

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



İNTRAUTERİN BAŞLANGIÇLI SENDROMİK BOY KISALIĞI
OLAN ÇOCUKLARDA KLİNİK BULGULARIN İRDELENMESİ
VE 11P15 BÖLGESİNİN METİLASYON ANALİZİ

DR. EMRE ÖZER

(UZMANLIK TEZİ)

**TEZ DANIŞMANI:
PROF. DR. BEYHAN TÜYSÜZ**

İstanbul 2019



**Çalışmamız, T.C. İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nden
29349 proje numarasıyla maddi destek almıştır. (2018)**

TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ahmet ARVAS'a

Eğitimimde ve tez yapımında engin bilgisini, tecrübesini, hoşgörüsünü ve yardımlarını esirgemeyen hocam Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ'e,

Uzmanlık eğitimime ve mesleki bilgime katkılarından dolayı Anabilim Dalımız'ın tüm değerli öğretim üyesi hocalarıma;

Birlikte çalıştığım arkadaşlarıma,

Yardımları için Çocuk Genetik Bilim Dalı çalışanlarına ve Uzm. Dr. Nilay GÜNEŞ'e

Beni yetiştiren, eğiten ve öğreten ailem; ilk öğretmenim anneme, babama ve kız kardeşime,

Destegini esirgemeyen dayım Muammer TERZİOĞLU'na, özlemle andığım dedem Zekeriya ÖZER'e

Özverisi ve desteğinden dolayı sevgili hayat arkadaşım

Nagihan ORHAN ÖZER'e ve oğlumuz

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Emre ÖZER

İstanbul-2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
RESİMLER LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Büyüme	4
2.1.1. Büyümenin Dönemleri	4
2.2. Boy Uzamasını Etkileyen Faktörler	6
2.2.1. Genetik ve Büyüme Faktörlerin Boy Uzamasına Etkisi.....	6
2.2.2. Epigenetik Ve Epigenetik Faktörlerin Büyüme Üzerine Etkileri.....	10
2.2.2.1. Metilasyon	11
2.2.2.2. Histon Modifikasyonları	12
2.2.2.3. Non-coding RNA(ncRNA)	13
2.2.3. Boy Uzamasını Etkileyen Çevresel Faktörler	14
2.3. Boy Kısallığı Tanımı, Ölçümü Ve Değerlendirilmesi	15
2.3.1. Boy Kısallığı Tanımı	15
2.3.2. Boy Kısallığına Yaklaşımda Kullanılan Değerlendirmeler	15
2.3.3. Boy kısallığının etyolojik sınıflandırılması	19
2.3.3.1. Normalin Varyantı Boy Kısallığı	19
2.3.3.2. Patolojik Boy Kısallıkları	20
2.4. İntrauterin Başlangıçlı Sendromik Boy Kısallıkları	29
2.4.1. Silver Russel Sendromu	29
2.4.2. Üç-M Sendromu	33
2.4.3. SHORT Sendromu.....	35

2.4.4.Dubowitz Sendromu	35
2.4.5.Mulibrey Nanism Sendromu	36
2.4.6.Floating Harbor sendromu.....	36
2.4.7.Bloom Sendromu.....	37
2.4.8.Uniparental Dizomi-14 (UPD-14).....	37
2.4.9.Uniparental Dizomi-6 (UPD-6).....	38
2.5. Metilasyon Spesifik-Multiple Ligasyon Prob Amplifikasyonu: (Ms-Mlpa)	
Metodu	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	41
3.1. Gereç	41
3.1.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması	41
3.2. Yöntem.....	42
3.2.1. Klinik Değerlendirme.....	42
3.2.2.a. Periferik kandan DNA izolasyonu:	44
3.2.2.b. MS-MLPA metodu ile Metilasyon analizi:	45
3.2.3. Çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemler:.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1. Demografik verilerin değerlendirilmesi.....	51
4.2. Antropometrik ölçümlerin değerlendirilmesi:.....	51
4.3. Kromozom 11p15 bölgesinin Metilasyon analizi	52
4.4.Klinik Özellikler.....	54
4.4.1.Silver Russell Sendromu	54
4.4.1a.Hastalarının klinik özellikleri incelenmesi:	54
4.4.1b: MS-MLPA sonucuna göre hastaların klinik özellikleri.....	55
4.4.2. 3-M Sendromu.....	55
4.4.2a: Klinik özelliklerinin incelenmesi:.....	55
4.4.2b: OBSL1 ve CUL7 genlerinin mutasyonuna göre klinik bilgilerin incelenmesi.	56
4.4.3. SHORT sendromlu hastaların klinik özelliklerinin incelenmesi:.....	57
4.4.4. Nadir sendromlu hastaların temel klinik özelliklerinin incelenmesi:.....	58
4.4.5. Bilinmeyen Sendromlu hastaların temel klinik özellikleri.....	58
4.4.6. İdiopatik İzole Boy Kısaldığı olan olguların temel klinik özellikleri.....	58
4.5.İntrauterin Boy Kısaldıklarının Ortak Klinik Özellikleri.....	58

4.5.1. Mental durum	58
4.5.2. İnsülin direnci	59
4.5.3. Dislipidemi	59
4.5.4. Hiperkalsiüri	59
4.5.5. Endokrin patoloji	59
5. TARTIŞMA	61
5.1. Hasta grupları ve Epidemiyolojik özellikler	61
5.2. Antropometrik ölçümler	62
5.3. Kromozom 11p15 bölgesinin metilasyon değişikliğinin irdelenmesi	64
5.4. Hasta gruplarına göre klinik özellikler	65
5.4.1. Silver Russell Sendromu	65
5.4.2. Üç-M Sendromu	66
5.4.3. SHORT Sendromunun klinik özelliklerinin irdelenmesi	67
5.4.4. Nadir sendromik	68
5.4.5. Bilinmeyen Sendromlu olguların klinik özelliklerinin irdelenmesi	68
5.5. İntrauterin Başlangıçlı Boy Kısalmaları Olan Olguların Ortak Özelliklerinin İrdelenmesi	68
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	71
7. KAYNAKLAR	73
8. EKLER	86
A. Form-1: HASTA BİLGİ VE TAKİP FORMU	86
B. Form-2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	88

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No:

Tablo 1: Boy uzaması ile ilişkili genlerin sınıflandırılması.....	6
Tablo 2: Non-coding RNA'ların fonksiyonları.	14
Tablo 3: Boy kısalığının sınıflandırılması	19
Tablo 4: Hipotalamus, hipofiz, BH, IGF aksında boy kısalığıyla ilişkili genler.	24
Tablo 5: Sendromik boy kısalıkları	28
Tablo 6: Çalışma grubunda klinik tanı, başvuru yaşı, cinsiyet ve akraba evliliği oranları.....	51
Tablo 7: Hastaların antropometrik ölçümlerinin ortalama SDS değerleri.....	52
Tablo 8: 11p15 bölgesinde MS-MLPA ile yapılan metilasyon analizi sonuçları.....	52
Tablo 9: SRS'li Hastaların 11p15 bölgesinin Hipometile ve Borderline hipometile oluşuna göre grup özelliklerinin incelenmesi	55
Tablo 10: OBSL1 ve CUL7 mutasyonuna göre klinik bilgilerinin incelenmesi	56
Tablo 11: SHORT Sendromlu Olguların Klinik Özellikleri.....	57
Tablo 12: İntrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan hastaların ortak klinikleri.....	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No:

Şekil 1: Büyüme plağında kondrosit çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen faktörler... 7	
Şekil 2: DNA metil transferaz enziminin (DNMT) sitozinden 5'-metilsitozin oluştuğu..... 11	11
Şekil 3: Histon modifikasyon bölgeleri 13	13
Şekil 4: Harpenden Stadiyometresi..... 16	16
Şekil 5: El bileği grafiğinde kemik yaşı değerlendirilmesi. 17	17
Şekil 6: 0-3 yaş Türk Çocuklarının Boy Persantil Eğrileri 18	18
Şekil 7: İGF-2 ve H19 ekspresyonunda metilasyonun görevi 32	32
Şekil 8: 11p15 bölgesinin epigenetik metilasyon kontrol bölgeleri). 33	33
Şekil 9: Büyüme üzerine etkili hormonların <i>CUL-7</i> üzerinde olan düzenleyici etkisi... 34	34
Şekil 10: MS-MLPA yönteminin basamakları. 40	40

RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No:

- Resim 1: 11p15 Bölgesinde Metilasyonu normal olan olgunun MS-MLPA resmi..... 53
- Resim 2: 11p15 Bölgesinde ait verilerin görüntüsü kırmızı çizgi üzerinde ve altında (Hipometilasyonu) 53
- Resim 3: 11p15 Bölgesinde ait verilerin görüntüsü kırmızı çizgiye yakın yer almış. (Borderline bir olgu) 54



KISALTMALAR LİSTESİ

ALS	: Asit Labil Subunit.
BH	: Büyüme hormonu.
BMP	: Bone Morphogenetic Protein; Kemik morfogenetik proteini.
BWS	: Beckwith Wiedemann Sendromu.
CNP	: C tip Natriüretik Peptit.
DNA	: Deoksi-Ribonükleik asit.
DNMT	: DNA Metil Transferaz.
DS	: Down Sendromu
FGF	: Fibroblast Growth Factor; Fibroblast büyüme faktörü.
FGFR	: Fibroblast Growth Factor Receptor; Fibroblast büyüme faktörü reseptörü.
FSH	: Folikül Stimulan Hormon.
GHRH	: Growth Hormone Releasing Hormone; Büyüme hormonu salgılatıcı hormon.
GnRH	: Gonadotropine Releasing Hormone; Gonadotropin salgılatıcı hormon.
GRB10	: Growth Factor Receptor Bound Protein-10.
GWAS	: Genome Wide Association Studies; Genom boyu birliktelik çalışmaları.
ICR	: İmprinting Centre Region; İmprinting merkez bölgesi.
IGF-2	: İnsülin Like Growth Factor-2; İnsülin benzeri büyüme faktörü.
IGF2R	: İnsülin Like Growth Factor-2 Receptor; İnsülin benzeri büyüme faktörü-2 reseptörü.
IGFBP	: İnsülin Like Growth Factor Binding Protein; İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein.
IL-1	: İnterlökin-1.
İUBK	: İntrauterin Boy Kısıklığı
JAK	: Janus kinase signal transducer; Janus kinaz-sinyal iletkeni.
LH	: Luteinizan hormon
lncRNA	: long non-coding RNA , Kodlanmayan uzun RNA.
MAPK	: Mitojen-Aktive edilmiş Protein Kinaz.
miRNA	: Mikro RNA
MOPD-2	: Mikrosefalik Osteodisplastik Primordiyal Dwarfizm Tip 2

MS-MLPA	: Methylation-Specific Multiplex Ligation-dependent Probe; Metilasyona özelleşmiş - Prop bağımlı çoklu ligasyon.
m-UPD	: Maternal-Uniparental Disomi.
NCPR2	: C tip natriüretik peptit (CNP) reseptörü
ncRNA	: Non-coding RNA
OD	: Otozomal Dominant.
OR	: Otozomal Resesif.
PTHrP	: Parathormone Related Peptide; Parathormon ilişkili peptit.
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu.
RNA	: Ribonükleik Asit
SD	: Standart Deviasyon
SGA	: Smal for Gestational Age; Doğum haftasına göre ağırlıkça küçük.
SHOX	: Short Stature Homeobox.
siRNA	: Short Interfering RNA .
SRS	: Silver Russell sendromu.
TET	: Ten-Eleven Translokasyon.
TGF	: Tissue Growth Factor; Doku büyüme faktörü.
TSH	: Tiroid Salgılatıcı Hormon.
VSD	: Ventriküler Septal Defekt.

ÖZET

İntrauterin başlangıçlı sendromik boy kısalığı olan çocuklarda klinik bulguların irdelenmesi ve 11p15 bölgesinin metilasyon analizi

Giriş: Boy uzaması çocukluk çağının önemli bir özelliği olup sağlıklı büyümenin temel göstergesidir. İntrauterin dönemden itibaren genetik ve epigenetik düzenlemelerle kontrol edilmektedir. 11p15 bölgesinin metilasyon değişiklikleri boy uzaması ile ilişkisi iyi tanımlanmış bir epigenetik düzenlenmedir. 11p15 bölgesinin hipometilasyonu Silver Russell Sendromu'nun (SRS) etyolojisinin %60'ını oluşturur. Bazı sendromik kısalıklarda da bu bölgenin hipometilasyonu gösterilmiştir.

Amaç: SRS ve SRS benzer intrauterin başlangıçlı sendromik ve sendromik olmayan hastalarda 11p15 metilasyon düzeyindeki değişikliği araştırmak ve genotip-fenotip ilişkisi kurmaktır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamız kapsamında incelenen intrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan 65 kişilik çalışma grubu; 14 Silver Russell, 14 3-M, 7 SHORT, 1 Floating Harbor, 1 UPD-14, 12 bilinmeyen sendrom ve 16 idiyopatik intrauterin boy kısalığı olarak izlenen olgudan oluşmakta idi. Bu olguların 11p15 bölgesinin metilasyon düzeyi MS-MLPA yöntemiyle analiz edilmişti. Ayrıca olgularda cinsiyet, akraba evliliği, başvuru yaşı, doğum ve başvuru ölçümleri sorgulanmış; fiziki muayene bulguları ve biyokimyasal verileri değerlendirilmişti. Gruplar arasında ortalamaların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi; kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare ve Fisher's Exact Test kullanılmıştı.

Bulgular: Silver Russell Sendromu tanılı 14 olgunun 11p15 bölgesinde hipometilasyon gösterilirken; diğer sendromik 35 olguda ve 16 izole idiyopatik boy kısalıklı olguda 11p15 bölgesinin metilasyon bozukluğu gösterilemedi. SRS tanılı 14 hastanın; 9'unda hipometilasyon, 5'inde 11p15 bölgesinin borderline derecede hipometilasyon vardı. Bu hastaların, 11p15 bölgelerinin metilasyon analiz sonuçları ile klinik özellikleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı. 3-M Sendromu tanılı CUL-7 geninde mutasyonu olan 5 hastanın ve OBSL-1 geninde mutasyonu olan 6 hastanın klinik özellikleri arasında anlamlı farklılık bulunamadı. Çalışma grubundaki tüm olgular arasında %12,3 hiperkalsiüri ve %9,23 insülin direnci saptandı.

Sonuçlar: Literatürde Silver Russell Sendromlu hastaların %60'sında saptanan 11p15 bölgesinde metilasyon bozukluğun hastalarımızın hepsinde saptanması ve SRS dışındaki olgularda 11p15 bölgesinin metilasyon bozukluğu gösterilememesinin nedeninin, hastaların klinik değerlendirilmesi ve tiplendirilmesinin çok iyi yapılması ve/veya hasta sayısının azlığı olarak yorumlandı. Literatürde 11p15 bölgesinde borderline hipometilasyon saptanan hastaların çoğunluğunda tipik Silver Russel sendromu bulgularından ziyade hemihipertrofi gözlenmesinden yola çıkarak araştırmamızın devamı olarak hemihipertrofi ile birlikte boy kısalığı olan hastalarda 11p15 bölgesinin metilasyonunun değerlendirileceği yeni bir çalışma planlandı. İntrauterin büyüme geriliğiyle doğan çocukların çalışma grubumuzda saptanan artmış hiperkalsiüri ve insülin direnci gibi ortak metabolik sorunlar açısından takibi önerildi.

Anahtar Kelimeler: İntrauterin Başlangıçlı Boy Kısalığı Sendromları, Boy Uzaması, 11p15 bölgesi, Metilasyon.

ABSTRACT

Examination of the clinical findings in children with syndromic intrauterine onset short stature and methylation analysis of 11p15 region.

Introduction: Height growth is an important feature of childhood and is the main indicator of healthy development. It is controlled by genetic and epigenetic regulators from intrauterine period. Methylation changes of 11p15 region is a well-defined epigenetic regulator for height growth. Hypomethylation of the 11p15 region is responsible for 60% of Silver Russell Syndrome's (SRS) etiology. Hypomethylation of this region has been shown in some rare syndromes, also.

Aim: The aim of this study is to evaluate the methylation levels of 11p15 region in SRS, SRS-like syndromic and non-syndromic patients and to define the relations between genotype and phenotype.

Materials and Method: 65 intrauterine onset short statured patients examined in our study group consisted of 14 Silver Russell, 14 3-M, 7 SHORT, 1 Floating Harbor, 1 UPD-14, 12 unknown syndrome and 16 idiopathic intrauterine short statured patients.

These patients' methylation levels of 11p15 region was analyzed with MS-MLPA method. In addition, gender, consanguineous, age at admission, measurements at birth and admission were investigated. Physical examination findings and biochemical data were evaluated. Mann-Whitney U test was used for the comparison of the means between the groups; Chi Square and Fisher's Exact Test were used to compare categorical data.

Results: Hypomethylation was observed in 11p15 region of all 14 cases with Silver Russell Syndrome whilst methylation abnormality in 11p15 region could not be shown in 35 cases of other syndromes and 16 cases of isolated idiopathic short stature. Of the 14 patients with SRS; hypomethylation in 11p15 region was found in 9, borderline hypomethylation was found in 5.

No significant difference was found between the methylation analysis of 11p15 regions' results and the clinical features of these patients. Of the patients with 3-M Syndrome, no significant difference was found between the clinical features of 5

patients with mutations in the CUL-7 gene and 6 patients with mutations in the OBSL-1 gene.

Among the patients in our study group hypercalciuria and insulin resistance were 12.3% and 9.23%, respectively.

Conclusion: The cause of high hypomethylation results in our SRS patients was interpreted as good clinical evaluation and typing of patients and/or fewness of the patients.

Due to the reports in the literature, 11p15 regions borderline hypomethylation causes hemihypertrophy rather than Silver Russel syndrome findings; a new study was planned to evaluate the methylation levels of 11p15 region in short statured patients with hemihypertrophy as a continuation of our study .

The follow-up of children born with intrauterine growth retardation was recommended in terms of common metabolic problems like found in our study group such as increased hypercalciuria and insulin resistance.

Key Words: Intrauterine onset Growth Restriction Syndromes, Height Growth, 11p15 region, Methylation

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukluk çağının en önemli özelliği olan büyümenin, ana göstergesi boy uzamasıdır. Boy uzaması intrauterin dönemden başlayarak ergenliğin sonuna kadar devam eden dinamik bir süreçte gerçekleşir. Boy intrauterin, süt çocukluğu, oyun çocukluğu ve ergenlik dönemlerinde; genetik, hormonal ve çevresel pek çok iç ve dış faktörün etkisi altındadır. Çocuğun gerek ebeveynlerinden aldığı genetik özellikler gerekse gametogenez esnasında ortaya çıkan genetik değişimler erişkin boy üzerine etkili faktörlerdir. İntrauterin büyüme; beslenme ve teratojen nedenler gibi çevresel faktörlerden etkilenmesine rağmen, esas olarak hormonlar, genler ve gen ekspresyonunu değiştiren epigenetik faktörler tarafından belirlenir (1). İntrauterin dönemde İGF-2, oyun çocukluğu döneminde büyüme hormonu, ergenlikte ise seks steroidleri büyüme üzerine etkili hormonlardır. Tiroid hormonları büyümenin her aşamasında kemik olgunlaşması üzerine görevlidir. İlk 12 ayda beslenme büyümenin temel belirleyicisidir (2).

Boy kısalığı, çocuğun kemik yaşı ve hedef boy gibi özellikleri gözetilerek ait olduğu toplumda kendi yaş ve cinsiyetinin güncel büyüme eğrilerine göre 3. persantil ya da -2 SDS altında olmasıdır (3). Boy kısalığı şikayetiyle yapılan başvuruların çoğunluğu (%80'i) normalin varyantı boy kısalığı nedeniyledir. Patolojik boy kısalıkları ise başvuruların %20'sini kapsar ve orantısız ve orantılı boy kısalığı olarak 2 ana sınıfa ayrılır. Kemik displazileri, depo hastalıkları ve raşitizm gibi uzun kemiklerin osteogenezini etkileyen hastalıklarda orantısız boy kısalığı görülür. Orantılı boy kısalıkları da intrauterin ve postnatal başlangıçlı olmak üzere iki alt sınıfta değerlendirilir (4). İntrauterin başlangıçlı boy kısalıklarının nedeni intrauterin enfeksiyonlar, maternal hastalıklar, plasental problemler ve sendromlar olabilir. Postnatal başlangıçlı boy kısalıkları; akciğer, böbrek, kalp ve bağırsak gibi organların kronik hastalıklarına ikincil gelişebildiği gibi hormonal nedenlere ve sendromlara ikincil olarak da ortaya çıkar (2). Silver Russel sendromu, 3-M sendromu, SHORT sendromu, Dubowitz sendromu ve Floating Harbor sendromu gibi sendromlarda boy kısalığı intrauterin başlangıçlı iken, Fankoni, Smith Lemli Opitz, Noonan, Rubistein Taybi, Kabuki, Aarskog ve Williams sendromları gibi genetik hastalıklarda boy kısalığı doğumdan sonra başlar (4).

Boy uzaması genetik olarak hipotalamus, hipofiz, Büyüme hormonu ve İGF aksıyla ilişkili genlerin dışında büyüme faktörü olan Fibroblast Growth Faktör (FGF) 'ler, C tip natriüretik peptit (CNP), Transforming growth faktör beta ve Indian Hedhehog (IHH) gibi parakrin faktörler, STAT ve RAS yolağı ve transkripsiyon faktörler gibi intrasellüler mekanizmalar ve ekstrasellüler matrikste yer alan genlerin etkisi ile düzenlenir (5). Örneğin büyüme faktörü sinyal molekülü IRS1 üzerine etkili E3 ubiquitin ligazın bir parçası olan *CUL7* ve *OBSL-1* genleri aynı yollarda birlikte görev almaktadır. Her iki genden birinin mutasyonunda 3M sendromu gelişmektedir. Duplikasyon ve delesyon gibi gen sayısının dağılım değişiklikleri, büyüme baskılayan genlerin sayıca artmasına; büyüme stimüle eden genlerin silinmesine yol açabilerek boy kısalığı nedeni olurlar. Turner sendromunda bir X kromozomunun eksikliğine bağlı *SHOX* geni ekspresyonunun azalması, kromozom anomalilerinde görülen boy kısalıklarına örnektir (6). DNA'nın baz dizilimini değiştirmeden ekspresyonunu düzenleyen epigenetik mekanizmaların bazı intrauterin başlangıçlı boy kısalıklarında yer aldığı gösterilmiştir (7).

Epigenetik mekanizmalar; DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve miRNA ile indüklenen sessizleşme gibi üç ana başlıkta toplanmaktadır. En önemli epigenetik mekanizma DNA metilasyon değişikliği olup, DNA metil transferaz enzimleri tarafından CpG adacıklarındaki veya promotor bölgedeki sitozine metil grupların bağlanması ile genin işlevini değiştirilmesi demektir. DNA metilasyonu gen ifadesinin baskılanmasını sağlamakta, transkripsiyon, kromatin yapısı, X-kromozom inaktivasyonu, genomik "imprinting" in düzenlenmesi ve kromatin kararlılığının korunmasında fonksiyon görmektedir (8).

Gelişim esnasında bazı kritik dönemlerde genlerin ekspresyonlarının düzenlenmesi sağlıklı bir birey gelişimi için önemlidir ve bu faktörlerdeki değişiklikler kalıcı olarak normal büyüme homeostazını bozabilir (9). Bir bireyin normal gelişimi için imprinting genlerin ekspresyonları arasında dengeye ihtiyaç vardır. Imprinting genler arasındaki dengeli ifade bozulduğunda büyüme ile ilgili anormallikler gözlenmektedir (10). En sık görülen ve en iyi bilinen sendromik İUBK olan hastalık, Silver Russel sendromudur (SRS). SRS genetiği çok heterojendir, otozomal dominant ve resesif ve X'e bağımlı kalıtım modeli tarif edilmiştir. Olguların %35-65'inde 11p15 bölgesinde lokalize fetal dönem büyüme faktörü olan insulin-like growth factor II

(*IGF2*) geninde dizilim bozukluğu olmadan metilasyon anomalisi vardır. 11p metilasyon bozukluğu izole İUBK'de de saptanmaktadır (11-15). Ayrıca bir çalışmada 3-M sendromlu dört olguda SRS benzer şekilde cilt kültürlerinde kontrollere göre *IGF2* gen ekspresyonu azalmış bulunmuş ve 11p15 kontrol bölgesinin bozukluğunun boy kısıalığından sorumlu olabileceği sonucu çıkarılmıştır (16). İnterauterin başlangıçlı boy kısıalığı sendromlardan sorumlu olan genlerin önemli bir kısmı büyüme hormonu- IGF yolağındaki genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. Bir alışmada SRS gibi ciddi intrauterin gelişim geriliği ve ağır boy kısıalığı olan sendromlarda (Dubowitz, Malubrey nanizm, 3M, SHORT, Bloom, Floating Harbor gibi) benzer yüz bulgularının olmasının yanı sıra erişkin tip metabolik hastalıklar ve kanserin sık görülmesi nedeniyle, bu hastalıkların ortak patogenezinde fetal dönemdeki epigenetik faktörlerin etkili olabileceği ileri sürülmüştür (17).

Bu çalışmanın amacı:

1-Silver Russel sendromu ve benzer intrauterin başlangıçlı sendromik boy kısıalığı olan 49 hastada ve sendromik olmayan İBBK olan 16 hastada 11p metilasyon düzeyindeki değişikliği araştırmak ve

2- Bu olguların klinik ve biyokimyasal bulgularını ile genetik sonuçlarını karşılaştırarak genotip- fenotip ilişkisi kurmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Büyüme

Büyüme, vücut hücrelerinin sayısal ve hacimsel artışıdır. İntrauterin süreçten erişkinliğe ulaşana kadar geçen süreyi kapsayan bir dönemdir. Gelişme ise organ ve sistemlerin işlevsel olgunlaşmasıdır. Her iki süreç de beslenme, hormonlar, genetik özellikler ve dokulara özgü büyüme faktörleri gibi pek çok etkenin birlikte uyum içinde çalışmasını gerektirmekte olup kronik hastalıklar, ilaç kullanımı ve psikososyal durum gibi iç ve dış değişkenlerden etkilenir. Büyüme; intauterin dönem, 0 ile 2 yaş arası süt çocukluğu dönemi, çocukluk çağı ve ergenlikte farklı değişkenlerin etkisi altındadır (2).

Boy uzaması, intrauterin dönemden itibaren başlayan kıkırdak ve kemik dokularının olgunlaşma ve büyümesi ile oluşur, ergenlikte epifizlerin metafizlerle kaynaşması ile son bulur. Kemik doku, embriyonel paraksiyal mezodermden gelişir. Yassı kemikler intramembranöz ossifikasyonla mezodermden direk osteogenesis ile oluşurken, uzun kemikler mezodermden farklılaşan kondroblastların osteoblastlara dönüşümü ile gerçekleşen endokondral ossifikasyonla gelişir. Mezodermden gelişen epifiz plaklarında bulunan kondrositlerin osteoblasta dönüşüm süreci olarak da tanımlanabilecek kemik uzaması dönemi, pek çok parakrin, otokrin ve endokrin faktörün etkisi altında gerçekleşir (18).

2.1.1.Büyümenin Dönemleri

a. Embryolojik dönem:

Büyümenin ve gelişmenin en hızlı olduğu intrauterin dönemde insülin ve İGF-2 en önemli faktörlerdir. Sağlıklı bir yenidoğanın 50 cm uzunluğunun olması beklenir (19).

Embriyonel dönemde büyümeyi belirleyen faktörler:

- Plasentanın gelişimi, yerleşimi, kendine ait ve bağlı olduğu anneye ait damar yapısı;

- Annenin hastalığı, paritesi, beslenme durumu, günlük aktivitesi, uterus anatomisi ve kullandığı ilaçlar;
- Fetal; insülin, IGF-2 düzeyi, intrauterin enfeksiyon maruziyeti, genetik özelliği.
- Çoklu gebelik;
- Çevresel: Gebelikte teratojen etkenlere ve radyasyon maruziyet, yüksek rakımda ikamet.

b. 0-2 yaş (süt çocukluğu) döneminde büyüme:

Hayatın ilk iki yılında büyümenin esas belirleyicisi beslenmedir. İlk 6 ayda boy uzaması, büyüme hormonundan bağımsızdır ve bu dönemde boyda 16 cm.'lik uzama beklenir. En fazla uzama sadece annesütü alan bebeklerde görülebilir. İlk yıldan sonra büyüme hormonu ve tiroid hormonlarının etkisi belirginleşmeye başlar. 2. yılda boyda 12 cm. uzama beklenir (2,19). 2-4 yaş arasında büyüme hızı daha yavaşlar ve yılda yaklaşık 7-8 cm'ye iner. 4 yaş ile ergenliğin başladığı 10-12 yaşlarına kadar yıllık boy uzaması 5-6 cm'dir. Bu değerlerin altında olması durumunda boy kısalığı veya büyüme geriliği etiolojisinin araştırılması gerekir. Çocuk 1 yaşında yaklaşık olarak doğum boyunun 1,5 katı (75 cm), 4 yaşında 2 katı, 13 yaşında 3 katıdır.

c. Çocukluk döneminde büyüme:

Sağlıklı bir çocukta ergenliğe kadar olan büyümenin esas belirleyicisi büyüme hormonudur. Tiroid hormonu, beslenme, genetik potansiyel ve çevresel faktörlerin etkisindeki prepubertal dönemde yıllık 5-6 cm. uzama beklenir (2,20).

d. Pubertal dönemde büyüme:

Ergenlik döneminde, GnRH'nin siklik salınımıyla artan östrojen ve testosteron pubertede büyümenin ikinci hızlı dönemini gerçekleştirir. Esas olarak seks steroidlerinin kontrolünde olan pubertal dönemde; büyüme hormonu, tiroid hormonu ve beslenme de önemini korur. Östrojen kondrosit proliferasyonunu uyarmasıyla epifiz plağının olgunlaşarak kapanması sağlayan temel hormondur. Ayrıca BH sekresyonunu da artırır. Ortalama 2.5-3 yıl süren zirve büyüme hızının olduğu pubertal dönemde

yıllık 9-10 cm uzama beklenir. Puberte sonunda potansiyel boyun %99'una ulaşılır (2,3).

2.2.Boy Uzamasını Etkileyen Faktörler

Boy, beslenme ve teratojen nedenler gibi çevresel faktörlerden etkilenmesine rağmen, esas olarak cinsiyet, yaş, genler ve gen ekspresyonunu idare eden epigenetik faktörler tarafından belirlenir.

2.2.1.Genetik ve Büyüme Faktörlerin Boy Uzamasına Etkisi

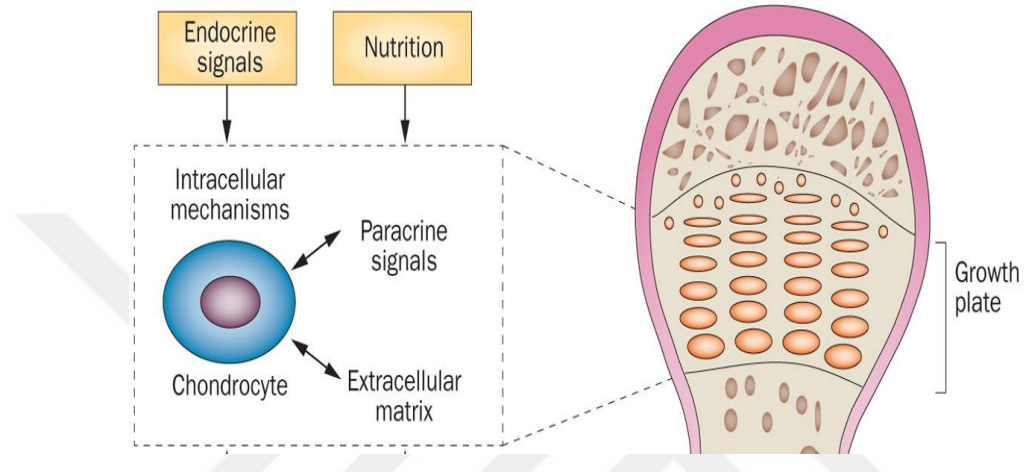
Boy, tipik poligenik-multifaktöryel (kompleks) kalıtım modeli gösterir, kalıtsallığı oldukça yüksektir. Monozigot ikiz çalışmalarında genetik uyum %80 olarak saptanmıştır. Kompleks hastalıkların genetik nedenlerini aydınlatmaya yönelik GWAS (genom boyu birliktelik) çalışmaları ile saptanan yaklaşık 423 lokustaki 697 varyasyondan 83'ü kalıtsallığın %20 sini açıklayabilmektedir (21).

Boy uzaması üzerine etkili genler Tablo-1'deki gibi sınıflandırılabilir.

Tablo 1: Boy uzaması ile ilişkili genlerin sınıflandırılması

I. Growth hormon/insulin-like growth faktörler aksı
II.Parakrin faktörler:
FGF 'ler,
C tip natriüretik peptit (CNP)-
ve reseptörü (NCPR2),
Transforming growth faktör beta,
Bone morfolojik protein (BMP),
WNT,
Parathormon ilişkili protein (PTHrP),
Indian Hedhehog (IHH)
III.İntrasellüler mekanizmalar:
Transkripsiyon faktörleri,
Ras-MAPK yolağı
IV.Ekstrasellüler matriks proteinleri
COL2,9,10,11,.....

Epifiz plaklarındaki kondroblastların gelişimi; yeterli besinsel ihtiyacın karşılanmasına, fiziksel uyarılara (mekanik kompresyon ve radyasyon gibi), endokrin sistemin sağlıklı çalışmasına (Büyüme hormonu, Tiroid hormonları, Östrojen ve glukokortikoidler), parakrin-otokrin peptitlerin (FGFR, BMP ve PTHrP gibi) fonksiyonlarına, sitokinlerin (IL-1beta ve IL-6 gibi) varlığına ve osteoblastların oluşturduğu kemik matriksin kalitesine bağlıdır (Şekil-1) (5).



Şekil 1: Büyüme plağında kondrosit çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyen faktörler (5).

Büyüme hormonu hücrelerin bölünmesi ve olgunlaşması üzerinde etkiye sahip olsa da hücrelerin homeostazisi ve bulunduğu organdaki hücrelerarası denge ve iş birliği; daha geniş kompleks moleküler mekanizmalar üzerine inşa edilmiştir. Bu moleküler mekanizmanın elemanlarının her biri, bir veya birden fazla gen bölgesinin ürünü olabildiği gibi aynı gen bölgesi, birden fazla molekülün çalışmasını düzenleyen ürünler ekspres edebilir.

Östrojen boy uzamasını hızlandırdığı gibi büyüme plağının olgunlaşmasını da hızlandırır. Östrojen reseptörüne ait gen mutasyonları ve aromataz enzim kusurlarında büyüme plağının olgunlaşması gecikir ve bu durum erişkin boyunun tahmin edilenden daha uzun olmasına neden olur. Enflamatuar sitokinler olan IL-1beta ve IL-6 sinerjik etkiyle büyüme plağının uzamasını baskırlar. Fiziksel egzersizle yapılan mekanik kompresyon ve 10 Gy dozdan düşük iyonizan radyasyonu büyüme plağının uzamasını indükler (5,22).

Epifiz plağında bulunan kondrositlerden ve çevresindeki dokulardan salınan parakrin faktörler sağlıklı bir epifiz plağı için gereklidirler. Çok sayıda tanımlanmış FGF, Bone morfolojik proteinler (BMP), PTHrP, Wnt, C-tipi Atrial natriüretik peptit, Atrial natriüretik peptit reseptörü (NPR2) başta gelen parakrin faktörlerdir. FGFR3 kondrogenesis üzerine negatif etkilere sahiptir. FGFR3 ekspresyonunu arttıran mutasyonlar Akondroplazi ve Hipokondroplazi nedeni olarak boy kısalığına neden olur. FGFR3 üzerinden gerçekleşen FGF uyarısı hücre içinde MAPK ve JAK-STAT yollarını çalıştırır ve proliferatif zonun çalışmasını düzenler. Ayrıca IHH, CNP ve BMP sinyalizasyonu gibi diğer parakrin mekanizmalarla etkileşir (5,6).

PTHrP ve IHH büyüme plağı üzerine önemli etkileri olan parakrin faktörlerdir. Kondrositlerin çoğalmasını ve hipertrofiye uğramasını baskılayarak iskelet displazisine neden olurlar. *CNP* ve *NPR2* gen mutasyonları Maroteaux kemik displazisine neden olur. İdiopatik boy kısalıklı çocuklarda %2 oranında *NPR2* gen mutasyonu gösterilmiştir. Büyüme ve farklılaşma faktörleri olarak da bilinen BMP'ler TGF-beta ailesindedir. Büyüme plağı üzerinde düzenleyici etkileri vardır. Mutasyonlarında Brakidaktili tip A1-1-c gibi kemik displazileri görülmektedir. Artmış TGF beta'nın Marfan Sendromu kliniğine etkisi bulunmaktadır. Kondrositler çevrelerinde özel bir matriks yapısı oluştururlar. Epifiz plağının sağlıklı çalışması için gerekli bu matriksin içerisinde özel kollajenler, proteoglikanlar ve non-kollajen proteinler bulunur. Dayanıklı ve esnek bir gelişme yatağı oluşturmasının yanında matriks sinyal molekülleri ile etkileşerek kondrogenesiste görev alır. İçerisinde bulunan kollajenlerin mutasyonları boy kısalığına neden olur. GFG, IHH, BMP ve TGF-beta sinyallerinin matriks aggrecan, biglycan ve decorin proteinleri üzerine düzenleyici etkisi vardır (5,6).

Hücre içi sinyalizasyon yolları boy uzaması ve epifiz plağının gelişiminde önemli role sahiptir. Kondrosit maturasyonunu düzenleyen *SOX9* gen mutasyonunda görülen kamplomelik displazi ve Alazami sendromu hücre içi sinyalizasyon ve transkripsiyon faktör bozukluğuna örneklerdir (5,6,23).

Boy kısalığı ile ilişkili en çok bilinen iki gen *SHOX* ve *FGFR3* genleridir. Bu iki gendeki mutasyonlar boy kısalığı yapan ve en sık görülen iki genetik hastalığa; sıra ile Turner sendromu ve Akondroplazi'ye neden olur. *SHOX* geni X ve Y kromozomları üzerindeki pseudöotozomal (Xpter-p22.3, Ypter-p11.2) bölgede bulunur. *SHOX* geni büyümeyi düzenleyen bir homeobox gendir ve encondral kemikleşmede önemli rolü

vardır. Gen dozajı ile boy uzunluğu arasında ilişki vardır; Turner sendromunda olduğu gibi genin tek kopya olduğu durumda (haploinsufficiency) boy kısalığı görülürken, genin 3 kopya olduğu sex kromozom trizomilerinde ise boy uzundur. *SHOX* geninin heterozigot delesyonu Turner sendromu ve Leri Weill sendromuna neden olurken homozigot delesyonu Langer sendromuna yol açar. İdiopatik boy kısalığı olan olguların %2-15 in de *SHOX* gen mutasyonu vardır. Büyüme plağında eksprese edilen *SHOX* bir transkripsiyon faktörüdür. Ras-MAPK hücre çoğalması üzerine etkili bir diğer sinyal yolağıdır. Ras-MAPK yolağı; FGF, epidermal büyüme faktörü ve CNP gibi pek çok büyüme faktörünün sinyalinin taşınmasında görev alır. Bir RASopati olan Noonan sendromu bu yolağın artmış aktivasyonu sonucu gelişir (5,6,22,23).

İntrauterin dönemde büyüme, hücrelerin olgunlaşım mitozu sonucunda gerçekleşir. İntrauterin başlangıçlı boy kısalıklarının anlaşılmasında hücrenin mitozu giriş ve mitozu tamamlama mekanizmalarının anlaşılması önemli yer tutar. Transkripsiyon regülasyonunun bozukluğu, anormal DNA tamir yanıtı, yetersiz mikrotübül ve sentrozom gelişimi, azalmış İGF-1 ve 2 ekspresyonu ve bozuk spliceosom fonksiyonu gibi çeşitli moleküler mekanizmalar boy kısalığına intrauterin dönemde neden olabilir.

Hücrenin ana fonksiyonlarında rol alan proteinleri kodlayan genlerin bozukluklarında intrauterin dönemde başlayan cücelik gelişir. Boy kısalığına diğer sistemlerin etkilenmesi eşlik eder. 3M Sendromunda görülen *CUL7*, *OBSL-1* ve *CCDC8* genlerindeki mutasyonlarda mikrotübül devamlılığında bozulmaya neden olur. Seckel sendromunda görülen sentrozomal protein mutasyonu ve MOPD-2'de görülen pericentrin mutasyonları bu mutasyonlara birer örnektir. Hücrelerin epigenetik düzenlemelerinde görevli genlerin mutasyonları da boy uzunluğuna neden olabilir. DNA metiltransferaz 3A mutasyonu uzun boy ve zeka geriliğine neden olur (5,6,22,23).

DNA baz yapısının dizilimsel bozukluklarının boy kısalığıyla ilişkisi iyi tanımlanmakla birlikte epigenetik mekanizmaların da boy uzaması üzerine düzenleyici etkileri bulunmaktadır. Metilasyon, epigenetik mekanizmalar içinde gen ekspresyon sayısını etkileyen en önemli faktördür. İdiopatik boy kısalığı olan çocuklarda normal boylu çocuklara göre; İGF-1 transkripsiyonunu düzenleyici P2 bölgesinin daha fazla metile olduğu gösterilmiştir (24-26).

SGA doğan bebeklerde IGF2R DMR2 ve GRB10 gen bölgelerinde hipometilasyon ve NDN bölgesinde de hipermetilasyon gösterilmiştir (27). Ayrıca 7.kromozomda 7q32 bölgesinde bulunan PEG1/MEST geninin hipometilasyonun Silver Russel kliniğine yol açtığı bildirilmiştir (28). Fetal büyüme ve büyüme faktörleri üzerine sırasıyla etkili 6. kromozomda bulunan *ZAC1* geni ve 14. Kromozomda bulunan *DLK1/GTL2* lokusları epigenetik mekanizmalarla regüle edilirler (9). *COL10A1* geni promoter bölgesinin 2 tane demetilasyonla regüle edilen bölgesi vardır. miR-199 ‘un da kondrogenezisi regüle etmektedir (22).

2.2.2.Epigenetik Ve Epigenetik Faktörlerin Büyüme Üzerine Etkileri

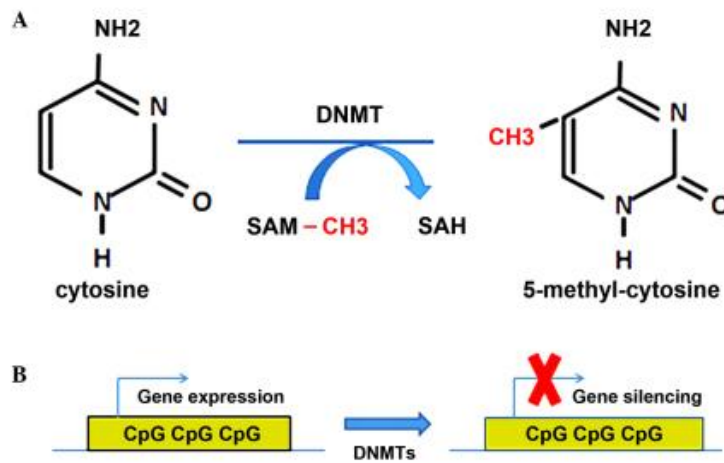
Çevresel faktörlerin, farklı coğrafyalarda yaşayan popülasyonlar arasındaki boy farklılıklarına ve nesiller ilerledikçe ortalama boydaki artışlara katkıda bulunduğu açıktır. Sağlıklı bir birey gelişimi için intrauterin gelişim esnasında bazı kritik dönemlerde genlerin ekspresyonlarının düzenlenmesi ve imprinting genlerin ekspresyonları arasında dengeye ihtiyaç vardır. Bu denge bozulduğunda normal büyüme hemostazını bozabilir, büyüme ile ilgili anormallikler gözlenebilir.

Epigenetik, DNA’nın gen dizilim yapısı değişmeden gen ekspresyonlarında gerçekleşen farklılıkları inceleyen çalışma alanıdır (29). Epigenetik değişiklikler sürekli ve doğal olarak insan vücudunda devam etmekte olduğu gibi yaş, çevresel etkenler, hastalıklar ve yaşam tarzından da etkilenmektedir. Epigenetik düzenlemeler morula hücrelerinin olgunlaşarak; nöron, pankreas ekzokrin hücreleri ve enterosit gibi son haline ulaşmasına imkan verebileceği gibi kanser gibi hastalıkları gelişimiyle de ilişkili olabilir (30).

Epigenetik değişiklikler, büyüme ile ilgili gen bölgelerinin transkripsiyonu gen dizilimini bozmadan değiştirerek büyümeye etki ederler. Fetüste metilasyon düzenlemelerin gebeliğin seyrine göre şekillendiği bilinmektedir. Gestasyonel diabet, preeklampsi ve plasental yetmezlik gibi nedenlere bağlı SGA doğan bebeklerin DNA fonksiyonları düzenlenmesinde epigenetik metilasyon mekanizmaları rol alır. İzlemede gözlenen dislipidemi, obezite ve metabolik sendromun intrauterin dönemde gelişen stresle ilişkili metilasyon düzenlemeleri ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (31). Epigenetik düzenlemeler bilinen en az 3 yolla yapılmakta ve sürdürülmektedir.

2.2.2.1. Metilasyon

Epigenetik mekanizmalar içinde en önemlisi ve üzerine en çok çalışılanıdır. DNA metilasyonu, DNA'ya ek metil (CH₃) gruplarının eklendiği epigenetik bir düzenlemedir (32). Bu düzenlemeyle DNA'nın baz yapısı değişmeden gen ekspresyonları ve görevleri değişir. Metilasyonun gen regülasyonu üzerine etkili olabileceği 1975'te Holiday tarafınca belirtilmiştir (33). X-kromozomunun inaktivasyonu ve imprinting bu düzenlemelere örnektir. En karakterize tipi sitozinin 5. karbonuna kovalent bağla metil grubu eklenerek 5-metilsitozin (5-mC) oluşumudur. Genlerin promoter bölgelerine yakın sitozin-guanin kümelenmeleri metilasyon ve demetilasyonun en yoğun görülerek gen ekspresyonunu düzenlendiği alanlardır. Metil grubunun eklenmesiyle o bölgede DNA transkripsiyonu baskılanır (34).



Şekil 2: DNA metil transferaz enziminin (DNMT) sitozinden 5'-metilsitozin oluşması (34).

Metil gruplarının eklenmesi ve devamlılığı; DNA metil transferaz enzim (DNMT) ailesi tarafınca düzenlenir. Metil grubunun çıkarılmasıyla da gen ekspresyonu hızlanır. Metil gruplarının demetilasyonu pasif olarak veya Ten-Eleven Translokasyon (TET) enzim ailesi tarafından düzenlenir (35,36).

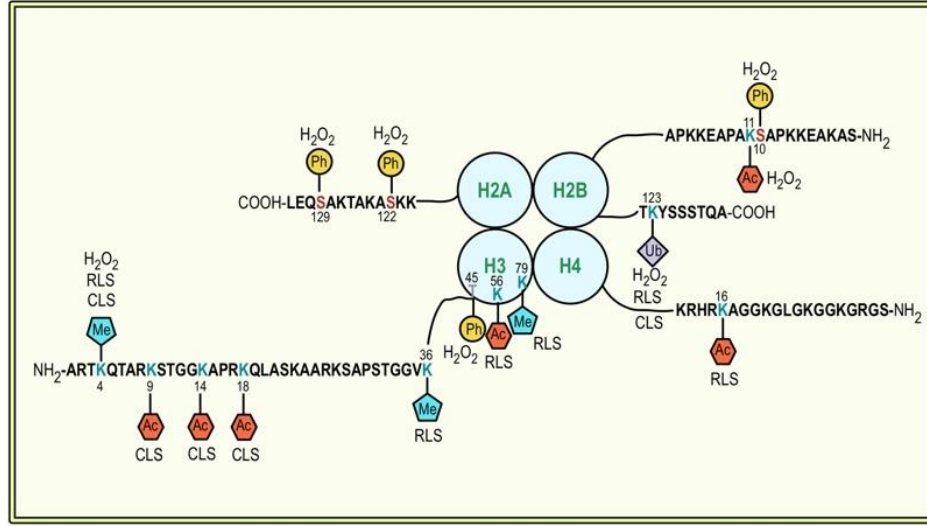
İGF-2 ekspresyonunun metilasyonla regüle edilmesi boy kısalığı ilişkisi en çok bildirilmiş epigenetik mekanizmadır. Silver Russell Sendromunda 11p15 bölgesinin hipometilasyonu İGF-2 ekspresyonunun da azalmaya neden olur. 11p15.5 bölgesinin hipo

ve hipermetilasyon düzenlemeleri o bölgedeki büyümeyle ilgili genlerin ekspresyonunu düzenler (37).

Metilasyonda görev aldığı düşünülen diğer bir molekül de metilsitozinin hidrosillenmesi ile oluşan 5-hidroksi-metilsitozindir. DNMT ve TET enzim ailelerince düzenlenen bu molekülün de kanser gelişimi ile ilgili etkileri olabileceği düşünülmektedir (38).

2.2.2.2.Histon Modifikasyonları

Histon modifikasyonu, DNA'nın posttranslasyonel kovalent bağlarla histon proteinlerine bağlanmasıdır. Metilasyon, asetilizasyon, fosforilasyon, ubiquitilasyon ve sumoliyasyon reaksiyonlarını içerir (39,40). Histonlarla yapılan post-translasyonel düzenlemeler kromatinin yapısını değiştirerek gen ekspresyonunu değiştirebilir. Histonlara bağlanma düzenine göre transkripsiyon aktivasyonu veya inaktivasyonu ve DNA tamir mekanizmalarında değişiklikler gelişebilir (29). Histonların tanımlanabilmiş 20 Histon asetiltransferaz ile asetillenmesi; DNA replikasyonu, DNA tamiri, Apoptosis, gen sessizleştirilmesi ve hücre siklusu gibi moleküler yollar üzerine etkilidir (41). Histonların deasetilizasyonu, Histon deasetilazlar tarafından Lizin kısımlarından hidrolitik ayrılması ile gerçekleşir. Histon asetilizasyon ve deasetilizasyonu kanser gelişimi ile ilişkilidir (42). Histon metilasyonu, histonda bulunan lizin ve arginin kalıntıları üzerine 1 ila 3 metil grubunun transferidir. Transfer, S-adenozil-L-metioninden histonmetiltransferaz enzimininle gerçekleşir. Histon metilasyonu sonucunda bazı gen bölgeleri sessizleşebilir ve/veya aktive olabilir (43). EZH2 enzimi histonlar üzerindeki lizinleri metile ederek transkripsiyonu baskılar. Bu enzimin mutasyonu sonucunda makrozomi ile karakterize Weaver sendromu görülür. Kromatin remodeling, kromatinin transkripsiyon öncesinde paketlenmiş halinden transkripsiyon için açılarak faktörlerin bağlanabilmesine olanak verecek şekli almasıdır. Kromatin remodelingi asetilizasyon/deasetilizasyon ve metilasyon/demetilasyon etkileyerek transkripsiyonu düzenler (44).



Şekil 3: Histon modifikasyon bölgeleri. (<http://microbialcell.com/figure-1-histone-modifications-in-yeast-cell-death/>)

2.2.2.3. Non-coding RNA (ncRNA)

DNA'dan transkripte oldukları halde protein sentezletmeyen ancak fonksiyonel olan RNA molekülleridirler. Epigenetik ncRNA'lar microRNA(miRNA), short interfering RNA (siRNA), piwi RNA(piRNA) ve long non-coding RNA (lncRNA)'ları içerir (45). Genel olarak ncRNA'lar gen ekspresyonunu transkripsiyonel ve posttranskripsiyonel seviyede regüle ederler. Kromatinin şekillenmesinde, histon modifikasyonlarında, DNA metilasyonu ve genlerin susturulmasında görev alırlar.

miRNA'ların tüm genlerin 1/3'ünü regüle ettikleri düşünülmektedir. Tanımlanmış 2000 üzerinde microRNA vardır (46). miRNA'lar çeşitli organizmalarda hücre çoğalması, hücre farklılaşması, apoptozis, tümörögenesis ve sirkadiyen ritim gibi görevlerde rol alır. Mevcut genlerin tahmini %1'lik kısmını oluşturur (47). Mir-99'un bmp üzerinden kondrogenezisi regüle edici, Mir-140'ın boy kısalığı ve mir-145'in SOX-9 geni üzerinden boy kısalığı ilişkileri tanımlanmıştır (22). miR-21, mir-34 ve miR-17-92 artışının onkogenezle (48), pankreas adacık hücrelerinde yüksek oranda olan miR-375'in glukoz metabolizmasıyla (49,50). Ve miR-122'nin HCV enfeksiyonlarında viral replikasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (51). miRNA düzeyinin tanısal kullanımı güncel araştırma konularındandır. siRNA'lar da miRNA'lara benzer şekilde post-

transkripsiyonel gen susturulması ve kromatin düzenlenmesi yollarında düzenlemeler yapar (52).

Long ncRNA'lar da transkripsiyonel ve post-transkripsiyonel regülasyonda ve kromatin düzenlemelerinde görev alır. Ayrıca siRNA'lara prekürsörde olurlar (45).

Tablo 2: Non-coding RNA'ların fonksiyonları (45).

Type	Long name	Length (nt)	Characteristics	Function
miRNA	Micro RNA	20–24	Pri-miRNA produced in the nucleus as capped and polyadenylated ssRNA with a imperfectly paired stem-loop structure Processing by Drosha and Dicer lead to a production of mature dsRNA with exact ends	Perfect complementarity: Ago2-mediated cleavage of mRNA Non-perfect complementarity: Suppression of translation or mRNA degradation (deadenylation, decapping, and exonucleocytic degradation)
piRNA	PIWI-interacting RNA	24–31	Effector phase occurs primarily in the cytoplasm mediated by Ago proteins Precursor ssRNA, which is modified to contain 3'-terminal 2'-O-methyl Strong preference for uridine at the 5' end	Minor functions in transcriptional silencing and translational activation Silencing of transposable elements in the germline
siRNA	Small interfering RNA	20–24	Canonical form long, linear, perfectly base-paired dsRNA Processed by Dicer into mature siRNA with heterogenous end composition Effector functions occur primarily in the cytoplasm supported by Ago proteins	Perfect match: endonucleocytic cleavage Non-perfect match or endonuclease-inactive RISC: translational repression or exonucleocytic degradation Induction of heterochromatin formation Silencing of the same locus from which they are derived
PAR (*PASR, TSSa-RNA, tiRNA, PROMPT)	Promoter-associated RNA	16–200	Weakly expressed ssRNAs Short half-life Bidirectional expression reflecting PolII distribution	Partly unknown but indications of transcriptional regulation (example interaction with Polycomb group of proteins)
eRNA	Enhancer RNA	100–9000	ssRNA produced bidirectionally from enhancer regions enriched for H3K4me1, PolII and coactivators such as p300 Short half-life Evolutionarily conserved sequences Dynamically regulated upon signalling Expression correlates positively with nearby mRNA expression	Mostly unknown but plays a role in transcriptional gene activation
lncRNA	Long non-coding RNA	>200	Precursor ssRNA Many lncRNAs are subject to splicing, polyadenylation, and other post-transcriptional modifications Mostly nuclear RNAs but a subset also located in the cytoplasm Not evolutionary conserved with the exception of large intergenic ncRNAs, lincRNAs (H3K4me3-H3K36me3 signature)	Chromatin remodelling Transcriptional regulation Post-transcriptional regulation (splicing, TF localization) Precursors for siRNAs Component of nuclear organelles (paraspeckles, nuclear speckles)

2.2.3. Boy Uzamasını Etkileyen Çevresel Faktörler

Ebeveynlerin boyu, ait olunan topluluk, cinsiyet, beslenme alışkanlıkları, hayat tarzı ve yaşanılan çevre; sağlıklı çocuğun final boyu üzerine etkilidir. Ebeveynlerin boy uzunlukları çocuğun final boyu üzerine en etkili değişkendir. Tahmini erişkin boy çocuğun genetik potansiyelini gösterir. Fiziki çevresel faktörler olarak hava kirliliği, gürültü, içme suyu kirliliği, ısı, ışık, radyasyon, barınak vb. sayılabilir. Çocuğun

büyümekte olduğu sosyal ve psikolojik çevre de büyüme üzerine etkilidir. Olumsuz uyarılara maruz kalınan dönemde çocukta büyüme hormonu yetmezliği gelişir (53).

2.3.Boy Kısalığı Tanımı, Ölçümü Ve Değerlendirilmesi

2.3.1.Boy Kısalığı Tanımı

Boy kısalığı çocuk poliklinik başvurularının en sık nedenlerinden biri olup prevalansı %2 dir. Boy kısalığı kişinin ait olduğu toplumda kendi yaş ve cinsiyetinin güncel büyüme eğrilerine göre 3. persantil ya da -2 SD altına olmasıdır. Ayrıca büyüme hızının yaşa göre 25. persantil veya -0.8 SD altında olup persantil kaybetmesi (pre/postpubertal büyümede geçici duraksama dönemleri haricinde) veya öngörülen boyun, hedef boy sınırlarının 5-10 cm'den daha fazla altında kalması da boy kısalığı olarak kabul edilir. (3,54,55)

2.3.2.Boy Kısalığına Yaklaşımda Kullanılan Değerlendirmeler

Kullanılan parametreler başlıca şunlardır:

- Takvim yaşı
- Boy uzunluğu ölçümü
- Baş çevresi ölçümü
- Ağırlık ölçümü
- Hedef boy:
- Kemik yaşı
- Boy Persantil Eğrisinin kullanılması

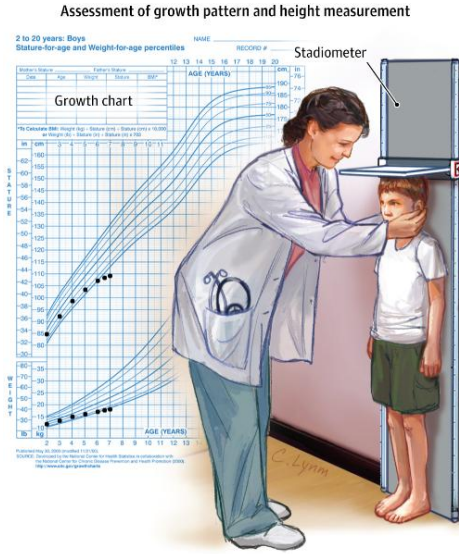
a. Takvim Yaşının Hesaplanması:

Çocuğun kronolojik yaşının yıl ve ay olarak hesaplanmasıdır. Prematür doğan çocuklarda 2 yaşına kadar düzeltilmiş yaşa göre persantil değerlendirmesi yapılır (56).

b. Boy Ölçümü:

İlk 2 yaşta boy, çocuklarda yatar durumda boy ölçüm masasında ölçülür. 2 yaş üzerindeki çocuklarda ise boy "Harpenden stadyometresi" gibi ayakta ölçüm aletlerinde yapılır. Ölçümlerin milimetrik duyarlılığı olan aletlerde günün aynı saatlerinde ve aynı

boy ölçüm aletinde yapılması önerilir. Harpenden stadiyometresinde, başa temas eden yüzey geniş olduğu için başın tepe noktasından ölçüm yapılabilmektedir.



Şekil 4: Harpenden Stadiyometresi (57).

Oturma yüksekliği, baş-pubis uzunluğu, pubis topuk uzunluğu, kulaç uzunluğu, ekstremitte uzunluklarının ve ekstremitte çaplarının ölçümüyle gövdesel oranlar değerlendirilir. Boy kısalıklarının orantılı ya da orantısız olup olmadığı belirlenir.

Oturma boyu, çocuğun pubis-topuk mesafesinin boy uzunluğundan çıkartılması ile hesaplanır. Gövdesel veya ekstremitte kaynaklı orantısız boy kısalığına yaşa özgü standartlara bakılarak karar verilir. Ekstremitte kaynaklı boy kısalığında aynı ekstremitenin alt ve üst kısımları ölçülerek hangi kısma ait (rizomelik/ mezomelik/ akromelik) kısalık olduğuna karar verilir (58,59).

c. Baş çevresi ölçümü: Oksiput ve glabellayı içeren baş çevresinde mezura ile ölçümdür

ç. Ağırlık : İlk 2 yaş çocukların ağırlığı, 10 grama duyarlı bebek tartı aletlerinde ölçülür. 2 yaşın üzerindeki çocuklar 100 grama duyarlı tartı aletlerinde ölçülür. Ölçüm yapılırken küçük çocukların çıplak ve büyük çocukların iç çamaşırı ile ölçümü, çocuk hareket etmiyorken yapılmalıdır.

d. Anne ve babanın boy ölçümü/ hedef boy: Çocuğun genetik potansiyelini öngören hedef boy anne ve babanın boyu ölçümü alınarak cinsiyete göre hesaplanır:

Kız çocuk için hedef boy= Anne boy +(Baba boy-13) ±7cm

Erkek çocuk için hedef boy= Baba boy +(Anne boy+13) ±7cm

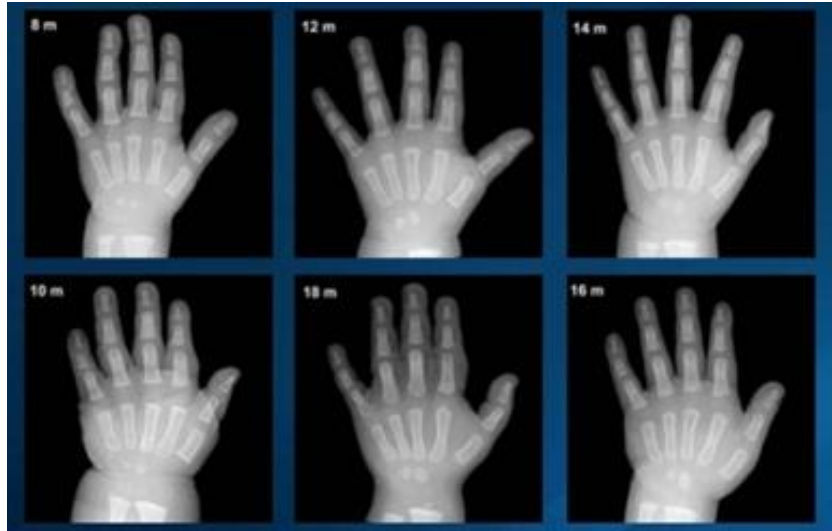
Hesaplanan hedef boy ve anne ve baba boyları 18 yaş çizgisine işaretlenir (60).

e.Kemik Yaşı ölçümü:

Kemik uzaması ve olgunlaşması büyümenin en temel belirleyicisidir. Kemik olgunlaşmasını gösteren kemik yaşı ölçümü, sol el ve el bileği grafilerinin standart kemik atlaslarına bakılarak değerlendirilmesidir. Tanner-Whitehouse atlası ve Greulich-Pyle atlası gibi atlaslar kullanılarak epifiz sayısı, büyüklüğü, diyafizle olan ilişkisi ve şekli gibi özellikler değerlendirilir ve yaklaşık kemik yaşı tayini yapılır.

Kemik yaşı çocuğun kronolojik yaşıyla birlikte değerlendirildiğinde büyümenin ne kadarının tamamlandığı ve büyümenin ne kadar daha devam edebileceği hakkında önemli bilgi verir.

2 yaşın altındaki çocuklarda kemik yaşı ile kronolojik yaş arasında ±6 ay farklılık; 2-4 yaş arasında ±1 yıl farklılık, 4yaş-ergenlik dönemi arasında ±2 yıl farklılık görülebilir. (61)



Şekil 5: El bileği grafilerinde kemik yaşı değerlendirilmesi.

(Atlas of Greulich and Pyle-1959'dan alınmıştır.)

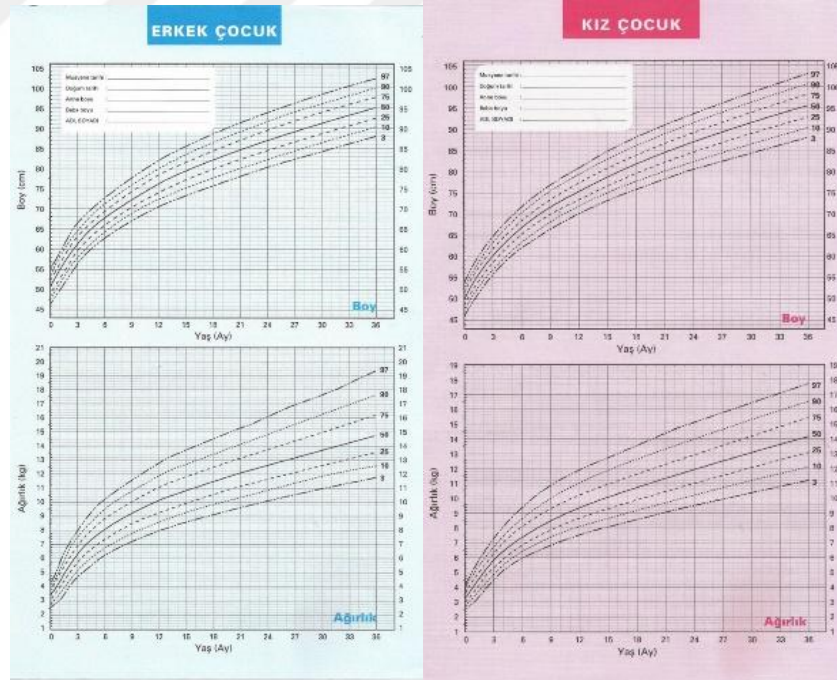
f. Boy Persentil Eğrisinin kullanılması:

Boy, kilo ve baş çevresi değerleri bireyin ait olduğu toplumun güncel persentil eğrilerine bakılarak yaş ve cinsiyetine uygun olarak bulunur. Neyzi persentil eğrileri 2008 yılında güncellenmiş olup Türk çocuklarının genetik potansiyelini en iyi yansıtan eğrilerdir.

Patolojik boy kısalıklarının ve boy uzunluklarının değerlendirmesinde 3. Persentilin altında ve 97. Persentilin üzerindeki değerlerde standart sapma değeri kullanılır. Standart deviasyon skoru aşağıdaki formülle hesaplanır:

Standart deviasyon skoru (Z skoru): Mevcut boy (cm) – Toplumun yaş ve cinsiyete göre ortalama (50. persentil) değeri (cm) / Toplumun yaş ve cinsiyete göre standart deviasyonu.

(-2 SDS) ve (+2 SDS) arası sağlıklı, (-2 SDS) ve (-3 SDS) arası normalin varyantı veya patolojik ancak (-3 SDS) altı çocuklar patolojik olarak değerlendirilir (62).

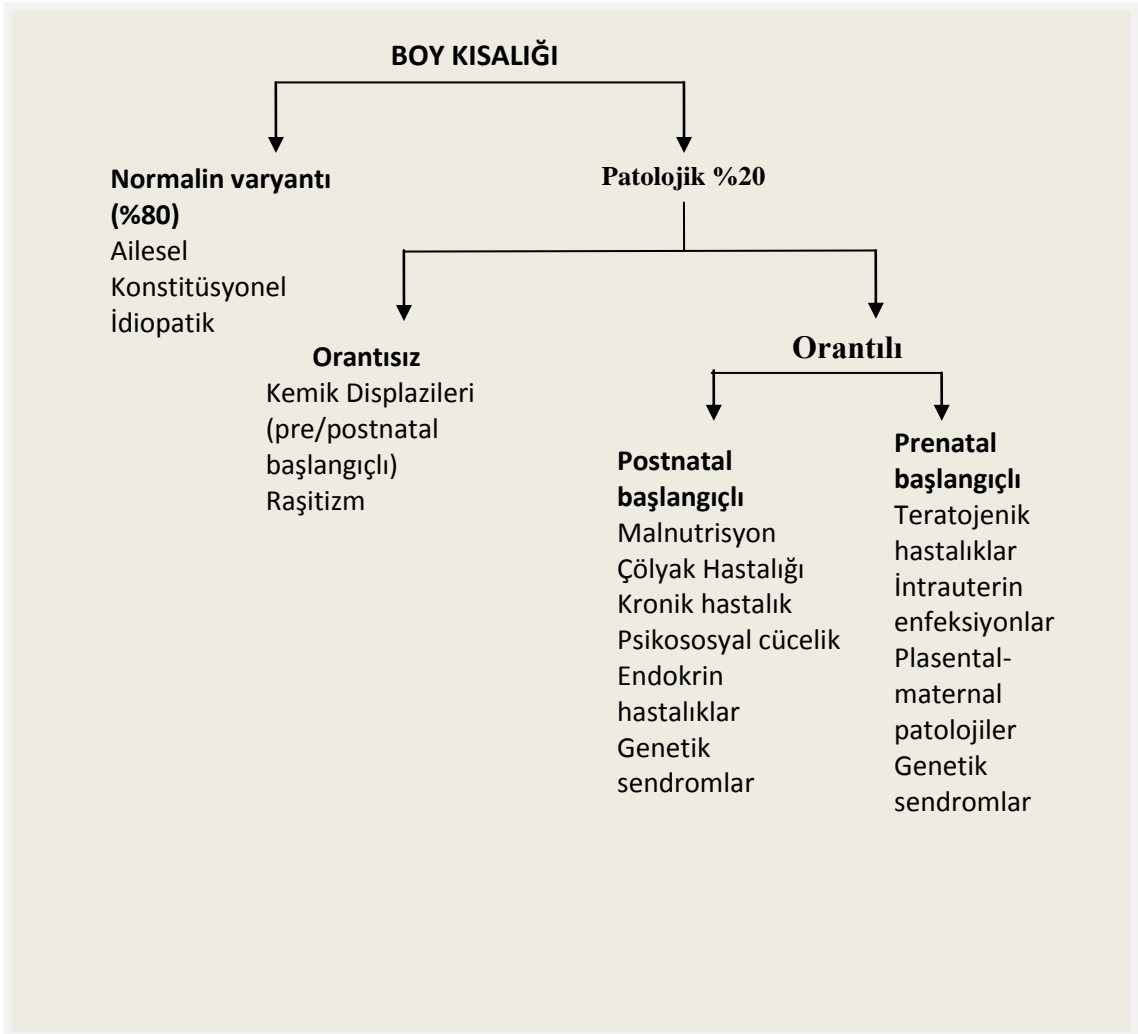


Şekil 6: 0-3 yaş Türk Çocuklarının Boy Persentil Eğrileri (Neyzi O ve ark. 2008)

2.3.3.Boy kısalığının etyolojik sınıflandırılması

Büyümenin beklenen aralıkta gerçekleşiyor olması çocuk sağlığının önemli göstergelerinden biridir. Boy uzamasında görülecek bir sapma patolojik bir nedenin araştırılması için uyarıcı olabilir (63,64). Boy kısalığı, normalin varyantı boy kısalığı ve patolojik boy kısalığı olarak 2 ana gruba ayrılır. (Tablo 2)

Tablo 3: Boy kısalığının sınıflandırılması (4).



2.3.3.1.Normalin Varyantı Boy Kısalığı

Altta yatan organik bir patolojinin gösterilemediği ve final boyun, anne baba boyu hesaplanarak tahmin edilen boya ulaşabildiği boy kısalıklarındır. Boy kısalıklarının %41-86.3 normalin varyantı olarak bildirilmiştir (65-69).

a. Ailesel boy kısalığı:

Ailesel veya genetik boy kısalığı sıklıkla normalin varyantıdır. Patolojik boy kısalığına neden olan genetik bir yük taşımayan kısa boylu ebeveynlerin çocuklarıdır. Büyüme hızları topluma göre göreceli olarak normal-yavaştır. Kemik yaşlarını kronolojik yaşlarıyla uyumlu olması konstitüsyonel boy kısalığından ayrılmalarını sağlar.

b. Konstitüsyonel Büyüme geriliği:

Çocukluk çağında boy kısalığı ve erişkin çağda normal boy uzunluğu ile karakterizedir. 6 ay civarında başlayan büyüme hızındaki düşüklük çocukluk çağı boyunca devam eder. Prepubertal boy persentilleri 3.persentilin altında ancak eğriye paralel seyrederek. En belirgin olan özelliği kemik yaşının geride olup boy yaşı ile uyumlu olmasıdır. Ergenliğe geç giren bu çocuklar hedef boylarına ulaşırlar.

c. İdiopatik boy kısalığı:

İdiopatik boy kısalığı bir dışlama tanısıdır. Altta yatan sistemik, endokrin ve genetik hastalığa dair bir kanıtı olmayan çocuklardır. Kemik yaşları kronolojik yaşları ile uyumlu ve boy persentilleri tahmini boy persentillerinin altındadır. Normalin varyantı boy kısalığı olarak kabul edilseler de altta yatabilecek patoloji yönünden takipleri gereklidir. Boy uzunluğuyla ilgili yapılan çalışmalarda tüm genom analizlerinde sayıca yüzlerle ifade edilebilen küçük genetik değişiklikler gösterilmiştir (21).

2.3.3.2. Patolojik Boy Kısalıkları

a. Orantısız boy kısalıkları:

Kemik displazileri:

Kemik displazileri kemik ve kıkırdak dokunun generalize hastalıklarıdır. Genellikle orantısız boy kısalığı yaparlar. Kıkırdak ve/veya kemik doku gelişim bozukluğu ise osteokondrodizplazi olarak sınıflandırılır. Toplumda 4000-5000 canlı doğumda 1 görülmektedir (70). 400'ün üzerinde tanımlı 40 gruba sınıflandırılmış tipi vardır (71). İskelet displazilerinin %55'i letaldir; bunların %25'ü ölü doğar, %30'u ise doğumdan kısa bir süre sonra ölür.

Dizostozlar: tek bir kemik veya kemik grubunda erken embriyogenezis sırasında görevli bazı transkripsiyon faktörlerinin ve sinyal moleküllerinin bozukluğu nedeniyle gelişir.

Displaziler prenatal veya postnatal başlangıçlı olabilir. Büyüme geriliği, uzun kemiklerde ve eklemlerde deformasyonlar, iskelet ve diğer sistemlerle ilgili malformasyonlar, kalvaryumun anormal osifikasyonu, vertebra-kosta anomalileri ve kırıklar görülebilir. Hastaların özgeçmişleri ve soygeçmişleri ayrıntılı olarak sorgulanmalı; hastanın ve aile bireylerinin ayrıntılı fizik muayene ve ekstremiteler ve vücut segmentlerinin ölçümleri yapılmalıdır. Özellikle büyüme plaklarının kapanmadığı dönemde el ve ayakları da içeren kemik grafileri tanıda oldukça kıymetlidir. Kemiklerin etkilenen kısmı, bu geniş hastalık grubunun sınıflandırılmasında kullanılır. Epifiz ve metafizin birlikte etkilendiği displaziler, epi-metafizyal displazi olarak tanımlanır. Omurga tutulumu ile birlikte olan displazilerse Spondilometafizyal veya spondiloepifizyal displazi olarak tanımlanabilir (72,73).

Akondroplazi, en sık görülen otozomal dominant (OD) kalıtmı iskelet displazisidir. 26.000 canlı doğumda 1 görülür. Kromozom 4p16.3 üzerindeki Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (*FGFR3*) genindeki mutasyon sendromun etyolojisinden %98 oranında sorumludur (73,74). Ortalama erişkin erkek boyu 132 cm, kadın boyu 125 cm olarak bildirilmektedir.

Orantısız boy kısalığına yol açan rizomelik ekstremiteler kısalığı, göreceli makrosefali, tipik yüz bulgular (frontal bossing, orta yüz bölgesinde gelişme geriliği, burun kökü basıklığı), trident el, asetabulum ve iliak kemiklerin düzleşmesi, sakruma doğru interpediculer mesafenin azalması, dirsek kısıtlılığı, brakidaktili, genu varum, artmış lomber lordoz ve kifozla karakterizedir. İnfantil dönemde hipotoni görülür. Atlantoaksiyel dislokasyon ani ölüm riskini artırır. Zeka etkilenmez (75,76).

Hipokondroplazi: Etiyolojiden *FGFR3* geninin 'ün farklı bir otozomal dominant kalıtmı mutasyonu sorumludur.(c.1620C>A %70 ve c.1620C>G %30) Bulgular akondroplazi bulgularına benzerlik göstermekle birlikte daha hafif bir klinik vardır. Bulgular genellikle çocukluk döneminde belirginleşir. Spinal kanal darlığı gibi komplikasyonlar daha nadir görülür ancak zeka geriliği ve nöbet gelişimi daha fazla görülür (77,78).

Depo hastalıklarından Mukopolisakkaridoz veya oligosakkaridozlardaki kemik bulguları doğuştan görülmeyip sonradan gelişebilir. Görülen klinik bulgulara Dizostozis multiplaks denir. Vertebra korpuslarının anteriorunda gagalaşma-çentikleşme, platispondili, servikal insitabilite, kostaların kalınlaşarak 'kürek kosta' şeklini alması, makrosefali, J-sella, uzun kemiklerde epifiz ve metafiz düzensizlikleri radyolojik olarak dizostozis multiplakste görülür (79). Ancak mukolipidosis tip II'de yukarıda tarif edilen bulgular intrauterin dönemde başlar, klinik daha ağırdır ve prognoz kötüdür (80).

b.Orantılı boy kısalıkları:

b.1. Postnatal Başlangıçlı Boy Kısalıkları

Sistemik hastalığa ikincil boy kısalığı:

Sosyoekonomik nedenlere bağlı yetersiz besin alımı, büyüme için gereken enerjinin sağlanamamasının önemli bir nedenidir. Hemen hemen her ciddi sistemik hastalık büyüme yetmezliğine neden olabilir. Hastalık nedeniyle artan enerji ihtiyacı büyümeye gereken enerjinin aktarılmasına engel olur. Hastalığa bağlı iştahsızlık ve kullanılan ilaçların (kortikosteroidler gibi) etkisi de ayrıca boy kısalığına neden olabilir. Onkolojik tedavide kullanılan radyoterapinin büyüme plakları üzerine direk bir etkisi vardır.

Kronik böbrek hastalığı: Böbrek yetmezliğinde görülen boy kısalığının temel nedeni; büyüme hormonu ve insülin benzeri büyüme faktörü 1'in metabolizmasının bozulmasıdır. Ayrıca metabolizmanın önemli bir organı olan böbreğin yetmezliğinde metabolik asidoz, anemi, kalsiyum ve fosfor dengesizliği, raşitizm ve iştahsızlık görülür. Tedavide sıklıkla kullanılan steroidler, büyüme hormonu salınımını ve etkisini azaltarak boy kısalığını ağırlaştırır. Steroidler ayrıca kollajen sentezi ve osifikasyon üzerinde negatif etkilere sahiptir.

Gastrointestinal hastalıklarda emilim kusuruna bağlı vücut kitle indeksinin düşüklüğü belirgindir. Çölyak hastalığı, kistik fibrozis, enflamatuar bağırsak hastalığı, parazitoz gibi emilim kusurlarının yanı sıra hastalığa bağlı enflamasyonlar da boy kısalığına neden olur.

Kardiyak ve solunum sistem hastalıklarında vücudun artan enerji ihtiyacına ve azalan oksijen sunumuna iştahsızlığın eklenmesi boy uzamasını engellemektedir.

Kanser, enfeksiyon hastalıkları ve bağışıklık yetmezliği sendromlarında; ilaçlar ve sitokinlere bağlı azalan iştah, artmış enerji ihtiyacı ve olası fırsatçı enfeksiyonlar boy uzamasını engellemektedir (81-84).

Endokrin Boy Kısaldığı:

Endokrinolojik boy kısaldığı, patolojik boy kısaldığının nadir ancak tedavi edilebilir bir nedenidir. Genellikle boya göre artmış vücut ağırlığı ile karakterizedir. Kafa travması, orta hat defekti (yarık damak, septooptik displazi gibi), kafaiçi kitle, radyoterapi, yenidoğan hipoglisemisi ve hipofizer hormon eksikliği olan hastalarda boy kısaldığı yapabilecek endokrinolojik patoloji araştırılmalıdır.

Büyüme Hormonu ve Büyümeyle İlişkili Genler:

Büyüme hormonu, hipotalamik büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (GHRH) etkisi altında hipofizin somatotrop hücrelerinden salınır. Somatotrop hücreler üzerine etkili pek çok çevresel ve iç faktör vardır. Fetal hayatta başlayan büyüme hormonu sekresyonu erişkinlikte azalmakla birlikte hayat boyu devam eder. Somatostatin, somatotrop hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak büyüme hormonu salınımını inhibe eder (85,86).

Ghreltin, GABA, seks steroidleri ve alfa-2 adrenerjik reseptör uyarısı GHRH salınımını arttırırken glukoz, serbest yağ asitleri, glukokortikoidler ve beta-2 adrenerjik uyarı somatostatin salınımını arttırırlar. Arginin, dopamin, serotonin, ghreltin ve asetilkolinin somatostatin salınımını baskılayıcı etkisi varken tiroid hormonları, glukokortikoid ve ghreltinin büyüme hormonu salgılatıcı etkisi vardır (87).

Büyüme hormonun periferik etkilerinin çoğundan sorumlu olan İnsülin like growth faktör-1 , büyüme hormonu salınımını negatif feed-back mekanizmasıyla baskılar.

Büyüme hormonu geni: 17.kromozomun uzun kolunda yer alır. (17q22). *GHRH reseptör* geni, *PROP1* ve *POU1F1* geni büyüme hormonunun ve diğer hipofizer hormonların salınımı üzerine etkilidir (88,89). **Boy kısaldığı ile ilişkili gen bölgeleri Tablo-4'de gösterilmiştir:**

Tablo 4: Hipotalamus, hipofiz, BH, IGF aksında boy kısalığıyla ilişkili genler.

Gen	Kromozom/Lokus	Kalıtım	Fenotip
B1H1	17q22-24, Xq21-22	OD, OR, X'e bağlı	İzole BH eksikliği
BHR	5p12-p13	OR	Laron sendromu
IGF1	12q22-24.	OR	Mikrosefali, sağrlık, zeka geriliği
IGF1R	15q25q26	OD, OR	Dismorfik yüz, zeka geriliği
IGF2	11p15.5		Silver Russel sendromu
IGF2R	6q26		Silver Russel sendromu
IGFBP1	7p14		
PIT1	3p11		Panhipopituitarizm
PROP1	5q		Panhipopituitarizm
HESX1	3p21	?	Septo-optik displazi
LHX3	9q34,5q,3p11	OR	Panhipopituitarizm, rigid servikal vertebra
LHX4	1q25	OD	Panhipopituitarizm

OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif, BH: Büyüme hormonu, BHR: Büyüme hormon reseptörü, IGF: İnsülin like growth faktör, IGFR: İnsülin like growth faktör reseptörü, IGFBP: İnsülin like growth faktör bağı protein (4).

İnsülin like growth faktör-1, büyüme hormonu kaynaklı somatik büyümenin en önemli belirleyicisidir. Kan İGF-1'in %75'lik kısmı büyüme hormonunun karaciğerdeki reseptörlerine bağlanması sonucu oluşurken %25'lik kısmı ise kemik ve eritroid hücre prekürsörleri gibi çevre dokularda anabolik yanıt oluşturan parakrin ve otokrin sentez sonucunda gerçekleşir (90).

Plazma İGF-1'inin %99'u İGF-Binding Proteine bağlıdır. Bu proteinler İGF-1'in ilgili reseptörlerine bağlanmasını kolaylaştırır. İGF-1'inin tanımlı 6 tipi vardır. İGF-1 %75 oranında İGF-3'e bağlanır. Asit labil subunit (ALS) 'e de bağlanarak kompleks olarak kanda taşınırlar. İGF-1 reseptörlerinin sayısı Büyüme hormonu ve tiroksince regüle edilir (91).

Büyüme hormonu ve IGF-1 aksı: Büyüme hormonunun karaciğerdeki reseptörlerine bağlanmasıyla karaciğerden plazmaya İnsülin like growth faktör-1 salınımı olur. Büyüme hormonu yüksek oranda karaciğerde bulunan reseptörlerine bağlandığında fosforilasyon kaskadıyla JAK/STAT yolunu da içeren hücre içi sinyalizasyonu başlatır. Net etki IGF-1'in plazma düzeyindeki artıştır. GH'nin reseptörüne bağlanmasıyla JAK2 tirozin kinaz pek çok sitoplazmik sinyal molekülünün fosforilasyonunu yapar. JAK2 tarafından fosforile eden STAT proteinleri çekirdek içine geçerek GH sinyalizasyonunda önemli rol alırlar. STAT proteinleri DNA'da özel büyüme genleri ile etkileşir. STAT 1 ve STAT 5 çalışması ayrıca GH reseptörüne direk olarak düzenlenmektedir (92,93).

Büyüme hormonu eksikliği, genellikle büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (GHRH) eksikliği nedeniyle görülür. Hipofizin bulunduğu sellayı dolduran kraniofaringeoma ve prolaktinoma gibi kitleler, otoimmün hipofizit, lenfohistiyozis ve enfeksiyon gibi sistemik hastalıklar hipofizer yetmezlik geliştirebilirler. Genellikle büyüme hormonu eksikliğine diğer hipofiz hormonlarının yetmezliği de eşlik eder (94). Büyüme hormonu geni: 17.kromozomun uzun kolunda yer alır. (17q22). Hipofizer GH sekresyonu kompleks gelişimsel, hormonal ve doku gelişim faktörlerinin etkisi altındadır. *POU1F1* geni; GH, büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (GHRH), prolaktin ve tiyotropin reseptörü transkripsiyonunda görev alır. Mutasyonunda önhipofizin hipoplazisi ve yetmezlik kliniği görülebilir (88,89). *PRO1* geni de *POU1F1* geninin aktivasyonunda görev almaktadır. Mutasyonunda benzer klinik görülür (95). GHRH reseptör geni (*GHRHR*) mutasyonu da büyüme hormonu eksikliğinin nedenleri arasındadır (96). Büyüme hormonu eksikliği olan çocuklar, hormon replasman tedavisiyle hızlı bir şekilde persentillerini yakalayabilirler. Büyüme hormonunun etkisini göstermesi için Büyüme hormonu, IGF-1 ve JAK/STAT kaskadının düzgün çalışması gerekir. Laroon tipi cücelikte olduğu gibi reseptör veya STAT5 b mutasyonunda olduğu gibi moleküler bozukluklar da büyüme hormonu eksikliği kliniği yapabilir (93).

Büyüme üzerine etkili diğer peptidler, uzun kemik gelişim ve uzamasında Fibroblast büyüme faktör (FGF) ailesi gibi önemli parakrin ve otokrin etkisi olan moleküllerdir. Aktive edici mutasyonlarında hipokondroplazi ve akondroplazi görülür.

Yine gen mutasyonlarında kraniyosinosis görülen FGFR2 proteini embriyolojik kemik gelişiminde rol alır (97).

Hipotiroidizm: Tiroid hormonu epifiz plağının olgunlaşmasında önemli role sahiptir. Eksikliğinde kemik yaşı belirgin olarak boy yaşının dahi gerisinde kalır. Tiroid hormonu epifiz plağında bölünen hücrelerin hipertrofinde de belirleyici görev alır. Ayrıca hipotiroidizme ikincil gelişen prolaktin sekrete eden adenomlar bası etkisiyle hipofizer yetmezlik nedeni olabilir. Hipotiroidizmin değerlendirmesinde TSH ile birlikte serbest-Tiroksin ve serbest-Triiodotironin düzeylerine bakılmalıdır. Tedavi edilmemiş hipertroidizm de kemik maturasyonunu hızlandırıp epifizleri kapatarak boy kısalığına neden olur.

Puberte prekoks: Kızlarda 8 yaşından ve erkeklerde 9 yaşından önce sekonder seks karakterlerinin görülmesidir. Kemik yaşında ilerleme ile görülen gerçek puberte prekoks ve kemik yaşının kronolojik yaş ile uyumlu olduğu yalancı puberte prekoks olarak ikiye ayrılır. Artmış estradiol ve/veya testosteron düzeyleri vardır. Epifiz plaklarının erken kapanmasına neden olan gerçek puberte prekoks patolojik boy kısalığı nedenidir. Erken pubertede boy uzunluğu ancak erişkin dönemde boy kısalığı ile karakterizedir. Santral ve periferik olarak ikiye ayrılır. Santral puberte prekokssta erken çalışmaya başlayan hipofiz-gonad aksı vardır. GnRH'nin sirkadiyen ritmiyle uyumlu gerçek bir puberte başlangıcıdır. LH/FSH oranı 1'in üzerindedir. Artan FSH ve LH'ye bağlı erkeklerde testis hacimlerinde ve kızlarda over hacimlerinde artış görülür.

Periferik puberte prekokssta santral GnRH/FSH/LH'dan bağımsız artmış seks hormonları varlığı söz konusudur. Çoğunlukla surrenal veya ektopik kökenli seks steroidlerinin salınımı söz konusudur. FSH ve LH etkisi olmadığı için pubertenin diğer fiziki bulguları gelişmesine karşın gonadlar prepubertal boyutlardadır. Reseptör aktivitesinde değişikliğe neden olan McCune Albright Sendromu'nda da periferik puberte prekoks görülür (98-100).

Sendromik boy kısalıkları

Kromozomal sendromlar: Seks kromozom anomalileri ve mozaik trizomi 8 sendromu hariç tüm kromozomal sendromlara boy kısalığı eşlik eder. Boy kısalığı **Down sendromu (DS)**'nin en temel özelliğidir. Büyüme hızı hayatın ilk 6 ayında normaldir, 6 aydan 3 yaş arasında ve puberte sırasında akranlarına göre oldukça

azalmıştır. Ortalama final boy 153-160 arasında, kızlarda ise 143-150 arasındadır. DS' lu çocuklarda büyüme hormonu düzeyi düşük değildir, ancak büyüme hormonu aktif maddelerinin salınımı 1-3 yaş arası azaldığı için büyüme yavaşlaması olur. Bazı çalışmalarda bu dönemde büyüme hormonu tedavisi yapılan çocukların boylarının akranlarına göre daha uzun olduğu bildirilmiş ancak final boylarının ne olduğu konusunda yapılmış uzun süreli bir çalışma yoktur. Ayrıca büyüme hormonu tedavisinin DS 'da zaten sık görülen diyabet ve lösemi riskini arttırdığı konusunda iddialar vardır. Bu nedenle DS'lu çocuklarda büyüme hormonu tedavisi önerilmemektedir. Delesyon sendromlarından 4p delesyon sendromunda doğumda belirgin boy kısalığı vardır ve postnatal dönemde ciddi boy kısalığı devam eder. Prader Willi sendromunda ise doğum boyu normal, postnatal büyüme yavaş, final boy ortalama erkekte 155 cm, kadında 147 cm dir. BH düzeyleri ve IGF-I düzeyleri düşüktür. Bazı nadir görülen kromozom delesyon sendromlarında örneğin BH genin lokalize olduğu 17q delesyonunda ve IGF1 reseptör geninin lokalize olduğu 15q25q26 delesyonu olan ring 15 sendromunda ciddi boy kısalığı vardır (4).

Turner Sendromu:

Turner Sendromu, kız çocuklarında seks kromozomlarından birinin bulunmadığı sendromdur. 45,X: 57.1%; 45,X/46,XX: 12.5%; 46,X, iso(X): 4.5%, ve diğer: 25.9% kromozomal dağılım görülür. Yaklaşık 2500 canlı kız cinsiyetli doğumda 1 görülür. Tüm gebeliklerin %3'ünde görülür. Boy kısalığı, kardiyak anomaliler (VSD, Aort koarktasyonu gibi), düşük saç çizgisi, ekstremitelerde lenfödem, kistik higroma, yele boyun, ayrık meme başları, kalkan göğüs, cubitus valgus, Madelung deformitesi, skolyoz, üriner anomaliler, pigmente nevüsler, işitme kaybı , hipotiroidi ve obeziteyle karakterizedir. Zeka genellikle etkilenmez .

Doğum boyu Turner sendromunda -1.6 SD dir, süt çocukluğu ve oyun çocukluğu döneminde büyüme yavaştır, 6 yaşında sonra -2SD altına iner ve ergenlikte beklenen sıçramayı yapamazlar. BH salgısı normal, IGF-1 düşüktür, IGF-I direnci de olabilir. Büyüme hormonunun final boy üzerine olumlu etkisi olduğundan sendromda kullanım endikasyonu vardır (101-104). Final boy BH tedavisi olmayanlarda 140 ± 7 cm, BH tedavisi alanlarda 150 ± 5 cm dir.

Yaklaşık %99'u intrauterin dönemde düşükle sonuçlanır. Sendromun genetik temelinde bir X cinsiyet kromozomunun eksikliği bulunur. Buna bağlı gelişimsel gerilik görülmektedir. X ve Y kromozomları üzerinde bulunan 'Short stature homeobox-containing' (*SHOX*) geni büyümeyi düzenleyen bir homeobox genidir. Gen ekspresyonuyla boy uzunluğu arasında ilişki vardır. Turner sendromunda bir *SHOX* geninin az oluşunun kliniğe neden olduğu düşünülmektedir. *SHOX* geni kemik gelişimi ve olgunlaşmasında rol alır (105).

Tablo 5: Sendromik boy kısalıkları (4)

Kromozomal hastalıklar	İntrauterin başlangıçlı Tek gen hastalıkları	Postnatal başlangıçlı Tek gen hastalıkları	Teratojenik sendromlar
Trizomi 21 (Down) S Trizomi 18 S Trizomi 13 S 4p delesyon S 5p delesyon S 13q delesyon S 18p delesyon S 18q delesyon S 45,X Turner S Ring 15 S Prader Willi S	Russell Silver S Seckel S Hallermann Streiff Cornelia de Lange S Leprechaunism S Cockayne S De sanctis Cacchione S Dubowitz S 3 M S Floating Harbor S Mulibrey nanizm S SHORT S Johanson Blizzard S Bloom S	Fankoni S Smith Lemli Opitz S Noonan S Rubistein Taybi S Williams S Aarskog S Robinow S Kabuki S	Fetal alkol S Fetal hidantoin S Fetal varicella S TORCH grubu enfeksiyonlar Hipopituitarizmle birlikte olan defektler ve sendromlar Holoprozensefali Septooptik displazi Pallister hall S

Tek gen kalıtım gösteren postnatal başlangıçlı boy kısalıkları:

En sık görülenlerden arasında Fankoni, Smith Lemli Opitz, Noonan, Rubistein Taybi, Kabuki, Aarskog ve Williams sendromları sayılabilir.

2.4.İntrauterin Başlangıçlı Sendromik Boy Kısallıkları

İntrauterin hayatta başlayan sendromik boy kısallıkları; çoğunluğu genetik ve epigenetik etyolojisi tam olarak gösterilememiş pek çok sendromdan oluşur.

2.4.1.Silver Russel Sendromu

a.Klinik bulgular:

Silver Russel Sendromu ilk olarak 1953'te Silver ve arkadaşlarınca tariflenmiştir. 1954 Russel ve arkadaşları ikinci vaka bildirimini yapmışlardır. 1988 yılında Patton tarafınca Russell-Silver Sendromu olarak isimlendirilmiştir. 100.000 canlı doğumda bir görülür (106).

İntrauterin başlayıp postnatal devam eden ciddi boy kısallığı ve tipik yüz ile karakterizedir. Doğum kiloları -3 SDS altındadır. Küçük üçgen yüz, belirgin geniş alın, mikrognati, aşağı dönük ağız köşeleri, 5. Parmakta klinodaktili ve distal falanks hipoplazisi, hipospadias, Cafe au lait lekeleri ve hemihipotrofiyi kapsayan bir fenotipi vardır. Kemik yaşı hiyeyarşisi bozulmuştur ve epifizler küçüktür. Hastalığın izleminde yenidoğan döneminde beslenme problemleri, hipoglisemi (106-108) ve aşırı terleme bildirilmiştir. Bulgular çocukluk ve adölesan dönemde silikleşmeye başlar. Büyüme hormonu eksikliği gibi endokrin patolojilerin sıklığı artmıştır. Hastaların yarıya yakınında özel eğitim ihtiyacı ve nörolojik gelişim geriliği görülür (107-109). Final boy erkeklerde 151,2 cm (-7.8 SD); kızlarda ise 139.9 cm (-9 SD)'dir (110).

Tipik fenotipik özelliklerle birlikte aşağıdaki 5 kriterin sağlanması Silver-Russel Sendromu düşündürür:

1. Doğum ağırlığının -2 SDS altında olması.
2. Postnatal büyüme geriliği veya tanı anında boyun -2 SDS'nin altında olması.
3. Normal aralıklarda baş çevresi persentili.
4. Klasik yüz görünümü
5. Asimetri

Kraniofaringeoma, testiküler seminom, Wilms tümörü ve hepatoselüler karsinom sıklığında artış vardır (111). Oftalmolojik problemlerde artış ve yenidoğan döneminde mavi sklera görülür. 1999'da Price tarafından ilk tanı kriterleri yayınlanmıştır (112).

b. SİLVER-RUSSEL SENDROMUNUN GENETİK ÖZELLİKLERİ:

Silver Russel sendromunu çoğunlukla sporadik gelişir. Otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı geçişi bildirilmiştir (113). Monozigot ikizlerde sendrom birlikteliği bildirildiği gibi sendromun özelliğini monozigot ikizi taşıdığı halde sağlıklı olan vaka bildirimleri vardır (114,115). Epigenetik mekanizma bozukluğu olan 11.ci kromozom p15 bölgesi distalinin hipometilasyonu vakaların %20-60'ında görülmektedir. Hastaların %10 kadarlık kısmında görülen maternal UPD-7'de görülür. Bu nedenle ortaya çıkan SRS'da klinik diğer tiplere göre daha hafiftir. Hastaların %40'luk kısmında ise genetik etyoloji aydınlatılamamıştır. Bir hemihipertrofi olan Beckwith-Wiedemann sendromunda aynı bölgenin hipermetilasyonu vakaların %5-10'unda tanımlanmıştır.

MATERNAL-UNİPARENTAL DİSOMİ-7 VE GENOMİK İMPRİNTİNG:

İnsan genomunda her genin maternal ve paternal kaynaklı iki kopyası bulunur. Genellikle her bir genin iki kopyası da aktiftir. Bazı gen bölgelerinde sadece bir kopya açıktır. Epigenetik bir kavram olan genomik imprintingde oogenez veya spermatogenez sırasında ilgili bölgelerin metilasyonu ile bir tarafın susturulması gerçekleşir. Genomik imprinting olarak adlandırılan bu farklılıkla bazı genlerde sadece anneden veya babadan gelen gen monoallelik özellik kazanarak eksprese olur. Bir bireyin normal gelişimi için imprinting genlerin ekspresyonları arasında dengeye ihtiyaç vardır. İmprinting genler arasındaki dengeli ifade bozulduğunda büyüme ile ilgili anormallikler gözlenmektedir. Fetal büyüme ve gelişme üzerine anne ve babadan gelen genlerin farklı etkilere neden olduğu çalışmalarda gösterilmiştir. İmprinte edilmiş genler normal genetik yükün çok az bir kısmını oluşturur (10,116).

Silver Russel sendromunun %10'luk kısmını **Maternal-Uniparental Disomi-7 (m-UPD)** oluşturur. Her iki 7. kromozomun anneden alındığı genetik durumdur. Babadan alınan genler fetal büyümeyi artırır, anneden alınan genler ise fetal büyümeyi

baskılar (12). mUPD-7’de görülen Silver Russel Sendromunun olası otozomal resesif bir geçişe bağlı olup olamayacağı araştırılmış hastalar arasında otozomal resesif geçişten ziyade benzer bir imprinting mekanizmasının olduğu kanaatine varılmıştır (117). 7.kromozom üzerindeki 2 gen bölgesi Silver Russel Sendromu için aday bölgelerdir. 7q32 kromozom alanında bulunan *Peg1/Mest* (mesoderm expressed transcript) geni 7. Kromozomda gösterilen ilk imprente gendir (118). Bu bölgenin deneysel çalışmalarında farelerde IUGG ve davranış sorunları gözlenmiştir (119,120). Ayrıca Joyce tarafından 1999 yılında invertte 7p11.2-p13 duplikasyonu olan anne ve kızında Silver Russel kliniği gösterilmiştir. Bu bölgenin içerdiği *GRB10* (growth factor receptor bound protein-10) geninin; insülin reseptörü ve İGF-1 reseptörü gibi tirozin kinaz reseptörlerinin membran ilişkilerini düzenleyici ekspresyonlarının olduğu fare çalışmalarında gösterilmiştir (121).

11P15 METİLASYONU VE SİLVER RUSSEL SENDROMU:

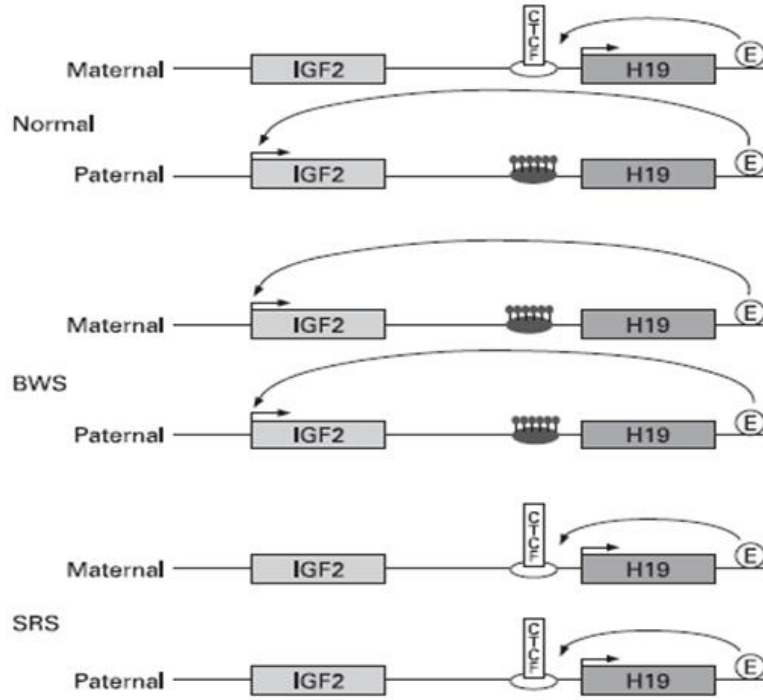
Silver Russel Sendromlu hastalarda 11p15 bölgesinin hipometilasyonu ilk defa Gicquel ve arkadaşlarınca 2005 yılında gösterildi (122). 11p15 bölgesi, 2 tane imprinting gen kümesi içermektedir. Her 2 kümenin içinde kendine ait Imprinting centre region (ICR) olarak isimlendirilen düzenleyicileri de vardır.

İlk imprinting bölgesi olan ICR-1, *IGF2* ve *H19* genlerini içerir. DMD (H19 differentially methylated domain) olarak da ifade edilir ve telomerik yerleşimlidir. İGF-2 en önemli intrauterin büyüme faktörüdür. H19 ise kodlanmayan bir RNA eksprese eder.

İkinci imprinting bölgesi olan ICR2, *KCNQ1* gen bölgesini içerir ve KvDMR1 tarafınca kontrol edilir. Sentromerik yerleşimli KvDMR1, ICR-2 olarak tanımlanmıştır. ICR-2 bölgesi imprintingi Beckwith Wiedemann sendromunun etyolojisinin %60’ını oluşturmaktadır. Silver Russel Sendromuyla epigenetik ilişkisi gösterilmemiştir (35,123,124).

Genetik imprinting ICR bölgelerinde olmaktadır. Imprinting bölgenin normalden fazla metillasyona uğraması veya daha az metillasyona uğraması ile gerçekleşir. Imprintinge uğramış bölge DMR (differentially methylated region) olarak tanımlanır.

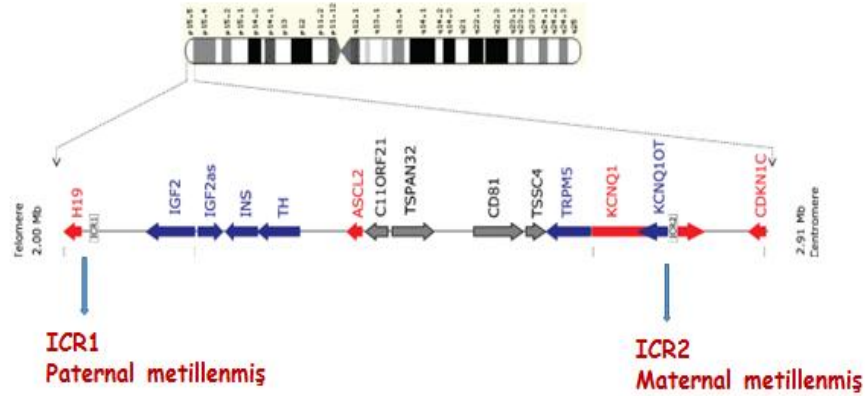
ICR-1 bölgesinin üzerinde CTCF (CCCTC-binding factor paternal) olarak bilinen transkripsiyonu baskılayarak regüle eden proteine çok sayıda bağlantı bölgesi vardır. ICR-1 metilasyona uğradığında bu bağlantı bölgeleri kapanır. CTCF bağlanması azalır. Net etki IGF-2 genin ekspresyonunun artışıdır. Normalde paternal ICR-1 metiledir. Maternal ICR-1 ise CTCF ile bağlıdır. IGF-2 ekspresyonu paternal ICR-1 kontrolünde gerçekleşmektedir (125-127).



- Normal insanlarda, anne kaynaklı allelin ICR-1 bölgesi metillenmemiştir. Bu bölgeye CTCF bağlanarak İGF-2 promotorleri ile İGF-2 promotor uyarılarının etkileşimini engeller. Net etki İGF-2 ekspresyonunun anne kaynaklı allelden yapılamamasıdır. Baba kaynaklı allel metile olduğu için CTCF bağlanamaz ve İGF-2 ekspresyonu bu bölgeden yapılır.
- Silver Russell sendromunda baba kaynaklı allelde de metilasyon azlığı (hipometilasyon) olduğu için İGF-2 nin ekspresyonu bozulur.
- Beckwith Wiedemann sendromunda ise her 2 allelin hipermetilasyonuna bağlı her 2 allelden de İGF-2 ekspresyonu vardır.

Şekil 7: İGF-2 ve H19 ekspresyonunda metilasyonun görevi

Paternal ICR-1'deki metilasyon kaybı (hipometilasyon) IGF-2 ekspresyonun azalmasına Silver Russel Sendromunun kliniğine neden olur. Maternal ICR-1'de olabilecek metilasyon kazancı (hipermetilasyon) da maternal allelden de IGF-2 ekspresyonu ile makrozomi ve hemihipertrofi ile karakterize Beckwith Wiedemann sendromuna (BWS) neden olur (128).



Şekil 8: 11p15 bölgesinin epigenetik metilasyon kontrol bölgeleri (129).

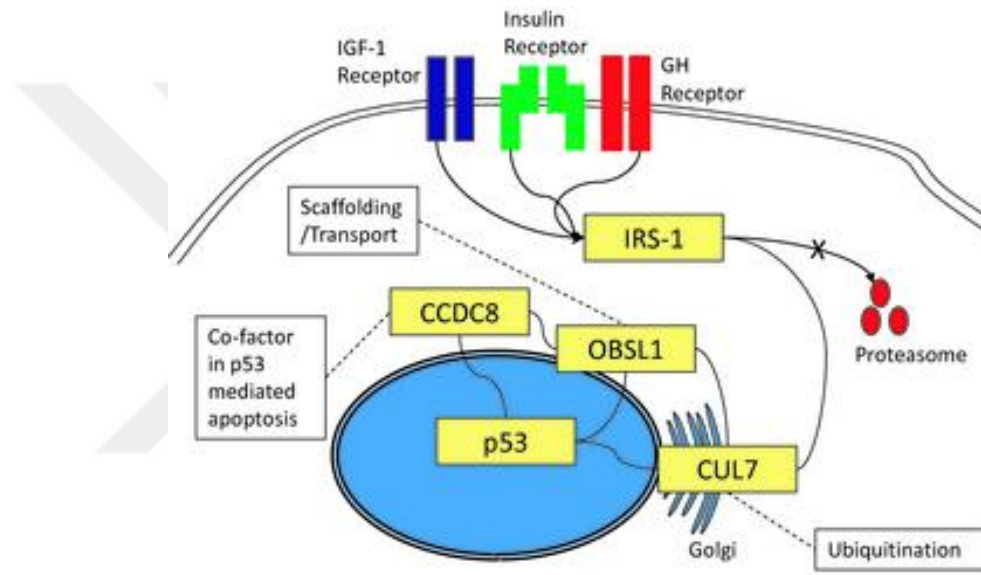
Metilasyonun derecesi ile Silver Russel'in fenotip ağırlığıyla ilişkisi vardır. Borderline (Mozaik) 11p15 hipometilasyon paterni fertilizasyon sonrasında gelişen bir epigenetik bozukluğa bağlı olabilir. Bu borderline patern kliniğe hemihipotrofi olarak yansımaktadır. Hemihipotrofi bu grup hastaların çoğunluğunda gözlenmektedir (14,122).

2.4.2. Üç-M Sendromu

Sendrom ismini 1972 yılında sendromu ilk kez tanımlayan araştırmacıların soy isimlerinden (J.D. Miller, V.A. McKusick, P. Malvaux) almaktadır. 3M Sendromu pre/postnatal ağır boy kısalığı ile karakterizedir. Final boy 120-130 cm. arasında (-5/-6SDS) beklenir. *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* sendroma yol açma sıklığına göre sıralanmış tanımlı otozomal resesif geçişli 3 gen dir (130,131). *CUL-7* gen mutasyonu %77,5, *OBSL1* gen mutasyonu %16 ve *CCDC8* gen mutasyonu ise az bir sıklıkla 3M sendromuna yol açmaktadır (132,133). *OBSL1* diğer iki gen bölgesi ile etkileşim içerisindedir (131). *CUL7*, büyüme faktörü sinyal molekülü IRS1 üzerine etkili E3 ubiquitin ligazın bir parçası olarak görev yapar. Ayrıca *OBSL1* mutasyonu olan 3M sendromu olan hastalarda IGFB-2 ve IGFB-5'in belirgin normal dışı modülasyona

uğradığı gösterilmiştir (134). Hayvan modellerinde *OBSL1* kaybının *CUL7*'de de azalmayla sonuçlandığı görülmüştür. *OBSL1* ve *CUL7*'nin büyüme üzerine ortak yollar üzerinden etkileri olduğu düşünülmektedir (132,133).

Ayrıca bir çalışmada 3M Sendromlu hastalarda IGF-2 protein düzeyinde düşüklük ve H19 düzeyinde normalden yükseklik görülmüştür. 3-M sendromlu dört olguda SRS benzer şekilde cilt kültürlerinde kontrollere göre *IGF2* gen ekspresyonu azalmış bulunmuş ve 11p15 kontrol bölgesinin bozukluğunun boy kısalığından sorumlu olabileceği sonucu çıkarılmıştır (16).



Şekil 9: Büyüme üzerine etkili hormonların *CUL-7* üzerinde olan düzenleyici etkisi (135).

3-M Sendromunu çocuk aşağıdaki 4 kriteri de sağlıyorsa düşünülmelidir:

- Düşük doğum ağırlığı.
- Ciddi boy kısalığı.
- Karakteristik yüz bulguları: Oransal olarak makrosefali, üçgen yüz, hipoplastik orta yüz yapısı, kalın kaşlar, kaba etli burun ucu, uzun filtrum, belirgin büyük ağız yapısı ve büyük dudaklar ve çenede gamze.
- Karakteristik radyolojik görüntüler: Silendirik uzun kemikler, uzun vertebra cisimleri, torasik kifoskolyoz, spina bifida/occulta, küçük pelvis kemikleri, küçük iliak kanatlar ve geniş kostalarla karakterize geniş toraks.

Kısa geniş boyun yapısı, belirgin Trapezius kası, kısa toraks, sternum deformitesi, kanat skapula, dolikosefali, köşeli omuz yapısı, 5. Parmak kısalığı, belirgin topuklar ve eklem laksititesi görülür. Erkeklerde hipospadias ve hipogonadizm görülme sıklığı artmıştır. Zeka etkilenmez (136). Tedavide boy uzatma operasyonları, eklem laksititesine yönelik ortopedik değerlendirme ve erkek çocuklarda hipogonadizm açısından endokrinolojik değerlendirme yapılabilir.

2.4.3. SHORT Sendromu

Sendromun belirgin özelliklerinin baş harfleri kullanılarak isimlendirilmiştir: Kısa boy (Short stature), hiperelastiklik (Hyperextensibility), göz küresi çöküklüğü (Oküler depresyon), Rieger anomalisi ve diş çıkartmada gecikme (Teething delay) (137).

İntrauterin büyüme geriliği, postnatal boy kısalığı, parsiyel lipodistrofi (doğumda yüzde de belirgin olabilir), ön göz kamerası gelişim bozukluğu (Axenfeld-Rieger anomalisi), karakteristik yüz bulguları (progeroid/yaşlı görünümlü üçgen yüz, belirgin geniş alın, ucuna doğru daralan ve ince burun yapısı, aşağı yerleşimli colummela, aşağı dönük ağız köşeleri, genellikle büyük kulaklar ve çenede gamze) diş gelişiminde ve çıkmasında gecikme, insülin direnci ve eşlik edebilecek erken erişkinlik diabeti ve sensörinöral işitme kaybı görülebilir. Zeka etkilenmez. Erkeklerde final boy 155-163 cm. arası kadınlarda da 143-160cm.'dir (138,140).

Etyolojisinde otozomal dominant geçişli *PIK3R1* gen mutasyonu sorumlu tutulmaktadır. Şimdiye kadar bu gende 16 ailede ve olguların önemli bir kısmında *de novo* mutasyon gösterilmiştir. *PIK3R1*, hücre büyümesi ve proliferasyonunda görevli AKT/mTOR yolağını aktive eden PI3K holoenzimine subunit sentezler. Mutasyonunda hücre metabolizması ve büyümesini olumsuz etkilenir (139,140).

2.4.4. Dubowitz Sendromu

Dubowitz Sendromu oldukça nadir görülen genetik gelişimsel bir hastalıktır. İntrauterin gelişme geriliği, postnatal boy kısalığı, mikrosefali, karakteristik yüz bulguları (asimetri, uzun yüz, geniş alın, saçlarda ve kaşların lateral kısımlarında seyreklik, hipertelorizm, pitozis, gözlerin üstündeki kemiklerde hipoplazi, kolobom, iris hipoplazisi ve mikro-retrognati, geniş burun), mental retardasyon, ellerde 5.

parmaklarda klinodaktili, ayak 2-3 parmak sindaktilisi, vakaların yarısında özellikle yüzde bildirilmiş egzema ve çoklu organ sistemlerini etkileyen geniş bir klinik gözlenebilir (141,142).

Takibinde immün yetmezlik ve sık hastalık geçirme, aplastik anemi ve maligniteler (lösemi, lenfoma ve nöroblastom) görülebilir. Davranışsal, zekayla ilgili ve psikolojik sorunlar gözlenebilir (143,144). Dubowitz sendromunun genetik etyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Otozomal resesif geçişli bir gen hastalığı olduğu düşünülmektedir (145).

2.4.5.Mulibrey Nanism Sendromu

Sendromun isimlendirmesi sık tutulum özelliklerinin başlangıçları kullanılarak yapılmıştır: Kas (Muscle), karaciğer (Liver), beyin (Brain), göz (Eye) ve cücelik (Nanism). Düşük doğum ağırlığı ve boy, ciddi büyüme geriliği, karakteristik üçgen yüz, yüksek ve tiz ses, makrosefali, J sella, hipotoni, hepatomegali, gözde fundusta sarı noktalanmalar, görme bozukluğu yapmayan oküler anomaliler, fibröz dokunun artışına bağlı olarak konstrüktif perikardit ve pulmoner fibrozis ve endokrin dokunun gelişim bozukluğuna bağlı endokrin bozukluklar sendromun tariflenmiş bulgularıdır. Zeka etkilenmez ancak motor gelişim geri kalabilir. Radyolojik uzun ince kemikler ve kortikal kalınlaşma görülür (146).

İzlemde kadınlarda artmış over tümörü riski vardır. Perikardiyal tutulum ve konstrüktif perikardit önemli bir mortalite nedenidir (147,148). Otozomal resesif geçişli olarak *TRIM37* gen mutasyonlarında görülür. Peroksizomlarda görev alan *TRIM37* mutasyon bozukluğu yeni bir peroksizomal hastalık olarak düşünülmektedir (149). *TRIM37* büyüme, hücre fonksiyonları ve onkogeneze üzerine etkili tripartite motif (TRIM) gen ailesinin bir üyesidir (150).

2.4.6.Floating Harbor sendromu

İntrauterin gelişme geriliği, boy kısalığı, tipik yüz bulguları(üçgen yüz, derin yerleşimli göz küreleri, kısa filtrum, ince kemerli yayvan uzun burun, sarkan colummela, büyük ağız, ince üst dudak ve düşük kulak) normosefali, iskelet anomalileri (brakidaktili, çomak parmak, kısa baş parmak,geç çocukluk çağında düzelen kemik yaşı geriliği, belirgin eklemler ve klavikula anomalileri), zeka ve gelişme geriliği

ve yüksek tiz sesle konuşma sendromda sıklıkla görülen bulgulardır. İletim tipi işitme kaybı, nöbetler ve genitoüriner anomaliler de nadir olarak bildirilmiştir. Sendromun etyolojisinde otozomal dominant kalıtılan *SRCAP* mutasyonu vardır (151,152). *SRCAP* hücre bölünmesinin ve büyümesinin kontrolünde anahtar rolü olan CREBBP proteinin aktivasyonu etkiler (153). *SRCAP* gen mutasyonlarının gelişim ve büyüme ile ilgili aksamalara neden olabileceği bildirilmiştir (152).

2.4.7.Bloom Sendromu

Bloom Sendromu'nda intrauterin gelişme geriliği, postnatal boy kısalığı, yüzde belirgin olan ışığa hassasiyet gösteren kelebek tarzında eritamatoz döküntüler ve subkutan yağ dokusunda azalma ile karakterizedir (17,154). İzleminde beslenme problemleri, immün yetmezlik, erkeklerde infertilite, kadınlarda erken menopoz görülür. Zeka etkilenmesi değişkenlik göstermektedir. Erişkin boyu erkekte 151cm, kızda 144cm'dir. Lösemi, lenfoma, meme ve kolon kanserleri riski artmıştır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı ve tip-2 diyabet erken yaşlarda görülür (155).

Etyolojisinde otozomal resesif kalıtımla sendroma neden olan *BLM* gen mutasyonu vardır. *BLM* mutasyonu göstermek tanısadır. *BLM* geni kromatinin stabilizasyonunda görev alır. Mutasyonun gösterilemediği durumlarda sitogenetik çalışmalarda sister kromatid değişimlerini göstermesi de tanısai değer taşır. Kromozom analizinde yüksek oranda sister kromatid değişim vardır. Radyoterapiye yanıtına artmış belirgin hassasiyet vardır. Kromatin kırılmalarının görüldüğü kromozom kırılma sendromlarından (17,156,157).

2.4.8.Uniparental Dizomi-14 (UPD-14)

14. kromozomun 14q32.2bölgesinin bazı alanlarında sadece anne kaynaklı ve bazı alanlarında da sadece baba kaynaklı genler eksprese olur. 14. Kromozomun sadece bir ebeveynden gelmesi diğer ebeveyne ait aktif genlerin yokluğu ile sonuçlanarak 2 ayrı sendroma yol açar:

UPD-14 (**paternal**): , 14. Kromozomun her 2 kısmının da baba kaynaklı olduğu genetik durumdur. İntrauterin gelişme geriliği, polihidroamnios, postnatal gelişme geriliği, hipotonisite, küçük el ve ayaklar, puberte prekoks skolyoz ve toraks deformitesi ile karakterizedir. Kliniğin 14. kromozom üzerinde olan imprinte bölgelerden

kaynaklandığı düşünülmektedir (158). 14q32 bölgesinde bulunan paternal metilasyonla epigenetik düzenlenen ve transmembran sinyalizasyon ve büyüme regülasyonunda görev alan DLK1 geni, etyolojide bulunmaktadır. IGF-2/H19 bölgesini regüle edici etkisi olabileceği bildirilmiştir. İntrauterin gelişme geriliği, polihidroamnios, gelişme geriliği, hipotonisite, küçük el ve ayaklar, puberte prekoks, skolyoz ve toraks deformitesi ile karakterizedir (159-161).

UPD-14 –(**maternal**) (Temple sendromu): 14. Kromozomun her 2 kısmının da anne kaynaklı olduğu genetik durumdur. Prenatal ve postnatal büyüme geriliği, hipotoni, motor gerilik, obezite, puberte prekoks, ılımlı zeka geriliği, küçük el-ayaklar ve dismorfik yüz bulguları (frontal bossing, kısa ucu kalın burun, mikrognati, yüksek damak ve kısa filtrum) ile karakterizedir. Prader Willi ve Silver Russell sendromu ile örtüşen bir kliniği vardır. Özellikle santral obezite, küçük el-ayaklar, puberte prekkoks ve SGA doğum hikayesi olan çocuklarda ayırıcı tanıda düşünülmelidir (162).

2.4.9.Uniparental Dizomi-6 (UPD-6)

6. Kromozomun her 2 kısmının anne kaynaklı olduğu genetik durumdur. Nadir tanımlanmakla birlikte ortak klinik bulgular henüz tanımlanmamıştır. İntrauterin büyüme geriliği ve prematür doğum sıklıkla gözlenmektedir. 6. Kromozom q24 bölgesi Yenidoğanın Geçici Diabetes Mellitusu'nda (TNDM) iyi tanımlanmış bir metilasyon alanıdır. Benzer epigenetik mekanizmaların UPD-6'da altta yattığı düşünülmektedir (163).

2.5. Metilasyon Spesifik-Multiple Ligasyon Prob Amplifikasyonu: (Ms-Mlpa) Metodu

Metilasyonla düzenlenen bir genin metilasyon analizi Metilasyon spesifik-multiple ligasyon prob amplifikasyonu metoduyla değerlendirilebilmektedir.

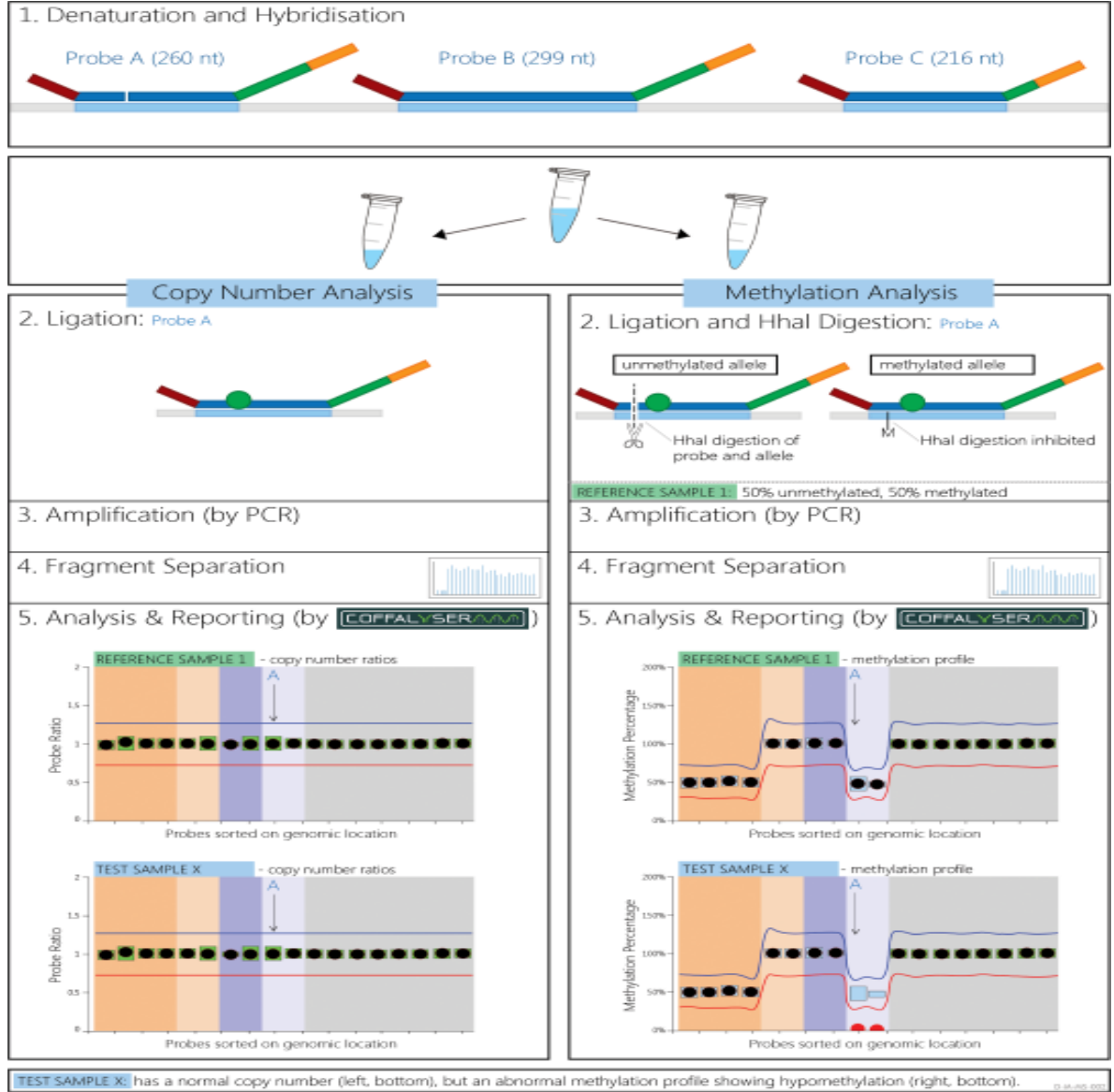
2002 yılında Schouten ve arkadaşları tarafından tanımlanan multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyon (Multiplex Ligation Dependent Probe Amplification- MLPA) yöntemi, bir nükleotid değişikliği olan dizilerin dahi ayrımını yapabilen ve 60 kadar farklı genomik DNA veya RNA dizisindeki normal olmayan kopya sayısının tespitini sağlayan bir relatif kantitatif multipleks PZR yöntemidir (164). Geleneksel PZR analizden farklı olarak MLPA' da hedeflenen diziler değil, hedef diziyeye hibridize olan

MLPA problemleri çoğaltılmaktadır. MLPA amplifikasyonu için oligonukleotit yapıda iki PZR primeri kullanılır. 24 saat kadar süren işlemlerin sonunda SALSA MLPA kiti ile amplifiye edilerek elde edilen 130 ile 480 nt arası uzunluktaki ürünler, kapiller elektroforez ile analiz edilir. Kopya sayı değişimleri, hasta ve referans örnekler karşılaştırılarak ve tepe paternlerine bakılarak hangi dizilerin normal hangilerinin normal olmayan kopya sayısına sahip olduğuna karar verilir. MLPA, DNA kopya sayısı belirlenmesinde altın standarttır. 50-70 nt. gibi çok kısa dizilere bağlanabilmesi; Duchenne kas hastalığı ve Spinal kas atrofisi gibi tek gen değişikliklerini gösterilebilmesiyle avantaj sağlamaktadır.

Metilasyon spesifik - multipleks ligasyona bağlı prob amplifikasyon (MS-MLPA) metodu ise MLPA'nın epigenetik çalışmalar için dizayn edilmiş bir çeşittir. MS-MLPA yöntemi ile tek bir deneyde insan genomik DNA'sındaki birden fazla genin promoter ve imprinting bölgelerindeki metilasyon değişiklikleri sodyum bisülfid dönüşümünü gerektirmeden tesbit edilir. Metillenmiş ve metillenmemiş genler veya bölgeler arasındaki ayırım, metilasyon-duyarlı restriksiyon enzimi olan HhaI için bir tanıma bölgesi (GCG[^]C) içeren problemlerin belirlenmesine dayanmaktadır. MS-MLPA problemleri, bir HhaI tanıma bölgesi (GCGC) içerecek şekilde tasarlanmıştır ve bu nedenle bir CpG adasında bir CpG dinükleotidi hedefler. MS-MLPA'da aynı örnekte kopya sayısı ve metilasyon durumu eş zamanlı çalışılmaktadır.

MS-MLPA yönteminde metilasyonu incelenecek bölgeye özgü MS-MLPA problemleriyle hibridize edilmiş DNA örnekleri üzerinde çalışılır. Hibridize edilmiş karışım ikiye bölünür. Bir yarım klasik MLPA yöntemine uygun olarak çalışılır ve kopya sayısı hakkında bilgi verir. Diğer yarımına ise metilasyona hassas HhaI enzimi eklenir. Metilasyona hassas problemler DNA segmentine bağlandıktan sonra HhaI enzimi metilasyonu olmayan bölgeyi enzimatik olarak parçalar ve amplifiye olmasına engel olur. Veri analizi için, HhaI ile muamele edilmiş ve muamele edilmemiş reaksiyonların MS-MLPA pik kalıpları karşılaştırılarak bir metilasyon yüzdesinin hesaplanmasına yol açar. Bir test numunesinin metilasyon profili, test numunesi üzerinde elde edilen prob metilasyon yüzdeleri ile referans numunelerin yüzdeleri karşılaştırılarak değerlendirilir. Hipometile bölgeler kopyalanmadığı için elektroforezde o bölgeye ait oransal düşüklük görülür. MS-MLPA, aynı reaksiyonda kopya sayısı ve nokta mutasyon tespiti ile birleştirilebilir. HhaI enzimi katılmayan yarımında görülen normal oransal değerle

sonucun sağlaması yapılır. Veri analizi için MRC-Holland firmasının MLPA değerlendirme yazılımı olarak geliştirdiği “Coffalyser” programı kullanılır. MS-MLPA yönteminin deneysel aşamaları şekil-1’de özetlenmektedir. MS-MLPA yöntemi, kanser dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarda uygulanmaktadır (164-167).



Şekil 10: MS-MLPA yönteminin basamakları.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması

Çalışma grubu, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Genetik Bilim Dalı'ndan takipli 49 SRS ve SRS benzer (3M, Floating Harbor ve SHORT sendromu gibi) sendromik intrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan olgulardan ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi ve Kanuni Eğitim Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji Bilim dallarından takipli 16 İdiopatik İzole Boy Kısalığı olan olgulardan oluşturuldu.

Çalışmaya dahil edilen her olgunun fizik muayenesi yapıldı. Takvim yaşı, boyu, kemik yaşı, oturma boyu, kulaç uzunluğu, boy yaşı, büyüme hızı, büyüme hızı sapması, hedef boyu, tahmini boyu, cinsiyeti, ağırlığı, baş çevresi, belirlendi. Yaşa ve cinsiyete göre boy değerleri, Türk çocukları için hazırlanmış büyüme eğrilerine bakılarak değerlendirildi. Aile öyküsüne göre aile ağacı çizildi. Olguların öykü ve fizik muayene bulguları Form-1'de gösterilen muayene formu kullanılarak kaydedildi. Tüm olgularda öncelikle kromozom analizi yapıldı.

Olguların çalışmaya alınma ölçütleri:

İntaruterin başlangıçlı patolojik boy kısalığı olan, postnatal gelişim geriliği devam eden sendromik hastalar ve etyolojisi rutin laboratuvar çalışmaları ile açıklanamamış idiyopatik izole boy kısalığı olan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Olguların çalışmadan dışlanma ölçütleri:

Hastalarda boy kısalığına neden olabilecek kronik sistemik hastalık ve endokrin hastalık açısından özgeçmiş ve soy geçmiş bilgileri sorgulandı. Her olgudan fizik muayenesinin ardından hemogram, TİT, üre, kreatin, AST, ALT, CK, ALP, kalsiyum, fosfor, total-Kolesterol, Trigliserit, glukoz, insulin, kan gazları, immünglobülin-A, Anti-doku transglutaminaz Ig-A/Ig-G, TSH, sT4, Parathormon, D-vitamini, İGF-1, İGFBP-3, GH ve DHEASO4 düzeyleri bakıldı. Hastalarda eşlik edebilecek anomalilere yönelik karın/üriner USG istendi. Ayrıca işitme değerlendirmesi için KBB, gözdibi/görme değerlendirmesi için Göz ve kardiyak değerlendirme için Çocuk

Kardiyoloji poliklinik muayenesine yönlendirildi. Boy kısalığına yol açabilecek hastalığı olan çocuklar çalışma dışı bırakıldı. Kromozom anomalisi bulunan hastalar da çalışma dışını bırakıldı alındı. Bu değerler, her olgu için hazırlanmış değerlendirme formlarına kaydedildi.

Maternal ve plasental sorunlar (Preeklampsi, teratojen maruziyeti, intrauterine enfeksiyon ve plasenta yerleşim kusuru gibi) boy kısalığı gelişen hastalar ve boy kısalığı etyolojisi tetkik edilmemiş hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Gönüllü Bilgilendirme Formu: Çalışmaya katılan her olgu ve ailesi Form-2'deki sunulan bilgiler dahilinde bilgilendirilerek onam alındı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Klinik Değerlendirme

Çalışmadaki hastaların Genetik Poliklinik dosyaları incelenerek öncelikle temel bilgiler (yaş, cinsiyet vb.) kaydedildi. Tüm hastaların klinik olarak sınıflanabilmesi için veriler Form-1'de gösterilen Hasta İzlem Formu'na kaydedildi.

Başlangıç Yaşı: Hastanın intrauterin hikayesi ile kliniğinin ilk ortaya çıktığı yaş olarak kabul edildi.

Akrabalık ve Aile Öyküsü: Anne-baba arasında akrabalık durumu araştırıldı. Hasta ebeveynleri akraba olmadıklarını belirtse dahi doğdukları köylerinin aynı olup olmadığı veya yakın köyler mi olduğu sorgulandı. Tüm hastaların sağlıklı anne/baba ve kardeşleri muayene edildi. Aile öyküsünde intrauterin başlangıçlı boy kısalığı, büyüme-gelişme geriliği olan yakınları araştırma kapsamına alındı. En az 3 nesli içeren aile ağacı çizildi.

Doğum haftası-boyu-kilosu ve baş çevresi: Hastaların doğumdaki gestasyon haftası, boyu, kilosuna ve baş çevresi değerleri kaydedildi.

Oturma boyu, kulaç boyu, baş çevresi ve el boyu: Hastaların muayene esnasında ölçülen değerleri kaydedildi. Vucüt oranları yaşa özgü persentillerde değerlendirildi.

Hedef boy: Hastaların hedef boyu;

Kız çocuklar için 'anne boyu(cm.) + baba boyu / 2 - 6.5 cm ve

Erkek çocuklar için 'anne boyu(cm.) + baba boyu / 2 + 6.5 cm' olarak ölçüldü.

Uzama hızı: Hastaların yıllık uzama hız değerleri kaydedildi.

İntrauterin takip bilgisi: Hastaların prenatal döneme ait tıbbi takip bilgileri kaydedildi.

Fizik muayene: Hastalarda antropometrik ölçüler, majör ve minör anomaliler kaydedildi.

Boy Kısalığı: Boy ölçümleri değerlendirildi ve boyu -2 standart deviasyon (SD) altındaki olgular (Olcay Neyzi ve ark.2008) boy kısalığı olarak kabul edildi. Boy kısalığı olan hastalarda boy SDS'leri hesaplandı. (Büyüyorum Online, [www.itf.istanbul.edu.tr /cocukhast/buyuyorumweb/Index.htm](http://www.itf.istanbul.edu.tr/cocukhast/buyuyorumweb/Index.htm)).

Motor ve Mental Durum: Hastaların motor ve mental kapasiteleri değerlendirildi ve gerek duyulduğunda hastalardan Denver Gelişim ya da WISC-R (The Wechsler Intelligence Scale for Children-Revised) testi istendi.

Grafi değerlendirilmesi: Kemik yaşı, iskelet displazileri ayırıcı tanısı için ön-arka ve yan vertebra grafigerinde platispondili ve skolyozun varlığı, uzun kemiklerde epifiz,, diafiz ve metafizler değerlendirildi.

Diğer sistemik bulgular: Boy kısalığına yol açabilecek olası metabolik, böbrek ve kardiyovasküler tutulum vb. bulgular kaydedildi.

3.2.2. Laboratuvar Değerlendirme

Hastalardan elde edilen DNA örneklerinden MLPA yöntemi ile 11p15 bölgesinde metilasyon düzeyinin incelenmesi planlandı.

Araştırma projeye katılmayı yazılı onayları ile kabul eden 49 sendromik olgudan ve 16 non-sendromik intrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan olgudan alınan 2 ml periferik kan örneklerinden elde edilmiş DNA materyali üzerinde gerçekleştirildi.

3.2.2.a. Periferik kandan DNA izolasyonu:

Periferik kandan genomik DNA materyali tuzla çöktürme yöntemi ile izole edildi. Sırasıyla aşağıdaki işlemler yapıldı.

1) 2 ml periferik kan 50 ml'lik falkon tüpüne aktarılarak üzerine 1:3 oranında eritrosit parçalama solüsyonu (RBL) eklendi. + 4o C'de 20 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.

2) Örnek, santrifüjden alınarak süpernatant kısmı atıldı. Pellet kısmı vortekslendi ve üzerine 1:3 oranında RBL solüsyonu eklenip 1500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası işlem tekrarlandı.

3) Pellet iyice vortekslenerek üzerine 5 ml lökosit parçalayıcı solüsyon (WBL), 250 µl SDS (%10'luk), ve 25 µl proteinaz K (20mg/ml) eklenerek gece boyu 56 o C'de inkübe edildi.

4) İnkübasyon sonrası örnekler 2000 µl Amonyum asetat (9,5 M) ilave edilip iyice homojenize edildi. 4500 rpm'de 30 dk santrifüj edildi.

5) Santrifüj sonrası süpernatant kısmı steril falkon tüpe alınarak üzerine 1:2 oranında %100 etanol eklendi ve DNA'nın toplanması beklendi.

6) Toplanan DNA steril 1.5'luk eppendorf tüpe aktarıldı ve üzerine %70'lik etanol eklenerek 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilip DNA çöktürüldü. Üst faz pipet yardımıyla alındı ve tüpler 56 oC de ısıtıcı bloklara konularak kalan alkolün uçması sağlandı.

7) Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100-300 µl TE (Tris-EDTA) tamponu eklenerek DNA'nın çözünmesi için 56 o C'de 1 saat bekletildi ve DNA + 40 C'de saklandı.

DNA konsantrasyonu ve Saflığının Ölçümü

İzole edilen DNA örneklerinin konsantrasyon ve saflığı Nanodrop cihazında ölçüldü. Başlangıçta 2 µl dH₂O ile cihazın çalışması kontrol edildi, ölçüme başlamadan DNA'nın çözüldüğü solüsyonla cihaz sıfıra ayarlandı ve 2 µl DNA örneği ile ölçüm yapıldı. Cihaz otomatik olarak 260/280 nanometrede yaptığı ölçüm değerlerini ve DNA konsantrasyonunu hesapladı. 260/280 değeri 1.8 olanlar ideal temiz DNA olarak kabul edildi.

3.2.2.b. MS-MLPA metodu ile Metilasyon analizi:

ICR1 ve ICR2 (Imprinted Control Regions) bölgelerinin metilasyon durumları , ME030-C3 BWS/SRS Salsa MLPA (MRC-Holland) kiti kullanılarak “Metilasyon spesifik-multiple ligasyon prob amplifikasyon (MS-MLPA)” yöntemi ile araştırıldı. Bu kit 11p15 kromozomal bölgesine spesifik 26 prob içermektedir., Deneysel aşamalar aşağıda belirtildiği şekilde yapıldı.

1. Denatürasyon ve Hibridizasyon aşaması:

Çalışmaya dahil edilen hastaların DNA örnekleri konsantrasyonlarına göre hazırlanarak, her bir MLPA reaksiyonu için 50 ng olacak şekilde 5 ul DNA örneği alındı.

- Thermal Cycler cihazına yerleştirilen DNA örnekleri 98°C’de 5 dakika bekletilerek denatüre edildi.
- Örnekler 225°C’ ye soğutuldu. Hibridizasyon reaksiyon karışımı aşağıdaki koşullarda hazırlandı:

Reaktifler	1x
SALSA probe karışımı (ME030)	1.5 µl
SALSA MLPA Buffer	1.5 µl

- Denatüre edilmiş DNA örnekleri üzerine 3 µl hibridizasyon karışımı dağıtıldı.
- 95 °C’de 1 dakika inkübe edildi.
- 60°C’de 17.5 saat hibridizasyona bırakıldı.

2. Ligasyon aşaması:

Hibridizasyon sonrası SALSA ME030 ile yapılan reaksiyon iki ayrı tüpe bölünerek hem standart MLPA reaksiyonu hem de metilasyona spesifik yöntem uygulandı. Ligasyon miksleri aşağıdaki koşullarda hazırlandı.

Ligase buffer miksi	1x
Distile su	10 µl
Buffer A	3 µl

Ligase- 65 master miksi	1x
Distile su	8,25 µl
Buffer B	1.5 µl
Ligase-65 enzim	0,25 µl

Ligase-Digestion master miksi	1x
Distile su	7,75 µl
Buffer B	1.5 µl
Ligase-65 enzim	0,25 µl
HhaI	0,5 µl

- Hibridizasyon sonrası Thermal Cycler cihazı 25 °C'ye ayarlandı. Bu sıcaklıkta her bir örneğe ait tüpe ligaze buffer mikten 10 ul eklendi.
- Bu karışımlardan 10' ar µl alınarak her örnek için yeni PZR tüplerine aktarıldı.
- Tüpler (eski ve yeni) 48 °C de 1 dakika bekletildi ve bu sıcaklıkta durduruldu.
- 10' ar µl ligase-65 master mix birinci (eski tüp) tüplere ve 10' ar µl ligasedigestion mix ikinci (yeni tüp) tüplere eklendi.

- 48 °C’de 30 dakika inkübasyon devam ettirildi.
3. PZR aşaması: Ligasyon aşamasından sonra cihaz 60°C’ getirildi ve hem standart MLPA reaksiyonları hem de metilasyona spesifik MLPA reaksiyonları için aşağıda koşulları belirtildiği şekilde PZR miksi hazırlandı. Miks hazırlanırken Polimeraz çözünmesi için 10 saniye kadar el içinde ısıtıldı.

PZR miksi	1x
Distile su	7,5 µl
SALSA PCR primer karışımı	2 µl
Taq Polimeraz	0,5 µl

- Pipetaj yapılarak iyice karışması sağlandı.
- Kullanıncaya kadar buz üzerinde tutuldu.
- Oda sıcaklığında, her tüpe 10 µl polimeraz miks eklendi ve iyice pipetaj yapıldı.
- PCR şartları ayarlandı:

Denatürasyon	95 °C’de	30 sn	} 35 döngü
Annealing	60 °C’de	30 sn	
Ekstansiyon	72 °C’de	60 sn	
Final Ekstansiyon	72 °C’de	20 dk	
Pause	15 °C		

4. **Fragman analizi aşaması:** PZR sonrası örneklerin fragment analizi ABI 3500 Sekans cihazı kullanılarak yapıldı. Örnekler kitin önerdiği şekilde kapiller jel elektroforez cihazına yüklendi. örnekler Beckman Coulter CEQ 8000 cihazına yüklendi, Gene mapper programında okutuldu. Her örneğe ait pik görüntüleri elde edildi.
5. **Sonuçların değerlendirilmesi aşaması:** Normal ve test örneklerine ait sadece beklenen MLPA ürünlerinin pik alanları ve boyutları analizi için MRC-Holland firmasının MLPA değerlendirme yazılımı olarak geliştirdiği “Coffalyser” programı kullanıldı.

Kullanılan Malzemeler:

Kimyasallar

Amonyum Klorür (NH₄Cl)

Amonyum Asetat (NH₄Ac)

Potasyum bikarbonat (KHCO₃)

EDTA

Tris-HCl

Etanol

Sodyum Klorür (NaCl)

Enzimler:

Proteinaz K (BioLabs)

Hha I (Promega)

Premium Taq DNA Polimeraz (İnvitrogen)

Kitler:

SALSA MS-MLPA Prob Kit ME030-C3 BWS/RSS kiti (MRCHolland)

Cihazlar:

PZR cihazı

(Biorad, Techne)

Mikropipetler

(Eppendorf)

Vorteks

(Kermanlar)

Isı bloğu

(Biosan)

Masaüstü mini santrifüj

(Eppendorf 5415c)

Buzdolapları ve dondurucular (+4oC ve -20oC)

(Bosch,Uğur)

Spektrofotometre

(Nanodrop)

Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Eritrosit parçalama çözeltisi (RBL) 1000 ml

1 g KHCO₃, 200 µl 0,5 M EDTA, 8,74 g NH₄Cl distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH NaOH ile 7.4'a ayarlandı ve otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Lökosit parçalama çözeltisi (WBL) 400 ml

10 ml 4M NaCl, 20 ml 0,5 M EDTA distile su ile 400 ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Proteinaz K 1 ml

0,02 g proteinaz K 1 ml'ye steril distile su ile tamamlandı ve -20 °C'de saklandı.

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Stok Çözeltisi (%10) 50 ml

5 g SDS distile su ile 50 ml'ye tamamlandı. Sterilizasyon, 0.2-0.45 µm'lik membran ile filtre edilerek yapıldı. Oda ısısında muhafaza edildi.

Amonyum asetat - NH₄Ac (9.5 M) 1000 ml

770 g NH₄Ac distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. 0.2-0.45 µm membran ile filtre edilerek oda ısısında muhafaza edildi.

EDTA (0,5 M) 1000 ml

186,1g EDTA distile su ile 1000ml'ye tamamlanarak otoklavlandı ve oda ısısında muhafaza edildi.

Tris-HCl (1 M) 1000 ml

121,1 g Tris-HCl distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. pH HCl ile 8.0'a ayarlandı ve otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

Tris-EDTA (TE) Tamponu 100 ml

1 ml 1M Tris-HCl ve 2 ml 0,5 M EDTA distile su ile 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavlanarak oda ısısında muhafaza edildi.

MS-MLPA yöntemi için kullanılan solüsyonlar

SALSA Probe-mix (MRC-Holland,HOLLANDA)

MLPA buffer (MRC-Holland,HOLLANDA)

Ligase-Buffer A (MRC-Holland,HOLLANDA)

Ligase-Buffer B (MRC-Holland,HOLLANDA)

Ligase 65 enzyme (MRC-Holland,HOLLANDA)

Salsa Primer (MRC-Holland,HOLLANDA)
Salsa Enzyme Dilution buffer (MRC-Holland,HOLLANDA)
Salsa Polymerase (MRC-Holland,HOLLANDA)
Salsa PCR buffer (MRC-Holland,HOLLANDA)
HhaI Enzimi (Promega, Fransa)

3.2.3. Çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemler:

Bu çalışmada istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 21.0 paket programı ile yapılmıştır. Sürekli veriler ortalama±standart sapma/ ortanca(minimum-maksimum) ile, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde ile ifade edildi. İki grup arasında ortalamaların karşılaştırılmasında Mann-whitney u testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki Kare ve Fisher's Exact Test kullanılmıştır. Tip-1 hata düzeyinin 0,05'in altında olan durumlar istatistiksel anlamlı olarak yorumlandı.

4. BULGULAR

4.1. Demografik verilerin değerlendirilmesi

Hastaların sendrom tipi , cinsiyet, başvuru yaşı ve akraba evliliği oranları Tablo-6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Çalışma grubunda klinik tanı, başvuru yaşı, cinsiyet ve akraba evliliği oranları

Hasta grubu	Hasta sayısı Sayı/%	Ortalama BY (ay)	Cinsiyet (n=K/E)	Akraba evliliği Sayı/%
Sendromik				
• Silver Russell Sendromu	14	44,9	3/11	1/14 / %7,1
• 3 M Sendromu	14	13,4	7/7	11/14 / %78,5
• SHORT Sendromu	7	64,5	1/6	5/7 / %71,4
• Bilinmeyen Sendromik	12	104,4	8/4	9/12 / %75
• Nadir Sendromlar	2	6,15	2/0	0/2 / %0
• Floating Harbor S.	(1)		(1/0)	(0)
• UPD-14	(1)		(1/0)	(0)
Toplam	n=49 (%75,3)	51,7	21/28	26/49 (%53)
İdiopatik Boy Kısalığı	n=16 (%24,7)	108,8	7/9	7/16 (%43,7)
TOPLAM	n=65 (%100)	65,5	28/37	33/65 (%50,7)

Başvuru yaşı:(BY), Standart deviasyon skoru: SDS

4.2. Antropometrik ölçümlerin değerlendirilmesi:

Hastaların doğum ve başvuru; boy, ağırlık ve baş çevrelerinin ortalama SDS değerleri Tablo-7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Hastaların antropometrik ölçümlerinin ortalama SDS değerleri

	Doğum			Başvuru		
	Boy	Kilo	Baş çevresi	Boy	Kilo	Başçevresi
Silver Russell	-3,06	-3,22	-0,24	-4,07	-4,85	-2,00
3-M	-4,27	-2,96	-0,19	-4,57	-3,37	-0,71
SHORT	-2,32	-2,28	-2,15	-4,10	-3,85	-2,65
Nadir Sendromik	-2,05	-2,63	-1,81	-2,67	-3,95	-3,15
Bilinmeyen sendromik	-2,11	-3,07	-2,08	-3,56	-4,04	-4,20
İdiopatik izole boy Kısılgı	-3,22	-2,55	-1,05	-3,52	-2,55	-2,92

Baş çevresi: (BÇ), Standart deviasyon skoru: SDS

4.3. Kromozom 11p15 bölgesinin Metilasyon analizi

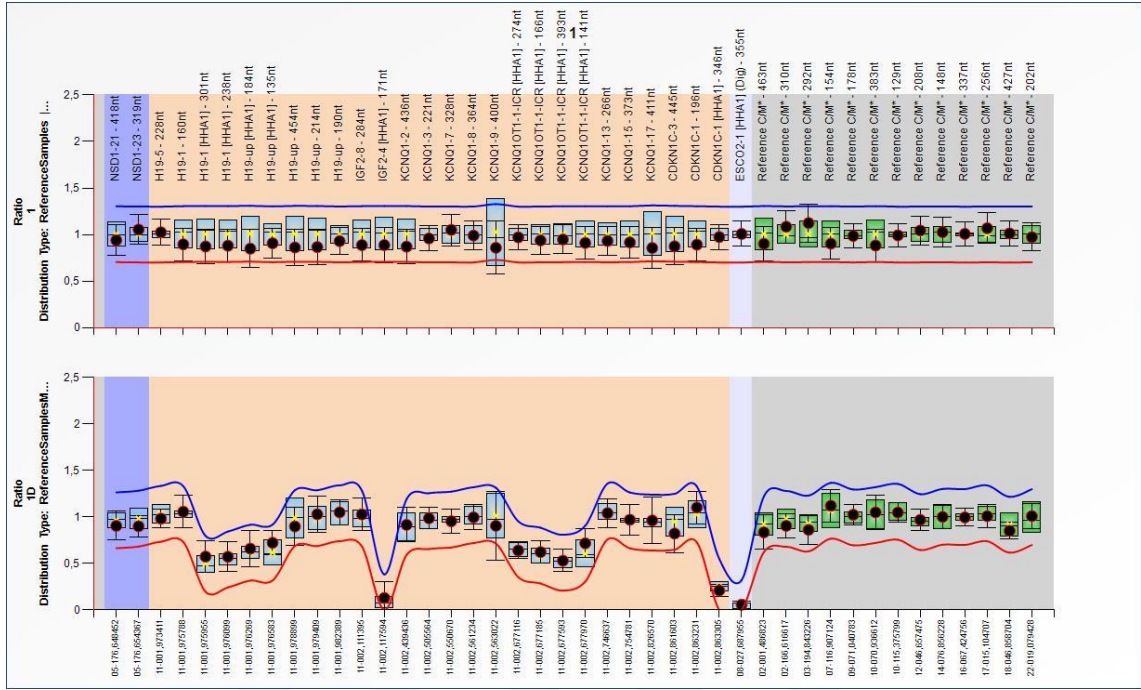
MS-MLPA ile 11p15 bölgesinin metilasyon analizi yapılan 65 kişilik hasta grubunu; 16 İdiopatik İzole Boy Kısılgı, 14 Silver Russell sendromlu, 14 3-M sendromlu, 12 Bilinmeyen Sendromik, 7 SHORT sendromlu ve 2 nadir sendromik hasta oluşturmaktaydı.

Metilasyon azlığı sadece Silver Russell sendromlu 14 hastada gösterildi. Silver Russell sendromlu 9 hastada hipometilasyon ve 5 hastada borderline hipometilasyon mevcuttu. Diğer hasta gruplarının metilasyon analizi normal olarak sonuçlandı. Tablo-8.

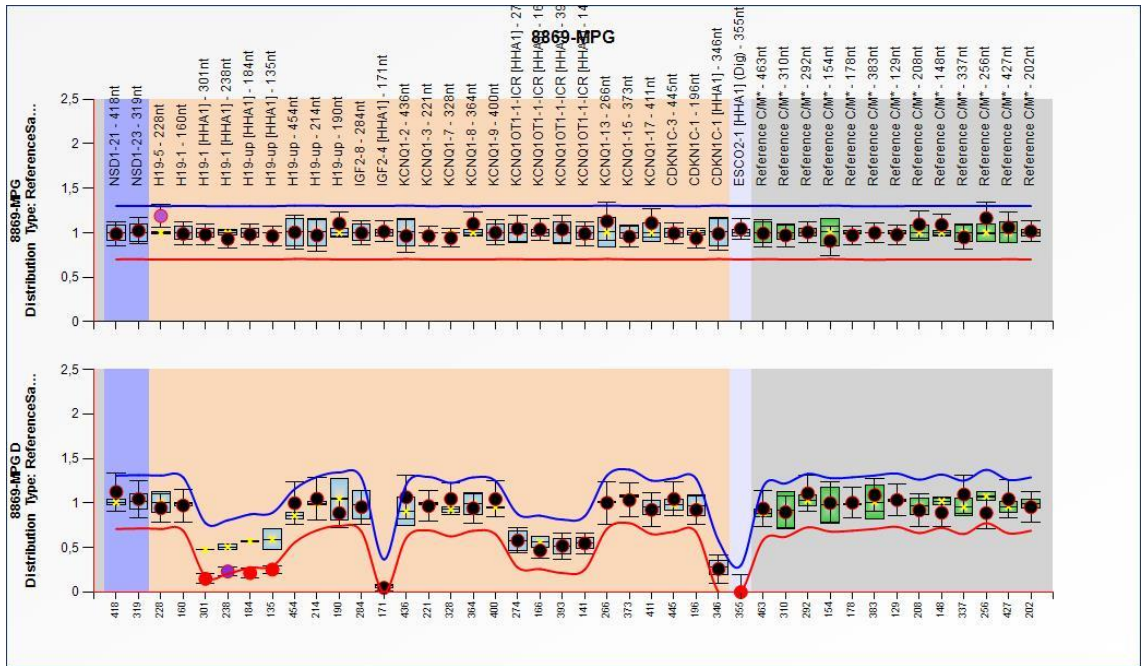
Tablo 8: 11p15 bölgesinde MS-MLPA ile yapılan metilasyon analizi sonuçları

	Normal	Hipometile	Borderline Hipometile	Toplam
Silver Russell	0	9	5	14
3-M	14	0	0	14
SHORT	7	0	0	7
Nadir Sendromik	2	0	0	2
Bilinmeyen sendromik	12	0	0	12
İdiopatik izole boy kısılgı	16	0	0	16
Toplam	51	9	5	65

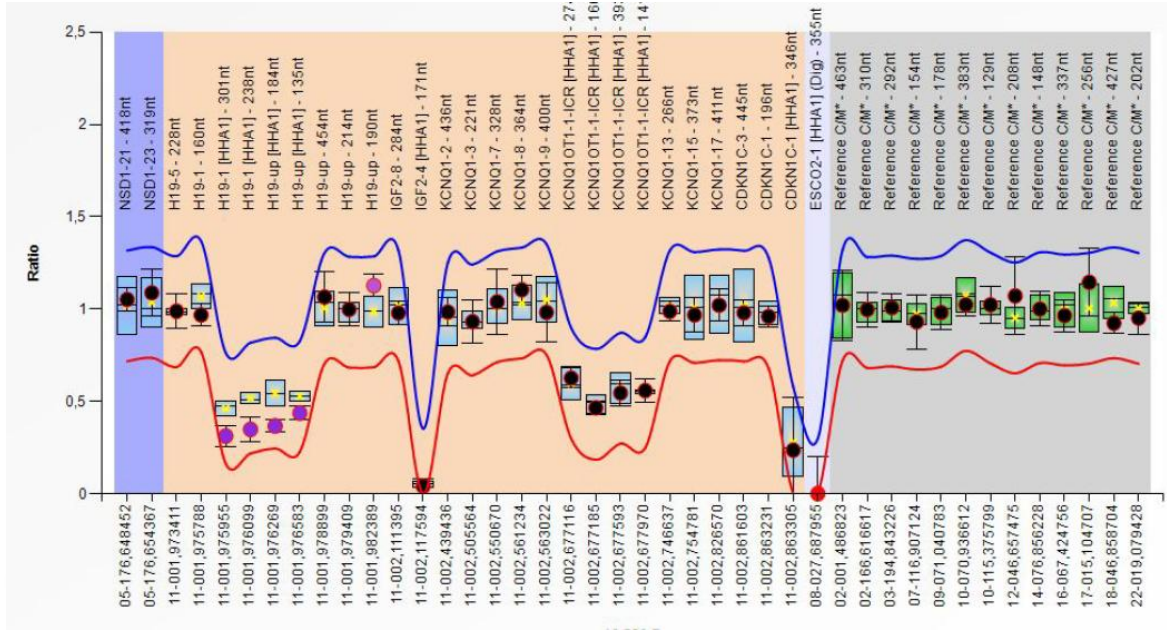
Resim 1-3'te 11p15 bölgesinde normal, hipometile ve borderline değerleri olan hastalara ait örnek MS-MLPA çıktıları görülmektedir.



Resim 1: 11p15 Bölgesinde Metilasyonu normal olan olgunun MS-MLPA resmi: Bu bölge verileri (siyah kalın noktalar) kırmızı ve mavi çizgiler arasında



Resim 2: 11p15 Bölgesinde ait verilerin görüntüsü kırmızı çizgi üzerinde ve altında (Hipometilasyonu)



Resim 3: 11p15 Bölgesinde ait verilerin görüntüsü kırmızı çizgiye yakın yer almış. (Borderline bir olgu)

4.4.Klinik Özellikler

4.4.1.Silver Russell Sendromu

4.4.1a.Hastalarının klinik özellikleri incelenmesi:

Silver Russell sendromlu 14 hastanın tamamında tipik yüz bulguları olan üçgen yüz görünümü, belirgin alın çıkıklığı, çenede gamze ve ağız köşelerinin aşağı yönlü oluşu mevcuttu. Ayrıca hastaların 11'inde klinodaktili, 6'sında elde simian çizgisi, 1'inde Cafe au Lait lekesi, 1'inde gözde pitozis ve 1'inde de kulak anomalisi mevcuttu. 4 hastada inmemiş testis, 2'sinde hipospadias, 1'inde de herni ve diğer 1 hipermobilitate hastada vardı. Grafi değerlendirmelerinde 7 hastanın kemik yaşı geride bulundu.

Klinik takipte hastalardan 3'ü BH tedavisi alırken, hastaların tamamında hipotiroidi ve neoplazi gelişimi gözlenmedi. Mental gerilik de hiçbir hastada saptanmadı.

Hemihipertrofi 5 hastada mevcuttu. Hemihipertrofi hastaların metilasyon özelliği incelendiğinde; 4'ünün hipometile ve 1'inin borderline hipometile MS-MLPA sonucu olduğu görüldü.

4.4.1b: MS-MLPA sonucuna göre hastaların klinik özellikleri

11p15 bölgesinin MS-MLPA analizinde hipometile ve borderline hipometile sonuçlanan Silver Russell’li hastaların özellikleri Tablo-9’da gösterilmiştir.

Tablo 9: SRS’li Hastaların 11p15 bölgesinin Hipometile ve Borderline hipometile oluşuna göre grup özelliklerinin incelenmesi

Hasta sayısı	n:9	n:5	Anlamlılık
Metilasyon sonucu	HİPOMETİLE	BORDERLİNE	p
Doğum boyuSDS'si	-3,13	-2,95	0,776
Doğum kilosuSDS'si	-3,29	-3,08	0,758
Doğum BÇ SDS'si	-0,86	0,78	0,118
Başvuru boyuSDS'si	-4,07	-4,06	0,877
Başvuru kilosuSDS'si	-4,63	-5,24	0,089
Başvuru BÇ SDS'si	-2,29	-1,47	0,379
İzlem boyuSDS'si	-3,83	-4,22	0,307
İzlem kilosuSDS'si	-4,35	-5,49	0,414
İzlemBÇ SDS'si	-2,12	-1,97	0,838
Üçgen yüz	9	5	-
Geniş yüksek alın	9	5	-
Çenede gamze	9	5	-
Aşağıya bakan ağız köşeleri	9	5	-
Simiançizgisi	5	1	0,301
Klinodaktili	8	3	0,505
Hemihipotrofi	4	1	0,580
Kemik yaşı geriliği	6	1	0,266
CafeauLait	0	1	1
Hipospadias	2	0	0,110
Mental gerilik	0	0	-
Neoplazi	0	0	-
Hipotiridi	0	0	-
BH tedavi	3	0	0,027
İnmemiş testis	4	0	0,005
Hipermobilite	0	0	-
Herni	1	0	0,357

Baş çevresi: (BÇ), Standart deviasyon skoru: SDS

4.4.2. 3-M Sendromu

4.4.2a: Klinik özelliklerinin incelenmesi:

3M sendromlu 14 hastanın 11’inde üçgen yüz görünümü; 10’unda belirgin alın çıkıklığı, 9’unda burun kökü basıklığı ve 2’sinde kalın dudak ile karakterize atipik yüz

bulguları vardı. Ayrıca hastaların 10'unda çekiç topuk, 9'unda kemik yaşında gerilik, 7'sinde hipermobilité, 5'inde grafilerde uzun kemik/vertebra bozukluğu, 5'inde klinodaktili ve 3'ünde simian çizgisi ile karakterize kas-iskelet sistemi bulguları vardı. 2 hastada Cafe au Lait lekeleri görüldü.

Klinik takipte hastalardan 8'i BH tedavisi alırken 2 'sinde osteopeni, 2'sinde hiperkalsiüri ve 1'inde hipotiroidi vardı. Mental gerilik 1'inde saptanırken neoplazi gelişimi hiçbir hastada saptanmadı.

4.4.2b: OBSL1 ve CUL7 genlerinin mutasyonuna göre klinik bilgilerin incelenmesi.

3-M Sendromlu 14 hastanın, OBSL1'de mutasyonu olan 6 olgunun ve CUL7'de mutasyonu olan 5 olgunun klinik özellikleri Tablo-10'da gösterilmiştir.

Tablo 10: OBSL1 ve CUL7 mutasyonuna göre klinik bilgilerinin incelenmesi

Mutasyon	Toplam CUL7 (n=5)	Toplam OBSL1 (n=6)	Anlamlılık p
Doğum boyu SDS'si	-3,95	-4,47	0,392
Doğum kilosu SDS'si	-3,03	-3,03	1
Doğum BÇ SDS'si	0,09	-0,62	0,327
Başvuru boyu SDS'si	-4,76	-4,43	0,855
Başvuru kilosu SDS'si	-3,92	-3,02	0,855
Başvuru BÇ SDS'si	-0,8	-1,17	0,465
Üçgen yüz	4	5	1
Belirgin alın	4	5	1
Orta yüz hipoplazisi	5	2	0,061
Kalın dudak	1	0	0,455
Mental gerilik	1	0	0,455
inmemiş testi. Ürogenital sorun	1	0	0,455
hipermobilite	5	2	0,061
BH tedavisi	2	4	0,567
Hipotiroidi	1	0	0,455
Osteopeni	1	0	0,455
Hiperkalsiüri	1	1	1
CafeauLait	1	1	1
kemik yaşı geriliği	5	3	0,182
Çekiç Topuk	5	2	0,061
Herni	1	0	0,455
Simian çizgisi	1	1	1
Klinodaktili	2	1	0,545

Baş çevresi: (BÇ), Standart deviasyon skoru: SDS

4.4.3. SHORT sendromlu hastaların klinik özelliklerinin incelenmesi:

Sendromun temel özelliklerinden olan hipermobilité 7 hastanın 4'ünde vardı. Rieger anomalisi 1 hastada mevcuttu. Hastaların 5'inde üçgen yüz görünümü, 4'ünde belirgin alın çıkıklığı ve 3'ünde çenede gamze ile karakterize atipik yüz görünümü mevcuttu. Klinodaktili 4 hastada görülürken 1 hastada elde simian çizgisi vardı. 2 hastada Cafe au Lait lekesi vardı. 4 hastada hipospadias, 4'ünde herni ve 3'ünde de inmemiş testis gözlemlendi. İzlemede 3 hasta BH tedavisi aldı; 2'sinde hipotiroidi, 2'sinde osteopeni ve 1 hastada hipertrigliseridemi saptandı. Hastaların 6'sında kemik yaşı geriliği vardı. 5 hastanın dişlerinde çürükleri vardı. SHORT sendromlu olguların klinik özellikleri Tablo-11'de gösterilmiştir.

Tablo 11: SHORT Sendromlu Olguların Klinik Özellikleri

SHORT Sendromu	TOPLAM	n=7 Olgu
Üçgen yüz		5
Belirgin alın		4
Klinodaktili		4
Çenede gamze		3
Göz		1
hipermobilité		4
Diş çıkımda gecikme, çürük amelogenezis imperfekta		1+2+2
Kemik yaşı geriliği		6
Mental/nöromotor gerilik		3
Herni		4
Hipospadias		4
inmemiş testi. Ürogenital sorun		3
Osteopeni		2
BH		3
hipotiroidi		2
Trigliseridemi		1
Cafe au Lait		2
Simian çizgisi		1

4.4.4. Nadir sendromlu hastaların temel klinik özelliklerinin incelenmesi:

- UPD-14 tanılı hastanın yarık damak-dudak, gözlerinde şişlik, çenesinde gamze ve mavi sklera ile karakterize atipik yüz görünümü vardı. Kemik yaşında gerilik, kostalarında çan şeklinde görünüm, her 2 dirsek el bilekleri ve parmaklarda hafif fleksiyon kontraktürü ve diğer tüm eklemlerde hipermobilitesi vardı. Bilateral işitme azlığı olan hastanın Grade2-3 nefrokalsinozis ve sol böbrek atrofisi vardı.

- Klinik Floating Harbor sendromu olan hastanın; hafif mikrognati, yüksek damak, büyük basık burun ucu, ince dudak, gri sklera, ense ve çenesinin altında hemanjiomla karakterize atipik yüz görünüm vardı. Ventriküler septal anevrizma patolojisi vardı.

4.4.5. Bilinmeyen Sendromlu hastaların temel klinik özellikleri

Klinikleri heterojen olup bilinen SRS, 3-M ve SHORT sendromu gibi İUBK sendromlarına benzemeyen olgularda array ve dizileme planlanmaktadır.

4.4.6. İdiopatik İzole Boy Kısaldığı olan olguların temel klinik özellikleri

İUBK diğer sendromlarda var olan dismorfik bulgular bu grup hastalarda tespit edilemiştir.

4.5.İntrauterin Boy Kısaldıklarının Ortak Klinik Özellikleri.

Tablo-7'de sendromların ortak özellikleri olarak araştırılan mental durum, insülin direnci, dislipidemi, endokrin bozukluklar ve hiperkalsiüri sonuçları gösterilmiştir.

4.5.1. Mental durum

Olguların mental durumları değerlendirildiğinde; Silver Russel Sendromlu ve İdiopatik izole boy kısaldığı olgularında mental gerilik görülmezken, 14 3M sendromlu hastanın 1'inde, 7 SHORT sendromlu hastanın 3'ünde ve 12 Bilinmeyen sendromik hastanın 7'sinde mental gerilik görülmüştür.

4.5.2. İnsülin direnci

Olguların İnsülin dirençleri incelendiğinde; 3M sendromu, SHORT sendromu, Nadir sendromlular ve Bilinmeyen sendromik hastalarda insülin direnci görülmezken; 8 Silver Russell Sendromlu hastanın 1'inde, İdiopatik izole boy kısalığı olan Endokrin kontrol grubundan 4'ünde ve Belirlenemeyen sendromik gruptan 1'inde insülin direnci görülmüştür.

4.5.3. Dislipidemi

Olguların dislipidemi kliniği incelendiğinde; 7 SHORT sendromlu hastanın 1'inde ve İdiopatik izole boy kısalıklı 1 hastada dislipidemi görülmüştür. Diğer hasta gruplarında dislipidemi görülmemiştir. Dislipidemi görülen İdiopatik izole boy kısalıklı hastanın insülin direnci de varken diğer dislipidemik SHORT sendromlu hastanın insülin direnci yoktu.

4.5.4. Hiperkalsiüri

Endokrin olguların ve Short Sendromlu hastalarda hiperkalsiüri veya nefrokalsinozis görülmezken, Silver Russel Sendromlu 1 hastada, 3M sendromlu 2 hastada, nadir görülen sendrom grubundan 1 hastada ve Bilinmeyen sendromik hasta grubundan 4 hastada hiperkalsiüri veya nefrokalsinozis görülmüştür.

4.5.5. Endokrin patoloji

Hastalar hipotiroidi yönünden değerlendirildiğinde; 3M sendromlu 1 hastada ve SHORT sendromlu 2 hastada hipotiroidi saptandı. Büyüme hormonu tedavisi almakta olan veya almış olan hasta sayısı araştırıldığında; İdiopatik izole boy kısalıklı 3 hastanın, Silver Russel sendromlu 3 hastanın, 3-M sendromlu 8 hastanın, Short sendromlu 3 hastanın Bilinmeyen sendromik hasta grubundan 2 hasta olmak üzere toplam 21 hastanın GH tedavisi almakta olduğu veya bir dönem kullandığı öğrenildi.

Tablo 12: İntrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan hastaların ortak klinikleri.

	İdiopatik izole boy kısalığı	Silver Russel	3-M	Short	Nadir sendromik	Bilinmeyen sendromik	TOPLAM
Hasta sayısı:	16	14	14	7	2	12	65
İnsülin direnci	4	1	0	0	0	1	6
Mental gerilik	0	0	1	3	1	7	12
Hiperkalsiüri, nefrokalsinozis nefrolitiazis	0	1	2	0	1	4	8
Hipotiroidi	0	0	1	2	0	0	3
BH tedavisi	3	3	8	3	0	2	21

5. TARTIŞMA

5.1. Hasta grupları ve Epidemiyolojik özellikler

Çalışmamız kapsamında incelenen intrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan 65 kişilik çalışma grubu; sendromik özelliği olan 49 hasta ve sendromik olmayan idiyopatik intrauterin boy kısalığı olarak izlenen 16 hastadan oluşmakta idi. Sendromik olgular; 14 Silver Russell, 14 3-M, 7 SHORT, 1 Floating Harbor, 1 UPD-14 sendromlu hasta ve 12 bilinmeyen sendromik hastadan ibaretti.

Çalışma grubundaki 65 hastanın %43'ü kız, %56,9'u erkekti. Literatürde SRS ve SHORT sendromlu hastalar arasında cinsiyet farklılığı bildirilmemesine rağmen SRS hastalarımızın %78,5'i, SHORT sendromlu hastaların %86,8'i erkekti. Literatürle uyumsuz olan bu oran hasta sayısının azlığı nedeniyle olabilir (167). 3-M sendromu tanımlı kızların oranı %50 olup literatürle uyumluydu. Floating Harbor Sendromu ve UPD-14 tanımlı birer hastamızın rastlantısal olarak kız cinsiyetliydi. İdiopatik izole boy kısalığı olan hastaların %43,7'si kız cinsiyetliydi. Bu oran literatürle uyumluydu (168).

Ortalama başvuru yaşı 65,5 aydı. Başvuru yaşının ileri oluşu; hastaların Çocuk Genetik polikliniklerine yönlendirilmeleri öncesinde etyolojilerinin araştırılması sırasında geçen süre nedeniyle olabilir. Dismorfik bulgular, boy kısalığı olan çocukların erken yönlendirilmesinde önemli bir nedendir. Çalışma grubumuzda bulunan sendromik hastaların ortalama başvuru yaşının (51,7 ay), İdiopatik izole boy kısalıklı hastaların başvuru yaşından (108,8 ay) belirgin küçük oluşu bu nedenle açıklanabilir. 3-M Sendromlu hastaların başvuru yaşının (13,4 ay), Silver Russell sendromlu hastaların başvuru yaşından (%44,9 ay) erken oluşu; bu sendromda daha belirgin kaba yüz bulgularının olması ve otozomal resesif geçişli olmasına bağlı ailede farkındalığın artması ile ilgili olabilir. SHORT Sendromlularda ortalama başvuru yaşı 64,5 aydı. Silver Russell benzeri ılımlı dismorfolojik bulgularının olması SHORT Sendromluların başvuru yaşının gecikmesini açıklayabilir. Postnatal ağır sendromik klinikleri olan Floating Harbor ve UPD-14 tanımlı hastaların Çocuk Genetik polikliniğince sırasıyla 12 aylıkken ve 10 günlükken ilk başvuruları yapılmıştır. Bilinmeyen sendromik gruptaki hastaların klinikleri heterojenite göstermekle birlikte ortalama başvuru yaşları 104,4 aydı.

Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırmasınının 2013 verilerine göre ülkemizde akraba evliliği oranı %21,4'tür (169). Çalışma grubumuzda akraba evliliği oranı %50,7 olup genel topluma göre yüksekti. Otozomal resesif geçişli olan 3-M Sendromu tanımlı hastalarda akraba evliliği 14, hastanın 11'inde mevcuttu ve çalışma alt grupları arasında en yüksek orana (%78,5) sahipti. Etyolojisinde epigenetik mekanizmaların çoğunlukta olduğu Silver Russell sendromu tanımlı 14 hastanın sadece 1'inde akraba evliliği mevcuttu ve çalışma alt grupları arasında en düşük orana (%7,14) sahipti. Klinik olarak SHORT Sendromu tanımlı hastaların %71,4'ünde akraba evliliği vardı. Floating Harbor ve UPD-14 Sendromu tanısı almış hastalarda akraba evliliği öyküsü yoktu. Tanısı belirlenemeyen sendromik olguların %75'inde ve İdiopatik İzole Boy Kısalığı olarak izlenen hastaların %43,7'sinde akraba evliliği vardı. GWAS çalışmalarında boy uzaması ile ilişkili tanımlanmış 700'e yakın gen bölgesi vardır (21). Tanısı belirlenemeyen sendromik hastalarda ve idiyopatik boy kısalığı olan hastalardaki topluma göre yüksek bulunan akraba evliliği oranı boy kısalığına bu genlerdeki homozigot mutasyonların neden olma olasılığı ile açıklanabilir.

5.2. Antropometrik ölçümler

İntrauterin başlangıçlı ağır boy kısalığı, incelenen sendromların (Silver Russell, 3M, SHORT, Dubowitz, Malubrey nanizm, Bloom, Floating Harbor gibi) ortak bulgusudur.

Çalışmamıza alınan Silver Russell Sendromu tanımlı hastaların ortalama doğum boyu -3,06 SDS, doğum kilosu -3,22 SDS ve doğumdaki baş çevresi ise -0,24 SDS idi. Hastaların başvurularında ise ölçülen ortalama boy -4,07 SDS, kilo -4,85 SDS ve baş çevresi -2,0 SDS olup literatürdeki bildirimlere benzerdi. SRS'nin genetik heterojenitesi nedeniyle doğum boyu 35 ile 50 cm arasında ve doğum kilosu da 1200g. ile 2500g. arasında değişebilmektedir (17). Silver Russell Sendromunun temel özelliklerinden olan intrauterin başlangıçlı boy kısalığı çalışma grubumuzdaki hastalarda da belirgindi. Silver Russell Sendromunun diğer karakteristik özelliklerinden biri olan "rölatif makrosefali"; baş çevresi SDS değerinin, boy SDS değerinden +1 SDS ve üzerinde olması olarak tanımlanır. Rölatif makrosefali de hasta grubumuzda literatüre uyumlu olarak belirgindi (11,17).

3-M Sendromu tanılı hastaların ortalama doğum boyu -4,27 SDS, doğum kilosu -2,96 SDS ve doğumdaki baş çevresi ise -0,19 SDS idi. Hastaların başvurularında ölçülen ortalama boyu -4,57 SDS, kilosu -3,37 SDS ve baş çevresi -0,71 SDS olup literatürle uyumluydu. 3-M Sendromunun temel bulgularından olan intrauterin başlangıçlı boy kısalığı ve rölatif makrosefali literatürdeki değerlerle uyumluydu (17,135).

SHORT Sendromu tanılı hastaların ortalama doğum boyu -2,32 SDS, doğum kilosu -2,28 SDS ve doğumdaki baş çevresi ise -2,15 SDS idi. Hastaların başvurularında ölçülen ortalama boyu -4,10 SDS, kilosu -3,85 SDS ve baş çevresi -2,65 SDS olup literatürle uyumluydu (169,170).

Klinik olarak Floating Harbor Sendromu tanılı hastanın doğum boyu -1,09 SDS ve doğum kilosu -1,83 SDS idi. Hastanın başvurusunda ölçülen boyu -2,81 SDS, kilosu -4,17 SDS ve baş çevresi -3,86 SDS olup literatürle uyumluydu (17,171).

UPD-14 Sendromu tanılı hastanın doğum boyu -3,01 SDS, doğum kilosu -3,41 SDS ve doğum baş çevresi -1,81 SDS idi. Hastanın başvurusunda ölçülen boyu -2,53 SDS, kilosu -3,74 SDS ve baş çevresi -2,44 SDS olup literatürle uyumluydu (172).

Bilinmeyen Sendromik hastaların ortalama doğum boyu -2,11 SDS, ortalama doğum kilosu -3,07 SDS ve ortalama doğumdaki baş çevresi ise -2,08 SDS idi. Hastaların başvurularında ölçülen ortalama boyu -3,56 SDS, ortalama kilosu -4,04 SDS ve ortalama baş çevresi -4,20 SDS idi. Olasılıkla farklı genetik etyolojileri olan bu hastaların ortak özelliği intrauterin başlangıçlı boy kısalıklarının olmasıydı. Ölçüm değerlerinin ortalamalarının bir hastalığa ait anlamlı bir sonuç veremeyeceği düşünüldü.

İdiopatik Boy Kısalığı olan hastaların ortalama doğum boyu -3,22 SDS, ortalama doğum kilosu -2,55 SDS ve ortalama doğumdaki baş çevresi ise -1,05 SDS idi. Hastaların başvurularında ölçülen ortalama boyu -3,52 SDS, ortalama kilosu -2,55 SDS ve ortalama baş çevresi -2,92 SDS idi. Normalin varyantı boy kısalıklarından olarak kabul edilen bu grubun değerleri literatürle uyumluydu (168).

5.3. Kromozom 11p15 bölgesinin metilasyon değişikliğinin irdelenmesi

Bir hücre grubunda veya organda yoğun eksprese edilen bir genin mutasyonu o dokuya özgü fenotipik özellikler gösterebilirken, tüm hücrelerce kullanılan bir yolağın kontrol genin mutasyonu veya epigenetik düzenlenmesi sistemik etkilere neden olabilir. Etyolojileri tam olarak aydınlatılamamış hastalıkların ortak patogenezinde fetal dönemdeki epigenetik faktörlerin etkili olabileceği ileri sürülmüştür (173). Tanımlı genlerin mutasyonları dışında epigenetik mekanizmalar da gen bölgelerinin nükleotid dizilimini değiştirmeden genlerin ekspresyonunu düzenleyerek boy kısalığına neden olurlar. Metilasyon en iyi tanımlanmış epigenetik mekanizmadır. Sendromlara sıklıkla eşlik eden fetal plasental yetersizlikler; metilasyon düzenlemeleriyle büyüme geriliği ve metabolik sorunlar gibi ortak bulgular geliştirebilir. 11p15.5 gen bölgesindeki metilasyonun azalması, intrauterin başlangıçlı boy kısalığının en fazla tanımlanmış epigenetik bozukluktur. Silver Russel sendromlu olguların %35-65 sinde 11p15 bölgesine lokalize fetal dönem büyüme faktörü olan insulin-like growth factor II (*IGF2*) geninde metilasyon azlığı vardır. 11p metilasyon bozukluğu izole İUBK'de de saptanmaktadır (11-15). Ayrıca bir çalışmada 3-M sendromlu olgularda 11p15 kontrol bölgesinin bozukluğunun boy kısalığından sorumlu olabileceği bildirilmiştir (16). İnsan genomunun %1-2'lik kısmını oluşturan metilasyon düzenlemelerinin gerçekleştiği CpG adacıklarının metilasyon bozuklukları bir bölgede sınırlı olabileceği gibi birden fazla bölgenin de bozukluğunun görüldüğü bir sendromun parçası olabilir. Silver Russell Sendromuna yol ačan 11p15 bölgesi hipometilasyonuna; %7 oranında diğer alanlarda da hipometilasyonun eşlik ettiği gösterilmiştir (14). Ayrıca SRS hastalarında tüm genom metilasyonu taranmış 11p lokusunun yanı sıra 2 ayrı lokusta (*RB1* ve *ANRK1* genleri) hipermetilasyon bildirilmiştir (174).

İntrauterin büyüme geriliği yapan Yenidoğanın Geçici Diabetes Mellitusu (TNDM) Sendromunda da 11p15.5 hipometilasyonun yanı sıra 6q24 bölgesinin hipometilasyonuna saptanmıştır (175). Bu bilgilerden yol çıkarak boy kısalığının eşlik ettiği diğer sendromların etyolojisinde de 11p15 bölgesinin epigenetik düzenlenmesinin rol alabileceği hipotezi kuruldu. SRS yanı sıra diğer İUGG yapan sendromlar ve idiyopatik hasta grubunda MS-MLPA tekniği ile 11p15 bölgesinin metilasyon azlığının varlığı incelendi.

Altmış beş hastanın 11p15 bölgesinin, MS-MLPA tekniği ile metilasyon analizinde; 14 SRS tanılı hastanın tamamında metilasyon azlığı gösterilirken, diğer hasta gruplarında 11p15 bölgesinin metilasyon düzeyi normal olarak değerlendirildi.

Metilasyon analizi hipometile olarak sonuçlanan 14 SRS'li hastanın 5'inin DNA'sında borderline hipometilasyon gösterildi. Bu durum literatürde mozaik hipometilasyon olarak da isimlendirilen 11p15 bölgesinin metilasyon değişkenliği idi (14,122) ve SRS özgü tipik yüz bulguları ve ciddi boy kısalığı olmaksızın daha fazla hemihipertrofi olan hastalardan oluşmaktaydı. Bizim borderline hipometile olan hastalarımızın klinik bulguları SRS'nin tipik bulguları idi.

Literatürdeki bahsedildiği gibi 3 M ve bilinmeyen sendromlu hastalarda veya idyopatik boy kısalığı grubunda metilasyon azlığı bulamadık. Bunun nedeni hastaların klinik olarak çok iyi incelenip doğru tiplenmesi olabildiği gibi; hasta sayısının azlığına veya çalışma grubumuzdaki sendromların intrauterin boy kısalığına 11p15 bölgesinin epigenetik düzenlenmesi dışındaki mekanizmalarla neden oluşundan kaynaklanabilir.

5.4. Hasta gruplarına göre klinik özellikler

Intrauterin boy kısalığına neden olan sendromların kliniğinde sendroma özel bulgular görülebildiği gibi; erişkin tip metabolik hastalıklar ve kanserlerin sıklığında artış gibi ortak klinik bulgular da bulunabilir.

5.4.1. Silver Russell Sendromu

SRS hastalarında üçgen yüz, belirgin alın çıkıklığı, çenede gamze ve ağız köşelerinin aşağı yönlü oluşuyla karakterize tipik yüz bulgular görülür. SRS tanısı için kullanılan kriterlerin katı/kısıtlı oluşu veya genelleşici/geniş oluşu SRS tanısının ya atlanmasına ya da gereğinden fazla konulmasına neden olabilir. Literatürde SRS kriterlerini kısmen karşılayan boy kısalıkları için SRS benzeri sendromlar tanımı kullanılmaktadır. Bizim çalışmamızda moleküler tanılı SRS hastalarının tamamında tipik yüz bulguları bulunmaktaydı. Literatürde hipometilasyonlu SRS hastalarında belirgin alın çıkıklığı bulgusu %88, üçgen yüz bulgusu %77 ve ağız köşelerinin aşağı yönlü olması %55 oranında bildirilmiştir (11). Bu çalışmalarda tipik yüz bulgularının bizim çalışmamıza göre az olması ve aynı zamanda hastaların %30'nda bir neden bulunamaması Silver Russel benzeri olguların çalışmalara dahil edilmesi nedeniyle

olabilir. Klinodaktili, SRS'li hastalarda %75 sıklıkta görülen bir iskelet bulgusudur. Çalışmamızdaki hastaların %78 'inde klinodaktili görülmüş olup literatürle uyumludur. Literatürde %25 olarak bildirilmiş simian çizgisi hastaların %42'sinde görülmüştür (11,15). Bu oran rastlantısal olabileceği gibi hasta sayısının azlığı ile de ilişkili olabilir. 1 hastada (%7,14) Cafe au Lait lekesi görüldü. Ayrıca 1 hastada gözde pitozis ve 1'inde de kulak anomalisi mevcuttu. Hipospadias, inmemiş testis ve inguinal herni varlığı literatürde %50'ye yakın oranda bildirilmiştir. Çalışma grubumuzda 10 erkek SRS'li hastanın 5'inde ürogenital anomali (4 hastada inmemiş testis, 2'sinde hipospadias ve 1'inde de inguinal herni) mevcut olup literatürle uyumluydu (133).

SRS'li çocuklarda kemik yaşı gelişimi genellikle geridir ve hiyerarşi bozulmuştur. Çalışmamızdaki hastalarda da benzer şekilde %50 oranında kemik yaşı geriliği görüldü.

Hemihipertrofi 5 hastada mevcuttu. Hemihipertrofi hastaların metilasyon özelliği incelendiğinde; 4'ünün hipometile ve 1'inin borderline hipometile MS-MLPA sonucu olduğu görüldü. SRS'de hemihipotrofi 11p15 borderline hipometilasyonu ile ilişkilendirilmiştir (14). Çalışmamızda hemihipotrofi; 4 hipometile SRS'li ve 1 borderline SRS'li hastada görülmüş olup sıklık açısından aralarında anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,580$). Çalışmamızda hemihipotrofinin, hipometile grupta fazla görülmesi rastlantısal veya hasta sayısının azlığına bağlı olabilir. Literatürle uyumlu olarak çalışmamızdaki hipometile ve borderline gruplar arasında doğum/başvuru/takip ölçümleri (boy-kilo-baş çevresi ortalama SDS), tipik yüz bulgularının sıklığı ve kemik bulgularının sıklığı açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır.

5.4.2. Üç-M Sendromu

3-M Sendromunun SRS ile intrauterin başlangıçlı boy kısalığı ve relatif makrosefali gibi temel ortak klinik bulguları vardır. 3-M Sendromu bazı bildirimlerde SRS benzeri Sendromlar içerisinde tanımlanmaktadır. Ancak 3-M Sendromu hastalarında üçgen yüz, belirgin alın çıkıklığı, burun kökü basıklığı ve kalın dudaklar ile karakterize tipik yüz bulgular görülür. Çalışmamızdaki 14 3-M sendromu tanımlı hastanın büyük çoğunluğunda literatürle uyumlu olarak üçgen yüz, belirgin alın çıkıklığı ve burun kökü basıklığı; sırasıyla 11 (%78,5), 10 (%71,4) ve 9 (%64) hastada mevcuttu.

Sendromun karakteristik bulgularından olan çekiç topuk deformitesi literatürle uyumlu olarak 10 hastada (%71) bulunmaktaydı.

3-M sendromunda; uzun kemiklerde incelme, metafizlerde düzensizlik ve vertebralarda uzunluk artışı gibi kemik bulgularına hipermobilitate gibi eklem bulguları da sıklıkla eşlik eder. Literatürle uyumlu olarak çalışma grubumuzdaki hastalarda da uzun kemiklerde ve vertebralarda grafi bulgusu 5 hastada (%35) varken 7'sinde(%50) hipermobilitate mevcuttu. Sendromda daha nadir olarak bildirilmiş; klinodaktili 14 hastanın 5'inde, simian çizigisi 3'ünde ve Cafe au Lait lekeleri 2'sinde mevcuttu.

Otozomal resesif geçişli 3-M Sendromunun genetik etyolojisinde CUL-7, OBSL1 ve CCDC8 genlerinin mutasyonları bulunur. Çalışma grubumuzda bulunan CUL-7 gen mutasyonu olan 5 hastanın ve OBSL-1 geni mutasyonu olan 6 hastanın klinik bilgileri karşılaştırılarak değerlendirildiğinde; doğum/başvuru ölçümleri(boy-kilo-baş çevresi ortalama SDS), tipik yüz bulgularının sıklığı, çekiç topuk, hipermobilitate ve kemik bulgularının sıklığı açısından anlamlı farklılık bulunmadı (16,17).

5.4.3. SHORT Sendromunun klinik özelliklerinin irdelenmesi

SHORT Sendromu tanılı 7 olgunun 5'inde üçgen yüz görünümü, 4'ünde çıkık alın bulgusu ve 3'ünde çenede gamze ile karakterize tipik yüz bulguları vardı. Yüz bulguları, literatürde az sayıda bildirilmiş SHORT sendromlu olgularla benzer sıklıktaydı. Sendromun temel özelliklerinden olan hipermobilitate literatürle uyumlu olarak yüksek oranda mevcuttu. Sendromla temel bulgularından olan Rieger anomalisi 1 hastada mevcuttu (176). Sendromun bir diğer temel bulgusu olan diş çıkmasının gecikmesi ve diş çürüklerinin varlığı incelendiğinde olguların 1'inde diş çıkmasında gecikme, 2'sinde amelogenesis imperfekta ve 2'sinde de diş çürükleri olduğu görüldü. Bu durum sendromun özellikleri ile uyumluydu. Kemik yaşı geriliği sendroma eşlik edebilecek kliniklerden biri olarak bildirilmiştir (177). Hastaların 6'sında kemik yaşı geriliği, literatüre uyumlu olarak gözlendi. Sendromun tipik özelliği olarak tanımlanmamış klinodaktili 4 hastada, Cafe au Lait lekesi 2 hastada ve simian çizigisi 1 hastada mevcuttu. Sendromla tarif edilmemekle birlikte çalışma grubumuzdaki 7 hastanın 6'sını oluşturan erkeklerin 3'ünde hipospadias ve inmemiş testis birlikteliği, 1 hastada ise izole hipospadias vardı.

5.4.4. Nadir sendromik

Bilinmeyen nedenli intrauterin geriliği olan hastalarda 6,7 ve 14.cü kromozomun UPD rastlanabileceği bilinmektedir. 11p15 bölgesinde metilasyon araştırılıp negatif bulduğumuz bu grup hastalarında MLPA yöntemi ile bu kromozomların UPD varlığı araştırıldı, bir hastada 14q maternal UPD saptandı. Temple sendromu olarak bilinen bu bozukluktaki tipik bulgulardan olan prenatal/postnatal büyüme geriliği, relatif makrosefali, kostalarında çan görünümü, yarık damak ve eklemlerde hiperelastite hastamızda da mevcuttu. (163).

Floating Harbor Sendromu tanıli hastamızda sendromun tipik bulgularından olan üçgen yüz, uzun kirpikler, kostalarda çan görüntüsü ve nefrokalsinozisi vardı.

5.4.5. Bilinmeyen Sendromlu olguların klinik özelliklerinin irdelenmesi

Ortak özellikleri intrauterin büyüme geriliği olan sendromik olgular heterojen bir kliniğe sahipti. 11p15 bölgesinde metilasyon araştırılıp yukarıda bahsedilen bir olguda 14.cü kromozomun UPD'si bulundu. Bu olguların tanısına yönelik array ve dizileme çalışmaları her olguya özgü olarak planlandı.

5.5. İntrauterin Başlangıçlı Boy Kısalmaları Olan Olguların Ortak Özelliklerinin İrdelenmesi

İntrauterin dönemde karşılaşılan stresin memeli fetüslerinin büyümesinin kısıtlanması ile sonuçlandığı gözlenmiştir. “Hayatta kalabilmek için boyutça küçülme teorisi” olarak isimlendirilen bu durumun epigenetik (özellikle de metilasyon) mekanizmalarının kontrolünde gerçekleşmektedir. Stresle karşılaşan fetüslerin erişkin hayatta diyabet, hipertansiyon, kardiyak sorunlar, hiperkoagülopati, dislipidemi ve osteoporoz gelişme riski artmıştır (178). Çalışma grubumuzu oluşturan intrauterin başlangıçlı boy kısalıklı olgularda;

a.Dislipidemi ve insülin direnci: Çalışma grubumuzu oluşturan intrauterin başlangıçlı boy kısalıklı olgularda incelendiğinde; 2 olguda dislipidemi görülmüştür. Olgulardan ilki klinik SHORT Sendromu tanıli bir erkek hastaydı. İkinci dislipidemik olguyu İdiopatik izole boy kısalığı tanısı vardı ve kliniğine insülin direnci de eşlik etmekteydi.

Olguların insülin direnci incelendiğinde; İdiopatik izole boy kısalığı tanılı 4 , SRS tanılı 1 ve Belirlenemeyen Sendromik tanılı 1 olgu olmak üzere toplam 6 olguda artmış bir oranda (%9,23) insülin direnci vardı.

SRS gibi ciddi intrauterin gelişim geriliği ve ağır boy kısalığı olan sendromlarda metabolik hastalıklar ve kanserin sık görüldüğü bildirilmiştir. Çalışmalarda fetal strese bağlı gelişen ek patolojilerin erişkin yaşlarda bulgu verdiği bildirilmiştir. Çalışma grubumuzda 6 hastada insülin direncinin artışı ve 1 hastada dislipideminin görülmesi metabolik hastalık sıklığının artışı yönünde değerlendirilebilir ayrıca hastalarımızın çocuk çağlarında oluşu nedeniyle uzun dönemde gelişebilecek metabolik hastalıklar yönünden izlemleri; daha doğru sonuçların elde edilmesini sağlayabilir. (173,17,179,180) İntrauterin gelişim geriliğine yol açan sendromlarda görülen büyüme geriliği mekanizmaları ile strese maruz kalan embriyolarda görülen büyüme geriliği mekanizmalarının ortaklıklarının ve ayrımlarının yapılabilmesi; belirlenmiş kriterlerle seçilmiş geniş hasta gruplarının izlem ve incelenmesini gerektirmektedir.

b. Hiperkalsiüri: Çalışma grubumuzda 8 hastada (%12,3) hiperkalsiüri veya nefrokalsinozis tespit edilmiştir. Olgulardan 4'ü belirlenemeyen Sendromik hastalık grubunda izlenmekteydi. Literatürde intrauterin büyüme geriliklerinin ve fetal stresin çocukta hiperkalsiüri görülme sıklığını arttırdığı bildirilmiştir (181). Kalsiürinin gelişiminin; anneyi etkileyen stresin maternal glukokortikoid salınımını arttırmasına bağlı olabileceği, fetüsün yeterli besinsel aminoasit alamamasına bağlı olabileceği veya intrauterin büyüme geriliği olan çocuklarda sıklığı artmış metabolik patolojilere (metabolik/osteoporoz/hipertansiyon/tip-2 DM) neden olan tam olarak aydınlatılamamış mekanizmalara bağlı olabileceği bildirilmiştir (181). Çalışma grubumuzda annede fetal stres ve besinsel kısıtlılık olmadığı göz önüne alındığında, yüksek oranda görülen hiperkalsiürinin intrauterin büyüme geriliklerinde gözlenen metabolik patolojilere neden olan ortak mekanizmalara bağlı olabileceği düşünülmektedir.

c. Mental durum: Çalışma grubumuzda 12 hastada (%18,4) mental gerilik görülmüştür. Silver Russel Sendromu ve İdiopatik izole boy kısalığı olan olgularda mental gerilik literatürle uyumlu olarak görülmezken, sendromun özelliklerinde mental gerilik bildirilmeyen SHORT Sendromlu 3 hastada mental gerilik belirlenmiştir. Bu durum SHORT Sendromunun etyolojisi ve kliniği hakkında kısıtlı bildirimlerin olmasına veya hastaların SHORT sendromuna benzer bir sendromlarının olmasına bağlı

olabilir. Dokuz sendromik hastada (7 belirlenemeyen Sendromik, 1 3-M Sendromlu ve 1 nadir Sendromik olgu) görülen mental geriliğin sendromlarına ait klinik bir özellik olabileceği düşünüldü.

d.Endokrin özellikler: Çalışma grubumuzda 3 hastada (3M sendromlu 1 hastada ve SHORT sendromlu 2 hasta) hipotiroidi saptandı. Literatürde fetal stress ve postnatal hipotiroidi ilişkisini açıklayıcı bildirim bulunmasa da düşük doğum ağırlığının timus ve pankreas gibi endokrin organların azalmış hacmiyle birlikteliği tanımlanmıştır (182). Olgularımızda görülen hipotiroidi rastlantısal olabileceği gibi intrauterin gelişme geriliğine de bağlı da olabilir.

Endokrinoloji kliniği ile ortak takip ettiğimiz hastaların 21'i (%32,3) büyüme hormonu tedavisini bir süre almış veya halen almaktaydı. İdiopatik izole boy kısalığı olan 3 hastanın, Silver Russel sendromlu 3 hastanın, 3-M sendromlu 8 hastanın, Short sendromlu 3 hastanın Bilinmeyen sendromik hasta grubundan 2 hasta olmak üzere toplam 21 hastanın GH tedavisi almakta olduğu veya bir dönem kullandığı öğrenildi. Boy kısalığı nedeniyle hastalarda araştırılan hastalarda altta yatabilecek bir neden gösterilemediğinde büyüme hormonu uyarı testleri ve BH yanıtı değerlendirilmektedir. Silver Russell Sendromu ve 3-M Sendromu gibi İUBK'lerde BH tedavisinin kullanımı literatürde kabul görmüş bir tedavi yaklaşımıdır (183).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Çalışmamız kapsamında incelenen intrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan 65 kişilik çalışma grubu; 14 Silver Russell, 14 3-M, 7 SHORT, 1 Floating Harbor, 1 UPD-14 sendromlu hasta, 12 bilinmeyen sendromik hasta ve idiyopatik intrauterin boy kısalığı olarak izlenen 16 hastadan oluşmakta idi. Çalışma grubundaki 65 hastanın %43'ü kız , %56,9'u erkekti. Ortalama başvuru yaşı 65,5 aydı. Akraba evliliği oranı topluma göre çok fazlaydı (%50.7), otozomal resesif geçişli 3M sendromu grubunda daha da yüksekti (%78).

2- 65 hastada MS-MLPA yöntemiyle 11.ci kromozom p15 bölgesinde metilasyon derecesi incelendi. Silver Russell Sendromlu 14 hastanın hepsinde 11p15 bölgesinde ICR-1'de metilasyon azlığı saptandı. Bu hastaların 9'unun 11p15.5 bölgesi hipometile; 5'inin ise borderline hipometile olduğu gösterildi. Hipometile SRS'li 9 olgunun ve borderline hipometile 5 SRS'li olgunun klinik bulguları arasında anlamlı farklılık olmadığı gösterildi. Hemihipetrofi, hipometile SRS'li 9 olgunun 4'ünde; borderline hipometile 5 SRS'li olgunun 1'inde saptandı. Bir çalışmada 11p15 bölgesinde borderline hipometilasyon saptanan hastaların çoğunluğunda tipik Silver Russel sendromu bulgularından ziyade hemihipetrofi gözleendiği için araştırmamızın devamı olarak hemihipetrofi ile birlikte boy kısalığı olan hastalarda 11p15 bölgesinin metilasyonunun değerlendirileceği bir çalışma planlandı.

3- Diğer hasta gruplarında 11p15 bölgesinin metilasyonu normal bulundu. Bunun nedeni olarak hastaların klinik değerlendirilmesi ve tiplendirilmesinin çok iyi yapıldığı ve/veya hasta sayısının azlığı olarak yorumlandı.

4. Hastaların klinik bulgularının değerlendirilmesi sonucunda;

Silver Russel sendromlu hastalarda tipik yüz bulguları tüm hastalarda saptandı, hipometilasyon ve borderline hipometilasyon olan hastalar arasında klinik farklılık saptanmadı. Bu sendromun klinik tanısında yüz bulgularının önemi gösterildi.

CUL-7 geninde mutasyon olan 3-M Sendromlu 5 hasta ile OBSL-1 geninde mutasyon olan 3-M Sendromlu 6 hasta arasında klinik özellikler açısından farklılık olmadığı gösterildi.

5. Çalışma grubunda olgularda %12,3 hiperkalsiüri ve %9,23 insülin direnci saptandı.

İntrauterin başlangıçlı boy kısalığı olan sendromik veya nonsendromik hastalar obezite, diyabet, hipertansiyon, nefrolasinosiz, kardiyak hastalıklar, pıhtılaşma bozuklukları, dislipidemi, kanser ve osteoporoz gibi sistemik hastalıklar riski yönünden takip ve tetkik edilmesi önerildi.



7. KAYNAKLAR

- 1 Klingseisen A, Jackson AP. Mechanisms and pathways of growth failure in primordial dwarfism. *Genes and development* 2011; 25:2011–2024.
- 2 Neyzi O, Bundak R, Darendeliler F, Günöz H. Büyüme Gelişme ve Bozuklukları. In: Neyzi O, Ertuğrul T, editors. *Pediyatri*. Cilt 1. 4.baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2010: 89-149.
- 3 Gunoz H. Buyume Bozuklukları. In: Gunoz H, Ocal G, Yordam N, Kurtoğlu S, editors. *Pediyatrik Endokrinoloji*. 1st ed. Ankara: Pediyatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları 1; 2003:65-135
- 4 Tuysuz B. Syndromic Short Stature and Overgrowth Disorders. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2011;7(2):39-46
- 5 Baron J, Savendahl L, De Luca F, et al. Short and tall stature: a new paradigm emerges. *Nat Rev Endocrinol* 2015;11:735-746
- 6 Imbert-Bouteille M, Mau Them FT, Thevenon J, et al. LARP7 variants and further delineation of the Alazami syndrome phenotypic spectrum among primordial dwarfisms: 2 sisters. *Eur J Med Genet* 2018
- 7 Khetarpal P, Das S, Panigrahi I, Munshi A. Primordial dwarfism: overview of clinical and genetic aspects. *Mol Genet Genomics* 2016; 291:1–15.
- 8 Bora G, Yurter HE. Epigenetik hastalıklar ve tedavi yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2007; 38:48-54.
- 9 Azzi S, Brioude F, Le Bouc Y, Netchine I. Human imprinting anomalies in fetal and childhood growth disorders: clinical implications and molecular mechanisms. *Curr Pharm Des* 2014;20:1751-1763
- 10 Abu-Amero S, Wakeling EL, Preece M, Whittaker J, Stanier P, Moore GE. Epigenetic signatures of Silver Russell syndrome. *J Med Genet* 2010;47:150-154.
- 11 Eggermann T. Russell–Silver Syndrome. *Am J Med Genet Part C* 2010;154C:355–364.
- 12 Abu-Amero S, Monk D, Frost D, Preece M, Stanier P, Moore GE. The genetic aetiology of Silver–Russell syndrome. *J Med Genet* 2008;45:193–199.
- 13 Prickett AR, Ishida M, Bohm S, Frost JM, Puszyk W, Abu-Amero S, et al. Genome-wide methylation analysis in Silver-Russell syndrome patients. *Hum Genet* 2015;134:317–332.
- 14 Eggermann T, Begemann M, Binder G, Spengler S. Silver-Russell syndrome: genetic basis and molecular genetic testing. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:19

- 15 Netchine I, Rossignol S, Dufourg MN, Azzi S, Rousseau A, Perin L, et al. 11p15 Imprinting Center Region 1 Loss of Methylation Is a Common and Specific Cause of Typical Russell-Silver Syndrome: Clinical Scoring System and Epigenetic-Phenotypic Correlations. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007;92(8):3148–3154.
- 16 Murray PG, Hanson D, Coulson T, Stevens A, Whatmore A, Poole RL et al. 3-M syndrome: a growth disorder associated with IGF2 silencing. *Endocr Connect* 2013;2(4):225–235.
- 17 Hall JG. Review and hypothesis: syndromes with severe intrauterine growth restriction and very short stature--are they related to the epigenetic mechanism(s) of fetal survival involved in the developmental origins of adult health and disease? *Am J Med Genet A*. 2010;152A(2): 512-527.
- 18 Hall BK. The embryonic development of bone. *Am Sci* 1988;76:174–181.
- 19 Osborn ML, Dewitt GT, Fisrt RL. Pediatrics. In: Yurdakok M, editor. *Pediatrici. Cilt 1*. İstanbul: Guneş Kitabevi, 2007:31-36.
- 20 Karlberg J, Engstrom I, Karlberg P, Fryer JG. Analysis of linear growth using a mathematical model. I. From birth to three years. *Acta Paediatr Scand* 1987;76(3):478-88.
- 21 Marouli E, Graff M, Medina-Gomez C, Lo KS, Wood AR, Kjaer TR, et al. Rare and low-frequency coding variants alter human adult height. *Nature* 2017;542(7640):186-190.
- 22 Michigami T. Regulatory mechanisms for the development of growth plate cartilage. *Cell Mol Life Sci* 2013;70:4213-4221
- 23 Alkuraya FS. Primordial dwarfism: an update. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2015;22:55-64
- 24 Rosenbloom AL. Idiopathic short stature: conundrums of definition and treatment. *Int J Pediatr Endocrinol* 2009;2009:470378
- 25 Ouni M, Castell AL, Rothenbuhler A, Linglart A, Bougneres P. Higher methylation of the IGF1 P2 promoter is associated with idiopathic short stature. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2016;84:216-221
- 26 Andrade AC, Jee YH, Nilsson O. New Genetic Diagnoses of Short Stature Provide Insights into Local Regulation of Childhood Growth. *Horm Res Paediatr* 2017;88:22-37
- 27 Bens S, Haake A, Richter J, et al. Frequency and characterization of DNA methylation defects in children born SGA. *Eur J Hum Genet* 2013;21:838-843
- 28 Kagami M, Nagai T, Fukami M, Yamazawa K, Ogata T. Silver-Russell syndrome in a girl born after in vitro fertilization: partial hypermethylation at the differentially methylated region of PEG1/MEST. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:131-136

- 29 Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004;429:457-463
- 30 Kiefer JC. Epigenetics in development. *Dev Dyn* 2007;236:1144-1156
- 31 Mittelstrass K, Waldenberger M. DNA methylation in human lipid metabolism and related diseases. *Curr Opin Lipidol* 2018;29:116-124
- 32 Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, et al. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature* 2009;462:315-322
- 33 Holliday R, Pugh JE. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 1975; 187(4173):226-232.
- 34 Cui X, Jing X, Wu X, et al. DNA methylation in spermatogenesis and male infertility. *Exp Ther Med* 2016;12:1973-1979
- 35 Schönherr N, Meyer E, Eggermann K, Ranke MB, Wollmann HA, Eggermann T. (Epi)mutations in 11p15 significantly contribute to Silver-Russell syndrome: but are they generally involved in growth retardation? *Eur J Med Genet* 2006;49:414-418.
- 36 Robertson KD. DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet* 2005;6:597-610
- 37 Jin B, Li Y, Robertson KD. DNA methylation: superior or subordinate in the epigenetic hierarchy? *Genes Cancer* 2011;2:607-617
- 38 Kudo Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Asaoka Y, Ijichi H. *Cancer Sci.* Loss of 5-hydroxymethylcytosine is accompanied with malignant cellular transformation. 2012;103(4):670-676.
- 39 Rose NR, Klose RJ. Understanding the relationship between DNA methylation and histone lysine methylation. *Biochim Biophys Acta* 2014;1839:1362-1372
- 40 Shii Y, Eisenman RN. Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:13225-13230
- 41 Kuo MH, Allis CD. Roles of histone acetyltransferases and deacetylases in gene regulation. *Bioessays* 1998;20:615-626
- 42 Dokmanovic M, Clarke C, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: overview and perspectives. *Mol Cancer Res* 2007;5:981-989
- 43 Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet* 2012;13:343-357
- 44 Baylin SB. DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005;2 Suppl 1:S4-11
- 45 Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res* 2011;90:430-440

- 46 Hammond SM. An overview of microRNAs. *Adv Drug Deliv Rev* 2015;87:3-14
- 47 Cai Y, Yu X, Hu S, Yu J. A brief review on the mechanisms of miRNA regulation. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2009;7:147-154
- 48 Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6:259-270
- 49 Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, et al. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004;432:226-230
- 50 Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:5813-5818
- 51 Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 2005;309:1577-1581
- 52 Carthew RW, Sontheimer EJ. Origins and Mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell* 2009;136:642-655
- 53 Khadilkar VV, Frazer FL, Skuse DH, Stanhope R. Metaphyseal growth arrest lines in psychosocial short stature. *Arch Dis Child* 1998;79:260-262
- 54 Parkin JM. The Short Child. In: Brook CGD, editor. *Clinical Pediatric Endocrinology*. 2nd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications; 1989:96-117
- 55 Wit JM, Ranke MB, Kelnar CJG. ESPE Classification of Paediatric Endocrine Diagnoses. *Horm Res* 2007; 68(Suppl. 2):1-120
- 56 Bundak R. Boy Kısalığı. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi* 2008;2:58-64.
- 57 Cohen LE. Short Stature. *JAMA* 2014;311(17):1822.
- 58 Turan S, Bereket A, Omar A, Berber M, Ozen A, Bekiroglu N. Upper segment/lower segment ratio and armspan-height difference in healthy Turkish children. *Acta Paediatrica* 2005;94:407-413.
- 59 Bundak R, Bas F, Furman A, et al. Sitting height and sitting height/height ratio references for Turkish children. *Eur J Pediatr* 2014;173:861-869.
- 60 Bundak R. Normal Buyume. In: Gunoz H, Ocal G, Yordam N, Kurtoğlu S. editors. *Pediatric Endocrinoloji*. 1st ed. Ankara: Pediatric Endocrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları; 2003:39-64.
- 61 Darendeliler F, Bundak R, Boy Kısalığına Yaklaşım, *Güncel Pediatri Dergisi*, 2005,49-52.
- 62 Neyzi O, Günozü H, Furman A, Bundak R, Gökçay G, Darendeliler F, Baş F. Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2008;51:1-14.

- 63 Bundak R, Neyzi O. Büyüme. In: Neyzi O, Ertuğrul T (editors). *Pediatri 1. Üçüncü Baskı*. İstanbul: Nobel, 2002:79- 99.
- 64 Lifshitz F, Botero D. Growth and growth disorders. In: Lifshitz F. editor. *Pediatric Endocrinology*. 4th edition. Newyork: Marcel- Dekker, 2004:1-18.
- 65 Vimpani GV, Vimpani AF, Lidgard GP, Cameron EH, Farquhar JW. Prevalence of severe growth hormone deficiency. *Br Med J* 1977;2:427-430.
- 66 Song KC, Jin SL, Kwon AR, Chae HW, Ahn JM, Kim DH, et al. Etiologies and characteristics of children with chief complaint of short stature. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 2015;20:34-39.
- 67 Zafer Y, Kandemir N, Yordam N. Boy kısalığının etiyolojik dağılımı: 1013 vakanın incelenmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1999;42:205-213.
- 68 Orbak Z, Altinkaynak S, Energin M, Özkan B, Selimoğlu M, Alp H. Prevalence and etiological classification of short stature in the primary schools in Erzurum. *Turk J Med Sci* 1995;24:113-117.
- 69 Wit JM, Clayton PE, Rogol AD, Savage MO, Saenger PH, Cohen P. Idiopathic short stature: definition, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Growth Horm IGF Res* 2008;18(2): 89-110.
- 70 Orioli IM, Castilla EE, Barbosa-Neto JG. The birth prevalence rates for the skeletal dysplasias. *J Med Genet* 1986;23(4):328-332.
- 71 Warman ML, Cormier-Daire V, Hall C, Krakow D, Lachman R, LeMerrer M, et al. *Nosology and Classification of Genetic Skeletal Disorders: 2010 Revision*. *Am J Med Genet A*. 2011;155(5):943–968.
- 72 Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK. Introduction. In: Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK editors. *Bone Dysplasias 2nd ed*. New York: Oxford University Press, 2002;p.9-14.
- 73 Waller DK, Correa A, Vo TM, Wang Y, Hobbs C, Langlois PH, et al. The Population-Based Prevalence of Achondroplasia and Thanatophoric Dysplasia in Selected Regions of the US. *Am J Med Genet A* 2008;15;146A(18): 2385–2389.
- 74 Bellus GA, Hefferon TW, Ortiz de Luna RI, Hecht JT, Horton WA, Machado M, et al. Achondroplasia Is Defined by Recurrent G380R Mutations of FGFR3. *Am. J. Hum. Genet*. 1995;56:368-373.
- 75 Tuysuz B, Cogulu O. Skeletal Dysplasias. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2005;1(2):93-100.
- 76 Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK. Achondroplasia. In: Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK, editors. *Bone dysplasias: an atlas of genetic disorders of skeletal development*. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2002:83-89.

- 77 Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK. Hypochondroplasia. In: Spranger JW, Brill PW, Poznanski AK, editors. Bone dysplasias: an atlas of genetic disorders of skeletal development. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2002:591-593.
- 78 van der Poest Clement EA, Yang E, Holm I, Peters JM. Hypochondroplasia and epilepsy: the neurological spectrum of FGFR3 mutations. *JM-JICNA* 2017;17:100.
- 79 Palmucci S, Attinà G, Lanza ML, Belfiore G, Cappello G, Foti PV, et al. Imaging findings of mucopolysaccharidoses: a pictorial review. *Insights Imaging* 2013;4(4):443-459.
- 80 Tiede S, Storch S, Lübke T, Henrissat B, Bargal R, Raas-Rothschild A, Braulke T. Mucopolysaccharidosis II is caused by mutations in GNPTA encoding the alpha/beta GlcNAc-1-phosphotransferase. *Nat Med.* 2005;11(10):1109-1112.
- 81 Swanson JM, Elliott GR, Greenhill LL, et al. Effects of stimulant medication on growth rates across 3 years in the MTA follow-up. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2007; 46:1015.
- 82 Biederman J, Spencer TJ, Monuteaux MC, Faraone SV. A naturalistic 10-year prospective study of height and weight in children with attention-deficit hyperactivity disorder grown up: sex and treatment effects. *J Pediatr* 2010;157:635.
- 83 Poulton AS, Melzer E, Tait PR, Garnett SP, Cowell CT, Baur LA et al. Growth and pubertal development of adolescent boys on stimulant medication for attention deficit hyperactivity disorder. *Med J Aust* 2013;198:29.
- 84 Faraone SV, Biederman J, Morley CP, Spencer TJ. Effect of stimulants on height and weight: a review of the literature. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2008;47:994.
- 85 Ho Y, Liebhaber SA, Cooke NE. Activation of the human GH gene cluster: roles for targeted chromatin modification. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:40-45
- 86 Hartman ML, Veldhuis JD, Thorner MO. Normal control of growth hormone secretion. *Horm Res* 1993;40:37-47
- 87 Mazziotti G, Giustina A. Glucocorticoids and the regulation of growth hormone secretion. *Nat Rev Endocrinol* 2013;9:265-276
- 88 Mangalam HJ, Albert VR, Ingraham HA, Kapiloff M, Wilson L, Nelson C et al. A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. *Genes Dev* 1989; 3:946.
- 89 Li S, Crenshaw EB, 3rd, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW, Rosenfeld MG. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. *Nature* 1990; 347:528.

- 90** Yakar S, Liu JL, Stannard B, et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:7324-7329
- 91** Firth SM, Baxter RC. Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins. *Endocr Rev* 2002;23:824-854
- 92** Brooks AJ, Waters MJ. The growth hormone receptor: mechanism of activation and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol* 2010;6:515-525
- 93** Eugster EA, Pescovitz OH. New revelations about the role of STATs in stature. *N Engl J Med* 2003;349:1110-1112
- 94** Faje A. Hypophysitis: Evaluation and Management. *Clin Diabetes Endocrinol*. 2016;2:15.
- 95** Wu W, Cogan JD, Pfäffle RW, Dasen JS, Frisch H, O'Connell SM et al. Mutations in PROP1 cause familial combined pituitary hormone deficiency. *Nat Genet* 1998;18:147.
- 96** Aguiar-Oliveira MH1, Gill MS, de A Barretto ES, Alcântara MR, Miraki-Moud F, Menezes CA et al. Effect of severe growth hormone (GH) deficiency due to a mutation in the GH-releasing hormone receptor on insulin-like growth factors (IGFs), IGF-binding proteins, and ternary complex formation throughout life. *J Clin Endocr Metab* 1999;84:4118-4126.
- 97** Itoh N, Ornitz DM. Fibroblast growth factors: from molecular evolution to roles in development, metabolism and disease. *J Biochem* 2011;149:121-130
- 98** Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG et al. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* 1997;99:505.
- 99** Biro FM, McMahon RP, Striegel-Moore R, Crawford PB, Obarzanek E, Morrison JA et al. Impact of timing of pubertal maturation on growth in black and white female adolescents: The National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *J Pediatr* 2001;138:636.
- 100** Kaplan SL, Grumbach MM. Clinical review 14: Pathophysiology and treatment of sexual precocity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:785.
- 101** Darendeliler F, Karagiannis G, Wilton P. Headache, idiopathic intracranial hypertension and slipped capital femoral epiphysis during growth hormone treatment: a safety update from the KIGS database. *Horm Res* 2007;68 Suppl:5:41-47.
- 102** Davenport ML, Punyasavatsut N, Stewart PW, Gunther DF, Sävendahl L, Sybert VP. Growth failure in early life: an important manifestation of Turner syndrome. *Horm Res*. 2002;57(5-6):157-164.

- 103** Stochholm K, Juul S, Juel K, Naeraa RW, Gravholt CH. Prevalence, incidence, diagnostic delay, and mortality in Turner syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):3897-3902.
- 104** Gravholt CH. Clinical practice in Turner syndrome. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2005;1(1):41-52.
- 105** Alpman A, Cogulu O, Akgul M, Arikan EA, Durmaz B, Karaca E et al. Prenatally diagnosed Turner syndrome and cystic hygroma: incidence and reasons for referrals. *Fetal Diagn Ther* 2009;25(1):58-61.
- 106** Christoforidis A, Maniadaki I, Stanhope R. Managing children with Russell-Silver syndrome: more than just growth hormone treatment? *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18:651–652.
- 107** Tomiyama H, Ibuki T, Nakajima Y, Tanaka Y. Late intraoperative hypoglycemia in a patient with Russell-Silver syndrome. *J Clin Anesth* 1999;11:80–82.
- 108** Azcona C, Stanhope R. Hypoglycaemia and Russell-Silver syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18:663–670.
- 109** Lai KY, Skuse D, Stanhope R, Hindmarsh P. Cognitive abilities associated with the Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child* 1994;71:490–496.
- 110** Wollmann HA, Kirchner T, Enders H, Preece MA, Ranke MB. Growth and symptoms in Silver-Russell syndrome: review on the basis of 386 patients. *Eur J Pediatr*. 1995;154:958–968.
- 111** Draznin MB, Stelling MW, Johanson AJ. Silver-Russell syndrome and craniopharyngioma. *J Pediatr* 1980;96:887–889.
- 112** Price SM, Stanhope R, Garrett C, Preece MA, Trembath RC. The spectrum of Silver-Russell syndrome: a clinical and molecular genetic study and new diagnostic criteria. *J Med Genet* 1999;36:837–842.
- 113** Hitchins MP, Stanier P, Preece MA, Moore GE. Silver-Russell syndrome: a dissection of the genetic aetiology and candidate chromosomal regions. *J Med Genet* 2001;38:810–819.
- 114** Rimoin DL. The Silver syndrome in twins. *Birth Defects Orig Art Ser* 1969;V(2):183–187.
- 115** Samn M, Lewis K, Blumberg B. Monozygotic twins discordant for the Russell-Silver syndrome. *Am J Med Genet* 1990;37:543–545.
- 116** Barlow DP, Bartolomei MS. Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2014;6(2).
- 117** Preece MA, Price SM, Davies V, Clough L, Stanier P, Trembath RC et al. Maternal uniparental disomy 7 in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 1997;34:6–9.

- 118** Kobayashi S, Kohda T, Miyoshi N, Kuroiwa Y, Aisaka K, Tsutsumi O et al. *Human PEG1/MEST, an imprinted gene on chromosome 7. Hum MolGenet* 1997;6:781–786.
- 119** Lefebvre L, Viville S, Barton SC, Ishino F, Keverne EB, Surani MA. Abnormal maternal behaviour and growth retardation associated with loss of the imprinted gene Mest. *Nat Genet* 1998;20:163–169.
- 120** Beechey CV. Peg1/MEST locates distal to the currently defined imprinting region on mouse proximal chromosome 6 and identifies a new imprinting region affecting growth. *Cytogenet Cell Genet* 2000;90:309–314.
- 121** Joyce CA, Sharp A, Walker JM, Bullman H, Temple IK. Duplication of 7p12.1-p13 including GRB10 and IGF1, in a mother and daughter with features of Silver-Russell syndrome. *Hum Genet* 1999;105:273–280.
- 122** Gicquel C, Rossignol S, Cabrol S, Houang M, Steunou V, Barbu V et al. Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nat Genet* 2005;37:1003–1007.
- 123** Eggermann T, Schönherr N, Meyer E, Obermann C, Mavany M, Eggermann K et al. Epigenetic mutations in 11p15 in Silver-Russell syndrome are restricted to the telomeric imprinting domain. *J Med Genet Journal of Medical Genetics* 2006;43:615–616.
- 124** Binder G, Seidel AK, Weber K, Haase M, Wollmann HA, Ranke MB et al. IGF-II serum levels are normal in children with Silver-Russell syndrome who frequently carry epimutations at the IGF2 locus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4709–4712.
- 125** Hark AT, Schoenherr CJ, Katz DJ, Ingram RS, Levorse JM, Tilghman SM. CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the H19/Igf2 locus. *Nature* 2000;405:486–489.
- 126** Bell AC, Felsenfeld G. Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the Igf2 gene. *Nature* 2000;405:482–485.
- 127** Filippova GN, Fagerlie S, Klenova EM, Myers C, Dehner Y, Goodwin G et al. An exceptionally conserved transcriptional repressor, CTCF, employs different combinations of zinc fingers to bind diverged promoter sequences of avian and mammalian c-myc oncogenes. *Mol Cell Biol* 1996;16(6):2802–2813.
- 128** Catchpoole D, Lam WW, Valler D, Temple IK, Joyce JA, Reik W et al. Epigenetic modification and uniparental inheritance of H19 in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet* 1997;34:353–359.
- 129** Demars J, Gicquel C. Epigenetic and genetic disturbance of the imprinted 11p15 region in Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes. *Clin Genet* 2012;81(4):350–361.

- 130** Hanson D, Murray PG, Coulson T, Sud A, Omokanye A, Stratta E, Sakhinia F, et al. Mutations in CUL7, OBSL1 and CCDC8 in 3-M syndrome lead to disordered growth factor signalling. *J Mol Endocrinol.* 2012;49(3):267-275.
- 131** van der Wal G, Otten BJ, Brunner HG, van der Burgt I. 3-M syndrome: description of six new patients with review of the literature. *Clin Dysmorphol* 2001;10:241–252.
- 132** Hanson D, Murray PG, Sud A, Temtamy SA, Aglan M, Superti-Furga A et al. The primordial growth disorder 3-M syndrome connects ubiquitination to the cytoskeletal adaptor OBSL1. *Am J Hum Genet* 2009;84:801–806.
- 133** Huber C, Delezoide AL, Guimiot F, Baumann C, Malan V, Le Merrer M et al. A large-scale mutation search reveals genetic heterogeneity in 3M syndrome. *Eur J Hum Genet* 2009;17:395–400.
- 134** Xu X, Sarikas A, Dias-Santagata DC, Dolios G, Lafontant PJ, Tsai SC et al. The CUL7 E3 ubiquitin ligase targets insulin receptor substrate 1 for ubiquitin-dependent degradation. *Mol Cell* 2008;30:403–414.
- 135** Clayton PE, Hanson D, Magee L, Murray PG, Saunders E, Abu-Amero SN, et al. Exploring the spectrum of 3-M syndrome, a primordial short stature disorder of disrupted ubiquitination. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77(3):335-342.
- 136** Marik I, Marikova O, Kuklik M, Zemkova D, Kozlowski K. 3-M syndrome in two sisters. *J Paediatr Child Health* 2002;38:419–422.
- 137** Avila M, Dymont DA, Sagen JV, St-Onge J, Moog U, Chung BHY et al. Clinical reappraisal of SHORT syndrome with PIK3R1 mutations: toward recommendation for molecular testing and management. *Clin Genet* 2016;89(4):501-506.
- 138** Markosyan R. SHORT Syndrome. Rare Genetic Condition. *J Clin Case Rep* 2017;7:1039.
- 139** Thauvin-Robinet C, Auclair M, Duplomb L, Caron-Debarle M, Avila M, St-Onge J et al. PIK3R1 mutations cause syndromic insulin resistance with lipodystrophy. *Am J Hum Genet* 2013;93:141–149.
- 140** Chudasama KK, Winnay J, Johansson S, Claudi T, König R, Haldorsen I et al. SHORT Syndrome with Partial Lipodystrophy Due to Impaired Phosphatidylinositol 3 Kinase Signaling. *Am J Hum Genet* 2013;93(1):150-157.
- 141** Kuster W, Majewski F. The Dubowitz syndrome. *Europ J Pediat* 1986;144: 574-578.
- 142** Lyonnet S, Schwartz G, Gatin G, de Prost Y, Munnich A, Le Merrer M. Blepharophimosis, eczema, and growth and developmental delay in a young adult: late features of Dubowitz syndrome? *J Med Genet* 1982;29:68-69.
- 143** Berthold F, Fuhrmann W, Lampert F. Fatal aplastic anaemia in a child with features of Dubowitz syndrome. *Europ J Pediat* 1987;146:605-607.

- 144** Huber RS, Houlihan D, Filter K. Dubowitz Syndrome: A Review and Implications for Cognitive, Behavioral, and Psychological Features. *J Clin Med Res* 2011;3(4):147–155.
- 145** Majewski F, Michaelis R, Moosmann K, Bierich JR. A rare type of low birthweight dwarfism: the Dubowitz syndrome. *Z Kinderheilkd* 1975;120(4):283-292.
- 146** Karlberg N, Jalanko H, Perheentupa J, Lipsanen-Nyman M. Mulibrey nanism: clinical features and diagnostic criteria. *J Med Genet* 2004;41:92–98.
- 147** Karlberg S, Lipsanen-Nyman M, Lassus H, Kallijärvi J, Lehesjoki AE, Butzow R. Gynecological tumors in Mulibrey nanism and role for RING finger protein TRIM37 in the pathogenesis of ovarian fibrothecomas. *Mod Pathol* 2009;22(4):570-578.
- 148** Kumpf M1, Hämäläinen RH, Hofbeck M, Baden W. Refractory congestive heart failure following delayed pericardectomy in a 12-year-old child with Mulibrey nanism due to a novel mutation in TRIM37. *Eur J Pediatr* 2013;172(10):1415-1418.
- 149** Hämäläinen RH, Avela K, Lambert JA, Kallijärvi J, Eyaid W, Gronau J et al. Novel mutations in the TRIM37 gene in Mulibrey Nanism *Hum Mutat* 2004 May;23(5):522.
- 150** Zhao P, Guan HT, Dai ZJ, Ma YG, Liu XX, Wang XJ. Knockdown of Tripartite Motif-Containing Protein 37 (TRIM37) Inhibits the Proliferation and Tumorigenesis in Colorectal Cancer Cells. *Oncol Res* 2017;25(1):115-122.
- 151** Le Goff C, Mahaut C, Bottani A, Doray B, Goldenberg A, Moncla A et al. Not all floating-harbor syndrome cases are due to mutations in exon 34 of SRCAP. *Hum Mutat* 2013;34(1):88-92.
- 152** Hood RL, Lines MA, Nikkel SM, Schwartzenruber J, Beaulieu C, Nowaczyk MJ et al. Mutations in SRCAP, encoding SNF2-related CREBBP activator protein, cause Floating-Harbor syndrome. *Am J Hum Genet* 2012;90(2):308-313.
- 153** Messina G, Atterato MT, Dimitri P. When chromatin organization floats astray: The Srcap gene and Floating-Harbor syndrome. *Journal of Medical Genetics* 2016;53:793–797.
- 154** Diaz A, Vogiatzi MG, Sanz MM, German J. Evaluation of short stature, carbohydrate metabolism and other endocrinopathies in Bloom's syndrome. *Horm Res* 2006;66(3):111-117.
- 155** Martinez CA, Pinheiro LV, Rossi DH, Camargo MG, Ayrizono Mde L, Leal RF, Coy CS. Adenocarcinoma of the Right Colon in a Patient with Bloom Syndrome. *Case Rep Surg* 2016;Article ID 3176842,5 pages.
- 156** German J. Bloom's syndrome. I. Genetical and clinical observations in the first twenty-seven patients. *Am J Hum Genet.* 1969;21(2):196–227.

- 157** German J, Sanz MM, Ciocci S, Ye TZ, Ellis NA. Syndrome-causing mutations of the BLM gene in persons in the Bloom's Syndrome Registry. *Hum Mutat* 2007;28(8):743-753.
- 158** Sutton VR, Shaffer LG. Search for Imprinted Regions on Chromosome 14: Comparison of Maternal and Paternal UPD Cases With Cases of Chromosome 14 Deletion. *American Journal of Medical Genetics* 2000;93:381-387.
- 159** Baladron V, Ruiz-Hidalgo MJ, Nueda ML, az-Guerra MJ, Garcia-Ramirez JJ, Bonvini E et al. Dlk acts as a negative regulator of Notch1 activation through interactions with specific EGF-like repeats. *Exp Cell Res* 2005;303:343-359.
- 160** Wylie AA, Murphy SK, Orton TC, Jirtle RL. Novel imprinted DLK1/GTL2 domain on human chromosome 14 contains motifs that mimic those implicated in IGF2/H19 regulation. *Genome Res* 2000;10:1711-1718.
- 161** Geuns E, De T N, Hilven P, Van S A, Liebaers I, De R M. Methylation analysis of the intergenic differentially methylated region of DLK1-GTL2 in human. *Eur J Hum Genet* 2007;15:352-361.
- 162** Buiting K, Kanber D, Martín-Subero JI, Lieb W, Terhal P, Albrecht B, et al. Clinical features of maternal uniparental disomy 14 in patients with an epimutation and a deletion of the imprinted DLK1/GTL2 gene cluster. *Hum Mutat* 2008;29(9):1141-1146.
- 163** Eggermann T, Oehl-Jaschkowitz B, Dicks S, Thomas W, Kanber D, Albrecht B, et al. The maternal uniparental disomy of chromosome 6 (upd(6)mat) "phenotype": result of placental trisomy 6 mosaicism? *Mol Genet Genomic Med* 2017;5(6):668-677.
- 164** Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, et al. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 2002;30:e57
- 165** Cabello MJ, Grau L, Franco N, et al. Multiplexed methylation profiles of tumor suppressor genes in bladder cancer. *J Mol Diagn* 2011;13:29-40
- 166** Agundez M, Grau L, Palou J, et al. Evaluation of the methylation status of tumour suppressor genes for predicting bacillus Calmette-Guerin response in patients with T1G3 high-risk bladder tumours. *Eur Urol* 2011;60:131-140
- 167** Koenig R, Brendel L, Fuchs S SHORT syndrome. *Clin Dysmorphol* 2003;12(1):45-49.
- 168** Christesen HT, Pedersen BT, Pournara E, Petit IO, Júlíusson PB. Short Stature: Comparison of WHO and National Growth Standards/References for Height. *PLoS One* 2016;11(6):e0157277.
- 169** Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü (2014), "2013 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü, T.C. Kalkınma Bakanlığı ve TÜBİTAK, Ankara, Türkiye.

- 170** Reardon W, Temple IK. Nephrocalcinosis and disordered calcium metabolism in two children with SHORT syndrome. *Am J Med Genet A* 2008;146A(10)
- 171** Nikkel SM, Dauber A, de Munnik S, Connolly M, Hood RL, Caluseriu O, et. al. The phenotype of Floating-Harbor syndrome: clinical characterization of 52 individuals with mutations in exon 34 of SRCAP. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:63.
- 172** Bertini V, Fogli A, Bruno R, Azzarà A, Michelucci A, Mattina T, et. al. Maternal Uniparental Disomy 14 (Temple Syndrome) as a Result of a Robertsonian Translocation. *Mol Syndromol* 2017;8(3):131-138
- 173** Wood AR, Esko T, Yang J, Vedantam S, Pers TH. Defining the role of common variation in the genomic and biological architecture of adult human height. *Nat Genet* 2014;46(11):1173-1186.
- 174** Lui JC, Garrison P, Baron J. Regulation of body growth. *Current Opinion in Pediatrics* 2015; 27(4), p 502–510
- 175** Mackay DJ, Hahnemann JM, Boonen SE, Poerksen S, Bunyan DJ, White HE, et. al. Epimutation of the TNDM locus and the Beckwith-Wiedemann syndrome centromeric locus in individuals with transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Genet.* 2006;119(1-2):179-184.
- 176** Lipson AH, Cowell C, Gorlin RJ. The SHORT syndrome: further delineation and natural history. *J Med Genet* 1989;26(7):473-475.
- 177** Haan E1, Morris L. SHORT syndrome: distinctive radiographic features. *Clin Dysmorphol.* 1998;7(2):103-107.
- 178** Tobi EW, Slieker RC, Luijk R, Dekkers KF, Stein AD, Xu KM. DNA methylation as a mediator of the association between prenatal adversity and risk factors for metabolic disease in adulthood. *Sci Adv* 2018;4(1):eaao4364.
- 179** Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993;36:62–67
- 180** Entringer S. Impact of stress and stress physiology during pregnancy on child metabolic function and obesity risk. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2013;16(3):320-7.
- 181** Howles SA, Edwards MH, Cooper C, Thakker RV. Kidney stones: a fetal origins hypothesis. *J Bone Miner Res* 2013;28(12):2535-2539.
- 182** Winick M & Noble A. Cellular response in rats during malnutrition at various ages. *Journal of Nutrition* 1966;89:300–306.
- 183** Rakover Y1, Dietsch S, Ambler GR, Chock C, Thomsett M, Cowell CT. Growth hormone therapy in Silver Russell syndrome: 5 years experience of the Australian and New Zealand Growth database (OZGROW). *Eur J Pediatr* 1996;155(10):851-857.

8. EKLER

A.Form-1: HASTA BİLGİ VE TAKİP FORMU

Adı / soyadı:

Tarih:

Doğum tarihi Yaşı:

Dosya Numarası:

Hikayesi:

Ek hastalık :

Doğum haftası/kilosu/boyu.

Mevcut boyu:

Mevcut kilo:

Baş çevresi

Kulaç boyu

Oturma boyu

El boyu:

Kulak boyu:

Anne-baba boyu:

Hedef boy/Hedef boya göre SDS

Dolaşım:

Solunum:

Batın:

Dismorfik bulgu :

Uzunluk	Sağ	Sol
Humerus		
Ön kol		
Femur		
Tibia		

ÇAPLAR	Sağ	Sol
Humerus		
Femur		

Hemogram

Biyokimya

Glukoz

Üre/Kreatin

AST/ALT

ALP/ GGT

Kalsiyum / Fosfor

Trigliserit / Kolesterol / HDL / LDL

Parathormon / D-vitamini

Çölyak antikoru
Kan gazı
TSH/ s-T4
DHEASO4
Büyüme hormonu
Somatomedin-C (IGF-1)
İnsülin
İnsülin like growth factor binding protein (IGFB-3) Çapa'ya gidiyor.
Denver veya IQ testi
İştime-Görme değerlendirmesi.
Kalp EKO'su
Batın USG
Grafiler :
Kranial 2 yönlü
Spinal/servikal 2 yönlü
Üst ekstremitte grafisi
Alt ekstremitte grafisi
Pelvis grafisi
Sol el bilek grafisi
DNA örneği:

Ek / Yorum :

B. Form-2: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: İntrauterin başlangıçlı sendromik boy kısalığı olan çocuklarda klinik bulguların irdelenmesi ve 11p15 bölgesinin metilasyon analizi.

Çalışmanın amacı ve açıklaması: Bu çalışma, araştırma amaçlı tasarlanmış olup, çalışmanın amacı intrauterin başlangıçlı sendromik boy kısalığı olan çocuklarda klinik bulguların irdelenmesi ve 11p15 bölgesinin metilasyon analizi ile etyolojide rol alabilecek epigenetik mekanizmaların aydınlatılmasıdır.

Lütfen aşağıdaki maddeleri dikkatlice okuyunuz.

1. Yapılması planlanan analizler için sizden 2 ml periferik kan örneği alınacaktır. Hasta kan alma sırasında bir miktar ağrı hissedilebilir, kanın alındığı bölgede hafif bir kızarıklık olabilir.
2. Örneğin yeterli olmadığı veya uygun koşullarda alınmadığı takdirde yeniden kan örneği alınabilir.
3. Alınan kan örneğinizden DNA materyaliniz izole edilecek ve -20 C° de saklanacaktır.
4. Bu DNA örneğinde hastalığınıza neden olduğu düşünülen genlerde mutasyon ve polimorfizm taraması yapılacaktır.
5. Araştırmalar Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Kliniği Genetik Polikliniği ve Laboratuvarı'nda, 11p15 bölgesinin metilasyon analizi ise Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılacaktır. Araştırma kapsamında yapılan çalışmaların süresi kesin değildir ve tanıya yönelik bir cevap elde edilemeyebilir. Sizden alınan örnekler başka bir hastalığın araştırılması dışında başka bir araştırma için kullanılmayacaktır.
6. Araştırma sonrasında genetik test sonuçlarının sizin ve ailenizi psikolojik veya diğer bir yönden etkileneceğini düşünmeniz durumunda isteğiniz üzere ayrılabilirsiniz.
7. DNA Analiz laboratuvarına gelen tüm biyolojik örneklere bir kayıt numarası verilerek söz konusu laboratuvarın yalnızca yetkilileri tarafından erişilebilen bir veri tabanında saklanacaktır. Bu bilgiler, hastayı ve/veya ailesini laboratuvara gönderen hekim ve klinik dışında üçüncü şahıslara kesinlikle aktarılmaz. Ancak mahkeme kararı ile yetkili kişilere aktarılabilir.
8. Yapılacak işlemler ve analizler için gönüllülerden kesinlikle hiçbir ücret talep edilmeyecek, kendilerine de herhangi bir ücret ödenmeyecektir.
9. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına doğrudan erişimleri bulunabilir, ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır, yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla gönüllü veya yasal temsilcisi söz konusu erişime izin vermiş olacaktır. İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliği gizli kalacaktır.

10. Araştırmaya toplamda en az 50 kişi katılacak, araştırma 1 yıl sürecektir.
11. Çalışma esnasında hastaların takip ve tedavilerinde değişiklik yapılmayacak, kendilerine deneysel hiçbir tedavi uygulanmayacaktır. Yapılacak bilimsel çalışmalar genellikle çok sayıda örnekle yürütülecek ve bu çalışmalardan toplu sonuçlar çıkartılacaktır. Bu nedenle, çalışmaların kısa vadedeki sonuçlarından direkt olarak sizin veya ailenizin diğer bireylerinin yararlanması söz konusu olmayabilir. Bununla beraber, vereceğiniz kan örneği sayesinde, bu hastalığın tam olarak anlaşılmasını, yeni tedavi ve tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacak çalışmaların yapılabilmesi mümkün olacaktır.
12. Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllü veya yasal temsilcisi zamanında bilgilendirilecektir
13. Gönüllüler, araştırma, kendi hakları veya araştırmayla ilgili herhangi bir advers olay hakkında bilgi temin edinebilmek için sorumlu araştırmacı Dr. Emre ÖZER'den bilgi alabilir ve bu doktora no'lu telefon numarasından günün 24 saati iletişime geçebilecektir.

Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı ve herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkımı kaybetmeksizin, istediğim zaman gerekçeli ve gerekçesiz olarak araştırmaya katılmayı reddedebileceğimi veya araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum. Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün

Adı / Soyadı / İmzası / Tarih / Yer:

Araştırma Ekibinde Yer Alan ve Yetkin Bir Araştırmacının

Adı / Soyadı / İmzası / Tarih / Yer:

Velayet veya veraset altında bulunanlar için veli veya vasisinin

Adı / Soyadı / İmzası / Tarih / Yer:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı / Soyadı / İmzası / Tarih / Yer:

“İntrauterin başlangıçlı sendromik boy kısalığı olan çocuklarda klinik bulguların irdelenmesi ve 11p15 bölgesinin metilasyon analizi.” çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

(Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
- İleride yapılması planlanan tüm çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.