

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

**KRANYOSİNOSTOZİS TANISI KONMUŞ  
PEDIATRİK OLGULARDA *FGFR2* GENİNİN  
MOLEKÜLER DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI**

**Suray PEHLİVANOĞLU**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2008**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**KRANYOSİNOSTOZİS TANISI KONMUŞ  
PEDIATRİK OLGULARDA *FGFR2* GENİNİN  
MOLEKÜLER DÜZEYDE ARAŞTIRILMASI**

Suray PEHLİVANOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Özgül ALPER

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından  
desteklenmiştir.  
(Proje no: 2007.02.0122.002)

“Kaynakça Gösterilerek Tezinden Yararlanılabilir”

Antalya, 2008

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu alışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir. .... / .... / 2008

**Tez Danışmanı :Doç. Dr. Özgöl ALPER**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Üye :Prof. Dr. Güven LÜLECI**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Üye :Prof. Dr. řenay HASPOLAT**  
Akdeniz Üniversitesi  
ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

**Üye :Doç. Dr. İbrahim KESER**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Üye :Yrd. Doç. Dr. Esra MANGUOĞLU AYDEMİR**  
Akdeniz Üniversitesi  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .... / .... / .... tarih ve .... / .... kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nurettin OĞUZ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Kranyosinostozis, bir veya birden fazla kranyal sütürün prematür birleşmesi sonucu oluşan kranyofasiyal malformasyondur. Kranyosinostozis prevalansı 1:2100-3000'dir. Popülasyon temelli çalışmalarda kranyosinostozis tanısı almış olguların %84'ü herhangi bir sendromla ilişkilendirilmeyen kranyosinostozis olguları olup, geri kalan kısım ise kranyosinostotik sendromlu olgulardır.

Bugüne değin, genellikle otozomal dominant kalıtım gösteren 180'den fazla kranyosinostotik sendrom tanımlanmıştır. Kranyosinostozis sendromları, genetik heterojenite göstermekle beraber, araştırmalar sonucunda (Fibroblast büyüme faktör reseptörü) *FGFR 1, 2, 3, TWIST, ALPL* ve *MSX* genlerinde mutasyonlar saptanmıştır. Bu mutasyonların çoğu, Apert, Crouzon ve Pfeiffer sendromları ile ilişkili olarak *FGFR2* (NM\_022976) geninde yer almaktadır. *FGFR2* geni, 10q23.5-26'da lokalize olup, büyüklüğü yaklaşık 120 kb ve 20 ekzondan oluşmaktadır. Bu gen, erken fetal dönemde osteojenik büyümeyi kontrol eder ve kranyal sütürlerde ekspresyonu gerçekleşmektedir. *FGFR* gen ailesinin yapısı ve hücrel mekanizmaları göz önüne alındığında, *FGFR2* mutasyonları kranyofasiyal ve ekstremit malformasyonları ile ilişkilendirilmiştir.

Projemizin amacı, kranyosinostozis tanısı almış bireylerde *FGFR2* genindeki mutasyonları saptayarak genotip ve fenotip ilişkisini belirlemektir. Serimizde yer alan Apert sendrom tanılı 10, Crouzon sendrom tanılı 11, Pfeiffer sendrom tanılı 3 ve sınıflandırılmayan kranyosinostozis tanılı 16 olguda *FGFR2* geninin ekzon IIIa ve IIIc bölgelerine yönelik DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda toplam olarak 7 farklı bilinen yanlış anlamlı mutasyon belirlenmiştir. Apert sendromu tanısı almış olguların %90'unda [S252W(5), P253R(4)], Crouzon sendromu tanısı almış olguların %54'ünde [C278F(1), Q289P(1), W290R(3), C342Y(1)] ve Pfeiffer sendromu tanısı almış olguların %66.6'sında [P253R(1), C342R(1)] mutasyonlar saptanmıştır. Sınıflandırılmayan 16 kranyosinostozisli olguda ise herhangi bir mutasyon saptanmamıştır.

Çalışmamız, kranyosinostozis ilişkili *FGFR2* mutasyon profilinin heterojen olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, mutasyon belirlenemeyen olgularda *FGFR2* geninin tamamı ve buna ek olarak *TWIST1, FGFR1* ve *FGFR3* genlerinde de genetik çalışmaların yapılması moleküler tanı açısından önem kazanmaktadır. Ayrıca, ilgili genlerde saptanacak olan mutasyonlar popülasyonumuzda prenatal tanı ve genetik danışma açısından önemli katkı sağlayacaktır.

**Anahtar kelimeler:** Kranyosinostozis, Apert sendromu, Crouzon sendromu, Pfeiffer sendromu, *FGFR2* gen mutasyonları.

## ABSTRACT

Craniosynostosis is the premature fusion of the one or more cranial sutures, which is represented as craniofacial malformations, occurs with a birth prevalence of 1:2100-3000. Population based studies show that, 84 % of craniosynostotic patients are nonsyndromic and other cases are syndromic.

To date, over 180 genetic syndromes have been identified which generally show autosomal dominant inheritance. Besides, genetic heterogeneity occurred in craniosynostotic syndromes, several mutations on (Fibroblast Growth Factor Receptor) *FGFR 1, 2, 3, TWIST, ALPL* and *MSX* genes have been identified. Most of these mutations are located on *FGFR2* (NM\_022976) gene which is associated with Apert, Crouzon and Pfeiffer syndromes. *FGFR2* gene has twenty exons and located on chromosome 10q23.5-26 which has a size of 120kb. During the early fetal period, *FGFR2* expression begins in cranial sutures and controls the osteogenic growth activity. Based on the nature and the cellular mechanisms of the FGFR family, *FGFR2* mutations are found to be associated with craniofacial and extremity malformations.

The aim of our project, is to investigate the mutation spectrum in the *FGFR2* gene in patients with craniosynostosis and to determine the genotype-phenotype relationship. Two exons (IIIa and IIIc) of the *FGFR2* gene were sequenced in a series of ten cases with Apert syndrome, eleven with Crouzon syndrome, three with Pfeiffer syndrome and sixteen cases with unclassified craniosynostosis. Overall, seven known missense *FGFR2* mutations were found in 90% of patients with Apert syndrome [S252W(5); P253R(4)], 54% with Crouzon syndrome [C278F(1), Q289P(1), W290R(3), C342Y(1)] and 66.6% with Pfeiffer syndrome [P253R(1), C342R(1)]. No mutations were found in sixteen patients with unclassified craniosynostosis.

Our results demonstrate that the spectrum of *FGFR2* mutations causing craniosynostosis is heterogenous and emphasize the requirement for complete screening of the *FGFR2* gene for molecular diagnosis, in addition to *TWIST1*, *FGFR1*, and *FGFR3* genes. The identification of mutations in genes of interest would also have importance in prenatal genetics, and genetic counseling in our population.

**Keywords:** Craniosynostosis, Apert syndrome, Crouzon syndrome, Pfeiffer syndrome, *FGFR2* gene mutations.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimime başlamam için verdiği fırsat nedeniyle teorik ve deneysel konulardaengin bilgisi ve tecrübesiyle desteğini hiç bir zaman esirgemeyen değerli Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Güven LÜLEÇİ'ye,

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım sırasında her zaman gösterdiği ilgisi, desteği, yol göstericiliği ve bilimsel bakış açısı kazanabilmem için verdiği emek nedeniyle Sayın danışman hocam Doç. Dr. Özgül ALPER'e,

Bu tezin gerçekleştirilmesinde ve çalışmalarımı tamamlayabilmem için gerekli olguları sağladıklarından dolayı Doç. Dr. Şükran TAÇOY'a, Doç.Dr. Hülya KAYSERİLİ'ye ve Yrd. Doç. Dr. Ercan MIHÇI'ya

Akdeniz Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, araştırma görevlisi ve teknisyen arkadaşlarıma ve sekreterlerimize,

Bugüne gelebilmemde verdikleri destek, her zaman yanımda hissettiğim sevgi ve güvenleri, gösterdikleri anlayış için sevgili aileme tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	Sayfa
<b>ÖZET</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>TEŞEKKÜR</b>	vi
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	x
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	xi
<b>GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>GENEL BİLGİLER</b>	2
2.1.    Kran-yofasiyal anomaliler	2
2.2.    Kran-yosinostozis sınıflandırılması	2
2.2.1.    Primer Kran-yosinostozis	4
2.2.1.1.    Basit Kran-yosinostozis	4
2.2.1.1.1.    Sagittal sinostozis	4
2.2.1.1.2.    Koronal sinostozis	4
2.2.1.1.3.    Metopik sinostozis	4
2.2.1.1.4.    Lambdoid sinostozis	4
2.2.1.2.    Bileşik Kran-yosinostozis	5
2.2.1.2.1.    Bikoronal Sinostozis	5
2.2.1.2.2.    Sendromik Kran-yosinostozis	5
2.2.2.    Sekonder Kran-yosinostozis	5
2.3.    Sendromik Kran-yosinostozis ve Genetiği	5
2.4.    Fibroblast Büyüme Faktör Reseptör 2 geni ve protein yapısı	6
2.5. <i>FGFR2</i> gen mutasyonlarının önemi	9
2.6.    Apert sendromu (MIM#101200)	12
2.6.1.    Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler	12
2.6.2.    Patogenezi	12
2.6.3.    Popülasyon genetiği	13
2.6.4.    Moleküler Genetiği	13
2.6.5.    Genotip ve Fenotip İlişkisi	13
2.7.    Crouzon sendromu (MIM #123500)	13
2.7.1.    Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler	13
2.7.2.    Patogenezi	13
2.7.3.    Popülasyon Genetiği	14
2.7.4.    Moleküler Genetiği	14
2.7.5.    Genotip ve Fenotip İlişkisi	14

2.8.	Pfeiffer sendromu (MIM#101600)	14
2.8.1.	Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler	14
2.8.2.	Patogenezi	15
2.8.3.	Popülasyon Genetiği	15
2.8.4.	Moleküler Genetiği	15
2.8.5.	Genotip ve Fenotip İlişkisi	15
2.9.	<i>FGFR2</i> ilişkili kraniosinostozis	16
<b>MATERYAL VE YÖNTEMLER</b>		<b>17</b>
3.1.	Kraniosinostozis Tanısı Almış Olgularda Klinik İnceleme	17
3.2.	Periferel Kan Örneklerinin Alınımı	17
3.3.	Periferel Kandan DNA Eldesi	17
3.3.1.	Kullanılan Solüsyonlar	17
3.3.2.	İşlemler	18
3.4.	DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü	19
3.5.	PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi	19
3.5.1.	PCR reaksiyon içeriği	19
3.5.2.	PCR programı	20
3.6.	Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme Sistemi	20
3.6.1.	% 1.8'lik agaroz jelin hazırlanması	20
3.6.2.	İşlemler	20
3.7.	Amplikonların temizlenmesi	20
3.8.	DNA Dizi Analizi	20
3.8.1.	Dizileme Reaksiyon İçeriği	21
3.8.2.	Dizileme PCR Programı	21
3.9.	Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi	21
3.10.	DNA Dizi Analizi	21
<b>BULGULAR</b>		<b>22</b>
4.1.	Klinik Bulgular	22
4.2.	Moleküler Genetik Analiz Sonuçları	29
4.3.	Olguların Genotip-Fenotip ilişkisi	35
<b>TARTIŞMA ve SONUÇLAR</b>		<b>38</b>
<b>KAYNAKLAR</b>		<b>44</b>
<b>EKLER</b>		<b>52</b>
Ek-1. Kraniosinostozis Formu		
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		<b>56</b>



## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>FGFR</b>	:Fibroblast Büyüme Faktör Reseptör (Fibroblast Growth Factor Receptor)
<b>FGF</b>	:Fibroblast Büyüme Faktör (Fibroblast Growth Factor )
<b>MSX2</b>	:Muscle Segment Homeobox 2
<b>EFNB1</b>	:Ephrin B1
<b>ALPL</b>	:Alkalın Fosfataz Karaciğer
<b>HSPG</b>	:Heparan Sülfat Proteoglikan
<b>Ig</b>	:İmmünoglobulin
<b>PCR</b>	:Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>CLB</b>	: Hücre Liziz Tamponu (Cell Lysis Buffer)
<b>TKM1</b>	:Düşük Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu
<b>TKM2</b>	:Yüksek Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu
<b>DNA</b>	:Deoksiribonükleik asit
<b>SDS</b>	:Sodyum Dodesil Sülfat
<b>NaCl</b>	:Sodyum Klorür
<b>ml</b>	:Mililitre
<b>µl</b>	:Mikrolitre
<b>dH<sub>2</sub>O</b>	:Distile su
<b>TBE</b>	:Tris Borat EDTA
<b>U.V.</b>	:Ultra viyole
<b>rpm</b>	:Dakikada dönüş sayısı
<b>O.D.</b>	:Optik Dansite
<b>S.F.</b>	:Sulandırma Faktörü
<b>bç</b>	:Baz çifti
<b>ng</b>	:Nanogram
<b>ü</b>	:Ünite

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>	
<b>Şekil 2.1.</b>	İnsan kafa yapısındaki ana sütürler	<b>3</b>
<b>Şekil 2.2.</b>	Kranyal sütürlerin füzyonu sunucunda oluşan kafa şekilleri	<b>3</b>
<b>Şekil 2.3.</b>	<i>FGFR2</i> gen yapısı	<b>6</b>
<b>Şekil 2.4.</b>	FGFR2 protein yapısı	<b>7</b>
<b>Şekil 2.5.</b>	FGFR2 dimerizasyonu	<b>8</b>
<b>Şekil 2.6.</b>	<i>FGFR2</i> gen yapısında yer alan mutasyonlar	<b>9</b>
<b>Şekil 4.1.</b>	Apert sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri	<b>28</b>
<b>Şekil 4.2.</b>	Crouzon sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri	<b>28</b>
<b>Şekil 4.3.</b>	Pfeiffer sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri	<b>29</b>
<b>Şekil 4.4.</b>	<i>FGFR2</i> geninin IIIa/7 ve IIIc/9 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü	<b>29</b>
<b>Şekil 4.5.</b>	<i>FGFR2</i> geninin IIIa/7 ekzonik bölgesinin DNA referans ve mRNA dizisi	<b>30</b>
<b>Şekil 4.6.</b>	<i>FGFR2</i> geninin IIIc/9 ekzonik bölgesinin DNA referans ve mRNA dizisi	<b>30</b>
<b>Şekil 4.7.</b>	S252W (755 C>G) mutasyonu	<b>32</b>
<b>Şekil 4.8.</b>	P253R (758 C>G) mutasyonu	<b>32</b>
<b>Şekil 4.9.</b>	C278F (833 G>T) mutasyonu	<b>33</b>
<b>Şekil 4.10.</b>	Q289P (866 A>C) mutasyonu	<b>33</b>
<b>Şekil 4.11.</b>	C342R (1024 T>C) mutasyonu	<b>34</b>
<b>Şekil 4.12.</b>	C342Y (1025 G>A) mutasyonu	<b>34</b>
<b>Şekil 4.13.</b>	W290R (868 T>C) mutasyonu	<b>35</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİN

Sayfa

<b>Çizelge 2.1.</b>	Kranyosinostotik sendromların genlerle ilişkili mutasyon oranları	<b>6</b>
<b>Çizelge 4.1.</b>	Apert sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları	<b>23</b>
<b>Çizelge 4.2.</b>	Crouzon sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları	<b>24</b>
<b>Çizelge 4.3.</b>	Pfeiffer sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları	<b>25</b>
<b>Çizelge 4.4.</b>	Sendromik olmayan kranyosinostozis tanısı almış olguların klinik bulguları	<b>26</b>
<b>Çizelge 4.5.</b>	Kranyosinostozisli olguların <i>FGFR2</i> genine ait genotipleri	<b>31</b>
<b>Çizelge 4.6.</b>	Mutasyon saptanan olguların klinik ve moleküler genetik bulguları	<b>36</b>

## GİRİŞ VE AMAÇ

Bir veya birden fazla kranyal sütürün sinostozu ile oluşan kranyosinostozis, bütün ırklarda gözlenen yaygın konjenital kranyofasiyal malformasyondur (1). Elde edilen verilere göre kranyosinostozis prevalansı yaklaşık olarak 1/2100-3000'dir (8). Kranyosinostozis, ilgili sütürün sinostozuna bağlı olarak abnormal kafa yapısının gelişimi ve bunun yanı sıra ekstremitelerde abnormaliteleri ile ilişkilidir (1).

Kranyosinostozis; etyolojik, patolojik ve genetik açıdan heterojenite gösterir (6,7). Günümüze kadar yapılan çalışmalarda kranyosinostotik olgularının %85'inin sınıflandırılmayan kranyosinostozis olduğu belirlenmiştir. Günümüze kadar, otozomal dominant kalıtım modeli gösteren 180'den fazla kranyosinostotik sendrom tanımlanmıştır (18). Yapılan moleküler genetik çalışmalarda, kranyosinostozis ile ilişkili olarak *FGFR1*, *2*, *3*, *TWIST*, *ALPL* ve *MSX* genlerinde mutasyonlar saptanmıştır. Bu genler arasında özellikle genetik değişimlerin sıklıkla saptandığı *FGFR2* geni önem kazanmıştır (8,10).

*FGFR2* geni 10q23.5-26'da lokalize olup büyüklüğü yaklaşık 120 kb ve 20 ekzondan oluşmaktadır (22). *FGFR2* geni, osteojenik büyümeyi kontrol eder ve fetusun erken dönemlerinde kranyal sütürlerde ekspresyonu gerçekleşir. İlgili gende meydana gelen mutasyonlar kranyofasiyal ve ekstremitelerde malformasyonlarına neden olmaktadır (1). Özellikle Apert, Crouzon, ve Pfeiffer sendromları gibi klasik kranyosinostozis tanısı almış olgularda *FGFR2* geninde saptanan mutasyonlar çoğunlukta olup ekzon IIIa/7 ve IIIc/9 bölgelerinin hot spot bölgeler olduğu belirlenmiştir. Apert sendrom tanısı almış olguların %98'inde, Crouzon sendrom tanısı almış olguların %50'sinde, Pfeiffer sendrom tanısı almış olguların ise %67'sinde *FGFR2* geninde mutasyonlar saptanmıştır (20,21).

Bu çalışmada, kranyosinostozis tanısı almış ve diğer önemli klinik bulguları belirlenen 40 olgunun *FGFR2* geninin ekzon IIIa/7 ve IIIc/9 bölgelerine yönelik moleküler genetik analiz çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Genotipik verilerin değerlendirilmesi ile olguların fenotipik ve genotipik bulguları arasındaki ilişkinin ortaya konması sonucunda prenatal tanı ve ailelere genetik danışma verilmesi açısından önemlidir. Araştırmamız, kranyosinostozisin moleküler genetiğine yönelik ön çalışma olması bakımından ve ülkemizde henüz bu konu ile ilgili kapsamlı bir araştırma olmaması nedeniyle önem arz etmektedir. Ayrıca araştırmamız, konjenital kranyofasiyal malformasyonlar ile ilgili yapılabilecek diğer moleküler düzeydeki çalışmalara, ve rutin genetik tetkiklere uygulamada alt yapı oluşturacağı düşüncesindeyiz.

## GENEL BİLGİLER

Kranyosinostozis, kranyofasiyal abnormaliteler arasında yer alan kranyal ve ekstremitelerde abnormaliteleri ile ilişkili konjenital bir malformasyondur. Bu malformasyon, morfolojik abnormalitelerin yanı sıra bir çok işlevsel abnormalitelerle de ilişkilidir (1,2).

### 2.1. Kranyofasiyal anomaliler

Kranyofasiyal morfogenez, viserokranyum, nörokranyum, merkezi ve periferik sinir sistemi, yüz kasları, bağ dokusu, damarlar ve deriden meydana gelir. Embriyonik dönemde bu yapıların, özellikle de kafa ve yüz yapısının oluşumunda nöral krest hücrelerinin fonksiyonu oldukça önemlidir. Bu hücreler, embriyonal dönemde göç edebilen öncül hücreler olup aynı zamanda hücre proliferasyonunu organize ederler (3).

Embriyonal dönemde öncül hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşmasındaki bozukluklar kranyofasiyal anomalilere neden olmaktadır. Bu anomaliler, holoprosensefali, kranyosinostozis, branşial ark sendromu, orofasiyal yarıq, dental bozukluklar gibi çok çeşitli olabilmektedir (4).

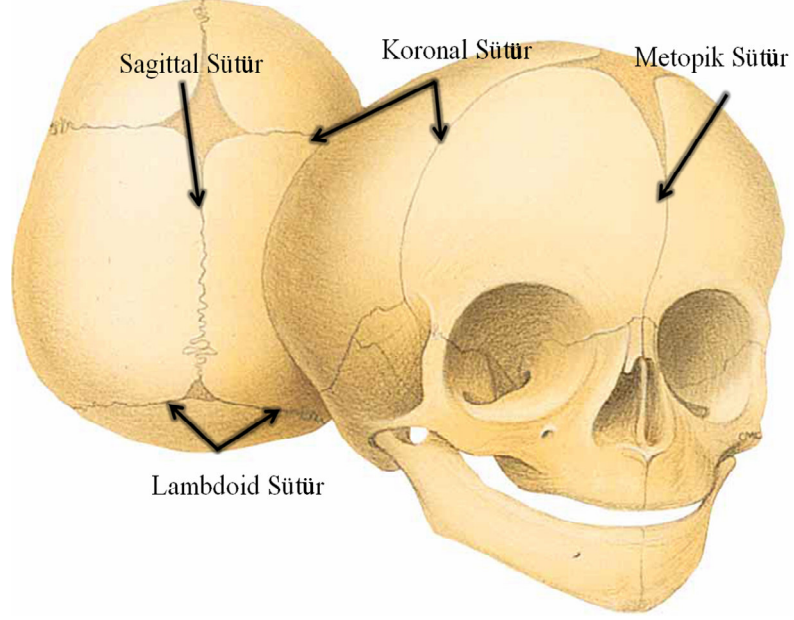
### 2.2. Kranyosinostozis sınıflandırılması

Kranyofasiyal malformasyonlar arasında kranyosinostozis de görülmektedir (5,6). Kranyosinostozis, bir veya birden fazla prematür sütür füzyonu sonucunda oluşan ve anormal kafa yapısı ile ilişkili bir malformasyon olup, etyolojik, patolojik ve genetik açıdan heterojenite gösterir (6,7). Elde edilen verilere göre kranyosinostozis prevalansı yaklaşık olarak 1/2100-3000'dir (8).

Bu malformasyonun oluşumunda kranyal kemiklerin farklılaşması ve birbirleriyle ilişkileri oldukça önemlidir. Kranyal kemikler arasındaki etkileşimi sağlayan bölgeler "sütür" adını almaktadır (9). Sütürler, prenatal ve erken postnatal dönemde açıktır. Normal kranyal gelişimde metopik sütür doğumdan 3 yıl sonra kapanır. Diğer sütürler ise 30-40 yıl sonra füzyona uğrarlar. Çoğu fasiyal sütürler ergen dönemin sonuna kadar açık kalır. Bu durum, insan gelişiminde kalvaryal kemikler arasındaki koordinasyonun gerçekleşmesini ve kranyal gelişimin belirlenmesini sağlar (10).

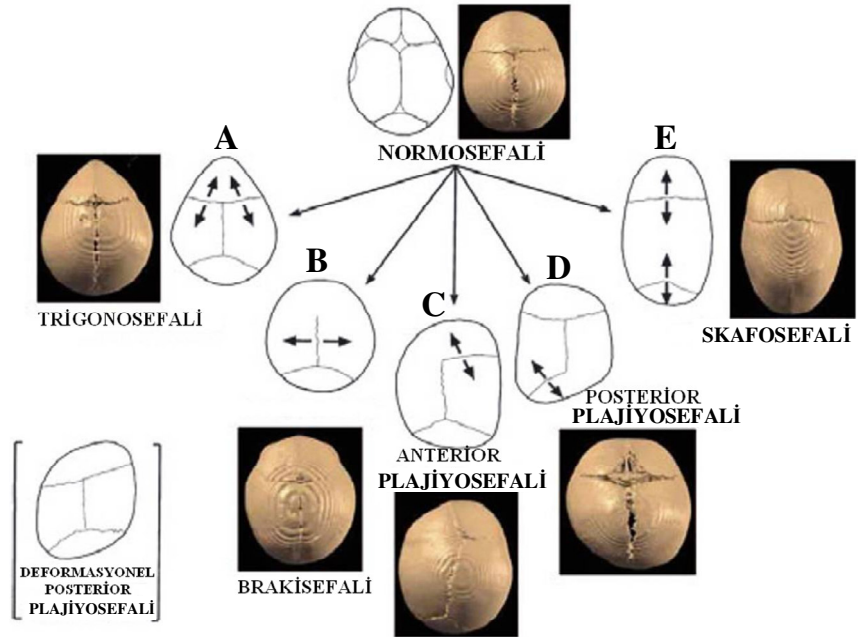
Kranyal gelişim sürecinde en yaygın problemlerden biri sütür veya sütürlerin prematür füzyonudur (11). Sütürlerin erken kapanması sonucunda kranyosinostozis gelişir. Kranyosinostozis tanısı almış olgularda etkilenen sütür veya sütürlerin

çeşidine ve sayısına göre kafa şekli farklılık gösterir. İnsan kalvaryum yapısına bakıldığında dört ana sütün mevcut olduğu görülmektedir. Bunlar; koronal, sagittal, metopik ve lambdoid sütürlerdir (Şekil 2.1) (10).



Şekil 2.1. İnsan kafa yapısındaki ana sütünler.

Bu sütünlerin erken kapanmasına bağlı olarak oluşan anormal kafa şekilleri trigonosefali, brakisefali, plajiyosefali ve skafosefali (dolikosefali) olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.2) (10).



Şekil 2.2. Kranyal sütünlerin füzyonu sunucunda oluşan kafa şekilleri.

Kranyosinostozis temel olarak primer kranyosinostozis ve sekonder kranyosinostozis olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

### **2.2.1. Primer Kranyosinostozis**

Primer kranyosinostozis; kendi içinde basit kranyosinostozis ve bileşik kranyosinostozis olmak üzere ikiye ayrılır.

#### **2.2.1.1. Basit Kranyosinostozis**

Sendromik olmayan veya izole kranyosinostozis olarak da bilinen basit kranyosinostozis, belirli bir kalıtım modeli olmayan, kafa yapısındaki değişiklikler dışında başka anormallikler görülmeyen kranyosinostozis tipidir. Sadece bir sütürün sinostozu ile ilişkilidir ve adını sinostozu uğrayan ilgili sütürden almaktadır (12).

Sendromik olmayan kranyosinostozis veya tek sütür kranyosinostozis prevalansı 1/5000'dir ve görülen en yaygın kranyosinostozis formudur (13,14). Buna rağmen sendromik olmayan kranyosinostozis oluşumunu etkileyen nedenler tam olarak açıklanamamıştır (15). Sendromik olmayan kranyosinostozis olgularının %8'i aileseldir ve bu olgularda otozomal dominant kalıtım modeli görülmektedir (16).

Basit kranyosinostozis, füzyona uğrayan sütür çeşidine göre, sagittal, koronal, metopik ve lambdoid sinostozis olarak tanımlanmaktadır.

##### **2.2.1.1.1. Sagittal sinostozis**

Sagittal sütürün kapanması ile oluşur. Bu durum literatürde sinostotik skafosefali (dolikosefali) olarak adlandırılır. %40–55 görülme oranıyla en yaygın olan kranyosinostozis tipidir (Şekil 2.2E) (6).

##### **2.2.1.1.2. Koronal sinostozis**

Bir veya her iki koronal sütürün kapanması ile oluşur ve %20–25 görülme sıklığına sahiptir (Şekil 2.2C) (6).

##### **2.2.1.1.3. Metopik sinostozis**

Metopik sütürün kapanması ile oluşur. Bu durum genel popülasyonda %5–15 sıklıkta görülür (Şekil 2.2A) (6).

##### **2.2.1.1.4. Lambdoid sinostozis**

Lambdoid sütürün kapanması ile oluşur. Klinik olarak bu durum sinostotik posterior plajiyosefali olarak adlandırılır (10). Lambdoid sinostozisin %0–5 görülme oranıyla çok düşük sıklıkta gözlemlendiği belirlenmiştir (Şekil 2.2D) (6).

### 2.2.1.2. Bileşik Kraniosinostozis

Bileşik kraniosinostozis, bikoronal sinostozis ve sendromik kraniosinostozis olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

#### 2.2.1.2.1. Bikoronal Sinostozis

Her iki koronal sütte de sinostozis meydana gelir. Bu nedenle kafa yapısı brakisefalik tiptedir (Şekil 2.2B) (7).

#### 2.2.1.2.2. Sendromik Kraniosinostozis

Sendromik kraniosinostozis; vücuttaki çeşitli deformiteler ile ilişkili farklı sistemleri de (kardiyak, genitoüriner, muskuloskeletal v.b.) içine alan kraniosinostozis tipidir (7,17).

### 2.2.2 Sekonder Kraniosinostozis

Metabolik hastalıklar, malformasyonlar, fetusun çeşitli etkilere maruz kalması ve mukopolisakkaridozis gibi çeşitli faktörlerin etkisi ile ortaya çıkan kraniosinostozis tipidir (17).

### 2.3. Sendromik Kraniosinostozis ve Genetiği

Bugüne değin, 180'den fazla kraniosinostotik sendrom tanımlanmış olup OMIM kataloğunda yer almıştır (MIM#218500). Genellikle, bu sendromlar otozomal dominant kalıtım modeli gösterir (18). Klasik kraniosinostozis sendromlarından başlıcaları; Apert sendromu (MIM#101200); Crouzon sendromu (MIM#123500); Pfeiffer sendromu (MIM #101600); Jackson-Weiss sendromu (MIM#123150); Saethre-Chotzen sendromu (MIM#101400); Beare-Stevenson cutis gyrata (MIM#123790); Antley-Bixler sendromu (MIM#207410); Shprintzen-Goldberg sendromu (MIM#182212); Kranioforntonazal sendrom (MIM#304110); Baller-Gerold sendromu (MIM#210600); Muenke sendromu (MIM#602849); Greig sefalaposindaktili sendromu (MIM#175700) ve Carpenter (MIM#201000) sendromlarıdır.

Kraniosinostozis, sütte oluşumunu ve kapanmasını düzenleyen birçok gen ve gen aileleri ile ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır. Başlıca rol oynayan genler arasında *FGFR1* (NM\_136350), *FGFR2* (NM\_176943), *FGFR3* (NM\_134934), *TWIST* (NM\_601622), *MSX2* (NM\_123101), *EFNB1* (NM\_300035), ve *ALPL* (NM\_171760) yer almaktadır (8). Bu genlerde saptanan mutasyon sıklıklarına bakıldığında en çok *FGFR2* geninde daha sonra *FGFR3* ve *FGFR1* genlerinde mutasyonlar belirlenmiştir (19).

Bugüne değin yapılan çalışmalarda, *FGFR1* geninde belirlenen mutasyonların daha çok Pfeiffer sendromu tip1 (%67) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (20). *FGFR2* geninde saptanan mutasyonlar ise %98 oranında Apert, %50 oranında Crouzon, %67 oranında Pfeiffer sendromu ile ilişkilidir. Ayrıca bu gendeki mutasyonların *FGFR2* ilişkili izole koronal kraniosinostotik malformasyonlara da neden olduğu bilinmektedir. Bunun yanı sıra *FGFR3* genindeki mutasyonlar %100 oranında



Muenke sendromu, FGFR3 ilişkili koronal kraniosinostozis, Tanatoforik displazi tip 1 ve 2 ayrıca Crouzonodermoskeletal sendromu ile ilişkilendirilmiştir (Çizelge 2.1). Yapılan araştırmalar sonucunda *TWIST* geninde saptanan mutasyonlar %27.7 oranında Saethre-Chotzen sendromu ile ilişkilidir. (20,21). Ayrıca, Boston tipi kraniosinostozlu olgularda *MSX2* geninde, kranyofrontonazal sendromlu olgularda *EFBN1* geninde ve hipofosfatezili olgularda ise *ALPL* geninde mutasyonlar saptanmıştır (10).

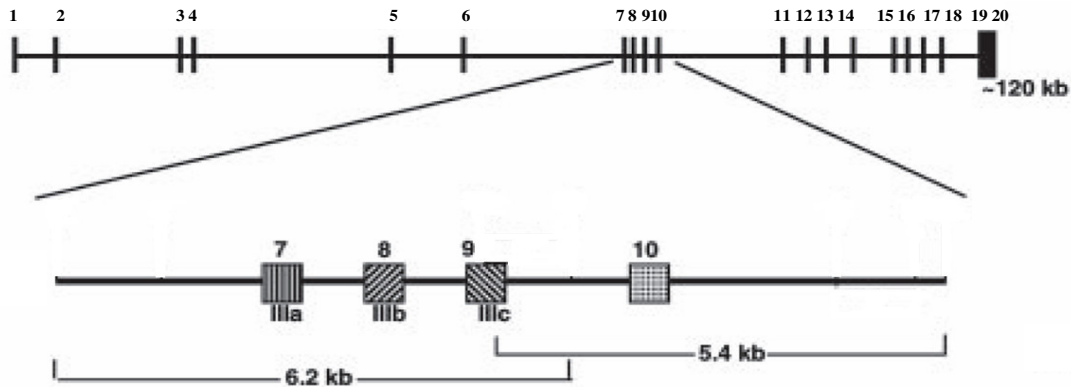
**Çizelge 2.1.** Kraniosinostotik sendromların genlerle ilişkili mutasyon oranları.

Sendrom	Gen (ilişki %)	Mutasyonlar	Mutasyon belirleme oranı
Apert	<i>FGFR2</i> (%100)	S252W, P253R	>% 98
Crouzon	<i>FGFR2</i> (%100)	Çeşitli mutasyonlar	>% 50
Pfeiffer	<i>FGFR1</i> (%5), <i>FGFR2</i> (%95)	Çeşitli mutasyonlar	% 67
Muenke	<i>FGFR3</i> (%100)	P250R	% 100
<b>FGFR2 ilişkili kraniosinostozis</b>	<i>FGFR2</i> (%100)	Çeşitli mutasyonlar	Bilinmiyor

Bugüne değin yapılan moleküler genetik çalışmalarda, *FGFR2* genindeki mutasyonlar öncelikli olarak tanımlanmaktadır. Dolayısı ile sendromik ve sendromik olmayan olgularda bu genin moleküler genetik analizi önem kazanmaktadır.

#### 2.4. Fibroblast Büyüme Faktör Reseptör 2 geni ve protein yapısı

Fibroblast büyüme faktör reseptör (*FGFR*) gen ailesi *FGFR1* (NM\_136350), *FGFR2* (NM\_176943), *FGFR3* (NM\_134934) ve *FGFR4* (NM\_134935) genlerini kapsamaktadır. Bu gen ailesinden olan *FGFR2* geni 10q23.5-q26 da yer almakta, büyüklüğü yaklaşık 120 kb (kilobaz) olup 20 ekzondan oluşmaktadır (Şekil 2.3) (22).

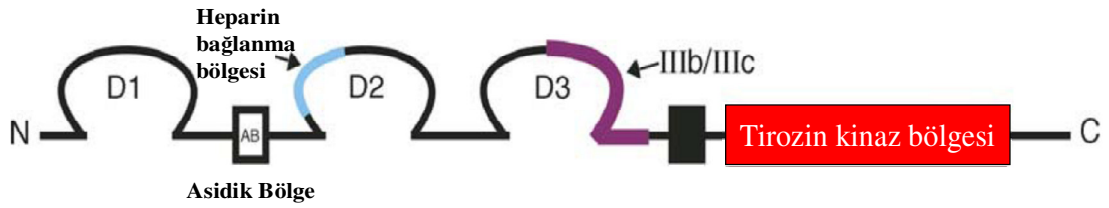


**Şekil 2.3.** *FGFR2* gen yapısı.

*FGFR2* geninin iki alternatif gen ürünü mevcuttur. Bu iki izoform arasındaki farklılık, transaktin faktörlerinin etkisi ile oluşan alternatif kırılma ile meydana gelir. Bu izoformlar, IgIII bölgesinin ikinci yarısını oluşturan IIIb (b) ya da IIIc (c) ekzonik bölgelerinden birini içermesine göre birbirinden ayrılır (23). Oluşan izoformların ligant bağlanma özelliklerine göre ekspresyon gösterdikleri dokular

farklılık göstermektedir. Yapılan araştırmalar, c izoformunun mezenşimal kökenli hücrelerde, b izoformunun ise epitelyal kökenli hücrelerde eksprese olduğunu göstermiştir (24).

*FGFR* gen ailesinin protein yapıları da birbirlerine benzer özellikler göstermektedir. *FGFR2* gen ürünü olan reseptör 135 kD büyüklüğündedir. Bu reseptör, ekstraselüler kısımda üç adet immünoğlobulin-benzer bölge (D1, D2 ve D3), transmembran bölge ve intraselüler kısımda ise tirozin kinaz bölgesinden oluşur (Şekil 2.4.) (24).



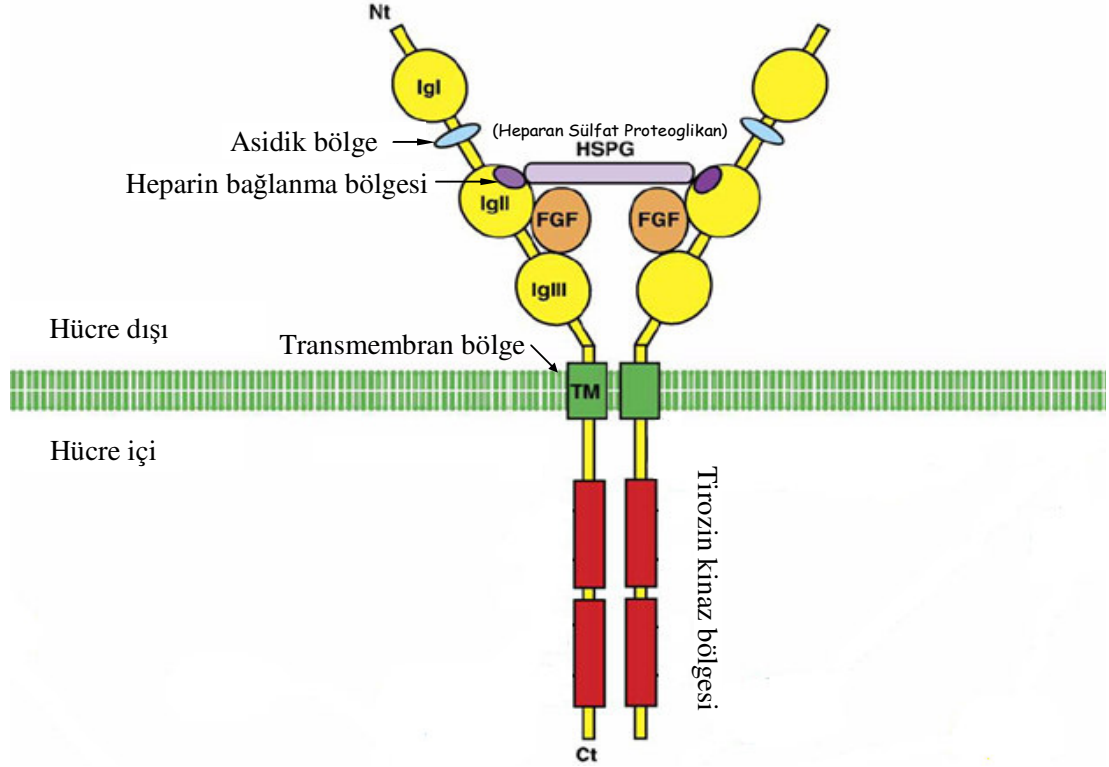
Şekil 2.4. FGFR2 protein yapısı.

FGFR2 proteinin fonksiyonu, fibroblast büyüme faktörleri (FGF) ile etkileşim sonucunda gerçekleşir. FGF molekülleri, embriyo ve yetişkinlerde hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, motilitesi ve apoptozisi ile ilgili birçok hücre biyolojik işlevleri yürütmektedir (9). Bu moleküller, 23 üyesi bulunan FGF protein ailesi (FGF1-FGF23) içerisinde ele alınmaktadır (24). FGF genlerinden sentezlenen FGF proteinlerinin hepsi 120 aminoasitten oluşan bir kor kısmı taşırlar. Bu kor kısmı; heparin ve sindekanlar, glipikan ve perlikan gibi heparan sülfat proteoglikanların (HSPG) FGF moleküllerine bağlanmasını sağlamaktadır (25). Hücre yüzeyinde ve ekstraselüler matrikste bulunan HSPG molekülleri, FGF moleküllerinin aktivitesini ve özgüllüğünü belirleyici önemli özellikleri vardır. (26). Ayrıca, HSPG'lar FGF ligantlarını termal, proteolitik ve pH bağımlı yıkımdan koruyarak, bu moleküllerin stabilizasyonunu sağlarlar (24).

FGFR2 proteininin fonksiyon görebilmesi için reseptörün dimerizasyonu gerekmektedir. Dimerizasyon olayında ligant-reseptör etkileşimi arasındaki özgüllük oldukça önemlidir. Bu özgüllük, reseptörün N-terminal bölgeleri, FGF ligantlarının merkez bölgeleri ve IgIII (D3) bölgesinin yapısı ile belirlenmektedir (Şekil 2.4). Yapılan çalışmalar, FGF1 ve FGF2 ligantlarının bağlanmasında FGFR2'nin IgII (D2) ve IgIII (D3) bölgelerinin belirleyici rol aldığı anlaşılmıştır (27). Ayrıca memelilerde yapılan çalışmalarda, FGF-FGFR bağlanma özgüllüğünün alternatif olarak kırılmaya uğrayan ekzon IIIb ve ekzon IIIc bölgeleri tarafından düzenlendiği belirlenmiştir (23).

Reseptör dimerizasyonu için FGF-FGFR-heparin üçlü kompleksinin oluşması şarttır (28). Bu dimerizasyon fibroblast büyüme faktör (FGF) moleküllerinin reseptöre ligant bağlanma bölgelerine tutunmaları ile mümkündür. FGFR yapısında bulunan IgII (D2) ve IgIII (D3) bölgeleri ligandın bağlanması açısından önemli bölgelerdir (29). Ayrıca FGFR2 dimerizasyon olayında HSPG molekülleri iki adet

FGF ligandına bağlanır. Bu bağlanma sonucunda iki FGFR arasında bir köprü oluşumu sağlanır ki, bu yapı reseptörlerin dimerizasyonunu gerçekleştirmektedir (Şekil 2.5) (28). Reseptör dimerizasyonu gerçekleştikten sonra tirozin rezidularını transotofosforilasyon mekanizması ile fosforillenirler. Fosforilasyon sonucunda reseptör aktive olur ve FGFR2 sinyal yolağının aktivasyonu gerçekleşir (24).



Şekil 2.5. FGFR2 dimerizasyonu.

FGF-FGFR arasındaki etkileşim sonucunda gerçekleşen sinyalizasyon kranial sütür gelişimini kontrol etmektedir. Bu sinyal mekanizması osteoblast farklılaşmasını, proliferasyonunu ve apoptozisi kontrol eder (30). Osteoblast farklılaşması sürecinde FGFR2 sinyalizasyonu oldukça önemlidir. Çünkü yapılan araştırmalarda, FGFR2 lokalizasyonunun kemik dokusunda osifikasyonunun gerçekleştiği kısımlarda yoğunlaştığı belirlenmiştir. Bu nedenle FGFR2 yapısındaki değişimlere ve fonksiyon bozukluğuna neden olabilecek genetik değişimler kemik gelişimini de etkileyerek iskelet malformasyonlarına neden olmaktadır (9).

Kurbağa embriyoları üzerinde yapılan çalışmalarda, FGFR2'nin gelişim üzerindeki rolü ortaya çıkarılmıştır. Bu araştırmalar, FGFR2 sinyal yolağının aktivasyonu, gastrülasyon öncesi evrede anterior nöral plakadaki hücrelerin muhtemel göç hareketini engellediğini göstermiştir (31). Bu bulgular ışığı altında, FGFR2 geninin kalvaryal gelişim ve ekstremitelerin gelişimi açısından oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır.

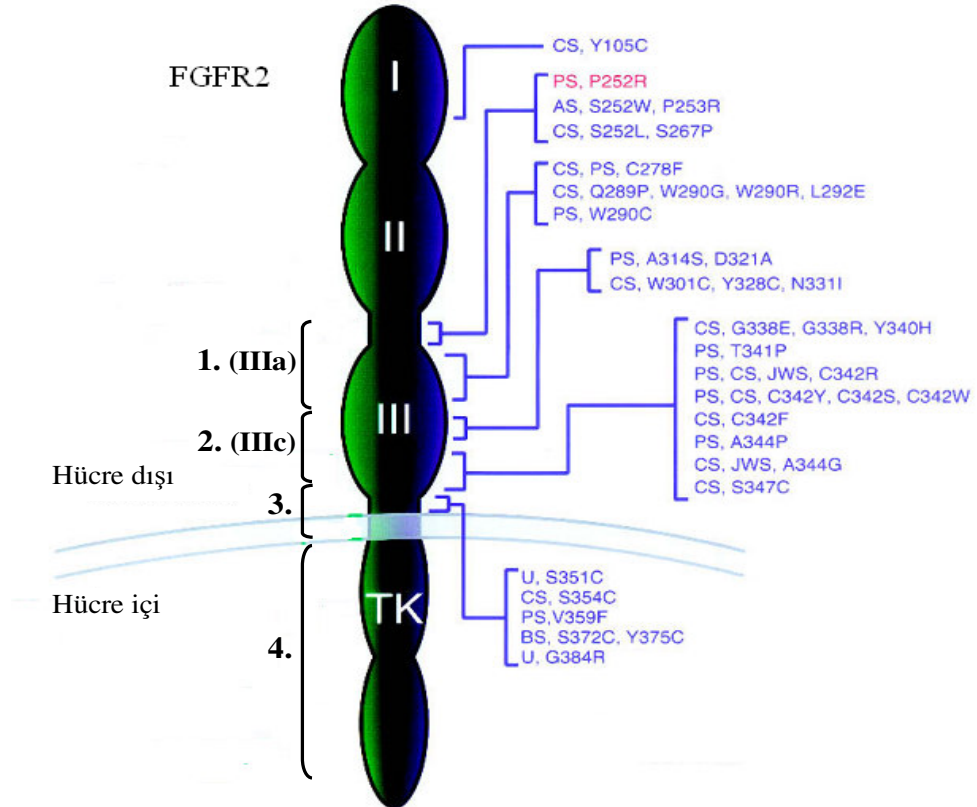
## 2.5. *FGFR2* gen mutasyonlarının önemi

1960 yılından beri yapılan genetik araştırmalar sonucunda, kraniosinostotik sendromların etyolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığı bilinmektedir. *FGFR*, *TWIST* ve diğeri genlerde yapılan mutasyon analizleri, bu malformasyonun oluşumunda genetik faktörlerin oldukça önemli olduğu belirlemiştir (32).

Kraniosinostozis sendromlu olgularda saptanmış olan genetik değişimler kranial ve fasiyal yapıda defektlere yol açmaktadır. Önceden değindiğimiz, Crouzon, Pfeiffer, Jackson-Weiss, Apert ve Beare-Stevenson gibi kraniosinostotik sendromlar meydana gelmektedir (19).

*FGFR2* geninde kraniosinostozis ile ilgili saptanan mutasyonlar, buldukları reseptör bölgesine göre 4 kategoride incelenmektedir (Şekil 2.4 ve 2.6) (33).

1. İmmüoglobulin-benzer II-III bağlanma bölgesindeki mutasyonlar
2. İmmüoglobulin-benzer III bölge mutasyonları
3. Transmembran bölge mutasyonları
4. Tirozin kinaz bölge mutasyonları



Şekil 2.6. *FGFR2* gen yapısında yer alan mutasyonlar.

AS, Apert sendromu; CS, Crouzon sendromu; PS, Pfeiffer sendromu; JWS, Jackson-Weiss sendromu; BS, Beare-Stevenson sendromu; U, Sınıflandırılmayan kraniosinostozis.

*FGFR2* geninde saptanan mutasyonlar genellikle fonksiyon kazanım mutasyonlarıdır (34). Nadir olarak fonksiyon kaybına neden olan mutasyonlar da belirlenmiştir. Ancak fonksiyon kaybına neden olan mutasyonları taşıyan fareler ile yapılan çalışmalarda açık olarak kranyal defektlere rastlanmamıştır (35). *FGFR2* geninde fonksiyon kazanımına neden olan mutasyonlar, ligant-bağımlı ve ligant-bağımsız olarak ikiye ayrılmaktadır (24).

*FGFR* geninde meydana gelen ligant-bağımlı aktivasyon mutasyonu, reseptörün liganda affinitesinin artışına ve ligant ayrılmasını azaltarak reseptör aktivasyonuna neden olur (24).

Ligant-bağımsız aktivasyon ise karşımıza üç şekilde çıkabilir. Birincisi; reseptörün Ig bölgelerinde meydana gelmiş mutasyonlar sistein rezidularının kazanımına veya kaybına neden olarak intermoleküler disülfid köprüsü oluşumuna neden olur. Bu oluşum sonucunda reseptörün dimerizasyonu ve dolayısı ile sinyal yolağının aktivasyonu gerçekleşir. İkincisi; reseptör yapısında amino asit değişimine neden olan mutasyonlar, intramembran hidrojen bağlarının oluşumuna neden olur. Böylece, reseptör dimerizasyonu gerçekleşir. Üçüncü olasılık ise; tirozin kinaz bölgesinde meydana gelen mutasyonlar, enzimatik fonksiyonu başlatarak FGF sinyal yolağını aktive eder (24).

Kranyosinostotik olgularda en geniş seride yapılan çalışmalara göre, *FGFR2* geninde %9.8 oranında saptanmış olan fonksiyon kazanım mutasyonları, genin ekzon IIIa/7 ve ekzon IIIc/9 bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Günümüze değin saptanmış olan mutasyonlar genellikle yanlış anlamlı mutasyonlardır (19). Ayrıca, yapılan bazı popülasyona özgü çalışmalarda, küçük insersiyonlar, delesyonlar ve “splice” bölge mutasyonları da belirlenmiştir (36).

*FGFR2* geninde ekzon IIIa/7 bölgesinde saptanan P253R ve S252W mutasyonları, kranyosinostotik sendromlar arasında yaygın olarak görülen Apert sendromu ile %98 oranında ilişkili olduğu belirlenmiştir (37).

P253R mutasyonu *FGFR2* geninin ekzon IIIa/7 bölgesinde 758 pozisyonundaki sitozin nükleotidinin guanin nükleotidine transversiyonu ile meydana gelir. Bu değişim 253 pozisyonundaki nötral olan prolin aminoasidinin pozitif yüklü arjinin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 2.6). Bu mutasyon Apert sendromlu olguların %34'ünde görülür (38). Prolin aminoasidinin arjinin aminoasidine dönüşümü IgII ve IgIII bölgelerinin konformasyonel değişimine yol açar (36). Bu konformasyonel değişim, *FGFR2*'de ligant bağlanma affinitesinin artışına neden olarak osteoblast farklılaşmasında ve kranyal sütürlerin morfogenezinde patolojilere neden olmaktadır (30). Özellikle, P253R mutasyonuna sahip olgularda kranyofasiyal patolojilere ek olarak sindaktili ve zeka geriliği de yaygın olarak görülmektedir (39).

Apert sendromlu olgularda sık rastlanan diğer bir mutasyon ise S252W mutasyonudur. Bu mutasyon, reseptörün yüksek korunmuş dizilere sahip IgII-III bağlanma bölgesinde (ekzon IIIa/7) 755 pozisyonundaki sitozin nükleotidinin guanin nükleotidine transversiyonu ile oluşur. Oluşan bu yanlış anlamalı mutasyon, 252 pozisyonundaki nötral olan serin aminoasidinin aromatik yan grup taşıyan triptofan aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 2.6). Yapılan araştırmalar sonucunda bu mutasyon, Apert sendromlu olguların yaklaşık olarak %65'inde saptanmıştır (40,41). S252W mutasyonu meydana geldiğinde, FGF2 ligandının mutant FGFR2'ye bağlandıktan sonra ayrılma kinetiğinde seçici bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, bu mutasyon FGFR2'ye bağlanan bazı özgül ligantlara affiniteyi arttırdığı ve bu bağlamda ligandın sınırlı olduğu koşullarda dahi reseptör aktivasyonuna neden olduğu anlaşılmıştır (29). S252W mutasyonu, mezenşimal form olan FGFR2c'nin FGF7 ve FGF10 ligantlarına, epitelyal form olan FGFR2b'nin de FGF2, FGF6 ve FGF9 ligantlarına affinite artışına neden olur. Bu bulgular ışığı altında, S252W mutasyonunun FGFR2'nin fonksiyon kazanımına neden olan bir mutasyon olduğu saptanmıştır (42).

Bu fonksiyon kazanımının nasıl gerçekleştiğine dair ileri sürülen hipotez, glikozaminoglikan (GAG)-FGF-FGFR üçlü kompleksinin kendi içindeki etkileşimlerden olabileceğidir. İlgili mutasyona bağlı olarak FGFR yapısındaki aminoasitlerin dönüşümü, reseptörde belirgin bir konformasyonel değişime neden olmaktadır. Bu konformasyonel değişim, reseptörün cis veya trans konformasyonunu etkiler. Kristal yapı analizi sonuçları incelendiğinde, S252W mutasyonu FGFR2c ile FGF2'nin N-terminal ucundaki Phe21 aminoasidi arasında ek olarak hidrojen bağının ve hidrofobik etkileşimlerinin kurulmasını sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, S252W-FGFR2c/FGFR2b ve FGF2 ligandı bağlandığı zaman 252. pozisyondaki triptofan aminoasidi, IgIII bölgesinde bulunan Ile257 ile Tyr281 arasına girer. Bu konformasyonel değişiklik, ligant-reseptör affinitesini arttırdığı gibi GAG moleküllerine karşı etkileşimi de artırır. Dolayısıyla, GAG-FGF-FGFR kompleksindeki affinite artışı ile birlikte reseptörün fonksiyon kazanımı gerçekleşmiş olur (43).

S252W mutasyonu, epitelyal ve mezenşimal kökenli FGFR2 formlarında kranyosinostozise ek olarak farklı etkilere de sahiptir. Epitelyal kökenli form olan mutant FGFR2b izoformu yarı damak-dudak ve deri abnormalitelerine neden olurken, mezenşimal kökenli mutant FGFR2c izoformu da ekstremitelerde abnormalitelerine, sindaktiliye neden olmaktadır (34,44).

Ligant bağımlı mutasyonlarla ilişkili olan Apert sendromunun yanı sıra ligant bağımsız mutasyonlarla ilişkili kranyosinostotik sendromlar da mevcuttur. Ligant bağımsız mutasyonlar ile ilişkilendirilen ve yaygın görülen kranyosinostotik sendromlar, Crouzon ve Pfeiffer sendromlarıdır. Bu sendromlarla ilişkili önemli bir mutasyon C278F mutasyonudur. C278F mutasyonu, *FGFR2* geninin ekzon IIIa bölgesinde 833 pozisyonunda guanin nükleotidinin timin nükleotidine transversiyonu sonucunda meydana gelir. Bu transversiyon, 278 pozisyonundaki nötral olan sistein aminoasidinin aromatik yan grup taşıyan fenilalanin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Bkz. Şekil 2.6). Bu mutasyon, Crouzon ve Pfeiffer sendromları ile ilişkili

önemli bir mutasyon olan ve sıklıkla rastlanan C342R yanlış anlamlı mutasyonu ile benzer etkilere sahiptir. C342R mutasyonu, 1024 pozisyonundaki timin nükleotidinin sitozin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelir. Bu transisyon, 342. pozisyonundaki nötral olan sistein amino asitinin pozitif yüklü arjinin amino asidine dönüşmesine neden olur (Bkz. Şekil 2.6). Bu iki mutasyon da FGFR2'nin glikozilasyon düzeyini azaltır. Reseptör glikozilasyonu, FGFR'lerin ikincil yapısını belirler, bu nedenle glikolizasyon olayı reseptör fonksiyonu açısından oldukça önemlidir. FGFR2 glikozilasyonundaki azalma reseptörün otofosforilasyonunda artışa neden olur. Her iki mutasyon da FGFR2'de IgIII bölgesindeki sistein residülerini elimine ettiğinden FGFR2'nin disülfid bağlı dimerizasyonunu artırır. Reseptör dimerizasyonu ile birlikte FGFR2 sinyal yolağı aktive olur. Bu aktivasyon, osteoblastlarda mitojenik bir sinyal gibi algılanarak Crouzon sendromu ve Pfeiffer sendromu ile ilişkili kranyofasiyal fenotipik bulguların oluşmasına neden olur (30).

Yukarıda değinilen mutasyonlar en yaygın görülen kranyosinostotik sendromlarda yer almaktadır. Diğer saptanan mutasyonlar ise farklı klinik bulgularla ilişkilendirilmiştir. Bunlar da FGFR2 proteininin diğer bölgelerinde saptanmıştır (Bkz. Şekil 2.6).

## **2.6. Apert sendromu (MIM#101200)**

### **2.6.1. Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler**

Apert Sendromu ilk olarak 1906 yılında tanımlanmış olup kranyosinostozis, ortayüz hipoplazisi, el ve ayaklarda sindaktili ile karakterize olan konjenital bir malformasyondur (45). Bu sendrom akrocefalosindaktili olarak da tanımlanmaktadır (17). Apert sendromunda koronal, lambdoid, skuamozal ve sfenotemporal sütürlerde sinostozis görülür. Bu sütürler arasında en yaygın olarak koronal sütürlerin sinostozu görülür. Kafatasında görülen abnormalitelerin yanı sıra el ve ayaklarda simetrik ve şiddetli sindaktili de fenotipik bulgular arasındadır (46). El yapılarında çoğunlukla orta üç parmakta sindaktili görülür. Ayaklarda ise genellikle lateral üç parmakta sindaktili oldukça yaygındır (47). Ayrıca Apert sendromu mental retardasyon ile de ilişkilidir (48). Yapılan araştırmalar Apert sendromlu olguların büyük bir kısmında mental geriliğin var olduğunu göstermiştir. Bunun nedeninin corpus callosum ve limbik yapıların malformasyonundan ileri geldiği düşünülmektedir (49).

### **2.6.2. Patogenezi**

Apert sendromlu olgularda *FGFR2* genindeki mutasyonlar preosteoblastik kalvarye hücrelerinin olgunlaşma sürecini hızlandırır. Ancak bu hücrelerin bazal büyümesi ve proliferasyonu etkilenmez. Dolayısıyla osteojenik yolağa giren öncü osteoblast hücrelerin artışı söz konusudur. Bu artış nedeniyle fetal dönemde subperiostal kemikte matriks artışı ve prematür kalvarye osifikasyonu meydana gelir. Bunun nedeni olarak Apert mutasyonlarının alkalik fosfatase, osteokalsin ve tip 1 kollojenin artışına yol açtığı belirlenmiştir (50).

### 2.6.3. Popülasyon genetiği

Apert sendromu en yaygın görülen ve sporadik gelişen kranyosinostotik sendromlardan birisidir (51). Otozomal dominant kalıtım gösterir ve 160.000 canlı doğumda bir görülür (17).

Apert sendromu ile ilgili olarak Danimarka, İtalya, İspanya ve Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan çalışmalar sonucunda prevalansın 15.5/1000.000 olduğu belirlenmiştir. Bu veriler ışığında Apert sendromunun tüm kranyosinostozis olgularının % 4.5'lük kısmını oluşturduğu saptanmıştır (52). Sadece Amerika Birleşik Devletlerinde Apert sendromu prevalansı 12.4/1000.000'dur. Asya popülasyonlarında prevalans daha yüksek (22.3/1000.000) ve Hispanik popülasyonda ise daha düşük (7.6/1000.000) değerdedir (53). Apert sendromu ile ilişkili ülkemize ait bir bulgu şimdiye kadar belirtilmemiştir.

### 2.6.4. Moleküler Genetiği

Apert Sendromu ile ilişkili olarak *FGFR2* geninin IIIa/7 ekzonunda lokalize ve yaygın olarak görülen mutasyonlar saptanmıştır. Bu tip olgularda %64 oranında S252W mutasyonu, %33 oranında da P253R mutasyonu saptanmıştır (8). P253R mutasyonuna göre S252W mutasyonunda paternal yaşın oldukça önemli olduğu vurgulanmaktadır (54). Yapılan araştırmalarda, ileri paternal yaşın Apert sendromunun gelişiminde önemli bir faktör olduğu saptanmıştır (55).

### 2.6.5. Genotip ve Fenotip İlişkisi

Apert sendromlu bireylerde yapılan mutasyon analizlerinde P253R mutasyonu taşıyan bireylerde el ve ayaklarda görülen sindaktininin daha şiddetli olduğu saptanmıştır. Bunun aksine yarık damak bulgusunun ise S252W mutasyonu taşıyan bireylerde daha sık görüldüğü ileri sürülmektedir. Bu verilerin dışında bu mutasyonlarla ilişkili olarak diğer sendromik bulgularda belirgin bir ayrım belirtilmemektedir (34,56).

## 2.7. Crouzon sendromu (MIM#123500)

### 2.7.1. Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler

Crouzon sendromu ilk olarak 1912 yılında tanımlanmış olup tipik olarak bikoronal sinostozis ile ilişkilidir. Bu durumda beyin büyümesi kısıtlanır ve intrakraniyal basınç artışı gözlenir. (67). Crouzon sendromu, hipertelorizm, proptozis, eksternal strabismus, okzofthalmus ve ortafasiyal hipoplazi gibi fasiyal bulgular da mevcuttur (8).

### 2.7.2. Patogenezi

Crouzon sendromu ile ilişkili olarak sıklıkla *FGFR2* genindeki sistin rezidularında mutasyonlar yer almaktadır. Bu durumun normalde gerçekleşmeyen eşleşmemiş sistein reziduları arasında intermoleküler disülfid bağların oluşumu nedeniyle meydana geldiği ileri sürülmektedir. Dolayısıyla reseptörün kovalent homodimerizasyonu meydana gelmekte ve reseptör aktivasyonu gerçekleşmektedir.



Bunun sonucunda Crouzon sendromu ile ilişkili anormal iskeletal gelişimi meydana gelmektedir (33).

### 2.7.3. Popülasyon Genetiği

Yapılan araştırmalar sonucunda Crouzon sendromunun prevalansı 16.5/1000.000 olduğu belirlenmiştir. Crouzon sendromu da yaygın görülen kraniosinostotik sendromlar arasındadır ve genellikle otozomal dominant kalıtım gösterdiği bilinmektedir (16).

### 2.7.4. Moleküler Genetiği

Crouzon sendromlu olguların yarısı *FGFR2* gen mutasyonları ile ilişkilidir. Bu mutasyonların çoğu nokta mutasyonlarıdır. Bunun yanı sıra Pfeiffer Tip 1 ile ilişkili olarak saptanan *FGFR1* mutasyonları dışındaki diğer IgIIIc bölge mutasyonlarının, aynı zamanda Crouzon sendromu ile ilişkili oldukları belirlenmiştir. Şimdiye kadar ilgili 76 ayrı mutasyon belirlenmiştir. Bu mutasyonların 52'si yanlış anlamlı mutasyonlardır. Saptanan 52 mutasyonun 21'i *FGFR2c*'nin IgIIIc bölgesinde bir sistein rezidusunun kaybına veya oluşumuna neden olan mutasyonlardır. Bu mutasyonlardan biri C342Y mutasyonudur (33).

### 2.7.5. Genotip ve Fenotip İlişkisi

Crouzon sendromu ile ilişkili olarak saptanan C342Y mutasyonu klasik Crouzon fenotipine neden olmaktadır. Ayrıca *Xenopus* embriyo model sistemleri ile yapılan bir çalışmada C332Y mutasyonun benzer etkilere neden olduğu belirlenmiştir. W290G ve T341P mutasyonları ile yapılan araştırmalarda bu mutasyonların ligant bağımsız reseptör aktivasyonuna neden olduğu belirlenmiştir. Saptanan bu mutasyonların sistein residuları ile doğrudan ilişkileri yoktur. Ancak IgIII bölgesindeki intramoleküler disülfid bağ yapısını bozarak anormal intermoleküler disülfid bağların oluşumunu tetiklemektedir (33).

## 2.8. Pfeiffer sendromu (MIM #101600)

### 2.8.1. Klinik Bulgular ve Diğer Özellikler

Pfeiffer sendromu ilk olarak 1964 yılında tanımlanmış olup kısa ve geniş baş parmakların ve ayrıca büyük ayak parmakların oluşumu ile karakterizedir. Bu sendromla ilişkili olarak yonca yaprağı şeklinde kafa yapısı karakteristiktir. Sinostoz, unilateral koronal sinostozisten tüm kraniyal sütürlerin sinostozisine kadar varan değişkenlik gösterir (8). Bu bulgulara ek olarak, Pfeiffer sendromlu olgularda trakeal halkaların trakeal plakalara replasmanı ile trakeal stenozis de görülebilir (57). Bazı olgularda servikal, torasik ve lumbal füzyonlar gibi vertebral anomaliler de mevcuttur (58). İşitme kaybı ile ilgili olarak Pfeiffer sendromlu olguların çoğunda işitme kaybının çeşitli dereceleri saptanmıştır (59).

Yapılan klinik araştırmalar sonucunda, Pfeiffer sendromu üç alt tipe ayrılmıştır. Kraniosinostozis yanında el ve ayak anomalileri gibi klasik bulguları içeren ve en yaygın olarak görülen Pfeiffer sendromu Tip 1'dir. Bu sendrom tipinde diğer ana

malformasyonlar ve zeka geriliği gözlenmez. Pfeiffer sendromu Tip 2 bütün kranial sütürlerin füzyona uğradığı şiddetli kafa abnormaliteleri ile karakterizedir. Yonca yaprağı kafa şekli, Pfeiffer tipi el ve ayaklar ve bu bulgularla birlikte dirseklerde ankilozis bulguları da mevcuttur. Pfeiffer sendromu Tip 3’de ise Tip 2’den farklı olarak yonca yaprağı kafa şekli mevcut değildir. Tip 3’de oküler proptozis şiddetlidir ve anterior kranial temel daha kısa olması gibi fasiyal abnormaliteler ile karakterizedir. Bu bulguların yanı sıra çeşitli viseral malformasyonlar da Tip 3 ile ilişkilendirilmiştir (60,61). Araştırmalar Pfeiffer sendromu Tip 2 olgularının tümünün sporadik olduğunu belirlemiştir. Bu olgular solunum problemleri, beyin hasarları ve postoperatif komplikasyonlar nedeniyle kaybedilmektedir (62).

### **2.8.2. Patogenezi**

*FGFR1* ve *FGFR2* genlerinde meydana gelen mutasyonlar abnormal hücre sinyalleşmesine yol açar. Bunun sonucunda nöroektodermal, mezodermal ve endodermal kökenli hücrelerde normal proliferasyon ve farklılaşma dengesi bozulur. Dolayısıyla Pfeiffer sendromu ile ilişkili kranyosinototik durumlar meydana gelir (63).

### **2.8.3. Popülasyon Genetiği**

Pfeiffer sendromu genetik olarak heterojenite gösterir ve prevalansı 1/100.000 olarak belirlenmiştir. Yapılan pedigrî çalışmaları ile bu sendromun otozomal dominant kalıtım gösterdiği belirlenmiştir (61). Bunun yanında sporadik olgular da bu sendromun oldukça önemli kısmını oluşturmaktadır (62).

### **2.8.4. Moleküler Genetiği**

Pfeiffer sendromu, *FGFR1* ve *FGFR2* genlerindeki yanlış anlamlı mutasyonlar ile ilişkilidir (63). Ayrıca yapılan araştırmalarda, *FGFR3* geninde de P250R mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyonun, *FGFR1* genindeki P252R mutasyonu ve *FGFR2* geninde saptanan P253R mutasyonu ile analog olduğu belirlenmiştir (64). *FGFR2* geninde Pfeiffer sendromu ile ilişkili belirlenen mutasyonların ekzon 7 ve 9 üzerinde yoğunlaştığı bilinmektedir. Ayrıca, C342Y/R/S, Y340C, S351C, W290C mutasyonları da bu bölgelerde sık rastlanılan mutasyonlardandır (58,63,65).

### **2.8.5. Genotip ve Fenotip İlişkisi**

*FGFR1* genindeki P252R mutasyonunu taşıyan olgular karakteristik olarak ayak malformasyonlarına sahiptir. Kafa yapısında görülen abnormaliteler ise değişebilmektedir (4). S351C mutasyonunu taşıyan olgularda kartilaginöz trakeal sleeve ve buna ek olarak vertebral anomaliler gözlenmiştir. W290C mutasyonu ise Pfeiffer sendromu Tip 2 ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü bu mutasyonu taşıyan olgularda yonca yaprağı kafa şekli, proptozis, geniş el ve ayak başparmakları ve radioulnar sinostozis gibi bulgular mevcuttur (66). W290C mutasyonunun Crouzon sendromu ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (63).

## 2.9. *FGFR2* ilişkili kranyosinostozis

Şimdiye kadar *FGFR2* genine yönelik yapılmış olan moleküler genetik araştırmalarda sendromik olmayan kranyosinostozis ilişkili mutasyonlar da saptanmıştır. Sendromik olmayan kranyosinostozis olgularında sagittal, koronal, metopik ya da lambdoid sütürlerin en az birinde sinostoz mevcuttur. Bu sütürlere bakıldığında en çok sagittal sütürlerin sinostozu (%40-55) mevcuttur (6). İzole sagittal kranyosinostozis ile ilişkili olarak yapılan çalışmalarda 29 olguda A315T mutasyonu tanımlanmıştır (16). Ayrıca aynı aminoasitte ünikoronal kranyosinostozis ilişkili A315S mutasyonu da ilk olarak bir olguda tanımlanmıştır. İlgili mutasyon ayrıca, anne ve annenin babasında da saptanmıştır. Ancak her ikisinde de sadece midfasiyal asimetri mevcuttur ve kranyosinostozis bulgusu yoktur. Bu durumda intrauterin etkenlerin ve olumsuz koşulların bu mutasyon varlığında kranyosinostozise neden olabileceği düşünülmektedir (68). A315S mutasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda mutasyonun, *FGFR2c*'nin FGF'lere affinitesinin artmasına ve dolayısıyla kranyosinostozise neden olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca *FGFR2c*'nin FGF10 ligandına affinitesinin artışı ağır ekstremitte abnormalitelere neden olduğu belirtilmektedir (34). Yapılan moleküler genetik araştırmalarda *FGFR2* geninin yanı sıra, sendromik olmayan kranyosinostozis olgularında *FGFR3* ve *TWIST* genlerinde de mutasyonlar saptanmaktadır (16).

## MATERYAL VE YÖNTEMLER

Akdeniz Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Klinik Genetik Bilim Dalına ve İstanbul Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalına başvuran ve kranyosinostozis tanısı almış 40 pediatrik olgudan kan örnekleri alınmıştır.

### 3.1. Kranyosinostozis Tanısı Almış Olgularda Klinik İnceleme

Klinik muayene sonucunda kranyofasiyal ve ekstremitte abnormaliteleri görülen olgularda MR (Manyetik rezonans) yardımıyla bu abnormalitelerin tanımlanması gerçekleştirilerek kranyosinostozis tanısı alan 40 olgu çalışma kapsamına alındı. Ayrıca klinik incelemede kalp defekti, genital anomali, gelişme geriliği ve merkezi sinir sistemi abnormalite bulguları da değerlendirildi. Klinik bulgular doğrultusunda sendromik ve sendromik olmayan olgular belirlenerek sınıflandırıldı. Klinik muayene sonucunda sendromik kranyosinostozis tanısı alan olguların ilgili sendromları tanımlandı.

### 3.2. Periferik Kan Örneklerinin Alınımı

Kranyosinostozis tanısı almış olgulardan 5cc olacak şekilde periferik kan örnekleri K<sub>3</sub>EDTA'lı steril tüplere [Venoject®] alındı. DNA izolasyonu işlemine kadar +4°C'de saklandı.

### 3.3. Periferik Kandan DNA Eldesi

Olguların genomik DNA'ları, periferik kandan modifiye non-enzimatik metod ile izole edildi (75). DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler ve işlem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı.

#### 3.3.1. Kullanılan Solusyonlar

##### CLB 1X (Hücre Liziz Tamponu)

0.32 M Sükröz	(Merck)
10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
5mM MgCl <sub>2</sub>	(Merck)
%1 Triton-X	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan CLB 1X tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra +4°C'de saklandı.

### **TKM1 (Düşük Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)**

10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
10mM KCl	(Reidel-de Haen)
10mM MgCl <sub>2</sub>	(Merck)
2 mM EDTA pH 8.0	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan TKM1 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

### **TKM2 (Yüksek Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)**

10mM Tris HCl pH 7.6	(Sigma)
10mM KCl	(Reidel-de Haen)
10mM MgCl <sub>2</sub>	(Merck)
0.4mM NaCl	(Carlo Erba)
2 mM EDTA pH 8.0	(Sigma)

Yukarıdaki derişimleri sağlayacak şekilde distile su ile hazırlanan TKM2 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

### **%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) Çözeltisi**

1 gram SDS (Q-Bio gene) 10ml distile suda çözüldükten sonra filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

### **6 M NaCl (Sodyum Klorür)**

35.06 gram NaCl (Carlo Erba) 100 ml distile suda çözümlenerek otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

### **%70'lik Etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)**

70 ml %99 luk etanol, 30 ml distile su ile karıştırıldı ve +4 °C'de saklandı.

### **3.3.2. İşlemler**

K<sub>3</sub>EDTA'lı steril tüplere alınan kan alt üst edilerek homojenize edildi. Kan örneğinden 3 ml alınarak 15 ml'lik steril falkona aktarıldı. Üzerine 3 katı hacim kadar CLB 1X eklendi ve yavaşça karıştırıldı. Oda sıcaklığında devir sayısı (rpm) dakikada 2200 olacak şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 5 ml TKM1 solusyonundan eklendi. Vorteksle karıştırılarak homojenize edildikten sonra oda sıcaklığında 2200 rpmde 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 1.5 ml TKM2 ve 100µl %10 SDS solusyonlarından eklendi. Tüp alt üst edilerek karışması sağlandı. Çökelti tamamen homojenize olana kadar 65 °C'de 30-60 dakika süreyle su banyosunda inkübasyonu bırakıldı. İnkübasyondan sonra tüpe 570 µl 6M'lık NaCl eklendi. Beyaz köpüklü bir görünüm elde edene kadar vorteksle karıştırıldı. Oda sıcaklığında 2900 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Dökelti içinde 4.5 ml %99 etanol bulunan 15 ml'lik falkon tüpe transfer edildi. Tüp alt üst edilerek DNA'nın kondanse olması sağlandı. Tüp 2900 rpm'de santrifüj

edildi. Dökelti atıldı. Çökelti üzerine 5 ml %70'lik etanol ilave edilerek DNA'nın yıkanması sağlandı. Oda sıcaklığında 2900 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek dökelti atıldı. Tüp içerisinde çökelti halinde bulunan DNA 10-15 dakika kurutuldu. Üzerine 300µl Tris EDTA eklendi ve etüvde 65 °C'de 1 saat veya 4 °C'de geceboyu bırakılarak DNA'nın çözülmesi sağlandı. Çözünen DNA 1.5 ml'lik ependorf tüplere alındı. Elde edilen DNA örneklerinin optik dansite ölçümleri spektrofotometre ile yapıldıktan sonra, konsantrasyonları 50 ng/µl olacak şekilde sulandırılıp uzun süreli -20 °C'de, kısa süreli +4 °C'de saklandı.

### 3.4. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü

İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık derecelerinin belirlemek için spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Optik dansite ölçülerini belirlemek amacıyla örnekler 1/200 oranında sulandırıldı. 5µl DNA örneği 995 µl dH<sub>2</sub>O ile sulandırılarak 1000 µl'ye tamamlandı. Spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında örneklerin ölçümü yapılarak DNA miktarları,

DNA miktarı = Optik Dansite (O.D.) x Sulandırma Faktörü (S.F.) x 50

formülü ile hesaplandı. Hesaplanan değerlere göre DNA örnekleri 50ng/µl olacak şekilde sulandırıldı.

### 3.5. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi

PCR reaksiyonu, Bio-Rad (MyCycler) ve PCR System 9700 (Gene Amp ®) marka thermal cyclelerde gerçekleştirildi.

#### 3.5.1 PCR reaksiyonu içeriği

PCR içeriği; H<sub>2</sub>O, 10X tampon (Fermentas), MgCl<sub>2</sub> 25mM (Fermentas), dNTP (10mM) Karışımı, İleri ve Geri primer (10µM), Taq polimeraz (5ü/µl) (Fermentas) ve genomik DNA (50ng/µl) konularak 20 µl olacak şekilde hazırlandı.

#### FGFR2 ekzon IIIa için kullanılan primerler

İleri primer: 5' GGCCACAGTGTTATTTCAA 3' [19 mer; Tm: 54°C]

Geri primer: 5' CTCTCTGCTGGCTAGTCAA 3' [19 mer; Tm: 58°C]

#### FGFR2 ekzon IIIc için kullanılan primerler

İleri primer: 5' CACAATCATTCCTGTGTCGT 3' [20 mer; Tm: 58°C]

Geri primer: 5' CCCAGAGAGAAAGAACAGTA 3' [20 mer; Tm: 58°C]

### 3.5.2. PCR programı

Başlangıç denatürasyonu, 94°C’de 5 dakika; denatürasyon 94°C’de 30 saniye, birleşme 58°C’de 45 saniye, uzama 72°C’de 45 saniye olacak şekilde 35 döngü; son uzama ise 72°C’de 10 dakika olarak ayarlandı.

## 3.6. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme Sistemi

### 3.6.1. % 1.8’lik agaroz jelin hazırlanması

1.8 gram agaroz (Sigma) tartılarak 100 ml 1XTBE’de (Tris-Borat-EDTA) çözüldü. 50-55°C’ye gelene kadar soğutuldu. 0.5 µg/ml etidyum bromür ilave edildi. Elektroforez küvetine taraklar yerleştirilerek sıvı agaroz jel elektroforez küvetine döküldü. Oda sıcaklığında 15-20 dakika polimerize olması için beklendi. Jel polimerize olduktan sonra taraklar jelden alındı ve agaroz jel, elektroforez tankına yerleştirildi.

### 3.6.2. İşlemler

%1.8’lik agaroz jel, içerisinde 1XTBE bulunan elektroforez tankına yerleştirildi. PCR ürünü ve 50bç’lik marker yükleme tamponu kullanılarak kuyucuklara mikropipet yardımıyla yüklendi. Elektroforez tankına bağlı güç kaynağı ile 100 voltta 45 dakika yürütüldü. Süre sonunda örnekler UV ışık veren transilluminatör yardımıyla incelendi. Syngene (İngenius) transilluminatör aletine bağlı olan monitörlü sistem kullanılarak fotoğraflar alındı.

## 3.7. Amplikonların temizlenmesi

Amplifikasyon ürünlerinin temizlenmesi, Roche marka (Katalog no:11 732 668 001) PCR ürün pürifikasyon kiti kullanılarak gerçekleştirildi.

### İşlemler

PCR ürünü steril distile su eklenerek 100 µl’ye tamamlandı. Üzerine 500 µl bağlanma tamponu eklendi ve iyice karıştırıldı. Karışım pürifikasyon filtresinin üzerine boşaltıldı. Oda sıcaklığında 13000 rpm’de 30 saniye santrifüj edildi. Tüpün dibine biriken dökelti atıldı. Pürifikasyon filtresinin üzerine 500 µl yıkama solüsyonu eklendi. Oda sıcaklığında 13000rpm’de 1 dakika santrifüj edildi. Dökelti atıldı. İkinci yıkama 200 µl yıkama solüsyonu ile yapıldı. Tekrar oda sıcaklığında 13000 rpm’de 1 dakika santrifüj edildi ve dökelti atıldı. Pürifikasyon filtresi temiz 1.5 ml’lik ependorf tüpe aktarıldı. Üzerine 50 µl elüsyon solüsyonu ilave edildi. Oda sıcaklığında 13000 rpm’de 1dakika santrifüj edildi. DNA agaroz jelde kontrol edildi.

## 3.8. DNA Dizi Analizi

Dizi analizi için kalıp olarak temizlenen amplikonlar kullanıldı. Dizi analizi reaksiyonları PCR System 9700 (Gene Amp ®) marka Thermal Cycler kullanılarak aşağıdaki programa göre yapıldı. Tüm çalışmalar buz üzerinde gerçekleştirildi.

### **3.8.1. Dizileme Reaksiyonu**

5X Tampon, Big Dye v3.1, primer (10µM), kalıp DNA ve H<sub>2</sub>O konularak final hacmi 10µl olacak şekilde hazırlandı.

### **3.8.2. Dizileme PCR Programı**

Denatürasyon, 96°C'de 10 saniye; birleşme, 50°C'de 5 saniye, uzama, 60°C'de 4 dakika ve 25 döngü olacak şekilde ayarlandı.

### **3.9. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi**

Hazırlanan yeni 1.5 ml'lik ependorf tüplere 2µl sodyum asetat (Mallinckrodt) (pH:4.6) konuldu. Üzerine 30µl %99 soğuk etanol ilave edildi. Bu karışımın üzerine amplifikasyon ürününün tamamı eklendi ve vorteksle karıştırıldı. 20 dakika buz üzerinde bekletildi. Süre sonunda oda sıcaklığında 14000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Pipetle dökelti alınarak atıldı. Çökelti üzerine 250µl %70 etanol ilave edildi. Oda sıcaklığında 14000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Tekrar dökelti pipetle alınarak atıldı. Tüplerin 10-15 dakika karanlıkta kuruması beklendi. Tüpler kuruduktan sonra üzerine 25µl formamid ilave edildi. Tüpler hafifçe vurularak karıştırıldı ve dizi analizi tüplerine aktarıldı. ABI 310 dizileme cihazına konulmadan önce örnekler 94°C'de 5 dakika denatüre edildi ve daha sonra cihaza yüklendi. Sekans cihazına hemen yüklenmeyen örnekler -20°C'de saklandı.

### **3.10. DNA Dizi Analizi**

Denatüre edilen PCR ürünleri 5 dakika -20°C'de bekletilerek ABI 310 dizileme cihazına yüklendi. Alınan sonuçlarda sekans pikleri ABI sequence analysis yazılım programında değerlendirildi. Bu sonuçlarda Adenin yeşil, Guanin siyah, Sitozin mavi ve Timin kırmızı renkli pikler ile gösterilmektedir. Bu piklerin değerlendirilmesi ile DNA dizi analizi gerçekleştirildi.



## BULGULAR

Akdeniz Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı Klinik Genetik Bilim Dalı ve İstanbul Üniversitesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından kranyosinostozis tanısı konmuş 40 olgu değerlendirilerek aydınlatılmış onam formları alındıktan sonra çalışma kapsamına alınmıştır. 40 olgunun tümünde kranyosinostozis ile uyumlu klinik bulgular saptanmıştır.

### 4.1. Klinik Bulgular

Klinik muayene sonucunda olgulardan 24'üne sendromik kranyosinostozis tanısı konarak ilgili sendrom belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen diğer 16 olgu ise kesin olarak kranyosinostotik bir sendrom ile ilişkilendirilmediğinden sendromik olmayan (izole, sınıflandırılmayan) kranyosinostozis grubunu oluşturmuştur. Çalışmaya dahil edilen 10 hasta bireye Apert sendromu, 11 hasta bireye Crouzon sendromu, 3 hasta bireye Pfeiffer sendromu tanısı konmuştur. Sendromik olan ve olmayan bireylere ait klinik bulgular (Çizelge 4.1-4.4) ve örnek olguların fenotipik görüntüleri verilmiştir (Şekil 4.1-4.3).

**Çizelge 4.1.** Apert sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları.

<b>OLGULAR</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Oküler</b>										
Proptozis	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+
Hipertelorizm	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Strabismus	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Siğ orbitler	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Diğer	-	-	-	-	-	-	+ I	?	-	?
<b>Kranyofasiyal</b>										
Kranyosinostozis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	-	-	-	-	-	-	-	?	?	-
Brakisefali	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
Basık yüz	+	+	-	-	-	-	asimetrik yüz	-	-	+
Frontal çıkıklık	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Ön fontanel genişlemesi	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Hidrosefali	-	-	-	-	-	-	-	?	-	+
Midfasiyal hipoplazi	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Displastik kulaklar	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armut biçimli burun yapısı	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Basık burun kökü	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Palatal abnormalite	+ F	+ A	-	-	-	+ A	-	+	+	+
<b>Ekstremiteler</b>										
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Radyohumeral sinostoz	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral kontraktür	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral eğrilik (bowing)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Geniş parmaklar	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-
Kamptodaktili	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<b>Diğer</b>										
Kalp Defekti	+ G	+	-	-	-	-	-	-	-	ASD
Genital anomali	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MSS yapı abnormalitesi	+ H	-	-	-	+	?	?	?	-	-
Konvülzyon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelişme geriliği	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Erken ölüm	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<b>Sporadik</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	30	29	-	36	24	26	23	24	-	29
<b>Paternal yaş</b>	30	38	-	46	26	27	28	24	-	38
<b>Cinsiyet</b>	K	E	E	K	E	K	K	E	-	E
<b>Yaş</b>	5.5 ay	2.5 ay	15 gün	6 ay	3 ay	12 yaş	12 yaş	15 ay	4 gün	1 ay
<b>Tanı</b>	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; AS, Apert sendromu; A, Yüksek yerleşimli damak; F, Yarık uvula; G, Patent foramen ovale, H, Corpus callosum hipoplazisi; I, Ptozis; ASD, atriyal septal defekt

**Çizelge 4.2.** Crouzon sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları.

OLGULAR	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
<b>Oküler</b>											
Proptozis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipertelorizm	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Strabismus	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Sığ orbitler	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Diğer			-	-	-	?	?		-	?	-
<b>Kranyofasiyal</b>											
Kranyosinostozis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Brakisefali	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Basık yüz	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Frontal çıkıklık	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Ön fontanel genişlemesi	-	-	-	-	-	?	?	-	-	?	-
Hidrosefali	-	-	-	-	-	?	-	-	-	-	-
Midfasiyal hipoplazi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Displastik kulaklar	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armut biçimli burun yapısı	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
Basık burunkökü	-	-	-	-	-	-	+		+	+	+
Palatal abnormalite	-	+ A	+ A	+ A	+ A	+	+	+ A	+	+	+
<b>Ekstremiteler</b>											
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Radyohumeral sinostoz	-	-	-	-	-	-	?	-	-	?	-
Femoral kontraktür	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+
Geniş parmaklar	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Kamptodaktili	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
<b>Diğer</b>											
Kalp defekti	-	-	-	-	-	-	mitral yet PDA	-	?	?	-
Genital anomali	-	-	+ C	-	-	-	-	+ E	-	-	-
MSS yapı abnormalitesi	-	-	+ D	-	-	-	-	-	+	-	-
Konvülzyon	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Gelişme geriliği	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Erken ölüm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sporadik</b>	S	S	S	Ailesel	Ailesel	S	S	S	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-	1	Anne (olgu14)	-	-	-	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	27	18	32	33	-	39	40	25	40	42	33
<b>Paternal yaş</b>	30	40	35	30	-	48	41	26	43	47	-
<b>Cinsiyet</b>	E	E	E	K	K	E	K	E	E	E	K
<b>Yaş</b>	10 yaş	2 yaş	4 yaş	10 yaş	33 yaş	8 yaş	12 yaş	4.5 ay	7 yaş	16 yaş	7 yaş
<b>Tam</b>	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; CROU, Crouzon sendromu; A, Yüksek yerleşimli damak; C, İnguinal herni; D, Araknoid kist; E, Hipospadias; Mitral yet, mitral yetmezlik; PDA, patent duktus arteriozus.

**Çizelge 4.3.** Pfeiffer sendrom tanısı almış olguların klinik bulguları.

<b>OLGULAR</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>24</b>
<b>Oküler</b>			
Proptozi	+	+	+
Hipertelorizm	+	+	+
Strabismus	-	-	?
Sığ orbitler	+	-	-
Diğer	-	-	?
<b>Kranyofasiyal</b>			
Kranyosinostozis	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	+	-	+
Brakisefali	+	+	-
Basık yüz	-	-	-
Frontal çıkıklık	+	-	+
Ön fontanel genişlemesi	+	-	?
Hidrocefali	-	+	-
Midfasiyal hipoplazi	+	+	+
Displastik kulaklar	+	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	+	-	-
Armut biçimli burun yapısı	+	-	-
Basık burunkökü	+	+	+
Palatal abnormalite	+ A	-	-
<b>Ekstremiteler</b>			
Çoklu eklem kontraktürü	+	+	-
Radyohumeral sinostoz	+	+	-
Femoral kontraktür	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-
Sindaktili	-	-	+
Geniş parmaklar	+	+	+
Kamptodaktili	+	-	-
“Rocker bottom” ayak	+	-	-
Küçük yapı	+ A	-	-
<b>Diğer</b>			
Kalp defekti	+ B	+	?
Genital anomali	+	-	-
MSS yapı abnormalitesi	+	-	-
Konvülzyon	-	-	?
Gelişme geriliği	+	-	?
Erken ölüm	+	-	BGD
<b>Sporadik</b>	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	20	35	30
<b>Paternal yaş</b>	64	40	35
<b>Cinsiyet</b>	K	K	K
<b>Yaş</b>	20 gün	17 gün	-
<b>Tanı</b>	PFEI	PFEI	PFEI

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; PFEI, Pfeiffer sendromu; A, Yüksek yerleşimli damak; B, Ventriküloseptal defekt; BGD, Beklenen ama Gerçekleşmemiş Düşük.

**Çizelge 4.4.** Sendromik olmayan kranyosinostozis tanısı almış olguların klinik bulguları.

<b>OLGULAR</b>	<b>25</b>	<b>26</b>	<b>27</b>	<b>28</b>	<b>29</b>	<b>30</b>	<b>31</b>	<b>32</b>
<b>Oküler</b>								
Proptozi	+	+	+	-	+	+	-	-
Hipertelorizm	+	-	-	+	+	+	-	+
Strabismus	-	+	-	-	+	-	-	-
Sığ orbitler	-	-	-	-	+	+	-	-
Diğer	-	+	-	?	-	-	-	-
<b>Kranyofasiyal</b>								
Kranyosinostozis	+	-	+	+	+	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	+	-	-	-	-	-	-	-
Brakisefali	-	-	-	-	+	-	-	+
Basık yüz	-	-	-	-	+	-	+	-
Frontal çıkıklık	-	+	-	-	-	-	+	+
Ön fontanel genişlemesi	+	-	-	-	-	-	-	+
Hidrocefali	-	-	-	-	+	-	-	-
Midfasiyal hipoplazi	-	+	-	+	+	-	-	+
Displastik kulaklar	-	-	+	-	-	-	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	+	-
Armut biçimli burun yapısı	-	-	-	-	+	+	-	+
Basık burunkökü	-	-	-	-	-	-	+	+
Palatal abnormalite	-	-	-	-	+	-	-	+ A
<b>Ekstremiteler</b>								
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	-	-	-	-	+	-
Radyohumeral sinostoz	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral kontraktür	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	-	-	-	-	-	-	kısmi	-
Geniş parmaklar	-	-	-	-	-	-	-	-
Kamptodaktili	-	+	-	-	-	-	+	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>Diğer</b>								
Kalp defekti	+	-	+	-	-	-	+	-
Genital anomali	-	-	-	-	-	-	-	-
MSS yapı abnormalitesi	-	-	-	-	-	-	+	-
Konvülzyon	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelişme geriliği	-	-	-	-	-	-	+	-
Erken ölüm	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sporadik</b>	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	26	29	25	26	48	35	-	23
<b>Paternal yaş</b>	38	30	31	31	54	34	-	33
<b>Cinsiyet</b>	E	K	K	E	K	K	-	E
<b>Yaş</b>	8 gün	9.5 yaş	6 ay	6 yaş	10.5 yaş	8 yaş	-	10 gün
<b>Tanı</b>	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; CRN, Kranyosinostozis; A, Yüksek yerleşimli damak.

Çizelge 4.4. (devam)

OLGULAR	33	34	35	36	37	38	39	40
<b>Oküler</b>								
Proptozi	+	-	+	+/-	-	-	-	+
Hipertelozizm	+	-	+	-	+	-	-	+
Strabismus	-	-	+/-	+	-	-	-	+
Sığ orbitler	-	+	+	+	-	-	-	-
Diğer	-	-	-	-	?	?	?	+
<b>Kranyofasiyal</b>								
Kranyosinostozis	+	?	+	+	+	?	?	-
Yonca yaprağı kafa şekli	-	-	-	-	-	-	-	-
Brakisefali	-	+	+	-	+	+	+	+
Basık yüz	-	+	+	+	+	-	-	-
Frontal çıkıklık	-	-	-	+	?	?	?	-
Ön fontanel genişlemesi	+	-	-	+	-	-	-	-
Hidrocefali	-	+	-	-	-	-	-	-
Midfasiyal hipoplazi	-	+	+	+	-	-	-	+
Displastik kulaklar	-	-	+	+	-	-	-	+
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	-	-
Armut biçimli burun yapısı	-	-	-	-	-	-	-	+
Basık burunkökü	+	+	+	-	+	-	-	+
Palatal abnormalite	-	+	+	-	-	-	-	-
<b>Ekstremiteler</b>								
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	+	-	-	-	-	-
Radyohümeral sinostoz	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral kontraktür	-	?	-	-	-	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	-	-	-	-	-	-	-	+
Geniş parmaklar	-	-	-	-	-	-	-	-
Kamptodaktili	-	-	-	-	-	-	-	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	+	+	-	-	-	-	+
<b>Diğer</b>								
Kalp defekti	-	?	-	-	?	?	?	+
Genital anomali	-	-	-	-	-	-	-	-
MSS yapı abnormalitesi	-	+	+	-	-	-	-	+
Konvülzyon	-	+	-	-	-	-	-	-
Gelişme geriliği	-	+	+	-	-	-	-	+
Erken ölüm	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Sporadik</b>	S	S	S	S	S	Ailesel	Ailesel	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-	-	-	Baba (olgu 39)	1	-
<b>Maternal yaş</b>	25	32	-	27	23	-	26	37
<b>Paternal yaş</b>	25	36	-	26	27	-	30	41
<b>Cinsiyet</b>	E	E	-	K	E	E	K	E
<b>Yaş</b>	8 yaş	2 yaş	-	45 gün	4.5 yaş	30 yaş	6 yaş	3.5 yaş
<b>Tamı</b>	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN	CRN

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; CRN, Kranyosinostozis.



Olgu 1



Olgu 2

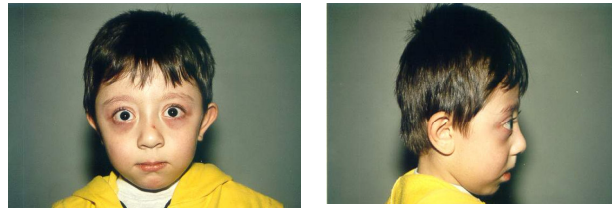


Olgu 6

Şekil 4.1. Apert sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri.



Olgu 12



Olgu 13



Olgu 17

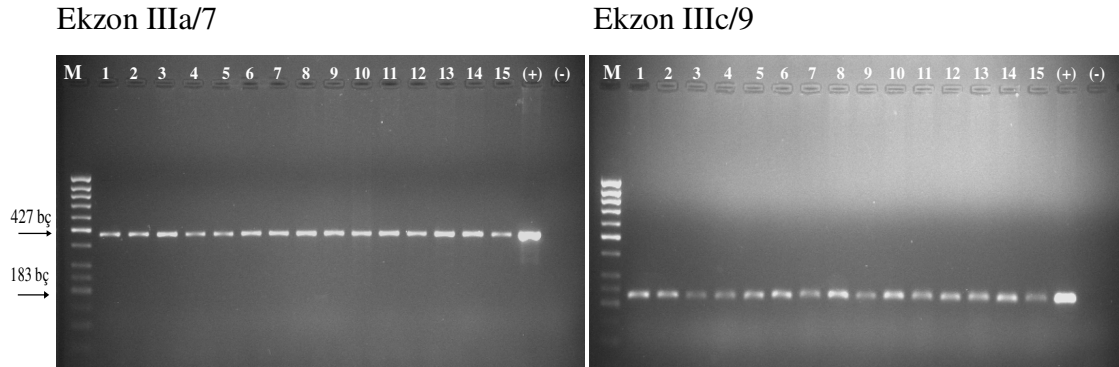
Şekil 4.2. Crouzon sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri.



**Şekil 4.3.** Pfeiffer sendromlu örnek olguların fenotipik özellikleri.

#### 4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları

Kranyosinostozis tanısı almış olguların klinik bulguları değerlendirildikten sonra genotip ve fenotip ilişkisini belirlemek amacıyla *FGFR2* geninde sıklıkla mutasyon belirlenen IIIa/7 ve IIIc/9 ekzonik bölgelerine yönelik moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır. Öncelikle kranyosinostozisli olguların *FGFR2* geninin IIIa ve IIIc ekzonik bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniği kullanılarak amplifiye edilmiştir. Bu ekzonik bölgelerin ampliconları %1.8'lik agaroz jelde yürütülmüştür. PCR ile amplifiye edilen ekzon IIIa bölgesinin amplicon büyüklüğü 427 baz çifti (bç), ekzon IIIc bölgesinin amplicon büyüklüğü ise 183 bç'dir (Şekil 4.4.).



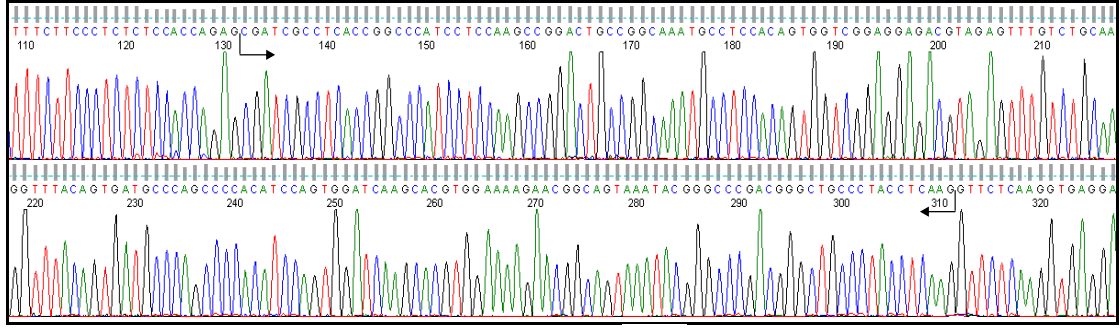
M, Markır; (-), Negatif kontrol; (+), Pozitif kontrol; **olgu no**, 1-15; **bç**, baz çifti.

**Şekil 4.4.** *FGFR2* geninin ekzon IIIa/7 ve IIIc/9 ampliconlarının agaroz jel görüntüsü.

40 olgunun IIIa ve IIIc ekzonik bölgelerinin amplifikasyon sonrası ampliconları DNA dizi analizine alınmıştır. Her iki ekzonik bölgenin referans DNA dizisi şekil 4.5. ve 4.6.'da sunulmuştur.



### Ekzon IIIa/7 DNA Dizisi



↳ kodlayıcı bölgenin okuma başlangıcını, ← kodlayıcı bölgenin okuma bitişini göstermektedir.

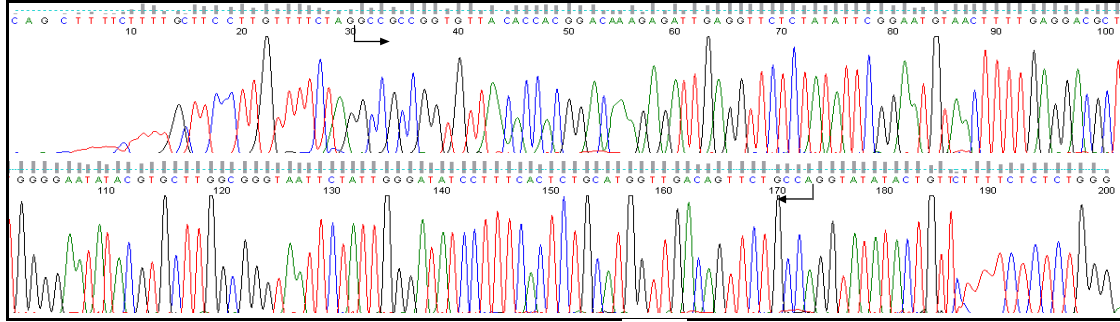
### Ekzon IIIa/7 mRNA Dizisi

(251)

```
cga ucg ccu cac cgg ccc auc cuc caa gcc gga cug ccg gca aau gcc ucc
R S P H R P I L Q A G L P A N A S
aca gug guc gga gga gac gua gag uuu guc ugc aag guu uac agu gau gcc
T V V G G D V E F V C K V Y S D A
cag ccc cac atc cag ugg auc aag cac gug gaa aag aac ggc agu aaa uac
Q P H I Q W I K H V E K N G S K Y
ggg ccc gac ggg cug ccc uac cuc aag guu cuc aag (313)
G P D G L P Y L K V L K
```

Şekil 4.5. *FGFR2* geninin IIIa/7 ekzonik bölgesinin DNA referans ve mRNA dizisi.

### Ekzon IIIc/9 DNA Dizisi



↳ kodlayıcı bölgenin okuma başlangıcını, ← kodlayıcı bölgenin okuma bitişini göstermektedir.

### Ekzon IIIc/9 mRNA Dizisi

(314)

```
gcc gcc ggu guu aac acc acg gac aaa gag auu gag guu cuc uau auu cgg
A A G V N T T D K E I E V L Y I R
aau gua acu uuu gag gac gcu ggg gaa uau acg ugc uug gcg ggu aau ucu
N V T F E D A G E Y T C L A G N S
auu ggg aua ucc uuu cac ucu gca ugg uug aca guu cug cca (361)
I G I S F H S A W L T V L P
```

Şekil 4.6. *FGFR2* geninin IIIc/9 ekzonik bölgesinin DNA referans ve mRNA dizisi .

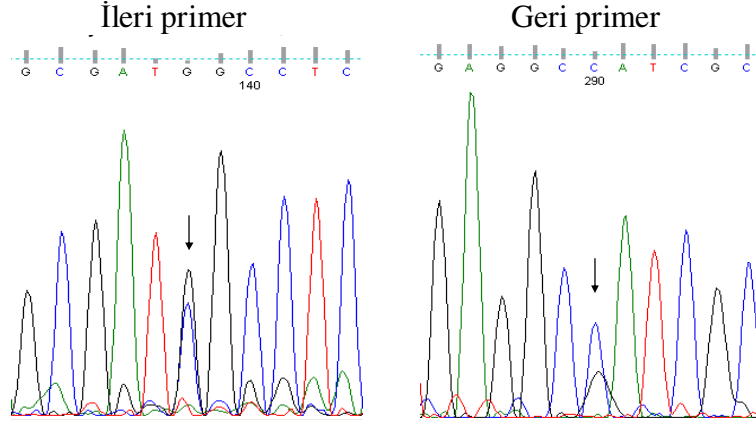
DNA dizi analizi sonucunda, çalışılan 40 kranyosinostozisli bireyden 17'sinde daha önce literatürde sunulmuş olan yanlış anlamlı mutasyonlar belirlenmiştir. Apert sendromlu 10 olgunun %90 (9/10)'unda mutasyonlar saptanmıştır. Bunlar, S252W (n=5) ve P253R (n=4) mutasyonlarıdır. Crouzon sendromlu 11 olgunun %54 (6/11)'ünde de mutasyonlar belirlenmiştir. Bu olgularda, C278F (n=1), Q289P (n=1), W290R (n=3) ve C342Y (n=1) mutasyonları saptanmıştır. Ayrıca Pfeiffer sendromlu olguların %67 (2/3)'ünde görülen mutasyonlar ise P253R (n=1) ve C342R (n=1) mutasyonlarıdır (Çizelge 4.5.). Diğer olgularda moleküler genetik analizi sonucunda *FGFR2* geninin IIIa ve IIIc bölgelerinde herhangi bir mutasyon belirlenmemiştir.

**Çizelge 4.5.** Kranyosinostozisli olguların *FGFR2* genine ait genotipleri.

OLGULAR	FGFR2gen bölgesi	Mutasyon (Eski Nomenklatür)	Mutasyon (Yeni Nomenklatür)	cDNAdaki lokalizasyon	Proteindeki Lokalizasyon
<b>Apert sendromlu olgular</b>					
2	Ekzon IIIa	S252W	p.Ser252Trp	c.755 C>G	IgII-III
4	Ekzon IIIa	S252W	p.Ser252Trp	c.755 C>G	IgII-III
5	Ekzon IIIa	S252W	p.Ser252Trp	c.755 C>G	IgII-III
7	Ekzon IIIa	S252W	p.Ser252Trp	c.755 C>G	IgII-III
10	Ekzon IIIa	S252W	p.Ser252Trp	c.755 C>G	IgII-III
1	Ekzon IIIa	P253R	p.Pro253Arg	c.758 C>G	IgII-III
3	Ekzon IIIa	P253R	p.Pro253Arg	c.758 C>G	IgII-III
6	Ekzon IIIa	P253R	p.Pro253Arg	c.758 C>G	IgII-III
9	Ekzon IIIa	P253R	p.Pro253Arg	c.758 C>G	IgII-III
<b>Crouzon sendromlu olgular</b>					
17	Ekzon IIIa	C278F	p.Cys278Phe	c.833 G>T	IgIII
16	Ekzon IIIa	Q289P	p.Gln289Pro	c.866 A>C	IgIII
12	Ekzon IIIa	W290R	p.Trp290Arg	c.868 G>C	IgIII
14	Ekzon IIIa	W290R	p.Trp290Arg	c.868 G>C	IgIII
15	Ekzon IIIa	W290R	p.Trp290Arg	c.868 G>C	IgIII
18	Ekzon IIIc	C342Y	p.Cys342Tyr	c.1025 G>A	IgIII
<b>Pfeiffer sendromlu olgular</b>					
25	Ekzon IIIa	P253R	p.Pro253Arg	c.758 C>G	IgII-III
24	Ekzon IIIc	C342R	p.Cys342Arg	c.1024 T>C	IgIII

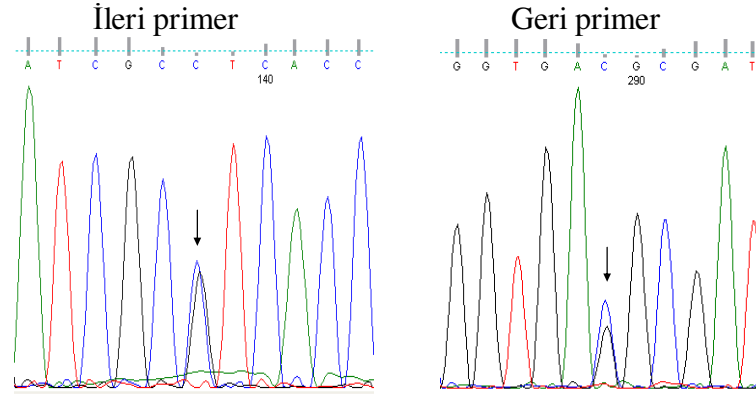
DNA dizi analiz çalışmaları sonucunda elde ettiğimiz verilere baktığımızda saptadığımız mutasyonların %88 (15/17)'i ekzon IIIa ve %12 (2/17)'si de ekzon IIIc bölgesinde bulunmaktadır. Bu mutasyonların tamamı yanlış anlamlı mutasyonlardır.

Apert sendromu tanısı almış 2,4,5,7 ve 10 nolu olgularda S252W mutasyonu belirlenmiştir. Bu yanlış anlamlı mutasyon, 755 pozisyonundaki sitozin nükleotidinin guanin nükleotidine transversiyonu ile oluşmuştur. Bu baz değişimi 252 pozisyonundaki serin aminoasidinin triptofan aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.7).



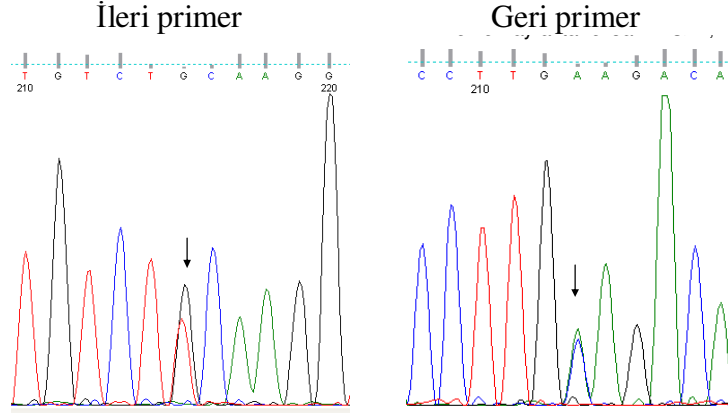
Şekil 4.7. S252W (755 C>G) mutasyonu.

Apert sendromu tanısı almış diğer 1,3,6,9 numaralı olgularda ve Pfeiffer sendromu tanısını almış 25 numaralı olguda belirlenen P253R mutasyonudur. P253R mutasyonu, ekzon IIIa bölgesinde 758 pozisyonundaki sitozin aminoasidinin guanin aminoasidine transversiyonu sonucunda meydana gelerek 253 pozisyonundaki prolin aminoasidinin arjinin amino asidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.8).



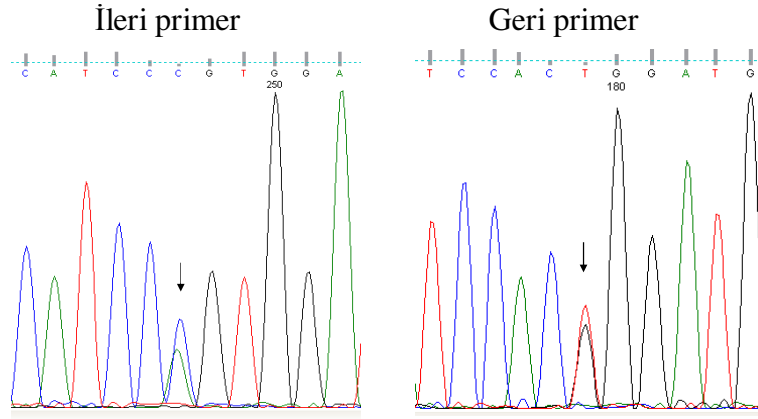
Şekil 4.8. P253R (758 C>G) mutasyonu.

Crouzon sendromlu olgularda C278R, Q289P, W290R ve C342R mutasyonları saptanmıştır. 17 numaralı olguda saptanan C278F mutasyonu ekzon IIIa bölgesinin 833 pozisyonundaki guanin nükleotidinin timin nükleotidine transversiyonu sonucunda meydana gelerek 278 pozisyonundaki sitozin aminoasidinin arjinin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.9).



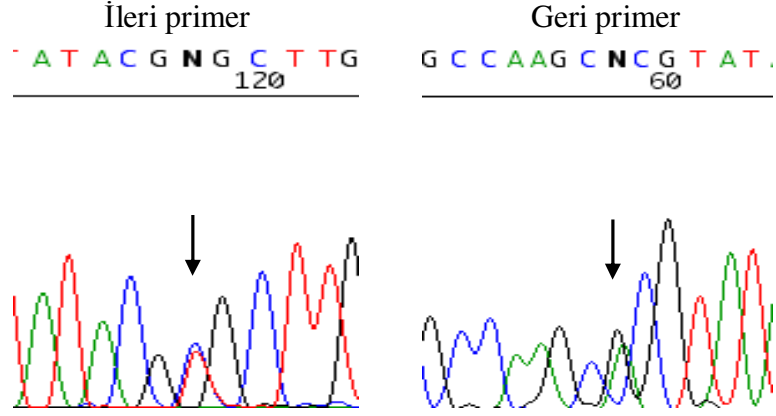
**Şekil 4.9.** C278F (833 G>T) mutasyonu.

Crouzon sendromu tanısı almış 16 numaralı olguda Q289P yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyon 866 pozisyonadaki adenin nükleotidinin sitozin nükleotidine transversiyonu sonucunda meydana gelerek 289 pozisyonadaki glutamin aminoasidinin prolin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.10).



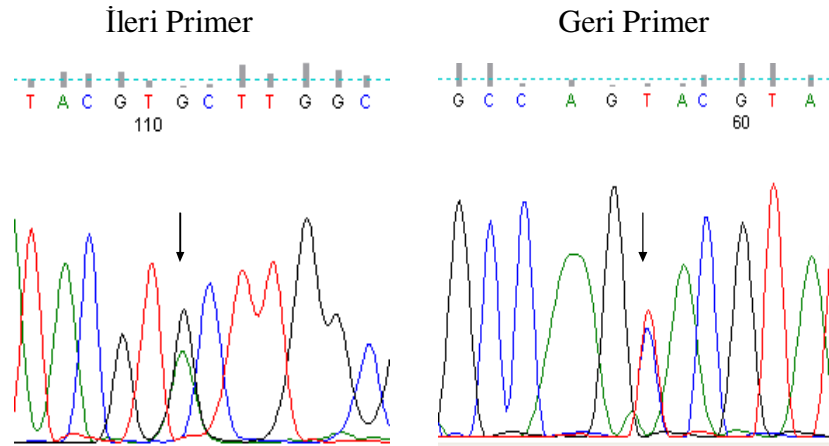
**Şekil 4.10.** Q289P (866 A>C) mutasyonu.

Pfeiffer sendromlu 24 numaralı olguda ise FGFR2 geninin ekzon IIIc bölgesinde C342R yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyon 1024 pozisyonadaki timin nükleotidinin sitozin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelerek 342 pozisyonadaki sistein aminoasidinin arjinin aminoasidine dönüşmesine neden olmaktadır (Şekil 4.11).



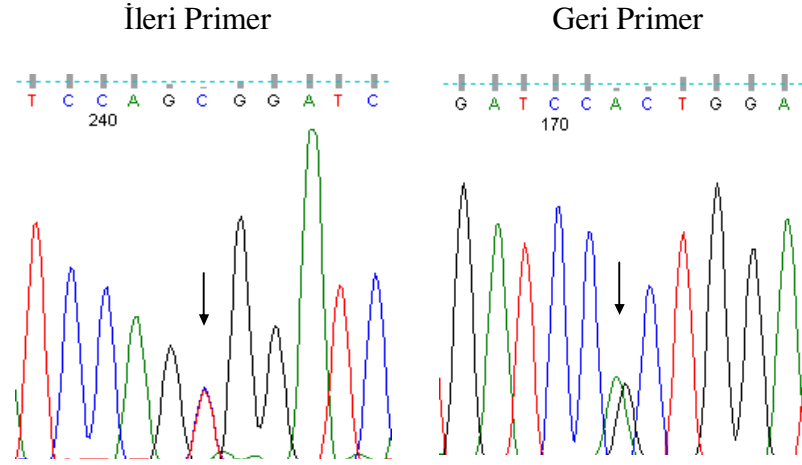
**Şekil 4.11.** C342R (1024 T>C) mutasyonu.

Crouzon sendromu tanısı almış 18 numaralı olguda Q289P yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyon 1025 pozisyonundaki guanin nükleotidinin adenin nükleotidine transversiyonu sonucunda meydana gelerek 342 pozisyonundaki sistein aminoasidinin tirozin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.12).



**Şekil 4.12.** C342Y (1025 G>A) mutasyonu.

Crouzon sendromu tanısı almış 12, 14 ve 15 numaralı olgularda W290R yanlış anlamlı mutasyonu belirlenmiştir. *FGFR2* geninin ekzon IIIa bölgesinde saptanan bu mutasyon, 868 pozisyonunda timin nükleotidinin sitozin nükleotidine transisyonu sonucunda 290 pozisyonundaki triptofan aminoasidinin arjinin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. W290R (868 T>C) mutasyonu.

### 4.3. Olguların Genotip-Fenotip İlişkisi.

Çalışmamızda saptadığımız mutasyonlara bakıldığında, olguların sahip oldukları klinik bulgular ile genotipik bulgular değerlendirildiğinde literatürle uyumlu sonuçların mevcut olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6.** Mutasyon saptanan olguların klinik ve moleküler genetik bulguları.

<b>OLGULAR</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>Oküler</b>									
Proptozis	-	-	-	+	+	+	-	-	+
Hipertelorizm	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Strabismus	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Sığ orbitler	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Diğer	-	-	-	-	-	-	+ I	-	?
<b>Kraniofasiyal</b>									
Kraniosinostozis	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	-	-	-	-	-	-	-	?	-
Brakisefali	-	-	-	-	-	+	-	+	+
Basık yüz	+	+	-	-	-	-	asimetrik yüz	-	+
Frontal çıkıklık	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Ön fontanel genişlemesi	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Hidrosefali	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Midfasiyal hipoplazi	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Displastik kulaklar	-	-	+	+	+	-	+	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armut biçimli burun yapısı	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Basık burunkökü	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Palatal abnormalite	+ F	+ A	-	-	-	+ A	-	+	+
<b>Ekstremiteler</b>									
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Radyohumeral sinostoz	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral kontraktür	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Geniş parmaklar	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Kamptodaktili	-	-	-	-	-	-	-	-	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<b>Diğer</b>									
Kalp defekti	+ G	+	-	-	-	-	-	-	ASD
Genital anomali	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MSS yapı abnormalitesi	+ H	-	-	-	+	?	?	-	-
Konvülzyon	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gelişme geriliği	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Erken ölüm	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<b>Sporadik</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	30	29	-	36	24	26	23	-	29
<b>Paternal yaş</b>	30	38	-	46	26	27	28	-	38
<b>Cinsiyet</b>	K	E	E	K	E	K	K	E	E
<b>Yaş</b>	5.5 ay	2.5 ay	15 gün	6 ay	3 ay	12 yaş	12 yaş	4 gün	1 ay
<b>FGFR2 gen analizi</b>	P253R	S252W	P253R	S252W	S252W	P253R	S252W	P253R	S252W
<b>Tam</b>	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS	AS

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; AS, Apert sendromu; A, Yüksek yerleşimli damak; F, Yarık uvula; G, Patent foramen ovale, H, Corpus callosum hipoplazisi; I, Ptozis; ASD, atriyal septal defekt

Çizelge 4.6. (Devam)

OLGULAR	12	14	15	16	17	18	24	25
<b>Oküler</b>								
Proptozis	+	+	+	+	+	+	+	+
Hipertelorizm	+	+	+	+	+	+	+	+
Strabismus	-	-	-	+	+	-	-	?
Şiş orbitler	+	+	+	-	-	+	-	-
Diğer	-	-	-	?	?		-	?
<b>Kranyofasiyal</b>								
Kranyosinostozis	+	+	+	+	+	+	+	+
Yonca yaprağı kafa şekli	-	-	-	-	-	-	-	+
Brakisefali	-	-	-	-	+	-	+	-
Basık yüz	-	-	-	-	-	-	-	-
Frontal çıkıklık	+	-	-	-	-	+	-	+
Ön fontanel genişlemesi	-	-	-	?	?	-	-	?
Hidrocefali	-	-	-	?	-	-	+	-
Midfasiyal hipoplazi	+	+	+	+	+	+	+	+
Displastik kulaklar	-	-	-	+	+	-	+	-
Dış kulak kanalı stenozu	-	-	-	-	-	-	-	-
Armut biçimli burun yapısı	+	+	+	-	-	+	-	-
Basık burunkökü	-	-	-	-	+	-	+	+
Palatal abnormalite	+ A	+ A	+ A	+	+	+ A	-	-
<b>Ekstremiteler</b>								
Çoklu eklem kontraktürü	-	-	-	-	-	-	+	-
Radyohumeral sinostoz	-	-	-	-	?	-	+	-
Femoral kontraktür	-	-	-	-	-	-	-	-
Femoral bowing	-	-	-	-	-	-	-	-
Sindaktili	-	-	-	+	-	+	-	+
Geniş parmaklar	-	-	-	+	-	-	+	+
Kamptodaktili	-	-	-	-	-	-	-	-
“Rocker bottom” ayak	-	-	-	-	-	-	-	-
Küçük yapı	-	-	-	-	+	-	-	-
<b>Diğer</b>								
Kalp defekti	-	-	-	-	mitral yet PDA	-	+	?
Genital anomali	-	-	-	-	-	+ E	-	-
MSS yapı abnormalitesi	-	-	-	-	-	-	-	-
Konvülzyon	-	+	+	-	-	-	-	?
Gelişme geriliği	-	-	-	-	-	-	-	?
Erken ölüm	-	-	-	-	-	-	-	BGD
<b>Sporadik</b>	S	Ailesel	Ailesel	S	S	S	S	S
<b>Ailesel</b>	-	I	Anne (olgu 14)	-	-	-	-	-
<b>Maternal yaş</b>	18	33	-	39	40	25	35	30
<b>Paternal yaş</b>	40	30	-	48	41	26	40	35
<b>Cinsiyet</b>	E	K	K	E	K	E	K	K
<b>Yaş</b>	2 yaş	10 yaş	33 yaş	8 yaş	12 yaş	4.5 ay	17 gün	24 gün
<b>FGFR2 gen analizi</b>	W290R	W290R	W290R	Q289P	C278F	C342Y	C342R	P253R
<b>Tam</b>	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	CROU	PFEI	PFEI

(+), mevcut; (-), bulgu yok; (?), bilinmiyor; S, sporadik; K, Dişi; E, Erkek; CROU, Crouzon sendromu; PFEI, Pfeiffer sendromu; A, Yüksek yerleşimli damak; E, Hipospadias; Mitral yet, mitral yetmezlik; PDA, patent duktus arteriozus; BGD, Beklenen ama Gerçekleşmemiş Düşük.



## TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Kranyofasiyal deformiteler arasında sayılan, bir veya birden fazla kranyal sütürün sinostozu ile oluşan kranyosinostozis, 1/2000 sıklıkla bütün ırklarda gözlenen en yaygın konjenital kranyofasiyal malformasyonlardan birisidir (18). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan istatistiklere göre her yıl 227.500 yenidoğanda (%7) kranyofasiyal deformitelerin saptandığı belirtilmektedir (69). Boulet SL ve ark. tarafından Atlanta'da 1989-2003 yılları arasında yapılan bir popülasyon çalışması (n=281) kranyosinostozisin etyolojisinin ve risk faktörlerinin belirlenmesi açısından oldukça bilgi verici olmuştur. Ayrıca bu çalışmada, tüm kranyosinostozis tanısı almış olguların %7'sinde çoklu defektler belirlenmiştir. Çoklu defektlere sahip olguların %38'i merkezi sinir sistemi abnormalitelerine, %19'u kardiovasküler ve aynı oranda da kas ve iskelet abnormalitelerine sahip olduğu belirlenen olgulardır (70). Batı Avustralya'da 1980-1994 yılları arasında yapılan popülasyon bazlı bir çalışmada (n=170) kranyosinostozis tanısı almış olgular değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede, parental yaş, gebelik haftası, cinsiyet, doğum ağırlığı gibi veriler ile verilen kranyosinostozis tanısı arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır (76). Kranyosinostozis ile ilişkili yapılmış olan popülasyon temelli çalışmalara göre kranyosinostozis tanısı almış olguların %85'i sınıflandırılmamış kranyosinostozis tanılı olgulardır (16). Ülkemizde ise bu konu hakkında herhangi bir popülasyona özgü istatistiksel veri mevcut değildir. Ancak, çalışmamızda değerlendirmeye almış olduğumuz 40 olgunun klinik özelliklerine baktığımızda olgularımızın %25'inde kalp defektleri ve %22.5'inde de merkezi sinir sistemi abnormaliteleri saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında kranyosinostozisin genetik açıdan oldukça heterojen olduğu da göz önüne alınırsa etyolojinin kesinlik kazanmasında popülasyon bazlı çalışmalar oldukça önem kazanmaktadır.

Kranyosinostozisin etyolojisini, patogenezi ve prognozunu tam olarak belirleyebilmek oldukça güçtür. Dolayısıyla, klinik merkezler arasındaki kollaborasyon çalışmaları ön plana çıkmaktadır. Bu çalışmalarda, probandların karakterizasyonunda klinik merkezler tarafından belirlenen klinik değerlendirmenin standardizasyonu önem kazanmaktadır. Çünkü sendromik ve sendromik olmayan kranyosinostotik olgularda klinik veriler açısından örtüşmeler olabilmektedir. Ayrıca, düzenli olarak hasta kayıtlarının yapılmaması da bu tip çalışmaları güçleştirmektedir. Bu nedenle, ortak klinik değerlendirme açısından tez çalışmamızda Ek-1'de sunmuş olduğumuz formlar klinik merkezler aracılığıyla topladığımız tüm olgular için kullanılmıştır.

Günümüze kadar yapılan çalışmalar, kranyosinostozis ile ilişkili olarak 180'den fazla kranyosinostotik sendromun olduğu belirlenmiştir. Yaygın olarak görülen ve iyi tanımlanan kranyosinostotik sendromların *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *TWIST1* ve *MSX2* genlerindeki mutasyonlar ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yaygın olarak görülen Apert, Crouzon, Pfeiffer sendromu tanısı almış olgularda saptanan

mutasyonlar *FGFR2* geninde yoğunlaşmaktadır (18). *FGFR2* mutasyonları, tüm kranyosinostozisli olguların %9.8'inde tanımlanmıştır (19). Literatüre göre, Apert sendromlu olguların %98'inde, Crouzon sendromlu olguların %50'sinde ve Pfeiffer sendromlu %67'sinde *FGFR2* geninde mutasyonlar saptanmıştır (18). Çalışmamızda gerçekleştirdiğimiz mutasyon analizi sonuçlarına göre ise Apert sendromlu olguların %90'ında, Crouzon sendromlu olguların %54.5'inde ve Pfeiffer sendromlu olguların %66.6'sında *FGFR2* geninde mutasyonlar saptadık ve literatür ile uyumlu olduğunu belirledik. Bu mutasyonlar, *FGFR2* geninin hot spot bölgeleri olan ekzon IIIa ve IIIc bölgelerinde saptanan yanlış anlamlı mutasyonlardır (21). Dolayısı ile kranyosinostozisli olguların genetik değerlendirilmesi ile ilgili yapılan çalışmalarda *FGFR2* geninin ekzon IIIa ve IIIc bölgelerine öncelik verilmesi anlamlı olmaktadır.

Bugüne değin yapılan çalışmalarda, kranyosinozotik olguların %4.5'lük kısmını Apert sendromlu olguların oluşturduğu belirlenmiştir (52). Literatürde Apert sendromu genellikle kranyosinostozis, midfasiyal hipoplazi ve sindaktili ile ilişkili olarak tanımlanmaktadır. Bu olgularda gerçekleştirdiğimiz moleküler genetik çalışmalar sonucunda S252W (5/10) mutasyonunu saptadık. Literatürde bu mutasyon Apert sendromlu olguların %65'inde saptanmıştır (38, 41). S252W mutasyonu ile ilgili yapılan araştırmalar bu mutasyonun osteojenik yolağa giren öncü hücrelerin artışına neden olduğu belirlenmiştir. Bunun sonucunda kalvaryal yapıdaki abnormalitenin yanı sıra ayrıca ekstremitelerde abnormalitelerinin de geliştiği belirlenmiştir (46). S252W mutasyonunu saptadığımız Apert sendromlu olgulara baktığımızda kranyofasiyal deformitelerin yanı sıra sindaktili ve 5 ile 10 nolu olgular hariç hepsinde geniş parmaklar gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Olgularımızda, kranyofasiyal deformitelerle birlikte aynı oranda sindaktili de mevcuttur. Ayrıca, proptozis, hipertelorizm, strabismus ve sığ orbitler gibi orbital bulgulara da rastlanmaktadır. Olgularımızın klinik bulguları literatür ile uyumludur. Buna ek olarak, S252W mutasyonu ile ilişkili olduğu bilinen sistemik malformasyonlar da mevcuttur. Klinik inceleme sonucunda, 2 nolu olguda kalp defekti ve 5 nolu olguda da merkezi sinir sistem abnormalitesi tespit edilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda, Apert sendromu ile ilişkili yapılan değerlendirmelerde, farklı klinik bulguların belirlenmesi açısından spesifik gen mutasyonlarının yanı sıra ekstraselüler matriks ve sitokinlerin spektrumunun da oldukça önemli olduğu anlaşılmaktadır.

Apert sendromlu olgularda belirlediğimiz bir diğer mutasyon da P253R mutasyonudur. Genel popülasyonda bu mutasyonun oranı yaklaşık %34 olarak belirlenmiştir (38). Günümüze değin, Apert sendromlu olgularda yapılan moleküler genetik araştırmalar, P253R mutasyonu sindaktili ve zeka geriliği ile de ilişkilendirilmiştir (39). Fakat bu mutasyonu belirlediğimiz 4 olgudan birinde (6. olgu) hiçbir ekstremitelerde abnormalitesi gözlenmemiştir, sadece kranyofasiyal ve proptozis, hipertelorizm, strabismus ve sığ orbitler gibi orbital bulgular mevcuttur. Bunun yanı sıra, olgularımızın zeka değerlendirmeleri yapılmamış olması nedeniyle bu konuda herhangi bir değerlendirme yapamamaktayız. P253R mutasyonunu belirlediğimiz Apert sendromlu olgulardan sadece 1 nolu olguda kalp ve merkezi sinir sistemi abnormalitesi mevcuttur. Ayrıca, "rocker bottom" ayak ve beraberinde küçük yapı bulgusu da sadece 3 nolu olguda belirlenmiştir. Bu olguda kranyofasiyal deformitelere ek olarak orbital bulgular saptanmamıştır. Tüm P253R mutasyonu

saptadığımız olgularımızın genel klinik bulguları değerlendirildiğinde sonuçların genotip ve fenotip korelasyonu bakımından literatür ile uyumlu olduğu söylenebilir. Bu bilgilere ek olarak, araştırmamızda P253R mutasyonunun saptadığımız 1 nolu olguda radyohumeral sinostoz bulgusu mevcuttur. Literatürde 2003 yılında Apert sendrom tanılı Japon bir hastada bu bulgu S252W mutasyonu ile ilişkili olarak saptanmıştır (71). Ancak, bu nadir saptanan radyohumeral sinostoz klinik bulgusunun *FGFR2* mutasyonları ile ilişkisi bilinmemektedir.

Apert sendromlu olgularda %99 oranında saptanan S252W (%65) ve P253R (%34) mutasyonları arasında klinik bulgularımıza göre anlamlı bir fark görememekteyiz. S252W ve P253R mutasyonlarının oranları ile genotip-fenotip korelasyonlarının belirlenmesi ve bu iki mutasyonun fenotipe etkisini bakımından farklarının daha da iyi anlaşılması için sendromlara özgü klinik bulguların standardizasyonu ve daha çok olgunun değerlendirilmesi gerekmektedir. Apert sendromlu olgularda S252W ve P253R mutasyonları sıklıkla saptanmasına rağmen çalışma kapsamında aldığımız Apert sendrom tanılı 8 nolu olguda herhangi bir mutasyon belirlemedik. Olguların klinik bulguları arasında örtüşmeler olabileceği düşünülürse mutasyon saptamadığımız bu olgunun klinik açıdan ayrıntılı olarak tekrar değerlendirilmesinin yararlı olacağı inancındayız.

P253R mutasyonunu saptadığımız bir diğer olgu, Pfeiffer sendromu tanısı almış 25 nolu olgudur. Bu olguda proptozis, hipertelorizm, kranyosinostozise ek olarak, yonca yaprağı kafa şekli, frontal çıkıklık, midfasial hipoplazi, basık burun kökü gibi kranyofasial bulguları, sindaktili ve geniş parmak bulguları da mevcuttur. Pfeiffer sendromu tanısı açısından yonca yaprağı kafa şekli bulgusu oldukça belirleyici olmaktadır. Ancak olgumuzda, dirseklerde ankilozis bulgusu yoktur. Bu klinik bulgulara göre, 25 nolu olgumuz yaygın olarak görülen klasik Pfeiffer fenotipini (tip 1) gösterdiği söylenebilir. Literatürde P253R mutasyonu genellikle Apert sendromu ile ilişkilendirilmektedir. Pfeiffer sendromu ile ilişkili olarak ise bu mutasyona çok nadir olarak rastlanılmaktadır. Genotipini belirlediğimiz bu olgumuzun beklenen ama gecikmiş düşük olduğu da göz önüne alınırsa klinik değerlendirmenin yanı sıra moleküler genetik çalışmaların yapılmasının önemi ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile prenatal tanı ve aileye verilecek olan genetik danışma açısından gerçekleştirdiğimiz çalışma oldukça belirleyici olmaktadır.

Çalışma kapsamına aldığımız olgulardan Pfeiffer sendromu tanısı almış 24 nolu olguda yanlış anlamlı mutasyon olan C342R mutasyonunu saptadık. Bu mutasyon da C342Y mutasyonu gibi hem Crouzon hem de Pfeiffer sendromu ile ilişkilendirilmiştir. Bu mutasyon diğer 342 pozisyondaki sistein mutasyonlarına benzer etki göstererek çeşitli fenotipik karakterlerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu mutasyonu belirlediğimiz olguda proptozis, hipertelorizm, brakisefali, midfasial hipoplazi, hidrosefali, displastik kulaklar ve basık burun kökü gibi kraniyofasial bulgular mevcuttur. Ayrıca çoklu eklem kontraktürü, radyohumeral sinostoz, geniş parmaklar ve kalp defekti gibi Pfeiffer sendromu ile uyumlu bulgular gözlenmiştir. Sıklıkla saptanan 342 sistein mutasyonlarının genotip-fenotip ilişkisinin belirlenmesi açısından daha fazla olgunun değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Birçok mutasyonun spesifik kranyosinostotik sendromlar ile ilişkilendirilmemesi klinisyenlerin ve

moleküler genetik uzmanlarının ortak çalışmasının önemini ortaya koymaktadır. Ayrıca ortak çalışmaların yapılması, ailelere doğru genetik danışmanın verilmesi açısından önemlidir.

Crouzon sendromu, kraniosinostotik sendromlar arasında yer alan ve prevalansı 16.5/1000.000 olduğu belirlenen yaygın konjenital bir malformasyondur (16). Çalışma kapsamına aldığımız Crouzon sendromu tanısı almış 11 olgunun 6'sında mutasyon saptadık. Bu olgularda genellikle ligand bağımsız mutasyonlar görülmektedir. Çalışmamızda, bu mutasyonlardan biri olan C278F mutasyonunu 17 nolu olguda saptadık. Sistein aminoasidinin kaybına neden olan bu mutasyonun, FGFR2'nin glikolizasyonu üzerinde azaltıcı etkisinin olduğu ve reseptörün fonksiyon kazanımını sağladığı araştırmalarca ortaya konmuştur (30). Yapılan çalışmalar doğrultusunda, C278F mutasyonunun Crouzon sendromunun yanı sıra Pfeiffer ve Jackson-Weiss sendromları ile de ilişkili olduğu bilinmektedir. Ancak çalışmamızda bu mutasyonu sadece Crouzon tanısı almış bir olguda saptadık. C278F mutasyonu belirlenen 17 nolu olguda proptozis, hipertelorizm, strabismus gibi orbital bulgular, kranyofasiyal bulgular ve ayrıca kalp defekti bulgusu mevcuttur. Ancak, bu olguda ekstremitte abnormaliteleri mevcut değildir. Literatür bulguları göz önüne alındığında belirlediğimiz bu mutasyon, Crouzon fenotipi ile uyumludur. Crouzon sendromlu olguların tanısı açısından bu mutasyonun belirlenmesi oldukça yararlı olmaktadır. Daha fazla olgunun değerlendirilmesi ile C278F mutasyonunun ilişkili olabileceği diğer sendromlar da belirlenerek mutasyon dağılımının açığa kavuşması prenatal tanı ve genetik danışma açısından da oldukça önemli olacaktır.

Crouzon sendromu ile ilişkili olarak 16 nolu olguda saptadığımız bir diğer mutasyon da Q289P mutasyonudur. Literatürde, Q289P mutasyonu Saethre-Chotzen, Jackson-Weiss ve Crouzon sendromları ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (72). Bu mutasyonu belirlediğimiz 16 nolu olguda proptozis, hipertelorizm, strabismus, palatal abnormalite, midfasiyal hipoplazi ve sindaktili gibi Crouzon fenotipi ile uyumlu bulgular mevcuttur. Q289P mutasyonunun etkilerinin araştırılması ve fenotipik özellikler ile korelasyonunun netlik kazanması için daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Crouzon sendromlu olgularda gerçekleştirdiğimiz moleküler genetik analizler sonucunda 3 olguda (12, 14, 15 nolu olgular) W290R mutasyonunu saptadık. Çalışmamızda W290R mutasyonunu sadece Crouzon sendromlu olgularda belirledik. Bu mutasyonu belirlediğimiz 12 nolu olgu sporadik diğerleri aileseldir. Bu olgularda, kraniosinostozisle beraber proptozis, hipertelorizm ve sığ orbitler gibi orbital bulgular mevcuttur. Ayrıca midfasiyal hipoplazi, armut biçiminde burun yapısı ve palatal abnormalite gibi benzer bulgular da belirlenmiştir. Ailesel olguların konvülzyon bulgusu dışında bu mutasyonun belirlendiği tüm olgular benzer fenotipe ve klinik bulgulara sahiptir. Bu veriler, mutasyonun benzer fenotipik yansımalarının değerlendirilmesi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca dominant kalıtım gösteren sendromik kraniosinostozisin ailesel olgularda değerlendirilmesi ve genetik danışma açısından ailelerin bu konuda bilinçlendirilmesi bakımından da çalışmamız önem kazanmaktadır.

Sistein amino asidi içermeyen Q289, W290 ve T341 amino asitlerinin mutasyonları ve sistein aminoasidini içeren C278 ve C342 aminoasitlerindeki mutasyonlar, reseptör dimerizasyonu ve tirozinkinaz domayninin aktivasyonu üzerinde benzer etkiler göstermektedir (73). Bunun nedeni, FGFR2'nin tersiyer yapısında bu aminoasitlerin lokalizasyon açısından yakın olması olarak açıklanabilir. Çünkü disülfid bağlarının yanındaki aminoasitlerde, yan zincirlerin değişimi ile reseptörün intramoleküler bağlanmaları engellenmektedir. Dolayısı ile reseptörün fonksiyon kazanımı gerçekleşmektedir. Literatürde bu genetik değişimler, Crouzon ve Pfeiffer sendromları ile ilişkilendirilmiştir.

Crouzon sendromlu 18 nolu olguda saptadığımız bir diğer mutasyon da sıklıkla gözlenen ve ayrıca Pfeiffer sendromu ile de ilişkilendirilen C342Y mutasyonudur. C342Y mutasyonunu belirlediğimiz Crouzon sendromlu olguda, proptozis, hipertelorizm ve siğ orbitler gibi orbital bulgular, kranyosinostozis, frontal çıkıklık, midfasiyal hipoplazi, armut biçiminde burun ve palatal abnormalite gibi kranyofasiyal bulgular belirlenmiştir. Ayrıca sindaktili gibi klasik Crouzon fenotipi ile uyumlu bulgular gözlenmiştir. Bu bulgulara ek olarak ayrıca genital anormali de mevcuttur. Bu mutasyonla ilgili olarak yapılan hayvan modellerinde, heterozigot mutant farelerde kısa yüz yapısı, çıkıntılı göz ve prematür sütür füzyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (74). Homozigot genotipli mutant farelerde ise yine çoklu sütür füzyonu ayrıca yarık damak bulgusu, trake ve akciğer defektleri ve doğumdan sonra kısa süre içinde ölüm görülmektedir (74). Kranyosinostozis tanısı almış olguların klinik değerlendirilmesinde ve sınıflandırılmasında fenotipik özellikler oldukça belirleyicidir. Ancak bazı sendromik olguların klinik bulgularının örtüşmesi klinisyenleri sınıflandırma konusunda zorlamaktadır. Saptanan bazı mutasyonların özgül fenotipik özellikler ile karakterize edilmesi de oldukça zordur. Dolayısıyla fenotipik heterojenite, aynı mutasyonun farklı sendromlar ile ilişkilendirilmesine neden olmaktadır. C342Y mutasyonu da fenotipik özelliklerdeki heterojenite nedeniyle hem Crouzon sendromu hem de Pfeiffer sendromu ile karakterize edilmektedir.

Yapılan moleküler genetik araştırmalarda, *FGFR2* geni ile ilişkili olarak sadece sendromik değil sınıflandırılmayan kranyosinostotik olgularda da mutasyonlar saptanmaktadır (18). Literatürde, *FGFR2* ilişkili sınıflandırılmayan kranyosinostozis olguları, *FGFR2* geninde saptanan mutasyonlar ile ilişkilendirilmiştir. Ancak, çalışmamızda sınıflandırılmayan kranyosinostotik olgularda *FGFR2* geninde ekzon IIIa/7 ve IIIc/9 bölgelerinde herhangi bir mutasyon belirlemedik. Bu genin ekzon 5, 10, 12, 15 gibi diğer bölgelerinin de analiz edilmesi ile birlikte *FGFR2* ilişkili kranyosinostozis olgularının genetik değerlendirilmesi yapılmalıdır.

Kranyosinostotik olgulara verilen klinik tanının doğrulanması amacıyla moleküler genetik analizlerin yapılması genetik danışma açısından oldukça önem kazanmaktadır. Ayrıca, genetik analizlerin yanı sıra kranyosinostozisin risk faktörlerinin de değerlendirilmiş olması yararlı olmaktadır. Çünkü genetik etkilerin yanında çevresel etkiler de bu malformasyonun oluşumunu belirlemektedir. Örneğin, annenin gebelik döneminde sigara içiminin kranyosinostozis riski ile ilişkili olduğu

bilinmektedir (70). Ayrıca, parental yaşın ilerlemesine bağlı olarak kraniosinostozis riskinin de arttığı araştırmalarca tespit edilmiştir (70, 76). Bu bilgiler ışığında kraniosinostozis etyolojisinin belirlenmesinde sigara içimi, parental yaş ve çevresel koşullar gibi parametrelerin de göz önüne alınması önem arz etmektedir.

Genetik danışma açısından, klinik değerlendirme, moleküler genetik analiz bulguları, risk faktörleri ve aile hikayesi oldukça belirleyicidir. Günümüzde yapılan genetik araştırmalar sonucunda kraniosinostozis ile ilişkili olarak saptanan de novo mutasyonların gün geçtikçe arttığı düşünülürse hastalıkla ilişkili olarak moleküler genetik tarama stratejisinin doğru tanımlanması önem kazanmaktadır. Bu konuda spesifik rutin ve araştırma amaçlı yayınlar mevcuttur (21, 77). Genetik çalışmalarda, özellikle sendromik olan olgularda, mutasyon oranının daha sık belirlendiği *FGFR2* geninin öncelikli olarak değerlendirilmesi, tanının kesinleşmesi, zaman ve finansal harcamalar açısından anlamlı olmaktadır. Genetik stratejisi açısından bakıldığında, mutasyon saptamadığımız Crouzon sendromlu olgularda *FGFR3* genine yönelik genetik çalışmaların öncelikli olarak yapılması yararlı olacaktır. *FGFR2* geninde mutasyon saptanmayan Pfeiffer sendromlu olgularda ise *FGFR3* geninin genetik analizi ile birlikte *FGFR1* geninin analizi de önemlidir. Çünkü literatürde, *FGFR1* geninde saptanan mutasyonlar Pfeiffer sendrom tip 1'e özgü olarak %67 oranında belirlendiği bilinmektedir (20). Mutasyon saptamadığımız sınıflandırılmayan kraniosinostozis tanısı almış olgularda ise öncelikle *FGFR3* genine yönelik genetik çalışmaların yapılması ve daha sonraki aşamada *FGFR1* ve *TWIST* genlerine yönelik genetik çalışmaların gerçekleştirilmesi anlamlı olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Slater BJ., Lenton KA., Kwan MD., Gupta DM., Wan DC., Longaker MT. *Cranial sutures: A brief review*. *Plast. Reconstr. Surg.* 2008.**121**:170e-178e.
2. Cohen MM. *Etiopathogenesis of craniosynostosis*. *Neurosurg Clin. N. Am.*1991.**2**(3):507-513.
3. Walker MB, Trainor PA. *Craniofacial malformations: intrinsic vs extrinsic neural crest cell defects in Treacher Collins and 22q11 deletion syndromes*. *Clin Genet.* 2006 Jun.**69**(6):471-9.
4. *Principles and practice of medical genetics*. Volume 1. 1990.
5. [http:// www.stlouischildrens.org/tabid/88/itemid/1407/Overview-of-Craniofacial-Anomalies.aspx](http://www.stlouischildrens.org/tabid/88/itemid/1407/Overview-of-Craniofacial-Anomalies.aspx)
6. Kotrikova B, Krempien R, Freier K, and Mühling J. *Diagnostic imaging in the management of craniosynostoses*. *Eur Radiol.* 2007.**17**:1968–1978.
7. Orphanet ancylopedia.*Craniosynostosis* (Generic Term) 2004.
8. Hehr U and Muenke M. *Craniosynostosis Syndromes: From Genes to Premature Fusion of Skull Bones*. *Mol. Genet. and Met.* 1999.**68**:139–151.
9. David M. Ornitz and Marie JP. *FGF signaling pathways in endochondral and intramembranous bone development and human genetic disease*. *Genes & Dev.* 2002.**16**:1446-1465.
10. Cohen MM Jr. *Editorial: Perspectives on Craniosynostosis*. *Am.J. Genet. A.* 2005.**136**(4):313-326.
11. Richman JM. *Craniofacial genetics makes headway*. *Curr. Biol.* 1995.5:4.
12. <http://www.chsd.org/body.cfm?id=555752>

13. Lajeunie E, Le Merrer M, Bonatti-Pellie C, Marchac D, Renier D. *Genetic study of scaphocephaly*. Am J Med Genet 1986.**62**:282–285.
14. Seto ML, Hing AV, Chang J, Hu M, Kapp-Simon KA, Patel PK, Burton BK, Kane AA, Smyth MD, Hopper R, Ellenbogen RG, Stevenson K, Speltz ML, and Cunningham ML. *Isolated Sagittal and Coronal Craniosynostosis Associated With TWIST Box Mutations*. Am. J. Med. Genet. Part A 2007.**143A**:678–686.
15. Anderson PJ, Cox TC, Smithers L, David DJ, Powell B. *Somatic FGFR and TWIST Mutations are not a Common Cause of Isolated Nonsyndromic Single Suture Craniosynostosis*. The Journal of Craniofacial Surgery. 2007.**18**:312-314.
16. Boyadjiev S.A. *Genetic analysis of non-syndromic craniosynostosis*. Orthod Craniofacial Res 2007.**10**:129–137.
17. Kabbani H and Raghuveer TS. Craniosynostosis. American Family Physician. 2004.**69**:2863-2870.
18. Kimonis V., Gold J.A., Hoffman T.L., Panchal J., Boyadjiev S.A. *Genetics of Craniosynostosis*. Semin Pediatr Neurol. 2007.**14**:150-161.
19. Kan, S.; Elanko, N.; Johnson, D.; Cornejo-Roldan, L.; Cook, J.; Reich, E. W.; Tomkins, S.; Verloes, A.; Twigg, S. R. F.; Rannan-Eliya, S.; McDonald-McGinn, D. M.; Zackai, E. H.; Wall, S. A.; Muenke, M.; Wilkie, A. O. M. *Genomic screening of fibroblast growth-factor receptor 2 reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis*. Am. J. Hum. Genet.2002.**70**:472-486. Note: Erratum: Am. J. Hum. Genet. 2002.71: 1258 only.
20. [www.genetest.org](http://www.genetest.org)
21. Stenirri S., Restagni G., Ferrero G.B., Alaimo G., Sbaiz L., Mari C., Genitori L., Maurizio F., Cremonesi L. *Integrated strategy for fast and Automated Molecular Characterization of Genes Involved in Craniosynostosis*. Clin Chem. 2007.**53**;10:1767-1774.
22. Shotelersuk V, Mahatumarat C, Ittiwut C, Rojvachiranonda N, Srivuthana S, Wacharasindhu S, Tongkobpetch S. *FGFR2 Mutations among Thai Children with Crouzon and Apert Syndromes*. J Craniofac. Surg. 2003.**14**:101-104.



23. Yeh, B. K.; Igarashi, M.; Eliseenkova, A. V.; Plotnikov, A. N.; Sher, I.; Ron, D.; Aaronson, S. A.; Mohammadi, M. *Structural basis by which alternative splicing confers specificity in fibroblast growth factor receptors*. Proc. Nat. Acad. Sci. 2003.**100**:2266-2271.
24. Mohammadi M, Olsen SK, Ibrahimi OA. *Structural basis for fibroblast growth factor receptor activation*. Cytokine Growth Factor Rev. 2005.**16**(2):107-37.
25. Faham S, Hileman RE, Fromm JR, Linhardt RJ, and Rees DC. *Heparin structure and interactions with basic fibroblast growth factor*. Science. 1996.**271**:1116-1120.
26. Partanen J, Schwartz L, and Rossant J. *Opposite phenotypes of hypomorphic and Y766 phosphorylation site mutations reveal a function for Fgfr1 in anteroposterior patterning of Mouse embryos*. Genes Dev. 1998.**12**:2332-2344.
27. Plotnikov, A. N.; Hubbard, S. R.; Schlessinger, J.; Mohammadi, M. *Crystal structures of two FGF-FGFR complexes reveal the determinants of ligand-receptor specificity*. Cell 2000.**101**:413-424.
28. Pellegrini, L.; Burke, D. F.; von Delft, F.; Mulloy, B.; Blundell, T. L. *Crystal structure of fibroblast growth factor receptor ectodomain bound to ligand and heparin*. Nature 2000.**407**:1029-1034.
29. Anderson J, Burns HD, Enriquez-Harris P, Wilkie AO, Heath JK: *Apert syndrome mutations in fibroblast growth factor receptor 2 exhibit increased affinity for FGF ligand*. Hum Mol Genet 1998.**7**:1475–1483
30. Hatch NE, Hudson M, Seto ML, Cunningham ML, Bothwell M. *Intracellular retention, degradation, and signaling of glycosylation-deficient FGFR2 and craniosynostosis syndrome-associated FGFR2C278F*. J Biol Chem. 2006.**15**;281(37):27292-305.
31. Moore, K. B.; Mood, K.; Daar, I. O.; Moody, S. A. *Morphogenetic movements underlying eye field formation require interactions between the FGF and ephrinB1 signaling pathways*. Dev. Cell. 2004.**6**:55-67.
32. Cornejo-Roldan LR, Roessler E, Muenke M: *Analysis of the mutational spectrum of the FGFR2 gene in Pfeiffer syndrome*. Hum Genet 1999.**104**:425–431.
33. Cunningham ML, Seto ML, Ratisoontorn C, Heike CL, Hing AV. *Syndromic craniosynostosis: from history to hydrogen bonds*. Orthod Craniofac Res. 2007.**10**(2):67-81.

34. Ibrahimi OA, Zhang F, Eliseenkova AV, Itoh N, Linhardt RJ and Mohammadi M. *Biochemical analysis of pathogenic ligand-dependent FGFR2 mutations suggests distinct pathophysiological mechanisms for craniofacial and limb abnormalities*. H. Mol. Genet. 2004.**13**(19):2313–2324.
35. Arman, E., Haffner-Krausz, R., Gorivodsky, M., and Lonai, P. *Fgfr2 is required for limb outgrowth and lung-branching morphogenesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1999;**96**:11895–11899.
36. Wilkie AO. *Craniosynostosis: Genes and mechanisms*. Hum Mol Genet 1997.**6**:1647–1656.
37. Ferreira JC, Carter SM, Bernstein PS, Jabs EW, Glickstein JS, Marion RW, Baergen RN, Gross SJ. *Second-trimester molecular prenatal diagnosis of sporadic Apert syndrome following suspicious ultrasound findings*. Ultrasound Obstet Gynecol 1999.**14**:426-30
38. Park WJ, Theda C, Maestri NE, Meyers GA, Fryburg JS, Dufresne C, Cohen MM, Jr, Jabs EW. *Analysis of phenotypic features and FGFR2 mutations in Apert syndrome*. Am J Hum Genet 1995.**57**(2):321-328
39. Lajeunie E, Cameron R, El Ghouzzi V, de Parseval N, Journeau P, Gonzales M, Delezoide AL, Bonaventure J, Le Merrer M, Renier D. *Clinical variability in patients with Apert's syndrome*. J Neurosurg 1999.**90**:443-7
40. Park, W.-J.; Meyers, G. A.; Li, X.; Theda, C.; Day, D.; Orlow, S. J.; Jones, M. C.; Jabs, E. W. *Novel FGFR2 mutations in Crouzon and Jackson-Weiss syndromes show allelic heterogeneity and phenotypic variability*. Hum. Molec. Genet. 1995.**4**:1229-1233.
41. Tanimoto Y., Yokozeki M., Hiura K., Matsumoto K., Nakanishi H., Matsumoto T., Marie P.J., Moriyama K. *A soluble form of fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) with S252W mutation acts as an efficient inhibitor for the enhanced osteoblastic differentiation caused by FGFR2 activation in Apert syndrome*. J Biol Chem. 2004 Oct 29;**279**(44):45926-34.
42. Yu K., Herr A. B., Waksman G., Ornitz D. M. *Loss of fibroblast growth factor receptor 2 ligand-binding specificity in Apert syndrome*. Proc. Nat. Acad. Sci. 2000.**97**:14536-14541.

43. McDowell LM, Frazier BA, Studelska DR, Giljum K, Chen J, Liu J, Yu K, Ornitz DM, Zhang L. *Inhibition or activation of Apert syndrome FGFR2 (S252W) signaling by specific glycosaminoglycans*. J Biol Chem. 2006 Mar. 17;**281**(11):6924-30.
44. Munro C. S., Wilkie, A. O. M. *Epidermal mosaicism producing localised acne: somatic mutation in FGFR2*. Lancet 1998.**352**:704-705.
45. Mantilla-Capacho J., M. Arnaud, L., Diaz-Rodriguez M., Barros-Nunez P. *Apert syndrome with preaxial polydactyly showing the typical mutation ser252trp in the FGFR2 gene*. Genet. Counsel. 2005.**16**:403-406.
46. Carinci F, Pezzetti F, Locci P, Becchetti E, Carls F, Avantaggiato A, Becchetti A, Carinci P, Baroni T, Bodo M. *Clinical Notes Apert and Crouzon Syndromes: Clinical Findings, Genes and Extracellular matrix*. J Craniofac Surg. 2005 May.**16**(3):361-8.
47. Wilkie A. O. M., Slaney S. F., Oldridge M., Poole M. D., Ashworth G. J., Hockley A. D., Hayward R. D., David D. J., Pulleyn L. J., Rutland P., Malcolm S., Winter R. M, Reardon W. *Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome*. Nature Genet. 1995.**9**:165-172.
48. Patton, M. A.; Goodship, J.; Hayward, R.; Lansdown, R. *Intellectual development in Apert's syndrome: a long term follow up of 29 patients*. J. Med. Genet. 1988.**25**:164-167.
49. Cohen, M. M., Jr.; Kreiborg, S. *The central nervous system in the Apert syndrome*. Am. J. Med. Genet. 1990.**35**:36-45.
50. Lomri, A.; Lemonnier, J.; Hott, M.; de Parseval, N.; Lajeunie, E.; Munnich, A.; Renier, D.; Marie, P. J. *Increased calvaria cell differentiation and bone matrix formation induced by fibroblast growth factor receptor 2 mutations in Apert syndrome*. J. Clin. Invest. 1998.**101**:1310-1317.
51. Roberts, K. B.; Hall, J. G. *Apert's acrocephalosyndactyly in mother and daughter: cleft palate in the mother*. Birth Defects Orig. Art. Ser. 1971;**VII**(7); 262-264.
52. Cohen, M. M., Jr.; Kreiborg, S.; Lammer, E. J.; Cordero, J. F.; Mastroiacovo, P.; Erickson, J. D.; Roeper, P.; Martinez-Frias, M. L. *Birth prevalence study of the Apert syndrome*. Am. J. Med. Genet. 1992.**42**:655-659.

53. Tolarova, M. M.; Harris, J. A.; Ordway, D. E.; Vargervik, K. *Birth prevalence, mutation rate, sex ratio, parents' age, and ethnicity in Apert syndrome*. Am. J. Med. Genet. 1997.**72**:394-398.
54. Moloney, D. M.; Slaney, S. F.; Oldridge, M.; Wall, S. A.; Sahlin, P.; Stenman, G.; Wilkie, A. O. M. *Exclusive paternal origin of new mutations in Apert syndrome*. Nature Genet. 1996.**13**:48-53.
55. Glaser, R. L.; Broman, K. W.; Schulman, R. L.; Eskenazi, B.; Wyrobek, A. J.; Jabs, E. W. *The paternal-age effect in Apert syndrome is due, in part, to the increased frequency of mutations in sperm*. Am. J. Hum. Genet. 2003.**73**:939-947.
56. Slaney, S. F.; Oldridge, M.; Hurst, J. A.; Morriss-Kay, G. M.; Hall, C. M.; Poole, M. D.; Wilkie, A. O. M. *Differential effects of FGFR2 mutations on syndactyly and cleft palate in Apert syndrome*. Am. J. Hum. Genet. 1996.**58**:923-932.
57. Stone, P.; Trevenen, C. L.; Mitchell, I.; Rudd, N. *Congenital tracheal stenosis in Pfeiffer syndrome*. Clin. Genet. 1990.**38**:145-148.
58. Gonzales, M.; Heuertz, S.; Martinovic, J.; Delahaye, S.; Bazin, A.; Loget, P.; Pasquier, L.; Le Merrer, M.; Bonaventure, J. *Vertebral anomalies and cartilaginous tracheal sleeve in three patients with Pfeiffer syndrome carrying the S351C FGFR2 mutation*. (Letter) Clin. Genet. 2005.**68**:179-181.
59. Vallino-Napoli, L. D. *Audiologic and otologic characteristics of Pfeiffer syndrome*. Cleft Palate Craniofac. J. 1996.**33**:524-529.
60. Cohen, M. M., Jr. *Pfeiffer syndrome update, clinical subtypes, and guidelines for differential diagnosis*. Am. J. Med. Genet. 1993.**45**:300-307.
61. Vogels A., Fryns J.P. *Pfeiffer Syndrome*. Orphanet Ancylopedia, July 2005.
62. Plomp, A. S.; Hamel, B. C. J.; Cobben, J. M.; Verloes, A.; Offermans, J. P. M.; Lajeunie, E.; Fryns, J. P.; de Die-Smulders, C. E. M. *Pfeiffer syndrome type 2: further delineation and review of the literature*. Am. J. Med. Genet. 1998.**75**:245-251.
63. Tartaglia, M.; Valeri, S.; Velardi, F.; Di Rocco, C.; Battaglia, P. A. *Trp290Cys mutation in exon IIIa of the fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) gene is associated with Pfeiffer syndrome*. Hum. Genet. 1997.**99**:602-606.

64. Bellus GA, Gaudenz K, Zackai EH, Clarke LA, Szabo J, Francomano CA, Muenke M: *Identical mutations in three different fibroblast growth factor receptor genes in autosomal dominant craniosynostosis syndromes*. Nat Genet 1996;**14**:174–176.
65. Stevens CA, Roeder ER. *Ser351Cys mutation in the fibroblast growth factor receptor 2 gene results in severe Pfeiffer syndrome*. Clin Dismorphol 2006 Jul;**15**(3):187-8.
66. Schaefer, F.; Anderson, C.; Can, B.; Say, B. *Novel mutation in the FGFR2 gene at the same codon as the Crouzon syndrome mutations in a severe Pfeiffer syndrome type 2 case*. Am. J. Med. Genet. 1998;**75**:252-255.
67. Perlyn CA, Morriss-Kay G, Darvann T, Tenenbaum M, Ornitz DM. *A model for the pharmacological treatment of crouzon sendrome*. Neurosurgery 2006;**59**:210-215.
68. Johnson D., Wall S. A., Mann S., Wilkie, A. O. M. *A novel mutation, ala315 to ser, in FGFR2: a gene-environment interaction leading to craniosynostosis?* Europ. J. Hum. 2000;**8**:571-577.
69. <http://www.surgeryencyclopedia.com/Ce-Fi/CraniofacialReconstruction.html>
70. Boulet SL., Rasmussen SA., and Honein MA. *A Population-Based Study of Craniosynostosis in Metropolitan Atlanta, 1989–2003*. Am. J Med Genet. 2008;**146A**:984–991.
71. Kanauchi Y, Muragaki Y, Ogino T, Takahara M, Tsuchida H, Ishigaki D. *FGFR2 mutation in a patient with Apert syndrome associated with humeroradial synostosis*. Congenit Anom (Kyoto) 2003;**43**:302-5.
72. Freitas EC, Nascimento SR, de Mello MP, Gil-da-Silva-Lopes VL. *Q289P mutation in FGFR2 gene causes Saethre-Chotzen syndrome: some considerations about familial heterogeneity*. Cleft Palate Craniofac J. 2006 Mar;**43**(2):142-7.
73. Robertson SC., Meyer AN., Kristen KC., Galvin BD., Webster MK., Donoghue DJ. *Activating mutations in the extracellular domain of the fibroblast growth factor receptor 2 function by disruption of the disulfide bond in the third immunoglobulin-like domain*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1998;**95**:4567–4572.
74. Eswarakumar VP., Horowitz MC., locklin R., Morriss-Kay GM., and Lonai P. *A gain-of-funktion mutation of Fgfr2c demonstrates the roles of this receptor variant in osteogenesis*. PNAS 2004;**101**(34):12555-12560.

75. Lahiri DK, Nurnberger JI Jr. *Links A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies.* Nucleic Acids Res. 1991 Oct 11.**19**(19):5444.
76. Singer S., Bower C., Southall P., and Goldblatt J. *Craniosynostosis in Western Australia, 1980-1994: A population-based study.* Am J Med Genet. 1999. **83**:382–387.
77. Chun K., Teebi AS., Azimi C., Steele L., and Ray PN. *Screening of Patients With Craniosynostosis: Molecular strategy.* Am J Med Genet. 2003.**120A**:470–473.

# **EKLER**

**KRANYOSİNOSTOZİS FORMU****Hastanın Adı ve Soyadı:**

...../...../.....

**Yaş/Cinsiyeti:****Adres:****Tel:****Gönderen Dr.****e-mail:****Başvuru Şikayeti:****Nöromotor Gerilik:**Var Yok **Varsa neler (Konuşma, yürüme):****Aile Hikayesi:**(Benzer kafa yapısı (kranyosinostotik) ailelerde pedigrî çizilmesi)**Fizik Muayene Bulguları:** Baş Çevresi:

Boy:

Tartı:

**Baş boyun muayene bulguları:****Kafa büyüklüğü:**Normosefali Mikrosefali Makrosefali **Kafa şekli****Kraniyal X-ray'de**

Skafosefali

Sagittal sütür sinostozis 

Plajiosefali

Tek taraflı Koronal sütür sinostozis 

Trigonosefali

Metopik sütür sinostozis 

Brakisefali

Kafa ön arka çapı azlığı ve eşlik edebilecek sinostozis hali 

(Koronal ve sagittal sinüsler kombine sinostotik olabilir)

Oksisefali

Anterior fontanelin belirgin ve yüksek olduğu konik kafa 

Turrisefali

Kulekafa (Koronal ve sagittal sinüsler kombine sinostotik olabilir) 

Yonca yaprağı kafa

Yonca şeklinde kafa (Çoklu ve kısmi sütür sinostozisi) **Kraniyal X-ray raporu:****Yüz Bulgular:****Ekstremitte Bulguları:****Eşlik eden diğer sistem bulguları**



## **LABORATUVAR DEĞERLENDİRMESİ**

**Kranyal X-Ray** (İki yönlü Kafa grafisi):

**Kranyal Tomografi** (Özellikle 3 yönlü):

**Kranyal MRI raporu:**

**İşitme Testi sonucu** (Eğer işitme ve konuşma problemi varsa):

**Göz Muayenesi Bulguları:**

**Diğer Patolojik Laboratuvar sonuçları** (Örneğin sindaktilisi olan hastanın

El grafisi raporu veya anormal kan biyokimyası sonuçları vb):

**TANI:**

<b>OLGULAR</b>								
<b>Oküler</b>								
Proptozis								
Hipertelorizm								
Strabismus								
Sığ orbitler								
Diğer								
<b>Kranyofasiyal</b>								
Kranyosinostozis								
Yonca yaprağı kafa şekli								
Brakisefali								
Basık yüz								
Frontal çıkıklık								
Ön fontanel genişlemesi								
Hidrosefali								
Midfasiyal hipoplazi								
Displastik kulaklar								
Dış kulak kanalı stenozu								
Armut biçimli burun yapısı								
Basık burunkökü								
Palatal abnormalite								
<b>Ekstremiteler</b>								
Çoklu eklem kontraktürü								
Radyohumeral sinostoz								
Femoral kontraktür								
Femoral bowing								
Sindaktili								
Geniş parmaklar								
Kamptodaktili								
“Rocker bottom” ayak								
Küçük yapı								
<b>Diğer</b>								
Kalp defekti								
Genital anomali								
MSS yapı abnormalitesi								
Konvülzyon								
Gelişme geriliği								
Erken ölüm								
<b>Sporadik</b>								
<b>Ailesel</b>								
<b>Maternal yaş</b>								
<b>Paternal yaş</b>								
<b>Cinsiyet</b>								
<b>Yaş</b>								
<b>Tam</b>								

## ÖZGEÇMİŞ

08.05.1980 tarihinde Silistre/Bulgaristan'da doğan Suray PEHLİVANOĞLU, ilköğretimini 1986-1995 yılları arasında Hristo Botev İlköğretim Okulu'nda ve Tekirdağ 50. Yıl Ortaokulu'nda, lise eğitimini ise 1995-1998 yılları arasında Tekirdağ Tuğlacılar Lisesi'nde tamamlamıştır. 2003 yılında Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden mezun olmuştur. Askerlik hizmetini, 297. kısıdönem yedek subay olarak 2005 yılında tamamlamıştır. Aynı yıl Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Genetik Yüksek Lisans programına başlamış ve araştırma görevlisi olarak atanmıştır. Halen araştırma görevlisi olarak görevini sürdürmektedir.