



İDİYOPATİK BOY KISALIĞI OLAN BİREYLERDE SHOX GENİ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

İsmail Aykut ÇATAL

**Aralık 2010
DENİZLİ**

**İDİYOPATİK BOY KISALIĞI OLAN BİREYLERDE
SHOX GENİ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Pamukkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı**

İsmail Aykut ÇATAL

Danışman: Doç. Dr. C.Nur SEMERCİ

**Aralık 2010
DENİZLİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

İsmail Aykut ÇATAL tarafından, Doç. Dr. C.Nur SEMERCI yönetiminde hazırlanan "İdiyopatik Boy Kısaldığı Olan Bireylerde SHOX Geni Mutasyonlarının Araştırılması" başlıklı tez tarafımızdan okunmuş kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Gülseren BAĞCI
Jüri Başkanı



Doç. Dr. C.Nur SEMERCI
Jüri Üyesi (Danışman)



Doç. Dr. Cumhuri GÜNDÜZ
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 6/1/11 tarih ve 11/1-4 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Doç. Dr. A. Çevik TUFAN
Müdür

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza

Öğrenci Adı Soyadı : İsmail Aykut ÇATAL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince tüm çalışma ve eğitimimde bilgi ve deneyimleriyle bana büyük katkıları olan; disiplinli, hoşgörülü ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gülseren BAĞCI'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenen, her türlü konuda bana destek olan ve tezimde büyük emeği geçen saygıdeğer hocam Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. C.Nur SEMERCİ'ye,

Tezim için gerekli olan olguların seçimindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Serap SEMİZ'e, moleküler çalışmalarımızı planlayan ve yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Lale ŞATIROĞLU-TUFAN'a ve deneylerin uygulanmasında bana yardımcı olan Bio. Ayşen ÇETİN'e,

Tez ve laboratuvar çalışmalarımı maddi olarak destekleyen Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Çalışmalarım sırasında:
Yaşanan onca güzelliğe,
Gösterilen sabır ve anlayışa,
Yanımda olanlara, paylaşabilenlere,
Kaprislerimi çekebilenlere, anlayabilenlere,
Kalbimin sahibine
ve bir tanecik aileme sonsuz teşekkürler...

ÖZET

İDİYOPATİK BOY KISALIĞI OLAN BİREYLERDE SHOX GENİ MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

ÇATAL, İsmail Aykut
Yüksek Lisans Tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Yöneticisi: Doç. Dr. C.Nur SEMERCİ

Aralık 2010, 55 Sayfa

Boy, çevresel ve genetik faktörlerin kontrolü altında olan kompleks bir özelliktir. Hormonların uygun düzeyde olmaması, beslenme yetersizliği, kronik hastalıklar, sık geçirilen enfeksiyonlar ve uygun olmayan psikososyal ortam gibi faktörler çocuklarda boy kısalığına neden olmaktadır.

Bir popülasyonda boyun aynı yaş ve cinsiyete göre hesaplanmış ortalama boy değerinden -2 SDS (Standart Deviasyon Skoru) değeri daha aşağıda olması veya boy persantil eğrilerinde boyun 3. persantilin altında olması durumu boy kısalığı olarak ifade edilmektedir. Herhangi bir dismorfik, sistemik, endokrinolojik, nutrisyonel ve kromozomal anomali olmaksızın normal seviyede büyüme hormonuna sahip bir bireyin boyunun belli bir popülasyonda aynı yaş ve cinsiyete göre hesaplanmış ortalama boy değerinden -2 SD daha aşağıda olması ise idiyopatik boy kısalığı (İBK) olarak tanımlanmaktadır. İBK olan bazı olgularda belirli genlerde çeşitli mutasyonlar saptanmıştır. Bu genlerden biri X ve Y kromozomlarının p kolundaki pseudotozomal bölgenin (PAR1) 700 kb distalinde yer alan SHOX genidir. Bu gende meydana gelen mutasyonların İBK olgularının bir bölümünden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, bu yüksek lisans tezinde, İBK olgularının etiolojisini açıklayabilmek amacıyla söz konusu hasta grubunda SHOX genindeki mutasyon varlığı araştırılmıştır.

Pamukkale Üniversitesi Hastaneleri Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı'na başvuran ve tüm tetkikleri yapılarak İBK tanısı almış olan 25 adet olgu çalışma grubuna dahil edilmiştir. Periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu sonrasında SHOX geninin kodlanan ekzonları olan 2., 3., 4., 5. ve 6. ekzonları, özgül primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılmıştır. Bu ekzonlardaki mutasyon varlığı DNA dizi analizi ile araştırılmıştır. Çalışmaya katılan olguların hiçbirisinde mutasyon saptanmamıştır.

SHOX geni mutasyonu saptanmayan bireylerde boy kısalığından sorumlu olabilecek başka genlerin araştırılması ile büyümede etkili genetik faktörlerin aydınlatılmasına katkı sağlayacağı ayrıca genotip-fenotip korelasyonu ile tedaviye yanıt arasındaki ilişki ile ilgili diğer çalışmalara katkı verebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: İdiyopatik boy kısalığı, SHOX, mutasyon

ABSTRACT**ANALYSIS OF SHOX GENE MUTATIONS IN PATIENTS
WITH IDIOPATHIC SHORT STATURE**

ÇATAL, İsmail Aykut
M. Sc. Thesis in Department of Medical Biology
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. C.Nur SEMERÇİ

December 2010, 55 pages

Height represents a complex trait influenced by both environmental and genetic factors. Factors including inappropriate hormone levels, malnutrition, chronic diseases, frequent infections and psychosocial problems may lead short stature in children.

Short stature is defined as height is either below -2 SDS of age and sex-matched estimated mean height value or below 3rd percentile. However, if an individual's height is below -2 SD of age and sex-matched estimated mean height value of certain population without any dysmorphic, systemic, endocrinologic, nutritional and chromosomal abnormality and having normal growth hormone levels this refers to idiopathic short stature (ISS). Some mutations in certain genes were detected in some ISS cases. One of these genes is SHOX gene located 700 kb distal to pseudoautosomal region (PAR1) on short arms of X and Y chromosomes. Mutations occurred in this gene have been shown to be responsible from some ISS cases. Thus, in this Master of Science thesis, we have investigated the mutation of SHOX gene in children having ISS diagnosis in order to explain the etiology of these cases.

25 cases were included in this study, with diagnosis of ISS after all investigations had performed at Pamukkale University Hospital, Department of Pediatric Endocrinology. After DNA isolation from peripheral blood samples, the coding exons 2, 3, 4, 5, and 6 of SHOX gene were amplified via PCR using specific primers. The mutation existence in these exons was investigated through DNA sequencing. No mutation was detected in all patients.

We suggest that further studies may contribute investigation of other genes responsible for short stature in patients without SHOX gene mutation and enlighten genetic factors effecting growth and also other studies which will be focused on relationships between genotype-phenotype correlation and response to treatment.

Key words: Idiopathic short stature, SHOX, mutation

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İçindekiler	vi
Şekiller Dizini	vii
Tablolar Dizini	viii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER.....	2
2.1 Büyüme ve Gelişme	2
2.2 Büyümenin Değerlendirilmesinde Boy	4
2.3 Boy Kısaldığı	7
2.3.1 Genetik (Ailesel) Boy Kısaldığı.....	9
2.3.2 Yapısal (Konstitüsyonel) Büyüme Geriliği ve Puberte Gecikmesi.....	10
2.3.3 İntrauterin Büyüme Geriliği.....	10
2.3.4 Kemik Gelişim Bozuklukları	11
2.3.5 Kötü Beslenme (Malnütrisyon) ve Kronik Hastalıklar	11
2.3.6 Endokrin Nedenler	11
2.3.7 Dismorfik Sendromlar.....	12
2.3.8 Psikososyal Boy Kısaldığı	13
2.4 İdiyopatik Boy Kısaldığı.....	13
2.4.1 İdiyopatik Boy Kısaldığında Rol Oynayan Genler	14
2.5 SHOX geni (Short Stature Homeobox Containing Gene)	17
2.6 Mutasyon.....	19
2.6.1 Mutasyon Çeşitleri	21
2.6.2 Sonuçlarına Göre Mutasyonlar	23
3. MATERYAL ve METOD	27
3.1 Örnekler	27
3.2 DNA İzolasyonu	28
3.3 DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	29
3.4 Mutasyon Analizi - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	29
3.5 PZR Ürününün Görüntülenmesi	31
3.6 DNA Dizi Analizi	31
3.7 İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ	48
7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1 2-18 yaş arası kız ve erkek çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri	6
Şekil 2.2 SHOX geninin X ve Y kromozomundaki yerleşimi	17
Şekil 2.3 SHOX geninin yapısı	18
Şekil 2.4 SHOX geni 5' UTR'sinin şematik gösterimi	19
Şekil 2.5 SHOX geni regülasyon modeli	19
Şekil 2.6 Somatik hücre mutasyonu	20
Şekil 2.7 Germ hücre mutasyonunun kalıtımı	21
Şekil 2.8 Yanlış anlamlı mutasyonun şematik gösterimi	24
Şekil 2.9 Transisyon ve transversiyonda baz değişimleri	24
Şekil 2.10 Sessiz mutasyonun şematik gösterimi	25
Şekil 2.11 Anlamsız mutasyonun şematik gösterimi	25
Şekil 2.12 Çerçeve kayması mutasyonunun şematik gösterimi	26
Şekil 3.1 Otomatik DNA dizi analizi	32
Şekil 4.1 Çalışma ve kontrol grubunun yaş ortalamaları	34
Şekil 4.2 Olgulara ait 386 bç'lik ekzon 2 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri	37
Şekil 4.3 Olgulara ait 320 bç'lik ekzon 3 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri	37
Şekil 4.4 Olgulara ait 376 bç'lik ekzon 4 ve 5 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri	38
Şekil 4.5 Olgulara ait 354 bç'lik ekzon 6 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri	38
Şekil 4.6 2 numaralı olgunun Ekzon 2'ye ait DNA dizi analizi sonucu	39
Şekil 4.7 6 numaralı olgunun Ekzon 3'e ait DNA dizi analizi sonucu	39
Şekil 4.8 11 numaralı olgunun Ekzon 4 ve 5'e ait DNA dizi analizi sonucu	40
Şekil 4.9 23 numaralı olgunun Ekzon 6'ya ait DNA dizi analizi sonucu	41
Şekil 4.10 26 numaralı bireyin Ekzon 2'ye ait DNA dizi analizi sonucu	42
Şekil 4.11 30 numaralı bireyin Ekzon 3'e ait DNA dizi analizi sonucu	42
Şekil 4.12 32 numaralı bireyin Ekzon 4 ve 5'e ait DNA dizi analizi sonucu	43
Şekil 4.13 35 numaralı bireyin Ekzon 6'ya ait DNA dizi analizi sonucu	44

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 Hormonların büyüme üzerine olan etkileri.....	3
Tablo 2.2 Boy kısalığının nedenleri.....	8
Tablo 2.3 İdiyopatik boy kısalığının tanısında kullanılan ölçütler.....	14
Tablo 2.4 İBK olan olgularda tanımlanan genler ve mutasyonlar.....	15
Tablo 3.1 Çalışmaya katılan olguların idiyopatik boy kısalığı açısından değerlendirilme kriterleri.....	27
Tablo 3.2 SHOX geni çoğaltılmasında kullanılan primerler.....	30
Tablo 3.3 Ekzon 2, 3, 4 ve 5'e özgü primerler için kullanılan PZR programı.....	30
Tablo 3.4 Ekzon 6'ya özgü primerler için kullanılan PZR programı.....	31
Tablo 4.1 Çalışma grubunun boy uzunluğu ve boy SDS değerleri.....	35
Tablo 4.2 DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçümleri.....	36
Tablo 5.1 İdiyopatik boy kısalığı olgularında tanımlanan SHOX geni mutasyonları.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALS	Asit Labil Subunit
bç	Baz çifti
BH	Büyüme hormonu
BHR	Büyüme hormonu reseptörü
DHPLC	Denatüre edici yüksek performans sıvı kromatografisi
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
EB	Etidyum bromür
EDTA	Etilen diamin tetra-asetik asit
ERK	Ekstraselüler sinyal düzenleyen kinaz
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon
GHRH	Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
GHRHR	Büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörü
GHS	Büyüme hormonu salgılatıcıları
hPL	Plasental laktojen hormonu
H ₂ O	Su
İBK	İdiyopatik boy kısalığı
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
IUBG	İntrauterin büyüme geriliği
K	Potasyum
LMD	Langer mezomelik displazi
LWD	Leri-Weill diskondrosteozu
MgCl ₂	Magnezyum klorür
NPR	Natriüretik Peptid Reseptör
PAR1	Pseudotozomal bölge (p kolu)
PAR2	Pseudotozomal bölge (q kolu)
PHOG	Pseudoautosomal homeobox-containing osteogenic gene
PZR	Polimeraz zincir reaksiyonu
rhGH	Rekombinant insan büyüme hormonu
SHOX	Short stature homeobox-containing gene
SD	Ortadan sapma
SSCP	Tek zincir yapısal polimorfizm
SDS	Standart deviasyon skoru
SST	Somatostatin
STAT	Sinyal çevirimcileri ve transkripsiyon aktivatörleri
TAE	Tris asetik asit EDTA
UV	Ultraviyole
YBGP	Yapısal büyüme geriliği ve puberte gecikmesi

1. GİRİŞ

Bir populasyonda boyun aynı yaş ve cinsiyete göre hesaplanmış ortalama boy değerinden -2 SDS (standart deviasyon skoru) değeri daha aşağıda olması veya boy persantil eğrilerinde boyun 3. persantilin altında olması durumu boy kısalığı olarak ifade edilmektedir.

Boy, çevresel ve genetik faktörlerin kontrolü altında olan kompleks bir özelliktir. Hormonların uygun düzeyde olmaması, beslenme yetersizliği, kronik hastalıklar, sık geçirilen enfeksiyonlar ve uygun olmayan psikososyal ortam gibi faktörler çocuklarda boy kısalığına neden olabilir. Genetik faktörler mutlak boyu ve büyüme temposunu etkileyerek final boyu kontrol ederler. Bu nedenle bir çocuğun sahip olduğu genetik yapı oldukça önemlidir. Boy kısalıklarının bir kısmı genetik materyal olan DNA'nın yapısındaki değişimler (mutasyonlar) sonucu meydana gelmektedir. Boy kısalığından sorumlu genlerin birçoğu tanımlanmış olup bu genlerin önemli bir kısmı diğer hedef genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır.

Yapılan tüm laboratuvar testlerine rağmen boy kısalığının altında yatan hiçbir neden bulunmuyorsa idiyopatik boy kısalığı (İBK) tanısı konulmaktadır. İdiyopatik boy kısalığı, nedeni bilinmeyen boy kısalığına sahip bireylerin oluşturduğu heterojen bir gruba ifade etmektedir. Yakın zamanda yapılan araştırmalarda SHOX geninde meydana gelen mutasyonların İBK olgularının bir bölümünden sorumlu olduğu gösterilmiştir.

Bu tez çalışmasında, Pamukkale Üniversitesi Hastaneleri Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı'na başvuran ve tüm tetkikleri yapılarak idiyopatik boy kısalığı tanısı alan olgularda SHOX geni mutasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KURAMSAL BİLGİLER

2.1 Büyüme ve Gelişme

Çocukluk çağı, döllenmeyle birlikte başlar ve puberte (ergenlik) döneminin sonuna kadar devam eder. Büyüme, hücre sayısı ve hücre büyüklüğünün artmasına paralel olarak vücut hacmi ve kütlesinin artması demektir. Gelişme ise hücre ve dokuların yapı ve işlevlerindeki değişmelere bağlı olarak biyolojik işlevlerin kazanılması olayıdır.

Sağlıklı bir çocuk sürekli bir büyüme, gelişme ve değişme süreci içindedir. Büyüme ve gelişme için her şeyden önce hücre düzeyinde büyümeyi engelleyecek bir patolojinin olmaması gerekir. Beslenme yetersizliği, uygun olmayan psikososyal ortam, kronik hastalıklar, enfeksiyonlar ve büyüme üzerine etkisi olan hormonların (büyüme hormonu, tiroid hormonları, sex hormonları gibi) yeterli olmaması büyümeyi etkiler.

Bir çocuğun hem prenatal dönemde hem de postnatal dönemde büyüme ve gelişmesinin normal ve düzenli olması için ilk şart sağlıklı bir genetik yapıya sahip olmasıdır. Çocukluk çağında sağlıklı büyümenin en önemli göstergelerinden birisi boy uzamasıdır. Genetik faktörler mutlak boyu, büyüme temposunu ve puberte başlama yaşını etkileyerek final boyu kontrol eder.

Büyüme ve gelişme olaylarını yönlendiren faktörlerden bir diğeri hormonal faktörlerdir. Hormonların mekanizması ve hedef dokulara etkileri hormonların türüne göre değişkenlik gösterir. Büyümeyi düzenleyen en önemli hormon büyüme hormonu (BH) olup hipofizin asidofilik hücrelerinin bir alt sınıfı olan somatotroplarda sentezlenir. Salınımı ise hipotalamus tarafından kontrol edilir. BH, sadece iskelet ve organ büyümesini uyarmakla kalmaz hücre içi aminoasitlerin protein sentezine girmelerini hızlandırır ve insülinin yağ dokusu ve iskelet kası üzerine olan etkisini antagonize eder. BH'nin temel düzenleyicileri büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH), büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS) ve somatostatin (SST)'dir. BH, karaciğerde ve kemik gibi diğer hedef hücrelerde insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF-1 ve IGF-2) adı verilen proteinlerin yapımını tetiklemektedir. IGF'ler hücre büyümesi ve metabolizması için gerekli olan metabolik ve mitojenik faktörlerdir.

Karaciğerde, kemik hücrelerinde ve diğer bazı dokularda (prostat, kas, meme gibi) bulunurlar.

Büyüme hormonu (BH) ve insülin benzeri büyüme faktörlerinin (IGF'lerin) dışında tiroid hormonu, adrenal androjenler, seks steroidleri, glukokortikoidler, leptin ve insülin de büyümeyi sağlamaktadır. Çeşitli hormonların büyüme üzerine olan etkileri Tablo 2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1 Hormonların büyüme üzerine olan etkileri

Hormon	Büyüme Hızı	Erişkin Boyu
Androjen fazlalığı	Artmış	Kısa
Androjen eksikliği	Normal veya azalmış	Hafif uzun veya normal
Tiroid hormonu fazlalığı	Artmış	Normal veya kısa
Tiroid hormonu eksikliği	Azalmış	Kısa
Büyüme hormonu fazlalığı	Artmış	Uzun
Büyüme hormonu eksikliği	Azalmış	Kısa
Kortizol fazlalığı	Azalmış	Kısa
Kortizol eksikliği	Normal	Normal

Büyüme ve gelişmeyi etkileyen faktörlerden sonuncusu çevresel faktörlerdir. Bir yumurtanın döllenenmesinden çocuğun doğmasına kadar geçen süreçte annenin çocuğuna zararlı olabilecek her türlü etkenden uzak durması gerekir. Gebelikte alınan bazı ilaçlar, röntgen ışınlarına maruz kalma ve gebelikte annenin geçirdiği enfeksiyonlar çocuğa zarar verebilir. Doğum öncesi olduğu gibi doğum sonrası büyüme ve gelişmenin sağlıklı bir şekilde devam etmesi için yeterli ve dengeli beslenme şarttır. Ayrıca sağlık durumu ve psikososyal ortamın da uygun olması gerekir. Kronik hastalığı olan çocuklarda büyüme ve gelişme durur veya düzeni bozular.

Sonuç olarak genetik, hormonal ve çevresel faktörlerin birlikte etkileşimleri ile sağlanan büyüme bu faktörlerden birinde bozukluk olması durumunda olumsuz yönde etkilenir.

2.2 Büyümenin Değerlendirilmesinde Boy

Büyümenin değerlendirilmesinde, olası patolojik nedenlerin erken saptanmasında ve özgül tanının konmasında ilk adım normalden sapmaların belirlenmesidir. Doğumdan itibaren her çocuğun belli aralıklarla yapılan ölçümler ile büyümesinin izlenmesi ve değerlendirilmesi ayrı bir önem taşımaktadır.

Büyüme ve gelişmenin değerlendirilmesi antropometrik ölçümler ile yapılır. Kır, Ceylan ve Hadse tarafından antropometri, insan vücudunun büyüklüğünü, oranlarını ve bileşimini değerlendirmek amacıyla evrensel olarak uygulanabilen, pahalı olmayan ve non-invaziv bir yöntem olarak tarif edilmektedir (Şehla 2006).

Büyümenin değerlendirilmesinde kullanılan başlıca antropometrik ölçümler vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi, alt ve üst ekstremitelerin ölçümleridir. Bunlardan vücut ağırlığı ve boy uzunluğu malnütrisyonun (kötü beslenme) saptanmasında kullanılmaktadır. Doğru değerlendirme yapabilmek için yaşa göre ağırlık, yaşa göre boy ve boya göre ağırlık değerleri ile karşılaştırma yapılması gerekir.

Bir çocuğun büyüme ve gelişmesini değerlendirebilmek için aynı yaştaki sağlıklı çocukların anatomik ve fizyolojik özellikleri esas alınarak yapılmış standart tablo veya eğriler kullanılarak karşılaştırma yapılır. Aynı yaşta ve iyi ortam koşullarında yetişen sağlıklı çocuklar arasında bile genetik yapılarına bağlı olarak farklılıklar bulunur. Karşılaştırma yaparken sadece ortalama veya ortanca değerler kullanılırsa sağlıklı çocuklar arasında bulunan bu farklılıklar dikkate alınmamış olur ve bir çocuğun büyüme ve gelişme durumu yanlış değerlendirilebilir. Bu nedenle sağlıklı çocuklardan elde edilen ve standart referans değerlerini oluşturacak tüm ölçümler normal dağılımı gösterecek şekilde persantil dağılım veya Z-skor olarak ifade edilir.

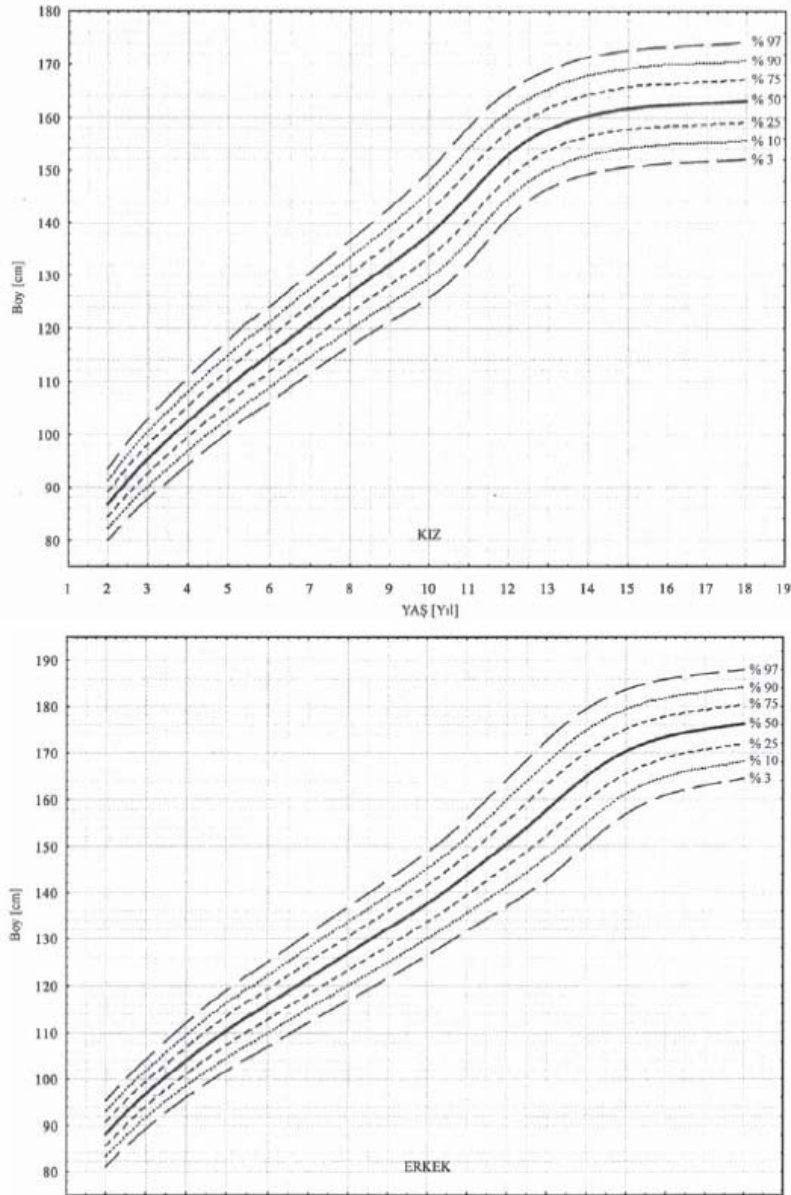
Z-skor, bir bireyin ölçülen parametresinin toplumun normal ortalama değerinden sapma derecesini ifade eden bir terimdir. Z-skoru için, ortadan sapma veya standart deviasyon skoru (SD/SDS) terimleri de kullanılır. Vücut ölçümlerinin SDS olarak belirlenmesi özellikle boy büyümesi sorunu olan çocukların değerlendirilmesinde en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir.

Bir çocuğun boy uzunluğu için SDS değeri řu şekilde hesaplanır:

$$\text{SDS} = \frac{\text{Bireyin boyu (cm)} - \text{yaş ve cinse göre ortalama değeri (cm)}}{\text{Yaş ve cinse göre normal ortadan sapma (SD) (cm)}}$$

Normal ortalama ve SD değeri için yaş ve cinsiyete göre hazırlanmış tartı ve boy tablolarından yararlanılır. Normal çocuklarda boy ölçümleri çan eğrisine uyan simetrik bir dağılım gösterdiğinden ortalama yerine median (50. persantil) değeri kullanılabilir. -2 SDS yaklaşık olarak 3. persantile, +2 SDS 97. persantile eşittir. Yaşına göre boy uzunluğu ortalamaya uyan bir çocukta SDS değeri “0”dır.

Persantil eğrileri, farklı yaşlardan sağlıklı çocukların oluşturduğu gruplarda genellikle aynı zaman dilimi içinde (kesitsel) ve standart yöntemlere uyularak yapılmış ölçümlerden belirli istatistiksel yöntemler kullanarak hazırlanmış, yaşlara göre vücut ölçülerine ilişkin dağılımı gösteren eğrilerdir. 2-18 yaş arası Türk çocuklarında boy uzunluğu için verilen persantil eğrileri Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1 2-18 yaş arası kız ve erkek çocuklarında boy uzunluğu persantil eğrileri (Neyzi vd 2008)

Bir çocuğun genetik potansiyeli boy ölçümlerinin yorumlanmasında önemli bir faktördür. Bu nedenle boy uzunluğunu değerlendirirken, bir çocuğun persantil eğrisindeki konumunun anne ve babanın boy ortalamasını yansıtan hedef boyaya uygun olup olmadığını belirlemek gerekir. Hedef boy hesaplanırken her toplumun kendi standartlarına göre kadın ve erkek boyu arasındaki fark esas alınır. Bu fark Türk toplumu için 13 cm'dir.

Kız çocuğunda hedef boy hesaplanması:

$$\text{Hedef boy} = \frac{\text{Anne boyu} + \text{Baba boyu} - 13}{2}$$

Erkek çocuğunda hedef boy hesaplanması:

$$\text{Hedef boy} = \frac{\text{Anne boyu} + \text{Baba boyu} + 13}{2}$$

2.3 Boy Kısaldığı

Pediyatrik endokrinoloji polikliniğine en sık başvuru nedenlerinden biri boy kısaldığıdır. Boy kısaldığı, boyun belli bir popülasyonda aynı yaş ve cinsiyete göre hesaplanmış ortalama boy değerinden -2 SDS değeri daha aşağıda olması veya boy persantil eğrilerinde boyun 3. persantilin altında olması şeklinde tanımlanmaktadır.

Boy kısaldığının genel popülasyondaki bireylerde görülme sıklığı %2-3 olup tıbbi ve sosyal öneme sahiptir. Boy kısaldıkları etiyolojik olarak patolojik olmayan boy kısaldıkları ve patolojik boy kısaldıkları olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmektedir (Grimberg ve Lifshitz 2007). Boy kısaldığının etiyolojik etmenlerinin sınıflandırması Tablo 2.2’de gösterilmiştir.

Kısa boylu çocukların yaklaşık %60-80’inin boy SDS’si -2 veya altındadır. Ancak SDS -2’nin altında olan her çocuk büyüme açısından patoloji göstermez. Patolojik olmayan bu grubun büyük bir çoğunluğunu normalin varyantı olarak adlandırılan yapısal büyüme geriliği ve puberte gecikmesi ile ailesel boy kısaldığı olan sağlıklı çocuklar oluşturur. Bu grubun boy SDS değeri genellikle -2 ile -2.5 arasındadır. -2.5 SDS’nin altında olan olgularda patolojik boy kısaldığı olma ihtimali oldukça yüksektir. Endokrin kökenli boy kısaldıkları patolojik boy kısaldıkları içerisinde değerlendirilmektedir (Bereket 2009).

Tablo 2.2 Boy kısalığının nedenleri

<p><u>NORMAL</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Yapısal büyüme geriliği ➤ Genetik / ailesel boy kısalığı ➤ Kombine yapısal+ailesel boy kısalığı <p><u>PATOLOJİK</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Endokrin <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hipotiroidi ▪ İzole büyüme hormonu eksikliği <ul style="list-style-type: none"> - Klasik büyüme hormonu eksikliği - Nörosekretuar büyüme hormonu eksikliği - Büyüme hormonu direnci (primer insulin benzeri büyüme faktörü eksikliği) ▪ Hipopituitarizm ▪ Glukokortikoid fazlalığı <ul style="list-style-type: none"> - İyatrojenik - Cushing sendromu ▪ Puberte prekoks ➤ Kromozomal hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> ▪ Turner sendromu ▪ Down sendromu ▪ Prader-Willi sendromu ➤ İntrauterin büyüme geriliği <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sporadik ▪ Dismorfik sendromlar <ul style="list-style-type: none"> - Russell-Silver sendromu - Cornelia de Lange sendromu - Seckel sendromu - Dubowitz sendromu - Bloom sendromu - Johanson-Blizzard sendromu ➤ Nutrisyonel <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mikronutrieent eksikliği <ul style="list-style-type: none"> - Çinko eksikliği - Demir eksikliği ▪ Makronutrient eksikliği: alım eksikliği <ul style="list-style-type: none"> - Düşük kalorili diyet - Kwashiorkor - Anoreksia nervosa ve diğer yeme bozuklukları ▪ Makronutrient eksikliği: emilim azlığı <ul style="list-style-type: none"> - İnflamatuar barsak hastalığı - Çölyak hastalığı - Kistik fibroz - Malabsorpsiyon ➤ Kemik gelişim bozuklukları <ul style="list-style-type: none"> ▪ Akondroplazi, hipokondroplazi ▪ Kondrodisplaziler ▪ Diğer iskelet displazileri ➤ Metabolik <ul style="list-style-type: none"> ▪ Mukopolisakkaridozlar ▪ Diğer depo hastalıkları ➤ Kronik hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> ▪ Kronik böbrek yetmezliği ▪ Kronik karaciğer yetmezliği ▪ Konjenital kalp hastalığı (özellikle siyanotik kalp hastalıkları) ▪ Akciğer hastalıkları (kistik fibroz, astım) ▪ Kötü kontrollü diyabet (Mauriac sendromu) ▪ Kronik enfeksiyonlar ➤ Psikososyal yoksunluk ➤ Kronik ilaç kullanımı <ul style="list-style-type: none"> ▪ Glukokortikoidler ▪ Yüksek doz östrojen veya androjenler ▪ Metilfenidat ▪ Dekstroamfetamin

Genetik faktörler, maternal ve intrauterin çevre, beslenme, endokrin özellikler, hastalıklar, sosyoekonomik durum ve psikolojik durum final boyun belirlenmesinde rol oynayan faktörlerdir (Günöz 2003, Darendeliler 2010). Çevresel faktörler her toplumda farklılık gösterir. Bu nedenle boy kısalığının etiyolojik dağılımı ülkeden ülkeye değişkenlik gösterebilir. Boy kısalığına doğru bir yaklaşım için bu etiyolojik faktörleri bilmek oldukça önemlidir. Bu faktörlerin ve bunların toplumdaki sıklığının bilinmesi ayırıcı tanıda ve istenecek laboratuvar tetkiklerinin seçiminde uzmanlara katkıda bulunacaktır. Bir çocukta boy kısalığı olduğunu söyleyebilmek için aşağıda verilen özelliklerden en az birinin olması gereklidir.

- ✧ Boyun ortalama boy değerinden -2 SDS değeri daha aşağıda olması
- ✧ Büyüme hızının yaşına göre daha düşük olması
- ✧ Öngörülen boyun hedef boy sınırlarının altında kalması
- ✧ Kemik yaşının boyuna ve yaşına göre uyumsuz olması

2.3.1 Genetik (Ailesel) Boy Kısalığı

Bir çocuğun büyüme süreci ve final boyu sahip olduğu genetik yapıya bağlı olup poligenik bir geçiş gösterir. Bu nedenle çocuğun ebeveyninin ve ailesinin boy özelliği çocuğun büyümesini değerlendirmede önemlidir. Genetik boy kısalığı olan çocukların ya ebeveyni kısa boyludur ya da ailesinde kısa boylu bireyler mevcuttur. Bu çocukların büyüme hızları normal olup kemik yaşı kronolojik yaşına uygundur dolayısıyla öngörülen boyu hedef boyuna uygundur (Darendeliler 2010).

Büyümenin düzenlenmesi ve final boyun belirlenmesinden sorumlu genlerin birçoğu tanımlanmıştır. Bu genlerin önemli bir kısmı diğer hedef genlerin ekspresyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerini kodlamaktadır. Bu genlerde meydana gelen mutasyonlar kısa boy ile karakterize olan izole büyüme hormonu eksikliği veya kombine büyüme hormonu eksikliğine neden olabilmektedir. Bununla birlikte gen mutasyonundan kaynaklanan boy kısalığının görülme sıklığı oldukça düşüktür (Rosenbloom vd 2007).

Mutasyonlar dışında diğerk genetik düzensizlikler de boy kısalığına neden olabilir. Kromozomal yeniden düzenlenmeler veya büyük delesyonlar ve tüm kromozomun kaybı (anöploidi) bunlara örnek olarak verilebilir. Özellikle sex kromozomları boy uzamasında anahtar rol oynar. X kromozomunun tamamının veya parsiyal kaybı kısa boyla birlikte seyreden diğerk iskelet anomalilerine yol açmaktadır (Rappold vd 2002).

2.3.2 Yapısal (Konstitüsyonel) Büyüme Geriliği ve Puberte Gecikmesi

Yapısal büyüme geriliği ve puberte gecikmesi (YBGPG), çocuklarda görülen boy kısalığı ve puberte gecikmesinin en sık nedenidir. YBGPG büyüme hızı normale yakın ancak boyları kısa ve puberteleri gecikmiş; pubertede görülen büyüme hamlesini geç yapan fakat normal erişkin boya ulaşan çocuklar için kullanılan bir tanımlamadır. Esas olarak erkek çocuklarda görülmekle birlikte bazen kız çocuklarda da görülür (Günöz 2003).

2.3.3 İntrauterin Büyüme Geriliği

İntrauterin büyüme geriliği (IUBG), gebelik yaşına göre intrauterin gelişimini tam olarak tamamlayamadan doğan çocuklar için kullanılan bir tanımlamadır. IUBG'nin altında yatan neden hormonal kaynaklı olabilir. Fetal büyümede birçok hormon ve faktörün etkisi olup bunlardan insülinin özel bir önemi vardır. İnsülin fetal yağlanmayı etkiler, karaciğerde glikojen depolanması ve protein sentezini sağlar. Fetüsün büyümesinde rol oynayan bir diğerk hormon plasentadan salgılanan insan plasental laktojen hormonudur (hPL). hPL yapısal olarak büyüme hormonuna benzer ve bazı işlevsel özellikleri büyüme hormonu ile aynıdır. Fetal büyümede fetal büyüme hormonundan bağımsız olarak etkisi olan faktörler IGF-1 ve IGF-2'dir. IUBG, gebelikte olabilecek intrauterin enfeksiyonlar, gebelikte alkol ve uyuşturucu kullanımı gibi nedenlerden de kaynaklanabilir (Günöz 2003).

2.3.4 Kemik Gelişim Bozuklukları

Kemik gelişim bozuklukları çoğunlukla orantısız boy kısalığına neden olur. Bunlardan en sık görüleni otozomal dominant bir hastalık olan hipokondroplazidir. Tüm iskelet hastalıklarında kemik yaşı ile kronolojik yaş uyum gösterir. Büyüme hızı yavaş olduğu için final boya ulaşma süreci de yavaştır (Darendeliler 2010).

2.3.5 Kötü Beslenme (Malnütrisyon) ve Kronik Hastalıklar

Kötü beslenme ve kronik hastalıklar boy kısalığının en önemli nedenleri arasında yer alır. Dünyanın birçok ülkesinde çocuklarda erken dönemde görülen büyüme geriliğinin en sık nedeni kötü beslenmedir. Yeteri kadar protein alınmaması veya esansiyel elementlerin (Fe, Zn gibi), A ve B vitaminlerinin eksikliği ile sonuçlanan beslenme bozukluğu boy kısalığına neden olur. Bu çocuklarda büyüme hızı düşük olup boyları kronolojik yaşından geridir. Diyetle alınan besinlerin emilememesi, sık geçirilen enfeksiyonlar, bazı hematolojik hastalıklar (talasemi, orak hücre anemisi) ve bazı kronik hastalıklar (Çölyak hastalığı, Crohn hastalığı, böbrek hastalıkları, anemi gibi) da boy kısalığına neden olur (Darendeliler 2010).

2.3.6 Endokrin Nedenler

Endokrin nedenlerin çoğu büyüme sürecinin bozulmasına neden olur. Bunlardan büyüme hormonu (BH) eksikliği önemli bir boy kısalığı nedenidir. Daha çok nedeni bilinmeyen BH eksikliğinde doğum ağırlığı ve boy uzunluğu normal veya normalin alt sınırlarına yakındır. Vücut oranları normal olup boya göre ağırlık yüksek ve kemik yaşı geridir. Pubertede sıklıkla gecikme görülür. BH gen delesyonuna bağlı doğumsal BH eksikliği ve BH reseptör gen defekti sonucu IGF'lerin sentezlenememesi de boy kısalığının nedenleri arasında olabilir (Günöz 2003, Darendeliler 2010).

Tiroid hormonu boy gelişmesinin yanısıra beyin gelişimini de etkileyen bir hormondur. Bu nedenle yenidoğan taramalarında tanı koymada önemli bir yeri vardır. Doğumsal hipotiroidide boya göre ağırlık fazladır ve kemik yaşı oldukça geridir. Pubertede gecikme görülür.

Diabetes mellitusda eğer metabolik kontrol kötü ise büyüme yavaşlar ve pubertede gecikme görülür. Diyabetle birlikte seyreden hipotiroidi ve Çölyak gibi hastalıkların büyüme üzerine olumsuz etkileri vardır.

Büyümenin duraklamasına etki eden diğer endokrin nedenler arasında psödohipoparatiroidi, doğumsal olmayan BH eksikliği ve hipotiroidi de sayılabilir (Darendeliler 2010).

BH eksikliğinin görülme sıklığı 4000–30000 kısa boylu çocukta birdir. Bu nedenle, pediatri polikliniklerinde değerlendirilen kısa boylu çocukların çoğunda BH eksikliği görülmez. Günümüzde bu olguların tedavisi için uygulanan rekombinant insan büyüme hormonu (rhGH) kullanımında artış gözlenmekte olup bu tedavi ile büyüme hızında belirgin bir artış saptanmaktadır. Vance ve Mauras tarafından Amerika’da yapılan ve ulusal çapta 12000 olgunun katıldığı büyüme çalışması sonucunda, tedavi öncesi ortalama büyüme hızlarının 4.4 ± 2.8 cm/yıldan 10.3 ± 3.1 cm/yıla çıktığı bildirilmektedir (Kandemir 2010).

Yapılan araştırmalar BH geninde ve büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörü (GHRHR) geninde meydana gelen mutasyonların izole büyüme hormonu eksikliğine neden olduğunu; Pit-1, PROP1, HESX1, LHX3 gibi bazı transkripsiyon faktörleri ve genlerde meydana gelen defektlerin ise kombine büyüme hormonu eksikliğine neden olduğunu göstermiştir (Bhangoo vd 2007).

2.3.7 Dismorfik Sendromlar

Boy kısalığı ile sonuçlanan birçok sendrom vardır. Bunlardan en önemlisi X kromozomlarından birinin tam veya kısmi yokluğu ile karakterize olan Turner Sendromu ve 21. kromozomun trizomisi ile sonuçlanan Down Sendromu’dur. Turner

Sendromu'nun görülme sıklığı 1/2500'dir. Bu çocuklarda doğum ağırlığı düşük olup büyüme yavaştır. Final boy 142-147 cm arasında değişir. Down Sendromu boy kısalığı oluşmasına neden olan bir başka sendromdur. Yaklaşık 700 canlı doğumda bir görülür. Down Sendromu olan çocuklar sağlıklı çocuklara oranla yaklaşık 2-3 cm daha kısa ve 500 gram daha az ağırlığa sahiptirler. Boy kısalığı kemik yaşındaki gerilikle birliktelik gösterir. Final boy 140-160 cm arasında değişir. Boy kısalığı ile seyreden bir diğer sendrom Noonan Sendromu'dur. Her iki cinste de görülür. Görülme sıklığı 1000 canlı doğumda birdir. Kalıtım şekli otozomal dominanttır. PTPN11, SOS1, KRAS ve RAF1 geninde meydana gelen mutasyonların Noonan Sendromu'na neden olduğu tespit edilmiştir. Final boy erkeklerde 162 cm, kızlarda 152 cm civarındadır. Bu sendromlar dışında Russell-Silver Sendromu, Aarskog Sendromu, Williams Sendromu, Prader-Willi Sendromu ve Seckel Sendromu da boy kısalığına neden olmaktadır (Günöz 2003, Nussbaum vd 2005, Darendeliler 2010).

2.3.8 Psikososyal Boy Kısalığı

Çocuğun sağlıklı büyümesi için çevresel ortamın da uygun olması gerekir. Bunun en iyi örneği anneden ayrılmaya bağlı olarak hastanede uzun süre yatırılan çocuklarda görülen büyüme duraklamasıdır. Evde anne ve babadan birinin gerçek anne veya baba olmaması veya ev içi ilişkilerin sağlıklı olmaması sonucu bir çocukta büyüme yavaşlaması görülebilir. Özellikle bakımevi çocukları gibi ağır psikolojik sorunları olan çocuklarda psikososyal boy kısalığı görülür (WEB_1 2009).

2.4 İdiyopatik Boy Kısalığı

Herhangi bir dismorfik, sistemik, endokrinolojik, nutrisyonel ve kromozomal anomali olmaksızın normal seviyede büyüme hormonuna sahip bir bireyin boyunun belli bir popülasyonda aynı yaş ve cinsiyete göre hesaplanmış ortalama boy değerinden -2 SDS daha aşağıda olması idiyopatik boy kısalığı (İBK) olarak tanımlanmaktadır. İBK olan çocuklarda boy kısalığı için altta yatan hiçbir neden yoktur. Bu çocuklar normal doğum ağırlığına sahip olup BH eksikliği görülmez. İBK, nedeni bilinmeyen boy kısalığına sahip bireylerin oluşturduğu heterojen bir grubu ifade eder. İdiyopatik boy kısalığının tanısında kullanılan ölçütler Tablo 2.3'te verilmiştir.

Tablo 2.3 İdiyopatik boy kısalığının tanısında kullanılan ölçütler

- Doğum ağırlığı gebelik haftasına göre normal olmalı
- Vücut oranları normal olmalı
- Büyüme hızı normal veya normalin alt sınırında olmalı
- Beslenme durumu normal olmalı
- Endokrinolojik bir sorun olmamalı
- Kronik hastalık bulgusu bulunmamalı
- Psikiyatrik veya duygusal bozukluk bulunmamalı

Tablo 2.3'teki kriterlere uyan olgularda bazal ve uyarılmış BH testleri ile BH eksikliği olmadığı tespit edilen olgular idiyopatik boy kısalığı olarak değerlendirilmektedir.

2.4.1 İdiyopatik Boy Kısalığında Rol Oynayan Genler

İdiyopatik boy kısalığı (İBK) olan bazı olgularda belirli genlerde çeşitli mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonların önemli bir kısmı BH-IGF-I ekseninde rol oynayan genlerde meydana gelmektedir (Tablo 2.4). Bu mutasyonlardan ilki BH1 genindeki mutasyonlardır. BH'nun tersiyer yapısını bozan ve intraselüler disülfid bağlarından sorumlu sistein molekülünü serine değiştiren bu mutasyonlar biyolojik olarak inaktif büyüme hormonu ile sonuçlanabilmektedir. BH1 genindeki mutasyonlar ayrıca ERK (ekstraselüler sinyal düzenleyen kinaz) aktivasyonunun düşmesine de neden olabilir. BH reseptörü (BHR) geninde meydana gelen mutasyonlar idiyopatik boy kısalığının nedenlerinden birisi olabilir. STAT5b, IGF-I ve IGFALS geni gibi reseptörle ilişkili olmayan genlerdeki mutasyonlar IGF-I eksikliği olan hastalarda tanımlanmıştır. İBK olan olguların %30-50'sinde IGF-I düşüktür. IGF-IR geninde oluşan heterozigot nokta mutasyonlarının IGF-IR fonksiyonunda düşüş ve proreseptör oluşumunda hata ile sonuçlandığı bilinmektedir (Bhangoo vd 2007). Son zamanlarda bu listeye SHOX geni de eklenmiştir. Yapılan araştırmalarda, SHOX geninde meydana gelen mutasyonların büyümeyi etkilediği gösterilmiştir. Genin tek kopya olması (haploinsufficiency) ile sonuçlanan SHOX geni mutasyonlarının İBK olan olgularda görülme sıklığı %2-5 arasında değişmektedir (Wit vd 2008).

Bir homeobox ailesinden olan SHOX genindeki mutasyonların İBK dışında ayrıca Turner Sendromu, Leri-Weill Diskondrosteozu (LWD) ve Langer mezomelik displazi (LMD) gibi boy kısalığının eşlik ettiği sendromlara da neden olduğu gösterilmiştir (Rappold vd 2002). Turner Sendromu'nda X kromozomu tek kopya olarak bulunmakta ve bu olgularda boy kısalığından SHOX geninin tek kopya olarak bulunması sorumlu tutulmaktadır. Bu gende meydana gelebilecek mutasyonlar sadece boy kısalığına neden olmayıp ayrıca Turner benzeri iskelet anormalileri ve LWD'na da neden olmaktadır. LWD, SHOX geninin tek doz yetersizliği ile sonuçlanan bir iskelet gelişim bozukluğudur. Bu olguların yaklaşık %65'inde heterozigot SHOX geni mutasyonu olduğu bilinmektedir. Geriye kalan olgularda ise nedeni henüz açıklanamayan moleküler bir defekt olduğu tahmin edilmektedir. LMD ise SHOX geninin ya da protein fonksiyonunun tamamen kaybolması ile sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, LMD, LWD'nin homozigot formu olarak düşünülmektedir (Daire vd 2001, Ross vd 2003).

Tablo 2.4 İBK olan olgularda tanımlanan genler ve mutasyonlar

Gen	Mutasyon	Kalıtım	Etkisi
BH1	Arg77Cys	Heterozigot	İnaktif BH
BH1	Asp112Gly	Heterozigot	İnaktif BH
BH1	Ile179Met	Heterozigot	ERK aktivasyonunda düşüş
BH1	C53S	Homozigot	İnaktif BH
BHR	Glu44Lys, R161C	Bileşik heterozigot	BH bağlanmada azalma
BHR	C122X	Heterozigot	BH reseptörlerinde azalma
BHR	Glu244Asp	Heterozigot	Anormal subselüler yerleşim
BHR	R211H	Heterozigot	Ekstraselüler domain ekspresyonunda azalma
BHR	Arg161Cys	Heterozigot	
BHR	A478T	Heterozigot	
BHR	V144I	Heterozigot	
BHR	Pseudoekzon	Homozigot	
STAT5b	Ala630Pro	Homozigot	Anormal IGF-I / IGFBP3 transkripsiyonu
IGF-I	Delesyon: Ekzon 4&5	Homozigot	IGF-I defekti
IGF-I	Met44Val		İnaktif
IGFALS	1338delG		ALS defekti
IGFALS	D440N		ALS defekti
IGF-IR	Arg108Gln, Lys115Asn		IGF-IR fonksiyonunda azalma
IGF-IR	R709Q	Heterozigot	Proreseptör oluşumunda hata
IGF-IR	R59X	Haploinsufficiency	IGF-I reseptörlerinde azalma
SHOX	Nonsense, missense mutasyon ve delesyon	Haploinsufficiency	
NPR2	1092delT	Heterozigot	

ALS: Asit Labil Subunit

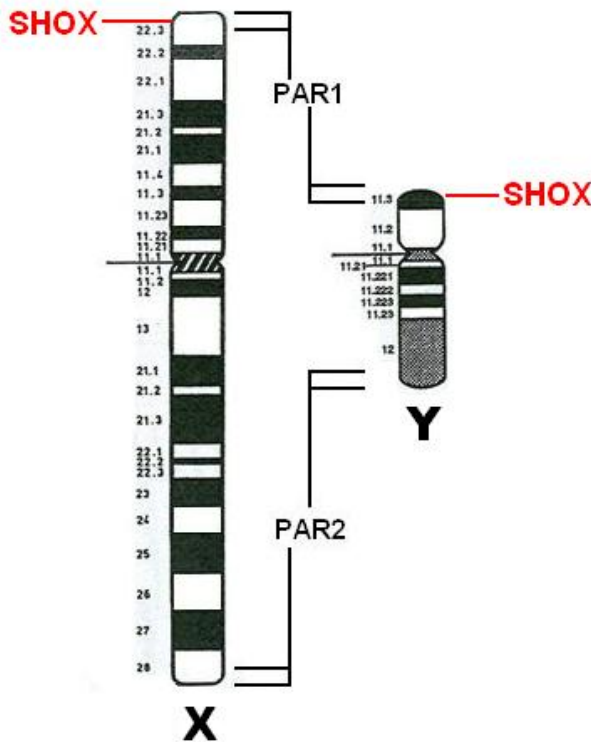
BH: Büyüme Hormonu

BHR: Büyüme Hormonu Reseptörü

NPR2: Natriüretik Peptit Reseptör-B

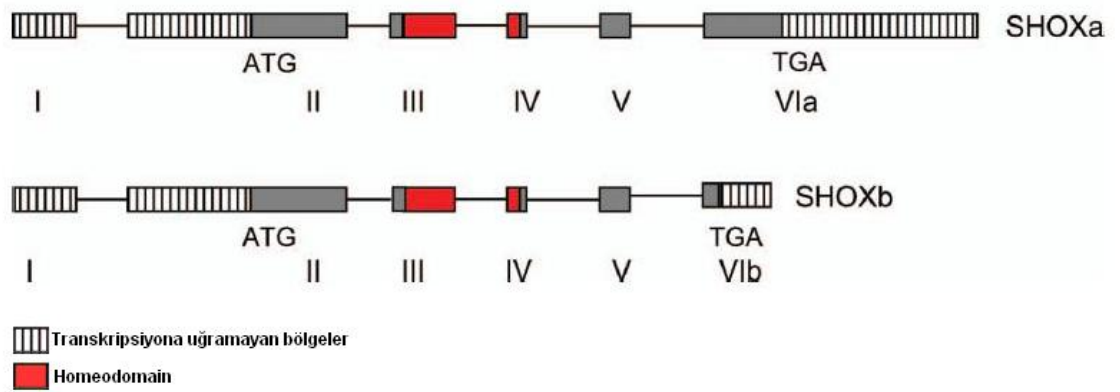
2.5 SHOX geni (Short Stature Homeobox Containing Gene)

Genetik faktörler büyümenin düzenlenmesi ve final boyun belirlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Özellikle X ve Y kromozomlarının p kolunda (kısa kol) meydana gelen delesyonların boy kısalığı ile ilişkili olduğunun gösterilmesi, bu kromozomlar üzerinde lokalize olan önemli bir genin büyümede rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Gen haritalama çalışmaları bu genin, X ve Y kromozomlarının p kolundaki psödoautosomal bölgenin (PAR1) 700 kb distalinde yer aldığını göstermiştir (Ogata vd 1992, 1995). Rao ve arkadaşları (1997) bir cosmid contig kullanarak bu bölgeyi 270 kb olacak şekilde daraltmış ve boy kısalığına neden olan genin PAR1’de yer aldığını göstermiş ve bu geni SHOX olarak adlandırmışlardır. Ellison ve arkadaşları (1997), aynı geni PHOG (Pseudoautosomal Homeobox-containing Osteogenic Gene) olarak adlandırmışlar ve bu genin büyümenin düzenlenmesinde aday bir gen olduğunu ileri sürmüşlerdir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 SHOX geninin X ve Y kromozomundaki yerleşimi

SHOX geni yaklaşık 40 kb'lık genomik bir bölge kaplamakta olup 7 ekzondan ibarettir. Ekzonlarının 3' uçlarının alternatif splicing ile oluşturulan iki transkript kodlamaktadır. SHOXa ve SHOXb olarak adlandırılan bu transkriptler sırasıyla 292 ve 225 aminoasitten oluşan proteinleri kodlamaktadırlar (Şekil 2.3). SHOX proteini, bir homeodomain proteindir. Homeodomain proteinler, hücre farklılaşması ile organ oluşumunda rol oynayan transkripsiyon faktörü olarak işlev görürler (Schneider vd 2005).

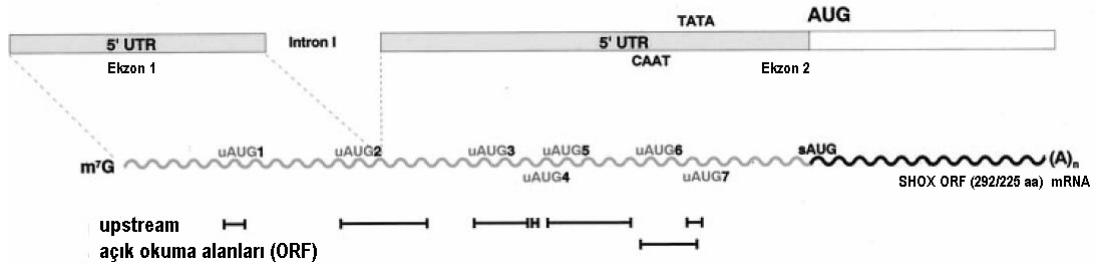


Şekil 2.3 SHOX geninin yapısı

Rao ve arkadaşları (1997), SHOX geninin X inaktivasyonundan kurtulduğunu böylece hem aktif hem de inaktif X kromozomu ile Y kromozomunda eksprese olduğunu göstermişlerdir. Ekspresyon çalışmaları SHOXa ve SHOXb transkriptlerinin farklı ekspresyon paternine sahip olduğunu göstermektedir. SHOXa birçok dokuda yaygın olarak eksprese olurken SHOXb izoformu daha kısıtlı bir ekspresyon paterni gösterir ve daha çok kemik iliği fibroblastlarında bulunur. Bu da, SHOX geninin lineer büyümede rolü olduğunu gösteren bir başka kanıttır. SHOXb, SHOXa'nın transkripsiyonel düzenleyicisi olarak işlev görür. Jones ve arkadaşları (2000) tarafından insanlarda embriyo gelişimi sırasında yapılan SHOX geni ekspresyon çalışmaları ekspresyonun esas olarak ekstremiteler ve faringeal yarıklar olmak üzere iki büyük bölgede meydana geldiğini göstermiştir. Bu ekspresyon paterni hem kısa boy fenotipi hem de tipik iskelet dismorfizmleri (Turner Sendromu, LWD, LMD gibi) ile uyumludur. SHOX geni, ekstremitelerde ilk olarak farklılaşmamış mezenşimal dokuda eksprese olmakta olup mezenşim yoğunlaştığında ve kıkırdaklaşma gerçekleştiğinde bu ekspresyon perikondriyal tabakada daha güçlü olmaktadır. Ekstremitelerin orta bölümünde özellikle dirsek ve dizde SHOX ekspresyonu daha güçlü olmaktadır.

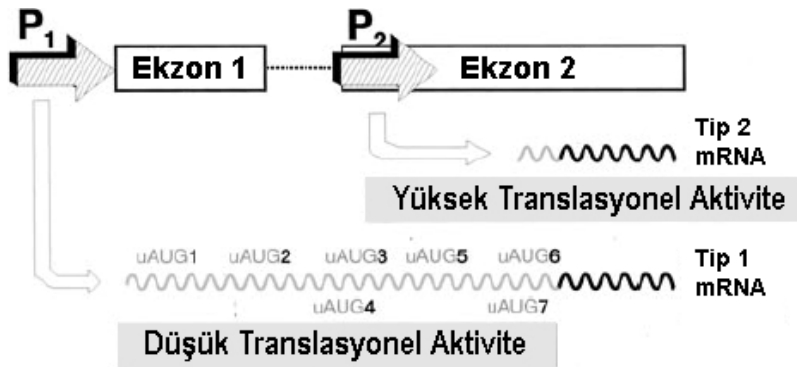
Bununla birlikte aksiyal iskelet veya gelişen kafatasında ekspresyon tespit edilmemiştir. Bu nedenle büyüme ile kemik gelişimi sırasında SHOX geninin kesin rolünün ne olduğu henüz bilinmemektedir

SHOX geni mRNA'sının 5' translasyona uğramayan bölgesi (Untranslated Region: UTR) iki ekzondan meydana gelir. Bu bölge 694 nükleotitten oluşur ve büyüklüğü 6-87 nükleotid arasında değişen yukarı akış yönünde (upstream) 7 açık okuma alanı (Open Reading Frame: ORF) içerir. SHOX geninin 2. ekzonu içinde alternatif bir intragenik promotor bulunmaktadır (Şekil 2.4). Bu bölge sırasıyla -137 ve -257 pozisyonlarında TATA kutusu ve CAAT kutusu içermektedir (Blaschke vd 2003).



Şekil 2.4 SHOX geni 5' UTR'sinin şematik gösterimi

SHOX geninin ekspresyonu, translasyon etkinliği farklı olan ancak benzer kodlama kapasitelerine sahip alternatif promotorlar (P1 ve P2) tarafından düzenlenmektedir (Şekil 2.5). Bu promotorlar farklı translasyon aktivitelere sahip tip 1 ve tip 2 transkriptleri oluşturmaktadır. P2 yüksek oranda SHOX proteinine ihtiyaç duyulması esnasında kullanılırken P1'in muhtemelen hüresel stres durumlarıyla ilişkili olan translasyonel kontrol mekanizmaları aracılığıyla protein seviyesini düzenleyen transkriptlerin oluşumuna izin verdiği düşünülmektedir (Blaschke vd 2003).

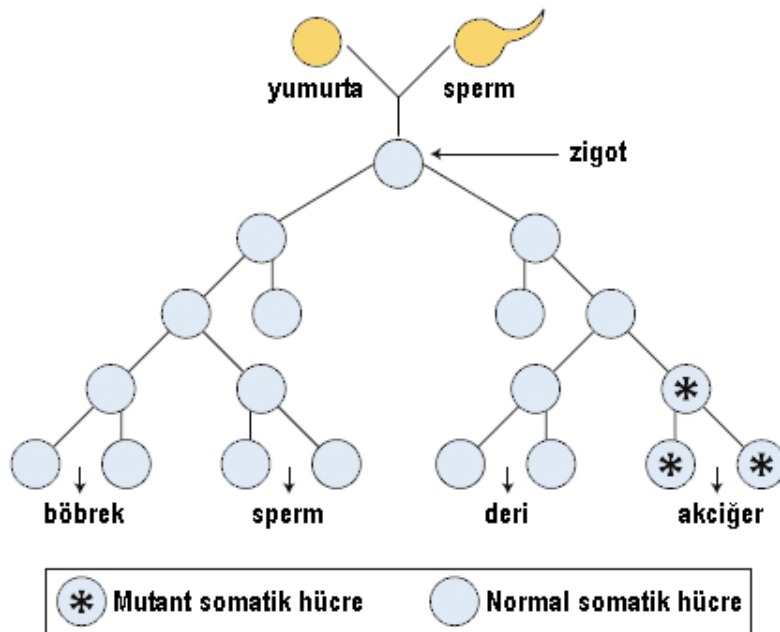


Şekil 2.5 SHOX geni regülasyon modeli

2.6 Mutasyon

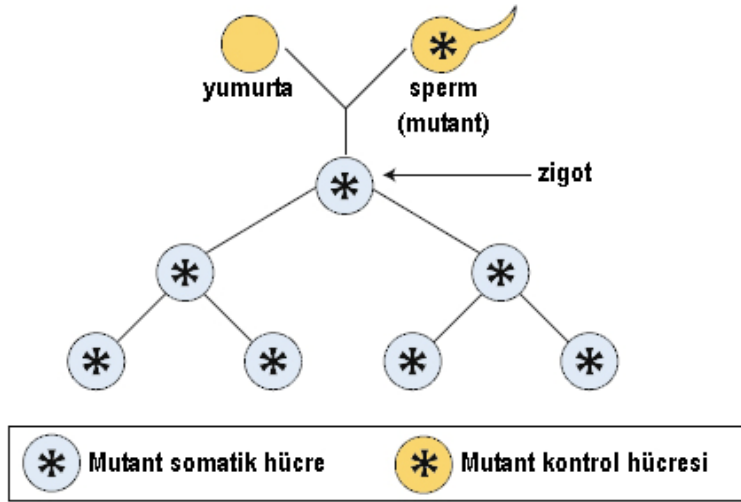
Mutasyon, genetik materyal olan DNA'nın nükleotid dizilerinde veya nükleotidin düzenlenmesinde meydana gelen spontan veya indüklenebilir değişiklikler şeklinde tanımlanır. Mutasyona neden olan fiziksel ve kimyasal ajanlara mutajen denir (Montelone 1998).

Mutasyonların etkileri değerlendirilirken, değişikliğin somatik hücrelerde mi yoksa germ hücrelerinde mi olduğunun ayrımı önemlidir. Somatik hücrelerde oluşan mutasyonlar gelecek kuşaklara aktarılmamaktadır. Somatik hücre mutasyonu Şekil 2.6'da şematik olarak gösterilmiştir. Somatik hücrelerde resesif (çekinik) alleller oluşturan mutasyonlar organizma için nadiren önemlidir. Bu tür mutasyonların ifadesi genellikle dominant (baskın) allel tarafından gizlendiği için ifade fenotipe yansımaz. Somatik mutasyonlar eğer dominant veya X'e bağlı ise büyük olasılıkla hemen ifade edildikleri için daha büyük bir etkiye sahip olacaktırlar (Nussbaum vd 2005).



Şekil 2.6 Somatik hücre mutasyonu

Eşey hattına ait olan gametler ve gamet oluşturan hücrelerdeki mutasyonlara ise germ hücre mutasyonları denir. Bu mutasyonlar gelecek kuşaklara aktarıldıkları için oldukça önemlidir (WEB_2 2009). Germ hücre mutasyonu Şekil 2.7’de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.7 Germ hücre mutasyonunun kalıtımı

2.6.1 Mutasyon Çeşitleri

DNA'nın yapısında meydana gelen değişiklikler gen mutasyonları, kromozom mutasyonları ve genom mutasyonları olmak üzere 3 grupta toplanır (Nussbaum vd 2005).

Gen mutasyonları

DNA'nın yapısındaki nükleotid çiftlerinin yer değiştirmesi, bir veya birkaç nükleotidin DNA'nın yapısına katılması (insersiyon) veya bir veya birkaç nükleotidin DNA'nın yapısından çıkması (delesyon) sonucu bir genin nükleotid dizisinde meydana gelen değişimlere gen mutasyonları denir. Bu mutasyonlar DNA replikasyonu sırasında meydana gelebildiği gibi hasarlı DNA'nın tamirinin yapılamamasından da kaynaklanabilir (Nussbaum vd 2005).

DNA replikasyonu sırasında meydana gelen hataların büyük bir çoğunluğu bir takım DNA tamir mekanizmaları ile onarılır. Burada rol oynayan enzimler ilk olarak yeni sentezlenmiş çift iplikteki yanlış bazı taşıyan ipliği tanır ve daha sonra bu iplikteki bazı doğru olan komplementer baz ile değiştirir. Bu olay hata okuma mekanizması “proofreading” olarak adlandırılır.

Bir gen, ultraviyole (UV) ya da iyonize ışınlarla maruz kalırsa ve çevrede bulunan kimyasal mutajenler ile reaksiyona girerse ilgili genin yapısında mutasyonlar meydana gelir. Bu tür mutasyonlar genellikle kalıcı mutasyonlardır (Nussbaum vd 2005).

Kromozom mutasyonları

Bu mutasyonlar, kromozomların yapısında inversiyon, translokasyon, duplikasyon ve delesyon şeklinde oluşan yapısal değişikliklerdir.

- **Inversiyon:** Bir kromozomda iki kırık oluşur ve kırıkların arasında kalan kısım ters dönerek yeniden yerleşir. Bu olaya inversiyon denir. İki kırık arasında kalan kısım sentromeri içeriyorsa *perisentrik inversiyon*, sentromeri içermiyorsa *parasentrik inversiyon* olarak adlandırılır.

- **Translokasyon:** Genellikle homolog olmayan iki kromozom arasında meydana gelen parça değişimine translokasyon denir. Translokasyonlar resiprokal translokasyon, Robertsonian translokasyon ve insersiyon olmak üzere 3 gruba ayrılır. Homolog olmayan iki kromozomun distalinde kırık oluşup kırılan parçaların karşılıklı olarak yer değiştirmesine *resiprokal translokasyon* denir. İki akrosentrik kromozom arasında meydana gelen ve sentromere yakın bölgede oluşan kırık sonucu kromozomların kısa kollarının kaybı ile bu bölgeden yeniden birleşmesine *Robertsonian translokasyon* denir. Bir kromozoma ait bir segmentin oluşan kırıklar sonucu yerinden ayrılarak başka bir kromozoma yerleşmesine ise *insersiyon* denir.

- **Duplikasyon:** Bir kromozom segmentinin fazlalığı şeklinde tanımlanır. Eşit olmayan crossing-over veya bir translokasyon veya inversiyon taşıyıcısında mayoz bölünmede anormal segregasyon nedeniyle oluşabilir (Nussbaum vd 2005).

- Delesyon: Bir kromozom segmentinin kaybı demektir. Delesyon taşıyıcısı bir birey normal homolog kromozomuna karşılık gelen bölgedeki genetik bilgi açısından monozomiktir. Delesyonlar kromozomun kırılması ve sentromer içermeyen segmentin kaybı ile oluşabilir. Ayrıca duplikasyonda olduğu gibi eşit olmayan crossing-over veya dengeli bir translokasyon veya inversiyondan anormal segregasyon nedeniyle oluşabilir.

Genom mutasyonları

Mayoz veya mitoz bölünme sırasında homolog kromozomların hatalı ayrılması ile oluşan kromozom sayılarının değişimidir. Genom mutasyonları her 25-50 mayotik hücre bölünmesinde bir görülür. Kromozom sayısında meydana gelen değişiklikler ayrılmama “nondisjunction” veya anafaz safhasında geri kalma “anafaz lagging” mekanizmaları ile oluşur (Nussbaum vd 2005).

2.6.2 Sonuçlarına Göre Mutasyonlar

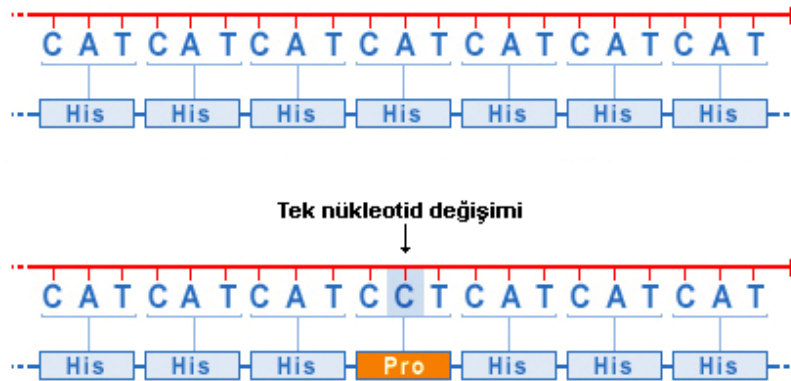
Mutasyonların sonuçları ilgili gene göre ya da DNA'daki konumu ve büyüklüğüne göre de değişebilir. Dolayısıyla mutasyonların fenotipe yansımaları genin ifade kontrol bölgelerinde, intronların içinde, intron-ekzon kesim bölgelerinde veya polipeptidi kodlayan ekzon bölgelerinde meydana gelmesine göre değişebilir. Genetik şifredeki kodon dejenerasyonu olgusu ve protein sentezini sonlandıran “DUR” kodonlarının varlığı mutasyonların sonuçlarını etkileyen diğer faktörler arasında gösterilebilir (Debeleç-Bütüner vd 2006).

Yanlış Anlamalı (Missense) Mutasyonlar

Bir DNA dizisindeki tek bir nükleotid değişimi gen ürünüde aminoasit değişikliğine neden olur. Bu tip mutasyonlara yanlış anlamalı mutasyonlar denir. Şekil 2.8 yanlış anlamalı mutasyonu şematik olarak göstermektedir.

Yanlış anlamalı mutasyonların fenotipe yansımaları kodon veya nükleotid tipine göre değişebilir. Örneğin, polipeptitte meydana gelen değişiklik benzer kimyasal özelliğe sahip bir aminoasit olarak gerçekleşmişse etkisi daha az (polar-polar), kimyasal özelliği

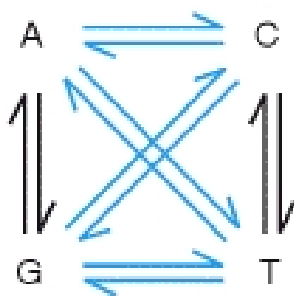
farklı bir aminoasit yer almışsa etkisi daha fazla olabilir (asidik-bazık) (Strachan vd 1999).



Şekil 2.8 Yanlış anlamlı mutasyonun şematik gösterimi

Tek nükleotid değişimleri olaya katılan bazların türüne göre iki şekilde adlandırılır. DNA'nın yapısındaki nükleotidlerden bir pürin bazı yerine diğer pürin bazının (A-G) veya bir pirimidin bazı yerine diğer pirimidin bazının (T-C) gelmesi şeklindeki değişikliklere transisyon denir. Bir pürin yerine bir pirimidin veya bir pirimidin yerine bir pürin gelmesi şeklindeki değişikliklere ise transversiyon denir (Strachan vd 1999).

Bir baz, başka bir bazla yer değiştirdiğinde transversiyon için her zaman iki olası seçenek varken transisyon için bir seçenek vardır (Şekil 2.9).

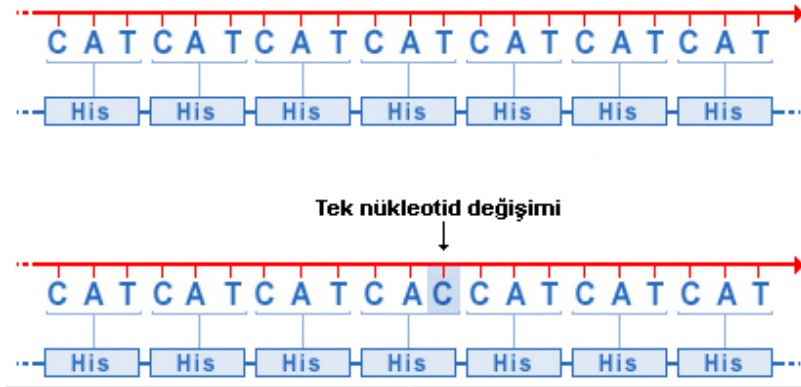


Şekil 2.9 Transisyon ve transversiyonda baz değişimleri (Siyah oklar: Transisyon, Mavi oklar: Transversiyon)

Sessiz (Silent) Mutasyonlar

DNA üçlü kodonunda kodonun 3. bazı değişikliğe uğramasına rağmen bu kodondan sentezlenen aminoasit değişmez. Çünkü DNA'dan mRNA'ya yansıyan değişiklik yine

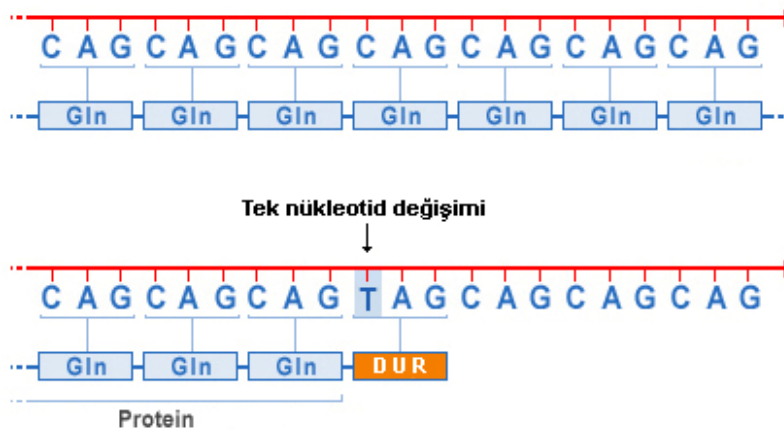
aynı aminoasiti kodlayan bir başka kodona dönüşmüştür. Örneğin CAT ve CAC kodonlarının her ikisi de mRNA’da histidin aminoasidini kodlamaktadır. Bu nedenle üçüncü bazda T yerine C’nin geçmesi değişikliğe neden olmaz. Buna sessiz mutasyon denir (Montelone 1998). Sessiz mutasyon Şekil 2.10’da şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.10 Sessiz mutasyonun şematik gösterimi

Anlamsız (Nonsense) Mutasyonlar

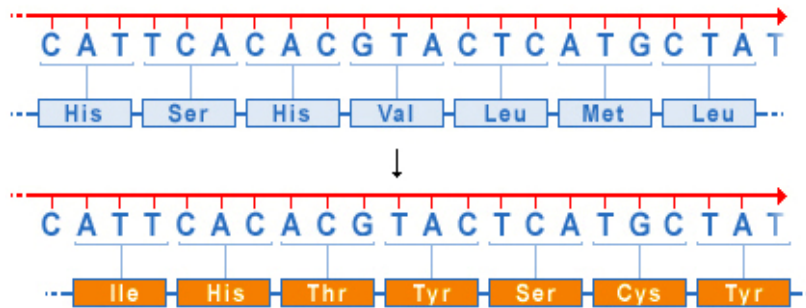
Anlamsız mutasyonlarda, DNA üçlü kodonunda meydana gelen nükleotid değişikliği normal bir kodon yerine mRNA’dan protein sentezinin sona ermesini sağlayan “DUR” kodonlarından (UAA, UAG ve UGA) birinin oluşmasına neden olur (Şekil 2.11). Bu durumda polipeptit zincirin erken sonlanmasıyla olması gerekenden daha kısa ve işlevsiz bir ürün meydana gelir. Anlamsız mutasyonun etkileri, proteinin ne kadar kısaltılmış olduğuna ve fonksiyon için ne kadar proteine gereksinim olduğuna göre değişir (Debeleş-Bütüner vd 2006).



Şekil 2.11 Anlamsız mutasyonun şematik gösterimi

Çerçeve Kayması (Frame-Shift) Mutasyonları

Bu mutasyonlar, genin kodlamaya katılan bölgesine üçün katları dışında oluşan nükleotid eklenmesi veya eksilmesi sonucu meydana gelir. Bu değişiklik, mRNA'daki üçlü kodon okuma çerçevesini tümüyle değiştirebilir. Benzer şekilde iki veya daha fazla nükleotidin DNA'ya katılması veya ayrılması ile de çerçeve kayması meydana gelir. Çerçeve kayması mutasyonlarının etkileri, bu tip düzensizliklerin genin 5' veya 3' bölgesine yakınlığına göre değişebilir. Sonuç olarak, ilgili proteinin tüm yapısı ve işlevi ortadan kalkabilir veya farklı bir işlev kazanmasına neden olabilir (Montelone 1998). Çerçeve kayması mutasyonu Şekil 2.12'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.12 Çerçeve kayması mutasyonunun şematik gösterimi

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Örnekler

Çalışmaya Pamukkale Üniversitesi Hastaneleri Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı tarafından tüm tetkikleri yapılarak idiopatik boy kısalığı tanısı alan 12 tanesi kız, 13 tanesi erkek olmak üzere toplam 25 olgu alındı. Tanı konulan olgular boy kısalığı etiolojisinde rol oynayan faktörler araştırıldıktan sonra idiopatik sınıfına dahil edildi (Tablo 3.1). Dahil olma kriterlerini taşıyan olgulara, çalışmaya gönüllü olarak katılmayı kabul ettiklerine dair “Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Genetik Materyal)” imzalatıldı ve her olgudan K₃ EDTA’lı tüplere (VACUETTE®) toplam 5 ml periferik kan örneği alındı.

Tablo 3.1 Çalışmaya katılan olguların idiopatik boy kısalığı açısından değerlendirilme kriterleri

Dahil Olma Kriterleri	Dışlama Kriterleri
Boy Standart Sapma Skoru (SDS) -2'nin altında olmalı	Boy SDS değeri -2'nin üstünde olanlar
Orantılı boy kısalığı olmalı	Orantılı boy kısalığı olmayanlar
İskelet sistemi bulguları normal olmalı	İskelet sistemi anormalisi olanlar
Dismorfik bulgu yani sendromik boy kısalığı olmamalı	Dismorfik bulgusu olanlar
Rutin tetkiklerinde boy kısalığını açıklayacak kronik sistemik hastalık bulgusu saptanmamış olmalı	Rutin tetkiklerinde boy kısalığını açıklayacak kronik sistemik hastalık bulgusu saptanmış olanlar
Kemik yaşı geriliği -2 SDS'den fazla olmamalı	Kemik yaşı geriliği -2 SDS'den fazla olanlar
Ötroid iken yapılan farmakolojik büyüme hormonu uyarı testlerine normal yanıt vermiş olmalı	Ötroid iken yapılan farmakolojik büyüme hormonu uyarı testlerine yanıtı anormal olanlar
Karyotipi normal olmalı	Anormal karyotipe sahip olanlar

Kontrol grubu olarak toplam 10 sağlıklı çocuk çalışmaya dahil edildi.

3.2 DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN® Katalog No: 51104) yöntemi “blood and body fluid” protokolü kullanılarak gerçekleştirildi.

Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Periferik kandan DNA izolasyonunda uygulanan aşamalar sırasıyla aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

- 1) 20 µl QIAGEN Proteaz 1.5 ml'lik ependorf tüpüne eklendi.
- 2) 200 µl periferik kan örneği ependorf tüpüne eklendi.
- 3) Örneğe 200 µl Buffer AL eklenip 15 saniye boyunca vortekste tutuldu.
- 4) 56°C'de 10 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 5) Ependorf tüpünün kapağının içindeki damlaları almak için kısa santrifüj edildi.
- 6) Örneğe 200 µl etanol eklendi ve 15 saniye boyunca vortekste tutuldu (gerekirse ependorf tüpünün kapağının içindeki damlaları almak için santrifüj edildi).
- 7) Karışım dikkatli bir şekilde 2 ml'lik toplama tüpü içindeki QIAamp Spin Filtreli Tüpe kenarı ıslatılmadan aktarıldı. Filtreli tüpün kapağı kapatıldıktan sonra 8000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtreli tüp 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi ve filtrat içeren tüp atıldı.
- 8) Filtreli tüpün kapağı açıldı ve kenarı ıslatılmadan 500 µl Buffer AW1 eklendi. Filtreli tüpün kapağı kapatıldıktan sonra 8000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası filtreli tüp 2 ml'lik temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi ve filtrat içeren tüp atıldı.
- 9) Filtreli tüpün kapağı açıldı ve kenarı ıslatılmadan 500 µl Buffer AW2 eklendi. Filtreli tüpün kapağı kapatıldıktan sonra 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.
- 10) Filtreli tüp 1.5 ml'lik temiz bir ependorf tüpüne yerleştirildi ve filtrat içeren tüp atıldı. Filtreli tüpün kapağı açıldı ve 200 µl Buffer AE eklendi. Oda ısısında 1 dakika inkübasyona bırakıldı ve 8000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi.
- 11) Santrifüj sonrası filtreli tüp atıldı. Ependorf tüpünde geri kalan çözelti genomik DNA'dır.

3.3 DNA Konsantrasyonunun Belirlenmesi

DNA izolasyonu yapılan örneklere ait DNA konsantrasyonu “Thermo Scientific NanoDrop 2000c” spektrofotometre cihazı ile ölçülmüştür.

3.4 Mutasyon Analizi - Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), in vitro koşullarda genomik DNA'nın istenilen bölgesine özgü primerler kullanılarak konsantrasyonunun moleküler açıdan değerlendirilebilir düzeye çıkartılması işlemidir. PZR, 3 ana basamakta gerçekleşir:

1) Denatürasyon: Bu aşamada DNA molekülünün çift zincirli yapısı yüksek ısı yardımıyla birbirinden ayrılır.

2) Bağlanma (Annealing): Denatürasyonu takiben daha düşük ısılarda primerler ayrılmış olan tek zincirli DNA üzerinde kendilerine özgül bölgelere bağlanırlar.

3) Uzama (Elongasyon): Bu aşamada ısı 72°C'ye kadar artırılarak DNA polimeraz enziminin tamamlayıcı DNA zincirini uzatması sağlanır.

PZR'nin bu üç basamağının her tekrarında DNA miktarı teorik olarak iki katına çıkar. Başlangıçta koyulan DNA miktarı ve döngü sayısına bağlı olarak oluşan ürün miktarı değişir.

Bu çalışmada, SHOX geninin 2., 3., 4., 5. ve 6. ekzonlarını içeren DNA parçaları PZR ile çoğaltılmış olup kullanılan primerler Tablo 3.2'te verilmiştir. SHOX geninin 1. ekzonu kodlanmayan bir ekzon olması nedeniyle çalışmaya dahil edilmemiştir.

Tablo 3.2 SHOX geni çoğaltılmasında kullanılan primerler

Ekzon	Primer Dizisi	PZR Ürünü (bç)
2	F5'-CGCGGGGAGACGCGCGCATCC-3' R5'-GGCGCCGAACCCCAGGAGGGC-3'	386
3	F5'-GCCACGTTGCGCAAAACCTC-3' R5'-CCCGAGGACCAGGCGATG-3'	320
4 ve 5	F5'-GGGAGGCTGGGCTGGGTTC-3' R5'-GGAAGGGAGCAGCAGGTCC-3'	376
6	F5'-TCCTGCGCCCTCACCC-3' R5'-GTGCAGGACGCGCGGT-3'	354

F: İleri dizi (Forward) primer

R: Geri dizi (Reverse) primer

bç: Baz çifti

Her bir olgu için 4 tane PZR tüpü numaralandırılarak hazır hale getirildi. Her tüpe sırasıyla 25 µl HotStar Taq PZR Karışımı (2.5 ünite HotStar Taq DNA polimeraz, 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP - QIAGEN Katalog No: 203445), 13 µl H₂O, 2 µl SHOX primer karışımı ve 10 µl DNA ilave edildi. Daha sonra tüpler PZR cihazına yerleştirildi ve Tablo 3.3 ve Tablo 3.4'te verilen programlara göre PZR döngüsü tamamlandı. Ekzon 2, 3, 4 ve 5 için "step down" PZR uygulandı.

Tablo 3.3 Ekzon 2, 3, 4 ve 5'e özgü primerler için kullanılan PZR programı

95°C, 15 dk	HotStart Taq aktivasyonu	
94°C, 1 dk	Ayrılma (Denatürasyon)	2 döngü
63°C, 1 dk	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72°C, 1 dk	Uzama (Elongasyon)	
94°C, 1 dk	Ayrılma (Denatürasyon)	2 döngü
64°C, 1 dk	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72°C, 1 dk	Uzama (Elongasyon)	
94°C, 1 dk	Ayrılma (Denatürasyon)	35 döngü
66°C, 1 dk	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72°C, 1 dk	Uzama (Elongasyon)	
72°C, 5 dk	Final	

Tablo 3.4 Ekzon 6'ya özgü primerler için kullanılan PZR programı

95°C, 5 dk	HotStart Taq aktivasyonu	
97.5°C, 30 sn	Ayrılma (Denatürasyon)	35 döngü
65°C, 30 sn	Primerlerin bağlanması (Annealing)	
72°C, 45 sn	Uzama (Elongasyon)	
72°C, 10 dk	Final	

3.5 PZR Ürününün Görüntülenmesi

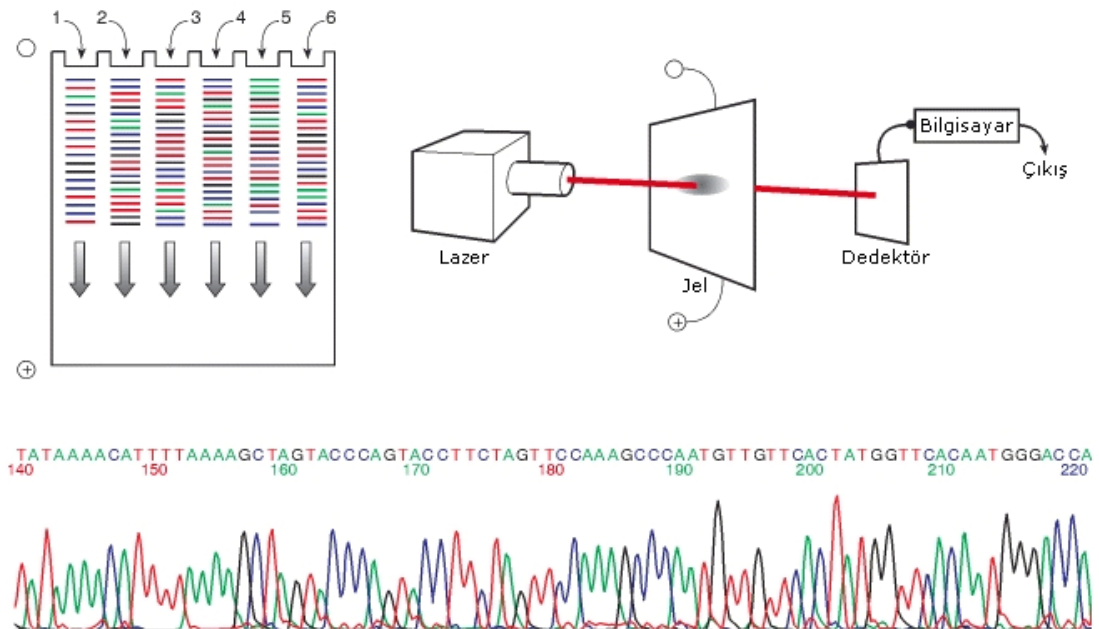
PZR ürünlerinin görüntülenmesi için %2'lik agaroz jel hazırlandı. Bunun için önce hassas terazide 1 gram toz agaroz tartılarak cam erlen mayere aktarıldı ve üzerine 50 ml. 1×TAE (tris-asetik asit EDTA) eklendi. Hazırlanan karışım ısıtmalı manyetik karıştırıcıda agaroz tamamen çözünüp şeffaf hale gelinceye kadar karıştırıldı. Agaroz jeldeki PZR ürününü görünür hale getirmek amacıyla son aşamada çözeltiye 2 µl etidyum bromür (EB) ilave edildi. EB, DNA molekülünün bağlarının arasına bağlanır ve UV ışığı altında floresan etki göstererek DNA'nın jelde görünür hale gelmesini sağlar. Katılaşmayacak kadar soğutulan agaroz çözeltisi tarak ihtiva eden jel tablasına dökülerek jelin polimerleşmesi beklendi. Jel katılaştıktan sonra tarak dikkatlice çıkarılarak içerisinde 1×TAE solüsyonu bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. PZR ürününün büyüklüğünü belirlemek için jelin ilk kuyucuğuna 100 baz çiftlik DNA marker yüklendi. Daha sonraki kuyucuklara her ekzon için önce PZR ürünü içeren karışım (2 µl yükleme tamponu–10 µl PZR ürünü) sonra negatif kontrol için PZR ürünü içermeyen karışım (2 µl yükleme tamponu–10 µl su) gelecek şekilde yükleme yapıldı. Jel elektroforez tankı güç kaynağına bağlandı ve jel 100 Volt akım uygulanarak 20 dakika süre ile yürütüldü. PZR reaksiyonu sonucu elde edilen PZR ürünlerinin görüntüleme işlemi “Vilber Lourmat” UV görüntüleme cihazı ile yapıldı ve görüntüsü alınarak kaydedildi.

3.6 DNA Dizi Analizi

DNA dizi analizi, DNA örneklerindeki nükleotid baz dizilerinin sırasını doğru ve eksiksiz bir şekilde ortaya çıkarmak için kullanılan bir yöntemdir. Nükleotid baz dizilerinin belirlenmesi için iki temel teknik geliştirilmiştir. Bunlar Frederick Sanger ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş olan dideoksi enzimatik yöntemi ile Allan Maxam ve

Walter Gilbert tarafından geliştirilmiş kimyasal degradasyon (yıkım) yöntemidir. Bu iki yöntemden Sanger ve arkadaşlarının yöntemi günümüzde daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Her iki yöntemde 3 aşama vardır. Bunlar dizi analizi yapılacak DNA'nın hazırlanması, reaksiyonlar ve yüksek voltaj jel elektroforezidir.

Yaptığımız çalışmada SHOX genindeki ilgili bölgeye ait PZR ürününün DNA dizi analizi Otomatik Kapiller Jel Elektroforez cihazı (ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer Applied Biosystems, Foster City, USA) ile İontek (İontek A.Ş. İstanbul, Türkiye) adlı bir firma tarafından yapılmıştır. Otomatik DNA dizi analizi, Sanger ve arkadaşları tarafından geliştirilen enzimatik sentez yönteminin gelişmiş bir kapiller sisteme uyarlanmış halidir. Uygulanan yöntemde, dizisi okunacak bölge PZR ile çoğaltılır ve floresan boyalarla işaretlenmiş dideoksinükleotitleri içeren durdurma reaksiyonunun ilavesiyle DNA sentez ürünleri floresan boyalarla işaretlenmiş olur. Örnekler bir kapillerden geçirilirken elektroforez uygulanır. Floresan işaretli boyaları uyarmak için bir lazer, boyaların yaydığı ışığı toplamak için de bir CCD kamera kullanılır. Böylece, lazer uyarımının ardından DNA'ların yaydığı farklı dalga boylarındaki ışınlar otomatik dizi analizi cihazı tarafından okunur, analiz edilir ve veriler bilgisayarda görüntülenir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Otomatik DNA dizi analizi (Human Molecular Genetics 2, 1999)

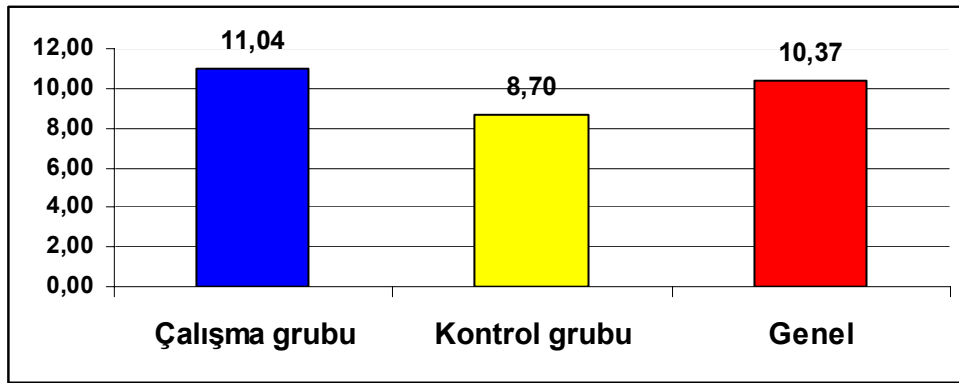
Dizi analizi sonuçları Chromas programı ile incelenmiş (Chromas Pro 1.5, Technelysium Pty Ltd.) ve <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi> internet sitesi kullanılarak analizleri yapılmıştır.

3.7 İstatistiksel Analiz

Değişkenlere ilişkin tanımlayıcı bilgiler (ortalama \pm standart sapma, sayı ve yüzde) elde edildi.

4. BULGULAR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Endokrinoloji Bilim Dalı'na başvuran ve tüm tetkikleri yapılarak idiopatik boy kısalığı tanısı almış 25 adet olgu çalışma grubuna dahil edilmiştir. Olguların yaş aralığı 4-16 arasında olup yaş ortalaması $11,04 \pm 3,34$ bulunmuştur. Ayrıca kontrol grubu olarak 10 adet boy kısalığı hikayesi olmayan sağlıklı çocuk bu çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrollerin 5 tanesi erkek (%50), 5 tanesi (%50) kızdır. Kontrol grubunun yaş ortalaması $8,70 \pm 5,12$ 'dir. Hem çalışma grubunun hem de kontrol grubunun toplam yaş ortalamaları ise $10,37 \pm 4,10$ olarak saptanmış olup Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 Çalışma ve kontrol grubunun yaş ortalamaları

Çalışmaya katılan idiyopatik boy kısalığı olgularının boy uzunlukları ve boy SDS değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Çalışma grubunun boy uzunluğu ve boy SDS değerleri

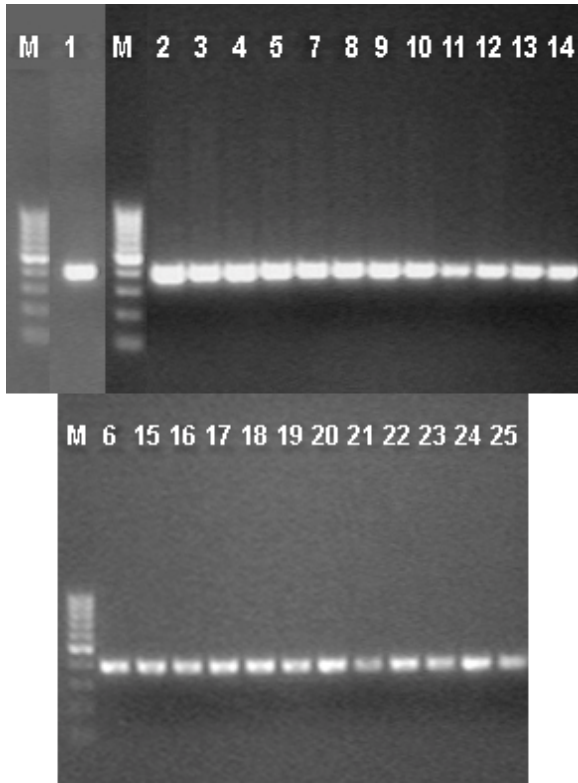
Olgu No	Boy uzunluğu (cm)	Boy SDS değeri
1	91	-2.89
2	137	-2.95
3	116	-2.69
4	132	-2.94
5	118	-2.40
6	129	-3.37
7	132	-2.86
8	141	-2.11
9	122	-2.06
10	123	-2.86
11	92	-2.17
12	116	-2.15
13	151	-2.63
14	94	-2.98
15	101	-2.15
16	130	-2.14
17	147	-2.02
18	128	-2.04
19	121	-2.24
20	126	-2.69
21	118	-2.06
22	142	-2.36
23	143	-2.19
24	143	-3.21
25	146	-2.14

Olgulara ait periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu yapılmıştır. DNA konsantrasyonu “Thermo Scientific NanoDrop 2000c” spektrofotometre cihazı ile ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.2’de verilmiştir.

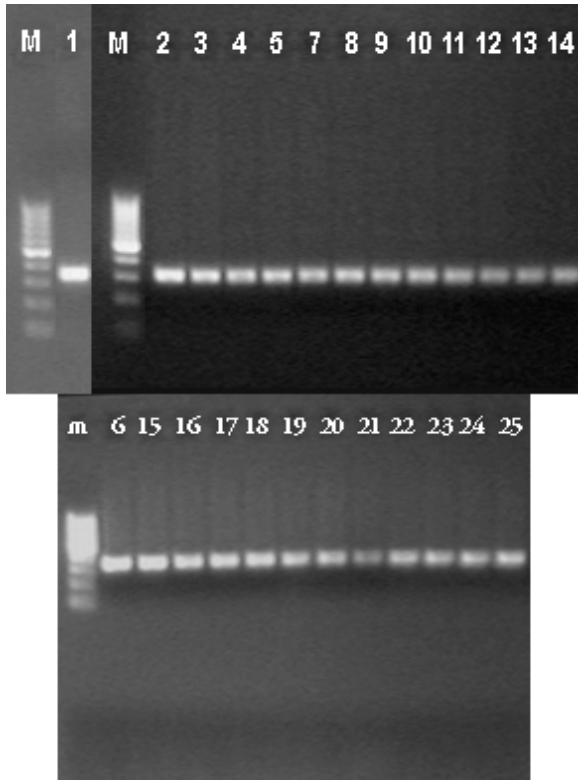
Tablo 4.2 DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçümleri

Örnekler	ng/ μ l	260/280 A ^o	260 A ^o	280 A ^o
1	33,0	1,81	0,660	0,364
2	40,9	1,60	0,818	0,510
3	48,1	1,67	0,963	0,576
4	22,4	1,51	0,447	0,297
5	34,3	1,91	0,686	0,358
6	44,2	1,86	0,884	0,474
7	42,9	1,78	0,859	0,483
8	35,2	1,75	0,703	0,402
9	29,9	1,69	0,597	0,354
10	39,1	1,72	0,783	0,455
11	31,0	1,76	0,619	0,353
12	42,7	1,76	0,854	0,486
13	11,0	1,64	0,219	0,134
14	19,7	1,45	0,395	0,273
15	46,0	1,89	0,920	0,486
16	34,6	1,86	0,691	0,371
17	38,7	1,93	0,773	0,400
18	34,7	1,93	0,694	0,359
19	30,2	1,94	0,604	0,311
20	41,7	1,86	0,834	0,449
21	40,8	1,82	0,816	0,449
22	39,8	1,85	0,796	0,430
23	41,9	1,85	0,839	0,454
24	37,2	1,91	0,744	0,390
25	41,8	1,86	0,835	0,449

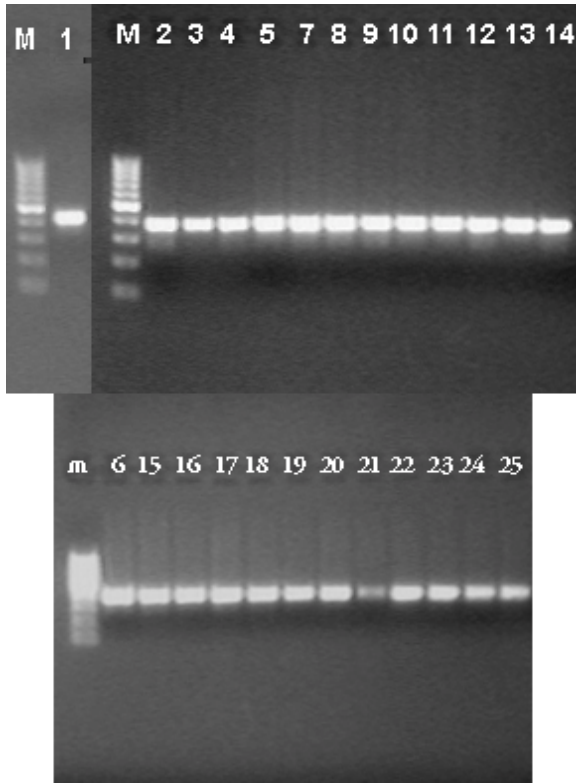
İncelenmek istenen DNA örnekleri için SHOX genine ait özgül primerler kullanılarak ekzon 2, 3, 4, 5 ve 6 PZR ile çoğaltılmıştır. TECHNE TC-412 cihazında gerçekleştirilen PZR sonucunda PZR ürünlerine ait agaroz jel görüntüleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.2 – 5).



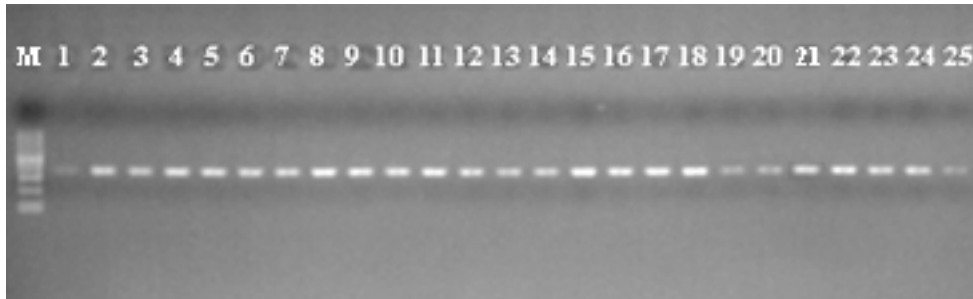
Şekil 4.2 Olgulara ait 386 bç'lik ekzon 2 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri (M: 100 bç Marker)



Şekil 4.3 Olgulara ait 320 bç'lik ekzon 3 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri (M: 100 bç Marker)

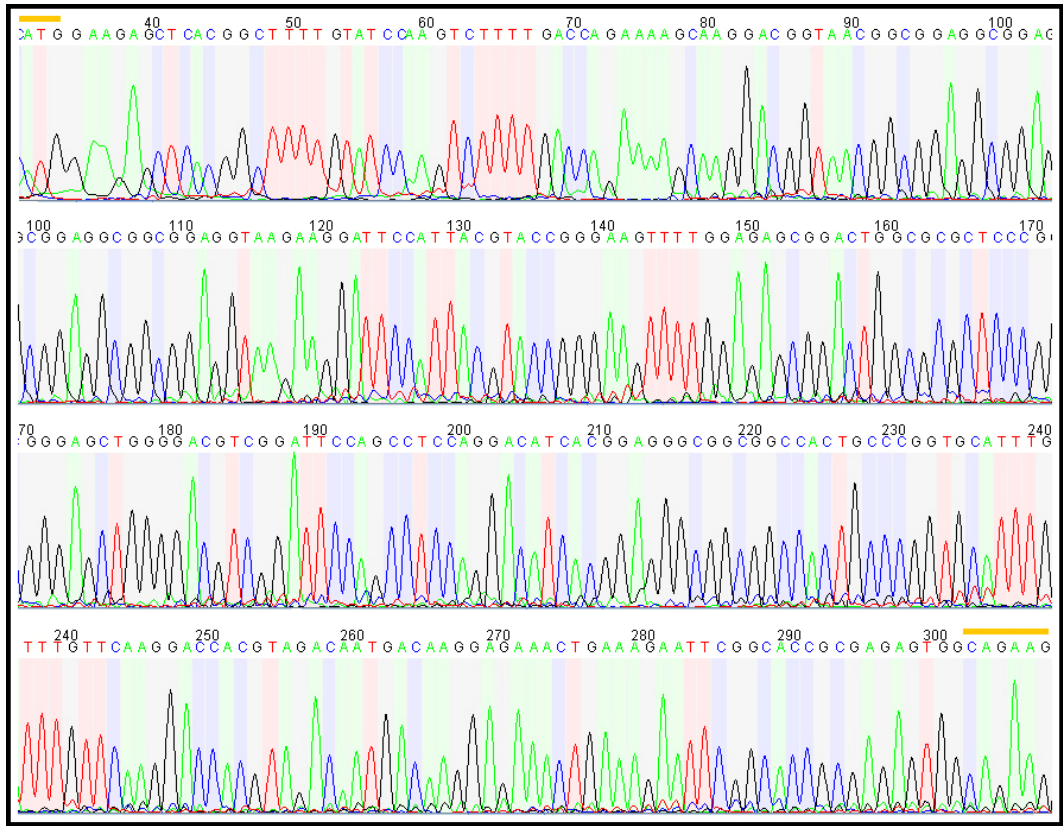


Şekil 4.4 Olgulara ait 376 bç'lik ekzon 4 ve 5 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri (M: 100 bç Marker)

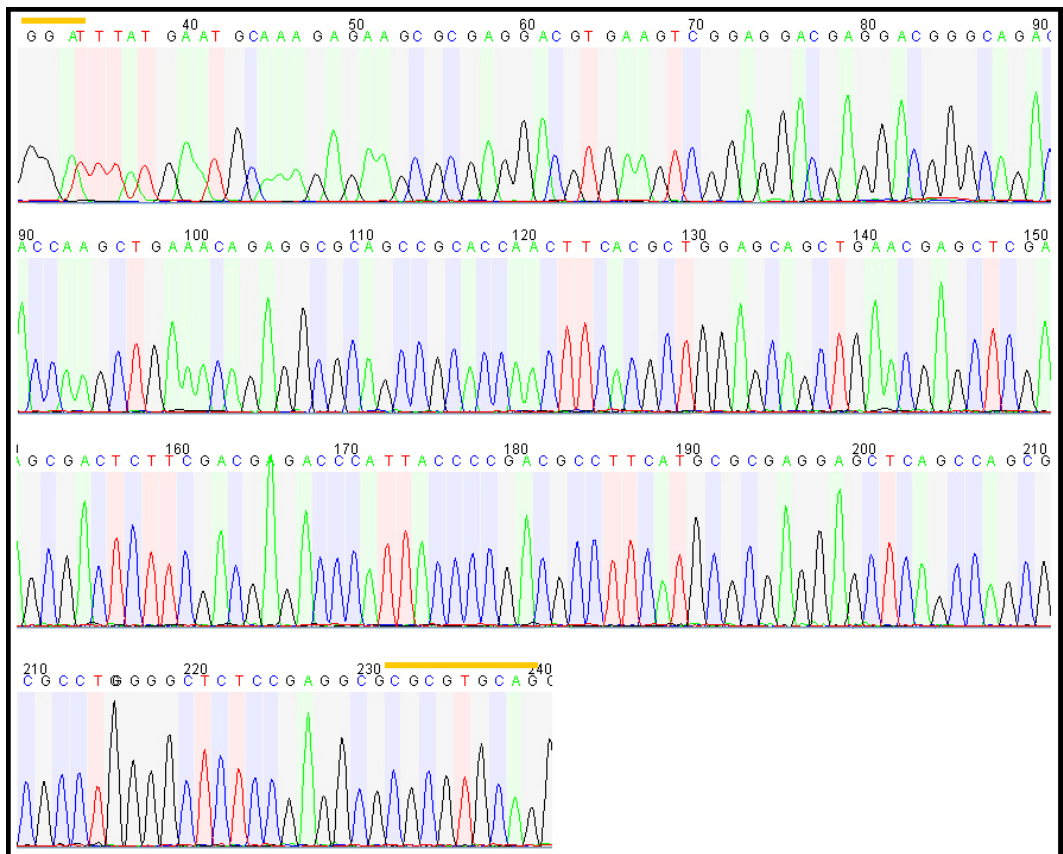


Şekil 4.5 Olgulara ait 354 bç'lik ekzon 6 PZR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüleri (M: 100 bç Marker)

PZR ile çoğaltılan SHOX geninin ilgili ekzonları DNA dizi analizi ile araştırılmıştır. Çalışmaya katılan 25 olgunun hiçbirisinde mutasyon saptanmamış olup olguların hepsi (%100) normal olarak değerlendirilmiştir. Bazı olgulara ait DNA dizi analizi örnekleri Şekil 4.6 – 9'da gösterilmiştir.



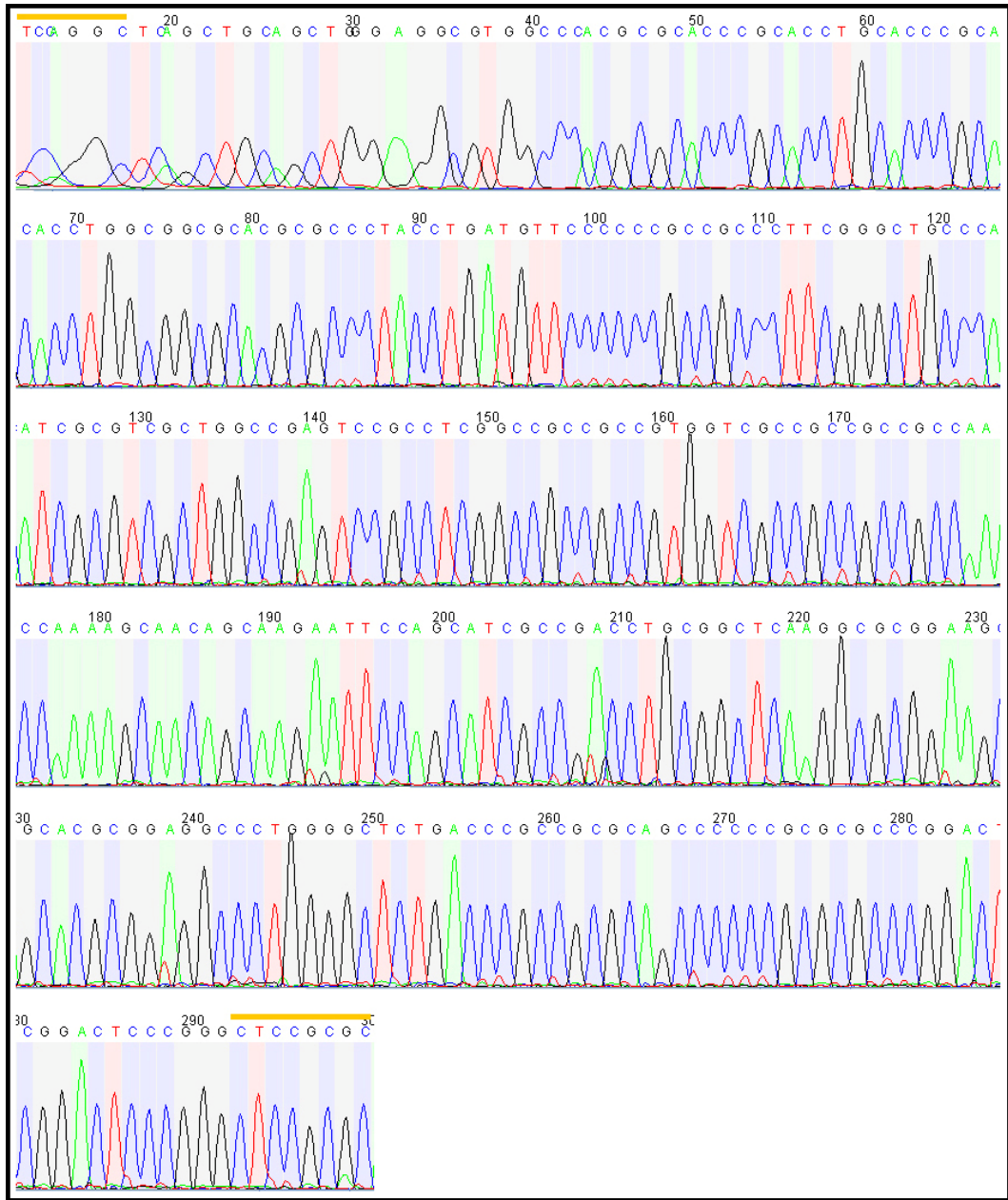
Şekil 4.6 2 numaralı olgunun Ekzon 2'ye ait DNA dizi analizi sonucu



Şekil 4.7 6 numaralı olgunun Ekzon 3'e ait DNA dizi analizi sonucu

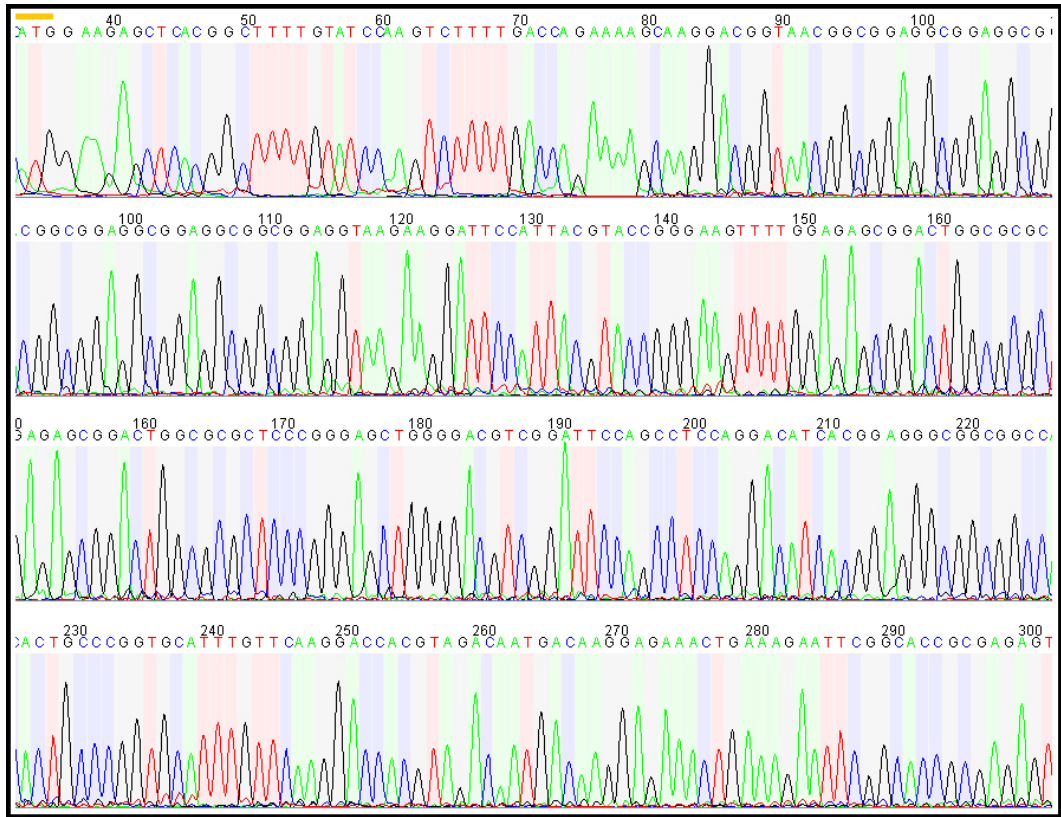


Şekil 4.8 11 numaralı olgunun Ekzon 4 ve 5'e ait DNA dizi analizi sonucu

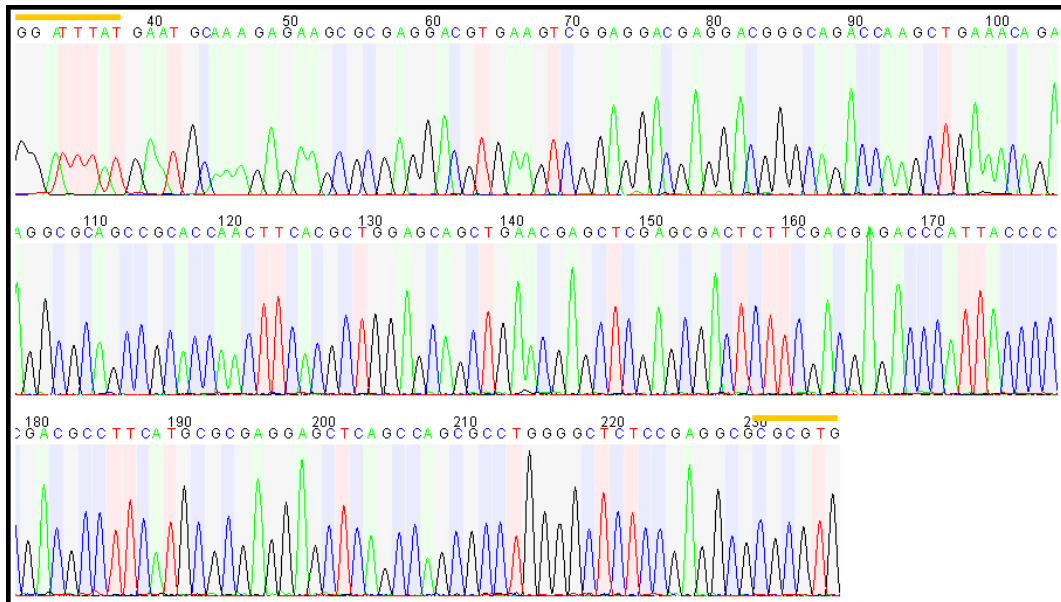


Şekil 4.9 23 numaralı olgunun Ekzon 6'ya ait DNA dizi analizi sonucu

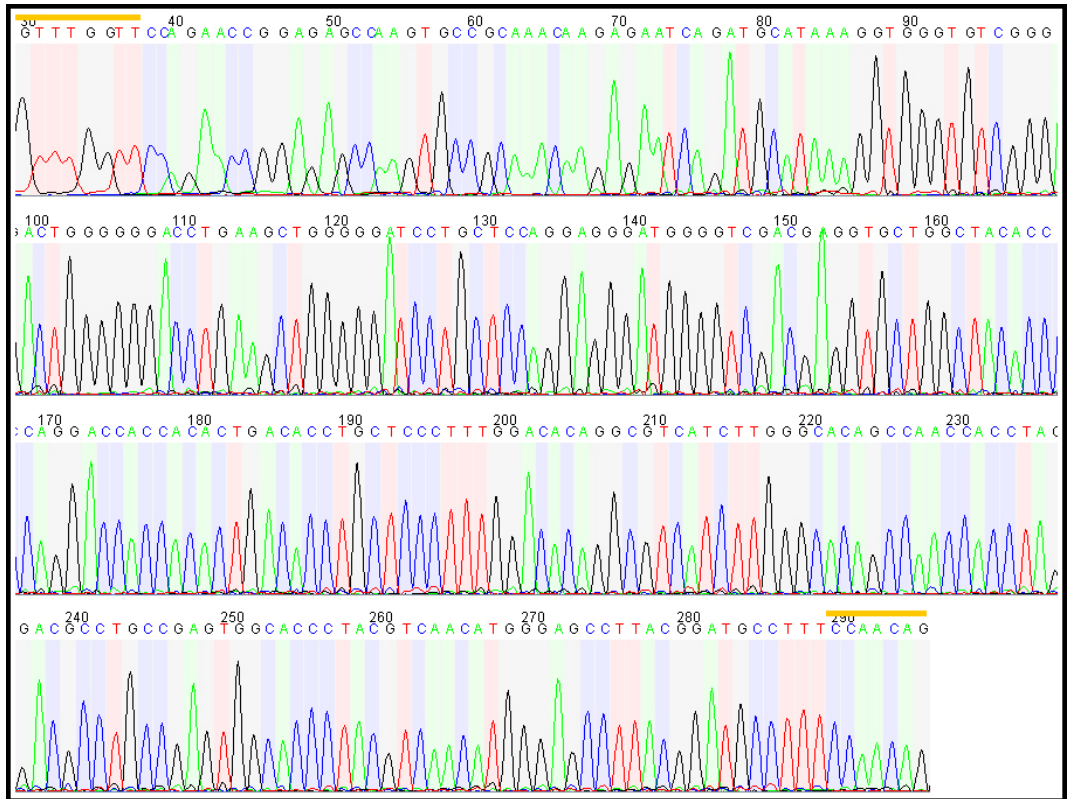
Kontrol grubundaki bireylerin periferik kanından izole edilen DNA örnekleri de SHOX mutasyonu açısından araştırılmış ve hiçbirisinde mutasyon tespit edilmemiştir. Bu grupta yer alan bazı bireylere ait DNA dizi analizi örnekleri Şekil 4.10 – 13'te gösterilmiştir.



Şekil 4.10 26 numaralı bireyin Ekzon 2'ye ait DNA dizi analizi sonucu



Şekil 4.11 30 numaralı bireyin Ekzon 3'e ait DNA dizi analizi sonucu



Şekil 4.12 32 numaralı bireyin Ekzon 4 ve 5'e ait DNA dizi analizi sonucu

5. TARTIŞMA

Boy kısalığı genetik etkinin güçlü olduğu multifaktöriyel bir durumdur. Uzunlamasına büyümede birçok genin etkili olduğu bildirilmesine rağmen kısa boylu olguların küçük bir grubunda saptanmıştır. Bu genlerden biri olan SHOX genindeki mutasyonlar, izole veya ailesel kısa boylu bireylerde boy kısalığın en sık genetik nedenidir.

Bu tez çalışmasında, idiyopatik boy kısalığı tanısı almış 25 adet olgunun SHOX geni PZR ve DNA dizi analizi ile incelenmiş ve hiçbir olguda mutasyona rastlanmamıştır. Günümüze kadar geçen süre içinde, idiyopatik boy kısalığı tanısı almış çeşitli olgu serilerinde değişik teknikler kullanılarak SHOX geninin bazı ekzonlarında genetik analizler yapılmış ve çeşitli mutasyonlar bildirilmiştir. Literatürde bildirilen bu mutasyonlar Tablo 5.1’de toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo 5.1 İdiyopatik boy kısalığı olgularında tanımlanan SHOX geni mutasyonları

Ekzon	Nükleotid değişimi	Mutasyon çeşidi	
3	C548G	Missense	Stuppia vd (2003)
3	A335C	Missense	Rappold vd (2007)
3	A346G	Missense	Rappold vd (2007)
4	G492A	Nonsense	Rappold vd (2007)
4	G503T	Missense	Rappold vd (2007)
5	C674T	Nonsense	Rao vd (1997), Rappold vd (2002)
5	delA	Delesyon	Shanske vd (2006)
6	G761A	Missense	Rappold vd (2002)
6	776-787delCΔ4aa	Delesyon	Rappold vd (2002)

Rao vd (1997), İBK tanısı konan 91 olguda DNA dizi analizi yöntemi ile yaptıkları mutasyon taraması sonucunda yalnız bir olguda SHOX geninin 5. ekzonunda bir anlamsız (nonsense) mutasyon tespit etmişlerdir. 195. kodonda (CGA) C-T değişimi ile

sonuçlanan bu mutasyon arjinin aminoasidi yerine protein sentezinin sona ermesini sağlayan DUR kodonlarından biri olan TGA'nın oluşmasına neden olmuştur.

Binder vd (2000), İBK tanısı almış 68 olguda SSCP (tek zincir yapısal polimorfizm) yöntemi ile mutasyon taraması yapmışlardır. Araştırmacılar, SSCP analizi ile bir olguda SHOX geninde bir allelin delesyona uğradığını tespit etmişlerdir.

Rappold vd (2002), 150'si FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) analiziyle, 750'si DNA dizi analiziyle olmak üzere toplam 900 İBK tanısı almış olguda SHOX genindeki mutasyon varlığı araştırılmıştır. Araştırmacılar, SHOX genine özgü bir prob kullanılarak yapılan FISH analizi sonucunda 150 olgunun 3'ünde (%2) SHOX delesyonuna rastlamışlardır. 750 olguda DNA dizi analizi ile yaptıkları tarama sonucunda ise olguların 9'unda (%1.2) Ekzon 5 ve 6'da çeşitli nokta mutasyonları (C674T, G761A) tespit etmişlerdir.

Morizio vd (2003), İBK tanısı alan 56 olgudan steril koşullarda periferik kan örnekleri alıp lenfosit kültürü yapmışlardır. Daha sonra SHOX genine özgü prob kullanarak FISH yöntemi uygulamışlardır. Araştırma sonucu olguların 4'ünde (%7.1) SHOX geninin bir kopyasının delesyona uğradığını tespit etmişlerdir.

Başka bir çalışmada, 61'i kız, 79'u erkek olmak üzere okul çağında olan toplam 140 İBK olgusuna ait DNA örneklerinden floresan işaretli primerler kullanarak SHOX lokusu etrafında bulunan 2 polimorfik marker amplifiye edilmiş ve yapılan analiz sonucu olguların 3'ünde (%2.1) SHOX geninde delesyon tespit edilmiştir (Binder vd 2003).

Bir diğer çalışma Stuppia ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (2003). İBK tanısı alan 56 olguda FISH ve DNA dizi analizi yöntemi ile mutasyon taraması yapılmış ve 4 olguda delesyon ve 3 olguda nokta mutasyonu (C548G) tespit edilmiştir. Ekzon 3'te 548. nükleotitte görülen bu değişim, arjinin aminoasidinin glisin aminoasidine dönüşmesine yol açtığı için yanlış anlamlı (missense) mutasyon olarak değerlendirilmiştir.

Shanske vd (2006), tanımlanmamış mutasyonların genetik tanısında kullanılan bir analiz sistemi olan DHPLC (denatüre edici yüksek performans sıvı kromatografisi) ile yeni bir mutasyon tanımlamışlardır. İBK tanısı konan bir erkek olguda SHOX geninin 5. ekzonunun 202. kodonunda (ATG) adenin nükleotidinin delesyona uğradığını tespit etmişlerdir. Bu dizi değişiminin, çerçeve kayması ile sonuçlanıp SHOX proteininde fonksiyon kaybına neden olduğu öngörülmektedir.

Şu ana kadar yapılan en geniş kapsamlı araştırma Rappold ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (2007). Araştırmacılar SHOX genindeki mutasyon varlığını araştırmak amacıyla mikrosatellit analizi, FISH ve DHPLC tekniğini kullanmışlardır. İBK tanısı almış 1534 olgu üzerinde yapılan araştırma sonucu toplam 34 olguda (%2.2) değişik ekzonlarda çeşitli mutasyonlar tespit etmişlerdir.

Etem vd (2008), İBK tanısı almış 61 olguyu inceledikleri bir çalışmada bu olgulardan en kısa boya sahip 8 tanesini seçerek FISH tekniği ile SHOX genini incelemişlerdir. Ayrıca olguların tamamı için ekzon 2 PZR ile çoğaltılmış ve Y35X ile A337G mutasyonlarını tespit etmek için Rsa I ve Alu I enzimlerini kullanmışlardır. Yapılan moleküler sitogenetik ve moleküler genetik incelemeler sonucunda olguların hiçbirisinde mutasyon tespit edememişlerdir.

6. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, idiyopatik boy kısalığı olgularının DNA örnekleri SHOX mutasyonu açısından araştırılmış ve hiçbirisinde mutasyon tespit edilmemiştir. Bu bulgu, olgu seçim kriterlerinin farklı olmasına bağlı olarak mümkündür. Ayrıca idiyopatik boy kısalığı olgularında, SHOX geninde görülen mutasyonların görülme sıklığının %2-5 arasında değiştiği dikkate alındığında, daha fazla sayıda olgu incelenmesinin daha bilgi verici olacağı kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

- Attie, K.M. (2000) Genetic studies in idiopathic short stature. **Curr Opin Pediatr**, 12: 400–4.
- Ballabio, A., Sebastio, G., Carrozzo, R., Parenti, G., Piccirillo, A., Persico, M.G., et al. (1989) Contiguous gene syndromes due to deletions in the distal short arm of the human X chromosome. **Proc Natl Acad Sci USA**, 86:10001-5.
- Bereket, A. (2009) Boy Kısalığına Yaklaşım. **5. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu**, Bolu, s. 15-19.
- Bhangoo, A., Anhalt, H., Rosenfeld R.G. (2007) Idiopathic Short Stature. In: Pediatric Endocrinology, Ed: Lifshitz, F., 5th ed. **Informa Healthcare**, Newyork, s51-64.
- Binder, G., Schwarze, C.P., Ranke, M.B. (2000) Identification of short stature caused by SHOX defects and therapeutic effect of recombinant human growth hormone. **J Clin Endocrinol Metab**, 85(1): 245-249.
- Binder, G., Ranke, M.B., Martin, D.D. (2003) Auxology Is a Valuable Instrument for the Clinical Diagnosis of SHOX Haploinsufficiency in School-Age Children with Unexplained Short Stature. **J Clin Endocrinol Metab**, 88(10): 4891 - 4896.
- Blaschke, R.J., Rappold, G.A. (2000) SHOX: Growth, Leri-Weill and Turner syndromes. **TEM**, 11(6): 227-230.
- Blaschke, R.J., Töpfer, C., Marchini, A., Steinbeisser, H., Janssen, J.W.G., Rappold, G.A. (2003) Transcriptional and translational regulation of the Léri-Weill and Turner syndrome homeobox gene SHOX. **J Biol Chem**, 278:47820-47826.
- Bleyl, S.B., Byrne, J.L., South, S.T., Dries, D.C., Stevenson, D.A., Rope, A.F., Vianna-Morgante, A.M., Schoenwolf, G.C., Kivlin, J.D., Brothman, A., Carey, J.C. (2007) Brachymesomelic dysplasia with Peters anomaly of the eye results from disruptions of the X chromosome near the SHOX and SOX3 genes. **Am J Med Genet**, 143A(23):2785-95.
- Blum, W.F., Cao, D., Hesse, V., Fricke-Otto, S., Ross, J.L., Jones, C., Quigley, C.A., Binder, G. (2009) Height gains in response to growth hormone treatment to final height are similar in patients with SHOX deficiency and Turner syndrome. **Hormon Res**, 71:167-172.
- Chen, J., Wildhardt, G., Zhong, Z., Roeth, R., Weiss, B., Steinberger, D., Decker, J., Blum, W.F., Rappold, G.A. (2009) Enhancer mutations of the SHOX gene as a frequent cause of short stature - the essential role of a 250 kb downstream regulatory domain. **J Med Genet**, 46: 834-839.

- Cohen, P. and Rosenfeld, R.G. (2004) Growth regulation In: Textbook of Endocrine Physiology (Griffin J.E. and Ojeda S.R., Eds.). **Oxford University Pres**, Oxford, s274-293.
- Cohen, P., Rogol, A.D., Deal, C.L., et al (2008) Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. **J Clin Endocrinol Metab**, 93: 4210-4217.
- Daire, V.C., Huber, C., Munnich, A. (2001) Allelic and nonallelic heterogeneity indyschondrosteosis (Leri-Weill syndrome). **Am J Med Genet**, 106: 272-274.
- Darendeliler, F. (1995) Boy kısalığına yaklaşım. **Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi**, 4(5):153-158.
- Darendeliler, F. (2009) Growth Hormone Therapy in Childhood: Evidence-Based Approach. **J Child**, 9(4): 158-166.
- Darendeliler, F. (2010) Boy kısalıkları, Temel Pediatri, Hasanoğlu, E., Düşünsel, R., Bideci, A. (editörler), **Güneş Tıp Kitabevleri, Ayrıntı Basımevi**, Ankara, s1214-1218.
- Debeleç-Bütüner, B., Kantarcı, G. (2006) Mutasyon, DNA hasarı, onarım mekanizmaları ve kanserle ilişkisi. **Ankara Ecz. Fak. Derg.** 35(2):149-170.
- Ellison, J.W., Wardak, Z., Young, M.F., et al. (1997) PHOG, a candidate gene for involvement in the short stature of Turner syndrome. **Hum. Mol. Genet.** 6(8):1341-1347.
- Erdağ, B., Balcıoğlu, B.K., Özdemir, A., Bahar, A. (2004) Moleküler Biyoloji Yöntemleri Uygulamalı Eğitim Kursu Deneysel Yöntemler Kitabı. **TÜBİTAK Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü**, 65s.
- Etem, E., Kalkan, S., Yüce, H. (2008) Kısa Boyluluğu Etkileyen Genetik Faktörlerin İncelenmesi. **F.Ü. Sađ. Bil. Derg.** 22 (4).
- Flanagan, S.F., Munns, C.F.J., Hayes, M., et al. (2002) Prevalence of mutations in the short stature homeobox containing gene (SHOX) in Madelung deformity of childhood. **J Med Genet**, 39:758-763.
- Gahunia, H.K., Babyn, P.S., Kirsch, S., Mendoza-Londono, R. (2009) Imaging of SHOX-associated anomalies. **Semin Musculoskelet Radiol**, 13(3):236-54.
- Grigelioniene, G., Eklöf, O., Ivarsson, S.A., Westphal, O., Neumeyer, L., Kedra, D., Dumanski, J., Hagenas, L. (2000) Mutations in short stature homeobox containing gene (SHOX) in dyschondrosteosis but not in hypochondroplasia. **Hum Genet**, 107: 145-149.

- Grimberg, A., Lifshitz, F. (2007) Worrisome Growth. In: Pediatric Endocrinology, Ed: Lifshitz, F., 5th ed. **Informa Healthcare**, Newyork, s1-50.
- Günöz, H. (2003) Büyüme bozuklukları, *Pediyatrik Endokrinoloji*, (Günöz, H., Öcal, G., Yordam, N., Kurtođlu, S., Editörler), **Pediyatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneđi Yayınları 1**, Ankara, s65-135.
- Hasanoğlu, E., Düşünsel, R., Bideci, A. (editörler) (2010) Temel Pediyatri. **Güneş Tıp Kitabevleri, Ayrıntı Basımevi**, Ankara, 1800s.
- Helena, M.A., Morris, B.J. (2007) The human pseudoautosomal region. (PAR): origin, function and future. **Curr Genomics**, 8:129–36.
- Huber, C., Rosilio, M., Munnich, A., Cormier-Daire, V. (2006) High incidence of SHOX anomalies in individuals with short stature. **J Med Genet**, 43(9):735–739
- Ines, L., Palmert, M.R., Palmert, S. (2002) Delayed Puberty: Analysis of a large case series from an academic center. **JCEM**, 87:1613-20.
- Jones, M.C., Schiller, S., Rao, E., Blaschke, R.J., Zuniga, A., Zeller, R., Robson, S.C., Binder, G., Glass, I., Strachan, T., Lindsay, S., Rappold, G.A. (2000) The short stature homeobox gene SHOX is involved in skeletal abnormalities in Turner syndrome. **Hum Mol Genet**, 9(5): 695-702.
- Jorge, A.A., Souza, S.C., Nishi, M.Y., Billerbeck, A.E., Libório, D.C., Kim, C.A., Arnhold, I.J., Mendonca, B.B. (2007) SHOX mutations in idiopathic short stature and Leri-Weill dyschondrosteosis frequency and phenotypic variability. **Clin Endocrinol (Oxf)**, 66(1):130-5.
- Klug, W., Cummings, M.R. (2002) Genetik Kavramlar, Çev. Ed: Öner, C. **Palme Yayıncılık**, Ankara, 816s.
- Ko, J.M., Kim, J.M., Kim, G.H. and Yoo, H.W. (2008) PTPN11, SOS1, KRAS, and RAF1 gene analysis, and genotype-phenotype correlation in Korean patients with Noonan syndrome. **J Hum Genet**, 53:999–1006.
- Kutluay-Merdol, T. (2008) Okul Öncesi Dönem Çocuklarının Beslenmesi. **T.C. Sağlık Bakanlığı Beslenme Bilgi Serisi**, 1:10.
- Leka, S.K., Kitsiou-Tzeli, S., Kalpini-Mavrou, A., Kanavakis, E. (2006) Short stature and dysmorphology associated with defects in the SHOX gene. **Hormones**, 5(2):107–18.
- Marchini, A., Rappold, G., Schneider, K.U. (2007) SHOX at a glance: from gene to protein. **Arch Physiol Biochem**, 113:116-123.
- Maxam, A.M., Gilbert, W. (1977) A new method for sequencing DNA. **Proc Natl Acad Sci USA**, 74(2):560-564.

- Montelone, B.A. (1998) Mutation, Mutagens, and DNA Repair. <http://www-personal.ksu.edu/~bethmont/mutdes.html#types> (22.10.2010).
- Morizio, E., Stuppia, L., Gatta, V., et al. (2003) Deletion of the SHOX gene in patients with short stature of unknown cause. **Am J Med Genet**, 119A: 293-296.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner D.K. and Rodwel V.W. (1993) Harper'in Biyokimyası (çevirenler: Menteş D. ve Ersöz B.). **Barış Kitabevi**, İstanbul, 913s.
- Müsebeck, J., Mohnike, K., Beye, P., et al. (2001) Short stature homeobox-containing gene deletion screening by fluorescence in situ hybridisation in patients with short stature. **Eur J Pediatr**, 160: 561-565.
- Neyzi, O., Günöz, H., Furman, A., Bundak, R., Gökçay, G., Darendeliler, F., Baş, F. (2008) Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, baş çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. **Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi**, 51: 1-14.
- Niesler, B., Fischer, C., Rappold, G.A. (2002) The human SHOX mutation database. **Hum Mutat**, 20: 338-341.
- Nussbaum, R.L., McInnes, R.R., Willard, H.F. (2005) Thompson&Thompson Tıbbi Genetik. **Güneş Kitabevi**, Ankara, 445s.
- Ogata, T., Goodfellow, P., Petit, C., Aya, M. and Matsuo, N. (1992) Short stature in a girl with a terminal Xp deletion distal to DXYS15: localisation of a growth gene(s) in the pseudoautosomal region. **J. Med. Genet**, 29, 455–459.
- Ogata, T., Yoshizawa, A., Muroya, K., Matsuo, N., Fukushima, Y., Yokaya, S. (1995) Short stature in a girl with partial monosomy of the pseudoautosomal region distal to DXYS15: further evidence for the assignment of the critical region for a pseudoautosomal growth gene(s). **J Med Genet**, 32: 831-834.
- Ogata, T. (1999) SHOX: pseudoautosomal homeobox containing gene for short stature and dyschondrosteosis. **Growth Horm IGF Res**, 9:53-8.
- Olney, R.C., Bükülmez, H., Bartels, C.F., Prickett, T.C., Espiner, E.A., Potter, L.R., Warman, M.L. (2006) Heterozygous mutations in natriuretic peptide receptor-B (NPR2) are associated with short stature. **J Clin Endocrinol Metab**, 91(4):1229-1232.
- Poyrazoglu, S., Darendeliler, F., Bas, F., Bundak, R., Saka, N., Darcan, S., Wit, J.M., Gunoz, H. (2009) Target height estimation in children with idiopathic short stature who are referred to the growth clinic. **Hormone research**, 72(3):178-83.
- Rao, E., Weiss, B., Fukami, M., et al. (1997) Pseudoautosomal deletions encompassing a novel homeobox gene cause growth failure in idiopathic short stature and Turner syndrome. **Nat Genet**, 16:54-63.

- Rao, E., Weiss, B., Fukami, M., Mertz, A., Meder, J., Ogata, T., Heinrich, U., Garcia-Heras, J., Schiebel, K., Rappold, G.A. (1997) FISH-deletion mapping defines a 270-kb short stature critical interval in the pseudoautosomal region PAR1 on human sex chromosomes. **Hum Genet**, 100:236-9.
- Rao, E., Blaschke, R.J., Marchini, A., Niesler, B., Burnett, M., Rappold, G.A. (2001) The Leri-Weill and Turner syndrome homeobox gene SHOX encodes a cell-type specific transcriptional activator. **Hum Mol Genet**, 10:3083-91.
- Rappold, G.A., Fukami, M., Niesler, B., et al. (2002) Deletions of the homeobox gene SHOX (short stature homeobox) are an important cause of growth failure in children with short stature. **J Clin Endocrinol Metab**, 87(3): 1402-1406.
- Rappold, G.A., Ross, J.L., Blaschke, R.J., Blum, W.F. (2002) Understanding SHOX deficiency and its role in growth disorders. A reference guide. **TMG Healthcare Communications Ltd**, Oxfordshire, UK.
- Rappold, G., Blum, W.F., Shavrikova, E.P., Crowe, B.J., Roeth, R., Quigley, C.A., Ross, J.L., Niesler, B. (2007) Genotypes and phenotypes in children with short stature clinical indicators of SHOX haploinsufficiency. **J Med Genet**, 44:306-313.
- Rosenbloom, A.L., Connor, E.L. (2007) Hypopituitarism and Other Disorders of the Growth Hormone–Insulin-Like Growth Factor-I Axis. In: Pediatric Endocrinology, Ed: Lifshitz, F., 5th ed. **Informa Healthcare**, Newyork, s65-99.
- Ross, J.L., Bellus, G., Scott, C.I., Abboudi, J., Grigelioniene, G., Zinn, A.R. (2003) Mesomelic and rhizomelic short stature: the phenotype of combined Leri-Weill Dyschondrosteosis and achondroplasia or hypochondroplasia. **Am J Med Genet**, 116A(1): 61-5.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc Natl Acad Sci USA**, 74(12):5463-5467.
- Schneider, K.U., Marchini, A., Sabherwal, N., et al. (2005) Alteration of DNA binding, dimerization, and nuclear translocation of SHOX homeodomain mutations identified in idiopathic short stature and Leri-Weill dyschondrosteosis. **Hum Mutat**, 26:44–52.
- Schneider, K.U., Sabherwal, N., Jantz, K., Röth, R., Muncke, N., Blum, W.F., Cutler, G.B. Jr., Rappold, G. (2005) Identification of a major recombination hotspot in patients with short stature and SHOX deficiency. **Am J Hum Genet**, 77:89–96.
- Shanske, A.L., Puri, M., Marshall, B., Saenger, P. (2006) Unique deletion in exon 5 of SHOX gene in a patient with idiopathic short stature. **Horm Res**, 67:61-6.
- Strachan, T., Read, A.P. (1999) Human Molecular Genetics 2. **John Wiley & Sons Inc**, New York, 576s.

- Stuppia, L., Calabrese, G., Gatta, V., Pintor, S., Morizio, E., Fantasia, D., Guanciali-Franchi, P., Rinaldi, M.M., Scarano, G., Concolino, D., Giannotti, A., Petreschi, F., Anzellotti, M.T., Pomilio, M., Chiarelli, F., Tumini, S., Pakla, G. (2003) SHOX mutations detected by FISH and direct sequencing in patients with short stature. **J Med Genet**, 40(2):E11.
- Şehla, İ. (2006) 9-72 Aylık Çocuklarda Antropometrik Ölçümler ve Antropometrik Ölçümlere Etki Eden Parametrelerin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, **T.C. Sağlık Bakanlığı Bakırköy Dr. Sadi Konuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği**, İstanbul, 84s.
- Tüysüz, B. (2009) Sendromik Boy Kısaliğına Yaklaşım. **5. Ulusal Tıbbi Genetik Sempozyumu**, Bolu, s. 21-25.
- Wit, J.M., Clayton, P.E., Rogol, A.D., et al. (2008) Idiopathic short stature: definition, epidemiology, and diagnostic evaluation. **Growth Horm IGF Res**, 18:89.
- Zinn, A.R., Wei, F., Zhang, L., et al. (2002) Complete SHOX deficiency causes langer mesomelic dysplasia. **Am J Med Genet**, 110: 158-163.
- Kandemir, N. (2010). Büyüme hormonu eksikliği ve tedavisi. [http://www.pediatriportali.com/resimler/242_büyüme hormonu eksikliği ve tedavisi.doc](http://www.pediatriportali.com/resimler/242_büyüme_hormonu_eksikligi_ve_tedavisi.doc) (19.04.2010).
- WEB_1. (2009) Çocuklarda Psikososyal Boy Kısaliğı. <http://www.saglikbilimi.com/cocuklarda-psikososyal-boy-kisaligi/> (06.05.2010).
- WEB_2. (2009) Cancer, Genes and Inherited Predisposition Overview Cancer Genetics 1. <http://www.genetics.com.au/factsheet/fs47.asp> (22.10.2010).

8. ÖZGEÇMİŞ

31 Mayıs 1981 tarihinde Erzurum’da dünyaya geldi. İlk, orta ve lise eğitimini Denizli’de sırasıyla Hacı Halil Bektaş İlkokulu (1993), Atatürk Ortaokulu (1996) ve Denizli Lisesi’nde (1999) iyi bir dereceyle tamamladı. Yüksek öğretimini Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde tamamlayarak 2.91 derece ile mezun oldu (2005).

Lisans eğitiminin dördüncü sınıf ikinci döneminde Klinik Biyokimya dersi kapsamında Ankara Bayındır Hastanesi’nde “Biyokimya ve Mikrobiyoloji” kursuna katıldı. Stajını Denizli İl Kontrol Laboratuvarı’nda yaptı. 2 aylık staj süresi boyunca mikrobiyoloji ve mikotoksin laboratuvarlarında görev aldı. Mikrobiyoloji laboratuvarında, insan sağlığını direkt olarak etkileyecek etmenlerin varlığının tespiti ile ilgili çalışmalar (bakteri ve küf tayini, sayım gibi) yaptılar. Mikotoksin laboratuvarında ise genellikle bir çeşit mikotoksin olan “aflatoksin” tayini yaptılar. Mezun olduktan sonra ilk olarak özel bir hastanenin mikrobiyoloji ve biyokimya laboratuvarında biyolog olarak çalıştı. Burada yaklaşık bir ay çalıştıktan sonra özel bir şirket bünyesinde Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Genetik Tanı Merkezi’nde çalışmaya başladı. Periferik kan, kemik iliği, amniyon sıvısı, kord kanı ve solid doku örneklerinden hücre kültürü, kromozom elde edilmesi, kromozom bantlama teknikleri ve elde edilen bu kromozomların sitogenetik ve moleküler sitogenetik düzeyde incelenmesi konusunda tecrübe kazandı. Halen Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Genetik Tanı Merkezi’nde engelli statüsünde biyolog olarak çalışmaktadır.

Yabancı dili İngilizce olup bir yayını takip edebilecek düzeyde İngilizce bilgisi vardır. Avrupa Bilgisayar Yetkinlik Sertifikası’na (ECDL) sahip olup Microsoft Windows, Microsoft Office (Word, Excel, PowerPoint), Adobe Photoshop, MacKtype, MacProbe, İkaros ve Isis programlarını kullanabiliyor.