

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**COHEN SENDROMU KLİNİK TANISI ALMIŞ
HASTALARDA TÜM EKZOM DİZİLEMEYLE BİLİNER
VE YENİ MUTASYONLARIN ARAŞTIRILMASI**

ECE GÜL

**DANIŞMAN
PROF. DR. BEYHAN TÜYSÜZ**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

İSTANBUL-2013

TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Genetik Yüksek Lisans Programında Ece GÜL tarafından hazırlanan Cohen Sendromu Klinik Tanısı Almış Hastalarda Tüm Ekzom Dizilemeyle Bilinen ve Yeni Mutasyonların Araştırılması başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

02 / 05 / 2013

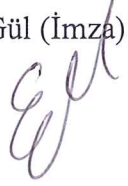
Tez Sınav Jürisi

<u>Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)</u>	<u>İmzası</u>
1. Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağ. ve Hast. A.D.
2. Prof. Dr. Nihan ÜNALTUNA	Deneysel Tıp Araş. Enst. Genetik Anabilim Dalı
3. Prof. Dr. Kıvanç ÇEFLE	İstanbul Tıp Fakültesi İç Hast. Genetik A.D
4. Prof. Dr. Barış KORKMAZ	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı
5. Doç. Dr. Sibel Uğur İŞERİ	Deneysel Tıp Araş. Enst. Genetik Anabilim Dalı

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.

Ece Gül (İmza)



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince sağladığı olanaklar, değerli bilimsel katkıları ve desteğinden dolayı danışman hocam Prof. Dr. Beyhan Tüysüz'e,

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Genetik Polikliniği ve Laboratuvarı çalışanlarına, Yale Ünversitesi Tıp Fakültesi Nörocerrahi, Nörobiyoloji ve Genetik Departmanı çalışanlarına, aileme ve tüm dostlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
TEŞEKKÜR	İV
İÇİNDEKİLER	V
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Vİİİ
RESİM LİSTESİ.....	İX
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	Xİİ
ABSTRACT.....	Xİİİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tarihçe	3
2.2. Klinik Bulgular	3
2.2.1. Nörolojik bulgular.....	3
2.2.2. Dismorfik bulgular	4
2.2.3. Göz bulguları.....	5
2.2.4. Nötropeni	5
2.2.5. Boy kısalığı ve obezite	5
2.3. Klinik Gelişim ve Prognoz.....	6
2.4. Klinik Heterojenite.....	7
2.5. Tanı Kriterleri	9
2.6. Ayırıcı Tanı.....	12
2.6.1. Bardet Biedel sendromu	12
2.6.2. Prader-Willi sendromu	12
2.6.3. Alstörm sendromu.....	12
2.6.4. Mirhosseini-Holmes-Walton sendromu	13
2.6.5. Diğer durumlar	13
2.7. Cohen Sendromu Moleküler Genetiği	13
2.7.1. COH1 geni	13

2.7.2. <i>COH1</i> gen mutasyonları.....	15
2.7.3. <i>COH1</i> Proteini.....	17
2.8. Tüm Ekzom Dizileme	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
3.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	21
3.2. DNA'nın Miktar ve Saflığının Ölçümü	21
3.3. Ekzom Yakalama ve Dizileme.....	22
3.3.1. Ekzom veri analizi	23
3.3.2. Dizi analizi ile varyantların konfirmasyonu.....	25
4. BULGULAR.....	28
4.1. Olgu 1.....	28
4.2. Olgu 2.....	31
4.3. Olgu 3.....	33
4.4. Olgu 4-1 / 4-2.....	35
4.5. Olgu 5-1 / 5-2.....	38
4.6. Olgu 6-1/ 6-2.....	41
4.7. Olgu 7-1/ 7-2 / 7-3	43
5. TARTIŞMA	50
KAYNAKLAR	56
ETİK KURUL KARARI	64
ÖZGEÇMİŞ	66

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2-1: Cohen sendromu tanı kriterleri. (Kolehmanien ve ark., 2004)	10
Tablo 3-1: Dizileme için kullanılan primerlerin bilgileri	26
Tablo 3-2: PZR koşulları	26
Tablo 3-3: Malzeme listesi	27
Tablo 3-4: Cihaz listesi	27
Tablo 4-1: Olgu 1 için ekzom dizileme sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	29
Tablo 4-2: Olgu 2 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan novel homozigot varyantlar	32
Tablo 4-3: Olgu 3 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	34
Tablo 4-4: Olgu 4-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	37
Tablo 4-5: Olgu 5-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	39
Tablo 4-6: Olgu 6-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	42
Tablo 4-7: Olgu 7-2 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar	45
Tablo 4-8: Hastaların klinik özellikleri.....	48
Tablo 4-9: Hasta örneklerinin tüm ekzom sekanslama coverage dağılımları, hata oranları, varyant sapatama özgüllük ve duyarlılıkları.....	49

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3-1: Ekzom yakalama ve dizileme protokolü	23
Şekil 3-2: Veri analiz akış şeması.....	24
Şekil 4-1: Olgu 1 için aile ağacı.....	29
Şekil 4-2: Olgu 1’de <i>BCID2</i> ’de homozigot missense varyantı (L244P) gösteren kromatogram.....	30
Şekil 4-3: Olgu 2 için aile ağacı.....	32
Şekil 4-4: Olgu 3 için aile ağacı.....	34
Şekil 4-5: Olgu 3’de <i>VPS13B</i> ’de c.436>T (R146X) nonsense mutasyonu gösteren kromatogram.....	35
Şekil 4-6 Olgu 4-1/4-2 için aile ağacı.....	36
Şekil 4-7: Olgu 4-1/4-2’de <i>VPS13B</i> ’de c.412+1 G>T splice site mutasyonu gösteren kromatogram.....	37
Şekil 4-8: Olgu 5-1/5-2 için aile ağacı.....	39
Şekil 4-9: Olgu 5-1/5-2’de <i>PRKRIP1</i> ’de L139X nonsense varyasyonu gösteren kromatogram.....	40
Şekil 4-10: Olgu 6-1/6-2 için aile ağacı.....	42
Şekil 4-11: Olgu 7-1/7-2/7-3 için aile ağacı	44
Şekil 4-12: Olgu 7-1/7-2/7-3’de <i>NEBL</i> V599A ve <i>NHLRC3</i> D148Y missense varyasyonlarını gösteren kromatogram.....	46

RESİM LİSTESİ

Resim 4-1: Olgu 1	29
Resim 4-2: Olgu 2	31
Resim 4-3: Olgu 3	34
Resim 4-4: Olgu 4-1/4-2	36
Resim 4-5: Olgu 5-1/5-2	39
Resim 4-7: Olgu 7-1/7-2/7-3	45

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

COH1	: Cohen Syndrome associated protein 1
VPS13B	: Vacuolar protein sorting 13 homolog B (yeast)
CNV	: Copy Number Variation (Kopya sayısı değişikliği)
MR	: Mental Retardasyon
EEG	: Elektroensefalografi
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
AAMD ABS	: American Association for Mental Deficiency Adaptive Behavior Scales
ERG	: Elektoretinografi
IDDM	: İnsulin-dependent diabetes mellitus (insülin bağımlı diabetes mellitus)
CS	: Cohen Sendromu
BBS	: Bardet-Biedl Sendromu
PWS	: Prader Willi Sendromu
ALMS	: Alström Sendromu
FISH	: Floresan In Sitü Hibridizasyon
cDNA	: Komplementer DNA
PTS2	: Peroxisome targeting signal 2
RNAi	: RNA interferaz
CGH	: Komparatif Genomik Hibridizasyon
MLPA	: Multipleks ligasyon esaslı prob amplifikasyonu (multiplex ligation-dependent probe amplification)
DGV	: The Database of Genomic Variants
UCSC	: University of California Santa Cruz
CHAC	: Cation transport regulator homolog 1
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DHODH	: Hydroorotate dehydrogenase (quinone)
Maq	: Mapping and Assembly with Quality
SNV	: Single nucleotide variants (Tek nükleotit varyantları)
BWA	: Burrows-Wheeler Aligner
SLC26A3	: Solute carrier family 26, member 3
PolyPhen-2	: Polymorphism Phenotyping v2
BCID2	: Bicaudal D 2

MRC1	: Mannose receptor, C type 1
CLEC18C	: C-type lectin domain family 18, member C
NPRL3	: Nitrogen permease regulator-like 3
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
dbSNP	: The Single Nucleotide Polymorphism database
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
IQ	: Intelligence quotient
EKO	: Ekokardiyografi
GRCh37	: Genome Reference Consortium Human genome build 37
COP1	: Constitutive photomorphogenesis protein 1
Rab6a	: Ras-related protein
ROR2	: Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2
ALOXE3	: Arachidonate lipoxygenase 3
KCNQ2	: Potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 2
FANCM	: Fanconi anemia, complementation group M
OR	: Otozomal resesif
MMR	: Mental Motor Retardasyon
ÜSYE	: Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu
PRKRIP1	: Prkr interacting protein 1
VEP	: Görsel Uyarılmış Potansiyel
LTB4	: Latent transforming growth factor beta binding protein 4
SD	: Standard deviation (Standart sapma)
USG	: Ultrasonografi
KrMRG	: Kranial MRG
NHLRC3	: NHL repeat containing 3
NEBL	: Nebulette
CHR	: Kromozom
QS	: Quality Score
COV	: Coverage
REF-COV	: Referance coverage
NON-REF COV	: Non referance coverage

ÖZET

Gül E. (2013). Cohen Sendromu Klinik Tanısı Almış Hastalarda Tüm Ekzom Dizilemeyle Bilinen ve Yeni Mutasyonların Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans İstanbul.

Cohen sendromu (CS; MIM #216550) klinik tablonun oldukça değişken olduğu, mental retardasyon, postnatal mikrosefali, fasiyel dismorfizm, trunkal obezite, eklem laksitesi, pigmenter retinopati/miyopi ve nötropeniyle karakterize nadir görülen otozomal resesif bir hastalıktır. Hastaların çoğunluğu Finlandiya'dan bildirilmekle birlikte etnik olarak farklı kökenlerden olan hastalarda *COHI* (*VPS13B*) gen mutasyonlarının hastalığa neden olduğu gösterilmiştir. Finli hastalarda founder mutasyona bağlı olarak homojen bir fenotip gözlenirken, diğer kohortlarda klinik spektrum çok geniştir ve gen üzerinde 100'den fazla mutasyon bildirilmiştir. Klinik olarak Cohen tanısı alan hastaların büyük kısmında *COHI*'de homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyonlar bulunmakla beraber bazı hastalarda sadece heterozigot mutasyon bildirilmiş ya da mutasyon bulunamamıştır. Hastaların çoğunda terminasyon mutasyonları görülür, missense mutasyonlar ya da büyük delesyonlar daha nadirdir. Bu çalışmada Cohen Sendromu klinik tanısı almış, daha önce *COHI* geninde sanger dizileme ile mutasyon bulunmayan 4 aileden 7 hasta dahil olmak üzere toplam 7 aileden 12 hastada ekzom dizileme yapılmıştır. Tüm ekzom dizilemeyi takiben sanger dizileme, *COHI* geninde bilinen ya da yeni mutasyonların tanımlanması ve konfirme edilmesi yanı sıra "Cohen-benzeri" fenotipe neden olabilecek aday genleri belirlemek amacıyla kullanılmıştır. *COHI* geninde bir hastada daha önce bildirilmiş homozigot nonsense mutasyon ve iki etkilenmiş kardeşte ise yeni bir homozigot splice site mutasyonu tespit edilmiştir. Diğer hastalarda *COHI*'de homozigot, heterozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon bulunamamıştır. Bu hastalardan bazıları için fenotipe etkisi olabilecek olası aday gen varyantları belirlenmekle birlikte, bunlardan hiçbiri aileler arasında ortak değildi. Verilerimiz Türkiyeli Cohen ya da Cohen-benzeri hastalarda klinik ve genetik heterojeniteyi ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Cohen Sendromu, *COHI*, *VPS13B*, mutasyon, ekzom, genetik heterojenite

ABSTRACT

Gül E. (2013). Investigation of Known and Novel Mutations By Exome Sequencing In Patients with Cohen Syndrome. İstanbul University, Institute of Health Science, Departments of Genetics. Master Thesis. İstanbul.

Cohen syndrome (CS; MIM #216550) is a rare autosomal recessive disorder with variability in the clinical manifestations, characterised by mental retardation, postnatal microcephaly, facial dysmorphism, truncal obesity, joint hypermobility pigmentary retinopathy, myopia, and intermittent neutropenia. Mutations in the gene *COHI* (*VPS13B*) have been found in an ethnically diverse series of patients. Finnish patients present homogeneous phenotype as result of a founder effect. However, a broad clinical spectrum in non-Finnish cases and overall, more than different 100 mutations in *COHI* have been reported. Although the majority of patients clinically diagnosed as Cohen syndrome carried homozygous or compound heterozygous mutations in *COHI*, only one heterozygous mutation is detected and no mutations are found in some cases. Most are termination mutations and predicted to result in a null allele, while missense mutations and larger deletions are less common. For these patients the underlying cause remains uncertain. Here we investigate the clinical and mutational spectrum of Cohen syndrome, we have characterized here 12 patients from 7 families. Whole exome sequencing followed by sanger sequencing has been used to identify mutations in known or novel *COHI* and defects in new candidate genes that may be the cause of “Cohen-like” phenotype. We determined a known nonsense mutation in one patient and a novel splice site mutation in 2 two patients from a family in *COHI*. No homozygous, compound heterozygous or mutations heterozygous variants were determined in other patients in *COHI*. Although some possible candidate genes variants that may be influence on phenotypes were found for these cases, none of them shared among patients. Our data showed clinical and genetic heterogeneity in Turkish Cohen and Cohen-like patients.

Key words: Cohen Syndrome, *COHI*, *VPS13B*, mutation, exome, genetic heterogeneity

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Cohen sendromu (CS) mental retardasyon, mikrosefali, dismorfik yüz, pigmenter retinopati, el-ayak darlığı, eklem laksitesi, intermittan nötropeni, trunkal obezite ve hipotoniyle seyreden otozomal resesif kalıtmımlı bir hastalıktır. Bugüne dek *COH1* gen mutasyonuna bağılı 200 olgu rapor edilmiştir (Douzgou ve Petersen, 2011). Finlandiya' da sıklığı daha fazladır ve fenotipi homojendir. Diğer etnik gruplarda ise klinik tablo oldukça değişkendir. Gerek klinik tablonun değişken olması, gerekse bazı bulguların yaşla birlikte ortaya çıkması tanının gecikmesine yol açmaktadır (Seifert ve ark., 2006). Fin popülasyonunda yapılan çalışmalarda *COH1* olarak da bilinen *VPS13B* (vacuolar protein sorting 13 homolog B) genindeki mutasyonların sendroma neden olduğu bulunmuştur. *COH1* geni 8q22'de lokalizedir, 864 kb uzunluğundadır ve 62 ekzondan oluşur, golgi bütünlüğünü sağlayan golgi ilişkili matriks proteinini kodlar. *COH1* proteini (4022 aa) golgi membran trafiğinden sorumludur (Valeyos-Baleza ve ark., 2004). *COH1* geninin fare homologunun postnatal ve erişkin beyin nöronlarında eksprese olması, *COH1* geninin nöronal farklılaşmada rolü olduğunu ortaya koymaktadır. CS hastalarda yapılan moleküler genetik çalışmalarda Fin popülasyona özgü bir founder mutasyon (c.3348_3349delCT) tespit edilmiştir. CS'lu hastaların yaklaşık %60'ında *COH1* geninde homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyonlar, %20-30'nda sadece heterozigot mutasyonlar bildirilmiştir, %12'sinde ise mutasyon bulunamamıştır (Kolehmanien ve ark., 2004; Seifert ve ark., 2008). Bugüne kadar *COH1* geninde yaklaşık 100'den fazla farklı mutasyon bildirilmiştir (El Chehadeh ve ark., 2010). Bunların çoğunluğu terminasyon mutasyonlarıdır, diğer kısmı ise missense, in frame delesyonlar ve splice site mutasyonlarıdır. Ek olarak, bazı Yunan ve İtalyan hastalarda homozigot durumda 6-16 ekzon delesyonu saptanmıştır (Katzaki ve ark., 2007, Bugiani ve ark., 2008). Ayrıca son yıllarda bazı CS'lu hastalarda *COH1* geninde çoğu heterozigot olmak üzere büyük intragenik delesyon ve duplikasyonları içeren kopya sayısı varyasyonları (CNV) gösterilmiştir (Balikova ve ark., 2009; Parri ve ark., 2010).

Yeni nesil dizileme teknikleri, tüm genomun sadece kodlanan bölgelerinin hedeflenip dizilenmesi henüz mekanizması bilinmeyen hastalıklarda hastalık-gen ilişkilerini saptamak ve nadir varyantların belirlenmesi için etkin bir yöntemdir (Ng ve ark. 2009).

Bu çalışmada, klinik olarak CS tanısı konulan ancak bilinen gen mutasyonları saptanamayan 4 aile ile birlikte toplam 7 aileden 12 hastada yeni nesil dizileme yöntemleri kullanılarak; *COHI* genindeki önceden saptanamayan mutasyonları tanımlanması ve bu klinik tabloya yol açabilecek yeni genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Cohen sendromu (OMIM#216550) otozomal resesif kalıtılan kompleks fenotipli bir hastalıktır. İlk olarak Cohen ve ark. (1973) tarafından mental retardasyon, hipotoni, eklem laksitesi, obezite, yüksek nazal köprü, belirgin ön kesiciler ve oküler anomali bulunan üç Finli hastada tanımlanmıştır. Carey ve Hall (1978) bu fenotiple uyumlu 4 olgu bildirmiştir. Norio ve ark. (1984) tarafından, CS'nda mikrosefali, miyopi ve retinal distrofi gibi oftalmolojik anomaliler ve granülositopeni tanımlanmıştır. Şimdiye kadar dünya genelinde farklı etnik gruplarda *COH1* gen mutasyonuna bağlı en az 200 olgu bildirilmiştir (Douzgou ve Petersen, 2011). Sıklığı Fin popülasyonunda daha yüksektir (Kolehmanien ve ark., 2004). Finlilerde tespit edilen founder mutasyonun nedeniyle Fin popülasyonu içinde Cohen sendromunun klinik bulguları homojen olmakla birlikte, diğer popülasyonlarda fenotip oldukça değişkendir (Kolehmanien ve ark., 2004). Amerika'da yaşayan Amish popülasyonunda, "Irish traveller's" (200 yıl önce Balkanlar'dan İrlanda'ya göç etmiş ve Britanya'ya dağılmış topluluk) ve ortak bir atadan geldiği düşünülen İtalyan ve Yunan adaları popülasyonları gibi Cohen sendromunun tanımlandığı farklı founder mutasyon kohortlarında da klinik tablo farklıdır (Duzgou ve Petersen, 2011). Bütün bu kohortlardaki en belirgin ortak özelliklerin başında boy kısalığı ve postnatal mikrosefali gelmektedir. Founder etki bulunmayan olgularda yaklaşık 100 farklı mutasyon bildirilmiştir, ancak fenotip–genotip korelasyonu ortaya konulamamıştır (El Chehadeh ve ark., 2010; Duzgou ve Petersen, 2011).

2.2. Klinik Bulgular

Cohen sendromunda klinik bulguları 5 alt grupta incelenebilir: Nörolojik bulgular, dismorfik bulgular, göz bulguları, nötropeni, boy kısalığı ve obezite.

2.2.1. Nörolojik bulgular

Cohen sendromlu olguların hepsinde ilerleyici olmayan psikomotor retardasyon, postnatal mikrosefali, çocukluk çağı hipotonisi ve mutlu davranış fenotipinin olduğu bilinmektedir (Hennies ve ark., 2004; Kondo ve ark., 2004; Kivitie-Kallio ve Norio, 2001). Hastaların %22'sinde çok ağır, %61'inde ciddi, %6'sında orta ve %11'inde hafif mental retardasyon mevcuttur (Kivitie-Kallio ve Norio, 2001). Sefiert ve ark. (2006) ise

hastalarda orta derecede mental retardasyon olduğunu bildirmiştir. Hastaların anlama kabiliyetleri iyi olsa da ciddi konuşma gecikmeleri mevcuttur; 5 yaşına kadar kelime söylebilir ancak cümle kuramazlar (Kivitie-Kallio ve Norio, 2001).

Cohen sendromlu çocuklar aileleri tarafından uysal, sevecen, sosyal olarak tanımlanmışlardır. Yabancılarla sıcak ilişkiler kurma, heyecanlı hareketler ve el çırpma davranışsal özellikler arasındadır (Chandler ve ark., 2003). Psikometrik değerlendirmeler hastaların tipik olarak ağır derecede öğrenme güçlüğü yaşadığını göstermektedir, %20'si sözle iletişim kuramamaktadır. Bazı hastalarda davranışların otistik spektrum bozukluklarıyla uyumlu olduğu bildirilmiştir (Chandler ve ark., 2003). Pozitif ruhsal karakter günlük yaşamı MR görülen diğer hastalara göre kolaylaştırır. Adaptif davranış ölçeği (AAMD-ABS) uygulandığında kendi kendini yönlendirme, sorumluluk, sosyelleşme gibi pozitif domain skorları yüksek bulunurken maldaptif davranış skorları çok düşüktür (Kivitie-Kallio ve Norio, 2001).

Cohen sendromlu olguların çok azında epilepsi varlığı gösterilmiştir. Antikonvülsan gerektiren epilepsi atakları yaşayan iki hasta bildirilmiştir (Coppola ve ark., 2003, Atabek ve ark. 2004). Fin kohortundaki hastalarda elektroensefalografi (EEG) bulgularının normal bulunduğu, ancak voltaj düşüklüğü olduğu rapor edilmiştir (Kivitie-Kallio ve ark. 1999b).

Cohen sendromlu hastalarda beyin görüntüleme çalışmalarında büyük patolojik değişimler saptanmamıştır. Kranial Manyetik Rezonans (MR) incelemesinde görülen en önemli bulgu göreceli olarak genişlemiş corpus callosumdur (Kivitie-Kallio ve Norio, 1998; Kivitie-Kallio ve Norio, 2001). Bu yapıdaki anormal inceleme dikkat eksikliği sendromu ve emosyonel kognisyonda bozulma ile karakterize aleksitimi ile ilişkilendirilmiştir. (Pueyo ve ark., 2003; Grabe ve ark., 2004). Bu gözlemler doğrultusunda beynin bu bölgesinin emosyonel süreçlerden sorumlu olduğu ve Cohen sendromu hastalarında olumlu davranış paterni gelişmesinde bu bölgenin önemi vurgulanmaktadır (Kivitie-Kallio ve ark., 1999; Kolehmainen ve ark., 2004). Cohen hastalarında kranial MR görüntülemesinde cutis vericis gyrate (Megarbane ve ark., 2009) ve serebellar hipoplazi de bildirilmiştir (Waite ve ark., 2010).

2.2.2. Dismorfik bulgular

Cohen sendromuna özgü yüz bulguları arasında kalın saç ve kirpikler, düşük saç çizgisi, aşağıya dönük göz aksı, geniş ve belirgin burun köprüsü, kısa filtrum ve

belirgin büyük üst kesici dişler, açık ağız görünümü, yüksek ve dar damak, maksiller hipoplazi, küçük kulak lobu ve mikrognati bulunmaktadır (Norio ve ark., 1984; Kivitie-Kallio ve Norio., 2001). CS'lu hastalarda erken yaşlarda mutlu bir yüz ifadesi varken, ilerleyen yaşlarda yüz özellikleri kabalaşır.

Hastaların hepsinde var olduğu bildirilen eklem laksisitesinin yanı sıra el-ayak darlığı, ince parmaklar ve kampodaktili sık görülen bulgular olarak bildirilmiştir. Diğer eklem anomalileri arasında pes planus, genu valgum, kifoskolyoz, patella dislokasyonu bulunmaktadır (Chandler ve ark., 2003).

2.2.3. Göz bulguları

Cohen sendromunda, ilerleyici retinal değişimler en tipik göz bulgusudur. Göz bulgularının ilerlemesi retinitis pigmentosodakine benzer bir şekilde gelişir, başlangıç semptomu olan gece körlüğünü takiben progresif olarak görme alanı kısıtlanır. Görsel keskinlik özellikle 5 yaşın üzerindeki hastalarda bozulmaya başlar ve ilerleyen yıllarda ciddi görme bozukluklarına dönüşebilir. (Norio ve ark., 1984). Okul çağındaki CS'lu çocukların göz muayenesinde miyopi ve retinokordal distrofi saptanabilir. CS'ndan şüphelenildiğinde, korioretinal distrofi, erken dönemde fundus muayenesine ek olarak elektoretinogram (ERG) ile tanınabilir. Bazen fundus muayenesinde, öküz gözü makülopatisi ya da damarlarda darlık ile birlikte optik disk solukluğu tek semptom olabilir. Diğer göz bulguları şaşılık, korneal opasite ve iris atrofisidir.

2.2.4. Nötropeni

Tüm hastalarda hafif veya orta derecede, intermittan ancak siklik olmayan granülositopeni mevcuttur. İntermittan olması nedeniyle test sırasında saptanamayabilir ve yıllarca gözden kaçabilir. Ölümcül değildir ancak sık infeksiyonlar olabilir (Kivitie-Kallio ve ark., 1997). Nötropenin etiolojisi bilinmemektedir

2.2.5. Boy kısalığı ve obezite

Boy kısalığı, üçte birinde belirgin olacak şekilde hastaların üçte ikisinde görülmektedir. Hastaların yarısı aşırı kiloludur ancak sadece 1/5'i obezdir. Obezite paterni trunkaldır. Cohen sendromlu çocuklar erken çocukluk çağında ve infant dönemde yutkunma güçlüğü çektiği için düşük kiloludur. Ergenlik dönemine doğru aşırı kilolu olma eğilimindedirler. Verilere göre %80'inden fazlası aşırı kiloludur. Prader-

willi sendromunun aksine gıda alımı ve iştah zamanla artmaz ve fiziksel aktivite azalmaz.

2.3. Klinik Gelişim ve Prognoz

Gebelik süreci ve doğum genellikle normaldir. Fetal hareketlerin zayıf olduğuna dair bildirimler vardır. Ortalama gestasyonel yaş 38.5 hafta, doğum ağırlığı 2.5 kg ve doğum boyu 47.8 cm'dir (10th - 25th persantil).

Yenidoğan döneminde karakteristik özellikler belirgin değildir. Baş çevresi normaldir, granülositopeni doğumdan itibaren görülebilir. İnfantil dönemde beslenme sorunları sıktır. İlk aylardan itibaren hipotoni ve 6. ve 12. aylar arasında gelişimin normal olmadığı aile tarafından fark edilen ilk bulgulardır. İnfant dönemde laringomalazi sık görülür. Ayrıca laringeal stenoz ve vokal kord paralizi bildirilmiştir. Yüksek ses perdesi laringeal sorunlar olmayan hastalarda dahi bildirilmiştir. Bu dönemde hipotoni ve gelişim geriliğinin yanı sıra mikrosefali gelişir. Sosyal ilişkiler iyidir, otizm ya da serebral palsi belirtisi yoktur. Bu dönemde tanı güçtür ancak az sayıda 1 yaşın altında tanı konulmuş hasta bildirilmiştir (Kivittie-Kallio ve ark., 2001).

Okul öncesi dönem (2±6 yaş). Bu dönemde psikomotor retardasyon giderek belirginleşir. Birçok çocuk motor gerilik için fizik tedavi almaya başlar. Hastaların tümü 2 ila 5 yaş arasında yürümeye başlarlar. Konuşma genellikle gecikir, bu yaşlarda konuşma terapisi önemlidir. Bazı hastalarda miyopi ve soluk disk ve soluk fundus gibi erken dönemdeki fundus değişimleri görülebilir. Karanlıkta görmede zorluk yaşanabilir. Ancak çoğu hastada bu yaşlarda oftalmolojik anomaliler belirgin değildir. Hastalar ölümcül infesiyonlar geçirmese de, granülositopeninin bakteriyel infesiyon riskini yükselttiği düşünülmektedir. Beş yaş civarında fasiyel özellikler belirginleşir (Chandler ve ark., 2003).

Okul çağı (7±14 yaş). Hastaların hepsi özel eğitime ihtiyaç duymaktadır. Mental retardasyon progresif değildir, ancak hastaların çoğunda ciddi veya orta derecededir. Fasiyel özellikler bu yaşlarda oturmuştur ve tanı genellikle bu yaş aralığında konur.

Bu dönemde miyopi ve retinokordal distrofi tanımlanır ve gözlüğe ihtiyaç duyulmaya başlar. Pes calcaneovalgus nedeniyle ortopedik girişim gerektiren hastalar bildirilmiştir (Kivittie-Kallio ve Norio., 2001).

Puberte (15±19 yaş). Puberte genellikle gecikir. Endokrin anomalileri görülmemekle birlikte iki hasta ailesel olmayan juvenil başlangıçlı insülin bağımlı diabetes mellitus (IDDM, insulin-dependent diabetes mellitus) ve bir hastada büyüme hormonu eksikliği ve hipogonadotropik hipogonadizm ile birlikte kompensatuvar hiperinsülinemi ile insülin direnci bildirilmiştir (Bugiani ve ark., 2008; Seifert ve ark., 2006). Boy kısalığı bu dönemde anlamlıdır ve pubertal büyüme sonrasında (-2 SD) geriler. Bu yaşta EEG düşük voltajlıdır. Miyopi ciddileşir ve görüş alanı kısıtlanır.

Yetişkin (20±40 yaş). Fasiyel özellikler yıllar içinde giderek belirginleşir, erken yaşlanma gözlenebilir. Görme bozuklukları yavaş şekilde ilerler, 30 yaşa kadar şikayetler yoğun değildir.

Orta yaş (40±60 yaş). Yüz görünümü kabalaşmaya başlar, Hastaların genel sağlık durumu iyi olmakla birlikte, sol ventrikül fonksiyonunun yaşla azaldığı gösterilmiştir. Oftalmolojik değişimler bu yaşlarda ilerler, pigmenter depozitler artar. 45 yaşın üzerindeki hastalarda şiddetli retinokordal atrofi oluşur. Öküz gözü görünümü ve posterior katarakt hastaların çoğunda görülür. Oftalmolojik anomaliler progresif olsa da tam körlük çok az sayıda hastada bildirilmiştir. CS'de yaşamı tehdit edici bozukluklar yoktur ve yaşam süresi belirgin olarak kısalmaz.

2.4. Klinik Heterojenite

Genetik olarak homojen oldukları düşünülen 29 Finli hastada yapılan çalışmada Cohen sendromunda ilerleyici olmayan psikomotor retardasyon, mikrosefali, kalın saç, düşük alın çizgisi, tipik fasiyel özellikler yüksek kavisli ya da dalga şekilli gözkapağı, kısa filtrum, belirgin ön kesiciler ve açık ağız görünümü, hipotonisi, eklem laksitesi, retinokorodial distrofi, miyopi ve intermittan izole granülozitopeni temel bulgular olarak belirlenmiştir. Fin kökenli hastaların yarısından fazlasında ek olarak fetal aktivite azlığı, neonatal beslenme güçlüğü, puberte gecikmesi, boy kısalığı, dar ve yüksek damak, dar el ve ayak, kifoz ve mutlu yüz ifadesi bildirilmiştir (Kivitie-Kallio ve Norio, 2001). Kolehmainen ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada; gelişim geriliği, mikrosefali, tipik fasiyel dismorfizm, obezite, ekstremite zayıflığı, eklem laksitesi, miyopi ve retinal dejenerasyon ve intermittan nötropeni ortak bulgular olarak bildirilmiştir.

Yunan/Akdeniz founder mutasyonu, spesifik iskelet anomalileri, korneal değişimler, periodontal hastalık, yüksek otizm prevelansı ve konuşma yokluğu ile

karakterize ve değişken derecelerde mikrosefali ile ilişkilidir (Douzgou ve Petersen, 2011). Finli hastalarda bildirilenden daha ağır mental geriliğin yanı sıra hastaların yarısında ciddi konuşma geriliği rapor edilmiştir. Finli CS'lu hastalarda olumlu sosyal davranış ve mutlu yüz ifadesi varken, Yunanistan'lı hastaların sadece ikisinde mutlu yüz ifadesi vardı. Davranışların otistik spektrum bozukluklarıyla uyumlu olduğu ve Finli olmayan hastalarla karşılaştırıldığında görme bozukluklarının daha ağır olduğu, retina fonksiyonun daha hızlı bozulduğu belirtilmiştir. Yetişkin hastaların bazılarında tam körlük oluşmuştur (Bugiani ve ark., 2008). Amish founder mutasyonu kohortu, Yunan kohortuna benzer olmakla birlikte, otizm prevelansı daha düşüktür, neonatal komplikasyon ve infeksiyonların daha sık görülmesiyle ayırt edilir. Fin kohortundaki gibi mutlu yüz ifadesi görülmektedir. Finli gruptan ise tekrarlayan infeksiyonlar, gelişme geriliği ve nötropheninin belirgin görülmesiyle ayrılmaktadır (Duzgou ve Petersen, 2011). CS, İsraili bir kohortta 32 aileden 39 bireyde tanımlanmıştır (Sack ve Friedman, 1986). Bu olgular mikrosefali, uzun boy, genel obezite olması ve nötropheni ile korioretinal displazi görülememesiyle klasik Cohen fenotipe uymamaktaydı. Kolehmainen ve ark.'ın 2004'deki çalışmasında Musevi tipi CS'lu ya da Cohen-benzeri hastalarda *COHI* geninde mutasyon bulunmaması bu durumun farklı bir klinik entite olduğunu düşündürmüştür (Kolehmainen ve ark., 2004).

Chandler ve ark. (2003) çalışmalarında Finli olmayan 33 hastayı değerlendirdiklerinde olguların çoğunda gebelik seyrinin normal ve ortalama doğum ağırlığının 2800 gram olduğunu belirlemiştirler. Brezilya, Almanya, Lübnan, Umman, Polonya, Türkiye'den olgularda değişen derecelerde gelişim geriliği, erken başlangıçlı miyopi, eklem laksisitesi ve fasiyel dismorfi tüm hastalarda görülürken, retinopati, mikrosefali ve nötropheni bazı olgularda tespit edilmiştir (Hennies ve ark., 2004). Sefiert ve ark. (2006) yaşları 2.5 ila 60 arasında değişen Alman, Polonyalı, Fransız, İngiliz ve Kanadalı 16 aileden 24 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada Finli hastalara göre fenotipik değişkenliği göstermişlerdir. Hastaların çoğunda boy kısalığı ve orta derecede MR vardı. Mikrosefali ve trunkal obezite olmayan hastalarda da *COHI* mutasyonu belirlenmiştir. Parri ve ark. (2010) inceledikleri Cohen sendromlu 14 hastanın hepsinde tipik fasiyel görünüm, ekstremitte darlığı ve trunkal adipozite bildirmişlerdir. Mikrosefali ise 14 hastanın 9'unda mevcuttu. Rivera-Brugues ve ark.'ın (2011) genetik olarak konfirme ettikleri 3 yaşından küçük üç Cohen hastasında nötropheni yoktu ve

sadece birinde retina pigmentasyonu hafifçe artmıştı. Ortak bulgu fasiyel hipotonik ifadeydi.

Megarbane ve ark. (2009) mikrosefali, cutis vericis gyrate, retinis pigmentosa, işitme kaybı ve mental retardasyon (MIM. 605685) olan iki kardeşte *COH1* geninde splice site mutasyon tespit etmişlerdir. Cutis vericis gyrate ve işitme kaybı CS'da literatürde bildirilmemiştir. Araştırmacılar bu iki bulgunun hastalarında başka bir genetik defekten kaynaklanmadığını ve Cohen Sendromunda nadir bulgulardan olabileceğini belirtmişlerdir (Megarbane ve ark., 2009). Bir hastada büyüme hormonu eksikliği ve hipogonotropik hipogonadizm, iki hastada ailesel olmayan juvenil başlangıçlı insülin bağımlı diabetes mellitus bildirilmiştir. (Seifert ve ark., 2006). İkisi Pakistan kökenli üç hasta da tipik fasiyel bulgular, gelişim geriliği ve oküler anomalilerin yanı sıra KrMRG'de serebellar hipoplazi mevcuttu. Araştırmacılar bunun hastalığın bir bulgusu olabileceğini belirtmişlerdir (Waite ve ark., 2010).

Cohen sendromunda aile içi varyasyon bildirilmiştir. (North ve ark., 1985; Young ve Moore, 1987; Carey ve Hall, 1978; Horn ve ark., 2000). Kivitie-Kallio ve Norio (2001) aynı mutasyondan etkilenmiş olan hastalarda fenotipik değişkenliği ortaya koymuştur. Carey and Hall (1978) iki kardeşte mikrosefali ve fasiyel görünümün şiddetinin değiştiğini göstermişlerdir. Horn ve ark. (2000) mutasyonu gösterilmiş akraba olan Lübnanlı bir ailede hastalık şiddetinin değiştiğini bildirmişlerdir.

2.5. Tanı Kriterleri

Fin fenotipinin homojen olması nedeniyle tanı kriterlerinin sınırları daha belirgin olmasına karşın, farklı etnik gruplardaki klinik farklılıklar tanı kriterlerinin tartışılmasına yol açmıştır.

Kivitie-Kallio ve Norio (2001) 29 Finli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada, Cohen sendromu tanısında beş kriter belirlemişlerdir: 1) non-progresif mental retardasyon, motor gerilik ve mikrosefali; 2) tipik fasiyel özellikler-dalga şekilli göz kapağı, kısa filtrum, kalın saç ve düşük saç çizgisi; 3) çocukluk çağı hipotonisi ve eklem laksitesi, 4) 5 yaş civarında ortaya çıkan retinokordal distrofi ve miyopi; 5) aralıklı izole nötropeyi.

Chandler ve ark. (2003) bu kriterlerin önemli olduğunu, ancak zorunlu olmadığını belirtmişlerdir. İnceledikleri İngiliz, Arap, Hollanda kökenli 22 aileden 33

hastanın sadece 8'i tam olarak kriterleri karşılamaktaydı. Bunun nedeni klinik araştırmanın yetersizliği de olabilir. Birçok hastada yaş nedeniyle oftalmolojik değerlendirme yetersiz kalmıştı. CS'nun, öğrenme güçlüğü olan çocukta aşağıdaki kriterlerden en az ikisi olduğunda düşünülmesini önermişlerdir. (1) Kalın saç, kaş ve kirpik, dalga şeklinde aşağı doğru palpe edilebilir fissürler, belirgin gaga burun, kısa filtrum, mutlu yüz ifadesi gibi tipik fasiyel bulgular; (2) pigmenter retinopati; (3) nötropeni ($<2 \times 10^{-9}/\text{mm}^3$). Çalışmalarına göre mikrosefali karakteristik bir bulgu olmasına karşın, boy kısalığı üçte ikisinde mevcut olup ancak üçte birinde şiddetliydi. Hastaların yarısı aşırı kilolu ancak, sıklıkla trunkal obezite olmakla birlikte sadece 1/5'i obezdi. İzole ve değişken nötropeni sıklıkla. Ancak nötropeni, Cohen sendromunda aralıklarla ortaya çıktığı için, tekrarlayan diferansiyel sayımlar yapılmazsa saptanamayabilir, test sırasında tespit edilemeyebilir (Norio ve ark., 1984).

Kolehmainen ve ark. (2004) tarafından Cohen sendromu düşünülen 59 aileden 76 hasta üzerine yaptıkları çalışmada; gelişim geriliği, mikrosefali, tipik fasiyel dismorfizm, obezite, ekstremite zayıflığı, eklem laksitesi, miyopi ve retinal dejenerasyon, sosyal davranış ve intermittan nötropeniyi içeren sekiz kriterden ≥ 6 karşılayan hastalarda *COH1* mutasyonun tespit edilmesinin kendilerinin belirlediği bu tanı kriterlerinin doğruluğunu valide ettiğini vurgulamışlardır (Kolehmainen ve ark., 2004). Bu çalışmadan elde edilen tanı kriterleri Tablo 2-1' de gösterilmektedir.

Tablo 2-1: Cohen sendromu tanı kriterleri (Kolehmanien ve ark., 2004)

Gelişme geriliği

Mikrosefali

Tipik Fasiyel dismorfizm

Obezite ve slender ekstremiteler

Olumlu sosyal davranış

Eklem laksitesi

Miyopi/retinal dejenerasyon

Intermittan nötropeni

Etnik olarak farklı kökenlerden *COHI* mutasyonu taşıyan olgularda yapılan çalışmalarda gelişim geriliği, tipik fasiyel görünüm, miyopi, dar el ve ayak, eklem hipermobilitesi ortak bulgularken, mikrosefali, boy kısalığı, trunkal obezite ve retinopati ya da nötropeni sadece bazı hastalarda görülmüştür (Hennies ve ark. 2004). Yine aynı şekilde başka bir çalışmada da mutasyon mikrosefali ve trunkal obezite olmayan hastalarda da saptanmıştır. Bu çalışmada boy kısalığı olguların çoğunda bildirilmiştir (Seifert ve ark. 2006).

Farklı çalışmalarda Cohen sendromuna özgü karakteristik fasiyel dismorfoloji bulunmayan hastalarda *COHI* geninde mutasyon saptanması fasiyel özellikler göstermeyen hastalarda sendromun tanısının dışlanamayacağını ortaya koymuştur (Horn ve ark., 2000; Falk ve ark., 2004; Hennies ve ark., 2004; Seifert ve ark., 2006; Bugiani ve ark., 2008).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada (El Chehadeh ve ark. 2010) mutasyon taşıyan hastalarla taşımayanların klinik bilgileri karşılaştırılmış ve klinik fenotipe göre *COHI* moleküler taraması için endikasyonlar belirlenmeye çalışılmıştır. *COHI* mutasyonu taşıyan bütün hastalarda, korioretinal distrofi ya da nötropeni olduğunu tespit edilmiştir. Bu serilerde mikrosefalinin *COHI* mutasyonu taşıyan tüm hastalarda görülmesi de ayırıcı tanıda yardımcı olabilir. Tersine, dismorfizm, ekstremitte zayıflığı ve obezitenin varlığıyla ilişkili anlamlı fark bulunmamıştır. Göz bulgularının 5 yaşından sonra ortaya çıkması nedeniyle bu yaşın altındaki çocuklar dışında, nötropeni ve korioretinal distrofi yokluğunda diğer bulgular CS şüphesi için yeterli değildir. Fasiyel görünüm değerlendirmesi subjektifken korioretinal distrofi ve nötropeni objektif olarak değerlendirilebilir. Londra Dismorfoloji veritabanına göre MR ve retinopatiyle ilişkili toplam 80 sendrom varken, nötropeni ve MR ile ilişkili sadece birkaç sendrom vardır. Bu durum bu seride nötropeni olan hastalarda özgüllüğün %95, retinopatilerde ise %65 olmasını açıklamaktadır. Bu çalışma serisinde mutasyon bulunan tüm hastalar, Kolehmainen kriterlerini karşılamıştır. Mutasyon bulunmayanlardan 5/22'sinin kriterlere uyması kriterlerin %100 duyarlılık ve %77'i özgüllükte olduklarını göstermektedir. Cohen benzeri hastalarının hiçbirinde nötropeni yoktu, miyopi ve/veya retinal distrofi olan hastaların sadece birinde tipik fasiyel görünüm vardı. Literatürde mutasyon bulunan 160 hastayı derlediklerinde korioretinal distrofi 5 yaşın üstündeki hastaların %92'sinde saptanmıştır. Korioretinal distrofi ve nötropenin en iyi

göstergeler olduğu sonucuna varmışlardır. Bunların olmadığı durumlarda-5 yaşından küçüklerde takip- *COHI* taraması önermemektedirler. Ancak prenatal tanı durumunda, tekrarlama riskin %25 olduğu durumlarda bu kriterler yoksa da tarama düşünülebilir.

2.6. Ayırıcı Tanı

Birçok gelişim bozukluğu Cohen sendromuyla karıştırılabilir. Bunların başında Prader-Willi sendromu, Bardet-Biedl sendromu, Alström sendromu ve Cohen sendromunun allelik varyantı olduğu düşünülen (Norio ve Raitta, 1986) Mirhosseini-Holmes-Walton sendromu (Mirhosseini ve ark., 1972) gelmektedir.

2.6.1. Bardet Biedel sendromu

Cohen sendromuna benzer şekilde Bardet-Biedl sendromu (BBS) hastalarında mental retardasyon, pigmenter retinopati ve benzer fasiyel dismorfik bulgular görülmektedir. Granülositopeni Cohen sendromu olgularında görülürken BBS’de yoktur. Fasiyel dismorfizm bulguları BBS’de değişkendir ve en göze çarpan bulgu derin yerleşimli gözlerdir. Ortak fasiyel bulgular arasında mikrosefali, kalın saç, kaba kaşlar, aşağı eğimli göz kapağı, geniş nazal köprü, kısa filtrum, belirgin kesiciler bulunmaktadır.

2.6.2. Prader-Willi sendromu

Prader-Willi sendromu mental retardasyon, büyüme geriliği, daha belirgin olan yendidoğan hipotonisi, el ve ayak darlığı, “tapering fingers” ve strabismus açısından Cohen sendromuna benzemektedir. Santral obezite PWS majör tanı kriteriyken Cohen’de sık değildir. (Gunay-Aygun ve ark., 2001; Kivitie-Kallio ve Norio, 2001). Cohen sendromunda retina atrofisine bağlı olarak optik disk, fundus ve pigment formasyonu soluktur. (Kivitie-Kallio ve ark., 2000). PWS’de oftalmolojik bulgular sık görülmez.

2.6.3. Alström sendromu

Alström sendromunda (ALMS; OMIM#203800, Alström ve ark., 1959) distrofik retinopati ve obezite mevcuttur. Cohen sendromunun aksine ALMS’de mental retardasyon görülmez. Retinal dejenerasyonun seyri farklıdır. Santral görüş nadiren erken dönemde etkilenir (Russell-Eggitt ve ark., 1998). ALMS’de görülüp Cohen de görülmeyen bulgular sağırılık, diabetes mellitus ve anormal lipid metabolizmasıdır

(Charles ve ark., 1990). Kromozom 2p13 de bulunan ALMS1 geni bu hastalığa neden olmaktadır. (Collin ve ark., 2002; Hearn ve ark., 2002).

2.6.4. Mirhosseini-Holmes-Walton sendromu

Mirhosseini-Holmes-Walton sendromu klinik olarak, Cohen sendromuna benzemektedir, bu iki sendromun klinik ve genetik olarak aynı olup olmadığı tartışma konusudur (Norio ve ark., 1986; Steinlein ve ark., 1991).

Bu iki hastalık, intermittan nötropheninin Mirhosseini-Holmes-Walton sendromunda görülmemesiyle ayırt edilir. Mental retardasyon, miyopi, pigmenter retinal distrofi ve kataraktın görüldüğü oftalmik değişimler, yanı sıra tipik kraniofasiyel özellikler, mikrosefali, hipotoni ve eklem hiper mobilitesi iki sendromda da görülür. Ancak, obezite paterni çok farklıdır; Cohen sendromda trunkal obezite varken diğerinde ise genel obezite vardır.

2.6.5. Diğer durumlar

Çocuklarda trunkal obezite ayrıca belirgin MR ve mikrosefaliyle birlikte kromozom anomalili hastalarda görülebilir. CS'den şüphelenilen hastalarda subtelomerik delesyonun araştırılmasını için FISH çalışmalarını da içeren ayrıntılı karyotipleme önerilmektedir. Karbonhidrat eksikliği glikoprotein sendromu tip 1'de gelişim geriliği, hipotoni, mikrosefali, trunkal obezite ve pigmenter retinopati görülebilir.

2.7. Cohen Sendromu Moleküler Genetiği

2.7.1. COH1 geni

COH1 geni (*VPS13B*, MIM 607817), şimdiye kadar CS'la ilişkisi bilinen tek genidir. İnsan genomundaki bilinen en büyük genlerden bir tanesidir, 8. kromozomun 864315 bp'lik kısmını kapsayan 62 ekzondan oluşmaktadır. *COH1* geninde sendromla bağlantılı 100'den fazla farklı mutasyon bildirilmiştir. Bunların çoğu terminasyon mutasyonlarıdır.

Cohen sendromu için *COH1* lokusu Finli hastalarda kromozom 8q22 üzerindeki D8S1762 marker lokusuna yaklaşık 0.6-cM olan bölgede linkaj ve haplotip analizi ile tanımlanmıştır (Tahvanainen ve ark., 1994; Kolehmainen ve ark., 1997). Kolehmainen ve ark. (2003) *COH1* genini 8q22 üzerindeki CS kritik bölgesi üzerinde karakterize etmişler ve *COH1* cDNA'sının tamamını elde etmişlerdir. En büyük *COH1* transkripti

4,022 amino asit içermektedir. Bu protein 10 transmembran domaini, potensiyel vakuoler hedef motif, C terminusta endoplazmik retikulum retansiyon sinyali, biri N terminusa yakın biri C terminusa yakın olmak üzere 2 peroksisomal matrix protein hedefleyen sinyal-2 (PTS2) konsensus dizilerini içeren kompleks domain yapısına sahiptir. COH1, *Saccharomyces cerevisiae* vps13 proteini ile homoloji göstermektedir. Bu durum, COH1'in hücrede proteinlerin vesikül aracılı transportunda görev aldığını düşündürmüştür. COH1 geninin farklı transkript varyantları kodladığı gösterilmiştir (Kolehmainen ve ark., 2003; Velayos-Baeza ve ark., 2004). Northern Blot analizi COH1'in farklı transkriptlerinin farklı ekspresyon paternleri olmakla birlikte geniş ölçüde eksprese olduğunu göstermiştir. Veritabanlarında 61 kodlayan ekzon oluşan, ekzon 28 (NM_017890) ve ekzon 28b'yi içeren (NM_152564) en uzun iki transkript bildirilmiştir. Diğer varyantlar sık değildir ve ekzon atlama nedeniyle oluşan erken stop kodon, alternatif ekzonlardaki intron retansiyonu ya da minör splicing değişimleri nedeniyle oluşan trunkat varyantlardır (Velayos-Baeza ve ark., 2004). Ekzon 28b tüm insan dokularında eksprese olurken ekzon 28 insan beyin ve retinasında farklı splicing göstermektedir. Northern blot analiziyle sadece 14 kb'lik NM_017890 ve NM_152564 transkriptlerin belirlenmesi bunların fonksiyonel proteinleri kodladığını düşündürmüştür. Bu diğer transkriptlerin COH1 ekspresyonunun regülasyonunda rol aldığı öne sürülmüştür. (Lewis ve ark., 2003). Ekzon 28b'yi içeren transkript hem farlerde hem insanlarda eksprese olmaktadır. Bu transkriptin korunması dominant splice varyantların evrimsel olarak korunduğu bilgisiyle uyumludur (Lareau ve ark., 2004). Ancak insan ve fare beyinde NM_017890 transkriptinin oluşturduğu proteinin COH1 ekspresyonunun anlamlı olarak farklı olması gelişmiş insan beyinde bu transkriptin olası rolüne dikkat çekmektedir. Ancak şimdiye kadar ekzon 28 ve 28b'yi etkileyen mutasyon tespit edilememiştir. Cohen sendromlu hastalardan beyin ya da retina dokusu elde edilemediği için farklı mutasyonların doku spesifik splicing araştırması yoktur. COH1'in farklı dokularda vesikül transportundaki rolü incelenebilir. COH1'in splice varyantlarında ekspresyon paternlerinin farklı olması ve predominant beyin fenotipi bulguları doğrultusunda özellikle nöronal hücrelerin araştırılması önerilmektedir (Seifert ve ark., 2008)

2.7.2. *COHI* gen mutasyonları

COHI'de saptanan (84/96) mutasyonların çoğu nonsense ya da delesyona bağlı erken terminasyon şeklindedir. Mutasyonların dağılımı hotstop değildir. Splice mutasyonların *COHI* mRNA degradasyonuna yol açtığı gösterilmiştir (Hennies ve ark., 2006; Seifert ve ark., 2006; Seifert ve ark., 2008). CS'na neden olan mutasyonlar trunkasyon ya da protein kaybına neden olan mutasyonlardır. Öte yandan CS fenotipine yol açmayan *COHI*'in kodlayan bölgesindeki çok sayıda sessiz ve missense aminoasit değişimi bulunmaktadır. Fenotip açısından *COHI*'deki missense mutasyonların patojenik değeri bilinmemektedir (Seifert ve ark., 2008).

Kolehmainen ve ark. (2003) Finli Cohen hastalarında yaptıkları haplotip analizinde *COHI*'deki farklı mutasyonları göstermişlerdir. Bir haplotip hastalık kromozomlarının %75'inde saptanmıştır. Fin popülasyonunda görülen founder mutasyonu, kodon 1116 ve 1117'de çerçeve kaymasına neden olarak 1124. kodonda sonra (607817.0001) stop kodon oluşturan iki nükleotidlik delesyondur [c.3348_3349delCT] [p.Cys1117fsX8]. Aynı grup 2004'deki çalışmalarında 8 kriterden 6 veya daha fazlasını karşılayan hastalarda 19'u yeni olmak üzere *COHI* geninde 22 farklı mutasyon saptamışlardır. Cohen sendromu benzeri hastaların hiçbirinde mutasyon bulunmamıştır.

Klinik tablonun oldukça değişken olduğu Brezilya, Almanya, Lübnan, Umman, Polonya, Türkiye'den 12 aileden 20 hastanın hepsinde *COHI* geninde homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon tespit edilmiştir. 17 novel mutasyonun çoğu prematür stop kodon oluşturmaktaydı (Hennies ve ark. 2004).

Cohen sendromlu Amerikalı 2 geniş Amish ailesinde tüm etkilenmiş bireylerde exon 46'da homozigot missense c.8459T→C ve ekzon 51'de çerçeve kaymasına neden olarak stop kodon oluşturan homozigot insersiyon (c.9258_9259insT) tespit edilmiştir (Falk ve ark., 2004). İrlanda popülasyonunun %1'inden az bir kısmını oluşturan yıllardır izole olmuş ve akraba evlilikleri gerçekleştirmiş "Irish travelers" kohortunda CS prevalansı artmıştır. Tekrarlayan "Irish traveler" mutasyonu, ekzon 29'daki c.4471G>T null mutasyondur (Murphy ve ark., 2007). Bugiani ve ark. (2008) 14 Yunan hastada homozigot intragenik *COHI* delesyonu tespit etmişlerdir. 1 bp delesyon (c.11564delA) sonucunda ekzon 6-16'nın delesyonuna yol açan çerçeve kayması (p.Y3855fsX22) bulunmuştur. Hastalar Yunanistan'ın doğusunda birbirine yakın iki ada

popülasyondan genelde akraba evliliğinin görüldüğü bir bölgeden çıkmıştır. Bu delesyon aynı zamanda İtalyan hastalarda da bildirilmiştir. Haplotip analizi atasal bir founder etkiyi düşündürmektedir. Bu durum 7 ve 8. yüzyıldan 16 ve 17. yüzyıla kadar Yunanistan'dan İtalya'ya devam eden göçe bağlı olabilir (Douzgou ve Petersen, 2011).

Seifert ve ark. (2006) farklı etnik kökenlerden klinik olarak heterojen 16 aileden 24 farklı Cohen hasta grubunda nonsense, çerçeve kayması, splice site, in-frame delesyon ve missense mutasyon bildirilmiştir. RNA analiziyle splice mutasyonların patojenik olduğu gösterilmiştir. Katzaki ve ark. (2007) 9 İtalyan aileden 10 hastanın bazılarında birleşik heterozigot bazılarında sadece heterozigot mutasyon bulunmuştur. İki ailede daha sonra Yunanlı hastalarda tespit edilen 6-16. ekzonlardaki parsiyel delesyon bulunmuştur. Araştırmacılar ikinci patojenik mutasyonu bulamamalarını qPZR'ın kapsamadığı ekzonlardaki parsiyel delesyonlara ya da promotor bölgelerdeki veya henüz tespit edilmemiş alternatif ekzonlardaki nokta mutasyonlarına bağlamışlardır.

Heterozigot mutasyon bulunan ya da mutasyon bulunamayan hastaların bazıları genin regülatör bölgesinde mutasyon taşıyabilir ya da gen transkripsiyonunu etkileyen inversiyon veya insersiyonlar olabilir (Kleinjan ve Lettice, 2008). *COHI*'deki delesyon ve duplikasyonlar benign CNV'ler olarak tanımlanmıştır. Kodlayan bölgeyi etkileyen CNV frekansı %6 olarak bildirilmiştir. Bildirilen frekans Cohen sendromunun nadir görülmesiyle ters düşmektedir. Bildirilen CNV'ler küçük intronik dengesizlikler ya da yanlış pozitifler olabilir. Genomik Varyant Veritabanında bildirilen CNV'ler genellikle benignedir. Ancak bu varyantların bazıları genleri etkileyebilir ve normal popülasyondaki heterozigot delesyonların taşıyıcı mutasyonlarını temsil edebilir.

Balikova ve ark. (2010) *COHI* lokusunu etkileyen delesyonların açıklanamayan Cohen sendromu olgularının nedeni olabileceğini öne sürmüşlerdir. Daha önce Kolehmainen kriterleini karşılayan ancak sadece heterozigot mutasyon tespit edilen hastalarda array CGH ile 2 homozigot ve 5 heterozigot olmak üzere 7 CNV bulmuşlardır. Araştırmacılar nadir benign CNV'lerin homozigot durumda ya da başka bir mutasyonla birleşik heterozigot durumda otozomal resesif hastalıklara yol açabileceğini belirtmişlerdir. Ancak şu anda CNV'lerin sıklığı ve büyüklüğü ile ilgili veriler yetersiz olduğundan, popülasyonlar için daha ileri CNV haritalaması yapılmadan sonuçların yorumlanması güçtür.

Çok sayıda hastada *COH1* mutasyonu bulunamamıştır ya da tek mutant allel mevcuttur. Parri ve ark. (2010) multipleks ligasyon esaslı prob amplifikasyonu multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) ile Katzaki ark.'ın (2007) hastalarını da içeren 11 aileden 14 hastada *COH1* genini analiz etmişlerdir. Sonuç olarak 21 allede nokta mutasyonu ve 11 allede multi-ekzonik delesyon ve 4 allede duplikasyon olmak üzere 15 allede kopya sayısı değişikliğini göstermişlerdir. Önceki çalışmalar göz önüne alındığında mutant allelerin %42'sinde kopya sayısı değişikliği olduğunu belirtmişlerdir. Rivera-Brugue's ve ark. (2011) yüksek yoğunluklu oligonükleotid array ile açıklanamayan mental retardasyonlu hastalar ve normal kontrollerde kopya sayısı değişikliklerini incelemişlerdir. Üç hastada *COH1* geninde kontrollerde görülmeyen intragenik heterozigot delesyon tespit edilmiştir. *COH1* genin dizilenmesiyle üç hastada öteki allede nokta mutasyonu bulunmuştur. Array sonuçlarına göre 125 kb, 156 kb ve 315 kb uzunluğundaki delesyonlara, sırasıyla missense mutasyon, 1 bp'lik delesyon ile 3 bp'lik insersiyonun eşlik ettiği belirlenmiştir. Bu hastalardan birinde fenotipin farklı olması, komşu gendeki delesyondan kaynaklanabilir. Araştırmacılar insanlarda fonksiyonu bilinmese de komşu *ORS* genindeki delesyonun fenotipe etkisinin dışlanamayacağını düşünmektedir. Komşu genlerdeki delesyonlar contiguous gen sendromu bağlamında Cohen sendromu fenotipine etki edebilir. *COH1* geni için multiple ekzon delesyonları az sayıda hastada bildirilmiş olsa da delesyon ve duplikasyonların dağılımı kısa süre önce tanımlanmaya başlanmıştır. 1612 kontrolde *COH1* geninde CNV saptanmaması *COH1* geninde CNV'lerin nadir olduğunu düşündürmektedir. Araştırmacılara göre bu veri UCSC genome browser ve DGV veritabanlarında *COH1* genindeki CNV'lerin benign polimorfizmler olduğu bilgisine ters düşmektedir (Rivera-Brugue's ve ark., 2011).

2.7.3. COH1 Proteini

Kolehmainen ve ark.'ın (2003) çalışmasında COH1 sekansı Protein BLAST analizinde türler arasında fonksiyonu bilinmeyen proteinlerle homoloji göstermiştir. Özellikle, N- ve C-terminal sekanslar (aa 1–85 ve 3,639–3,826) korunmuştur ve *S. cerevisiae* VPS13 (Q07878) proteini yanı sıra choreoacanthocytosis geni olan CHAC ile homoloji göstermiştir. Bu durum trans-golgi ağında protein modifikasyonunda kontrol edici rolünü göstermektedir. Kodlanan COH1 proteininin hücresel dağılımı, fonksiyonu diğer memeli proteinleriyle homoloji göstermediğinden tam olarak

anlaşılamamıştır. Sefiirt ve ark.'ın (2011) çalışmasında RNAi ile sağlanan COH1 depleyonu, subsellüler lokalizasyonuna uygun şekilde Golgi şeridinin yığınlar halinde fragmentasyonuna neden olmuştur. COH1'in golgi kompleksinde yerleşik periferel membran proteini olarak golgi bütünlüğünün sağlanması için gerekli olduğu ve *cis*-Golgi matriks proteini ile güçlü biçimde ko-lokalle olduğu gösterilmiştir. Frameshift ya da nonsense mutasyon bulunan CS'lu hastaların yetişkin deri fibroblastlarından yapılan çalışmada golgi kompleksinde benzer bir fragmentasyon tespit edilmiştir. COH1'in golgiye lokalizasyonu, 315 aa'lık C-terminal fragmanı aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. COH1 yeni bir Golgi matrix proteindir ve CS'daki gelişim anomalilerinin golgi disfonksiyonuyla bağlantısını ortaya koymaktadır.

Son yıllarda birçok genetik hastalığın membran trafiğindeki bozukluklarla ilişkili olduğu bulunmuştur (Olkkonen ve Ikonen, 2006). Sinir sistemi, özellikle sitoskeleton yapılarını etkileyen transport elemanların motilitesinin bozulduğu hastalıklar, bu mekanizmadaki değişimlere duyarlıdır. Membran ve salgı proteinlerinin yanı sıra lipidler endoplazmik retikulumda sentezlenir ve post translasyonel modifikasyonların gerçekleştiği golgi kompleksine gönderilir. Buradan proteinler plazma membranı, salgı granülleri ya da vesiküller veya endositotik yolaktaki organellere gönderilir. (Bard ve Malhotra, 2006; McNiven ve Thompson, 2006). Membranlar arasındaki giriş ve çıkışı sağlayan yollar arasındaki bağlantı golgi kompleksi ve endozomlar arasındaki iki yönlü transport ile kontrol edilmektedir (Bonifacino ve Rojas, 2006). Birçok sendromda bu mekanizmanın çökmesine neden olan defektler semptomlara neden olmaktadır. Fonksiyonel olarak birbirleriyle ilişkili transport bileşenleri ve düzenleyici mekanizmalar keşfedilmiştir. Dolayısıyla CS'nu da kapsayan bu hastalıkların araştırılması terapötik yaklaşımların geliştirilmesinin yanı sıra intrasellüler membran trafiğindeki temel mekanizmaların anlaşılmasını sağlayacaktır.

2.8. Tüm Ekzom Dizileme

DNA üzerinde bulunan genlerin transkripsiyonu sonucu mRNA'da karşılığının olduğu nükleotid dizilerine ekzon denmektedir. Genom içerisindeki ekzonların hepsine ise ekzom denir. Ekzom dizileme (exome sequencing-targeted exome capture), hastalık-gen ilişkilerini saptamak amacıyla genomun sadece kodlanan bölgelerinin seçici olarak sekanslanması prensibine dayalı bir yöntemdir (Bashiardes ve ark., 2005; Ng ve ark. 2010). Protein kodlayan genler insan genomunun sadece %1'lik (yaklaşık 30

Mb/180.000 ekzon) bölümünü oluştururlarken, hastalıkla bağlantılı mutasyonların, kodlayan bölge ya da kanonik kesim bölgelerinde (splice site) olmak üzere, %85'ini barındırırlar. Genom boyu bağlantı çalışmaları yaygın genetik varyantların kalıtsal hastalıkların sadece küçük bir bölümünü etkilediğini, nadir varyantların ise nedeni bilinmeyen kalıtsal hastalıkların çoğundan sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Mendelyan modellerle uyumlu olarak, kodlayan varyantlar bu tip nadir varyantları içermektedir (Choi ve ark. 2009)

Bugüne kadar monogenik hastalıkların yarısından azında altta yatan genetik mekanizma açığa çıkarılmıştır. Nadir hastalıklarda geleneksel pozisyonel klonlama teknikleriyle allelik varyantların tanımlanması olgu veya aile sayısının az olması, lokus heterojenitesi, reproduktif fitness'ın azalması gibi nedenlerle zordur. Büyük ölçekte paralel DNA dizileme tekniklerinin geliştirilmesiyle tüm genom sekanslama (whole genome sequencing) insanlarda artarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak maliyetlerin yüksek olması nedeniyle özellikle çok sayıda örnek için pratikte uygun değildir. Alternatif bir yaklaşım olarak genomun belirli bölgeleri, örneğin ekzomun, hedeflenip, zenginleştirilerek sekanslanmasına dayalı ekzom dizileme, henüz mekanizması bilinmeyen hastalıklarda daha etkin bir yöntemdir (Ng ve ark., 2009). Ekzom sekanslama ile yapısal ya da kodlanmayan bölgelerdeki varyantlar saptanamamakta, bu ancak tüm genom dizileme ile mümkün olmaktadır. Bununla birlikte kodlama yapmayan bölgeler tamamen korunmuş olsalar dahi fenotip üzerindeki etkiler zayıftır. Bu nedenle ekzom, genom içinde varyantları araştırmada etki büyüklüğü açısından en zengin bölgedir. Ekzom sekanslama ile ekzomdaki nadir varyantlar çok az hasta sayısı ile bile araştırılabilmektedir ve tüm genom dizilemeyle karşılaştırıldığında aynı sürede en az 20 kat daha fazla örnek dizilenebilmektedir.

İlk olarak 2009 yılında *MYH3* geninin Freeman-Sheldon Sendromu'na yol açtığı, 3 popülasyonu temsil edecek şekilde HapMap projesine kayıtlı 8 birey ve akraba olmayan ve bu sendromu taşıyan 4 kişi olmak üzere, toplam 12 bireyde ekzom sekanslama yöntemi ile bulunmuştur (Ng ve ark., 2009). Yine aynı yöntemle 4 farklı aileden 3 etkilenmiş bireyde *DHODH* genindeki mutasyonların Miller sendromuna neden olduğu belirlenmiştir (Ng ve ark., 2010). Bizimde çalışmamızda kullandığımız Roche/NimbleGen whole ekzom array yakalama protokolü 454 platformunda DNA dizileme için geliştirilmiştir. Illumina platformunda dizileme maliyeti daha düşük

olduğundan Choi ve ark. (2009) Nimble-Gen 2.1 M Human Ekzom Array ile hibrid yakalamayı Illumina DNA dizileme platformuna adapte etmişlerdir. Bu arrayler 18,673 protein kodlayan gene ait 180,000 ekzonu ve 551 mikro-RNA dahil 34.0 Mb genomik dizi içeren tek iplikli oligonükleotidlerden oluşmaktadır. Dizileme verileri otomatik bir pipeline'da işlenmektedir. Sekanslar Maq software kullanılarak referans insan genomu (hg18) ile karşılaştırılmıştır (Li H. ve ark., 2008). Tek nükleotidlik varyantlar (SNVs, single nucleotide variants) Samtools (Li H ve ark., 2009) ile saptanmış ve BWA (Li H, Durbin R., 2009) indel saptamak amacıyla referans genomla olan gapleri karşılaştırmak için kullanılmıştır. SNV'ler kodlanan proteinler üzerine etki ve 43 omurgalı türünün sekansı ile ve sinek ve kurtlardaki ortologlarla korunmuşluk açısından karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. (Siepel A ve ark., 2006). Bu çalışmada ekzom dizileme yöntemiyle homozigot ve heterozigot varyantlar olmak üzere yüksek duyarlılık ve özgüllükte kodlanan dizilerin yaklaşık %95 oranında yakalandığını göstermektedir. Bartter sendromu ön tanısı almış ve bilinen genlerde mutasyon bulunmayan hastalarda omurgasızlardan insanlara kadar ortolog ve paraloglarda tamamen korunmuş *SLC26A3* geninde homozigot mutasyonlar bu yöntemle tespit edilmiştir ve moleküler tanı klinik izleme doğrulanmıştır (Choi ve ark., 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Genetik Bilim Dalı Polikliniği'nde muayene edilen ve önceden bildirilmiş tanı kriterleri doğrultusunda Cohen Sendromu ön tanısı almış 7 aileden 12 hasta çalışmanın kapsamını oluşturdu. Mental retardasyon, obezite, retinitis pigmentosa ve karakteristik yüz bulgusu varlığı CS için tanı kriteri olarak alındı.

COH1 geni 4 ailede (Aile 2, 4, 5 ve 7) Almanya, Köln Üniversitesi'nde Dr. Hans Christian Hennies tarafından taranmış ve mutasyon tespit edilmediği bildirilmiştir. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Genetik Bilim Dalı ile Yale Üniversitesi Tıp Fakültesi Nörocerrahi, Nörobiyoloji ve Genetik Departmanı, Nörogenetik Programı'nın birlikte yürüttüğü Nedeni Bilinmeyen Zeka Geriliği ve Yapısal Beyin Anomalisi olan Hastalarda Yeni Genlerin Araştırılması adlı proje kapsamında nörogenetik hastalıklar araştırılmaktadır. CS gibi fenotipik ve genotipik açıdan heterojen otozomal resesif, nadir hastalıklar bu proje dahilinde araştırılmaktadır. Hastaların ebeveynlerinden bilgilendirilmiş onam formu okutularak ve çalışma hakkında bilgilendirilerek kan alınmış ve DNA izole edilmiştir.

Bu çalışmada nadir varyantların ve hastalığa neden olan mutasyonların saptanması amacıyla tüm kodlayan bölgelerin etkin biçimde dizilenmesine olanak tanıyan tüm ekzom dizileme yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde Roche/NimbleGen tüm ekzom array ve Illumina DNA dizileme platformu birlikte kullanılmaktadır.

3.1. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Hastalardan steril EDTA'lı tüpe 10 ml periferik kan örneği alınarak klasik tuzla çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonu yapılmıştır.

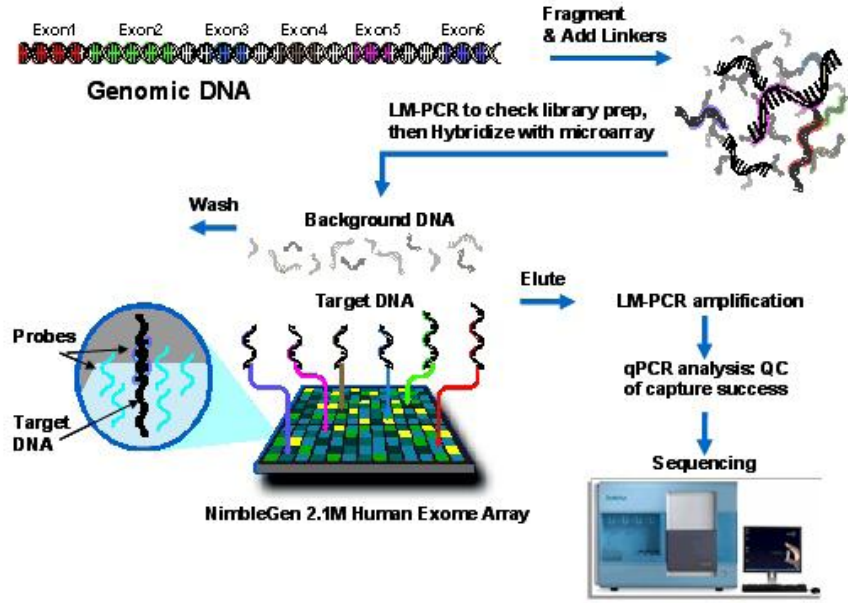
3.2. DNA'nın Miktar ve Safliğinin Ölçümü

20 mikrogram yüksek kalitede ve moleküler ağırlıkta amplifiye olmamış genomik DNA 2.1m array Sequence Capture deneyi için önerilmektedir. DNA örnekleri 250ng/µl-500ng/µl konsantrasyonunda olacak şekilde TE buffer içerisinde çözüldürüldü. Ultraviyole spektrofotometresi ile örneğin 260 nm ve 280 nm dalgaboylarındaki emilim değerleri ölçüldü. $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ ve $A_{260}/A_{230} \geq 1.9$

aralığındaki değerler ideal kabul edildi. DNA'nın degrade olup olmadığını görmek ve RNA kontaminasyonunu değerlendirmek üzere her örnekten 200 ng DNA %1'lik agaroz jele yükelenerek uygun moleküler ağırlıktaki marker ile elektroforez ile analiz edildi. Genomik DNA'nın tek bir bant şeklinde 12 kb'den büyük olarak görülen örnekler çalışmaya alındı. Fragmentasyon için gereken örnekler -20°C'de çalışmaya kadar saklanabilir.

3.3. Ekzom Yakalama ve Dizileme

Genomik DNA yakalama NimbleGen 2.1M human exome array version 1.0 ile üretici (Roche Nimblegen, Inc.) protokolüne göre gerçekleştirildi. Genomik DNA dizileri sonifikasyon ile kesilir ve elde edilen fragmentler evrensel primer dizileri içeren adaptörlere bağlanır. Adaptör bağlı diziler agaroz jel elektroforeziyle fraksiyonlarına ayrılır ve istenilen boyuttaki parçalar kesilir. Elde edilen DNA ligasyon aracılı PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile amplifiye edilir, ardından pürifiye edilerek array üzerinde üretici tarafından sağlanan Buffer ile 42 °C de hibridize edilir. Array yine üretici tarafından sağlanan Buffer ile iki kez 47.5 °C de ve oda sıcaklığında 3 kere yıkanır. Yıkamalar sırasında hibridizasyon göstermeyen diziler elimine edilir. Bağlı genomik DNA 125 mM NaOH ile oda sıcaklığında 10 dakika elue edilir, pürifiye edilir ve ligasyon aracılı PZR ile amplifiye edilir. Elde edilen fragmentler, pürifiye edilip Illumina platformunda DNA dizilime için hazırlanır. Hedef dizinin görece kaç kat zenginleştirildiğini belirlemek için yakalanan ve yakalanmayan amplifiye örneklerle kantitatif PZR uygulanır. Oluşturulan kütüphane 74 baz çiftlik gruplar halinde olacak şekilde Genome Analyzer Iix'da (Illumina) dizilenir. Illumina pipeline version 1.5 sonuçların görüntülenmesi ve baza çevrilmesinde kullanılmaktadır.

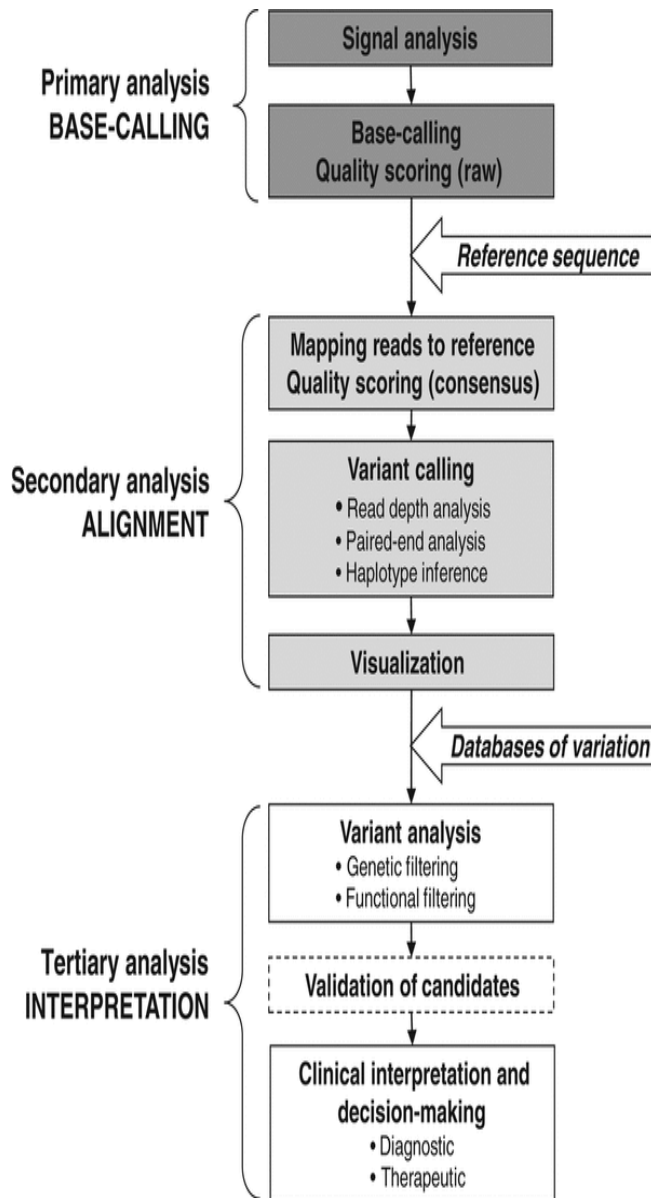
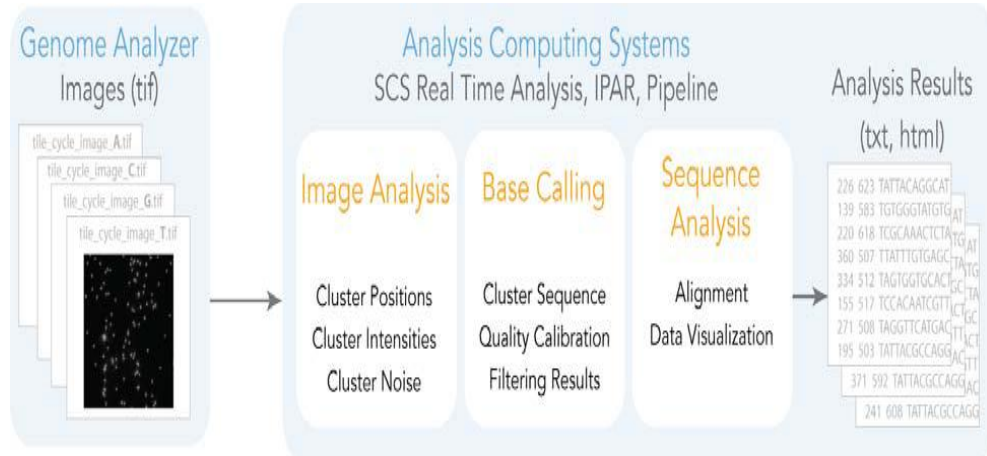


Şekil 3-1: Ekzom yakalama ve dizileme protokolü

(www.nimblegene.org)

3.3.1. Ekzom veri analizi

Dizi verilerinin analizi, human genome (NCBI36/hg18) referans alınarak daha önce tanımlanmış veri analiz sistemine (Illumina pipeline) göre Maq and BWA yazılımları kullanılarak yapıldı. Maq software kullanılarak elde edilen dizi verileri referans insan genomu (hg18) ile karşılaştırıldı. Hedef sekanslar dışındaki okumalar dışlandı. SAMtools sonuçların baza çevrilmesinde kullanıldı ve referans bazdan farklı her baz olası SNV olarak alındı. BWA indel saptamak amacıyla referans genomla olan gapleri karşılaştırmak için kullanıldı. Ek filtreler uygulandı. Varyantlar Quality score ve coverage değerlerine göre yeniden gözden geçirildi. Yeni varyant anotasyonu dbSNP, Personal Genome ve 1000 Genomes veri tabanlarıyla karşılaştırılarak yapıldı. Varyantlar yenilik, kodlanan proteine etkisi, türler arasındaki korunmuşluk, ekspresyon paternlerine göre değerlendirildi. In silico algoritmalar uygulandı (PolyPhen-2, SIFT, Grantham). Aday genler Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) ve UCSC Genome portal (<http://genome.ucsc.edu>) kullanılarak incelendi.



Şekil 3-2: Veri analiz akış şeması

3.3.2. Dizi analizi ile varyantların konfirmasyonu

Hasta bireylerin ekzom veri analizi sonucunda hastalığa neden olduğu bilinen gendeki mutasyonlar, aday genlerdeki yeni varyasyonlar ve ekzom problemlerinin teorik olarak kapsamadığı kanonik kesim bölgeleri için dizayn edilen primerler (www.genome.usc.edu ve www.basicnorthwestern.edu/biotolls/oligocalc.html) ile PZR reaksiyonu gerçekleştirildi. Elde edilen PZR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile değerlendirildi. Dizileme için yeterli kalitede olan örnekler sanger dizileme yöntemiyle incelendi. Sanger dizileme işlemleri ABI 3130 XL (Applied Biosystems) kapiller sekanslama cihazında okundu. Amplikonlar Sequencer™ software (Gene Codes Corporation, MI, USA) ile analiz edildi.

Bu aşamalarda kullanılan primer dizileri Tablo 3-1'de gösterilmektedir. İlgili genlerin PZR koşulları ise Tablo 3-2'de ifade edilmektedir.

Tablo 3-1: Dizileme için kullanılan primerlerin bilgileri

<i>Gen</i>	<i>Forward primer</i>	<i>Reverse primer</i>	<i>Erime Isısı</i>
VPS13B (100177837)	CTTCTTGATAATGACGTTTGTGG	CTTCTTGATAATGACGTTTGTGG	59.5-60.5°C
VPS13B (100184380)	GATCTTATCTCCTGTAGCTACC	GCTTGGTACAGTGGTTTACAC	59.5-60.5°C
LTBP4	GAAATGGCCTGACTGTCTGG	TCCTGACTTCAAGTGATCTGC	59.5-60.5°C
NPRL3	GAAATGGCCTGACTGTCTGG	TCCTGACTTCAAGTGATCTGC	59.5-60.5°C
CLEC18C	ATAGCTCCATCCAGCCTGAG	AGAGAGACCAGGTACAGCAG	59.5-60.5°C
MRC1	AAAGCTTTCAGGCCTCCAGC	TCGAATTCCTCAATGGTGTGG	59.5-60.5°C
BCID2	CATGATTCAGTTCCAGTGTG	CAGCAGTGATGATGCCACC	59.5-60.5°C
VPS13B ekzon 16	ATAGCTTCTTTACAGTAGATGGAC	GGCTGGTTCTAGGTTTAAGTG	59.5-60.5°C
VPS13B Ekzon 27	CTGAAGGCCTAATGGATGGTTC	CAGAAGAAATGCAGCCAACCTG	59.5-60.5°C
VPS13B Ekzon 29	GGAAAGTGTCTCAGGAGGG	TAGCATGTCCAACCAACCTAAG	59.5-60.5°C
VPS13B Ekzon 32	TTGCTAAGCCCAACCAGGC	ATGTTCCACAGCTGAATCCTG	59.5-60.5°C
VPS13BEkzon 50	TGAGAATTGCTTGAACCCAGGA	GCCAGCTATAGTTAGACCAGA	59.5-60.5°C
VPS13B Ekzon 52	GTAGTTACCTGTGATCCTGTG	CGGACTGCAAGACCAAAGAC	59.5-60.5°C
VPS13B Ekzon 54	GACTCCGTCCAGACACAATG	ACT CCCAAG GAACCTGCA C	59.5-60.5°C

Tablo 3-2: PZR koşulları

<i>PZR Koşulları</i>		
95°C	3 dakika	1x
95°C	40 saniye	
60	40 saniye	35x
72°C	40 saniye	
72°C	10 dk	1x
4°C	∞	

Tüm çalışmalarımızda kullanılan malzemeler tablo 3-3’de, cihazlar ise tablo 3-4’de gösterilmektedir.

Tablo 3-3: Malzeme listesi

Malzeme adı	Malzemenin Özellikleri	Kullanım Yeri
Falkon	DNase, RNase Free, 50 mL, 50 adetlik paket	DNA izolasyonu ve solüsyon hazırlanması
Etanol	% 99.9 Extra pure	DNA izolasyonu
Mikrosantrifüj tüpleri / Ependorf	DNase, RNase Free, 1000 adetlik paket	DNA izolasyonu, PZR işlemlerinde
Primerler	14 bölge için 100nm, 40 Mer	Ekzom dizileme, PZR
Agoroz Jel	% 99.9 Extra pure	PZR ürün kalitesi tayini
Plate	100 adet	Mikroarray uygulamaları için
PCR Mix	Tüm PZR Reaktanlarını içeren	PZR aşamasında
NimbleGen Arrays	İlgili gen bölgeleri için özel dizayn (2.1 M)	Mikroarray çalışmasında
NimbleGen Mixers	Mikroarray platformu solüsyonu	Mikroarray çalışmasında
Mixer Port Seals	Plate uyumlu adeziv özellikte	Mikroarray çalışmasında
Elution Chamber (ES1 or EL1)	Elüsyon aşaması için	Mikroarray çalışmasında

Tablo 3-4: Cihaz listesi

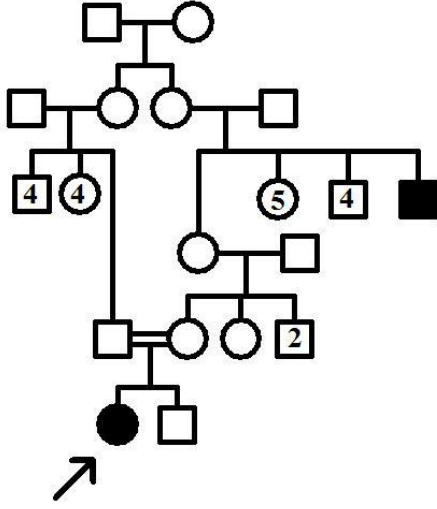
Cihaz adı	Kullanım Yeri
Electrophoresis System (Bio-rad)	PZR ürün kalite tayini
Isı bloğu (Ependorf)	Doku Homojenizasyonu
Plate ve mikrosantrifüj (Ependorf)	Santrifigasyon işlemlerinde
Thermocycler (Roche)	PZR işlemlerinde
Vortex mixer (Ependorf)	Solüsyon ve izolat çalkalama işlemlerinde
Desikatör	Mikroarray platformu kurutma işlemlerinde
ABI 3130 XL (Applied Biosystems)	Sanger dizileme işlemlerinde
Sequencer™ software	Amplikon analizlerinde
Genome Analyzer Iix’da (Illumina)	Ekzom yakalama ve dizileme işlemlerinde

4. BULGULAR

Çalışılan örneklere ait klinik bulgular yanı sıra ekzom sekanslama ve dizi analizleri sonucunda saptanan homozigot novel varyantlara bu bölümde ayrıntılı olarak değinilmiştir. Mutasyonlar araştırılırken öncelik resesif hastalık modeli düşünüldüğünden homozigot novel varyantlar taranmıştır. Yeni varyant anotasyonu dbSNP build 131, nine personal genomes, and 1000 Genomes database Personal veri tabanlarıyla karşılaştırılarak yapılmıştır. Varyantların değerlendirmesi yenilik, kodlanan proteine etkisi, türler arasındaki korunmuşluk, ekspresyon paternlerine ve fonksiyonlarına göre yapılmıştır.

4.1. Olgu 1.

İkinci derece kuzen olan anne babanın ilk çocuğu olarak 3200 kg miyadında normal doğan kız olgu, 8 yaş 9 aylıkken epilepsi, MR, konuşma geriliği tanılarıyla polikliniğimize sevk edildi. 1 sağlıklı erkek kardeşi vardı. Hastanın 8 aylıkken oturduğu, 1,5 yaşında yürüdüğü, 4 yaşından beri 5-10 kelime konuştuğu ancak cümle kuramadığı bildirildi. Baş çevresi: 50 cm (<2p), boy:126 cm (25-50p), ağırlık: 25kg (>97p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obezite, mikrosefali, mutlu yüz ifadesi, yuvarlak yüz, badem şeklinde gözler, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, hafif mikrognați, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, ellerde hiper mobilite ve “tapering fingers” mevcuttu. EKO normal bulundu. Göz muayenesinde astigmatizm mevcuttu. Kromozom analizi 46,XX idi. IQ 41 olarak hesaplandı. Kemik yaşı 9 yaş ile uyumluydu. Batın USG normaldi İnsülin ve glukoz değerleri normaldi. Nötropeni saptanmadı. İşitme testi yapılamadı. Kranial MR’da bilateral frontal lob posterior da solda belirgin olmak üzere bilateral temporal lob superior ve anterior bölümde ve bilateral parietal lobda yer yer kortikal kalınlaşma ve giral sığlaşma ile uyumlu bulgular pakigri olarak yorumlanmıştır. Ek olarak hipofiz glandında bombeleşme rapor edilmiştir. EEG normal bulundu. MR, obezite ve tipik yüz bulguları ile Cohen sendromu klinik tanısı kondu.



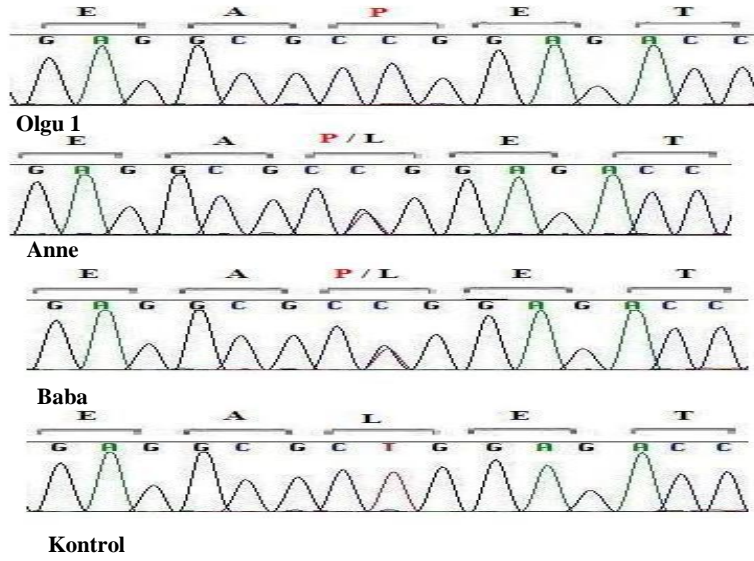
Şekil 4-1: Olgu 1 için aile ağacı



Resim 4-1: Olgu 1

Tablo 4-1: Olgu 1 için ekzom dizileme sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

Chr	Position	Base Change	QS	COV	Unique Reference Allele Coverage	Unique Non-Reference Allele Coverage	Gene	phyloP	Status	AA change	AA position /length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr9	94522734	A>G	255	90	0	47	BICD2	5,043	Missense	L244P	244/855	+	+
chr10	18178537	C>G	45	6	0	6	MRC1	3,77	Missense	P363A	363/1456	+	-
chr16	68765807	G>A	54	6	0	6	CLEC18C	1,781	ex-in boundary			-	-
chrX	104350934	A>C	102	58	0	38	TEX13A	0	Missense	C200W	200/0		
chrX	104350935	C>A	93	57	0	38	TEX13A	0,348	Missense	C200F	200/0		
chr16	78774	C>G	54	84	6	45	NPRL3	5,298	Missense	S310T	310/0	+	-
chr16	78775	T>C	40	85	7	45	NPRL3	4,63	Missense	S310G	310/0	+	-
chr11	5766384	A>G	102	83	7	40	OR52N1	4,627	Missense	L80P	80/320		
chr12	51153589	G>T	39	5	1	4	KRT6C	2,626	missense	S67Y	67/564		
chr19	15591499	T>C	37	72	3	41	CYP4F8	3,013	missense	X151R	151/0		



Şekil 4-2: Olgu 1’de *BCID2*’de homozigot missense varyantı (L244P) gösteren kromatogram.

Varyant anne ve babada heterozigot durumdadır, kontrol DNA’sında normal allel görülmektedir.

Bu hastada daha önce *COH1* gen mutasyonu taranmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda bilinen gende *COH1* (*VPS13B*) homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Tablo 4-1’deki genlerden *BCID2*, *MRC1*, *CLEC18C* ve *NPRL3* varyantların confirmasyonu ve ailede segregasyonu PZR ve ardından sanger dizilemeyle değerlendirilmiştir. *BCID2* genin eksprese ettiği protein golgi-endoplazmik retikulum transportunu dynein-dynaktin motor kompleksini etkileyerek düzenlemektedir. *MRC1* tarafından kodlanan protein makrofajlar yoluyla glikoproteinlerin endositozunu düzenleyen tip 1 membran mannoz reseptörüdür. *CLEC18C* geni mannoz reseptör benzeri 3 proteinini kodlamaktadır. *NPRL3*’ün kodladığı proteinin fonksiyonu bilinmemekle birlikte, başka CS ön tanılı hastada (hasta 3) aynı varyantın ekzom analiz sonucunda bulunması nedeniyle taranmıştır. Bunlar arasından sadece *BCID2* genindeki varyant konfirme ve segregasyon olmuştur. Bu pozisyonun QS (255) ve coverage değeri yüksekti (PCR duplicates çıkarıldığında unique reads 47) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu. Ayrıca bu varyant 5000 kontrol kromozomunda bulunmamıştır. Diğer genler tez kapsamında çalışılmamıştır. *TEX13A* testislerde eksprese olan fare homoloğuna benzemektedir. *OR52N1* kodladığı olfaktör reseptör geni kokunun algılanmasını tetiklemek üzere burundaki odorant moleküllerle etkileşerek nöronal yanıtı başlatır. *KRT6C* genin kodladığı keratin ailesi

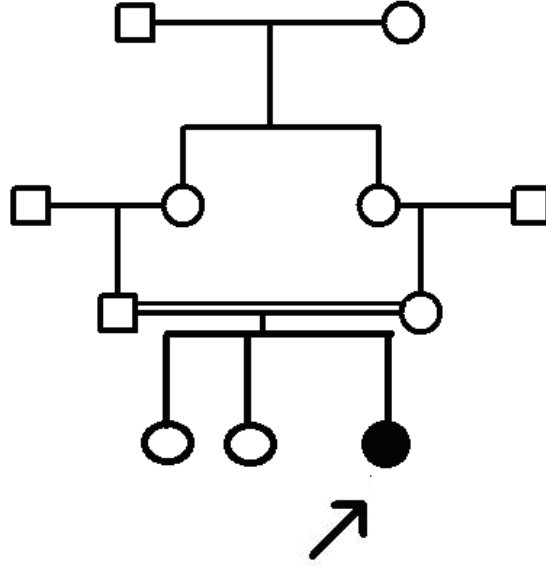
üyesi bir proteindir. Keratinler epitel hücrelerin yapısal bütünlüğünden sorumlu filament proteinleridir. CYP4F8, sitokrom P450 süperailisi enzimleirni kodlamaktadır. Bu protein endoplazmik retikulumda lokalizedir ve seminal vesiküllerde prostaglandinler için 19-hidroksilaz olarak işlev görürler.

4.2. Olgu 2

Teyze çocukları olan anne babadan elektif seksiyon ile zamanında ve 2580 gr ağırlığında üçüncü çocuk olarak doğan kız olgu, 7 yaşında mental gerilik ve konuşma gecikmesi nedeniyle polikliniğimize yönlendirilmişti. Ailenin diğer 2 çocuğu sağlıklı idi. Üç yaşına kadar sık ateşlendiği ve infeksiyon geçirdiği bildirilen hasta 6 aylık oturmuş, 1,5 yaşında yürümüşü. Baş çevresi: 46 (<3p), boy: 110 cm (3p), ağırlık: 20kg (90-97p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obezite, mutlu yüz ifadesi, yuvarlak yüz, badem şeklinde gözler, belirgin ön kesiciler, kısa filtrum, maksiller hipoplazi, dar ve yüksek damak, sağ elde simian çizgisi, dirseklerde ve el parmaklarında hipermobile ve “tapering fingers”, pes excavatum mevcuttu. El boyu: 12 cm (<12p) idi. Göz muayenesinde pigmenter retinopati belirlendi. Kromozom analizi 46,XX idi. Kranial MR ve EEG normal bulundu. 5-6 sözcük konuşabiliyordu. IQ 41 olarak hesaplandı. Tam kan sayımında nötropeni tespit edildi. İnsülin ve glukoz değerleri normaldi. BERA testinde koklea ve/veya öncesinde bir patoloji lehine bulgular saptanmıştır. Klinik bulgular ile Cohen sendromu tanısı kondu.



Resim 4-2: Olgu 2



Şekil 4-3: Olgu 2 için aile ağacı

Tablo 4-2: Olgu 2 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan novel homozigot varyantlar

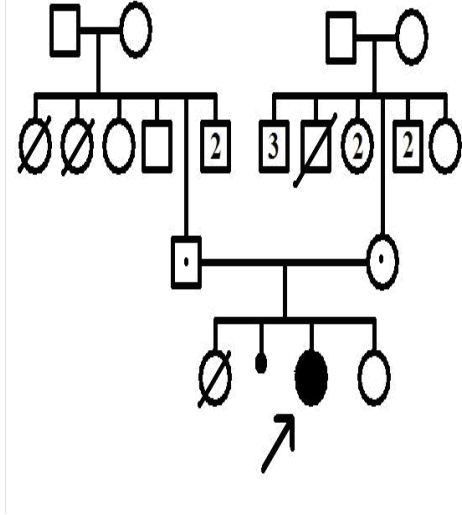
Chr	Position	Base change	Quality S	Cov	Unique Reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	PhyloP	Status	AA change	AA position/Length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr3	49740017	G>A	196	55	0	34	IP6K1	5.254	missense	R125C	125/276		
chr9	93752035	G>T	42	5	0	5	ROR2	-0.347	missense	P11Q	11/943		
chr17	6657044	C>G	232	67	1	43	TEKT1	3.926	missense	A228P	228/418		
chr17	7940692	A>G	255	142	0	59	ALOXE3	4.128	missense	I705T	705/711		
chr20	61508995	T>G	45	6	0	5	KCNQ2	0.649	missense	I661L	661/844		
chr20	61891639	G>A	154	40	0	28	ZBTB46	3.136	missense	P306S	306/589		
chrX	128870377	A>G	255	171	0	66	UTP14A	-0.362	missense	N75S	75/719		
chr14	44727906	A>G	171	48	0	48	FANCM	4.696	missense	R1644Q	1644/2048		

Bu hastada daha önceki *COH1* geni taramasında mutasyon bulunmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda da *COH1*'de homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Hastalığa neden olduğu bilinen aşağıdaki genlerdeki varyantların olgudaki fenotipe etkisi düşünülmemiştir. *ROR2* genindeki defektler

brakidaktili tip B, Robinow syndrome, OR formu, *ALOXE3* genindeki defektler non-bullous konjenital ichtiyoziform eritroderma, *KCNQ2* genindeki defektler epilepsi, benign neonatal tip 1 ve *FANCM* genindeki defektler Fanconi anemisine neden olmaktadır. Geri kalan genler tez kapsamında çalışılmamıştır. *IP6K1* inositol fosfokinaz ailesinden bir protein kodlamaktadır. *TEKT1* gen ürünü tektin ailesi proteinlerindedir. Tektinler filament oluşturan proteinleri içerirler. Ağırlıklı olarak testislerde eksprese olmaktadır. Fare homoloğunun mRNA'sında spermatozoidlerde eksprese olması spermatogenezde rol oynadığını düşündürmektedir. *UTP14A* geninin kodladığı protein ribozom biyogenezi ve 18s Rrna sentezinde görev almaktadır.

4.3. Olgu 3

Aralarında akrabalık bulunmayan, aynı köyden olan anne babanın 3 gebelik 2. canlı doğumu olarak miyadında sezaryenle 2900 gr ağırlığında ve 48 cm boyunda doğan kız olgunun bir kız kardeşi iki günlükken mekanyum aspirasyonu nedeniyle kaybedilmişti ve yaşayan 1 sağlıklı kızkardeşi vardı. Mental motor gerilik nedeniyle 6 yaş 6 aylıkken polikliniğimize gönderilen hastanın 1 yaşından oturduğu, 2,5 yaşında yürüdüğü ve 6 yaş tek tek birkaç kelime konuştuğu bildirildi. Sık ÜSVE ve kusma öyküsü vardı. Baş çevresi: 45,5 cm (<3p), boy: 108,5 cm (3-10p), ağırlık :21 kg (50-75p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obezite, mutlu yüz ifadesi, yuvarlak yüz, badem şeklinde gözler, sağda dışa şaşılık, belirgin ön kesiciler, kısa filtrum, maksiller hipoplazi, mikrognati, açık ağız, dar ve yüksek damak, fasiyal hipotoni, ve “tapering fingers cubitus valgus tespit edildi. El boyu: 15 cm (< 3p) idi. Kompanse hipotroidi vardı. İki yönlü vertebra grafisinde kifoz, skolyoz ve osteopeni belirlendi. Hasta cümle kuramıyordu ve 10-15 kelime konuşabiliyordu. IQ 30-35 arasındaydı. Göz muayenesinde optik atrofi ve retinitis pigmentosa olduğu rapor edildi. Hastada ayrıca sensörinöral işitme kaybı vardı (%40-50). Kranial MR, EKO ve EEG normaldi. Hastada insülin değeri 80.32 mu/L (ref. aralık 0-17) ile tokluk glukoz 118 (ref. Aralık 60-105) ile yüksek bulundu. Hasta tam kan sayımında nötropenik bulundu. Klinik ve laboratuvar bulguları ile Cohen sendromu klinik tanısı kondu.



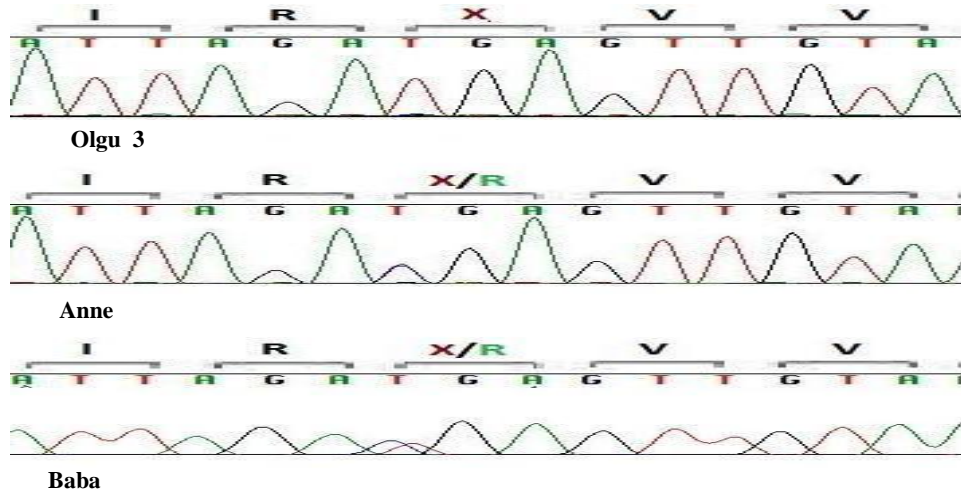
Şekil 4-4: Olgu 3 için aile ağacı



Resim 4-3: Olgu 3

Tablo 4-3: Olgu 3 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

	Position	Change	QS	COV	Unique Reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	phyloP	Status	AA_change	AA_position\length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr6	12950987 2	G>C	255	75	0	34	LAMA2	3,107	missense	D299H	299/3122		
chr8	88954942	C>T	255	77	0	28	DCAF4L2	1,055	missense	R125Q	125/395		
chr8	10018438 0	C>T	181	51	0	32	VPS13B	1,992	nonsense	R146X	146/863	+	+
chr10	12082044 7	T>C	255	121	0	55	EIF3A	4,701	missense	M228V	228/1382		
chr22	38396900	C>T	184	51	0	32	CACNA1I	4,97	missense	P1477S	1477/2188		
chr22	35908194	T>C	229	67	2	27	C1QTNF6	0,798	missense	I273V	273/278		
chr16	78774	C>G	4	62	3	30	NPRL3	5,298	missense	S310T	310/0	+	-
Chr7	15034483 7	T>C	12	65	4	24	ATG9B	1,073	Coding	E765G	765/0		
Chr9	13902730 9	G>T	39	5	1	3	ATG9B	4,8	Coding	P1613H	1613/0		



Şekil 4-5: Olgu 3'de *VPS13B*'de c.436>T (R146X) nonsense mutasyonu gösteren kromatogram.

Anne ve baba aynı mutasyon için heterozigot durumdadır, kontrol DNA'sında normal alleller görülmektedir.

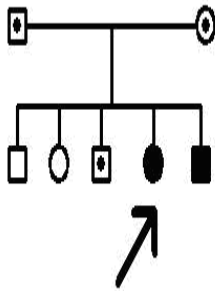
Bu hastada daha önce *COH1* gen mutasyonu taranmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda hasta 3'de *VPS13B*'de 5. ekzonda (c.436C>T, R146X) nonsense mutasyon tespit edilmiştir. Bu pozisyonun QS (181) ve coverage değeri yüksekti (PCR duplicates çıkarıldığında unique reads 51) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu. Ayrıca bu varyant 5000 kontrol kromozumunda bulunmamıştır. Bu mutasyon ilk defa Cohen Sendromlu bir hastada El Chehadeh ve ark. (2010) tarafından bildirilmiştir. Bu pozisyondaki mutasyonun PZR ve ardından sanger dizilemeyle confirmasyonu ve ailedeki segregasyonu gösterilmiştir. *NPRL3* genindeki varyant diğer Cohen ön tanıli hastada (hasta 1) ekzom sonucunda bulunması nedeniyle sanger dizilemeyle taranmış ancak anne ve babada da homozigot bulunmuştur.

4.4. Olgu 4-1 / 4-2

Aralarında akraba evliliği bulunmayan, aynı köyden anne babanın mental motor retardasyon ve mikrosefali olan iki çocuğundan ilki 8 yaşındaki kız olgu idi. Ciddi derecede gelişim ve konuşma geriliği olan hastanın 3 yaşında oturduğu, 4-5 yaşlarında sallanarak yürüdüğü ve 8 yaşında 1-2 kelime konuştuğu bildirildi. Fiziki muayenesinde Baş çevresi: 45 cm (<2p), boy: 118 cm (<3p) ağırlık: 23 kg (10p) ve trunkal obezite, mikrosefali, mutlu yüz ifadesi, düşük yerleşimli saç çizgisi, uzun yüz ve burun, badem şeklinde gözler, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar

ve yüksek damak, cubitus valgus, bilateral simian çizgi, el parmaklarında hipermobilité ve “tapering fingers”, pes planus, klinodaktili mevcuttu. Göz muayenesinde bilateral yaygın pigmenter retinopati tespit edildi. Kromozom analizi 46,XX idi Kraniyal MR normal bulundu. Batın USG’de böbrek boyutları normalin üzerinde bulundu. EKO’da interatriyal septumda yaklaşık 1 cm’lik ince bir membran şeklindeydi ancak renkli dopplerde minimal geçiş olduğu saptandı. IQ 19 idi.

Ciddi derecede gelişme ve konuşma geriliği olan erkek kardeşin ise 3 yaşında oturduğu, 4-5 yaşlarında sallanarak yürüdüğü ve 6 yaşında 1-2 kelime konuştuğu bildirildi. Baş çevresi: 45 cm (<2p), boy: 114 cm (10p), ağırlık: 20 kg (10-25p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obesite, mikrosefali, mutlu yüz ifadesi, düşük yerleşimli saç çizgisi, uzun yüz ve burun, badem şeklinde gözler, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, bilateral simian çizgi, el parmaklarında hipermobilité ve darlık, “tapering fingers” ve pes planus mevcuttu. IQ 27 idi. Göz muayenesinde retinopati tespit edildi. Kromozom analizi 46,XY idi. Batın USG’de böbrek, KC ve dalak boyutları normalin üzerindediydi. EKO ve Kraniyal MR normal bulundu. Kız çocuğunda nötropeni varken, erkekte nötrofil sayısı normal sınırlar içindeydi. Ayrıca her iki hastada insülin, kan şekeri dahil diğer kan biyokimyasal değerleri de normaldi.



Şekil 4-6 Olgu 4-1/4-2 için aile ağacı

Resim 4-4: Olgu 4-1/4-2

Tablo 4-4: Olgu 4-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

Chr	Position	Change	QS	COV	Unique reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	Phylop	Status	AA_change	AA_position/length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr2	170136674	G>A	193	55	0	22	FASTKD1	0,36	missense	P38S	38/847		
chr2	179205965	A>G	255	86	0	48	TTN	5,621	missense	C5315R	5315/0		
chr3	14174970	T>A	36	22	0	3	XPC	0	missense	I436F	436/904		
chr5	706187	C>G	129	33	0	19	CEP72	1,511	missense	H621Q	621/647		
chr8	100177837	G>T	196	55	0	33	VPS13B	5,887	Ex-In boundary	1 bp downstream of exon 3	1 bp downstream of exon 3	+	+
chr16	82552174	C>G	111	27	0	16	OSGIN1	0,711	missense	R245G	245/560		
chr17	7414419	C>T	211	59	0	29	SEN3	1,519	missense	A455V	455/0		
chr17	8732253	G>A	193	55	0	24	PIK3R5	4,578	missense	R526W	526/880		
chr11	46298838	A>G	16	67	3	29	CREB3L1	1,284	missense	D509G	509/519		
chr18	66014836	A>C	38	82	6	42	RTTN	2,084	missense	F241C	241/2226		
chr7	4842705	G>A	48	8	1	6	RADIL	1,838	missense	P198L	198/1075		

Şekil 4-7: Olgu 4-1/4-2’de VPS13B’de c.412+1 G>T splice site mutasyonu gösteren kromatogram

Şeklin solunda ilk iki kromatogram etkilenmiş bireylerdeki homozigot c.412+1 G>T mutasyonunu göstermektedir. Sol alttan üçünde anne, baba ve etkilenmemiş erkek kardeşlerden biri aynı mutasyon için heterozigot durumdadır. Sağdaki iki kromatogramda iki etkilenmemiş erkek kardeşin normal homozigot allelere sahip olduğu görülmektedir.

Bu hastada daha önceki *COHI* geni taramasında mutasyon bulunmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda hasta 4-1’de *VPS13B*’de (*COHI*) ekzon 3’ün 1bp downstreaminde splice site mutasyonu (c.412+1 G>T) tespit edilmiştir. Bu mutasyon daha önce Cohen Sendromlu hastalarda bildirilmemiştir. Bu pozisyonun QS (196) ve coverage değeri yüksekti (PCR duplicates çıkarıldığında unique reads 33) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu. Ayrıca bu varyant 5000 kontrol kromozumunda bulunmamıştır. Bu pozisyondaki mutasyonun konfirme edilmesi ve ailedeki segregasyonuna belirlenmesi amacıyla tüm aile bireyleri için yapılan PZR ve ardından sanger dizileme sonucunda diğer hasta kardeşin de aynı mutasyon için homozigot durumda olduğu, anne, baba ve bir etkilenmemiş kardeşin heterozigot taşıyıcı olduğu ve diğer iki kardeşin ise iki normal allele sahip olduğu tespit edilmiştir.

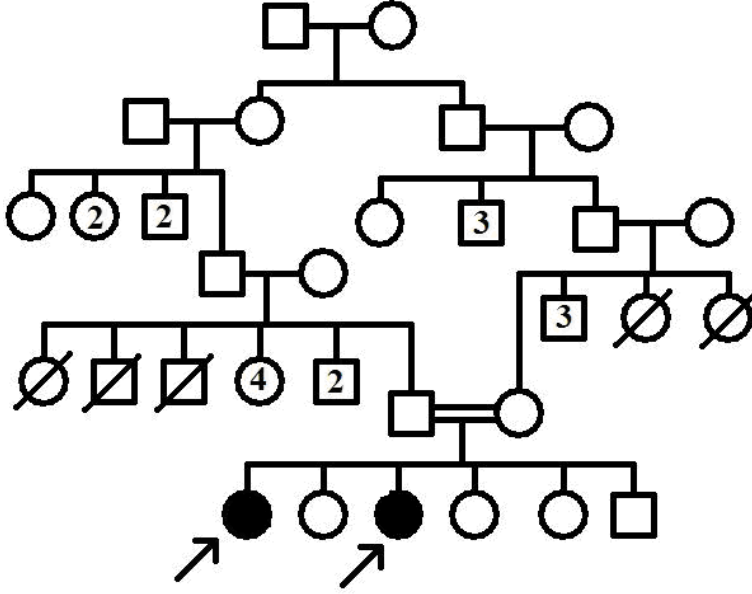
4.5. Olgu 5-1 / 5-2

İkinci kuzen olan anne babanın MMR olan ilk ve üçüncü çocuğundan ilki 18,5 yaşındaki kız olgu 2000 gr miyadında normal yolla doğmuştu. Hastanın 1,5 yaşında yürüdüğü bildirildi. 2.5 yaşına kadar epilepsi vardı. Baş çevresi 55 cm (2-50p), boy 162 cm (50p), ağırlık: 75kg (> 97p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obesite, mutlu yüz ifadesi, düşük yerleşimli saç çizgisi, uzun yüz ve burun, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, el parmakları ve dirseklerde hafif hipermobilitate mevcuttu. Muayene zamanında hastanın konuşmasının iyi olduğu, cümle kurabildiği gözlemlendi. IQ 25 idi. Kalpte 3. ses ve 1/6 sistolik üfürüm tespit edildi. ERG normal bulundu (sağ genlik düşük). Göz muayenesinde periferik retinada granüler görünüm tespit edildi. EKO ve KrMRG normal bulundu. Nötropeni tespit edilmedi. Kan glukoz düzeyi 108 mg/dL (ref aralık 60-105) ile yüksek bulundu. İnsülin değeri normaldi.

İkinci hasta kardeş 15 yaşındaki kız çocuğu 3000 gr ağırlığında miyadında doğmuştu, 6. ayda oturduğu, 1 yaşında yürüdüğü, 3 yaşında konuştuğu bildirildi. 5 yaşına kadar epilepsi tedavisi almıştı. Fizik muayenesinde baş çevresi: 54 cm (2-50p), boy: 161 cm (50-75p), ağırlık: 58 kg (75-90p) idi, trunkal obesite, mutlu yüz ifadesi, düşük yerleşimli saç çizgisi, uzun yüz ve burun, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, el parmaklarında hipermobilitate mevcuttu. Muayene sırasında kelime dağarcığı 8-10 kelimeydi ve 2 kelimelik kısa cümleler kuruyordu. IQ 30'du. Kardiyolojik muayenede 1/6 sistolik üfürüm tespit edildi. EKO ve KrMR normal bulundu. Kromozom analizi 46, XX idi. ERG normal bulundu (sol genlik düşük). Göz muayenesinde periferik retinada granüler görünüm tespit edildi. Nötropeni tespit edilmedi. İnsülin ve glukoz normaldi.



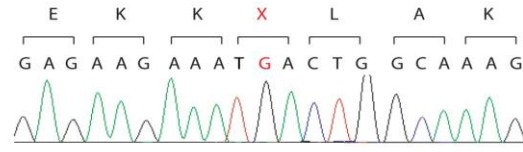
Resim 4-5: Olgu 5-1/5-2



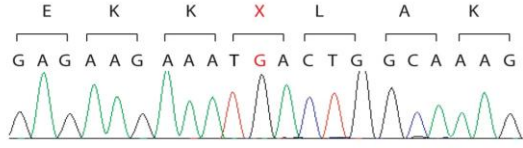
Şekil 4-8: Olgu 5-1/5-2 için aile ağacı

Tablo 4-5: Olgu 5-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

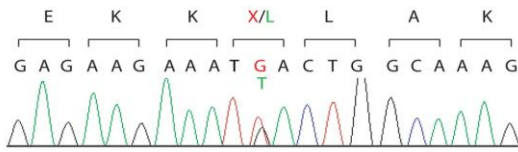
Chr	Position	Base change	QS	Cov	Unique reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	PhyloP	Status	AA change	AA position/Length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr7	101834909	T>G	255	87	0	45	PRKRIP1	3.041	nonsense	L139X	139/184	+	+
chr17	31936534	C>G	238	69	0	42	MYO19	-0.511	missense	R557S	557/970		
chr8	28630019	G>A	181	51	0	36	EXTL3	2.845	missense	R175Q	175/919		
chr7	80131697	G>A	255	91	0	45	CD36	5.747	missense	G217R	217/472		
chr8	29258862	G>A	255	107	0	51	DUSP4	0.355	missense	A35V	35/303		
Chr11	89171140	A>G	10	9	1	7	TRIM49	-0.799	missense	C389R	389/452		
chr2	75573929	T>C	39	4	0	4	FAM176A	4.721	missense	I134V	134/152		



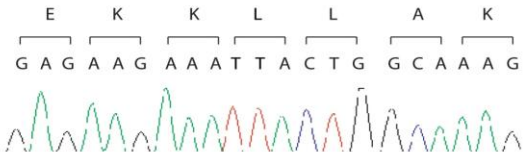
Olgü 5-1



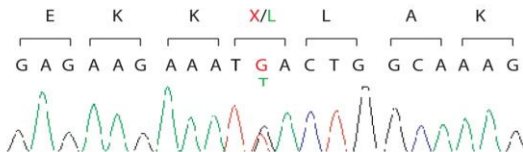
Olgü 5-2



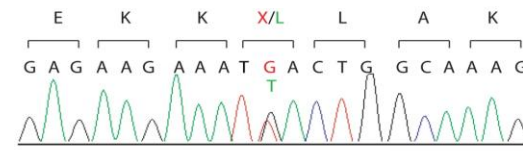
Etkilenmemiş erkek kardeş



Etkilenmemiş kız kardeş



Baba



Anne

Şekil 4-9: Olgü 5-1/5-2'de *PRKRIP1*'de L139X nonsense varyasyonu gösteren kromatogram.

Bu hastada daha önceki COH1 geni taramasında mutasyon bulunmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda bilinen gende COH1 (VPS13B) homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Hasta kardeşlerden 5-2'in ekzom dizileme sonucunda 7q22.1'de lokalize *PRKRIP1* (protein kinase R interacting protein 1) geninde nonsense varyant tespit edilmiştir. Bu pozisyonun QS (87) coverage değeri yüksekti (pcr duplicates çıkarıldığında unique reads 55) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu. 5000 kontrol kromozumunda bu varyant tespit edilmemiştir Yüksek oranda korunmuş bir bölgede tespit edilen bu varyantın PZR ve ardından Sanger dizilemeyle diğer etkilenmiş kardeşte de homozigot durumda olduğu ve anne babanın heterozigot taşıyıcı olduğu tespit edilmiştir. Bu genin kodladığı proteinin çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olduğu ve sitokin aracılı biyolojik fonksiyonlarda rol

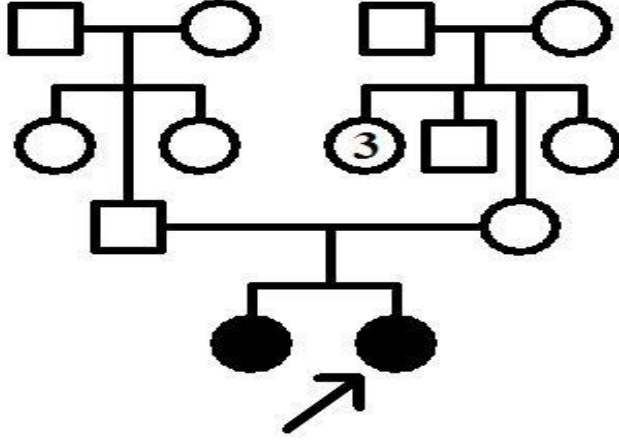
oynadığı düşünülmektedir. Ancak bu genin hastalık patolojileriyle ilişkisi hakkında bir bilgi yoktur. Geri kalan genler arasından olası bir aday görülmemiştir. Tablo 4-5’de daha önce hastalıkla ilişkisi bildirilen *CD36* genindeki defektler trombosit glikoprotein IV eksikliğine ve varyasyonlar koroner kalp hastalığı tip 7’ye yatkınlığa neden olmaktadır. Bu gendeki varyantın olgudaki fenotipe etkisi olduğu düşünülmemiştir. Diğer genler tez kapsamında çalışılmamıştır. *EXTL3*, glikosiltransferaz olarak rol oynayan membran proteinini kodlar. Katalizör olarak rol oynadığı reaksiyon heparin ve heparan sülfat sentezinde önemlidir. *DUSP4*, kodladığı protein dual spesifite protein fosfataz alt ailesinin bir üyesidir ve bu fosfatazlar proliferasyon ve farklılaşmayla ilişkili MAP kinaz superailisinin üyelerinin regülasyonunda rol oynamaktadır. *TRIM49*’un kodladığı protein motifi protein-protein etkileşimlerinde rol oynayan RING zinc finger içermektedir. Öncelikli olarak testiste eksprese olmaktadır.

4.6. Olgu 6-1/ 6-2

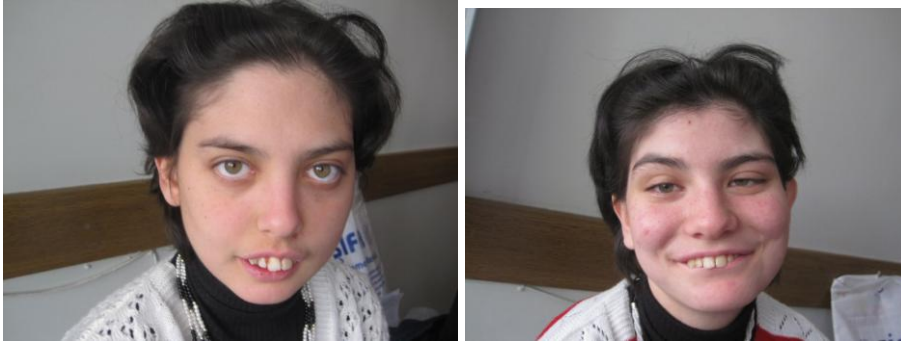
Aralarında akrabalık olmayan anne babanın iki kız çocuğundan 2660 g ağırlığında ve 50 cm doğan 17 yaşındaki kız olgunun 3.5 yaşında yürüdüğü, son üç yıldır konuştuğu ve 1 senedir kendini ifade edebildiği bildirildi. Baş çevresi: 49,5 cm (<2p) boy: 130 cm (<3p), ağırlık: 30 kg (<3p) idi. Fizik muayenesinde mikrosefali, boy kısalığı, mutlu yüz ifadesi, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplaz, diş eti hipertrofisi, el darlığı, dirsek ve el parmaklarında hipermobile, “tapering fingers”, pes planus, cubitus valgus, sol elde simian çizgi mevcuttu. El boyu 15.5 cm (<3p) idi. Agresif davranış paterni gözlemlendi. EEG ve KrMRG normaldi. IQ 28 idi. Sistin ve lizin değerleri düşüktü. Kromozom analizi 46,XX idi. Flaş VEP’de uzamış latans ve Flaş ERG’de düşük genlik tespit edildi. Göz muayenesinde optik disk bilateral soluktu.

15 yaşındaki ikinci kardeşin 2300 gr ağırlığında ve 45 cm dünyaya gelen 2 yaşında yürüdüğü belirtildi. Baş çevresi: 49,5 cm (<2p), boy: 144 cm (<3p), ağırlık: 32 kg (<3p) idi. Fizik muayenesinde mikrosefali, boy kısalığı, mutlu yüz ifadesi, uzun yüz, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve el darlığı, dirsek ve el parmaklarında hipermobile, “tapering fingers”, cubitus valgus alt ekstremitelerde bilateral rijidite, sağ elde ulnar deviasyon mevcuttu. El boyu: 14 cm (<3p) idi. IQ 26 idi. EKO’da fizyolojik pulmoner regürjitasyon vardı. KrMRG sol anterior ethmoid ve frontal sinüste mukozal kalınlık artışı ile konkabülloza dışında normaldi. Kromozom

analizi 46,XX idi. Flaş VEP’de uzamış latans ve Flaş ERG’de normal genlik tespit edildi. Göz muayenesinde optik disk bilateral soluktu.



Şekil 4-10: Olgu 6-1/6-2 için aile ağacı



Resim 4-6. Olgu 6-1 ve 2

Tablo 4-6: Olgu 6-1 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

Chr	Position	Base change	Quality S	Cov	Unique reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	PhyloP	Status	AA change	AA position/Length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr10	134862610	G>A	39	5	1	4	KNDC1	1.302	missense	A870T	870/1749		
chr12	12509961	G>A	58	5	1	3	LOH12CR1	4.380	missense	R192H	192/196		
chr17	67630696	G>A	39	5	1	4	SOX9	4.376	missense	G225S	225/509		
chr19	45814936	T>G	94	46	2	30	LTBP4	-0.390	missense	V1042G	1042/0	+	-
chr19	63570930	G>A	39	4	0	3	ZNF837	-0.570	missense	R528C	528/531		

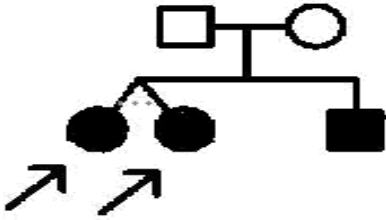
Bu hastalarda daha önce COH1 gen mutasyonu taranmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda bilinen gende COH1 (VPS13B) homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Bu deneyde başka bir merkezden Cohen ön tanılı hastada yapılan ekzom sonucunda bulunması nedeniyle *LTBP4* sanger dizilemeyle değerlendirilmiş, ailede segregasyon göstermemiştir. *LTBP4*'deki defektler şiddetli pulmoner gastrointestinal ve üriner anomaliler ile birlikte Cutix laxa'ya neden olmaktadır. Tablo 4-6'da daha önce hastalıkla ilişkilendirilmiş olan SOX9 genindeki defektler kampomelik displaziye neden olmaktadır. Bu genlerdeki değişimlerin de olgudaki fenotipe etksi olduğu düşünülmemiştir. Diğer genler tez kapsamında çalışılmamıştır KNDC1 (kinase non-catalytic C-lobe domain containing 1), LOH12CR1 (loss of heterozygosity, 12, chromosomal region 1) ve ZNF837 (zinc finger protein 837) fonksiyonları hakkında bilgi bulunmamaktadır.

4.7. Olgu 7-1/7-2 / 7-3

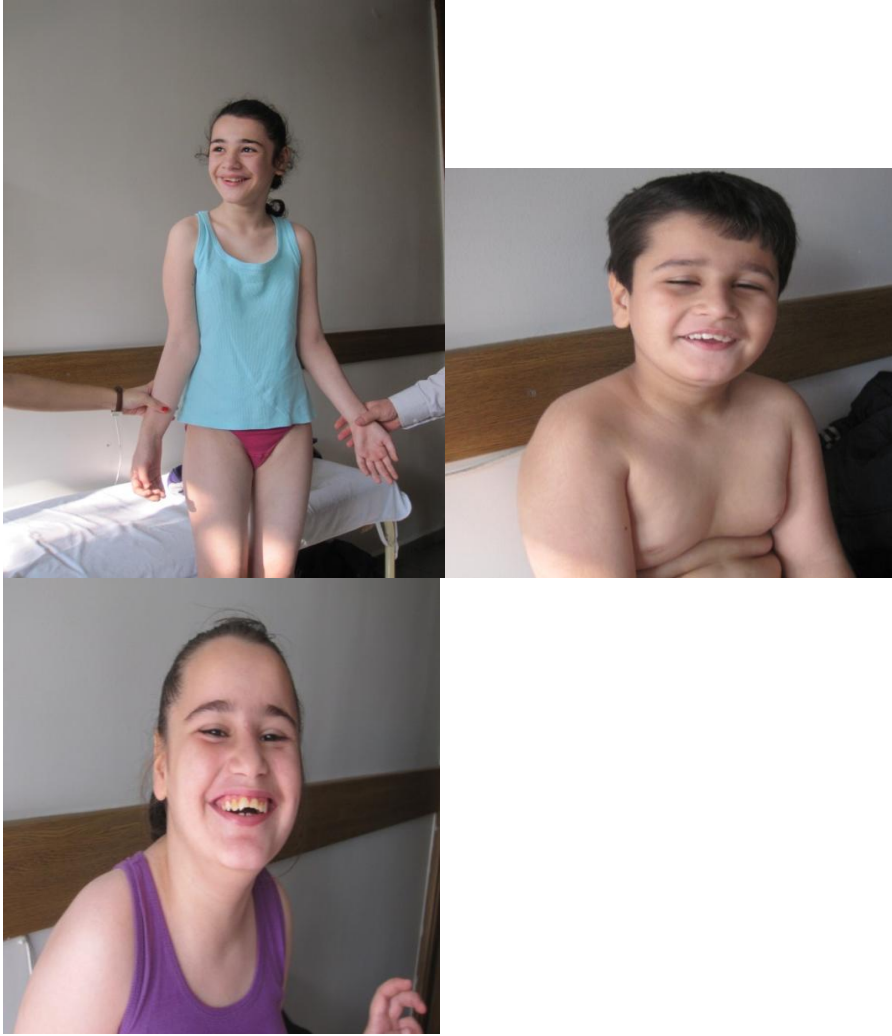
Akraba olmayan aynı köyden anne babanın ayrı yumurta ikiz kızları ve bir oğlu epilepsi ve motor gerilik nedeniyle değerlendirildi. Altı yaş sekiz aylık kız olgunun, miyadında, normal doğumla ikiz eşi olarak 2400 g doğduğu, 10 aylıkken oturduğu ve 1.5 yaşında yürüdüğü bildirildi. Aile üç yaşında mental motor geriliğini fark etmişti. Baş çevresi: 50 cm (2-50p), boy: 124 cm (90-97p), ağırlık: 25 kg (90-97p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obesite, mutlu yüz ifadesi, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, büyük kulaklar, cubitus valgus ve dirseklerde kısıtlılık mevcuttu. İnsülin ve kan şekeri normaldi. Nötropeni yoktu. KrMRG normaldi. 10-15 sözcük söyleyebiliyor ve iki kelimelik kısa cümleler kuruyordu. Göz muayenesinde optik disk hafif soluktu. USG'de dalak minimal büyüktü ve fiziki muayenede karaciğer 3 cm idi. Angelman sendromu için yapılan FISH çalışmasında delesyon negatif ve Rett sendromu için yapılan mutasyon analizi negatif bulundu.

6 yaş 8 aylık kız olgunun, miadında normal doğumla ikiz eşi olarak 2200 g doğduğu, 10 aylıkken oturduğu ve 2 yaşında yürüdüğü bildirildi. Aile üç yaşında mental motor geriliğini fark etmişti. Baş çevresi: 48,5 cm(<2p), boy: 115 cm (25-50p) ve ağırlık: 22 kg (75p) idi. Fizik muayenesinde trunkal obesite, mutlu yüz ifadesi, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak, büyük kulaklar, cubitus valgus ve dirseklerde kısıtlılık mevcuttu. Konuşma gelişiminin ikiz

kardeşine göre daha iyi olduğu gözlemlendi. İnsülin normal, ancak glukoz mg/dL 111 (60-105) bulundu. Nötropeni yoktu. Göz muayenesinde optik disk hafif soluktu. Kromozom analizi 46,XX idi. KrMRG normaldi. İkiz ablalarından sonra dünyaya gelen erkek olgu muayene sırasında 3,5 yaşındaydı. Baş çevresi: 50 cm (25p-50p), boy: 99cm (50-75p) ve ağırlık: 19 kg (97p) ve konuşması yoktu. 8 yaşındaki son muayenesinde kelime dağarcığı 10-15 sözcüktü ve cümle kuramıyordu. Fizik muayenesinde trunkal obesite, mutlu yüz ifadesi, belirgin ön kesiciler, açık ağız, kısa filtrum, maksiller hipoplazi ve dar ve yüksek damak mevcuttu. Her ik el ayakta postaksial polidaktili tespit edildi. İnsülin ve glukoz değerleri normaldi. Nötropeni yoktu. Dalak 4 cm ve yumuşaktı.



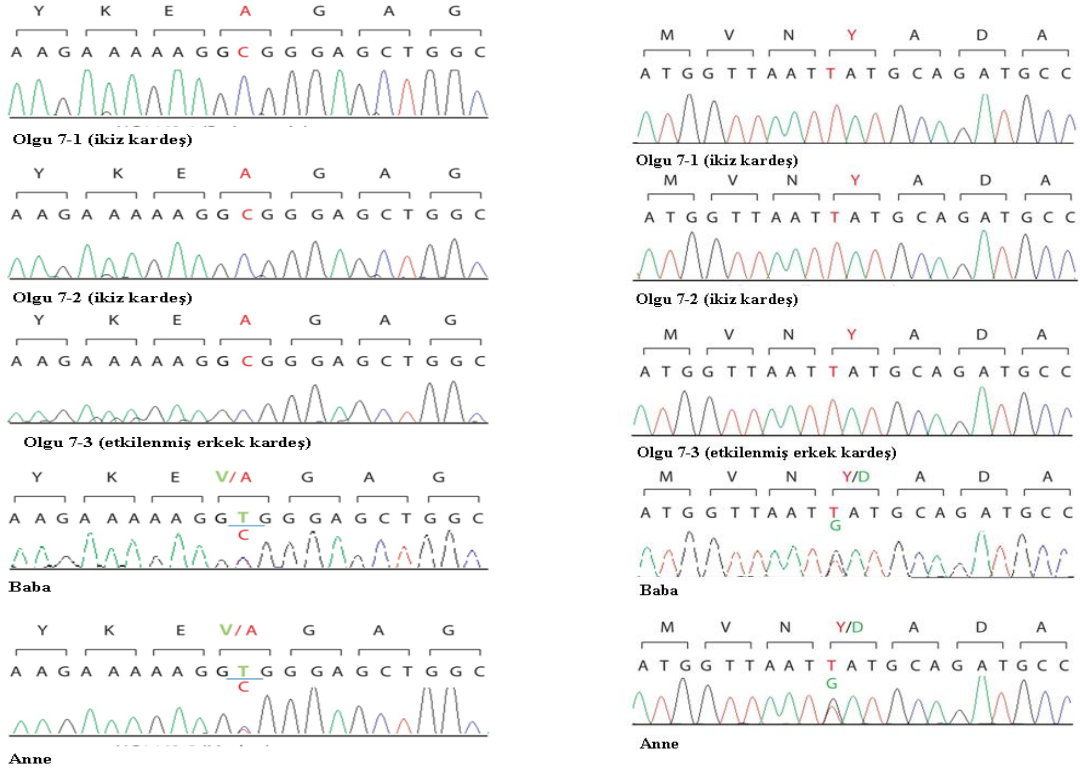
Şekil 4-11: Olgu 7-1/7-2/7-3 için aile ağacı



Resim 4-7: Olgu 7-1/7-2/7-3

Tablo 4-7: Olgu 7-2 için ekzom sekanslama sonucunda bulunan homozigot novel varyantlar

Chr	Position	Base change	Quality S	Cov	Unique reference Allele Coverage	Unique Non-reference Allele Coverage	Gene	PhyloP	Status	AA change	AA position/Length	Konfirmasyon	Segregasyon
chr7	128320754	G>T	8	45	2	34	KCP	1.669	missense	P313Q	870/1749		
chr10	21155455	A>G	255	99	2	50	NEBL	2.911	missense	V599A	192/196	+	+
chr10	115626380	G>T	190	54	0	34	NHLRC2	6.518	missense	D148Y	225/509	+	+
chr16	71379463	G>C	93	23	2	21	ZFH3	2.057	missense	P3405A	1042/0		
chr19	1756897	C>T	96	25	2	23	ATP8B3	3.289	missense	D218N	528/531		



Şekil 4-12: Olgu 7-1/7-2/7-3’de NEBL V599A ve NHLRC3 D148Y missense varyasyonlarını gösteren kromatogram

Varyantlar üç olguda homozigot, anne/babada heterozigot durumdadır heterozigot durumdadır.

Bu hastada daha önceki *COH1* geni taramasında mutasyon bulunmamıştı. Ekzom dizileme sonucunda *COH1*’de homozigot ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Ekzom dizileme sonucunda NHLRC3 ve NEBL genlerindeki yüksek oranda korunmuş bölgelerdeki varyantlar öncelikli olarak değerlendirildi. NHLRC3 için bu pozisyonun QS (190) ve coverage değeri yüksekti (pcr duplicates çıkarıldığında unique reads 34) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu NEBL için bu pozisyonun QS (255) ve coverage değeri yüksekti (pcr duplicates çıkarıldığında unique reads 50) ve tüm okumalar mutant alleli destekliyordu 5000 kontrol kromozumunda bu varyantlar tespit edilmemiştir. Her iki gendeki varyant da sanger dizilemeyle diğer iki etkilenmiş kardeşte de homozigot ve anne, baba da heterozigot durumda. 10q25.3’de lokalize NHLRC2 (NHL repeat containing 2) geninin fonksiyonu hakkında çalışma bulunmamaktadır. 10p12.32’de lokalize Nebulette geni kardiyak kasında fazlaca

eksprese olmaktadır. İdiyopatik dilate kardiyomyopatiye yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Kodladığı protein aktini bağlayarak sarkomer Z disk bütünlüğünün sağlanmasında rol oynamaktadır. Geri kalan genler arasından tez kapsamında çalışılmamıştır. *ZFH3*, çoklu homedomainlerle birlikte zinc finger motiflerini kodlmaktadır ve miyogenik ve nöral farklılaşmada düzenleyici olduğu düşünülmektedir. c-Myb için negative regulator olduğu gösterilmiştir. Çeşitli kanserlerde tumor baskılayıcı olarak fonksiyon gösterdiği ve bazı varyantlarının atriyal fibrilasyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir. *ATP8B3*, tarafından kodlanan protein P-tipi katyon transport ATPaz ailesine ve aminofosfolipid dönüştürücü ATPaz alt ailesine bağlıdır.

Tablo 4-8: Hastaların klinik özellikleri

Hasta	1	2	3	4-1	4-2	5-1	5-2	6-1	6-2	7-1	7-2	7-3
Doğum yeri	Kayseri	Zonguldak	Malatya	Mardin	Mardin	Kars	Kars	Lüleburgaz	Lüleburgaz	Malatya	Malatya	Malatya
Akrabalık	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
Cinsiyet	K	K	K	K	E	K	K	K	K	K	K	E
Muayene Yaşı	8 y, 9 ay	7 y	6y, 6 ay	9y	7y	15y	18,5y	15y	17y	6.5y	6.5y	3,5y
Tipik fasiyel görünüm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mikrosefali	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
Boy kısalığı	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
Trunkal obezite	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+
Yürüme yaşı	1,5 y	1,5	2,5 y	4-5 y sallanarak	4y sallanarak yürüme	1 y	1,5	2	3,5	1,5	2	2y
Konuşma gelişimi	5-10 sözcük	5-6 sözcük	10-15 sözcük	10-15 sözcük	10-15 sözcük	10-15 sözcük 1-2 kısa Cümle	10-15 sözcük -1-2 kısa Cümle	10-15 sözcük	10-15 sözcük	10-15 sözcük - 1-2 kısa Cümle	10-15 sözcük -1-2 kısa Cümle	10-15 sözcük
Myopi (diopres)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigmenter retinopati	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
El/Ayak darlığı	-	+	+	?	+	-	-	+	+	-	-	-
Nötropeni	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Diğer bulgular	Hipermobilite, epilepsi, tapering fingers	simian çizgisi, hipermobilite ve “tapering fingers”, pes excavatum SIK ÜSYE	kifo, skolyoz, osteopeni, sensörinöral işitme kaybı, hipotroidi, hipotoni, , artmış insülin	hipermobilite Pes planus, cubitus valgus, klinodaktili, simian çizgi	hipermobilite pes planus, Sağ inguinal herni, klinodaktili, simian çizgi	hipermobilite, hafif, 5 yaşına kadar epilepsi	hipermobilite, 2,5 yaşına kadar epilepsi, kalpte 3.ses	Hipermobilite, tapering fingers, pes planus, cubitus valgus, sol elde simian çizgi, eko da fizyolojik pulmoner regürjitasyon	hipermobilite, “tapering fingers”, cubitus valgus alt ekstremitede bilateral rijidite, sağ elde ulnar deviasyon, eko dafizyolojik pulmoner regürjitasyon	Dirseklerde kısıtlılık cubitus valgus	Epilepsi, Dirseklerde kısıtlılık, cubitus valgus, KC 1,5-2 cm	Dalak 4 cm orta yumuşak, her iki el ayakta postaksial polidaktili
COH1 Mutasyonu	<i>BICD2</i> 'de <i>L244P</i>	-	<i>VPS13B</i> 'de c.436>T (R146X)	<i>VPS13B</i> 'de c.412+1 G>T	<i>VPS13B</i> 'de c.412+1 G>T	<i>PRKRIP1</i> 'de L139X	<i>PRKRIP1</i> 'de L139X	-	-	<i>NHLRC3</i> D148Y <i>NEBL</i> V599A	<i>NHLRC3</i> D148Y <i>NEBL</i> V599A	<i>NHLRC3</i> D148Y <i>NEBL</i> V599A

Tablo 4-9: Hasta örneklerinin tüm ekzom sekanslama coverage dağılımları, hata oranları, varyant sapatama özgüllük ve duyarlılıkları

Sample	1	2	3	4-1	5-1	6-1	7-2
Sex	F	F	F	F	F	F	F
Lanes used	1	1	1	1	1	1	1
Read length	74	74	74	74	74	74	74
# of reads per lane (M)	78.7	67.8	62.2	64.2	63.3	75.4	56.5
Median coverage (X)	73	66	60	62	59	74	56
Mean coverage (X)	88.7	76.7	72.6	78.3	71.0	88	66.1
% on genome	92.38%	92.31%	92.83%	92.451%	92.78%	92.63%	92.58%
% on target	73.08%	73.48%	75.38%	73.67%	72.53%	75.52%	75.70%
% of bases covered at least 4x	96.42%	96.85%	96.15%	96.34%	96.29%	96.50%	96.10%
% of bases covered at least 8x	94.55%	95.26%	93.90%	94.55%	94.24%	94.65%	93.78%
% of bases covered at least 20x	87.82%	89.00%	85.46%	85.67%	86.18%	88.14%	84.70%
Mean error rate	0.53%	0.46%	0.50%	0.41%	0.35%	0.48%	0.35%
1st reads error rate	0.44%	0.49%	0.49%	0.34%	0.30%	0.47%	0.31%
2nd reads error rate	0.63%	0.42%	0.52%	0.54%	0.39%	0.49%	0.39%
2nd base error rate	0.46%	0.29%	1.01%	0.42%	0.33%	1.00%	0.31%
Last base error rate	1.55%	1.33%	1.65%	1.48%	1.18%	1.43%	1.37%
% of PZR duplicate	4.27%	6.19%	3.51%	5.24%	6.13%	3.65%	4.25%
# of Hom SNVs QS > 60	11549	12579	11977	11615	11570	11721	11463
# of novel Hom SNVs QS > 60	54	79	62	79	54	55	53
# of novel-novel Hom SNVs QS > 60	0	0	0	0	0	0	0
% of novel Hom SNVs QS > 60	0.47%	0.63%	0.52%	0.58%	0.47%	0.47%	0.46%
# of Het SNVs QS > 100	19183	18508	18153	18277	19249	19402	19449
# of novel Het SNVs QS > 100	1368	1252	1367	1254	1336	1356	1446
% of novel Het SNVs QS > 100	7.13%	6.76%	7.53%	7.42%	6.94%	6.99%	7.43%
# of Het SNVs QS > 200	15454	15281	14091	15356	15359	15749	15309
# of novel Het SNVs QS > 200	964	873	909	907	909	922	994
% of novel Het SNVs QS > 200	6.24%	5.71%	6.45%	6.44%	5.92%	5.85%	6.49%

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Cohen sendromu ön tanısı almış Türkiye'nin farklı bölgelerinden 4'i akraba evliliği olan 7 aileden 12 hastada ekzom sekanslama yapılmıştır. 12 hastanın 3'ünde *COHI*'geninde mutasyon saptanmıştır.

Ekzom dizileme sonucunda olgu 3'de *COHI*'de 5. ekzonda stop kodon oluşturan nonsense mutasyon (c.436C>T, R146X) tespit edilmiştir. Anne ve babanın heterozigot taşıyıcı olduğu saptanmıştır. Bu mutasyon ilk defa CS'lu bir hastada El Chehadeh ve ark. (2010) tarafından bildirilmiştir. Bu yayında hastanın klinik bilgilerine yer verilmemiştir. Olgumuzda gelişim geriliği, mental retardasyon trunkal obezite, mikrosefali, boy kısalığı, tipik fasiyel özellikler, olumlu sosyal davranış, pigmenter retinopati, nötropeni, el/ayak darlığı dahil CS'nun tüm önemli bulguları tespit edildi. Kolehmainen kriterlerinden 6 ve üzerini karşılıyordu. Eklem laksitesi yoktu. Kifoz, skolyoz, osteopeni yanı sıra sensörinöral işitme kaybı, hipotiroidi, hipotoni, artmış insülin düzeyi ek bulgular olarak belirlendi. CS'lu hastalarda endokrin anomalileri görülmemekle birlikte önceki yayınlarda iki hasta ailesel olmayan juvenil başlangıçlı insülin bağımlı diabetes mellitus (IDDM, insulin-dependent diabetes mellitus) ve bir hastada büyüme hormonu eksikliği ve hipogonadotropik hipogonadizm ile birlikte kompensatuvar hiperinsülinemi ile insülin direnci bildirilmiştir (Bugiani ve ark., 2008; Seifert ve ark., 2006). Sensörinöral işitme kaybı CS hasta grubunda daha önce tanımlanmamıştır, ancak Megarbane ve ark. (2009) mikrosefali, cutis vericis gyrate, retinis pigmentosa, işitme kaybı ve mental retardasyon (MIM. 605685) olan iki kardeşte *COHI* geninde novel splice site mutasyon tespit etmişlerdir. Araştırmacılar cutis vericis gyrate ve işitme kaybının hastalarındaki başka bir genetik defektten kaynaklanmadığını ve CS'nda nadir bulgulardan olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim hastamızdaki bulgu da bu görüşü desteklemektedir.

COHI geninde mutasyon saptadığımız diğer iki hasta kardeş, olgu 4-1 ve 4-2'de, ekzom dizileme sonucunda *COHI*'de ekzon 3'ün 1bp downstream'inde splice site mutasyon (c.412+1 G>T) tespit edilmiştir. Bu ailede daha önce *COHI* geni taranmış ancak mutasyon bulunamamıştır. Bu mutasyon daha önce CS'lu hastalarda bildirilmemiştir. Yüksek oranda korunmuş bu pozisyondaki mutasyon için yapılan PZR ve ardından sanger dizileme sonucunda diğer hasta kardeşin de aynı mutasyon için homozigot durumda olduğu, anne, baba ve bir sağlıklı kardeşin heterozigot taşıyıcı

olduğu ve diğer iki sağlıklı kardeşin ise iki normal allele sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu hastalarda gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon trunkal obezite, mikrosefali, tipik fasiyel özellikler, olumlu sosyal davranış, pigmenter retinopati, nötropeni, el/ayak darlığı ve eklem laksitesi dahil CS'nun tüm önemli bulguları tespit edildi. Olgular Kolehmainen kriterlerinden 6 ve üzerini karşılıyordu.

Diğer hastalarda ekzom dizileme sonucunda *COHI*'de homozigot, birleşik heterozigot ya da heterozigot mutasyon saptanmamıştır. Ekzom problemlerinin kapsamadığı kanonik kesim bölgeleri tespit edilerek, bu bölgeler için dizayn edilen primerler ile PZR ve sanger dizileme sonucunda *COHI*'de novel varyant tespit edilmemiştir. Bazı aday genler belirlenmiştir. Bu genlerdeki varyantların *COHI* mutasyonu saptanmayan hastalarda hangi farklı bulgulara neden olabileceği değerlendirilmiştir. Aday olarak değerlendirilen genlerdeki varyantlar Yale Üniversitesi ekzom sekanslama veritabanındaki 5000 kontrol kromozumunda, diğer veri tabanlarında bulunmuyordu ve yüksek oranda korunmuştu bölgelerdeydi. Bu varyantların hepsi PZR ve sanger dizilemeyle değerlendirilmiş, tüm etkilenmiş bireylerde homozigot ve anne/babada heterozigot durumda olduğu doğrulanmıştır.

Olgu 1'de gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon, trunkal obezite, mikrosefali, tipik fasiyel bulgular, olumlu sosyal davranış ve eklem laksitesi varken boy kısalığı, pigmenter retinopati ve nötropeni yoktu. Olgu 1 Kolehmainen kriterlerinden 6 ve üzerini karşılıyordu. Ek olarak epilepsi vardı. Diğer hastalardan farklı olarak Kranial MR'da pakigri bulgusu mevcuttu. Bu hastada *BICD2* genindeki missense varyantın aday olabileceği düşünölmüştür. *BICD2* (Bicaudal D 2) geni Ishikawa ve ark. tarafından (1998) 9. kromozomda haritalanmıştır. Hartz (2011) *BICD2* sekansını (GenBank AB014599) genomik sekans (GRCh37) ile karşılaştırarak 9q22.31'de tanımlamışlardır. *BICD2* proteini COP1'den (coat complex coatomer protein I) bağımsız golgi-endoplazmik retikulum transportunu dynein-dynaktin motor kompleksini etkileyerek düzenlemektedir (Matanis ve ark., 2003). Interfaz hücrelerinde çoğunlukla golgi kompleksinde lokalize olmaktadır ve aynı zamanda mikrototübüllerdeki dynaktine bağlanırlar. Golgiden endoplazmik retikuluma membran trafiğinin düzenlenmesinde rol alan Rab6a proteini ile kargo-bağlayıcı kısmı olan C-terminali aracılığıyla trans-golgi ağında ve stoplazmik vesiköller üzerinde etkileşir ve rab6a aracılığıyla golgi membranıyla ilişki kurmaktadır. N-terminali dyenin/dynaktin kompleksine bağlanır ve

dyenin/aktin fonksiyonunu bozar (Teuling ve ark., 2008). Motor nöronlarda Bcd2-N eksprese eden transgenik farelerde motor nöron hücrelerinde akümülyasyona neden olarak dyenin/aktin fonksiyonunu bozduğu anlaşılmıştır. Ayrıca golgi fragmentasyonu, aksonal nöroinflamentlerde şişme ve almış retrograt transporta neden olduğu belirlenmiştir (Teuling ve ark., 2008). Son çalışmalarda *BICD2*'nin mitoz öncesinde nükleer ve sentrozomal yerleşimi etkilediği tespit edilmiştir (Splinter D ve ark., 2010). Ayrıca yeni bir çalışmada BicD'nin Frajil X proteinin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (Bianco A ve ark., 2010). Bu bilgiler ışığında golgiyle ilişkisi açısından *COH1*'e benzerlik göstermesi ve fonksiyonun bozulmasına bağlı patojenik etkileri nedeniyle iyi bir aday olsa da, benzer bulguları olan başka bir hasta da *BCID2* geninde bir farklılık tespit edilemediğinden ve missense bir değişim olduğundan, bir sonuca varmak zordur.

Olgu 5-1/5-2 gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon trunkal obezite, tipik fasiyel bulgular, olumlu sosyal davranış ve eklem laksitesi varken, mikrosefali, boy kısalığı, el/ayak darlığı, PR ve nötropeni yoktu. Olgular Kolehmainen kriterlerinden 6'dan azını karşılıyordu. Epilepsi vardı. Bu olgularda 7q22.1'de lokalize *PRKRIP1* (protein kinase r interacting protein 1) geninde nonsense varyantın olası aday olabileceği düşünülmüştür. Bu genin kodladığı proteinin çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olduğu ve sitokin aracılı biyolojik fonksiyonlarda rol oynadığı düşünülmektedir. Ancak bu genin hastalık patolojileriyle ilişkisi hakkında bir bilgi yoktur.

Olgu 7-1/7-2/7-3'de gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon, tipik fasiyel bulgular, olumlu sosyal davranış ve trunkal obezite varken, pigmenter retinopati, nötropeni, boy kısalığı, mikrosefali, eklem lasitesi, el/ayak darlığı yoktu. Olgular Kolehmainen kriterlerinden 6'dan azını karşılıyordu. Olgu 7/1-7/2-7/3'de *NHLRC3* ve *NEBL* genlerindeki missense varyantların aday olabileceği düşünülmüştür. 10q25.3'de lokalize *NHLRC2* (NHL repeat containg 2) geninin fonksiyonu hakkında çalışma bulunmamaktadır. 10p12.32'de lokalize Nebulette geni kardiyak kasında fazlaca eksprese olmaktadır. İdiyoaptik dilate kardiyomiyopatiye yatkınlığa ilişkilendirilmiştir. Proteini aktini bağlayarak sarkomer Z disk bütünlüğünün sağlanmasında rol oynamaktadır (Arimura ve ark., 2000). Kardiyak defektleri ve kraniofasiyel anomalileri olan iki ayrı aileden hastada nebulette genini de içeren bölgenin delesyona uğradığı tespit edilmiştir Villanueva ve ark., 2002). Bu son genin fonksiyonuyla ilişkili olarak olgularımızın EKO ve kalp muayeneleri normal bulundu.

Olgu 2’de gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon trunkal obezite, mikrosefali, boy kısalığı, olumlu sosyal davranış, tipik fasiyel özellikler, pigmenter retinopati, nötropeni, eklem laksitesi, el/ayak darlığı dahil CS’nun tüm önemli bulguları tespit edildi. Kolehmainen kriterlerinden 6 ve üzerini karşılıyordu. Olgu 6-1/6-2’de gelişim geriliği, konuşma geriliği, mental retardasyon, boy kısalığı, mikrosefali, eklem laksitesi, el/ayak darlığı, tipik fasiyel görünüm varken trunkal obezite, pigmenter retinopati ve nötropeni yoktu. Kardeşlerden birinde olumlu sosyal davranış varken ötekinde agresif davranış paterni gözlemlendi. Bu olgular için ekzom sonucundaki patolojisi bilinen ya da bilinmeyen genlerden genler arasından olası bir aday görülmemiştir.

Beş hasta gelişim geriliği, mikrosefali, tipik fasiyel dismorfizm, obezite ve ekstremitte zayıflığı, eklem laksitesi, miyopi/retinal dejenerasyon, sosyal davranış ve intermittan nötropeni içeren tanı kriterlerinden 6 veya üzerini karşılıyordu. Bunların üçünde COH1’de mutasyon tespit edilebilmiştir. Kriterleri karşılayan ancak mutasyon tespit edilemeyen hastalardan birinde sendromun en önemli ayırıcı göstergelerinden kabul edilen nötropeni ve pigmenter retinopati olması dikkate çekicidir. Diğer ikisinde nötropeni ya da pigmenter retinopati yoktu. Cohen-benzeri grup içerisinde kalan (kriterlerin 6’dan azını karşılayan) diğer hastaların hiçbirinde COH1 mutasyonu bulunamamıştır.

Önceki yayınlarda olgularda mutasyon belirlenememesini klasik parsiyel delesyonlara ya da promotor bölgelerdeki veya henüz tespit edilmemiş alternatif ekzonlardaki nokta mutasyonlarına bağlamışlardır (Katzaki ve ark., 2007; Balikova ve ark., 2010). Heterozigot mutasyon bulunan ya da mutasyon bulunamayan hastaların bazıları genin regülatör bölgesinde mutasyon taşıyabilir ya da gen transkripsiyonunu etkileyen inversiyon veya insersiyonlar olabilir (Kleinjan ve Lettice, 2008). *COH1* geninde’deki delesyon ve duplikasyonlar genellikle benign CNV’ler olarak tanımlanmıştır. Ancak bu varyantların bazıları genleri etkileyebilir ve normal popülasyondaki heterozigot delesyonların taşıyıcı mutasyonlarını temsil edebilir. *COH1* lokusunu etkileyen delesyonların açıklanamayan CS olgularının nedeni olabileceğini öne sürülmüştür. Balikova ve ark. (2010) Parri ve ark. (2010), Rivera-Brugue’s ve ark. (2011) sırasıyla array CGH, MLPA ile yüksek yoğunluklu oligonükleotid array ile *COH1* geninde homozigot ve heterozigot CNV bulmuşlardır. Araştırmacılar nadir

benign CNV'lerin homozigot durumda ya da başka bir mutasyonla birleşik heterozigot durumda otozomal resesif hastalıklara yol açabileceğini belirtmişlerdir.

Olgularımızda ekzom verilerindeki heterozigot varyantlar incelendiğinde COH1 geninde mutasyon tespit edilmediğinden MLPA, array-CGH ya da SNP array ile heterozigot delesyon tanımlanması anlamlı olmayabilir. Ancak homozigot delesyonların taranması için bu yöntemler ileri çalışmalarda Kolehmainen kriterlerini karşılayan hastalarda denenebilir. Ek olarak birden fazla etkilenmiş birey olan ailelerde homozigot haritalama yapılarak yeni varyantlardan hangilerinin ortak homozigot bölgelere karşılık geldiği değerlendirilebilir. Tez kapsamında belirlediğimiz aday genler ileride benzer bulguları olan başka olgularda gösterilirse daha anlamlı olacaktır.

COH1 proteininin golgi kompleksinde yerleşik periferik membran proteini olarak golgi bütünlüğünün sağlanması için gerekli olduğu ve *cis*-Golgi matris proteini ile güçlü biçimde ko-lokalize olduğu gösterilmiştir (Sefiert ve ark., 2011). COH1'den yoksun hücrelerde aşırı Golgi fragmentasyonu ve Golgi bütünlüğünü etkilediği bilinen golgi kökenli RAB6-A pozitif membran tübüllerinin formasyonunun azalması, COH1'in golgi kompleksi dinamiğini ve yapısını değiştirdiğini yansıtmaktadır. COH1'den yoksun HELA hücrelerindeki bulgularla uyumlu olarak CS'lu hastalardan elde edilen fibroblastlarda golgi sisternada fragmentasyon gösterilmiştir. Şimdiye kadar fenotip-genotip korelasyonu ya da hotstop bulunmasa da, nadir görülen missense ve in frame delesyonlarının protein düzeyindeki etkileri ve fonksiyonlarının bilinmesi, patomekanizmanın anlaşılmasına yardımcı olabilir. COH1'in golgi membran trafiğindeki moleküler mekanizması ve beyin gelişimi ve nöronal fonksiyondaki rolü daha ayrıntılı incelenmelidir (Sefiert ve ark., 2011).

İnsanda, maya Vps13 ile N terminal ve C terminal homoloji gösteren 4 protein tanımlanmıştır (COH1, chorein, VPS13C ve VPS13D). Bu proteinlerden COH1 ve choreinin (koreakantositoz) defektleri hastalık yapıcıdır. Koreakantositoz progresif nörodejenerasyon ve kırmızı hücre akantositozi ile karakterize bir hastalıktır (Rubio et al., 1997). Hem CS'nda hem de koreakantositozda hematolojik ve nörolojik septomlar vardır. CS klinik özellikleri, hipopigmentasyon bozuklukları gibi trans-Golgi ağından protein taşınmasındaki defektlerle ilişkili hastalıklarla benzerlik göstermektedir. Ayrıca SSS hastalıklarında hücre içi protein taşınmasının rolünü vurgulayan kanıtlar artmaktadır. Örneğin konjenital mikrosefali ve mental retardasyonla ilişkili

bozukluklara nöronal progenitör hücrelerde protein taşınmasındaki defektler neden olmaktadır (Sheen ve ark, 2004; Bond ve ark., 2003). Ancak, anormal beyin gelişimi açısından bu hastalıklarda patomekanizma CS'ndan farklıdır, çünkü ekspresyon profiline ilişkin RNA *in situ* çalışmalarına göre COH1 protein postmitotik hücrelerde işlev görmektedir (Mochida ve ark., 2004). Sinir sistemi membran trafiğindeki bozulmalara karşı duyarlıdır, nörolojik bulguların baskınlığı sinir sistemindeki membran transport fonksiyonlarının yüksek derecede aktif olduğunu göstermektedir. Sinir hücrelerinde sinaptik vesiküllerin oluşumu ve yenilenmesinde özelleşmiş ve etkin mükrotübül aracılı membran trafiği gerekmektedir (Olkkonen ve Ikonen, 2006). CS'da dahil olduğu vesikül transport hastalıklarında altta yatan patolojilerin ve moleküler mekanizmaların bulunması için klinik fenotiplerin ayrıntılı olarak sınıflandırılması, yeni genlerin belirlenmesi, hayvan modellerinin yanı sıra hastalardan alınan hücre dizilerine ihtiyaç vardır. Bu çabalar etkilenmiş gen ürünün moleküler mekanizmasının anlaşılmasını ve yolaktaki defekti kompanse edecek şekilde manipülasyonunu mümkün kılarak terapötik hedefler oluşturulmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

Alström CH, Hallgren B, Nilsson LB ve ark. (1959). Retinal degeneration combined with obesity, diabetes mellitus and neurogenous deafness: a specific syndrome (not hitherto described) distinct from the Laurence-Moon-Biedl syndrome. A clinical endocrinological and genetic examination based on a large pedigree. *Acta Psychiat Neurol Scand*, 34 (suppl. 129), 1-35.

Arimura T, Nakamura T, Hiroi S, ve ark. (2000). Characterization of the human nebulin gene: a polymorphism in an actin-binding motif is associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy. *Hum. Genet.* 107: 440-451

Atabek ME, Keskin M, Kurtoglu S ve ark. (2004). Cohen syndrome with insulin resistance and seizure. *Pediatr Neurol*, 30:61–3

Balikova I, Lehesjoki AE, de Ravel TJ, Thienpont B, Chandler KE, Clayton-Smith J, ve ark. (2009). Deletions in the VPS13B (COH1) gene as a cause of Cohen syndrome. *Hum Mutat*, 30:E845-54.

Bard F ve Malhotra V (2006). The formation of TGN-to-plasma-membrane transport carriers. *Annu. Rev. Cell. Dev. Bio*, 22, 439-455.

Bardet G. (1920). Sur un syndrome d'obesite infantile avec polydactylie et retinite pigmentaire (contribution a l'etude des formes cliniques de l'obesite hypophysaire). Thesis: Paris, 1920. Note: No. 479.

Bianco A, Dienstbier M, Salter HK, Gatto G, Bullock SL. (2010). Bicaudal-D regulates fragile X mental retardation protein levels, motility, and function during neuronal morphogenesis. *Curr Biol.* 24;20(16):1487-92

Biedl A. (1922). Ein Geschwisterpaar mit adiposo-genitaler Dystrophie. *Dtsch Med Wschr* 48, 1630.

Bond J, Scott S, Hampshire DJ ve ark. (2003). Protein-truncating mutations in ASPM cause variable reduction in brain size. *Am J Hum Genet* 73, 1170-1177.

Bonifacino JS ve Rojas R. (2006). Retrograde transport from endosomes to the trans-Golgi network. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 7, 568-579.

Bugiani M, Gyftodimou Y, Tsimpouka P, Lamantea E, Katzaki E, d'Adamo P ve ark. (2008). Cohen syndrome resulting from a novel large intragenic COH1 deletion segregating in an isolated Greek island population. *Am J Med Genet A*,146A:2221-6.

Chandler KE, Kidd A, Al-Gazali L, Kolehmainen J, Lehesjoki AE, ve ark. (2003). Diagnostic criteria, clinical characteristics, and natural history of Cohen syndrome. *J Med Genet*, 40:233-41.

Charles SJ, Moore AT, Yates JR ve ark. (1990). Alstrom's syndrome: further evidence of autosomal recessive inheritance and endocrinological dysfunction. *J Med Genet*, 27, 590-592.

Choi M, Scholl UI, Ji W, Liu T, Tikhonova IR, Zumb P ve ark. (2009). Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106(45), 19096–19101.

Cohen MM Jr, Hall BD, Smith DW ve ark. (1973). A new syndrome with hypotonia, obesity, mental deficiency, and facial, oral, ocular and limb anomalies. *J Pediatr*, 83:280-4.

Collin GB, Marshall JD, Ikeda A, So WV, Russell-Eggitt I, Maffei P ve ark. (2002). Mutations in ALMS1 cause obesity, type 2 diabetes and neurosensory degeneration in Alstrom syndrome. *Nat Genet*, 31, 74-78.

Coppola G, Federico RR, Epifanio G ve ark. (2003). Focal polymicrogyria, continuous spike-and-wave discharges during slow-wave sleep and Cohen syndrome: a case report. *Brain Dev*, 25:446–449.

El Chehadeh S, Aral B, Gigot N, Thauvin-Robinet C, Donzel A, Delrue MA ve ark. (2010) Search for the best indicators for the presence of a VPS13B gene mutation and confirmation of diagnostic criteria in a series of 34 patients genotyped for suspected Cohen syndrome. *J Med Genet*, 47:549-553.

Falk MJ, Feiler HS, Neilson DE, Maxwell K, Lee JV, Segall SK ve ark. (2004). Cohen syndrome in the Ohio Amish. *Am J Med Genet A*, 128A:23-28.

Grabe HJ, Moller B, Willert C, Spitzer C, Rizos T, Freyberger HJ. (2004). Interhemispheric transfer in alexithymia: a transcallosal inhibition study. *Psychother Psychosom* 73, 117-123.

Gunay-Aygun M, Schwartz S ve ark. (2001). The changing purpose of Prader-Willi syndrome clinical diagnostic criteria and proposed revised criteria. *Pediatrics* 108, E92.

Hearn T, Renforth GL, Spalluto C, Hanley NA, Piper K, Brickwood S ve ark. (2002). Mutation of ALMS1, a large gene with a tandem repeat encoding 47 amino acids, causes Alstrom syndrome. *Nat Genet*, 31, 79-83.

Hennies HC, Rauch A, Seifert W, Schumi C, Moser E, Al-Taji E ve ark. (2004). Allelic heterogeneity in the COH1 gene explains clinical variability in Cohen syndrome. *Am J Hum Genet*, 75:138-145.

Horn D, Krebsova A, Kunze J, ve ark. (2000). Homozygosity mapping in a family with microcephaly, mental retardation, and short stature to a Cohen syndrome region on 8q21.3-8q22.1: redefining a clinical entity. *Am J Med Genet*, 92:285-292.

Katzaki E, Pescucci C, Uliana V, Papa FT, Ariani F ve ark. (2007). Clinical and molecular characterization of Italian patients affected by Cohen syndrome. *J Hum Genet*, 52:1011-1017.

Kivitie-Kallio S ve Norio R (2001). Cohen syndrome: Essential features, natural history, and heterogeneity. *Am J Med Genet*, 102:125-135.

Kivitie-Kallio S, Larsen A, Kajasto K ve ark. (1999). Neurological and psychological findings in patients with Cohen syndrome: a study of 18 patients aged 11 months to 57 years. *Neuropediatrics*, 30, 181-189.

Kivitie-Kallio S, Rajantie J, Juvonen E ve ark. (1997). Granulocytopenia in Cohen syndrome. *Br J Haematol*, 98, 308-311.

Kolehmainen J, Black GC, Saarinen A, Chandler K, Clayton-Smith J, Träskelin AL, ve ark. (2003). Cohen syndrome is caused by mutations in a novel gene, COH1, encoding a transmembrane protein with a presumed role in vesicle-mediated sorting and intracellular protein transport. *Am J Hum Genet*, 72:1359-1369.

Kolehmainen J, Norio R, Kivitie-Kallio S, Tahvanainen E, de la Chapelle A, Lehesjoki AE (1997). Refined mapping of the Cohen syndrome gene by linkage disequilibrium. *Eur J Hum Genet*, 5:206–213

Kolehmainen J, Wilkinson R, Lehesjoki AE, Chandler K, Kivitie-Kallio S, Clayton-Smith J ve ark. (2004). Delineation of Cohen syndrome following a large-scale genotype-phenotype screen. *Am J Hum Genet*, 75:122-127.

Lareau LF, Green RE, Bhatnagar RS ve ark. (2004). The evolving roles of alternative splicing. *Curr Opin Struct Biol*, 14:273-282.

Lewis BP, Green RE, Brenner SE. (2003). Evidence for the widespread coupling of alternative splicing and nonsense-mediated mRNA decay in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100:189 92.

Li B ve Leal SM. (2009). Discovery of rare variants via sequencing: implications for the design of complex trait association studies. *PLoS Genet*, 5:e1000481.

Li H, Ruan J, Durbin R. (2008). Mapping short DNA sequencing reads and calling variants using mapping quality scores. *Genome Res.*, 18, 1851–1858.

Matanis T, Akhmanova A, Wulf P ve ark. (2003). Bicaudal-D regulates COPI-independent Golgi-ER transport by recruiting the dynein-dynactin motor complex. *Nature Cell Bio.* Vol 4 (12):986-92. sayfa

McNiven MA ve Thompson HM. (2006). Vesicle formation at the plasma membrane and trans-Golgi network: the same but different. *Science*, 313, 1591-1594.

Mendez HMM, Paskulin GA, Vallandro C. (1985). The syndrome of retinal pigmentary degeneration, microcephaly, and severe mental retardation (Mirhosseini-Holmes-Walton syndrome): report of two patients. *Am J Med Genet* 22, 223-228.

Mirhosseini SA, Holmes LB, Walton DS. (1972). Syndrome of pigmentary retinal degeneration, cataract, microcephaly, and severe mental retardation. *J Med Genet* 9, 193-196.

Mochida GH, Rajab A, Eyaid W, Lu A, Al-Nouri D, Kosaki K, ve ark. (2004). Broader geographical spectrum of Cohen syndrome due to COH1 mutations. *J Med Genet*, 41:e87.

Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, Bigham AW, Tabor HK, Dent KM ve ark. (2010b). Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet*, 42(1), 30-35.

Ng SB, Turner EH, Robertson PD, Flygare SD, Bigham AW, Lee C ve ark. (2009). Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. *Nature*, 461(7261), 272-276.

Norio R ve Raitta C. (1986). Are the Mirhosseini-Holmes-Walton syndrome and the Cohen syndrome identical? *Am J Med Genet*, 25, 397-398.

Norio R, Raitta C, Lindahl, E. (1984). Further delineation of the Cohen syndrome; report on chorioretinal dystrophy, leukopenia and consanguinity. *Clin Genet*, 25, 1-14.

Vesa M. Olkkonen ve Elina Ikonen. (2006) When intracellular logistics fails – genetic defects in membrane trafficking. *Journal of Cell Science* 119 (24): 5031-45.

Parri, V., Katzaki, E., Uliana, V., Scionti, F., Tita, R., Artuso, R., Longo, I., Prader A, Labhart A, Willi H. (1956). Ein Syndrom von Adipositas, Kleinwuchs, Kryptorchismus und Oligophrenie nach Myotonieartigem Zustand im Neugeborenenalter. *Schweiz Med Wschr*, 86, 1260-1261.

Pueyo R, Maneru C, Junque C, Vendrell P, Pujol J, Mataro M. (2003). Quantitative Signal Intensity Measures on Magnetic Resonance Imaging in Attention-Deficit Hyperactivity Disorder. *Cogn Behav Neurol* 16, 75-81.

Rivera-Brugués N, Albrecht B, Wiczorek D ve ark. (2011). Cohen syndrome diagnosis using whole genome arrays. *J Med Genet*, 48 (2): 136–140.

Rubio JP, Danek A, Stone C ve ark. (1997). Chorea-acanthocytosis: genetic linkage to chromosome 9q21. *Am J Hum Genet* 61, 899-908.

Russell-Eggitt IM, Clayton PT, Coffey R ve ark. (1998). Alstrom syndrome. Report of 22 cases and literature review. *Ophthalmology*, 105, 1274-1280.

S Douzgou ve MB Petersen. (2011). Clinical variability of genetic isolates of Cohen syndrome. *Clin Genet*, 79: 501–506

Sack J ve Friedman E. (1986). The Cohen syndrome in Israel. *Isr J Med Sci*, 22, 766-770.

Seifert W, Holder-Espinasse M, Kuhnisch J, Kahrizi K, Tzschach A, Garshasbi M, ve ark. (2009) Expanded mutational spectrum in Cohen syndrome, tissue expression, and transcript variants of COH1. *Hum Mutat*, 30:E404-20.

Seifert W, Holder-Espinasse M, Spranger S, Hoeltzenbein M, Rossier E, Dollfus H, ve ark. (2006). Mutational spectrum of COH1 and clinical heterogeneity in Cohen syndrome. *J Med Genet*, 43:e22

Sheen VL, Ganesh VS, Topcu M ve ark. (2004). Mutations in ARFGEF2 implicate vesicle trafficking in neural progenitor proliferation and migration in the human cerebral cortex. *Nat Genet* 36, 69-76.

Siepel A, Pollard KS, Haussler D. (2006) New methods for detecting lineage-specific selection. *Proceedings of the 10th International Conference on Research in Computational Molecular Biology (RECOMB 2006)* (Springer, Berlin), pp. 190–205.

Splinter D, Tanenbaum ME, Lindqvist A ve ark. (2010). Bicaudal D2, dynein, and kinesin-1 associate with nuclear pore complexes and regulate centrosome and nuclear positioning during mitotic entry. *PLoS Biol.* Apr 6;8(4):e1000350

Steinlein O, Tariverdian G, Boll HU ve ark. (1991). Tapetoretinal degeneration in brothers with apparent Cohen syndrome: nosology with Mirhosseini-Holmes-Walton syndrome. *Am J Med Genet*, 41, 196-200.

Tahvanainen E, Norio R, Karila E ve ark. (1994). Cohen syndrome gene assigned to the long arm of chromosome 8 by linkage analysis. *Nat Genet*, 7, 201-204.

Teuling V, E van Dis V, Wulf P e ark. (2008). A noandl mouse model with impaired dynein/dynactin function deandlops amyotrophic lateral sclerosis (ALS)-like features in motor neurons and improands lifespan in SOD1-ALS mice. *Hum. Molec. Genet.* 17: 2849-2862

Velayos-Baeza A, Vettori A, Copley RR ve ark. (2004). Analysis of the human VPS13 gene family. *Genomics*, 84, 536-549.

Villanueva M P, Aiyer A R, Muller S. ve ark. (2002). Genetic and comparative mapping of genes dysregulated in mouse hearts lacking the Hand2 transcription factor gene. *Genomics* 80: 593-600

Waite A, Somer M, O'Driscoll M ve ark. (2010) Cerebellar hypoplasia and Cohen syndrome: a confirmed association. *Am J Med Genet A*, 152A (9): 2390–2393.

ETİK KURUL KARARI



Istanbul 1 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
(Sekreteryası: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi)
Uzmanlık Tezi ve Akademik İlaç Dışı Araştırma Başvuru Formu



Dikkat!!!

- Bu formun tamamı (etik kurul sekreteryası tarafından doldurulacağı belirtilen bölümler hariç) başvuru yapan tarafından doldurulduktan sonra hem gerekli yerler imzalanmış olarak hem de CD ile word formatında teslim edilecektir.
- Formda belirtilen belgeler sırası ile başvuru dosyasına eklenmelidir.
- Uzmanlık tezleri ve akademik amaçlı araştırmalardan ücret alınmayacaktır; ancak bunlar başvuru esnasında anabilim dalı başkanlığı veya klinik şefliği tarafından yazılı olarak belgelendirilmiş olmalıdır.

Tanımlayıcı Bilgiler:		
Proje yürütücüsü (Unvan/ Ad)	Prof. Dr. Beyhan Tüysüz	
Kurumu/ Anabilim/ Bilim Dalı	Istanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	
İletişim Bilgileri	Tel	212-4143192
	E-Posta	beyhan@istanbul.edu.tr
Projenin Adı	Nedeni Bilinmeyen Zeka geriliği ve yapısal beyin anomalisi olan hastalarda yeni genlerin araştırılması	
Projenin Danışmanı (varsa)		
Yardımcı araştırmacılar (Unvan/ Ad)	Koordinatör: Prof. Dr. Murat Günel, Dr.Kaya Bilguvar, Master öğr. Burcu Tahtakaya, Master öğrencisi Nuray Kartal, Öğrenci Tanyeri Barak	
Projenin niteliği	İlaç dışı araştırma	
Çalışmanın sponsoru	<input type="checkbox"/> İÜ Araştırma Fonu <input type="checkbox"/> TÜBİTAK <input checked="" type="checkbox"/> Kendi imkanları <input type="checkbox"/> Diğer (sponsorun adını buraya yazınız):	
Sponsor İÜ Araştırma fonu ise:	Fona başvuru tarihi: Fona başvuru numarası: Araştırma fonundan istenen destek miktarı: Araştırma fonu başvurusu sonuçlandı mı? <input type="checkbox"/> Evet <input type="checkbox"/> Hayır	
Ek Bilgiler		

Istanbul 1 No'lu Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı'na,
Yukarıda detaylı bilgileri verilen projeyi onayınızdan sonra yapmayı planlamaktayız. Projenin tarafınızdan etik açıdan değerlendirilmesi/onaylanması için gereğini bilgilerinize arz ederiz.

Proje yürütücüsü	Beyhan Tüysüz	Tarih: 2.12.2009	İmza:
Proje danışmanı	Murat Günel	Tarih: 2.12.2009	İmza:
Yardımcı araştırmacılar	Kaya Bilguvar	Tarih: 2.12.2009	İmza:
	Tanyeri Barak	Tarih: 2.12.2009	İmza:
	Burcu Tahtakaya	Tarih: 2.12.2009	İmza:
	Nuray Kartal	Tarih: 2.12.2009	İmza:
		Tarih:	İmza:

Bu bölüm Kurul Sekreterliği tarafından doldurulacaktır.

Dosya Kabul Tarihi
10.11.2009

Gelen Evrak Numarası

033

Etik Kurul Toplantı Tarihi

22.11.2009

Karar Numarası

C-033

ETİK KURUL

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>	
	HASTA KARTI/GÜNLÜKLERİ	<input type="checkbox"/>	
	ILAN	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>	
DİĞER	<input type="checkbox"/>		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: C-033	Tarih: 12.01.2010
	Prof.Dr.Beyhan Tüysüz'ün sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına ve Kurulumuz kararının başvuru sahibi tarafından Sağlık Bakanlığı'na arzına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik , İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, ve Etik Kurul SOP
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Öner Süzer	

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof.Dr .Öner SÜZER (Başkan)	Farmakoloji	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Özgür KASAPÇOPUR (Başkan Yardımcısı)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. İlkay ALP (Genel Sekreter)	Eczacı	I.Ü. Eczacılık Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hüseyin ÖZ (Üye)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Zerrin YIĞIT (Üye)	Kardiyoloji	I.Ü. Kardiyoloji Enstitüsü	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mehmet Rıza ALTIPARMAK (Üye)	İç Hastalıkları	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Akif TURNA (Üye)	Göğüs Cerrahisi	Süreyyapaşa Göğüs Hst.ve Göğüs Cerrahisi Eğ.ve Araş.Has.	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Soykan ARIKAN (Üye)	Genel Cerrahi	İstanbul EAH	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Ayşem KAYA (Üye)	Biyokimya	I.Ü. Kardiyoloji Enstitüsü	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatma Arın NAMAL (Üye)	Deontoloji	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ertan YURDAKOŞ (Üye)	Fizyoloji	I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Gülsüm Nurhan İNCE (Üye)	Halk Sağlığı	I.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ÖZCAN (Üye)	Hukukçu	I.Ü. Hukuk Fakültesi	E	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	 RAPORLU
Öğretmen Zümrüt GAMLİ (Üye)	Fransızca Öğretmeni	Emekli	K	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

* :Araştırma ile İlişki

** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ece	Soyadı	Gül
Doğ.Yeri	İzmir/Bornova	Doğ.Tar.	22.02.1982
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	55960271724
Email	ortavalide@gmail.com	Tel	05432371207

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.		
Lisans	Ege Üniversitesi/Fen Fakültesi	2004
Lise	İzmir 60. Yıl Anadolu Lisesi	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Medical publishing specialist	CSA Global Publishing	2005-2009
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	80 (2009)	
Almanca	Orta	Orta	Orta	Zertifikat Deutsch	

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office	İyi

Yayımları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

Beyhan Tüysüz, Saliha Yılmaz, Ece Gül, Luis Kolb, Kaya Bilguvar, Olcay Evliyaoğlu, Murat Günel. *Expanding The Clinical Phenotype Of Spondyloepimethaphyseal Dyslasia Pakistani Type Caused By PAPSS2 Deficiency In a Large Turkish Family*. American Journal of Human Genetics. In press 2013.

Nilay Güneş, Sibel, Filiz Basak Cengiz, Duygu Duman, Ece Gül, Mustafa Tekin, Beyhan Tüysüz. (2013) *Branchio-oculo-facial syndrome (BOFS) in a newborn caused by a novel mutation of TFAP2A gene*. (Manuscript submitted for publication).

Beyhan Tüysüz, Kaya Bilguvar, Cengiz Yalçınkaya, Naci Koçer, Okay Çağlayan, Ece Gül, Sinan Çomu, Murat Günel. *Autosomal recessive spastic quadriplegia with severe mental retardation and specific MRI findings caused by homozygous AP4M1 and AP4B1 gene mutation*. (Manuscript submitted for publication).

B Tüysüz, S Yılmaz, K Bilguvar, O Kasapçopur, E Gül, M Günel. Autosomal-recessive primary hypertrophic osteoarthropathy caused by homozygous deletion in *HPGD* gene: Neonatal findings and long-term follow-up. American Society of Human Genetics Annual Meeting, P 252.3132F, November 2012, San Francisco, USA

E. Gül, S. Yılmaz, K. Bilguvar, Ö. Kasapçopur1, M. Günel, B. Tüysüz. Eleven patients with Camptodactyly-Arthropathy syndrome in a kindred Turkish family caused by a novel 1 bp homozygous deletion in PRG4 gene. European Journal of Human Genetics. Volume 20 Suppl. 1 P02.051, June 2012, Nürnberg, Germany

E Gül, A Payas, S Yılmaz, Ahmet Aydın 2, Beyhan Tüysüz. Replacement Therapy In 10 Patients With Mps Type-6. Journal of Inherited Metabolic Disease. Volume 33 Suppl.1 S148.475-P, August 2010, İstanbul, Turkey .