Arrayleri
- 5) Tekrar-dizileme arrayleri
- 6) Protein mikroarrayleri
- 7) Doku mikroarrayleri
- 8) Array-CGH

### **2.7.1. Nükleotid Mikroarrayleri**

Nükleotid arrayleri DNA ve RNA ile ilgili çalışmaları kapsar. RNA ile ilgili çalışmalarda RNA'nın kantitatif analizi yapılarak gen ifadelerine bakılırken; DNA ile ilgili çalışmalarda ise DNA'nın kontrol DNA ile istatistiksel farkı göz önüne alınarak kromozomal değişimler, SNP ve CNV'ler belirlenir.

### **2.7.2. Ekspresyon arrayleri**

Ekspresyon arrayleri gen ifadesi seviyelerindeki değişikliklerin tespiti ve düzeyinin belirlenmesinde kullanılır. Sabitlenmiş probalar, bilinen genlerden sentezlenmiş cDNA'ların komplementerleridirler. Ayrıca bazı çalışmalarda kullanılmak üzere normal ve hastalıklı hücrelerden ayrıştırılan mRNA'lardan hibridizasyon için bunların dönüştürülmesiyle elde edilen cDNA'lar örnek ve kontrol DNA'ları olarak kullanılırlar. Bu yöntem ile ifade seviyelerinde değişim gösteren genler belirlenir.

### **2.7.3. Mutasyon/Polimorfizm arrayleri**

Mutasyon-Polimorfizm arrayleri belirli genlerdeki mutasyonları ve polimorfizmleri belirlemek için kullanılırken, bu çalışmalarda prob üzerinde sabitlenmiş DNA tek bir nükleotid dizisinden oluşur. SNP mikroarrayleri genetik varyasyonu belirlemek amacıyla kullanılır. Ayrıca genetik çeşitlilik ve genetik hastalıklara yatkınlıktan sorumlu olabilecek SNP'ler belirlenebilir. SNP'lerin kişisel farklılıklara neden olduğu düşünülmektedir ve bu SNP değişimleri eğer ekzon içindeyse gen ekspresyonunda da değişimler gözlenebilir (79). Ayrıca SNP mikroarrayleri kanser oluşumu ile ilgili somatik mutasyonların heterozigotluk kaybını belirlenmesini sağlar. Genotipleme, bağlantı analizleri gibi bir çok alanda kullanılabilir.

### **2.7.4. MikroRNA arrayleri**

MikroRNA'lar protein kodlamayan tek zincirli 20-22 baz uzunluğunda olan RNA molekülleridir ve transkripsiyon sonrası mekanizma ile gen ekspresyonunu baskırlar. Kanserle ilişkileri bulunmuştur, hedefledikleri gene göre onkogenik ve tümörsupresör mikroRNA'lar olmak üzere iki sınıfta toplanırlar. MikroRNA arrayleri ekspresyon arraylerine benzer (80,81).

### **2.7.5. Tekrar-Dizileme Arrayleri**

Tekrar-dizileme arrayleri iki ya da daha fazla genomdaki DNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla aradaki farklılıkların tespit edilmesine dayanmaktadır (82).

### 2.7.6. Protein mikroarrayleri

Protein mikroarraylerinde sabitlenen moleküllerin belirlenmiş hedef bir moleküle bağlanma özelliği vardır. Protein mikroarrayleri farklı içeriklere sahip olabilirler ve buna göre sınıflandırılırlar. Protein-protein, antijen-antikor, enzim-substrat, nükleik asit-protein gibi çeşitleri mevcuttur.

### 2.7.7. Doku mikroarrayleri

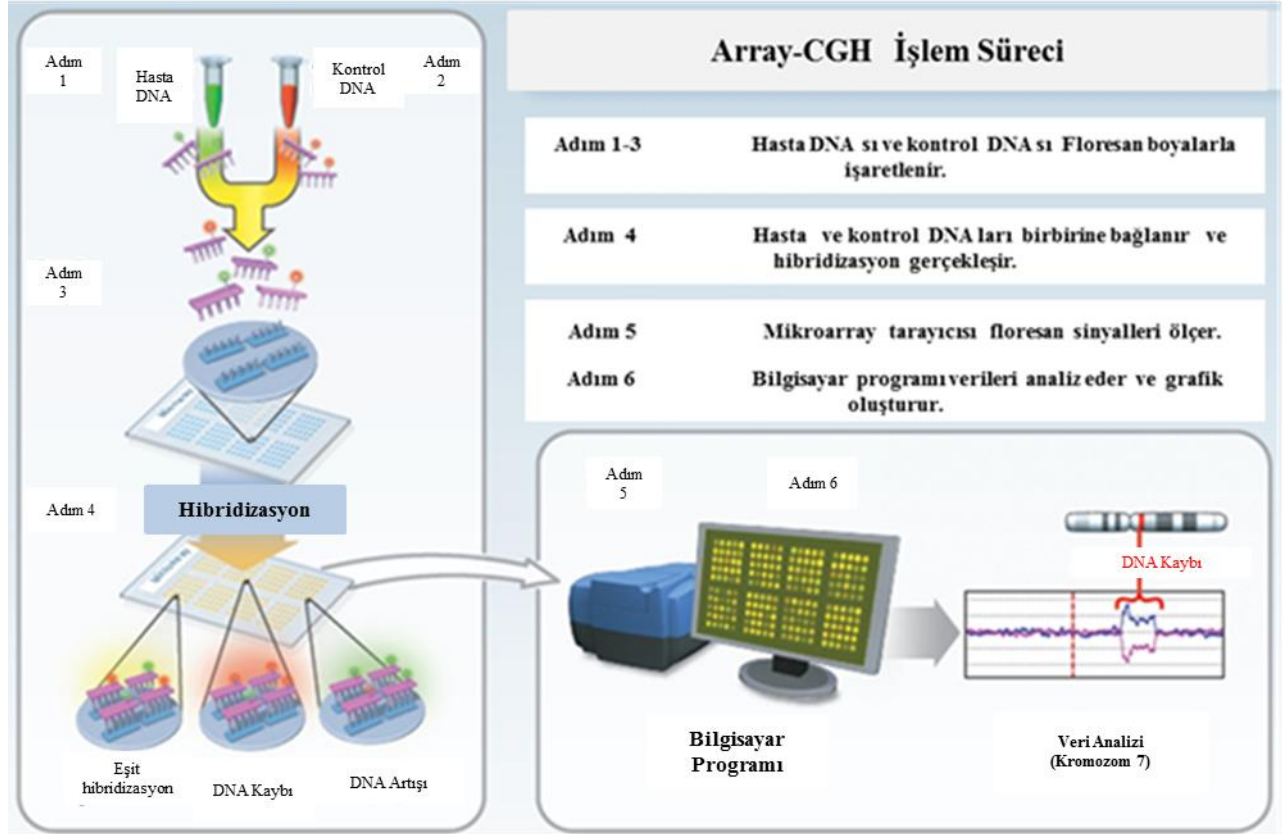
Doku mikroarrayleri *in situ* bulgular, klinik-patolojik çalışmalara olanak sağlamıştır. Doku mikroarraylerinden elde edilen parçalar *in situ* doku analizlerinde kullanılabilir (83). Çünkü bu bulgular, araştırmada kullanılan dokunun özelliklerini çok iyi göstermektedir. Doku mikroarrayleri iyi bir karakterizasyonla beraber tümör çalışmalarında çok önemli ilerlemeler sağlayabilirler (84).

### 2.7.8. Array-CGH

Oligoarrayler DNA problemlerinin belirli bir düzenle bir yüzeye sabitlenmesiyle meydana getirilir. Bu oligoarrayler 25-75 baz çiftinden meydana gelmekle beraber oluşturulan DNA problemlerinin boyutları çalışma yapılacak bölgeye göre değişiklikler gösterebilir. Array-CGH (karşılaştırılmalı genomik hibridizasyon) referans ve test genomlarının karşılaştırılmasını içerir ve genellikle oligoarraylerin en çok kullanılan çalışma alanıdır. Array-CGH belirli bir düzenle cam üzerine dizilenmiş klonlarla metafazın oluşturulmasıdır. Array-CGH, DNA mikroarray ve CGH'in birleştirilmesiyle elde edilmiş bir tekniktir ve bu sayede genomik yeniden düzenlenmenin yüksek rezolüsyonlu analizi gerçekleştirilebilmektedir. Array-CGH yöntemi genomdaki kopya sayısı değişimlerinin tespit edilmesi ve yeniden düzenlenim bölgelerinin haritalanması, yüksek çözünürlükte moleküler karyotipleme, amaçlanan bazların çözümünün tek bir hibridizasyonla yapılabilmesini sağlar. Ayrıca array-CGH ile DNA'daki submikroskopik değişimler, genomun küçük bölgelerinde meydana gelen kantitatif değişimler, düzenli bir şekilde boyut ve aralıklarıyla beraber saptanabilir. Array-CGH in en büyük avantajlarından biri de konvansiyonel karyotip analizlerinde belirlenemeyen submikroskopik yeniden düzenlenmelerin gözlenebilmesidir. Bu yöntem ile submikroskopik dengesiz kromozomal yeniden düzenlenimler saptanabildiği gibi dengeli translokasyon bozuklukları da ortaya çıkarılabilir. Bu sayede array-CGH klinikte tanıya yönelik çok önemli avantajlar sağlar (86). Array-CGH iki farklı floresan (yeşil,kırmızı) boya kullanılarak örnek ve referans DNA'lar eşit oranda eşleştirilmesi



ve bu eşleştirmenin ardından floresan miktarlarının ölçülmesiyle gerçekleştirilir. Eşleşme miktarında meydana gelen orantısız floresan değişimleri ile bozukluk veya genomun problemlili parçası tespit edilir. Array-CGH yönteminin geleneksel CGH yöntemine göre en büyük avantajı ise array-CGH de kullanılan problemlerin metafaz kromozomlarından çok daha küçük boyutlarda olmasıdır. Array CGH aşamaları Şekil 2-5'te verilmiştir (85,87,88).



**Şekil 2-5 Array CGH Aşamaları**

Ref(87)'den değiştirilerek alınmıştır.

## 2.8. Mikroarray Tasarımı

### 2.8.1. Mikroarray Platformları

Mikroarrayler birçok teknoloji kullanılarak üretilebilirler. Genellikle standart mikroarraylerde problemler sentezlenerek kimyasal bir matris kullanmak suretiyle sağlam bir yüzeye kovalent bağla yüzey mühendisliği teknolojilerinden faydalanılarak eklenir. Kullanılacak katı yüzey olarak plastik, cam veya silikon tercih edilir. Genellikle katı yüzey cam, plastik veya silikon olabilir.

Ayrıca oligonükleotid problemler direkt katı yüzey üzerinde sentezlenerek de mikroarrayler üretilebilirler. '*In situ*' olarak katı yüzey üzerinde üretilen problemlerin yanında, cDNA'lar veya PCR ile üretilen fragmanlarda array üzerine print edilebilir (89).

Mikroarraylerin üretim şeklinde, kullanılacağı çalışmalarda alınacak verimlilik oranı ve maliyetleri arasında çeşitli farklar vardır. Ayrıca mikroarray deneylerinde deneyin dizaynı ve veri analiz metodu da önemlidir. Mikroarraylerde prob sayısı sınırlıdır ve bu sınırın belirlenmesinde problemlerin sabitlendiği yüzeyin özelliği önemli faktördür.

### **2.8.2. Prob hazırlanması ve işaretlenmesi**

Problemlerin hazırlanmasındaki ilk aşama kontrol ve deney kaynaklarından DNA veya RNA'nın istenilen kısmının ya da DNA veya RNA'nın tamamının izole edilerek elde edilmesidir. Elde edilen nükleotid materyalinin bütünlüğünü doğrulamak amacıyla denatüre jel elektroforezi kullanılabilir. Bu jel elektroforez aşamasında eğer istenilen nükleotid materyalinde parçalanma meydana geldiği açığa çıkarsa bu materyal işaretleme aşamasında kullanılamaz.

Prob üretiminde sonraki aşamada ise bu nükleotid materyalleri floresan boyalar ile işaretlenir. Bu işaretleme reaksiyonlarında genellikle cyanine boyalar (Cy3,Cy5) kullanılır. Prob işaretlemeleri bazı farklı boyalar kullanılarak doğrudan veya dolaylı olarak çok çeşitli şekillerde de yapılabilir (90).

### **2.8.3. Array tasarımı**

Array slaytının uygun bölgesine amaçlanan transkriptin doğru bir şekilde sentezlenmesi ve spotlanması arrayin kalitesini belirler. Array tasarlanırken en çok dikkat gösterilmesi gereken nokta da, prob veya klonların sayısının, uzunluğunun seçilebilmesine olanak sağlayan dizileri sunabilmesi, elde edilmek istenilen dizinin açık veri tabanlarında seçilebilmesine imkan sağlayabilmesidir.

Array tasarımında transkriptlerin ifadelerinin tanımlanması, açıklanması ve bütünlüğünü koruması önemlidir. Genellikle array tasarımında iki tip prob kullanılır: Bunlar hedef diziyi birebir tamamlayan prob (PM) ve oligonükleotidlerin merkezindeki tek bir nükleotid uyumsuzluğunu saptayabilen problemlerdir (MM). Kullanılacak problemlerin sayısı deneyde istenilen amaca göre değişiklik gösterebilir. Farklı deneyler için farklı

sayıda kontrol problemleri içeren arrayler de üretilmektedir. Ayrıca kalite kontrol testleri içinde özel problemler vardır.

Tarama sonrası array üzerindeki sinyal yoğunluklarının güvenilir şekilde dağılımını sağlamak amacıyla prob setleri array üzerine dama deseni biçiminde yerleştirilir. Prob seçimi deneyde istenilen amaca göre belirlenir. Örneğin nükleotid analizi için yüksek yoğunluklu veya yeniden dizinin taranmasına yönelik problemler, bilinen belli transkriptte, ortak transkript dizi bölgesine ya da poliadenilasyon bölgelerine göre gen ifadesi elde etmeye yarayan problemlerdir (91).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Örneklerin Eldesi

Çalışma grubumuz Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Genetik bölümünde tanısı konularak gözlenen hastalar arasından seçilerek oluşturuldu.

Skolyoz tanısı konularak temel probleminin skolyozla ilişkili olarak belirlenmiş olması çalışmaya dahil edilme kriteri olarak saptandı. Etyolojisinde herhangi bir moleküler nedenin belirlenmediği hastalar seçildi. İzole olmayan skolyozlar ile gelişimli skolyoz hastaları çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya dahil edilen hastalar detaylı bir şekilde öykü, fizik muayene, radyolojik görüntülemeler ve moleküler testler yapılarak belirlendi.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda yaşları 9 ile 33 arasında değişen, 3'ü erkek 5'i dişi 8 hasta çalışmaya dahil edildi. Bu sayı slaytların yapısı ve projenin bütçesi doğrultusunda belirlendi.

Tüm hastalardan ve ailelerinden bilgilendirilmiş olur formu alındı. Hastalardan örnek alımı ve analiz çalışmalarına İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Değerlendirme Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı.

##### 3.1.2. Gereç ve Cihazlar

###### 3.1.2.1. Çalışmada Kullanılan Ekipman ve Sarf Malzemeleri

- Buzdolabı (4 °C) (Vestel, Türkiye)
- Derin Dondurucu (-20°C) (Vestel, Türkiye)
- Derin Dondurucu (-80°C) (Wisd, DAIHAN Scientific, Kore)
- Nanodrop spektrofometre (Thermo Scientific-ND 2000c, Almanya)
- Laminar air-flow (Class II Safety Cabinet) (Metisafe, Türkiye)
- Mikropipet (Thermo Scientific, Almanya)
- Mini Santrifüj (Thermo Scientific, Almanya)

- Santrifüj (Hettich Retina 420R, Almanya)
- Hibridizasyon Etüvü (Shel Lab, Oregon, ABD)
- Termal döngü cihazı (PZR) (Techne-TC 5000, ABD)
- Vorteks (Wise Mix-VM10, Kore)
- 0.2-1.5 ml Eppendorf (Nest Biotechnology, Çin)
- DNA İzolasyon Kiti (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
- Agilent SureTag Complete DNA Labeling Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Slayt koruyucu (Ozon bariyer) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Gasket slayt (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Pens
- Chamber (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Agilent Microarray Scanner with Surescan High Resolution Technology (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Moleküler Genetik uygulamaları için gerekli diğer sarf malzemeler

### **3.1.2.2. Solüsyonlar**

- DNA İzolasyon Kiti Roche Applied Science(Basel, İsviçre)
- Agilent SureTag Complete DNA Labeling Kit (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- GE Wash Buffer I (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- GE Wash Buffer II (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Cyanine 3 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Cyanine 5 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)
- Agilent Cot-1 Human DNA (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD)

### 3.1.2.3. Bilgisayar Programları

- Feature Extraction software (Agilent Technologies, CA, ABD)
- Agilent CytoGenomics 1.5

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Konjenital İdiyopatik Skolyoza Özgü Yüksek Rezolüsyonlu Array-CGH Tasarımı

Yapılan araştırma ve analizler sonucunda skolyoz ve iskelet displazileri ile ilgili olduğu tespit edilen 226 gen ile beraber Uluslararası Sitogenetik Array Standartizasyon Grubu (ISCA) tarafından tüm genomu tarayan ve kromozomal bölgelerinde incelenmesine olanak sağlayacak şekilde lokusa özgü tasarım olanağı sunan yeni teknolojiler kullanılarak array-CGH slayt tasarımı yapıldı. Konjenital/İdiyopatik skolyoz ve iskelet displazileri ile ilişkilendirilen, etyolojilerinde rol oynayan genler Tablo 3-1’de verilmiştir. Hibridizasyon ortamı olarak tüm genomun taranmasına imkan sağlayan yüksek özgüllükte eşleşmeye uygun 60 merproblar içeren istek dahilinde tasarım yapılmasına olanak sağlayan ve elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için uygun yazılım programlarını temin etmesi nedeniyle Agilent firması tarafından kullanıma sunulan “SurePrint G3 Custom CGH 8x60K” slaytı ile çalışıldı. Bu slaytlar içerisinde 8 ayrı hasta için konulmuş çipleri bulunduran lamlardır. Dizayn ve sipariş için Agilent Inc.e ait [earray.chem.agilent.com/earray](http://earray.chem.agilent.com/earray) mikroarray web programı kullanıldı. Bu E-Array programı Agilent firmasına ait olup isteğe bağlı lokusa özgü spesifik prob dizaynına olanak sağlayan web programıdır. Biz bu program içerisinde değişik array tasarımlarına olanak sağlayan alt tasarımlardan array-CGH tasarımı için dizayn edilmiş CGH alt tasarım yüzünü kullandık. Sistem veri tabanında kullanıma uygun problemler bulunmaktadır. Bu problemler ilişkili genlerin pozisyonları dikkate alınarak lokusa spesifik problemler şeklinde dizayn edildi. Programda daha spesifik prob gruplarına olanak sağlamak amacıyla çeşitli filtreleme seçenekleri bulunmaktadır. Fakat bu taramada genomun herhangi bir yerinde mevcut olabilecek en küçük bir değişikliği dahi kaçırmamak amacı ile herhangi bir filtreleme işlemi uygulanmamıştır. Yüksek rezolüsyon elde edebilmek için programdaki kullanıma sunulmuş problemleri ilgili lokuslara 200-500 bp aralığında olacak şekilde mikroçipler üzerine yerleştirdik. Böylece ticari çiplere göre çok daha hassas (zoom-in) analiz verileri elde etme

imkanımız oldu. Analizde oluşabilecek herhangi bir sinyal kirliliğini engellemek ve analiz sonuçlarının değerlendirilmesini güvenli aralıkta gerçekleştirebilmek için prob yerleşimi, sinyal log<sub>2</sub> değeri -1/+1 aralığında olacak şekilde tasarlandı. İS ve KS için belirlenen, ayrıca iskelet displazileri ile de ilişkilendirilmiş 226 geni inceleyebilmek ve bu genlerin hem ekzonik hem de intronik bölgelerini tarayabilmek amacıyla sistemdeki maksimum prob sayısı olarak belirlenmiş 14127 prob kullanıldı. ISCA'nın tanımladığı 44000 adet prob da bizim incelediğimiz lokuslar dışında olabilecek CNV değişimlerini yakalayabilmek için tüm genomu kapsayacak şekilde mikroçipe ilave edildi. Tarama cihazından elde edilen prob sinyallerini sağlıklı okuyabilmesi için sistem içinden bir normalizasyon işlemi gerçekleştirildi. Ayrıca UCSC genome browser aracılığıyla, tasarladığımız problemlerin hem ilgili lokuslar hem de tüm genom üzerindeki dağılımı incelenebilmiş ve dizaynın deneylerden önce konfirme edilmesi mümkün olmuştur. Tüm bu işlemlerin sonunda, 44000 problemlük tüm genom taramasına ilave olarak, İS ve KS ile ilgili, iskelet displazileri ile ilişkilendirilen 226 gene özgü 14127 problemlük mikroçip tek çip şeklinde tasarlanmış oldu ve firmaya bunu üretmesi için 8 hastalık slayt olarak sipariş yapıldı.

Tablo 3-1 KS/İS ve İskelet Displazileri ile ilişkilendirilen etyolojilerinde rol oynayan genler

Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
<b>5. Perlekan grubu</b>				
Dissegmental displazi, Silverman-Handmaker tip	OR	224410	1q36-34	<i>PLC (HSPG2)</i>
Dissegmental displazi, Rollve-Desbuquois tip	OR	224400	1q36-34	<i>PLC (HSPG2)</i>
Schwartz-Jampel sendromu (miyotonik kondrodistrofi)	OR	255800	1q36-34	<i>PLC (HSPG2)</i>
<b>6. Aggrekan grubu</b>				
SED, Kimberley tip	OD	608361	15q26	<i>AGC1</i>
SEMD, Aggrekan tip	OR	612813	15q26	<i>AGC1</i>
Ailevi osteokondritis dissekans	OD	165800	15q26	<i>AGC1</i>
<b>7. Filamin grubu ve ilişkili bozukluklar</b>				
Frontometafiziyal displazi	XLD	305620	Xq28	<i>FLNA</i>
Osteodisplasti Melnick-Needles	XLD	309350	Xq28	<i>FLNA</i>
Otopalatodijital sendrom tip 1 (OPD1)	XLD	311300	Xq28	<i>FLNA</i>
Otopalatodijital sendrom tip 2 (OPD2)	XLD	304120	Xq28	<i>FLNA</i>
Terminal osseos displazi ve pigmenter defektler (TODPD)	XLD	300244	Xq28	<i>FLNA</i>
Atelosteogenezis tip 1 (AO1)	OD	108720	3p14.3	<i>FLNB</i>
Atelosteogenezis tip 3 (AO3)	OD	108721	3p14.3	<i>FLNB</i>
Larsen sendromu (dominant)	OD	150250	3p14.3	<i>FLNB</i>
Spondilo-karpal-tarsal displazi	OR	272460	3p14.3	<i>FLNB</i>
Spondilo-karpal-tarsal displazi	OR	272460		
Franck-ter Haar sendromu	OR	249420	5q35.1	<i>SH3PXD2B</i>
Serpentine fibula—polikistik böbrek sendromu	OD?	600330		
<b>8. TRPV4 grubu</b>				
Metatropik displazi	OD	156530	12q24.1	<i>TRPV4</i>
Spondiloepimetafiziyal displazi, Maroteaux tip (Pseudo-Morquio sendromu tip 2)	OD	184095	12q24.1	<i>TRPV4</i>
Spondilometafiziyal displazi, Kozlowski tip	OD	184252	12q24.1	<i>TRPV4</i>
Brakiolmia, otozomal dominant tip	OD	113500	12q24.1	<i>TRPV4</i>
Ailevi parmak artropatisi ve brakidaktili	OD	606835	12q24.1	<i>TRPV4</i>
<b>9. Kısa-kosta displazileri (ve/veya polidaktili) grubu</b>				
Kondroektodermal displazi (Ellis-van Creveld)	OR	225500	4p16	<i>EVC1</i>
			4p16	<i>EVC2</i>
Kısa kosta—polidaktili sendromu (SRPS) tip 1/3 (Saldino-Noonan/Verma-Naumoff)	OR	263510	11q22.3	<i>DYNC2H1</i>
SRPS tip 1/3 (Saldino-Noonan/Verma-Naumoff)	OR	263510	3q25.33	<i>IFT80</i>
SRPS tip 1/3 (Saldino-Noonan/Verma-Naumoff)	OR	263510		
SRPS tip 2 (Majewski)	OR	263520		<i>NEK1</i>
SRPS tip 4 (Beemer)	OR	269860		
Oral-fasiyal-dijital sendromu tip 4 (Mohr-Majewski)	OR	258860		
Asfiksiatik torasik displazi (ATD; Jeune)	OR	208500	3q25.33	<i>IFT80</i>
Asfiksiatik torasik displazi (ATD; Jeune)	OR	208500	11q22.3	<i>DYNC2H1</i>
Asfiksiatik torasik displazi (ATD; Jeune)	OR	208500		



Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
Torakolaringopelvik displazi (Barnes)	OD	187760		
<b>10. Multiple epifizial displazi ve Psödoakondroplazi grubu</b>				
Psödoakondroplazi (PSACH)	OD	177170	19p12-13.1	COMP
Multiple epifizial displazi (MED) tip 1 (EDM1)	OD	132400	19p12-13.1	COMP
Multiple epifizial displazi (MED) tip 2 (EDM2)	OD	600204	1p32.2-33	COL9A2
Multiple epifizial displazi (MED) tip 3 (EDM3)	OD	600969	20q13.3	COL9A3
Multiple epifizial displazi (MED) tip 5 (EDM5)	OD	607078	2p23-24	MATN3
Multiple epifizial displazi (MED) tip 6 (EDM6)	OD	120210	6q13	COL9A1
Multiple epifizial displazi (MED), diğer tipleri				
Stickler sendromu, resesif tip	OR	120210	6q13	COL9A1
Ailevi kalça displazisi (Beukes)	OD	142669	4q35	
Multiple epifizial displazi ve Mikrosefali ve nistagmus (Lowry-Wood)	OR	226960		
<b>11. Metafiziyal displaziler</b>				
Metafiziyal displazi, Schmid tip (MCS)	OD	156500	6q21-22.3	COL10A1
Kartilaj-hair hipoplazi (CHH; Metafiziyal displazi, McKusick tip)	OR	250250	9p13	RMRP
Metafiziyal displazi, Jansen tip	OD	156400	3p22-21.1	PTHR1
Eiken displazi	OR	600002	3p22-21.1	PTHR1
Metafiziyal displazi, pankreatik yetersizlik ve sıklık nötrojeni (Shwachman-Bodian-Diamond sendromu, SBDS)	OR	260400	7q11	SBDS
Metafiziyal anadisplazi tip 1	OD,OR	309645	11q22.2	MMP13
Metafiziyal anadisplazi tip 2	OR		20q13.12	MMP9
Metafiziyal displazi, Spahr tip	OR	250400		
Metafiziyal Akroskifodisplazi (değişik tipleri)	OR	250215		
Genokondromatozis (tip 1/tip 2)	OD/SP	137360		
Metafiziyal kondromatozis ve D-2-hidroxyglutarik asiduri	OR/SP	271550?		
<b>12. Spondilometafiziyal displazi (SMD)</b>				
Spondiloenkondrodizplazi (SPENCD)	OR	271550	19p13.2	ACP5
Odontokondrodizplazi (ODCD)	OR	184260		
Spondilometafiziyal displazi, Sutcliffe tip or corner fraktürler tipi	OD	184255		
SMD ve şiddetli genu valgum	OD	184253		
SMD ve koni-rod Distrofi	OR	608940		
SMD ve retinal degeneration, aksial tip	OR	602271		
Dispondiloenkondromatozis	SP			
Cheiro-spondiloenkondromatozis	SP			
<b>13. Spondilo-epi-(meta)-physeal displazi (SE(M)D)</b>				
Dyggve-Melchior-Clausen displazi (DMC)	OR	223800	18q12-21.1	DYM

Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
Immuno-osseos displazi (Schimke)	OR	242900	2q34-36	<i>SMARCAL1</i>
SED, Wolcott-Rallison tip	OR	226980	2p12	<i>EIF2AK3</i>
SEMD, Matrilin tip	OR	608728	2p23-p24	<i>MATN3</i>
SEMD, sort limb—anormal kalsifikasyon tip	OR	271665	1q23	<i>DDR2</i>
SED tarda, X-linked (SED-XL)	XLR	313400	Xp22	<i>SEDL</i>
Spondilo-megaepifizialmetafiziyal displazi (SMMD)	OR	613330	4p16.1	<i>NKX3-2</i>
Spondilodisplastik Ehlers-Danlos sendromu	OR	612350	11p11.2	<i>SLC39A13</i>
SPONASTRIME displazi	OR	271510		
SEMD ve eklem laksitesi (SEMD-JL) leptodaktilik or Hall tip	OD	603546		
SEMD ve eklem laksitesi (SEMD-JL) Beighton tip	OR	271640		
Platispondili (brakiolmia) ve amelogenesis imperfekta	OR	601216		
Geç başlangıçlı SED, otozomal resesif tip	OR	609223		
Brakiolmia, Hobaek ve Toledo tip	OR	271530		
		271630		
<b>14. Şiddetli spondilodisplastik displazi</b>				
Akondrojenesis tip 1A (ACG1A)	OR	200600	14q32.12	<i>TRIP11</i>
Schneckenbecken displazi	OR	269250	1p31.3	<i>SLC35D1</i>
Spondilometafiziyal displazi, Sedaghatian tip	OR	250220		
Şiddetli spondilometafiziyal displazi (SMD Sedaghatian-benzeri)	OR		7q11	<i>SBDS</i>
Opsismodisplazi	OR	258480		
<b>15. Akromelik displazi</b>				
Trikorinofalangeal displazi tipler 1/3	OD	190350	8q24	<i>TRPS1</i>
Trikorinofalangeal displazi tip 2 (Langer-Giedion)	OD	150230	8q24	<i>TRPS1 ve EXT1</i>
Akrokapitofemoral displazi	OR	607778	2q33-q35	<i>IHH</i>
Kranioektodermal displazi (Levin-Sensenbrenner) tip 1	OR	218330	3q21	<i>IFT122</i>
Kranioektodermal displazi (Levin-Sensenbrenner) tip 2	OR	613610	2p24.1	<i>WDR35</i>
Geleofizik displazi	OR	231050	9q34.2	<i>ADAMTSL2</i>
Geleofizik displazi, diğer tipler	OR			
Akromikrik displazi	OD	102370		
Akrodisostozis	OD	101800		
Angel-shaped falango-epifizial displazi (ASPED)	OD	105835		
Saldino-Mainzer displazi	OR	266920		
<b>16. Akromezomelik displaziler</b>				
Akromezomelik displazi tip Maroteaux (AMDM)	OR	602875	9p13-12	<i>NPR2</i>
Grebe displazi	OR	200700	20q11.2	<i>GDF5</i>
Fibular hipoplazi ve kompleks brakidaktili (Du Pan)	OR	228900	20q11.2	<i>GDF5</i>
Akromezomelik displazi ve genital anomaliler	OR	609441	4q23-24	<i>BMPRI1B</i>
Akromezomelik displazi, Osebold-Remondini tip	OD	112910		



Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
<b>17. Mezomelik ve Rizo-mezomelik displaziler</b>				
Diskondrosteosis (Leri-Weill)	Psödo-OD	127300	Xpter-p22.32	<i>SHOX</i>
Langer tip (homozigot Diskondrosteosis)	Psödo-OR	249700	Xpter-p22.32	<i>SHOX</i>
Omodisplazi	OR	258315	13q31-q32	<i>GPC6</i>
Robinow sendromu, resesif tip	OR	268310	9q22	<i>ROR2</i>
Robinow sendromu, dominant tip	OD	180700		
Mezomelik displazi, Korean tip	OD		2q24-32	<i>Duplication in HOXD gene cluster</i>
Mezomelik displazi, Kantaputra tip	OD	156232	2q24-32	<i>Duplication in HOXD gene cluster</i>
Mezomelik displazi, Nievergelt tip	OD	163400		
Mezomelik displazi, Kozłowski-Reardon tip	OR	249710		
Mezomelik displazi ve akral sinostozis (Verloes-David-Pfeiffer tip)	OD	600383	8q13	<i>SULF1 ve SLC5A1</i>
Mezomelik displazi, Savarirayan tip (Triangular Tibia-Fibular Aplazi)	SP	605274		
<b>18. Bükülmüş kemiklerle giden displaziler</b>				
Kampomelik displazi (CD)	OD	114290	17q24.3-25.1	<i>SOX9</i>
Stüve-Wiedemann displazi	OR	601559	5p13.1	<i>LIFR</i>
Kıfomelik displazi, şiddetli form		211350		
<b>19. Slindir kemik displazi grubu</b>				
3-M sendromu (3M1)	OR	273750	6p21.1	<i>CUL7</i>
3-M sendromu (3M2)	OR	612921	2q35	<i>OBSL1</i>
Kenny-Caffey displazi tip 1	OR	244460	1q42-q43	<i>TBCE</i>
Kenny-Caffey displazi tip 2	OD	127000		
Mikrosefalik osteodisplastik primordial dwarfizm tip 1/3 (MOPD1)	OR	210710		
Mikrosefalik osteodisplastik primordial dwarfizm tip 2 (MOPD2; Majewski tip)	OR	210720	21q	<i>PCNT2</i>
IMAGE sendromu (intrauterine büyüme geriliği, metafiziyal displazi, adrenal hipoplazi ve genital anomaliler)	XL/OD	300290		
Osteokraniostenozis	SP	602361		
Hallermann-Streiff sendromu	OR	234100		
<b>20. Displaziler ve multiple eklem dislokasyonları</b>				
Desbuquois displazi (ve 2 parmakta ilave kemikleşme merkezi)	OR	251450	17q25.3	<i>CANT1</i>
Desbuquois displazi ve kısa metakarpaller ve uzun falanks (Kim tip)	OR	251450	17q25.3	<i>CANT1</i>
Desbuquois displazi (diğer variants ve/veya ilave)	OR			

Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
kemikleşme merkezi)				
Psödodistrofik displazi	OR	264180		
<b>21. Kondrodisplazi punktata (CDP) grubu</b>				
CDP, X-linked dominant, Conradi-Hünemann tip (CDPX2)	XLD	302960	Xp11	<i>EBP</i>
CDP, X-linked resesif, brakitelefalanjik tip (CDPX1)	XLR	302950	Xp22.3	<i>ARSE</i>
Konjenital hemidisplazi, işhiozis, limb defekt (CHILD)	XLD	308050	Xp11	<i>NSDHL</i>
Konjenital hemidisplazi, işhiozis, limb defekt (CHILD)	XLD	308050	Xq28	<i>EBP</i>
Greenberg displazi	OR	215140	1q42.1	<i>LBR</i>
Rizomelik CDP tip 1	OR	215100	6q22-24	<i>PEX7</i>
Rizomelik CDP tip 2	OR	222765	1q42	<i>DHPAT</i>
Rizomelik CDP tip 3	OR	600121	2q31	<i>AGPS</i>
CDP tibial-metakarpal tip	OD/OR	118651		
Astley-Kendall displazi	OR?			
<b>22. Neonatal osteosklerotik displazi</b>				
Blomstrand displazi	OR	215045	3p22-21.1	<i>PTHR1</i>
Desmosterolozis	OR	602398	1p33-31.1	<i>DHCR24</i>
Caffey hastalık (yenidoğan ve akkiz şekilleriyle beraber)	OD	114000	17q21-22	<i>COL1A1</i>
Caffey hastalık (şiddetli varyant ve prenatal başlangıçlı)	OR	114000		
Raine displazi (letal ve non-letal formlar)	OR	259775	7p22	<i>FAM20C</i>
<b>23. Artmış kemik dansitesi grubu (kemik şeklinde modifikasyon olmaksızın)</b>				
Osteopetrozis, şiddetli neonatal ya da infantil form (OPTB1)	OR	259700	11q13	<i>TCIRG1</i>
Osteopetrozis, şiddetli neonatal ya da infantil form (OPTB4)	OR	611490	16p13	<i>CLCN7</i>
Osteopetrozis, infantil form ve sinir sistemini içeren (OPTB5)	OR	259720	6q21	<i>OSTM1</i>
Osteopetrozis, ağır form, zayıf-osteoklastlar (OPTB2)	OR	259710	13q14.11	<i>RANKL (TNFSF11)</i>
Osteopetrozis, infantil form, zayıf-osteoklastlar ve immunoglobulin yetersizliği (OPTB7)	OR	612302	18q21.33	<i>RANK (TNFRSF11A)</i>
Osteopetrozis, ağır form (OPTB6)	OR	611497	17q21.3	<i>PLEKHM1</i>
Osteopetrozis, form (OPTA2)	OR	259710	16p13	<i>CLCN7</i>
Osteopetrozis ve renal tubular asidozis (OPTB3)	OR	259730	8q22	<i>CA2</i>
Osteopetrozis, geç başlangıçlı form tip 1 (OPTA1)	OD	607634	11q13.4	<i>LRP5</i>
Osteopetrozis, geç başlangıçlı form tip 2 (OPTA2)	OD	166600	16p13	<i>CLCN7</i>
Osteopetrozis ve ektodermal displazi ve immün defekt (OLEDAID)	XL	300301	Xq28	<i>IKBK6 (NEMO)</i>
Osteopetrozis, orta form ve lökosit adezyonunda defekt (LAD3)	OR	612840	11q12	<i>FERMT3 (KIND3)</i>
Osteopetrozis, orta form ve lökosit adhesion defekti	OR	612840	11q13	<i>RASGRP2 (CalDAG-GEF1)</i>
Piknodisostozis	OR	265800	1q21	<i>CTSK</i>
Osteopoikilosis	OD	155950	12q14	<i>LEMD3</i>



Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
Meliorheostozis ve osteopoikilosis	OD	155950	12q14	<i>LEMD3</i>
Osteopati striata ve kraniyal sklerozis (OSCS)	XLD	300373	Xq11.1	<i>WTX</i>
Meliorheostozis	SP			
Disosteosklerozis	OR	224300		
Osteomesopiknozis	OD	166450		
Osteopetrozis ve infantil nöroaxonal displazi	OR?	600329		
<b>24. Artmış kemik dansite grubu ve metafiziyal ve/veya diafiziyal içeren</b>				
Kraniometafiziyal displazi, otozomal dominant tip	OD	123000	5p15.2-14.2	<i>ANKH</i>
Diafiziyel displazi, Camurati-Engelmann	OD	131300	19q13	<i>TGFbeta1</i>
Hematodiafiziyal displazi Ghosal	OR	231095	7q34	<i>TBXAS1</i>
Hipertrofik osteoartropati	OR	259100	4q34-35	<i>HPGD</i>
Pakidermoperiostozis (hipertrofik osteoartropati, primer, otozomal dominant)	OD	167100		
Okulodentoosseos displazi (ODOD) hafif tip	OD	164200	6q22-23	<i>GJA1</i>
Okulodentoosseos displazi (ODOD) Şiddetli tip	OR	257850		
Osteoektazi ve hiperfosfatazy (juvenil Paget hastalığı)	OR	239000	8q24	<i>OPG</i>
Sklerosteozis	OR	269500	17q12-21	<i>SOST</i>
Endosteal hiperostozis, van Buchem tip	OR	239100	17q12-21	<i>SOST</i>
Trikodentoosseos displazi	OD	190320	17q21	<i>DLX3</i>
Kraniometafiziyal displazi, otozomal resesif tip	OR	218400	6q21-22	
Diafiziyel meduller stenozis ve kemik malignitesi	OD	112250	9p21-p22	
Kraniodiafiziyal displazi	OD	122860		
Kraniometadiafiziyal displazi, Wormian kemik tip	OR			
Endosteal sklerozis ve serebellar hipoplazi	OR	213002		
Lenz-Majewski hiperostotik displazi	SP	151050		
Metafiziyal displazi, Braun-Tinschert tip	XL	605946		
Pyle hastalık	OR	265900		
<b>25. Osteogenesis imperfekta ve azalmış kemik dansite grubu</b>				
Osteogenesis imperfekta, deformasyon olmayan form (OI tip 1)	OD			<i>COL1A1, COL1A2</i>
Osteogenesis imperfekta, perinatal letal form (OI tip 2)	OD, OR			<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, LEPRE1, PPIB</i>
Osteogenesis imperfekta, ilerleyici deformite tip (OI tip 3)	OD, OR			<i>COL1A1, COL1A2, CRTAP, LEPRE1, PPIB, FKBP10, SERPINH1</i>
Osteogenesis imperfekta, orta form (OI tip 4)	OD, OR			<i>COL1A1, COL1A2,</i>

Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
				<i>CRTAP, FKBP10, SP7</i>
Osteogenezis imperfekta ve kalsifikasyonla giden interosseos membranlar ve/veya hipertrofik kallus (OI tip 5)	OD	610967		
Osteogenezis imperfekta, diğer tipler				
Bruck sendromu tip 1 (BS1)	OR	259450	17q21	<i>FKBP10</i>
Bruck sendromu tip 2 (BS2)	OR	609220	3q23-24	<i>PLOD2</i>
Osteoporozis-Psödoglioma sendromu	OR	259770	11q12-13	<i>LRP5</i>
Kalvarial doughnut lezyon ve kemik fragilitesi	OD	126550		
Idiopatik juvenil osteoporozis	SP	259750		
Cole-Carpenter displazi (kemik fragilitesi ve kraniosinostozis)	SP	112240		
Spondilo-okular displazi	OR	605822		
Osteopeni ve radiolucent lezyonlu mandibula	OD	166260		
Ehlers-Danlos sendromu, progeroid form	OR	130070	5q35	<i>B4GALT7</i>
Geroderma osteodisplastikum	OR	231070	1q24.2	<i>GORAB</i>
Cutis laxa, otozomal resesif form, tip 2B (ARCL2B)	OR	612940	17q25.3	<i>PYCR1</i>
Cutis laxa, otozomal resesif form, tip 2A (ARCL2A) (Buruşuk deri sendromu)	OR	278250, 219200	12q24.3	<i>ATP6VOA2</i>
Singleton-Merten displazi	OD	182250		
<b>26. Anormal mineralizasyon grubu</b>				
Hipofosfatazy, perinatal lethal ve infantil form	OR	241500	1p36.1-p34	<i>ALPL</i>
Hipofosfatazy, erişkin form	OD	146300	1p36.1-p34	<i>ALPL</i>
Hipofosfatemik rikets, X-linked dominant	XLD	307800	Xp22	<i>PHEX</i>
Hipofosfatemik rikets, otozomal dominant	OD	193100	12p13.3	<i>FGF23</i>
Hipofosfatemik rikets, otozomal resesif, tip 1 (ARHR1)	OR	241520	4q21	<i>DMP1</i>
Hipofosfatemik rikets, otozomal resesif, tip 2 (ARHR2)	OR	613312	6q23	<i>ENPP1</i>
Hipofosfatemik rikets ve hiperkalsiuri, X-linked resesif	XLR	300554	Xp11.22	<i>CICN5</i>
Hipofosfatemik rikets ve hiperkalsiuri, otozomal resesif (HHRH)	OR	241539	9q34	<i>SLC34A3</i>
Neonatal hiperparatiroidizm, şiddetli form	OR	239200	3q13.3-21	<i>CASR</i>
Ailevi hipokalsiurik hiperkalsemi ve transient neonatal hiperparatiroidizm	OD	145980	3q13.3-21	<i>CASR</i>
Kalsiyum pirofosfat depozisyon hastalık (Ailevi kondrokalsinozis) tip 2	OD	118600	5p15.2-14.2	<i>ANKH</i>
<b>27. Lisosomal depo hastalıkları ve iskeleti içeren (Disostozis multiplex grubu)</b>				
Mukopolisakkaridozis tip 1H/1S	OR	607014	4p16.3	<i>IDA</i>
Mukopolisakkaridozis tip 2	XLR	309900	Xq27.3-28	<i>IDS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 3A	OR	252900	17q25.3	<i>HSS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 3B	OR	252920	17q21	<i>NAGLU</i>



Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
Mukopolisakkaridozis tip 3C	OR	252930	8p11-q13	<i>HSGNAT</i>
Mukopolisakkaridozis tip 3D	OR	252940	12q14	<i>GNS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 4A	OR	253000	16q24.3	<i>GALNS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 4B	OR	253010	3p21.33	<i>GLBI</i>
Mukopolisakkaridozis tip 6	OR	253200	5q13.3	<i>ARSB</i>
Mukopolisakkaridozis tip 7	OR	253220	7q21.11	<i>GUSB</i>
Fukosidozis	OR	230000	1p34	<i>FUCA</i>
Alfa-Mannosidozis	OR	248500	19p13.2-12	<i>MANA</i>
Beta-Mannosidozis	OR	248510	4q22-25	<i>MANB</i>
Aspartylglucosaminuria	OR	208400	4q23-27	<i>AGA</i>
GMI Gangliosidozis, şiddetli form	OR	230500	3p21-14.2	<i>GLBI</i>
Sialidozis, şiddetli form	OR	256550	6p21.3	<i>NEU1</i>
Sialik asid depo hastalığı (SIASD)	OR	269920	6q14-q15	<i>SLC17A5</i>
Galactosialidozis, şiddetli form	OR	256540	20q13.1	<i>PPGB</i>
Multiple sulfataz eksikliği	OR	272200	3p26	<i>SUMF1</i>
Mukolipidozis II (I-cell), alfa/beta tip	OR	252500	4q21-23	<i>GNPTAB</i>
Mukolipidozis III (Psödo-Hurler polidistrofi), alfa/beta tip	OR	252600	4q21-23	<i>GNPTAB</i>
Mucolipidozis III (Psödo-Hurler polidistrofi), gamma tip	OR	252605	4q21-23	<i>GNPTG</i>
<b>28. Osteolizis grubu</b>				
Ailevi expansil osteolizis	OD	174810	18q22.1	<i>RANK (TNFRSF11A)</i>
Mandibuloacral displazi tip A	OD	248370	1q21.2	<i>LMNA</i>
Mandibuloacral displazi tip B	OR	608612	1p34	<i>ZMPSTE24</i>
Progeria, Hutchinson-Gilford tip	OD	176670	1q21.2	<i>LMNA</i>
Torg-Winchester sendromu	OR	259600	16q13	<i>MMP2</i>
Hajdu-Cheney sendromu	OD	102500		
Multicentric carpal-tarsal osteolizis ve /veya nefropati	OD	166300		
Lipomembraneous osteodistrofi ve lökoensefalopati (presenil demans ve kemik kistleri; Nasu-Hakola)	OR	221770	6p21.2	<i>TREM2</i>
Lipomembranöz osteodistrofi ve lökoensefalopati (presenil demans ve kemik kistleri; Nasu-Hakola)	OR	221770	19q13.1	<i>TYROBP</i>
<b>29. İskelet komponentlerinin disorganize gelişim grubu</b>				
Multiple kartilajnoz eksostozis 1	OD	133700	8q23-24.1	<i>EXT1</i>
Multiple kartilajnoz eksostozis 2	OD	133701	11p12-11	<i>EXT2</i>
Multiple kartilajnoz eksostozis 3	OD	600209	19p	
Cherubism	OD	118400	4p16	<i>SH3BP2</i>
Fibröz displazi, poliostotik form	SP	174800	20q13	<i>GNAS1</i>
İlerleyici osseos heteroplazi	OD	166350	20q13	<i>GNAS1</i>
Gnathodiafiziyal displazi	OD	166260	11p15.1-14.3	<i>TMEM16E</i>
Metakondromatozis	OD	156250	12q24	<i>PTPNI1</i>

Hastalık Adı/Grubu	Kalıtım	MIM No.	Lokus	Gen
Mukopolisakkaridozis tip 3C	OR	252930	8p11-q13	<i>HSGNAT</i>
Mukopolisakkaridozis tip 3D	OR	252940	12q14	<i>GNS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 4A	OR	253000	16q24.3	<i>GALNS</i>
Mukopolisakkaridozis tip 4B	OR	253010	3p21.33	<i>GLBI</i>
Mukopolisakkaridozis tip 6	OR	253200	5q13.3	<i>ARSB</i>
Mukopolisakkaridozis tip 7	OR	253220	7q21.11	<i>GUSB</i>
Fukosidozis	OR	230000	1p34	<i>FUCA</i>
Alfa-Mannosidozis	OR	248500	19p13.2-12	<i>MANA</i>
Beta-Mannosidozis	OR	248510	4q22-25	<i>MANB</i>
Aspartylglucosaminuria	OR	208400	4q23-27	<i>AGA</i>
GMI Gangliosidozis, şiddetli form	OR	230500	3p21-14.2	<i>GLBI</i>
Sialidozis, şiddetli form	OR	256550	6p21.3	<i>NEUI</i>
Sialik asid depo hastalığı (SIASD)	OR	269920	6q14-q15	<i>SLC17A5</i>
Galactosialidozis, şiddetli form	OR	256540	20q13.1	<i>PPGB</i>
Multiple sulfataz eksikliği	OR	272200	3p26	<i>SUMF1</i>
Mukolipidozis II (I-cell), alfa/beta tip	OR	252500	4q21-23	<i>GNPTAB</i>
Mukolipidozis III (Psödo-Hurler polidistrofi), alfa/beta tip	OR	252600	4q21-23	<i>GNPTAB</i>
Mucolipidozis III (Psödo-Hurler polidistrofi), gamma tip	OR	252605	4q21-23	<i>GNPTG</i>
<b>28. Osteolizis grubu</b>				
Ailevi expansil osteolizis	OD	174810	18q22.1	<i>RANK (TNFRSF11A)</i>
Mandibuloacral displazi tip A	OD	248370	1q21.2	<i>LMNA</i>
Mandibuloacral displazi tip B	OR	608612	1p34	<i>ZMPSTE24</i>
Progeria, Hutchinson-Gilford tip	OD	176670	1q21.2	<i>LMNA</i>
Torg-Winchester sendromu	OR	259600	16q13	<i>MMP2</i>
Hajdu-Cheney sendromu	OD	102500		
Multicentric carpal-tarsal osteolizis ve /veya nefropati	OD	166300		
Lipomembraneous osteodistrofi ve lökoensefalopati (presenil demans ve kemik kistleri; Nasu-Hakola)	OR	221770	6p21.2	<i>TREM2</i>
Lipomembranöz osteodistrofi ve lökoensefalopati (presenil demans ve kemik kistleri; Nasu-Hakola)	OR	221770	19q13.1	<i>TYROBP</i>
<b>29. İskelet komponentlerinin disorganize gelişim grubu</b>				
Multiple kartilajnoz eksostozis 1	OD	133700	8q23-24.1	<i>EXT1</i>
Multiple kartilajnoz eksostozis 2	OD	133701	11p12-11	<i>EXT2</i>
Multiple kartilajnoz eksostozis 3	OD	600209	19p	
Cherubism	OD	118400	4p16	<i>SH3BP2</i>
Fibröz displazi, poliostotik form	SP	174800	20q13	<i>GNAS1</i>
İlerleyici osseos heteroplazi	OD	166350	20q13	<i>GNAS1</i>
Gnathodiafiziyal displazi	OD	166260	11p15.1-14.3	<i>TMEM16E</i>
Metakondromatozis	OD	156250	12q24	<i>PTPN11</i>



Hastalık Adı/Grubu	Kahtım	MIM No.	Lokus	Gen
Osteoglofonik displazi	OD	166250	8p11	<i>FGFR1</i>
Fibrodisplazi ossifikans progressiva (FOP)	OD, SP	135100	2q23-24	<i>ACVR1</i>
Neurofibromatozis tip 1 (NF1)	OD	162200	17q11.2	<i>NF1</i>
Carpotarsal osteokondromatozis	OD	127820		
Çerubizm ve gingival fibromatozis (Ramon sendromu)	OR	266270		
Displazi epifizialis hemimelika (Trevor)	SP	127800		
Enkondromatozis (Ollier)	SP	166000		
Enkondromatozis ve hemangiomata (Maffucci)	SP	166000		
<b>30. Overgrowth sendromları (iskeleti içeren)</b>				
Weaver sendromu	SP/OD	277590		
Sotos sendromu	OD	117550	5q35	<i>NSD1</i>
Marshall-Smith sendromu	SP	602535	19p13.3	<i>NFIX</i>
Proteus sendromu	SP	176920		
Marfan sendromu	OD	154700	15q21.1	<i>FBN1</i>
Konjenital kontraktural arachnodaktili	OD	121050	5q23.3	<i>FBN2</i>
Loeys-Dietz sendromu 1A ve 2A tipleri	OD	609192, 610168	9q22	<i>TGFBR1</i>
Loeys-Dietz sendromu 1B ve 2B tipleri	OD	608967, 610380	3p22	<i>TGFBR2</i>
Overgrowth sendromu ve 2q37 translocations	SP		2q37	<i>NPPC</i>
Overgrowth sendromu ve iskelet displazi (Nishimura-Schmidt, endokondral gigantizm)	SP?			
<b>31. Genetik inflamatuvar / römatooid - benzeri osteoartropatiler</b>				
İlerleyici Psödorömatooid displazi (PPRD; SED ve ilerleyici artropati)	OR	208230	6q22-23	<i>WTSP3</i>
Kronik infantil neurologic cutaneous articular sendromu (CINCA)/neonatal onset multisystem inflammatory hastalık (NOMID)	OD	607115	1q44	<i>CLAS1</i>
Steril multifocal osteomyelit, periostit ve pustulozis (CINCA/NOMID-like)	OR	147679	2q14.2	<i>IL1RN</i>
Kronik recurrent multifocal osteomyelit ve konjenital diseritropoetic anemi (CRMO ve CDA; Majeed sendromu)	OR	609628	18p11.3	<i>LPIN2</i>
Hiperostozis/hiperfosfatemi sendromu	OR	610233	2q24-q31	<i>GALNT3</i>
İnfantil sistemik hiyalinozis/Juvenil hiyalin fibromatozis (ISH/JHF)	OR	236490	4q21	<i>ANTXR2</i>
<b>32. Kleidokraniyal displazi ve izole kraniyal kemikleşme defektleri grubu</b>				
Kleidokraniyal displazi	OD	119600	6p21	<i>RUNX2</i>
CDAGS sendromu (kraniosinostozis, gecikmiş fontanel kapanması, parietal foramina, imperforate anus, genital anomaliler, deri erupsiyonu)	OR	603116	22q12-q13	
Yunis-Varon displazi	OR	216340		
Parietal foramina (isole)	OD	168500	11q11.2	<i>ALX4</i>

### 3.2.2. Total DNA izolasyonu

Çalışmaya katılacak olan bireylerden alınan periferik kan örnekleri aşağıda belirtilen aşamalardan geçirilerek DNA izolasyonları yapıldı.

- Kan örneklerinden DNA izolasyonu için, Roche yarı manuel DNA izolasyon (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) kiti kullanıldı.
- Her bir hastanın 2 cc kan örneği 15 ml'lik falkon tüplere alındı.
- Her bir falkon tüpe daha sonra 6 ml Red Blood Lysis Buffer (RBLB) eklendi.
- Kan ve RBLB karışımı içeren falkon tüpler 10 dakika (dk) boyunca elde yavaş bir şekilde çalkalanarak karıştırıldı.
- Takiben tüpler 900 rcf'te 10 dk santrifüj edilerek hücrelerin tüpün alt kısmına çökmesi sağlandı.
- Santrifüjden sonra, sıvı kısım dikkatli bir şekilde boşaltılıp yerine her bir tüpe 1ml White Cell Lysis Buffer eklendi ve saydam bir karışım elde edinceye kadar pipetaj yapıldı.
- Takiben falkon tüpler 37 °C'de 15 dakika bekletildi, her bir tüpe 500 µl protein precipitation buffer eklendikten sonra 30 sn boyunca vortekslendi.
- Materyal bu haliyle 1,5 ml'lik ependorf tüplere aktarıldı ve 12000 rcf'te 10 dk santrifüj edildi.
- Sıvı şeffaf kısım 15 ml'lik falkon tüplere alındı.
- Sıvı üzerine iki katı kadar soğuk %100 etil alkol eklendi, tüplerde yüzen DNA'lar gözlenene kadar kısaca çalkalandı.
- Elde edilen DNA, mikropipetler aracılığıyla 1,5 ml'lik ependorf tüplere alındı.
- DNA üzerindeki sıvı atılarak yerine 1 ml soğuk %70 etanol eklendi.
- Materyal bu şekliyle 875 rcf'te 5 dk santrifüje tabi tutuldu, dibe çöken DNA'ya zarar vermeyecek şekilde üstteki sıvı kısım atıldı.
- Kurutma işlemi için ağzı açık haldeki ependorf tüpler önceden ısıtılmış 37 °C'deki etüve yerleştirildikten sonra tam kuruma elde edildi.
- Kurutma işleminin ardından fazla beklenmeden DNA'ların 200 µl DNaz'sız bidistile suda çözünmesi gerçekleştirildi.

### 3.2.3. DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

İzole edilen DNA örnekleri UV mikroplağı içinde belirli oranlarda sulandırılarak, spektrofotometre cihazında 260 nm dalga boyundaki Optik Dansite değeri belirlendi. 260 nm dalga boyunda okunan Optik Dansite değeri, sulandırma katsayısı ve DNA katsayısı ile çarpılarak derişim Rg/ml cinsinden hesaplandı. 260 nm / 280 nm değeri, izole edilen DNA'nın saflığının bir ölçüsü olup, saf DNA için bu değer 1,8'dir. Saflık değeri için 1.7 - 1.85 arasındaki DNA örnekleri çalışmaya dahil edildi.

$\mu\text{g}$  hesaplanması ise şu şekilde olmaktadır;

$$\mu\text{g} = \frac{\text{DNA Konsantrasyonu (ng/ } \mu\text{L)} \times \text{Örnek miktarı (}\mu\text{L)}}{1000 \text{ ng/ } \mu\text{g}}$$

Konsantrasyonlarda belirlendikten sonra çalışmaya dahil olacak DNA'lar aCGH uygulama zamanına kadar  $-20^{\circ}\text{C}$  de buzdolabında saklandı.

### 3.3. Array-CGH Uygulama Protokolü

Çalışma protokolünde enzimatik ve non-enzimatik labeling ve hibridizasyon seçenekleri bulunmaktadır. Enzimatik yöntem, DNA'nın 200-500 bp'lik fragmanlarını oluşturarak daha kolay hibridizasyon sağlamaktadır. Bu nedenle non-enzimatik yöntemden daha kaliteli mikroarray sonuçlarının eldesine olanak sağladığı bildirilmiştir. Bu yüzden kaliteli mikroarray veri ve analizi elde edebilmek için çalışmada enzimatik yöntemi tercih ettik.

#### 3.3.1. Örneklerin hazırlanması

DNA örneklerinin derişimleri 1000 ng olacak şekilde ayarlandı. Array'de kullanılacak platforma göre; 8 hasta ile yapılan çalışmalarda her biri için toplam hacim 10,1  $\mu\text{l}$  olmalıdır. Çalışmamızda da 8x60K platform kullanıldı ve her bir slaytta 1 hasta ile çalışılarak örneklerimizin hacmi 10,1  $\mu\text{l}$  olacak şekilde ayarlandı.

Örnek: Derişimi 100  $\mu\text{l}$  olan örnek için  $\rightarrow 100.X=1000$

$X=5\text{ng/ } \mu\text{l}$  DNA'ya 5,1 dH<sub>2</sub>O eklenerek toplam hacim 10,1  $\mu\text{l}$ 'ye tamamlandı.

Hasta cinsiyeti ve sayısı kadar referans erkek/kadın DNA derişimleri de aynı şekilde hazırlandı.

### 3.3.1.1. Enzim Kesimi

Hem hasta örnekleri için hemde referans örnekler için ayrı ayrı hazırlanan tüpler içine aşağıda tabloda belirtilen miktarlarda enzim kesimi için hazırlanan solüsyonlar karışımı eklendi.

		<b>X 16,5</b>
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	0,5 µl	8,25 µl
10X Tampon B	1,3 µl	21,45 µl
Asetil BSA	0,1 µl	1,65 µl
Alu I	0,5 µl	8,25 µl
Rsa I	0,5 µl	8,25 µl
<b>Toplam</b>	<b>2,9 µl</b>	<b>47,85 µl</b>

2,9 µl tüm tüplere dağıtıldı. Böylelikle toplam hacim  $2,9 + 10.1 = 13$  µl oldu.

Daha sonra hazırladığımız bu karışım;

37°C'de → 2 saat

65°C'de → 20 dakika kadar inkübasyonda bekletilerek enzim kesimi işlemine bırakıldı.

%2'lik agaroz jel hazırlanarak örneklerden 2'şer µl jele yüklendi. Enzim kesiminin gerçekleşip gerçekleşmediği bu şekilde test edildi. Jel görüntüsünde DNA'ların 200 ila 500 bant seviyesinde yoğunlaştığı görüldü.

(Örnekler bu aşamada -20°C'de 1 aya kadar saklanabilir.)

### 3.3.1.2. İşaretleme

Örneklere 5'er µl Random Primer eklenerek hafifçe pipetaj yapıldı. Hedef DNA bölgelerini ayırmak ve primerlerin yapışmasını sağlamak için 95 °C'de ısıtıcı blokta 3 dakika bekletildi. Denatüre olan örnekler 5 dk buzda bekletildi. Örnekler 6000×g de 1dk santrifüj edildi. İşaretleme sırasında hazırlanan master mix oranları Tablo 3-2'de verilmiştir.

**Tablo 3-2 İşaretleme sırasında hazırlanan labeling master mix.**

		<u>x.8,5</u>
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	2 µl	17 µl
5X Reaksiyon tamponu	5 µl	42,5 µl
10X dNTPs	2,5 µl	21,25 µl
Cyanine 3-dUTP/		
Cyanine 5-dUTP/	1,5 µl	12,75 µl
Exo-Klenow Enzimi	0,5 µl	4,25 µl
<b>Toplam</b>	<b>11,5 µl</b>	<b>97,75 µl</b>

Referanslar ve hastalar için bu karışımdan ayrı ayrı hazırlanarak tüm tüplere 11'er µl dağıtıldı. Referans örnekleri Cyanine 3, hasta örnekleri ise Cyanine 5 boyası ile boyandı. Toplam hacim 50 µl'dir. Tüpler kısa bir süre yüksek hızda santrifüj edilerek karışımları sağlandı. İşaretlemenin gerçekleşmesi amacıyla tüpler 37 °C'de 2 saat, daha sonrasında ise 65°C'de 10 dakika inkübasyonda bırakıldı. Ürünler buz üstüne alındı.

### 3.3.1.3. Saflaştırma

- İşaretlenmiş genomik DNA örnekleri tüplerin duvarlarında ve kapaklarında kalmış materyal ihtimaline karşı 6000g de 1 dakika santrifüj edildi.
- Örnekler saflaştırma için Amicon 30 kDa filtrelili kolonlara aktarıldı. Kolonlara yüklendikten sonra her bir tüpe 430µl 1xTE konuldu.
- 14000 x g 'de 10 dk santrifüj edildi. Alttaki sıvı döküldü. 480 µl 1xTE eklenerek yine 14000 x g 'de 10 dk santrifüj edildi. Alttaki tüpler atılarak yenisi konuldu.
- Filtrelili kolonlar ters çevirilerek 1000 x g 'de 1 dk santrifüj edildi, filtreye tutunan örneklerin eldesi sağlandı. Toplam hacmin yaklaşık 20-32 µl olması beklendi.
- Örneklerin hacimleri tek tek ölçüldü ve üzerlerine 1xTE eklenerek hepsinin toplam hacmi 16 µl olmasını sağlamak amacıyla vakumlu santrifüjde yaklaşık 11 dakika santrifüj edildi.
- Örnekler 5 dakika buzda bekletildi.
- Örneklerin spektrofotometrede ölçümleri yapıldı.
- Her hasta örneği, cinsiyetlerine göre referanslarla tek bir tüpte birleştirildi.

### 3.3.1.4. Hibridizasyon

**Tablo 3-3 Hibridizasyon aşamasında kullanılan solüsyonlar**

Cot1 DNA	2 µl	17 µl
10X Blocking Agent	4,5 µl	38,25 µl
2X Hi-rpm Buffer	22,5 µl	191,2 µl
Toplam	29 µl	246,5 µl

Hibridizasyon için hazır hale gelen örneklere yukarıdaki tabloda belirtilen miktarlarda hibridizasyon solüsyonları eklendi (Tablo 3-3). 2X Hi-rpm Buffer yoğun yapısından dolayı tüplere tek tek eklendi ve iyice karışması için pipetaj yapıldı. Daha sonra 95°C’de 3 dk ve ardından 37°C’de 30 dk inkübe edildi. Tüplere yapışan örnekleri toplamak için 6000 x g’de 1 dk santrifüj edildi.

Ürünler gasket slayta dikkatli bir şekilde yüklenerek üzerine “SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8x60K” çip konuldu ve 65°C’de 40 saat hibridizasyon fırınında rotasyon altında bekletildi.

### 3.3.1.5. Yıkama

- aCGH Wash Buffer II 37°C’de bir gece öncesinden inkübe edildi.
- aCGH Wash I solüsyonu 50 ml’lik falkona konuldu ve üzeri folyo ile sarılarak ışıktan korunması sağlandı.
- Wash I solüsyonu içerisinde çip ve gasket slayt cımbız yardımıyla birbirinden ayrıldı.
- Çip, yeni aCGH Wash I içerisinde 5 dakika çalkalandı.
- Bir gece bekletilen Wash II solüsyonuna aktarılarak 37°C’de 5 dakika inkübatörde bekletildi.
- Agilent yazısı üste gelecek şekilde slayt koruyucusuna yerleştirildi.
- Ozon bariyerle üzeri kapatılarak tarama cihazında okutma işlemine hazır hale getirildi.

### **3.3.2. Slaytların Taranması ve Sonuçların Değerlendirilmesi**

Slayt yıkama sonrası tarama için, Agilent Scanner'a yerleştirildi. Okuma profili Agilent G3\_CGH 8x60K'a için ayarlandı. Grid yüklemesi için slaytlarla beraber gelen grid dosyaları kullanıldı. Ve uygun programlamadan sonra slayt taraması başlatıldı. Tarama işlemi bittiğinde görüntü program tarafından kendiliğinden "tif" uzantılı bir resim dosyası halinde kaydedildi. Elde edilen ham veriler "Feature Extraction Software" aracıyla okunur ve analiz edilir "txt" dosyası haline getirdi. Ayrıca yapılan taramanın kalitesini gösteren QC raporu ile beraber çıktı alındı. Analiz için elde edilen veriler Agilent CytoGenomics 2.7.22.0 programına Design dosyaları ile beraber yüklendi. Anlamlılık değerlendirmesinde amplifikasyon için temel olarak 0.4, delesyon için 0.6 sınırının üstü baz alındı.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Fenotipi

Çalışmaya, Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik bölümünde takip edilen 5'i kız, 3'ü erkek olmak üzere, skolyozlu 8 hasta dahil edildi.

Hastaların birbirinden bağımsız ve farklı olması nedeniyle her bir hastanın klinik ve laboratuvar bulguları tek tek ele alındı ve özet olarak sunuldu. Hastalara ait klinik tanı ve fizik muayene bulguları Tablo 4-1'de verilmiştir.

**Hasta 1** Skolyoz tanısı konulan 9 yaşındaki kız olgunun anne ve babası arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Karyotip analizi 46,XX normaldir. Yapılan fizik muayenesinde; genel durumunda herhangi bir sorun bulunmadığı, bilincinin açık olduğu, çomak parmak sorununun olmadığı, gövde, göğüs ve pelvis bölgelerinde başka bir displaziye rastlanılmadığı tespit edildi. Fakat hastanın akciğer parankim alanlarının incelenmesinde; sağ parakardiak alanda peribronşial kalınlaşma mevcut olup her iki akciğer havalanması artmıştır. Torakal bölgede açıklığı sol tarafa bakan rotoskolyoz tespit edildi.

**Hasta 2** Hidrosefali, opere meningoşel nedeniyle takipli 10 yaşındaki kız olgunun anne ve babası arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Karyotip analizi 46,XX normaldir. Fizik muayenesinde; lomber vertebral aksta açıklığı sağa bakan S şeklinde skolyoz eğriliği tespit edildi. Uzun ekstremite grafisinde uzun kemikler normalken, torakolomber vertebra grafisinde, sakrumda ve L5'te hiatus gözlemlendi. Hastada kranium hafif makrosefalik olup, frontal bossing mevcuttur. Ayrıca büyüme hormonu eksikliği tespit edildi ve yürümede aksama gözlemlendi.

**Hasta 3** Polistik over sendromu tanısı konulan 33 yaşındaki kadın olgunun fizik muayenesinde; hirsütizm ve akne vulgaris tespit edildi. Göğüs bölgesinde idiyopatik skolyoz gözlemlendi. Hastanın anne ve babası arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Yapılan karyotip analizi 46,XX normaldir.



**Hasta 4** Boy kısalığı ve skolyoz tanılı 14 yaşındaki erkek olgunun fizik muayenesinde skolyoz tespit edildi. Anne baba arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Yapılan karyotip analizi 46,XY normaldir. Olguda palpasyon ile vertebral belirgin deformiteye rastlanmazken torakolumbal açıklığı sola bakan hafif derecede skolyoz gözlemlendi. Hastanın torakolumbal öne ve yana fleksiyon hareketleri tam iken, nörovasküler bir sorun gözlenmedi. Şiddetli bel ağrıları ve göğüs ağrısı tespit edildi. Ayrıca hastada Wolff Parkinson White Sendromu bulunmaktadır.

**Hasta 5** Papil stazı, skolyoz tanısı konulan 11 yaşındaki kız olgu ailenin ikinci çocuğudur. Karyotip analizi 46,XX normaldir. Fizik muayenesinde; sırtta skolyoz tespit edildi. Olgunun aile hikayesinde ise anne ve babada herhangi bir akrabalık bulunmazken, dayıda skolyoz bulunduğu belirtildi. Olgunun fizik muayenesinde ayrıca ekstremitelerde herhangi bir anormallik saptanmazken, psödo tümör serebri tespit edildi.

**Hasta 6** Skolyoz tanılı 15 yaşındaki kız olgunun fizik muayenesinde servikal torakal lumbal bölgede açıklığı sola bakan 35 derece skolyoz tespit edildi. Ayrıca hastada servikal torakal lumbal bölgede açıklığı sağa bakan 23 derecelik skolyoz ve açıklığı sağa bakan 34 derecelik rotoskolyoz mevcuttur. Olgunun aile hikayesinde benzer bir hastalığa rastlanılmadı. Yapılan karyotip analizi 46,XX normaldir.

**Hasta 7** Skolyoz tanısı konulan erkek olgunun klinik ve laboratuvar bulguları elde edilemedi.

**Hasta 8** Skolyoz, hipotroidi, sağ hemihipertrofi, prematüre pubarş, sol inmemiş testis nedeniyle opere tanısı konulan 10 yaşındaki erkek olgunun anne ve babası arasında akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Yapılan fizik muayenesinde; alt torakal düzeyde açıklığı sağa bakan, lomber düzeyde açıklığı sola bakan skolyoz tespit edildi. Olguda T5 ve T6 vertebralar deforme ve füzyone görünümündedir. T8 ve T9 vertebralarda kelebek vertebra görünümü mevcuttur. Ayrıca olguda sağda 3,4,5,6,7 nolu kotlarda deforme görünüm gözlenirken, solda 5 ve 6 nolu kotlarda bifid kod görünümü tespit edildi. Sağ köprücük kemiğinin uç kısmında angulasyon gözlemlendi. Üst ve alt ekstremitelerde kemik yapıları osteopenik görünümündedir. Yapılan karyotip analiz 46, XY normaldir.

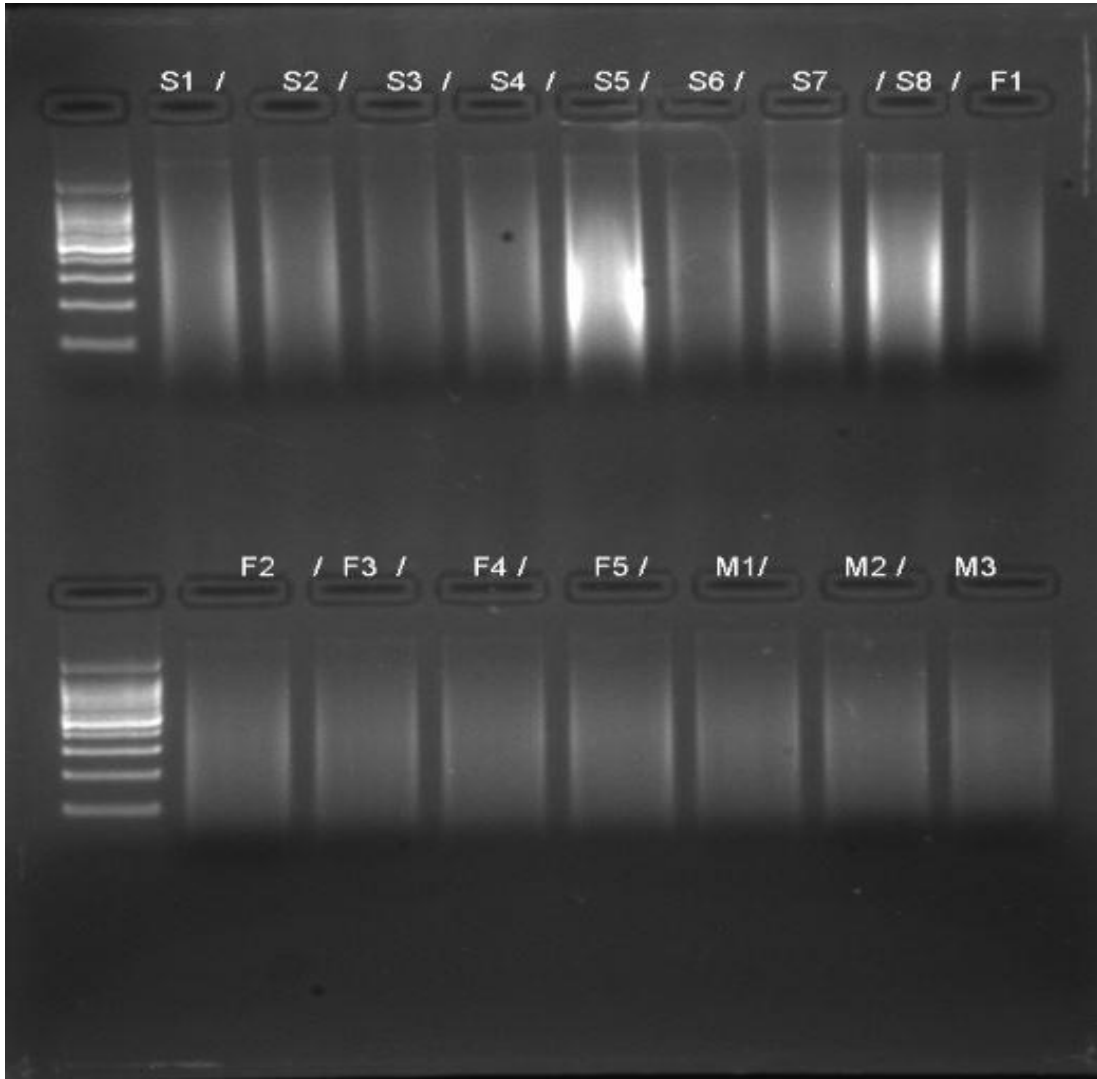
**Tablo 4-1 Hastalara ait klinik tanı ve fizik muayene bulguları**

<b>Olgu No</b>	<b>Klinik Tanı</b>	<b>Fizik muayene bulguları</b>
1.	Skolyoz	Torakal bölgede açıklığı sol tarafa bakan rotoskolyoz
2.	Hidrocefali,Skolyoz,opere meningesel	Sakrumda ve L5'te hiatus lomber vertebral aksta açıklığı sağa bakan S şeklinde skolyoz
3.	Skolyoz,Polistik over sendromu	Göğüs bölgesinde idiyopatik skolyoz
4.	Boy kısalığı ve skolyoz	Torakolumbal açıklığı sola bakan hafif derecede skolyoz
5.	Papil stazi, skolyoz	Torakalde skolyoz
6.	Skolyoz	Servikal torakal lumbal bölgede açıklığı sola bakan 35 derece skolyoz
7.	Skolyoz	
8.	Skolyoz,hipotroidi,sağ hemihipertrofi,prematüre pubarş	Alt torakal düzeyde açıklığı sağa bakan, lomber düzeyde açıklığı sola bakan skolyoz

#### 4.2. Array-CGH Bulguları

Çalışmada, array-CGH protokolü uygulamasının ilk aşaması olarak enzimatik kesim yapıldıktan sonra, hasta ve referans DNA'ları jelde yürütüldü (Şekil 4-1).

Protokolün işaretleme aşaması yapıldıktan sonra DNA ve boya konsantrasyonları ölçümleri kullanılarak işaretleme değeri, spesifik aktivite ve yield değerleri hesaplandı. Elde edilen değerlerin hibridizasyon için uygun olduğuna karar verilerek çalışmaya devam edildi. Hasta ve referans örneklerinin DNA ve boya konsantrasyonlarının spektrofotometri ile ölçüm sonuçları Tablo 4-2'de verilmiştir.



Şekil 4-1 Örneklerin enzim kesimi sonucu oluşan jel görüntüsü

S1-S8 aralığı hasta grubu, F1-F5 aralığı dişi referans, M1-M3 aralığı erkek referans

**Tablo 4-2 Hasta ve referans örneklerinin DNA ve boya konsantrasyonlarının spektrofotometri ile ölçüm sonuçları**

	<b>DNA Konsantra syonu (ng/µl)</b>	<b>(Cy3)</b>	<b>(Cy5)</b>	<b>İşaretleme değeri</b>	<b>Spesifik Aktivite</b>	<b>Ürün (yield)</b>
<b>1</b>	461,7		13	0,957331601	28,15681178	9,6957
<b>2</b>	360		10,1	0,953888889	28,05555556	7,56
<b>3</b>	363		10,4	0,974104683	28,65013774	7,623
<b>4</b>	306,9		8,8	0,974910394	28,67383513	6,4449
<b>5</b>	586		16,2	0,939931741	27,64505119	12,306
<b>6</b>	335,4		9,9	1,003577818	29,51699463	7,0434
<b>7</b>	365,6		10,6	0,985776805	28,99343545	7,6776
<b>8</b>	399,8		11,4	0,969484742	28,51425713	8,3958
<b>F1</b>	332,2	10,8		1,105358218	32,51053582	6,9762
<b>F2</b>	336,9	10,3		1,03947759	30,57287029	7,0749
<b>F3</b>	330,4	10,6		1,090799031	32,08232446	6,9384
<b>F4</b>	362,3	11,7		1,097985095	32,29367927	7,6083
<b>F5</b>	341,9	10,6		1,054109389	31,00321732	7,1799
<b>M1</b>	347,4	10,9		1,066781808	31,37593552	7,2954
<b>M2</b>	349,1	11		1,071326268	31,5095961	7,3311
<b>M3</b>	364,5	11,3		1,054046639	31,00137174	7,6545

Array-CGH laboratuvar işlemleri bittikten sonra tüm olguların bir arada olduğu slayt görüntüsü (Şekil 4-2) ve her bir olgu için ayrı QC raporu elde edildi. Örnek olarak olgu 3'e ait QC raporu Şekil 4-3'te verilmiştir. Olgu 1'den 8'e doğru sırayla DerivateLR\_Spread değerleri 0.37, 0.41, 0.18, 0.58, 0.20, 0.25, 0.27 ve 0.29 olarak tespit ettik. DerivateLR\_Spread değeri  $<0.2$  olduğunda elde edilen görüntülerin mükemmel, 0.2-0.3 arasında olduğunda iyi ve  $>0.3$  olduğunda sonuçların kontrol edilerek değerlendirilmesi gerektiğini belirtmektedir. Buna göre olgu 3 ve olgu 5 DerivateLR\_Spread değerleri mükemmel; olgu 6, 7 ve 8'in iyi ve olgu 1, olgu 2 ve olgu 4 sonuçlarının kontrol edilerek değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varıldı. Ayrıca hastalarda bulunan değişimleri karyogram üzerinde gösteren cyto report (rapor) dosyaları da elde edildi. Örnek olarak olgu 3'e ait değişikliklerin karyogram üzerinde sematik görünümü Şekil 4-4'te verilmiştir.

Oluşan verilerin CytoGenomics 2.7.22.0 versiyonu ile analizi sonucunda;

1 nolu olguda 2q37.3 bölgesinde 188,013 bp uzunluğunda 0,25 log değerinde amplifikasyon, 6p21.32 bölgesinde 1,022,063 bp uzunluğunda -0,34 log değerinde delesyon, 8p23.1 bölgesinde 483,768 bp uzunluğunda -1,38 log değerinde delesyon, 14q32.33 bölgesinde 368,970 bp ve 272,466 bp'lik sırasıyla 3,54 ve 0,84 log değerlerinde amplifikasyon tespit edildi.

2 nolu olguda 14q32.33 bölgesinde 368,970 bp ve 429,821 bp'lik sırasıyla 3,67 ve 0,79 log değerinde amplifikasyon, 15q13.3 bölgesinde 149,072 bp uzunluğunda 0,26 log değerinde amplifikasyon tespit edildi.

3 nolu olguda 4p16.3 bölgesinde 1,028 bp uzunluğunda 1,13 log değerinde amplifikasyon, 8p11.22 bölgesinde 127,265 bp uzunluğunda 4,23 log değerinde amplifikasyon, 11q11 bölgesinde 82,635 bp uzunluğunda -0,92 bp uzunluğunda delesyon, 14q32.33 bölgesinde 292,832 bp uzunluğunda 0,83 log değerinde amplifikasyon, 16p13.3 bölgesinde 1,452 bp uzunluğunda 0,99 log değerinde amplifikasyon, 22q11.22 bölgesinde 151,461 bp uzunluğunda 3,57 log değerinde amplifikasyon, Xp22.33 bölgesinde 1,264 bp uzunluğunda 0,90 log değerinde amplifikasyon tespit edildi.

4 nolu olguda 6p21.32 bölgesinde 1,022,063 bp uzunluğunda -0,57 log değerinde delesyon, 8q11.22 bölgesinde 127,265bp uzunluğunda 3,78 log değerinde amplifikasyon, 14q32.33 bölgesinde 132,778 bp uzunluğunda 2,86 log değerinde

amplifikasyon, 22q11.22 bölgesinde 151,461 bp uzunluğunda 3,66 log değerinde amplifikasyon, Yq11.21 ve Yq11.223 bölgelerinde 8,868,269 bp uzunluğunda -0,51 log değerinde delesyon tespit edildi.

5 nolu olguda 3q28 bölgesinde 2,675 bp uzunluğunda 0,82 log değerinde amplifikasyon, 8p23.1 bölgesinde 811,102 bp uzunluğunda -1,36 log değerinde delesyon, 8p11.22 bölgesinde 127,265 bp uzunluğunda -0,95 log değerinde delesyon, 11q11 bölgesinde 82,635 bp uzunluğunda -1,03 log değerinde delesyon 14q11.2 bölgesinde 1,025,912 bp uzunluğunda -0,34 log değerinde delesyon, 14q32.33 bölgesinde 368,978 bp ve 282,748 bp'lik sırasıyla 3,2 ve 0,82 log değerlerinde amplifikasyonlar tespit edildi.

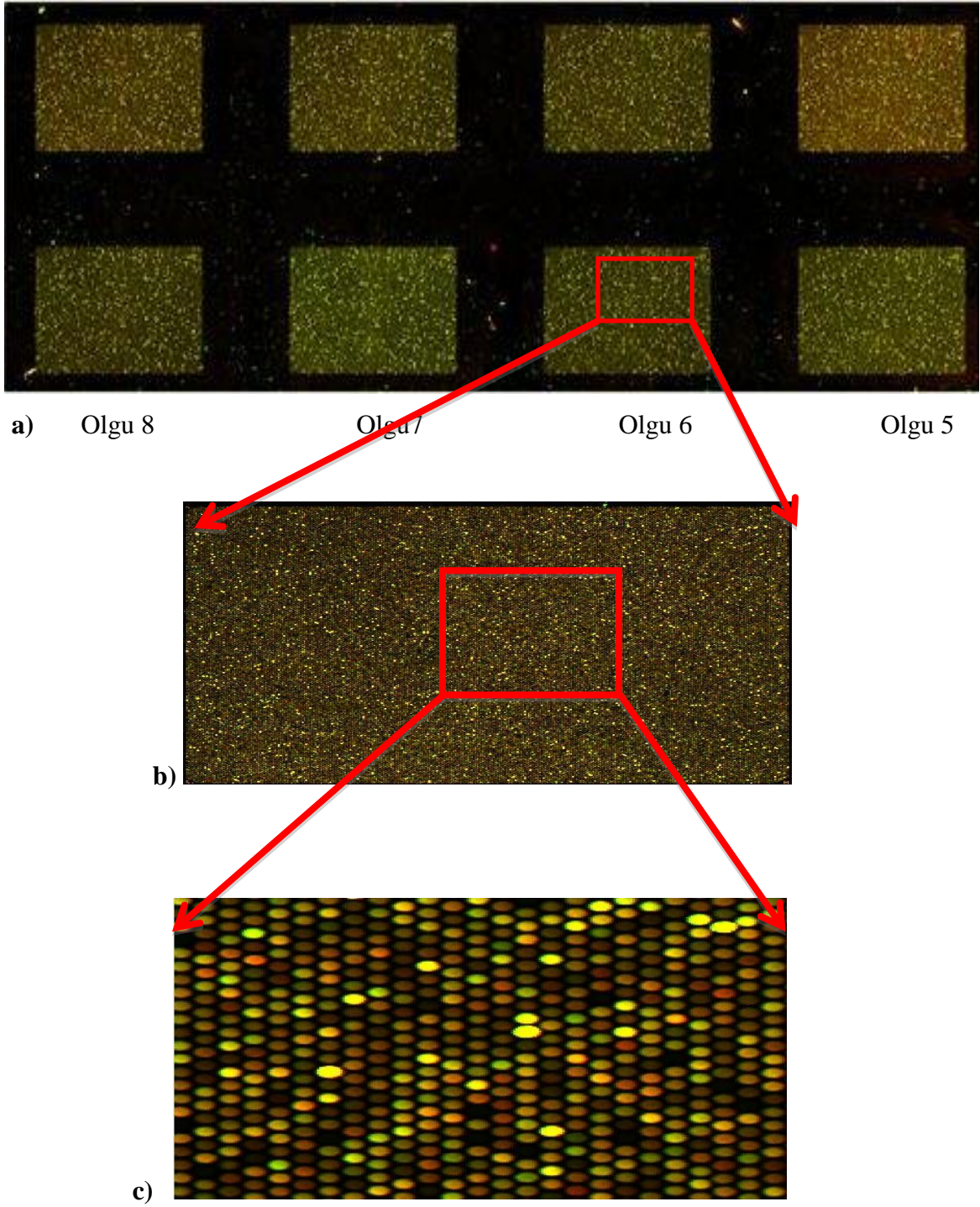
6 nolu olguda 1p31.1 bölgesinde 2,996,95 bp uzunluğunda 0,25 log değerinde amplifikasyon, 2p11.2 bölgesinde 110,359 bp uzunluğunda -0,989 log değerinde delesyon, 6q22.1 bölgesinde 145,353 bp uzunluğunda -0,935 log değerinde delesyon, 8q11.22 bölgesinde 127,265 bp uzunluğunda 4,557 log değerinde amplifikasyon, 10p14 bölgesinde 681,179 bp uzunluğunda 0,476 log değerinde amplifikasyon, 11q11 bölgesinde 82,635 bp uzunluğunda -1,042 log değerinde delesyon, 14q32.33 bölgesinde 132,778 bp ve 292,832 bp'lik sırasıyla 3, 661 ve 0,809 log değerlerinde amplifikasyonlar, 22q11.22 bölgesinde 151,461 bp uzunluğunda 3,741 log değerinde amplifikasyon tespit edildi.

7 nolu olguda 3q28 bölgesinde 3,755 bp uzunluğunda -0,992 log değerinde delesyon, 5p15.33 bölgesinde 15,167 bp'lik 4,005 log değerinde amplifikasyon, 8p11.22 bölgesinde 127,265 bp uzunluğunda 4,740 log değerinde amplifikasyon, 14q32.33 bölgesinde 292,832 bp uzunluğunda 0,830 log değerinde amplifikasyon, 22q11.22 bölgesinde 151,461 bp uzunluğunda 3,658 log değerinde amplifikasyon tespit edildi.

8 nolu olguda 7q11,21 bölgesinde 461,091 bp uzunluğunda -0,796 log değerinde delesyon, 8p11.22 bölgesinde 127,265 bp uzunluğunda 4,374 log değerinde amplifikasyon, 10q11.22 bölgesinde 670,234 bp uzunluğunda 0,818 log değerinde amplifikasyon, 22q11.22 bölgesinde 151,461 bp uzunluğunda 3,865 log değerinde amplifikasyon, Yq11.221 ve Yq11.223 bölgelerinde 8,548,475 bp uzunluğunda -0,315 log değerinde delesyon tespit edildi.

Olgulardaki tüm değişimler Tablo 4-3' te gösterilmiştir.

Olgularda saptanan değişimler en çok kullanılan online veri tabanlarından olan Decipher veri tabanı kullanılarak değerlendirilmiştir. DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) submikroskopik kromozomal dengesizliklerin yorumuna yardımcı olmak için tasarlanmış interaktif web tabanlı bir veritabanıdır. Decipher veri tabanından elde edilen analiz sonuçları değerlendirilmiştir. Örnek olarak skolyoz tanıılı 7 nolu olguda tespit ettiğimiz delesyon Şekil 4-5'te gösterilmiştir. Olgularda, array-CGH'te değişim tespit edilen bölgelerdeki ilişkili genler belirlenmiştir (Tablo 4-4).



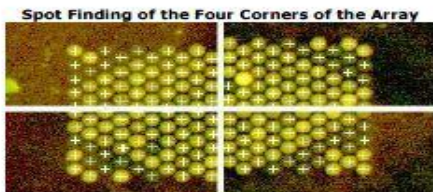
**Şekil 4-2 Slaytın taranması sonrası elde edilen görüntü**

a.) Tüm slayt (lam) b) 6 nolu olgunun mikroçipi c) Aynı hastanın genomundan alınan büyütülmüş kısım (Her bir spot bir probu işaret etmekte olup bunlar analiz programı sayesinde anlamlı grafiklere çevrilmektedir).

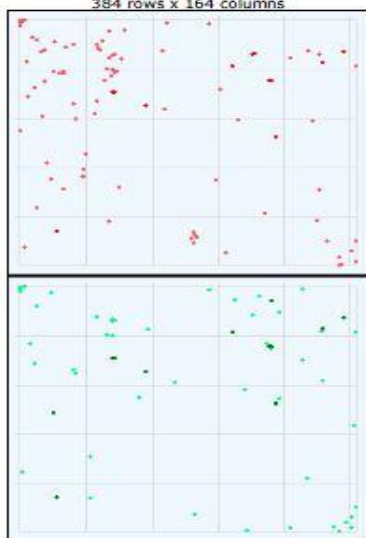


**QC Report - Agilent Technologies : 2 Color CGH**

Date	Wednesday, December 18, 2013 - 12:04	Sample(red/green)	
User Name	Administrator	FE Version	10.7.3.1
Image	US10133796_253622510003_502 [1_3]	BG Method	Detrend on (NegC)
Protocol	CGH_107_Sep09 (Read Only)	Multiplicative Detrend	True
Grid	036225_D_F_20111222	Dye Norm	Linear
Saturation Value	65527 (r), 65527 (g)		



**Grid Normal**  
Outlier Numbers with Spatial Distribution  
384 rows x 164 columns



● Red FeaturePopulation ● Red Feature NonUniform  
● Green FeaturePopulation ● Green Feature NonUniform

Feature	Red	Green	Any	% Outlier
Non Uniform	13	14	16	0.03
Population	87	48	119	0.19

**Evaluation Metrics for CGH\_QCMT\_Sep09 :**  
Excellent (6) ; Good (3) ; Evaluate (2)

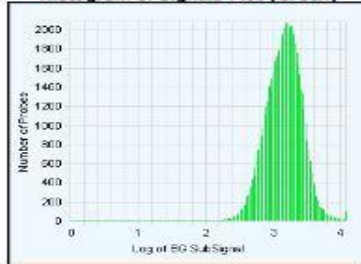
Metric Name	Value	Excellent	Good	Evaluate
IsGoodGrid	1.00	>1	NA	<1
AnyColorPrntFeatNonUn...	0.03	<1	1 to 5	>5
DerivativeLR_Spread	0.18	<0.20	0.20 to 0.30	>0.30
gRepro	0.08	0 to 0.05	0.05 to 0.20	<0 or >0.20
g_BGNoise	11.84	<5	5 to 10	>10
g_Signal2Noise	104.80	>100	30 to 100	<30
g_SignalIntensity	1240.42	>150	50 to 150	<50
rRepro	0.07	0 to 0.05	0.05 to 0.20	<0 or >0.20
r_BGNoise	30.58	<5	5 to 10	>10
r_Signal2Noise	66.18	>100	30 to 100	<30
r_SignalIntensity	2023.72	>150	50 to 150	<50

◆ Excellent ◆ Good ◆ Evaluate

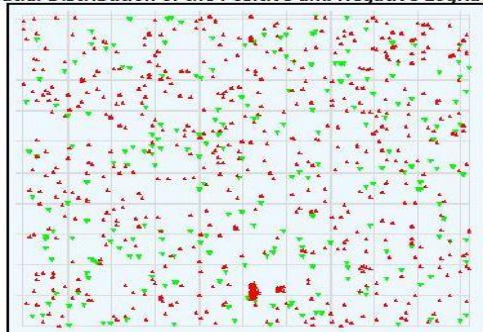
**Histogram of Signals Plot (Red)**



**Histogram of Signals Plot (Green)**



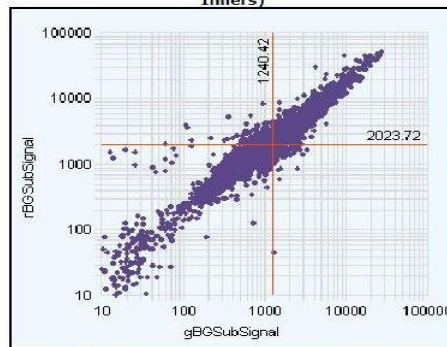
**Spatial Distribution of the Positive and Negative LogRatios**



#Positive:587 (Red) ; #Negative:226 (Green)

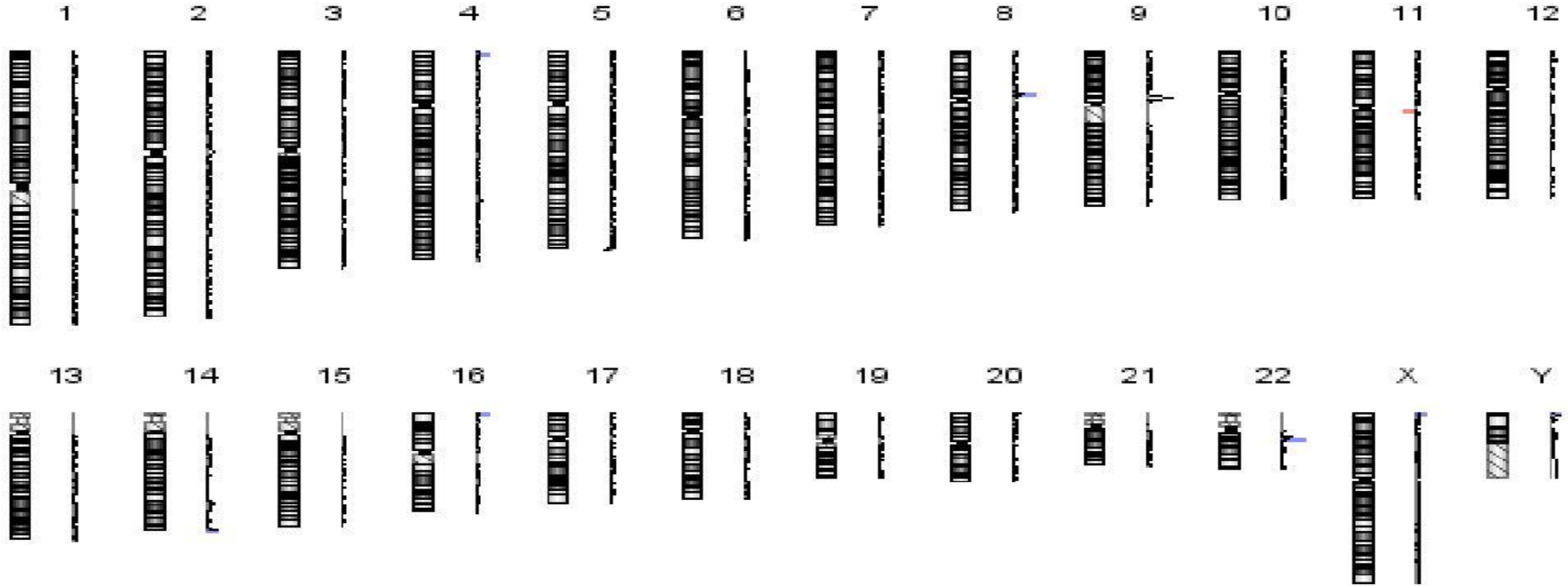
▲ Positive □ Negative

**Red and Green Background Corrected Signals (Non-Control Inliers)**



# Features (NonCtrl) with BGSubSignals < 0: 66 (Red); 54 (Green)

Şekil 4-3 Olgu 3'ün kalite kontrol raporu (QC)



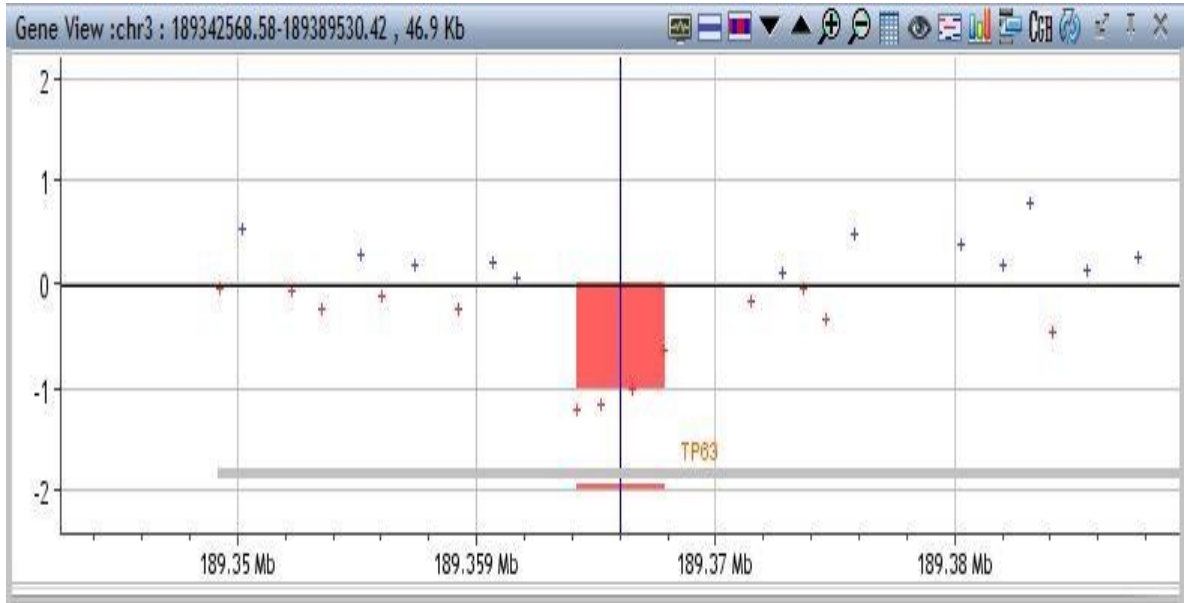
Şekil 4-4 Olgu 3'e ait değişikliklerin karyogram üzerinde şematik görünümü

\*(Kırmızı renkli bölgeler delesyonu, mavi renkli bölgeler amplifikasyonu göstermektedir.)

Tablo 4-3 Olguların submikroskobik değişiklik gösteren bölgeleri ve özellikleri

Olgu No	Krom.	Band	Başlangıç (bp)	Bitiş (bp)	Değişim Boyutu (bp)	Log	Prob Sayısı
1	2	2q37.3	240,103,196	240,291,208	188,013	0,252	137
	6	6p21.32	32,138,058	33,160,120	1,022,063	-0,344	52
	8	8p23.1	7,268,819	7,752,586	483,768	-1,381	4
	14	14q32.33	106,405,703	106,774,672	368,970	3,546	6
	14	14q32.33	106,852,114	107,124,579	272,466	0,842	12
2	14	14q32.33	106,405,703	106,774,672	368,970	3,672	6
	14	14q32.33	106,850,114	107,281,934	429,821	0,797	14
	15	15q13.3	33,059,020	33,208,091	149,072	0,263	117
	15	15q13.3	33,059,020	33,208,091	149,072	0,263	117
3	4	4p16.3	2,834,724	2,835,751	1,028	1,137	3
	8	8p11.222	39,258,894	39,386,158	127,625	4,236	3
	11	11q11	55,368,154	55,450,788	82,635	-0,926	3
	14	14q32.33	106,665,119	106,957,950	292,832	0,830	6
	16	16p13.3	1,502,431	1,503,882	1,452	0,999	3
	22	22q11.22	23,056,562	23,208,022	151,461	3,572	4
	X	Xp22.33	603,569	604,832	1,264	0,906	3
4	6	6p21.32	32,138,058	33,160,120	1,022,063	-0,579	52
	8	8p11.22	39,258,894	39,386,158	127,265	3,788	3
	14	14q32.33	106,405,703	106,538,480	132,778	2,867	3
	22	22q11.22	23,056,562	23,208,022	151,461	3,667	4
	Y	Yq11.21-	14,931,522	23,799,790	8,868,269	-0,517	145
	Y	Yq11.22	14,931,522	23,799,790	8,868,269	-0,517	145
5	3	3q28	189,494,234	189,496,908	2,675	0,822	3
	8	8p23.1	7,268,819	8,079,920	811,102	-1,363	5
	8	8p11.22	39,258,894	39,386,158	127,265	0,951	3
	11	11q11	55,368,154	55,450,788	82,635	-1,039	3
	14	14q11.2	22,252,087	23,277,998	1,025,912	-0,346	15
	14	14q32.33	106,405,703	106,774,672	368,970	3,200	6
	14	14q32.33	106,852,114	107,134,861	282,748	0,825	13
6	1	1p31.1	71,410,579	74,407,528	2,996,950	0,259	45
	2	2p11.2	84,800,983,	84,911,341	110,359	-0,989	3
	6	6q22.1	115,325,676	115,471,028	145,353	-0,935	4
	8	8p11.22	39,258,894	39,386,158	127,265	4,557	3

	10	10p14	8,588,248	9,269,426	681,179	0,476	13
	11	11q11	55,368,154	55,450,788	82,635	-1,042	3
	14	14q32.33	106,405,703	106,538,480	132,778	3,661	3
	14	14q32.33	106,665,119	106,957,950	292,832	0,809	6
	22	22q11.22	23,056,562	23,208,022	151,461	3,741	4
	3	3q28	189,364,173	189,367,927	3,755	-0,992	4
	5	5p15.33	629,455	759,228	129,774	1,158	3
7	8	8p11.22	39,258,894	39,386,158	127,265	4,740	3
	14	14q32.33	106,665,119	106,957,950	292,832	0,830	6
	22	22q11.22	23,056,562	23,208,022	151,461	3,658	4
	7	7q11.21	64,609,829	65,070,919	461,091	-0,796	6
	8	8p11.22	39,258,894	39,386,158	127,265	4,374	3
8	10	10q11.22	46,984,913	47,655,146	670,234	0,838	6
	22	22q11.22	23,056,562	23,208,022	151,461	3,865	4
	Y	Yq11.221	15,251,316	23,799,790	8,548,475	-0,315	146
	Y	Yq11.223					



Şekil 4-5 Olgu 7’de tespit edilen 3755 bazlık delesyon görünümü

**Tablo 4-4 Olgularda, Array-CGH’te değişim tespit edilen bölgelerdeki ilişkili genler**

<b>Olgu</b>	<b>İlişkili Gen</b>
1.	HDAC4, MGC16025, AGPAT1, RNF5, RNF5P1, DEFB4B, DEFB103B, DEFB103A, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221
2.	ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221, FMN1
3.	SH3BP2, ADAM5P, ADAM3A, OR4C11, OR4P4, OR4S2, NCRNA00226, NCRNA00221, CLCN7, SHOX,
4.	AGPAT1, RNF5, RNF5P1, ADAM5P, ADAM3A, ADAM6, MIR650, USP9Y, DDX3Y, UTY
5.	TP63, DEFB4B, DEFB103B, DEFB103A, ADAM5P, ADAM3A, OR4C11, OR4P4, OR4S2, DAD1, ABHD4, OXA1L, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221
6.	PTGER3, ZRANB2, MIR186, DNAH6, ADAM5P, ADAM3A, OR4C11, OR4P4, OR4S2, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA00221
7.	TP63, CEP72, TPPP, ADAM5P, ADAM3A, NCRNA00226, NCRNA00221,
8.	INTS4L1, ZNF92, ADAM5P, ADAM3A, GPRIN2, PPYR1, LOC643650, UTY, TMSB4Y, VCY1B

## 5. TARTIŞMA

Sitogenetik analiz yöntemleri 5-10 Mb üzerindeki sayısal ve yapısal düzensizlikleri tespit edebilme imkanı sunmasına karşın 5 Mb'den küçük değişim ve düzensizliklerin tespitinde yetersiz kalmaktadır. (93, 94) Array-CGH gibi yüksek rezolüsyonlu teknolojilerin kullanılmasıyla beraber submikroskobik değişimlerin, yeni düzenlenimlerin tespit edilebilmesi ve daha detaylı bir şekilde analizi mümkün olmuştur (95).

Array-CGH genom üzerinde meydana gelen submikroskobik değişimlerin belirlenmesini sağlamakla beraber tüm genom analizine de olanak sağlayan bir yöntemdir. Aday gen çalışmaları için gen tanımlamaya büyük katkılar sağlar. Moleküler etyolojisi henüz tam olarak bilinmeyen hastalıkların tanımlanması için Array-CGH son yıllarda tercih edilmeye başlanılan bir yöntem haline gelmiştir.

Array-CGH yöntemi, moleküler etyolojisi tanımlanmış hastalıklarda ilgili genin dizi analizinde herhangi bir değişikliğin belirlenemediği durumlarda da kullanılabilir.

Bu çalışma ise moleküler etyolojisi tam olarak bilinmeyen skolyozun ilgili genlerle ilişkili olup olmadığını tespit etmek ve bu sayede hastalığın etyolojisini aydınlatmak amacıyla yapıldı.

Çalışmaya dahil ettiğimiz hastalarda ortak bulgu konjenital/idiyopatik skolyozdur. Bu hastalar fenotip olarak benzerlikler ve farklılıklar gösterebilmektedir. Lokus spesifik array-CGH ile tüm genom array yöntemleri birleştirilerek bazı gen lokuslarında ve genlerin kodlayan ve kodlamayan bölgelerinde amplifikasyon ve delesyonlar bulunduğu tespit edildi. Hastalarımızın array analiz sonuçları Tablo 5-1'de verilmiştir.

**Tablo 5-1 Hastalarımızın array analiz sonuçları**

<b>Olgu No</b>	<b>Klinik Tanı</b>	<b>Karyotip</b>	<b>İncelenen Genler</b>
1.	Skolyoz	46, XX	HDAC4,AGPAT1 ADAM6, NCRNA00226 NCRNA002
2.	Hidrocefali,Skolyoz,opere meningesel	46, XX	-
3.	Skolyoz,Polistik over sendromu	46, XX	SH3BP2, ADAM5P, ADAM3A, <i>OR4C11</i> , <i>OR4P4</i> , <i>OR4S2</i> , CLCN7, SHOX
4.	Boy kısalığı ve skolyoz	46, XY	-
5.	Papil stazi, skolyoz	46, XX	TP63, DEFB4B, DEFB103A, DEFB103B
6.	Skolyoz	46, XX	PTGER3
7.	Skolyoz	46, XY	TPPP
8.	Skolyoz,hipotroidi,sağ hemihipertrofi,prematüre pubarş	46, XY	INTS4L1, ZNF92, GPRIN2, PPYR1, LOC643650

İzole Skolyoz tanısı almış olan olgu 1'in array-CGH uygulaması sonucunda DLR değeri 0,37'dir. Sinyal kirliliği açısından eşik DLR değeri 0,3 olup, bu değer in üstündeki düzeylerde olgular kirli kabul edilmektedir. Ancak olgu 1'in DLR değeri istatistiksel olarak anlamlılık sınırlarının dışında olmasına karşın değerin üst sınıra yakın olması sebebiyle değerlendirmeye alınmıştır.

Skolyoz tanılı 1 nolu kız olgu 9 yaşındadır. Olguda torakal bölgede açıklığı sol tarafa bakan rotoskolyoz mevcuttur. Olgu 1'in 2q37.3 bölgesinde 188013 bp'lik amplifikasyon olduğu tespit edildi. Bu bölgede HDAC4 geni bulunmaktadır. HDAC4 bazı histon proteinlerine deasetilasyon aktivitesinde bulunan bir gen dir. HDAC4 kondrosit, kıkırdak hücrelerinin aşırı büyümesinde ve iskelet oluşumunda düzenleyici olarak işlev gösterir (96, 97). Literatürde HDAC4 geniyle ilgili yapılan çalışmalar incelendiğinde HDAC4'ün brachydactyly-mental retardasyon sendromu ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar tespit edilmiştir (98). Ayrıca 6p21.32 bölgesinde 1022063 bp'lik delesyon tespit edildi. Bu bölgede AGPAT1 geni yer almaktadır. AGPAT1 geni LPAAT-Alpha proteinini sentezler. LPAAT-Alpha endoplazmik retikulum transmembran proteinidir. LPAAT-Alpha iskelette ve kas dokularında yüksek oranda bulunur. AGPAT1'in memelilerdeki ekspresyonunun hücrelerdeki LPAAT enzim aktivitesini arttırdığı görülmüştür (99,100). 14q32.33 bölgesinde 368970 bp'lik amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede ADAM6, NCRNA00226 genleri bulunmaktadır. ADAM6 geni A disintegrince A metalloproteaz (ADAM) ailesinin bir üyesidir. Literatürde ADAM6 geninin sperm-yumurta etkileşiminde ilişkili olduğunu ve sperm fonksiyonlarında etken olduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (101). NCRNA00226 geni RNA kodlamayan bir gen dir. Ayrıca 14q32.33 bölgesinde 272466 bp'lik amplifikasyon görüldü. Bu bölgede NCRNA0021 geni bulunmaktadır. NCRNA0021 RNA kodlamayan bir gen dir. NCRNA00226 ve NCRNA0021 genlerinin fonksiyonlarıyla alakalı olarak çalışma bulunmamaktadır.

Skolyoz, hidrosefali, opere meningesel tanılı olgu 2'nin array-CGH uygulaması sonucunda DLR değeri 0,41 olarak tespit edildi. Bu değerin anlamlılık sınırının çok üstünde olması nedeniyle, olgu 2 değerlendirilmeye uygun görülmemiştir.

İdiyopatik skolyoz ve polistik over sendromu tanılı olgu 3'te yaptığımız array-CGH uygulaması sonucunda 4p16.3 bölgesinde 1028 bplik amplifikasyon saptandı. Bu



bölgede SH3BP2 geni yer almaktadır. SH3BP2 geni P418R proteinini sentezler. SH3BP2 geninde meydana gelen mutasyonlar trabeküler kemik kaybı, osteoporoz ve kortikal kemik erazyonuna neden olabilmektedir. Ayrıca SH3BP2 geni bebeklik çağında çene kemiklerinde başlayan kalınlaşma ve fibrozis nedeniyle yüzün alt kısmının büyümesi, yüzde şekil bozukluğu olarak tanımlanan Cherubism hastalığı ile de ilişkilendirilmiştir (102, 103). Olgu 3'te 8p11.22 bölgesinde 127265 bp'lik amplifikasyon saptadık. ADAM5P ve ADAM3A genleri bu bölgede yer almaktadır. ADAM5P ve ADAM3A psödogenlerdir. ADAM3A geninin işlevleri arasında hücreler arası bağlantı ve adhezyon yer alır. Ayrıca glioma ile ilişkilendirilmiştir (104). 3 nolu olguda 11q11 bölgesinde delesyon saptanmıştır. Bu bölge *OR4C11*, *OR4P4* ve *OR4S2* içermektedir. Bu genler olfaktör reseptör olarak görev yapmaktadırlar (105). Daha detaylı çalışmalar sayesinde bu genlerin konjenital idiyopatik skolyoz ile olası ilişkileri ortaya çıkarılabilir. 14q32.33 bölgesinde 292832 bp'lik amplifikasyon saptanmıştır. CLCN7 geni bu bölgede bulunur. CLCN7 geni CLCN gen ailesinin bir üyesidir ve klorid kanal proteininin sentezlenmesinde rol alır. CLCN7 otozomal dominant osteoporoz, bebeklik çağı otozomal resesif osteoporoz ve çocukluk çağında görülen osteoporoz ile ilişkilendirilmiştir (106). Olgu 3'te Xp22.33 bölgesinde 1264 bp'lik amplifikasyon tespit edildi. SHOX geni bu bölgede yer alır. SHOX 6 ekzon bölgesinden oluşan 1146 bp uzunluğunda bir gendir (107). SHOX X ve Y kromozomlarının psödootozomal bölgelerinde yer alır ve bu gende meydana gelen mutasyonlar Turner sendromu, Leri-Weill Diskondrosteozu'na ve konjenital kısalıklara neden olur (108). SHOX cinsiyet kromozomlarının psödootozomal 1 bölgesinde (PAR1) yer alarak büyümeyi olumlu yönde etkiler. SHOX geni SHOXa ve SHOXb olmak üzere iki transkript kodlar ve bu transkriptler de 292 ve 225 aminoasitten oluşan proteinleri kodlarlar (109). Turner sendromunda iskelet anomalisine SHOX mutasyonlarının neden olduğu ve klinik-radyolojik bulguları bakımından idiyopatik skolyozla benzerlik gösterdiği bildirilmiştir (110). Turner sendromlu hastalarda genel olarak boy kısalığı, kısırılık ve gelişmemiş ikincil cinsiyet karakter özellikleri görülür. Ayrıca daha az görülmekle beraber kardiyovasküler hastalıklar ve böbrek malformasyonlarına da rastlanır (111). Gregory Day ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları çalışma sonucunda SHOX geni ekspresyonunda meydana gelen azalmanın Turner Sendromu'na, yine bu genin ekspresyonundaki artışın ise idiyopatik ve konjenital skolyoza neden olabileceği gösterilmiştir (111).

Skolyoz ve boy kısalığı tanılı olgu 4'ün array-CGH uygulaması sonucunda DLR değeri 0,58 olarak tespit edildi. Bu değer anamlılık sınırının çok üstünde olması nedeniyle olgu 4 değerlendirilmeye uygun görülmemiştir.

İzole Skolyoz tanılı 5 nolu kız olgu 11 yaşındadır. Olguda torakalde skolyoz tespit edilirken aynı zamanda papil stazı bulunmaktadır. Olgu 5'te 3q28 bölgesinde 2675 bp'lik amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede TP63 geni yer alır. TP63, P53 ailesinin bir üyesi olup katlı epitel dokusunun onarımında ve gelişimde rol oynayan protein kodlar. TP63'te meydana gelen mutasyonlar Rapp-Hodgkin sendromu, ADULT sendromu, Hay-Wells sendromu, Split-hand/food malformasyonu tip 4, Limp-mammary sendromu ve yarık damak/dudak tip 3 ile ilişkilendirilmiştir (112,113,114). İskelet anomallerine yol açması nedeniyle TP63 geniyle ilgili olarak yapılacak fonksiyonel ve spesifik çalışmalar ile konjenital idiyopatik skolyozun bu genle bağlantılı olup olmadığı açıklığa kavuşturulabilir. Ayrıca bu olguda 8p23.1 bölgesinde 811102 bp'lik delesyon tespit edildi. Bu bölge içerisinde DEFB4B, DEFB103A, DEFB103B genleri bulunmaktadır. DEFB103A geninin fetal akciğer dokusundaki ekspresyonunun IL1B'yi artırarak mikroorganizmalara karşı savunmada rol aldığı gösterilmiştir (115).

İzole Skolyoz tanılı 6 nolu olgu 15 yaşında kız olup, yapılan fizik muayenesinde servikal torakal lumbal bölgede açıklığı sola bakan 35 derece skolyoz tespit edildi. Ayrıca olguda servikal torakal lumbal bölgede açıklığı sağa bakan 23 derecelik skolyoz ve açıklığı sağa bakan 34 derecelik rotoskolyoz mevcuttur. Olgu 6'da 1p31.1 bölgesinde 2996950 bp'lik amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede PTGER3 geni yer alır. PTGER3 en azından 10 ekzondan oluşan ve 80kb uzunluğundadır. PTGER3, Prostaglandin E receptor (EP3) olarak da adlandırılır ve hücre içi düzenlemede hücreler arası etkileşimde rol oynamaktadır (116).

İzole Skolyoz tanılı Olgu 7'de 5p15.33 bölgesinde 129774 bp'lik amplifikasyon tespit edildi. Bu bölge içerisinde TPPP geni bulunmaktadır. TPPP p24 ve p25 olarakta bilinir. Tübülün polimeraz düzenleyici protein olarak işlev gösterir (117). p24 proteini tıpta antijen olarak kullanılmaktadır (118).

Son olarak skolyoz, hipotroidi, sağ hemihipertrofi, prematüre pubarş tanılı 8 nolu olguda 7q11.21 bölgesinde 461091 bp'lik delesyon tespit edildi. INTS4L1, ZNF92 genleri bu bölgede yer almaktadır. ZNF92, ZNF gen ailesinin bir üyesidir. ZNF92 çinko parmak motif modelinin oluşumunda rol oynayan genlerden biridir (119). Çinko parmak motifi hedef genlerde ve DNA değişiminde rol oynar. Çinko parmak nükleazlarında

DNA bölünmesinde işlev gören enzimler bulunur. Çinko parmak nükleazları DNA'ya belirli bir noktadan bağlanarak DNA'yı iki parçaya böler. Her bir çinko parmak nükleazı hedef gen veya hedef DNA olarak adlandırılan tek bir gen için işlev gösterebilir. Çinko parmak nükleazları istenen değişikliği oluşturmak için genlerin belirli parçalarında işlev göstermek üzere spesifik olarak dizayn edilebilirler. Çinko parmak nükleazları gen fonksiyonlarını ortaya çıkarmak ve herhangi bir türdeki DNA'yı değiştirmek amacıyla kullanılmaktadır (120, 121).

Ayrıca 8 nolu olgunun 10q11.22 bölgesinde 670234 bp'lik amplifikasyon görüldü. GPRIN2, PPYR1 ve LOC643650 genleri bu bölgede yer alır. GPRIN2, G protein düzenleyici tip2 olup, nörit oluşumunu indükleyen proteinlerdendir (122). PPYR1 375 aminoasitlik bir polipeptidi kodlar ve bu polipeptid Y1 reseptör geni için en yüksek homolojiye sahiptir. Ayrıca PPYR1'in kodladığı reseptör proteininin beyin, ileum ve koroner arter gibi bir çok insan dokusunda eksprese olduğu belirtilmiştir. Pankreatik polipeptid, nöropeptid Y ve peptid YY gibi hormonların PPYR1 reseptörüne bağlandığı bildirilmiştir. Ancak insanlarda fonksiyonu bilinmemektedir (123). LOC643650 geni ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır.

Konjenital/idiyopatik skolyozun etyolojisinin aydınlatılmasına dair yeni bulgu ve veriler elde edilebilmesi için fonksiyonel çalışmaların yapılması şarttır. Bu amaçla çalışmada kullanılacak olgu sayısı arttırılabilir, CGH çözünürlüğü arttırılabilir ve tüm ekzom sekanslama yönteminden yararlanılabilir. Tüm ekzom sekanslama, klasik genetik metodlarına alternatif olarak tanımlanmış bir metoddur Bu metod, yeni nesil teknolojiler yardımıyla dönüşümsel bir yaklaşım sağlayarak kompleks ve monogenik hastalıklardaki etkili mutasyonu saptamakta kullanılmaktadır. Tüm ekzom sekanslama yöntemi kullanılarak genomdaki sadece protein kodlayan bölgeler sekanslanabilir. Bu yöntem ile nadir Mendeliyen hastalıklara sebep olan alleller tüm genom sekanslama yöntemine göre daha verimli bir şekilde tanımlanabilmektedir. Ayrıca tüm ekzom sekanslama ile çok çeşitli hastalıklara sebep olan nadir varyantlar da tanımlanabilir. Tüm ekzom sekanslama yöntemi temel olarak hedef bölgelerin seçimi ve sekanslanması olmak üzere iki aşamadan oluşur. Hedef bölgelerin seçimi aşamasında genomik DNA rastgele yerlerden parçalanarak fragmente edilmektedir. Hedef bölgelerin seçimi aşamasının ardından elde edilen seçilmiş fragmentler, yüksek çözünürlüklü otomatize

sekanslama cihazları ile sekanslanmaktadır. Bu yöntem sayesinde insan genomunda bulunan tüm kodlayan bölgelerdeki varyasyonları saptama imkanı elde edilmiştir. Böylelikle bu teknik kompleks ve monogenik hastalıklardaki sorumlu genleri tanımlamada çok büyük kolaylıklar sağlamıştır. Gelecekte tüm ekzom sekanslama ve array- CGH yöntemleri kombine edilerek etyolojileri aydınlatılmamış hastalıklarla ilgili olarak yeni bulgular elde edilebilir. Ayrıca gelecekte delesyon ve amplifikasyon saptanan aday genlerle ilgili olarak “Zebra modeli” planlamaktayız. Yapılacak bu çalışmaların sonucunda konjenital/idiyopatik skolyozla ilişkilendirilebilecek yeni genler tanımlanabilecek, gen işlev ve yolaklarında bazı bilinmeyenler de aydınlatılabilecek ve gelişimsel genetiğe katkıda bulunulabilecektir.

Sonuç olarak, yeni tasarladığımız bu array-CGH dizayn çalışması; firmalar ya da kuruluşlar tarafından tasarlanmış olan mevcut tüm genom taramalarının oluşturacağı yüksek miktardaki verinin, yapılacak analizi komplike etmesi dezavantajından bu şekilde uzaklaşılacağı ve sadece ilgili lokuslara fokuse olarak daha anlamlı, hassas ve analiz edilebilir veriye ulaşılacağı göstermiştir. Bu tasarımın modifiye şekilleriyle konjenital/idiyopatik skolyoz tanı kriterlerinin yeniden belirlenebileceği, yeni alt tiplendirmelere yol gösterebileceği ve etyolojisi bilinmeyen skolyozun moleküler temellerinin açıklanmasına imkan sağlayabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Conner AN. Early onset scoliosis: a call for awareness. *Br Med J* 289: 962. 1994
2. Dickson RA, Lawton JO, Archer IA, Butt . The pathogenesis of idiopathic scoliosis: biplanar spinal asymmetry. *J Bone Joint Surg* 66B: 8. 1984
3. Allington NJ, Bowen JR: Adolescent idiopathic scoliosis: Treatment with the Wilmington brace. A comparison of full time and part time use. *J Bone joint surg Am* 78 : 1056 –1062, 1996.
4. Bradford DS, Lonstein JE, Moe JH, et al. Moe's Textbook of Scoliosis and other Spinal Deformities. 2. ed. WS SaundersCompany. 1987, 1-5, 41-58, 191-4, 369.
5. Paediatric orthopaedics and fractures, WJW. Sharrard first published. 1971;310-40.
6. Lonstein JE. Natural history and school screening for skolyosis. *Orthop clin. Nort Am* 1988; 19(2) :227-237
7. Dickson RA, Lawton JO, Archer IA, Butt WP. The pathogenesis of idiopathic scoliosis. Biplanar spinal asymmetry. *J Bone Joint Surg Br.* 1984 Jan;66(1):8–15
8. P.Callier, L. Faivre American Journal of Medical Genetics-2008, Jao-Shwan L , Shimojima K, *Pediatr Neonatol.* 2008)
9. Collins P: Embryology and Development. in. Gray's Anatomy Ed. L. Williams Thirty-Eight Edition Churchill-Livigstone 91-341,1995
10. Langman J, Sadler TW: *Langman's Medical Embryology.* Baltimore, Williams & Wilkins, 1985, pp 133–147.
11. U.S. National Library of Medicine, Medline plus medical encyclopedia. [online ed.]. 2006. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/003806.html>.

12. Gray, H. Anatomy of the human body. [online ed.]. Bartleby.com, 2000  
<http://www.bartleby.com/107/>.
13. Boachie- Adjei O, Lonstein JE, Winter RB; Congenital Spine deformity. Instructional course Lectures, 63rd AAOS, Atlanta, 1996.
14. Harrington PR. The management of scoliosis by spine instrumentation. *South Med J* 1963; 50: 1367
15. Spina (phila, pa 1976. Anterior thoracoscopic instrumentation in adolescent idiopathic scoliosis: a systematic review) 2008 Aug 15; 33(18):1986-94. doi:10.1097/BRS.0b013e31817d1d67
16. Roaf R. The basic anatomy of scoliosis. *J Bone Joint Surg Am* 1966; 48: 786
17. Panjabi MM, White AA. 3rd Basic biomechanics of the spine. *Neurosurgery*. 1980;7(1):76-93
18. Watts HG. Bracing in spinal deformities. *Orthop Clin AM* 10;769-786, 1979
19. Roaf R. The basic anatomy of scoliosis. *J Bone Joint Surg* 48A:786, 1966
20. Luqie ER. Anatomy of scoliosis and its correction. *Clin Orthop* 105:198, 1984
21. Willner S, Uden A. A prospective prevalence study of scoliosis in southern Sweden. *Acta orthop scand*. 1983;53:233-237.
22. Schwab F, Ashok D, Lorenzo G, et al. Adult scoliosis: prevalence, SF-36, and nutritional parameters in an elderly volunteer population. *Spine*. 2005;30:1083-1085.
23. Lonstein JE, Carlson JM. The prediction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;66:1061-1071

24. Yawn BP, Yawn RA, Hodge D, Kurland M, Shaughnessy WJ, Ilstrup D, et al. A population-based study of school scoliosis screening. *JAMA*. 1999;282:1427–32.
25. Carr AJ. Adolescent idiopathic scoliosis in identical twins. *J Bone Joint Surg Br*. 1990;72:1077
26. Weinstein SL. Natural history. *Spine*. 1999;24:2592–600.
27. Carol A.Wise, Xiaochong Gao, Scott Shoemaker, Derek Gordon and John A.Herring Understanding Genetic Factors in Idiopathic Scoliosis, a Complex Disease of Childhood Current Genomics, 2008, 9, 51-59
28. K. Allen Greiner, M.D, M.P.H., University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas. Adolescent Idiopathic Scoliosis: Radiologic Decision - Making
29. Pruijs JE, Hageman MA, Keessen W, van der Meer R, van Wieringen JC. Variation in Cobb angle measurements in scoliosis. *Skeletal Radiol*. 1994;23:517–20.
30. Karachalios T, Roidis N, Papagelopoulos PJ, Karachalios GG. The efficacy of school screening for scoliosis. *Orthopedics*. 2000;23:386–91.
31. Lonstein JE, Carlson JM. The prediction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;67:1061-1071
32. Lonstein JE, Carlson JM. The reduction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am*. 1984;64:481-488.
33. Armstrong, G. W. D. ; Livermore, N. B. ; Suzuki, Nobumasa; and Armstrong, J, G: Nonstandard Vertebral Rotation in Scoliosis Screening Patients. Its Prevalence and Relation to the Clinical Deformity. *Spine*, 7: 50-54, 1982.
34. Winter RB, Garamella JJ. *Minn Med*. Development and growth of anterior spine surgery in Minnesota. 2010 Mar;93(3):53-5.

35. Masso PD, Meeropol E, Lennon E. J Pediatr Orthop. Juvenile-onset scoliosis followed up to adulthood: orthopaedic and functional outcomes. 2002 May-Jun;22(3):279-84.
36. Shands AR, Eisberg HB. The incidence of scoliosis in the state of Delaware. A study of 50,000 minifilms of the chest made during a survey for tuberculosis. J Bone Joint Surg. 1955;37A:1243
37. Weinstein SL. Adolescent idiopathic scoliosis: prevalence and natural history. Instr Course Lect. 1989;38:115-128
38. Wynne-Davies R. Familial scoliosis. J Bone Joint Surg Br 1968; 50: 2439. Ugras AA, Yilmaz M, Sungur I, Kaya I, ark. Prevalence of scoliosis and cost effectiveness of screening in schools in Turkey. J Back Musculoskelet Rehabil. 2010;23:45-8 40. Lonstein JE, Bjorklund S, Wanninger MH, Nelson RP. Voluntary school screening for scoliosis in Minnesota. J Bone Joint Surg Am 1982 Apr;64(4):481-8.
39. Ugras A, Yilmaz M, Sungur I, Kaya I, ark. Prevalence of scoliosis and cost effectiveness of screening in schools in Turkey. J Back Musculoskelet Rehabil. 2010;23:45-8
40. Kusumi K, Dunwoodie SL. Eds. The Genetics and Development of Scoliosis. 1st Ed. New York: Springer Book; 2010:182. ISBN 978-1-4419-1405-7 e-ISBN 978-1-4419-1406-4 DOI 10.1007/978-1-4419-1406-4
41. Wise CA, Gao X, Shoemaker S, Gordon D, Herring JA Understanding genetic factors in idiopathic scoliosis, a complex disease of childhood. . Curr Genomics 2008 Mar;9(1):51-9. doi: 10.2174/138920208783884874.
42. Cheung KM, Wang T, Qiu GX, Luk Kd. Recent advances in the aetiology of adolescent idiopathic scoliosis. Int Orthop. 2008 Dec;32(6):729-34. Epub 2007 Jun 16.



43. Harrington PR Technical details in relation to the successful use of instrumentation in scoliosis. *Orthop Clin North Am.* 1972 Mar;3(1):49-67.
44. Bell M, Teebi AS. Autosomal dominant idiopathic scoliosis? *Am. J. Med. Genet.* 1995;55:112
45. Justice CM, Miller NH, Marosy B, Zhang J, Wilson AF. Familial AIS: evidence of an X-linked susceptibility locus. *Spine.* 2003;28:589–594. doi: 10.1097/00007632-200303150-00014
46. Gao X, Gordon D, Zhang D, Browne R, ark. CHD7 gene polymorphisms are associated with susceptibility to idiopathic scoliosis. *Am. J. Hum. Genet.* 2007;80:957–965
47. Giampietro PF, Dunwoodie SL, Kusumi K, Pourquie O, Tassy O, Offiah AC, Cornier AS, Alman BA, Blank RD, Raggio CL, Glurich I, Turnpenny PD. Progress in the understanding of the genetic etiology of vertebral segmentation disorders in humans. *Ann N Y Acad Sci* 2009 Jan;1151:38-67. doi: 10.1111/j.1749-6632.2008.03452.x.
48. Scott TF, Bailey RW. Idiopathic scoliosis in fraternal twins. *J. Mich. State Med. Soc.* 1963;62:283–284
49. Wynne-Davies R. Familial idiopathic scoliosis. A family survey. *J. Bone Joint Surg. Br.* 1968;501:24–30
50. Riseborough EJ, Wynne-Davies R. A genetic survey of idiopathic scoliosis in Boston, Massachusetts. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1973;55:974–982
51. Hensinger RN. Congenital scoliosis: etiology and associations. *Spine (Phila Pa 1976).* 2009 Aug 1;34(17):1745-50. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181abf69e.
52. Trobisch P, Suess O, Schwab F Dtsh Arztebl. Idiopathic scoliosis. *Int* 2010 Dec;107(49):875-83; quiz 884. doi: 10.3238/arztebl.2010.0875. Epub 2010 Dec 10

53. Mehta MH. The rib-vertebra angle in the early diagnosis between resolving and progressive infantile scoliosis. *J Bone Joint Surg BR.* 1972;54:230–243
54. Lonstein JE, Carlson JM. The prediction of curve progression in untreated idiopathic scoliosis during growth. *J Bone Joint Surg Am.* 1984;66:1061–1071.
55. Evans SC, Edgar MA, Hall-Craggs MA, Powell MP, Taylor BA, Noordeen HH MRI of 'idiopathic' juvenile scoliosis. A prospective study. *J Bone Joint Surg Br.* 1996 Mar;78(2):314-7.
56. Robinson CM, McMaster MJ. Juvenile idiopathic scoliosis. Curve patterns and prognosis in one hundred and nine patients. *JBone Joint SurgAm* 1996; 78:1140-8.
57. Samudrala S, Vaynman S, Thiayanathan T, Ghostine S, Bergey DL, Anand N, Pashman RS, Johnson JP. Cervicothoracic junction kyphosis: surgical reconstruction with pedicle subtraction osteotomy and Smith-Petersen osteotomy. Presented at the 2009 Joint Spine Section Meeting. Clinical article. *J Neurosurg Spine.* 2010 Dec;13(6):695-706. doi: 10.3171/2010.5.SPINE08608.
58. Danielsson AJ, Wiklund I, Pehrsson K, Nachemson AL. Health-related quality of life in patients with adolescent idiopathic scoliosis: a matched follow-up at least 20 years after treatment with brace or surgery. *Eur Spine J.* 2001 Aug;10(4):278-88.
59. Katz DE, Herring JA, Browne RH, Kelly DM, Birch JG. Brace wear control of curve progression in adolescent idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Am.* 2010 Jun;92(6):1343-52. doi: 10.2106/JBJS.I.01142.
60. McMaster Mj, Ohtsuka K. the natural history of congenital scoliosis. a study of two hundred and fifty-one patients. *j bone joint surg am.* 1982 oct;64(8):1128-47
61. Winter RB, Lonstein JE, Boachie-Adjei O. Congenital spinal deformity. *Instr Course Lect.* 1996;45:117-27.

62. Hensinger RN. Congenital scoliosis: etiology and associations. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009 Aug 1;34(17):1745-50. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181abf69e.
63. Marks DS, Qaimkhani SA. The natural history of congenital scoliosis and kyphosis. *Spine(Phila Pa 1976)*.2009 Aug 1;34(17):1751-5. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181af1caf.
64. Jog S, Patole S, Whitehall J. Congenital scoliosis in a neonate: can a neonatologist ignore it? *Postgrad Med J*. 2002 Aug;78(922):469-72.
65. Kawakami N, Tsuji T, Imagama S, Lenke LG, Puno RM, Kuklo TR; Spinal Deformity Study Group. Classification of congenital scoliosis and kyphosis: a new approach to the three-dimensional classification for progressive vertebral anomalies requiring operative treatment. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2009 Aug 1;34(17):1756-65. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181ac0045.
66. Giampietro PF, Blank RD, Raggio CL, Merchant S, Jacobsen FS, Faciszewski T, Shukla SK, Greenlee AR, Reynolds C, Schowalter DB. Congenital and idiopathic scoliosis: clinical and genetic aspects. *Clin Med Res*. 2003 Apr;1(2):125-36.
67. Aliabadi H, Grant G *Neurosurgery* Congenital thoracolumbar spine deformities. 2008 Sep;63(3 Suppl):78-85. doi: 10.1227/01.NEU.0000313144.11433.0C.
68. Caspersson T., Farber S., Foley G.E., Kudynowski J., Modest E.J., Simonsson E. et al. Chemical differentiation along metaphase chromosomes. *Exp Cell Res* 1968; 49(1):219-222.
69. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258(5083):818-821.
70. Shaffer L.G., Bejjani B.A. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Human Reproduction* 2004; 10(3):221-226.

71. Kallioniemi A., Kallioniemi O.P., Sudar D., Rutovitz D., Gray J.W., Waldman F. et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 1992; 258(5083):818-821.
72. Shaffer L.G., Bejjani B.A. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Human Reproduction* 2004; 10(3):221-226.
73. Forozan F., Karhu R., Kononen J., Kallioniemi A., Kallioniemi O.P. Genome screening by comparative genomic hybridization. 1997; 13: 405-409. *Trends Genet* 1997; 13:405-409.
74. Ness G.O., Lybaek H., Houge G. Usefulness of high-resolution comparative genomic hybridization (CGH) for detecting and characterizing constitutional chromosome abnormalities. *Am J Med Genet* 2002; 113:125-136.
75. Schena M., Shalon D., Davis R.W., Brown P.O. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNAmicroarray. *Science* 1995; 270(5235):467-470.
76. Schena M., Shalon D., Heller R., Chai A., Brown P.O., Davis R.W. Parallel human genome analysis: microarray-based expression monitoring of 1000 genes. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:10614-10619.
77. Darryl Leja Nation Human Genome Research Institute (NHGRI)  
<http://genome.gov/12514471>
78. Karsren S.L., Geshwind D.H. Gene expression analysis using cDNA microarrays.
79. Heinrichs S., Look A.T. Identification of structural aberrations in cancer by SNP array analysis. *Genome Biol* 2007; 8:219.

80. Garzon R., Calin G.A., Croce C.M. MicroRNAs in Cancer. *Annu Rev Med* 2009; 60:167-179.
81. Ventura A., Jacks T. MicroRNAs and cancer: short RNAs go a long way. *Cell* 2009; 136(4):586-591.
82. Waterston R.H., Lindblad-Toh K., Birney E., Rogers J., Abril J.F., Agaffal P. et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 2002; 420:520-562
83. Dancau A.M., Simon R., Mirlacher M., Sauter G. Tissue microarrays. *Methods Mol Biol* 2010; 576:49-60.
84. Simon R., Sauter G. Tissue microarrays for miniaturized high-throughput molecular profiling of tumors. *Exp Hematol* 2002; 30:1365-1372.
85. Theisen A. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (array-CGH). 120 *Nature Education* 2008; 1:1.
86. Lupski J.R., Stankiewicz P. *Genomic Disorders, The Genomic Basis of Disease*. Humana Press; 2006
87. Jao-Shwann L., Shimojima K., Yamamoto T. Application of Array-based Comparative Genome Hybridization in Children with Developmental Delay or Mental Retardation. *Pediatr Neonatol* 2008; 6:213-217.
88. Theisen, A. Ph.D. Microarray-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH). *Nature Education Citation*: 2008. 1(1)
89. Hardiman G. Microarray platforms - comparisons and contrasts. *Pharmacogenomics* 2004; 5(5):487-502.

90. Brewster J.L., Beason K.B., Eckdahl T.T., Evans I.M. The Microarray Revolution. *BAMBED* 2004; 32(4):217-227
91. Parrish R.S., Delongchamp R.R. Normalization of Microarray Data. In: Allison D.B., Page G.P., Beasley T.M., Edwards J.W., editors. *DNA Microarrays And Related Genomics Techniques Design, Analysis, and Interpretation of Experiments*. Chapman & Hall/CRC, Taylor & Francis Group; 2006. 10-28.
92. Warman M.L., Cormier-Daire V., Hall C., Krakow D., Lachman R., LeMerrer M. et al. Nosology and Classification of Genetic Skeletal Disorders: 2010 Revision. *Am J Med Genet A* 2011; 155:943-968.
93. Trask B.J. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet* 2002; 3(10):769-778.
94. Jao-Shwann L., Shimojima K., Yamamoto T. Application of Array-based Comparative Genome Hybridization in Children with Developmental Delay or Mental Retardation. *Pediatr Neonatol* 2008; 6:213-217.95. Lupski J.R., Stankiewicz P. *Genomic Disorders, The Genomic Basis of Disease*. Humana Press; 2006.
95. Oostlander AE, Meijer GA, Ylstra B. Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet*. 2004;66(6):488-95.
96. Grozinger, C. M., Hassig, C. A., Schreiber, S. L. Three proteins define a class of human histone deacetylases related to yeast Hda1p. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 96: 4868-4873, 1999
97. Vega RB, Matsuda K, Oh J, Barbosa AC, Yang X, Meadows E, McAnally J, Pomajzl C, Shelton JM, Richardson JA, Karsenty G, Olson Histone deacetylase 4 controls chondrocyte hypertrophy during skeletogenesis. *EN Cell* 2004 Nov 12;119(4):555-66.

98. Williams SR, Aldred MA, Der Kaloustian VM, Halal F, Gowans G, McLeod DR, Zondag S, Toriello HV, Magenis RE, Elsea SH Am J Hum Genet Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. 2010 Aug 13;87(2):219-28. doi: 10.1016/j.ajhg.2010.07.011.
99. Aguado B, Campbell RD Characterization of a human lysophosphatidic acid acyltransferase that is encoded by a gene located in the class III region of the human major histocompatibility complex. J Biol Chem. 1998 Feb 13;273(7):4096-105
100. West J1, Tompkins CK, Balantac N, Nudelman E, Meengs B, White T, Bursten S, Coleman J, Kumar A, Singer JW, Leung DW Cloning and expression of two human lysophosphatidic acid acyltransferase cDNAs that enhance cytokine-induced signaling responses in cells. DNA Cell Biol. 1997 Jun;16(6):691-701.
101. Cho C. Testicular and epididymal ADAMs: expression and function during fertilization. Nat Rev Urol. 2012 Oct;9(10):550-60
102. Increased myeloid cell responses to M-CSF and RANKL cause bone loss and inflammation in SH3BP2 "cherubism" mice. Ueki Y, Lin CY, Senoo M, Ebihara T, Agata N, Onji M, Saheki Y, Kawai T, Mukherjee PM, Reichenberger E, Olsen BR
103. Bell SM, Shaw M, Jou YS, Myers RM, Knowles MA Identification and characterization of the human homologue of SH3BP2, an SH3 binding domain protein within a common region of deletion at 4p16.3 involved in bladder cancer. Genomics. 1997 Sep 1;44(2):163-70.
104. Barrow J, Adamowicz-Brice M, Cartmill M, MacArthur D, Lowe J, Robson K, Brundler MA, Walker DA, Coyle B, Grundy R Homozygous loss of ADAM3A revealed by genome-wide analysis of pediatric high-grade glioma and diffuse intrinsic pontine gliomas. Neuro Oncol. 2011 Feb;13(2):212-22.

105. Malnic B, Godfrey PA, Buck LB The human olfactory receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Feb 24;101(8):2584-9.

106. CLCN7-Related Osteopetrosis. de Vernejoul MC, Schulz A, Kornak U. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Bird TD, Dolan CR, Fong CT, Smith RJH, Stephens K, editors. *Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2014*. 2007 Feb 12

107. Rao E, Weiss B, Fukami M, Rump A, Niesler B, Mertz A, Muroya K, Binder G, Kirsch S, Winkelmann M, Nordsiek G, Heinrich U, Breuning MH, Ranke MB, Rosenthal A, Ogata T, Rappold GA . Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. *Nat Genet*. 1997 May;16(1):54-63.

108. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Dec;84(12):4613-21. Skeletal features and growth patterns in 14 patients with haploinsufficiency of SHOX: implications for the development of Turner syndrome. Kosho T, Muroya K, Nagai T, Fujimoto M, Yokoya S, Sakamoto H, Hirano T, Terasaki H, Ohashi H, Nishimura G, Sato S, Matsuo N, Ogata T

109. Jones MC, Schiller S, Rao E, et al. The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome. *Hum Mol Genet* 2000; 9(5): 695-702.

110. Roberto L. P. Mazzaschi, Juliet Taylor, Stephen P. Robertson, Donald R. Love and Alice M. George A turner syndrome patient carrying a mosaic distal X chromosome marker. *Case Rep Genet*. 2014;2014:597314. doi: 10.1155/2014/597314. Epub 2014 Mar 17.

111. Day G, Szvetko A, Griffiths L, McPhee IB, Tuffley J, LaBrom R, Askin G, Woodland P, McClosky E, Torode I, Tomlinson SHOX gene is expressed in vertebral body growth plates in idiopathic and congenital scoliosis: implications for the etiology of scoliosis in Turner syndrome. *F J Orthop Res*. 2009 Jun;27(6):807-13.



112. Amiel, J., Bougeard, G., Francannet, C., Raclin, V., Munnich, A., Lyonnet, S., Frebourg, T. TP63 gene mutation in ADULT syndrome. *Europ. J. Hum. Genet.* 9: 642-645, 2001
113. Prontera, P., Escande, F., Cocchi, G., Donti, E., Martini, A., Sensi, A. An intermediate phenotype between Hays-Wells and Rapp-Hodgkin syndromes in a patient with a novel p63 mutation: confirmation of a variable phenotypic spectrum with a common aetiology
114. Guazzarotti, L. Caprio, C. Rinne, T. K. Bosoni, M.. Pattarino, G. Mauri, S. Tadini, G. L. van Bokhoven, H., Zuccotti, G. V. Limb-mammary syndrome (LMS) associated with internal female genitalia dysgenesis: a new genotype/phenotype correlation? *Am. J. Med. Genet.* 146A: 2001-2004, 2008
115. Jia HP, Schutte BC, Schudy A, Linzmeier R, Guthmiller JM, Johnson GK, et al. Discovery of new human beta-defensins using a genomics-based approach. *Gene.* 2001 Jan 24;263(1-2):211-8.
116. Kotani M, Tanaka I, Ogawa Y, Usui T, Tamura N, Mori K, Narumiya S, Yoshimi T, Nakao K Structural organization of the human prostaglandin EP3 receptor subtype gene (PTGER3). *Genomics.* 1997 Mar 15;40(3):425-34.
117. Tirián L, Hlavanda E, Oláh J, Horváth I, Orosz F, Szabó B, Kovács J, Szabad J, Ovádi J TPPP/p25 promotes tubulin assemblies and blocks mitotic spindle formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Nov 25;100(24):13976-81. Epub 2003 Nov 17.
118. Martin CP, Vazquez J, Avilla J, Moreno FJ. P24 a glycogen synthase kinase 3 (GSK 3) inhibitor. *Biochim Biophys Acta,* 2002 Jan 2; 1586(1):113-22.
119. Bellefroid, E. J. Marine, J. C. Ried, T. Lecocq, P. J. Riviere, M. Amemiya, C. Poncelet, D. A. Coulie, P. G. de Jong, P. Szpirer, C. Ward, D. C. Martial, J. A. Clustered organization of homologous KRAB zinc-finger genes with enhanced expression in human T lymphoid cells. *EMBO J.* 12: 1363-1374, 1993

120. Sundar Durai, Mala Mani , Karthikeyan Kandavelou, Joy Wu, Matthew H. Porteus, and Srinivasan Chandrasegaran, Zinc finger nucleases: custom-designed molecular scissors for genome engineering of plant and mammalian cells *Nucleic Acids Research*, 2005, Vol. 33, No. 18 doi:10.1093/nar/gki912
121. Sharon L. Amacher Emerging gene knockout technology in zebrafish: zinc-finger nucleases briefings in functional genomics and proteomics. vol 7. no 6. 460-464
122. Chen, L. T. Gilman, A. G. Kozasa, T. A candidate target for G protein action in brain. *J. Biol. Chem.* 274: 26931-26938, 1999.
123. <http://www.omim.org/entry/601790>. 2014

## ETİK KURUL KARARI



T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR  
ETİK KURULU



Sayı: B.30.2.İST.0.30.90.00/

Konu:

4563

İstanbul ...../...../.....  
09 Şubat 2012

Dahili Tıp Bilimleri Bölümü  
Başkanlığına

İLGİ: 04.01.2012 tarihli, 296 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi **Doç.Dr.Hakan ULUCAN**'ın danışmanlığında Yüksek Lisans Öğrencisi **Bio.Ali GÖKGÖZ**'ün yürütücülüğünde "**Konjenital İdiyopatik Skolyozlu Array Tabanlı Karşılaştırmalı Genom Hibridizasyonu ile Tüm Genom Analizi**" başlıklı Yüksek Lisans Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri 07 Şubat 2012 tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.

Eki:  
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ  
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar  
Etik Kurulu Başkanı

Not: Yanıtlarımızda yazımızın gün ve sayısının belirtilmesi rica olunur.  
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL  
Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili: 22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta:ctfetik@istanbul.edu.tr.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Ali	<b>Soyadı</b>	Gökgöz
<b>Doğ.Yeri</b>	Amasya	<b>Doğ.Tar.</b>	28.06.1981
<b>Uyruğu</b>	T.C	<b>TC Kim No</b>	16033431056
<b>Email</b>	gokgozali10@yahoo.com	<b>Tel</b>	05359602523

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
<b>Doktora</b>		
<b>Yük.Lis.</b>		
<b>Lisans</b>	İstanbul Üniversitesi	2008
<b>Lise</b>	Suluova Lisesi (YDA)	1999

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
<b>1.</b>			-
<b>2.</b>			-
<b>3.</b>			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	İyi	İyi		

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
<b>LES Puanı</b>			
<b>(Diğer) Puanı</b>			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	İyi