



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**SAMSUN İLİ VE ÇEVRESİNDE  
KİSTİK FİBROZİS ÖN TANILI ÇOCUK VE  
ADOLESANLARIN KFTR GEN ANALİZLERİ VE  
FREKANS DAĞILIMLARININ İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Meryem Hilal ALTAŞ**

**SAMSUN- 2016**



T.C.  
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**SAMSUN İLİ VE ÇEVRESİNDE  
KİSTİK FİBROZİS ÖN TANILI ÇOCUK VE  
ADOLESANLARIN KFTR GEN ANALİZLERİ VE  
FREKANS DAĞILIMLARININ İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Meryem Hilal ALTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Methiye Gönül OĞUR**

**SAMSUN- 2016**

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yapılması sırasında gerekli olanakları sağlayan, beni yönlendiren, değerli önerileri ve hoşgörüsü ile desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübesiyle meslek yaşantıma önemli katkıları bulunan, en başta tez danışmanım kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Methiye Gönül OĞUR' a,

Çocuk sağlığı ve hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde emeği olan, bilgi ve desteğini esirgemeyen, bana meslek yaşamımda yepyeni ufuklar açıp, bilimsel düşünmeyi yepyeni bir bakışla öğreten saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ayhan Dağdemir'e,

Üzerimde büyük emekleri olan tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları öğretim üyelerine, uzmanlık eğitimim boyunca dostluk ve arkadaşlıklarını esirgemeyen tüm doktor arkadaşlarıma,

Tezimin istatistiğinde ve düzenlenmesinde büyük emekleri olan Dr.Temuçin KARASU, Dr.Arzu YOSMA ve Dr. Engin ALTUNDAĞ'a

Laboratuvar çalışmalarımıdaki yardımlarından dolayı Genetik Bilim Dalı'nda çalışan doktor arkadaşlarıma, laboratuvar teknisyenlerine ve diğer tüm çalışanlarına,

Hayatımın her aşamasında güvenini ve desteğini esirgemeyen annem, babam ve kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

Dr. M. Hilal ALTAŞ

## ÖZET

**Giriş:** Kistik Fibrozis çocuklarda ve erişkinlerde görülen, hayatı tehdit eden genetik multisistem bir hastalıktır. Otozomal resesif geçiş gösterir. Hastalığa neden olan gen mutasyonlarının tümü 7. kromozomun uzun kolu üzerinde (7q31.2) tek bir lokustan kaynaklanır. İnsidansı etnik gruplara göre farklılık göstermekte olup yaklaşık 1/25 taşıyıcı sıklığı ve 1/2000 – 3500 canlı doğum ile beyaz ırktaki en yaygın hastalıklardan biridir. KF'ye neden olan yaklaşık 1900'den fazla KFTR mutasyonu tanımlanmıştır. Hastalık ve belirtileri, Kistik Fibrozis Transmembran Regülatörü (KFTR) proteinini kodlayan gendeki mutasyon sonucunda ortaya çıkmaktadır.

**Materyal-Metod:** Çalışma retrospektif dosya taraması yöntemi ile yapıldı. Hasta bilgileri için hastane arşiv dosyası ve genetik poliklinik dosyaları kullanıldı. Çalışmaya, Ocak 2012-Nisan 2016 tarihleri arasında Çocuk Genetik Bilim Dalı'na yönlendirilen, 0-18 yaş arası Kistik Fibrozis ön tanılı 210 çocuk hasta dahil edildi. Tüm hastalara dizileme (sekans) ve ters hibridizasyon multipleks PCR yöntemleri ile KFTR mutasyon analizleri yapıldı. Hastalara 14.08.2014 tarihine kadar 3 ekzonlu, sonrasında 12 ekzonlu sekans analizi uygulandı.

**Bulgular:** Çalışmamıza dahil olan hastaların yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay, ortalama yaş 17 ay idi. Erkeklerin/ kızlara oranı 1,03 olarak bulundu. Hastaların en sık başvuru nedeni tekrarlayan akciğer enfeksiyonu 101 (%48) ve kilo alamama 56 (%26,7) idi. Hastaların 112'sine 3 ekzonlu (%53,3), 98'ine 12 ekzonlu (%46,7) sekans analizi çalışıldı. Sekans analizi sonucunda, 210 hastanın 71 (%33,8)'inde homozigot, bileşik heterozigot veya heterozigot formda, 28'i farklı toplam 87 mutasyon olduğu görüldü. Sekansda hastaların 19'u (%9) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlendi. Klinik temelde, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon sıklığı en yüksek olan klinik bulgu, mekonyum ileusu idi (%57); mutasyon saptanan hastaların tümü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon idi. Tüm mutasyonlar içinde F508del (%13) ve 1677del TA (%4,8) mutasyonu sıklık sırasında ilk 2 sırayı oluşturmaktaydı. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip hastaların başvuru yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay bulundu, ortalama yaş ise 2 aydı. F508del'in ishal ve kardeş KF öyküsü birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1677 del TA ve ishal birlikteliğinde ise sınırda anlamlılık vardı. Klinikte mutasyonlarla

birliktelikte en yüksek ilişki oranı, ter testi ilişkisi oldu. Ters hibridizasyon multipleks PCR’da 210 hastanın 40’ında (%19) mutasyon saptandı. Allel temelinde, 14 farklı, toplam 61 mutasyon mevcuttu. 61 mutasyonun 23 (%11)’ü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlendi. F508del allel frekansının, mutasyon saptanan hasta grubundaki oranı %33,8 (27/80) ve tüm hastalardaki oranı %6,4 (27/420) bulundu. 1677del TA allel frekansı mutasyon saptanan hasta grubunda %12,5 (10/80), tüm hastalardaki oranı %2,4 idi.

**Sonuç ve Öneri:** Kistik fibrozis tanısı, klinik bulguların biyokimyasal veya genetik tetkikler ile bütünleştirilmesiyle konur. Tanıda KFTR mutasyon analizleri (dizileme ve ters hibridizasyon multipleks PCR), son yıllarda giderek artan öneme sahiptir. Çalışmamız, çocukluk çağı kistik fibrozis hastalarında KFTR gen mutasyonlarının, bölgemizdeki sıklığını, dağılımını ve klinik ilişkilerini yansıtmaktadır.

## SUMMARY

**Aim:** Cystic fibrosis is a genetic, multisystem, life threatening disease that is seen both in children and adults. Inheritance is autosomal recessive. All gene mutations causing the disease are located on a single locus on the long arm of the 7th Chromosome (7q31.2). Incidence is dependent on ethnic origin, it is one of the most prevalent conditions in Caucasians with a carrier frequency of 1/25 and it is seen in 1/2000-3500 live births. Over 1900 CFTR mutations that result in cystic fibrosis have been reported. The disease and its findings are a result of mutations in the gene coding the Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) protein. Our study aimed to study the CFTR gene mutation frequency, allelic distribution and the genotype-phenotype association in a pediatric population in our region to achieve a better clinical management of CF.

**Materials and Methods:** The study was conducted by retrospective analysis of patient files. For patient data, the hospital archive file and genetics clinic files were used. 210 patients (aged 0-18 years) who had been referred to the Pediatric Genetics Department between January 2012 and April 2016 with a provisional diagnosis of cystic fibrosis were included in the study. CFTR gene mutation analysis by sequence and reverse hybridization multiplex PCR was performed for all patients. Before 14.08.2014, 3 exon sequence analysis was performed, after this data analysis was performed with 12 exon sequences.

**Results:** The minimum age of patients in our study was 1 month, maximum was 216 months, median age was 17 months. Male-to-female ratio was 1.03. The most frequent reasons for application was recurrent pulmonary infection in 101 (48%) patients and low weight gain in 56 (26.7%) patients. 112 (53.3%) patients were analyzed by 3 exon sequence analysis while 98 (46.7%) were analyzed by 12 exon sequence analysis. The sequence analysis resulted in a total of 87 different mutations; of which 28 were unique; in homozygote, combined heterozygote or heterozygote forms for 71 (33.8%) of patients. In sequencing, 19 (9%) patients were determined as having homozygote or combined heterozygote mutation. The clinical finding that most frequently had a homozygote or combined heterozygote mutation was meconium ileus (57%); all patients with a mutation were found to be homozygote or combined heterozygote. The

most frequent two among all determined mutations were: F508del (13%) and 1677del TA (4.8%). For patients with homozygote or combined heterozygote mutations; the minimum age was 1 month, maximum was 216 months and the median age was 2 months. F508del mutation was found to have a statistically significant association with sibling CF and diarrhea history. 1677del TA mutation was found to be associated with diarrhea but the statistical significance was borderline. Sweat test was found to have the most significant association with mutations. On the reverse hybridization multiplex PCR analysis, 40 (19%) patients were found to have a mutation among 210 patients. Regarding alleles, a total of 61 mutations were found of which 14 were unique. 23 (11%) of the 61 mutations were found to be homozygote or combined heterozygote.  $\Delta$ F508 allele frequency among patients who were found to have mutations was %33.8 (27/80) and %6.4 (27/420) among all patients. 1677del TA allele frequency among patients who were found to have mutations was %12.5 (10/80) and 2.4% among all patients.

**Conclusion:** The diagnosis of cystic fibrosis is achieved by integrating clinical findings with biochemical and/or genetic investigation. CFTR mutation analysis with sequencing and reverse hybridization multiplex PCR are gaining importance in the diagnosis of CF in recent years. It is possible that whole gene sequencing could be alternative of the routine in near future. Our study reflects the CFTR gene mutation frequency and allelic distribution and their clinical associations in a pediatric population, in our region, namely Northern Anatolia.

## KISALTMALAR

**KF:** Kistik Fibrozis

**KFTR:** Kistik Fibrozis Transmembran Regülatörü

**DNA:** Deoksiribonükleik Asit

**Cl:** Klor

**Na:** Sodyum

**mRNA:** Haberci Ribonükleik Asit

**TTT:** Timin Timin Timin

**ATT:** Adenin Timin Timin

**ATP:** Adenozin Trifosfat

**cAMP:** Siklik Adenozin Monofosfat

**PKA:** Protein Kinaz A

**ENaC:** Epitelyal Sodyum Kanalları

**HCO<sub>3</sub>:** Bikarbonat

**MKB:** Membranı Kat Eden Bölge

**NBB:** Nükleotidi Bağlayan Bölge

**R:** Regülatör

**IL:** İnterlökin

**TNF:** Tümör Nekrozis Faktör

**DIOS:** Distal İntestinal Obstrüksiyon Sendromu

**DM:** Diyabetes Mellitus

**CBAVD:** Konjenital Bilateral Vas Deferens Yokluğu

**ABPA:** Allerjik Bronkopulmoner Aspergillozis

**PBS:** Psödo Bartter Sendromu

**IRT:** İmmün Reaktif Tripsinojen

**EMB:** Eosin Methylen Blue Agar



**BCSA:** Bulkholderia cepacia Selective Agar

**OFBL:** Oxidative Fermentative Bacitracin Lactose Agar

**RFLP:** Restriction Fragment Length Poly

**FEV1:** Birinci saniyedeki zorlu soluk verme hacmi

**İVA:** İdeal Vücut Ağırlığı Yüzdesi

**KFD:** Amerika Kistik Fibrozis Derneği

**WT:** Wild Type



## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR .....	I
ÖZET .....	II
SUMMARY .....	IV
KISALTMALAR .....	VI
İÇİNDEKİLER .....	VIII
TABLOLAR .....	X
ŞEKİLLER .....	XIII
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Tanım Ve Tarihçe .....	3
2.2. Epidemiyoloji Ve Genetik.....	5
2.3. Patofizyoloji .....	10
2.3.1. Akciğer Hastalığının Patogenezi.....	12
2.3.2. Gastrointestinal ve Hepatobiliyer Sistemin Patogenezi .....	13
2.3.3. Pankreasın Patogenezi.....	13
2.3.4. Ter Bezlerinin Patogenezi .....	14
2.3.5. Renal Hastalık Patogenezi.....	14
2.3.6. Üreme Sistemi Hastalıkları ve Patogenezi .....	15
2.3.7. Diğer tutulumlar .....	15
2.4. Klinik Bulgular .....	16
2.4.1. KF’de akciğer bulguları .....	16
2.4.2. KF’de hepatobiliyer tutulum .....	17
2.4.3. KF’de intestinal tutulum .....	18
2.4.4. KF’de pankreas tutulumu .....	19
2.4.5. KF’de Genitoüriner sistem tutulumu.....	20
2.4.6. Psödo-Bartter Sendromu .....	20
2.4.7. KF’ de ter bezleri tutulumu .....	20
2.5. Tanı .....	21
2.5.1. Prenatal tanı.....	22
2.5.2. Yenidoğan taraması.....	23
2.5.3. Ter testi .....	26

2.5.4. Atipik kistik fibrozis .....	29
2.5.5. Nazal potansiyel fark ölçülmesi .....	31
2.5.6. Pankreatik fonksiyon değerlendirilmesi .....	31
2.5.7. Mutasyonlar .....	31
2.6. Mikrobiyoloji .....	33
2.7. Tedavi .....	33
2.7.1. Akciğer Hastalığının Tedavisi .....	35
2.7.2. Akciğer transplantasyonu .....	40
2.7.3. Beslenme .....	40
2.7.4. Pankreatik enzim tedavisi .....	41
2.7.5. Karaciğer Hastalığının Tedavisi .....	42
2.7.6. Yeni tedavi seçenekleri .....	42
2.8. Prognoz .....	42
<b>3. ARAÇ VE YÖNTEMLER .....</b>	<b>44</b>
3.1. Hasta seçimi .....	44
3.2. Klinik tanımlamalar .....	45
3.3. Mutasyonların Klinik Etkilerine Göre KFTR Sınıflaması .....	46
3.4. DNA İzolasyonu .....	48
3.5. PCR ve Dizileme Aşaması .....	49
3.6. Multipleks PCR Amplifikasyonu .....	53
3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	53
3.8. Agaroz Jel Elektroforezi .....	54
3.9. Revers-Hibridizasyon .....	55
3.10. Revers Hibridizasyon Basamakları ve Kullanılan solüsyonlar .....	55
3.11. Multipleks PCR Değerlendirilmesi .....	56
3.12. İstatistik .....	56
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>57</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>87</b>
<b>6. SONUÇLAR .....</b>	<b>103</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b>

## TABLolar

**Tablo 1.** Çeşitli topluluklarda KF insidansı

**Tablo 2.** Toplumumuzdaki KFTR mutasyon oranları

**Tablo 3.** ABD 'de 25000' den fazla KF' li hastanın başvuru bulguları

**Tablo 4.** KF'nin klinik özellikleri

**Tablo 5.** Kistik fibrozisin tanı kriterleri

**Tablo 6.** Ter testi sonuçları ve yorumlanması

**Tablo 7.** Yalancı pozitif ve yalancı negatif ter testi sonuçları

**Tablo 8.** Şüpheli ter testi sonucu olan hastaların değerlendirilmesinde önerilen tanısal çalışmalar

**Tablo 9.** Klinik sonuçları ile ilişkili olarak bazı KFTR mutasyon örnekleri

**Tablo 10.** KF solunum yolu patojenlerinin kültürü için önerilen koşullar

**Tablo 11.** KF hastalarında pulmoner alevlenme ile ilişkili belirti ve bulgular

**Tablo 12.** KF' de kullanılan hava yolu temizleme teknikleri

**Tablo 13.** Yağda eriyen vitaminler için önerilen günlük dozlar

**Tablo 14.** Hastaların epidemiyolojik ve klinik bulgu kriterleri

**Tablo 15.** Gomez Sınıflaması

**Tablo 16.** Mutasyonun Klinik etkisine göre KFTR sınıflaması (2007)

**Tablo 17.** ACMG' nin belirlediği Klasik KF'ye neden olan 23 mutasyonun listesi

**Tablo 18.** Yapısal ve fonksiyonel sınıflamada mutasyonların dağılımı

**Tablo 19.** KFTR geni Ekzon 7, 10 ve 11'in PCR protokolü

**Tablo 20.** Thermal-cycler Protokolü

**Tablo 21.** KFTR geni Ekzon 3, 4, 7, 8, 10, 11, 13-1, 13-2, 15, 17a, 17b, 20, 21 PCR protokolü

**Tablo 22.** Thermal-cycler Protokolü

**Tablo 23.** Miks A Multipleks PCR protokolü

**Tablo 24.** Miks B Multipleks PCR protokolü

**Tablo 25.** Ter testi gruplarında hasta dağılımı ve yaş

**Tablo 26.** Hastaların Başvuru Nedenleri

**Tablo 27-a.** Sekansda Ekzon 7, 10, 11'de Saptanan Mutasyonların Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı (n:210)

**Tablo 27-b.** 12 Ekzonlu Sekansda Ekzon 3, 4, 8, 13, 15, 17A, 17B, 20, 21'de Saptanan Mutasyonların Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı (n:98)

**Tablo 28.** Sekans Analizinde Homozigot, Birleşik Heterozigot Mutasyonların Dağılımı(n:19) ve Genotip ve Allel Frekansları

**Tablo 29.** Sekansda Saptanan Mutasyonlar-Hasta Başvurusu İlişkisi

**Tablo 30.** Sekansda Saptanan Mutasyon Tipleri ve Hasta Başvurusuna Göre Dağılımı

**Tablo 31.** 3 ekzon ve 12 ekzon dizi analiz mutasyonları ve allel sayıları

**Tablo 32.** Sekans Analizi Yapılan Tüm Hastalarda F508del Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:20)

**Tablo 33.** Sekans Analizinde Mutasyon Saptanan Hastalarda F508del Mutasyonu İçin Genotip-Fenotip İlişkisi (n:20)

**Tablo 34.** Sekans Analizinde Mutasyonların Klinik Etkilerine ile Değerlendirilmesi

**Tablo 35.** Sekans KFTR Yapısal ve Fonksiyonel Klasifikasyonu

**Tablo 36.** Multipleks PCR Analizinde Saptanan Mutasyonların Mutasyon Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı (n:210)

**Tablo 37.** Multipleks PCR Analizinde Homozigot, Birleşik Heterozigot Mutasyonların Dağılımı (n:23) ve Genotip ve Allel Frekansları

**Tablo 38.** Multipleks PCR Analizinde Saptanan Mutasyon-Hasta Başvurusu İlişkisi

**Tablo 39.** 5T-7T-9T mutasyonları dağılımı

**Tablo 40.** Multipleks PCR Analizi Yapılan Tüm Hastalarda F508del Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:20)

**Tablo 41.** Multipleks PCR Analizi Yapılan Tüm Hastalarda 1677del TA Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:7)

**Tablo 42.** Multipleks PCR Analizinde Mutasyonların Klinik Etkileri ile değerlendirilmesi (2007 yılında Avrupa Kistik Fibrozis topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği konferansı)

**Tablo 43.** Multipleks PCR KFTR Yapısal ve Fonksiyonel Klasifikasyonu

**Tablo 44.** Sekans analizi ile Multipleks PCR'in Karşılaştırılması

**Tablo 45.** Sekans Analizinde Saptanıp Multipleks PCR'da Gösterilemeyen Mutasyonlar

**Tablo 46.** Multipleks PCR analizinde Saptanıp Sekans Analizinde Gösterilemeyen Mutasyonlar

**Tablo 47.** 12 ekzonlu sekans analizinde saptanan mutasyonların frekansı ve allel frekans dağılımı

**Tablo 48.** Heterozigot Mutasyon Saptanıp Klinik KF Olan Hastalar

**Tablo 49.** Ter Testi yüksek saptanıp Homozigot ya da Bileşik Heterozigot mutasyon saptanmayan hastaların özellikleri

**Tablo 50.** Ter testi negatif(<49) olup mutasyon saptanan hastalar

**Tablo 51.** Ter testi 80 ve üzeri saptanan hastalar

## ŞEKİLLER

**Şekil 1.** KFTR mutasyon sınıfları

**Şekil 2.** Yenidoğan tarama testi sonrası hastaları yönlendirme şeması

**Şekil 3.** İlk ter testi ara değer çıkan hastaların izlem şeması ve "KF ilişkili metabolik sendrom- KF kesin olmayan tanı" tanımlanması

**Şekil 4.** Gibson Cooke yöntemi

**Şekil 5.** Macroduct yöntemi

**Şekil 6.** KFTR geni ekzon 7, 10, 11 PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

**Şekil 7.** KFTR geni 12 ekzonlu PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

**Şekil 8.** KFTR geni Miks A PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

**Şekil 9.** KFTR geni Miks B PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

**Şekil 10.** Hastaların cinsiyet dağılımı

**Şekil 11.** Hastaların yıllara göre dağılımı

**Şekil 12.** Avrupa ve Ortadoğu ülkelerinde sık görülen mutasyonlar ve frekans dağılımı

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kistik fibrozis (KF), beyaz ırkta daha sık görülen yaşamı tehdit eden otozomal resesif geçiş gösteren kronik, ilerleyici, genetik bir hastalıktır. İnsidansı etnik gruplara göre farklılık göstermekte olup, Kuzey Avrupa'da yaklaşık 1/25 taşıyıcı sıklığı ve 1/2000 – 3500 canlı doğum ile beyaz ırktaki en yaygın hastalıklardan biridir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda insidansının 1/3000 civarında olduğu belirtilmesine karşın, akraba evliliğinin sık olduğu düşünülürse bu oranın beklenenden yüksek olduğu tahmin edilmektedir.

Hastalık ve belirtileri, Kistik Fibrozis Transmembran Regülatörü (KFTR) proteinini kodlayan gendeki mutasyon sonucunda ortaya çıkmaktadır. KF'ye neden olan yaklaşık 1900'den fazla KFTR mutasyonu tanımlanmıştır. Rutin uygulanan DNA (deoksiribonükleik asit) testi ile KF'li çocukların hepsi belirlenemez, özel vakalarda genotipin belirlenmesi için KFTR geninin sekanslanması gereklidir (1, 2). KF'li hastalarda genotip-fenotip ilişkisi bilinmekle birlikte, aynı mutasyona sahip birçok hastanın klinik seyri arasında farklılıklar görülmektedir (3).

KF, multisistem bir hastalık olması sebebiyle çok değişik klinik belirti ve bulgularla kendini gösterebilir. Yenidoğan döneminde anne-baba akrabalığı, kardeş ölüm öyküsü, mekonyum ileusu, mekonyum perforasyonu-peritoniti, obstrüktif sarılık ve öpülünce tuzlu tat alınması; süt çocukluğu döneminde büyüme geriliği, pis kokulu yağlı gaita, sık tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, anemi, ödem, Psödo-Barter sendromu (PBS), rektal prolapsus; çocukluk ve adolesan döneminde düzelmeyen ya da tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, pürülan balgam çıkarma, nazal polipozis, kronik ve inatçı sinüzit, astım, parmaklarda çomaklaşma, hemoptizi, biliyer siroz, mekonyum ileusu eşdeğeri bulgular, diyabetes mellitus (DM), gecikmiş puberte ve infertilite KF'yi düşündürülen bulgulardandır.

KF'li hastaların tedavisi birden çok disiplinin bir arada çalışması ile başarılı olabilmektedir. Günümüzde ortalama yaşam süresi 35 yaşa kadar yükselmiştir. Hastalığın hücresel ve moleküler seviyelerde daha iyi anlaşılması, gen terapisi ve KFTR protein fonksiyonunu düzenleyen ajanların geliştirilmesi, hastalığın mortalitesini ve morbiditesini azaltacak en önemli gelişme olacaktır.



Kliniğimizde yaptığımız bu çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Bilim Dalı'nda çocukluk çağı kistik fibrozis hastalarında KFTR gen mutasyonlarının bölgemizdeki sıklığı ve dağılımını belirlemek ve klinik ilişkilerini değerlendirmek üzere yapılandırılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tanım Ve Tarihçe

Kistik Fibrozis çocuklarda ve erişkinlerde görülen, hayatı tehdit eden genetik multisistem bir hastalıktır (1). Epitel hücrelerinin apikal membranında klor kanalı olarak görev yapan KFTR proteinini kodlayan gendeki mutasyonlar sonucu oluşan tek gen hastalığıdır. KFTR'de meydana gelen yapısal ve fonksiyonel bozukluk, epitel hücre membranında klor (Cl) transportunun bozulmasına, sekresyonların dehidratasyonuna ve bu proteinin yer aldığı organlarda mukus salgılarının hipervisköz nitelikte olmasına neden olur (4). Otozomal resesif olarak kalıtılan hastalık, üst solunum yolları, akciğer, pankreas, karaciğer, safra kanalları, ter bezleri ve ürogenital organları etkileyebilir (5, 6).

Kistik fibrozis çoğu vakada erken dönemde ekzokrin pankreatik yetmezlikten sorumlu tutulmakta ve ciddi kronik akciğer hastalığının major sebebi olarak gösterilmektedir. Hastaların çoğunda tuz kaybı, nazal polipler, pansinüzit, rektal prolapsus, intestinal sistemde obstruksiyona bağlı mekonyum ileusu, terde yüksek sodyum ve klor kaybı sonucu hipokalemi, hiponatremi, hipokloremi, metabolik alkaloz, pankreatit, kolelitiazis ve insülin bağımlı hiperglisemi görülebilir. KF hastaları ilk olarak büyümemeye ile başvurabilir ve daha az sıklıkla da siroz veya karaciğer disfonksiyonu şeklinde de prezente olabilir (1). Çocukluk çağı hastalığı olarak bilmesine rağmen günümüzde tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmelerle birlikte bir erişkin çağı hastalığı olarak da kabul edilmektedir.

KF ile ilgili 1930'lu yıllara kadar yazılı kaynak olmasa da temeli 1600'lü yıllara dayanan Kuzey Avrupa folkloründe "öpüldüğünde tuz tadı alınan çocuklar ne acıdır ki büyülenip yakında öleceklerdir" anlamına gelen "Woe to that child which when kissed on the forehead tastes salty. They are bewitched and soon will die" sözleri ile anlatılmıştır. Burada hastalığın önemli özelliklerinden biri olan ve tanısının konulmasında önem arz eden terdeki yüksek tuz oranı ve erken mortalite anlatılmaktadır (7). Kan grupları üzerinde çalışan Landsteiner 1905 yılında mekonyum ileusu ve pankreas fonksiyon bozukluğu birlikteliğini bir hastalık olarak tanımlamıştır (6,8).

"Kistik Fibrozis" terminolojisi bilimsel olarak 1930'larda kullanılmaya başlanmıştır (9). 1930'lu yıllarda New York Kolombiya Presbiteryen Tıp Merkezi Dorothy Anderson'un pankreas tutulumlu KF'li çocuklarla ilgili olarak "Cystic Fibrosis of the Pancreas" adlı çalışmasıyla KF'nin genetik temeli anlaşılmaya başlanmış ve hastalık, ilk kez tıp literatürüne girmiştir. Bu çalışmada hasta çocuklarda pankreatik değişimler, solunum hastalıkları ve bağırsaklarla ilgili komplikasyonlar bildirilmiştir (10). İlk olarak sık aralıklarla beslenmelerine rağmen gelişemeyen, gergin karınlı ve fazla miktarda, soluk renkte, kötü kokulu dışkı ile karakterize diyare atakları olan çocuklar farkedilmiştir. Hastaların çoğunluğu ilk yirmidört ayda bronş ve akciğerlerde gelişen enfeksiyonlar nedeniyle kaybedilmiştir. Bu hastalarda yapılan otopsiler sonucunda hastalığı tanımlayan iki önemli bulgu ortaya konmuştur. Birincisi, enfeksiyonun akciğer parankimasından ziyade daha çok solunum yollarında ortaya çıkmış olması; ikincisi ise, solunum yollarının yoğun, yapışkan, yeşil-gri renkte, iltihaplı bir maddeyle tıkanmış olmasıdır (11).

Başlangıçta gastrointestinal sistem tutulumu ile dikkat çeken hastalık, çölyak hastalığının pulmoner komplikasyonların da eşlik ettiği bir alt tipi olarak düşünülmüş ve 1936'da ilk kez çölyak hastalığına "bronşiektazinin eşlik ettiği kistik fibromatozis" olarak adlandırılmıştır. Pankreasta genişlemiş safra kanalları ve fibrozisin neden olduğu histopatolojik görünüm nedeniyle 1938'de hastalık "pankreasın kistik fibrozisi" olarak tanımlanmıştır (10,12).

1945 yılında Farber solunum ve sindirim sistemlerinde koyulaşmış müköz salgının, hastalığın patogeneğinde önemli rol aldığını açıklamış ve hastalığı "mukovisidosis" olarak adlandırmıştır (13). Andersen ve Hodges 1946 yılında pankreatik fibrozisli bebeklerin kardeşleri ve bilinen tüm akrabalarını inceleyerek KF'nin, otozomal resesif kalıtım özelliği gösteren genetik bir hastalık olabileceği sonucuna ulaşmışlardır (13, 14). Darling, DiSant' Agnese, Perera ve ark. 1953 yılında pankreasın kistik fibrozisi bulunan 43 hastanın terinde sodyum, klor ve potasyum değerlerinin çok yüksek konsantrasyonlarda olduğunu ve temel patolojinin ekzokrin salgı bezlerinde olduğunu bulmuşlardır (15). Gibson ve Cooke 1959 yılında, Schwachman ve Mahmoodian 1967 yılında pilokarpın iyontofrez yöntemi ile terde elektrolit ölçümü ve KF'li hastalardaki klor değerlerini bildirmişlerdir. Daha sonraki

yıllarda hastalığın fizyopatolojisi ve genetik özellikleri ile ilgili çok sayıda araştırmalar yapılmıştır (8). Norris ve arkadaşları otopsi örneklerinin histopatolojik verilerine dayanarak, KF defektinin pankreas kanallarının malformasyonu sonucu çeşitli epitel bezlerinin kusurlu sekresyonlarına yol açtığını öne sürmüşlerdir (15, 16).

Dr. Paul Quinton'un KF hastalarının ter bezi kanallarında klor geçirgenliğinin çok az olduğunu göstermesinden sonra 1980'lerde yapılan birçok çalışma sonucunda KF'de epitelyal klor transportunda bozukluk olduğu anlaşılmıştır. Tsui ve arkadaşları 1989 yılında hastalıktan sorumlu olan genin 7. kromozomun uzun kolunda, q22-31 bölgesinde yer aldığını göstermişlerdir ve gen ürününü "Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" olarak adlandırmışlardır (13, 17). 1990'lı yıllardan sonra mutasyonların KFTR fonksiyon bozukluğuna hangi şekillerde yol açtığı, patogenezi ve patofizyoloji ile ilgili bilgi birikimi hızla artmıştır. Buna paralel olarak tedavi yaklaşımlarında gelişmeler olmuş ve ortalama yaşam süresi uzamıştır (18).

## **2.2. Epidemiyoloji Ve Genetik**

KF sıklıkla Kuzey Avrupalı, Kuzey Amerikalı, Avustralya ve Yeni Zelandalı beyazlarda görülür. Bu toplumlarda hastalığın sıklığı değişken olmakla birlikte canlı doğumlarda ortalama 1/3.500 oranında görülür. Hispaniklerde 1/9.200 oranında, Afrikalı Amerikalılarda 1/15000 oranında, Britanya'nın bazı yerlerinde 1/377 oranında iken, Hawaii'deki Asyalı bebeklerde 1/90.000 oranında görülür. Bu hastalığa Afrikalı, Hispanik, Orta, Güney ve Doğu Asya toplumlarında daha az sıklıkla rastlanmaktadır (1). ABD'de 30.000, dünyada ise 60.000'e yakın KF'li hasta ve 7.000.000 asemptomatik heterozigot taşıyıcının olduğu tahmin edilmektedir (18,19).

Ülkemizde KF sıklığı, 1973 yılında Gürson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 1/3000 olarak bildirilmiştir (20). Türkiye'de özellikle erken çocukluk döneminde ishal ve alt solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı ölüm hızlarının yüksekliği göz önüne alındığında, KF'li hastaların bir kısmının tanı almadan bu dönemde kaybedildiği düşünülmektedir (21). Türkiye'deki KF'li hastalarda yapılan genetik çalışmalar çok sayıda farklı mutasyon olduğunu ve genetik açıdan çok heterojen bir topluluk olduğunu düşündürmektedir (22). Çeşitli topluluklarda KF insidansı Tablo 1'de gösterilmiştir (23).

**Tablo 1.** Çeşitli topluluklarda KF insidansı

<b>ÜLKE</b>	<b>İNSİDANS</b>
<b>Finlandiya</b>	1/2500
<b>Meksika</b>	1/8500
<b>İsveç</b>	1/7300
<b>Polonya</b>	1/6000
<b>Kuzey İrlanda</b>	1/5350
<b>Rusya</b>	1/4900
<b>Danimarka</b>	1/4700
<b>Norveç</b>	1/4500
<b>Hollanda</b>	1/3650
<b>İspanya</b>	1/3500
<b>Yunanistan</b>	1/3500
<b>Almanya</b>	1/3300
<b>ABD</b>	1/2835
<b>Çek Cumhuriyeti</b>	1/2833
<b>İngiltere</b>	1/2600
<b>Avustralya</b>	1/2500
<b>İtalya</b>	1/2438
<b>Fransa</b>	1/2350
<b>İsviçre</b>	1/2000
<b>İrlanda</b>	1/1800

KF otozomal resesif olarak kalıtılır, hastalığa sebep olan gen mutasyonlarının tümü 7. kromozomun uzun kolu üzerinde (7q31.2) tek bir lokustan kaynaklanır. 250000 baz çifti (bç) uzunluğundadır ve 27 ekzon içerir. Normal alleli 6,5 kilobazlık (kb) bir haberci ribonükleik asit (messenger ribonucleic acid-mRNA) üretir (10,17). KF geni 1480 aminoasitlik bir proteini kodlar ve bu protein KFTR olarak adlandırılır. KFTR havayollarının, gastrointestinal sistemin (pankreas ve biliyer sistem dahil), ter bezleri ve genitoüriner sistemin epitel hücrelerinde yaygın olarak eksprese edilir (1).

KFTR klor kanalı gibi görev yapar ve farklı mutasyonlarla karışık hale gelen başka düzenleyici fonksiyonları da vardır (1). Günümüze kadar bu gende 1900'den fazla mutasyon tanımlanmıştır (24). En sık görülen mutasyon 508. aminoasitteki fenilalaninde delesyon sonucu oluşan F508del mutasyonudur (25). Genin klonlanması, KF'nin fenotipik varyasyonlarının moleküler tabanını aydınlatmış ve KFTR proteinin farklı organlardaki etkisini incelemeyi kolaylaştırmıştır (26). Kuzey Avrupa toplumlarındaki KF insidansının yüksek olmasından bu mutasyon sorumludur. Aynı mutasyon Güney Avrupa ve İsrail gibi diğer bölge toplumlarında daha az sıklıkla görülür. Kuzey Avrupa toplumlarında KF hastalarının yaklaşık %50'sinde F508del homozigot saptanırken, %80'den fazlası en az bir tane F508del geni taşır. Onuncu ekzondaki 3 baz çiftlik CTT delesyonu ile füzyon kodonu olan ATT oluşur. Delesyon ile ortadan kalkan fenilalanin yerine 508. pozisyonda izolösin kodlanmaktadır. Hastaların geri kalan bölümünde çeşitli mutasyonlar bulunmaktadır ancak hiçbirinin prevalansı yüzde birkaçtan fazla değildir (kapalı toplumlar hariç) (1). İspanya, Bulgaristan, Yunanistan ve Türkiye gibi ülkelerde F508del mutasyonuna daha az sıklıkta rastlanır (23). F508del mutasyonundan sonra en sık 1677delTA mutasyonu görülmekte, bunu sırasıyla G542X ve 2183AA→G takip etmektedir (18). Türkiye'de bilinen 15 mutasyona ek olarak 3172delAC, P1013L ve M1028I gibi üç yeni mutasyon daha saptanmıştır. Türk toplumunda mutasyon dağılımının diğer etnik gruplara göre farklılık gösterdiği ifade edilmiş ve diğer popülasyonlarda görülmeyen yeni mutasyonlar tanımlanmıştır (27,28,29). Toplumumuzdaki KFTR mutasyon oranları Tablo 2'de gösterilmiştir (28).

Genotip ve fenotip arasındaki ilişki oldukça komplekstir. Şiddetli olarak nitelendirilen mutasyonlar (örn: F508del) çoğunlukla pankreatik yetersizlikle birlikte. Akciğer hastalığının şiddeti ve karaciğer hastalığının varlığı genotip ile tahmin edilemez. Bu durum organ disfonksiyonunun çevresel (edinsel) kısmını veya KF genini modifiye eden diğer genlerin varlığını düşündürür (1).

**Tablo 2.** Toplumumuzdaki KFTR mutasyon oranları

MUTASYONLAR	SIKLIĞI (%)
delF508	25,22
1677delTA	5,22
N1303K	4,25
2789+5G-A	3,05
G85E	3,82
G542X	2,62
2183AA-G	2,07
R334W	1,4
W1282X	1,0
Diğerleri	≤1

Mutasyon tipine göre aşamaların herhangi bir basamağında KFTR'nin yapımı etkilenmektedir. Bazen hiç sentezlenemediği gibi, bazen de kısmen fonksiyon gören bir protein yapılabilmektedir (30). KFTR geninin mutasyona uğramış olması hastalığın kliniğini belirler. KFTR gen mutasyonları, meydana gelen defektin sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre 6 grupta incelenir:

**Klas I mutasyonlar (Protein sentezinde bozukluk):** Mutasyonlar sonucunda KFTR geni yapısal olarak ağır derecede bozulmakta, prematür stop kodon varlığından ötürü protein sentezi erken sonlanmaktadır. Hastalarda ağır fenotipik özellikler ortaya çıkar (1,31). Bu mutasyonlar "nonsense" (anlamsız gen değişikliği), "frameshift" (çerçeve kayması) ve "splicesite" (dilimlenmiş) tipi mutasyonları içermektedir. G542X nonsense, 1677del TA ve 2183AA→G frameshift, 621+1G→T ise splicesite mutasyonlara örnektir.

**Klas II mutasyonlar (Protein olgunlaştırılmasında bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlarda protein sentezi bozulmaz ancak KFTR proteininin sentezlendikten sonra endoplazmik retikulumdaki olgunlaşma süreci etkilenir ve oluşan mutant protein endoplazmik retikulum veya golgi cisimciğinde parçalanır. KFTR, membranın apikal yüzeyine ulaşamadığı için Cl kanalları oluşamaz. Sonuç olarak

KFTR görev yapamaz ya da görevi azalmıştır (Örn. en yaygın mutasyon F508del ve N1303K, G85E mutasyonları).

**Klas III mutasyonlar ( KFTR düzenlenmesinde bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlar klor iyon kanalının regülasyonunda bozukluğa sebep olur. KFTR sentezlenir, işlenir ve apikal membrandaki yerini alır; ancak KFTR proteini, adenozin tri-fosfat (ATP) veya siklik adenozin monofosfat (cAMP) tarafından aktive edilmez. Apikal membranda fonksiyon görmeyen KFTR proteini vardır (Örn. G551D, V520F, R560T mutasyonları).

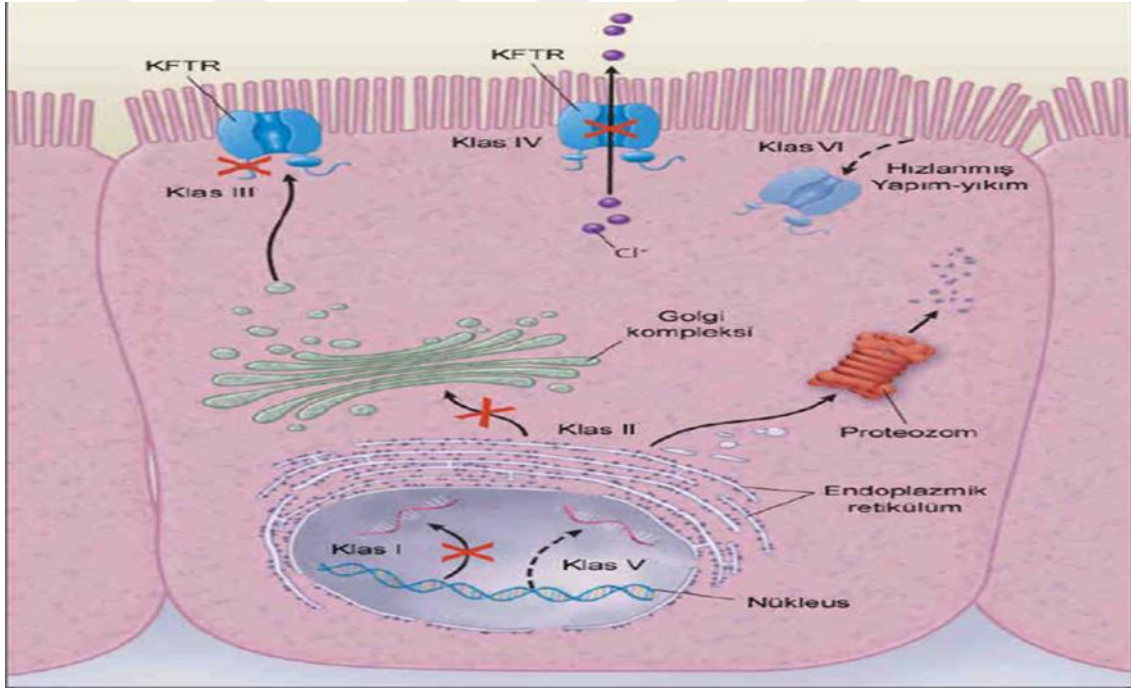
**Klas IV mutasyonlar (KFTR kanal geçirgenliğinde bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlarda protein sentezi, işlenmesi, proteinin hücre zarında yerleşimi ve fosforilasyonunda problem yoktur; ancak proteinin iyon iletimi bozulmuş ve klor iyonlarının taşınması olumsuz etkilenmiştir. Klor kanalının fonksiyonları ve pankreatik egzokrin fonksiyonları kısmen korunur. Bu mutasyonlar genellikle kanalın şeklini veren amino-asitleri etkilemektedir ve genellikle daha hafif seyirli klinik tablolara sebep olmaktadır (örn.R117H ve R334W).

**Klas V mutasyonlar (Aktif KFTR miktarında azalma):** Bu gruptaki mutasyonlar ise farklı mutasyonların kombinasyonuna bağlı olarak hem normal hem de anormal transkriptlerin oluşmasına neden olur. Normal ürünlerin oranı hastadan hastaya ve aynı hastanın farklı dokuları arasında farklılık gösterir. A445E mutasyonu bu grupta yer almakta olup hastalık hafif formdadır. Bu sınıfta yer alan mutasyonlar konjenital bilateral vas deferens yokluğu, obstrüktif azospermi, yaygın bronşektazi, alerjik bronkopulmoner aspergilloz, hipertripsinemi ve kronik pankreatit gibi KF'in kısmi fenotipik özelliklerini gösteren hastalıklara da yol açmaktadır.

**Klas VI mutasyonlar (KFTR'nin hücre yüzeyindeki stabilitesinde bozukluk):** Bu mutasyonlar KFTR'nin düzenleyici özelliklerini etkileyen nükleotit değişikliklerini içerir. Genin C terminalindeki 70- 98 aminoasit rezidüsünün kaybolması sonucunda gelişir. Bu değişiklik proteinin iyon kanalı fonksiyonunu etkilemez ancak proteinin stabilitesini olumsuz yönde etkiler. Protein daha hızlı yıkılır. Q1412X ve 279insA mutasyonları bu grupta yer almaktadır.



Sonuç olarak Klas I mutasyonlarda KFTR sentezinde defekt vardır. Klas II mutasyonlarda KFTR'nin yetersiz yapımı ve olgunlaşmasında gecikme; Klas III mutasyonlarda ise KFTR'nin düzenlenmesinde bozukluk bildirilmektedir. Grup IV mutasyonlarda anormal iletkenlik, grup V'te kısmi defektif oluşum, grup VI mutasyonlarda KFTR'nin hücre yüzeyindeki stabilitesinde bozukluk saptanmıştır. Grup I, II, III, mutasyonlar en sık görülen mutasyonlar olup pankreatik yetersizlikle birlikte, klinik daha ağır seyirli olup beklenen yaşam süresi kısadır. Buna karşılık grup IV, V, VI mutasyonları daha az görülmekte olup pankreas yetersizliği görülmez, klinik daha hafif seyirlidir (1,31,32,33,34). Şekil 1'de KFTR mutasyon sınıfları gösterilmiştir (1).



**Şekil 1. KFTR mutasyon sınıfları**

### **2.3. Patofizyoloji**

KFTR proteinini, hücre membranında Cl<sup>-</sup> iletiminden sorumlu, fonksiyonları cAMP bağımlı protein kinaz A (PKA) tarafından kontrol edilen bir proteindir. Adenozin tri fosfat (ATP) bağlayan proteinler süper ailesinin üyesidir. KFTR'nin defekti ter bezleri, solunum yolları, pankreas kanalları, bağırsaklar, safra kanalları ve vas deferens epitelinin plazma hücre membranında Cl<sup>-</sup> transportunun bozulmasına neden olur (1).

KFTR'nin epitelyal sodyum kanalları (EnaC) üzerine de etkisi vardır. Ayrıca ATP kanallarını düzenlemek, hücre içi vezikül transportunu sağlamak, hücre içi organellerin asidifikasyonu, kalsiyum ile aktive olan endojen Cl kanallarını inhibe etmek, bikarbonat-klor (HCO<sub>3</sub>)-Cl değişimine katılmak gibi birçok düzenleyici işlevi vardır (35).

KFTR başlıca iki membran motifinden oluşmaktadır: bunlardan her biri genellikle altı adet transmembran segmentten oluşan membran-kat eden bölge (MKB) ve ATP ile etkileşime giren nükleotiti-bağlayan bölgeden (NBB) meydana gelir. KFTR proteininde ayrıca bir regülatör (R) bölge bulunmaktadır. Sonuç olarak KFTR proteini iki MKB, iki NBB ve bir R bölgesi olmak üzere toplam beş bölgeden oluşmaktadır. Epitel hücrelerinde klorür kanalı olarak işlev gören KFTR proteinini diğer hücre kanallarından ayıran belli başlı özellikler bulunmaktadır. Bunların başında küçük, tek kanallı ileti sağlamaları; akım-voltaj ilişkisinin doğrusal olması; katyonlardan ziyade anyonlara özgü olmaları; anyon geçirgenliğinin  $Br^- \geq Cl^- > I^-$  sırasıyla olması; geçişi zaman ve voltaja bağımlı olmaksızın sağlamaları; aktivitelerinin cAMP bağımlı fosforilasyon ve hücre içi nükleotitler tarafından düzenlenmesi yer almaktadır (36). MKB'ler klorür iyonlarına özgü porların şekillenmesine, NBB'ler transport için gerekli olan enerji kaynağını oluşturmak üzere ATP'nin kendisine bağlanıp hidrolize olmasına, R bölgesinin fosforillenmesi ise kanalların aktive olup regüle olmasına katkı sağlamaktadır. KFTR proteininin işlev görebilmesi için öncelikle cAMP'nin R bölgesindeki serin rezidülerini fosforilleyerek protein kinaz A'yı uyarması gerekmektedir (37).

Hastalığın oluş mekanizması konusunda birden fazla hipotez bulunmaktadır. Bunlardan en eski ve yaygın olanı "düşük hacim hipotezi"dir (38). Bu hipoteze göre KFTR fonksiyonundaki bozukluk nedeniyle sodyum (Na) emilimi artar, Cl absorpsiyonu bozulur. Müküs salgılayan bezlerde sekresyonların viskozitelerinin artması sonucu perisiliyer sıvıda su hacmi azalır, obstrüksiyon ve buna bağlı olarak bez fonksiyonlarında kayıplar görülür (35). Diğer hipotez ise "Tuz fazlalığı hipotezi"dir. Bu hipoteze göre solunum yollarının sekresyonlarında artmış tuz oranına bağlı olarak "beta defensin, lizozim, laktoferrin" gibi antibakteriyel proteinlerin fonksiyonları bozulur ve bunun sonucunda mikroorganizmalar solunum yollarına daha kolay yerleşirler (39).

### 2.3.1. Akciğer Hastalığının Patogenezi

Kistik fibrozisli hastalarda akciğer tutulumu, hastaların klinik durumunu, yaşam kalitesini ve yaşam süresini belirleyen temel faktördür. KF'li hastaların %90'ından fazlasının ölüm sebebi solunum yetmezliğidir (40). Morbidite ve mortalitenin ana sebebi, ilerleyici bronşiektaziye ve sonuç olarak solunum yetmezliğine sebep olan kronik bronkopulmoner enfeksiyon ve inflamasyonlardır.

KFTR yokluğunda klor emiliminin bozulmasına bağlı olarak sodyum emilimi de azalır. Hava yollarını örten sıvı olması gerekenden fazla tuz ihtiva eder. Klor emilimi sodyum emiliminden daha fazla azaldığı için mukozal yüzey hiperpolarize hale gelir. Solunum yolu yüzey sıvısındaki yüksek klor ve sodyum konsantrasyonu endojen antimikrobial peptidlerin aktivitesini bozarak hastaların bakteriyel enfeksiyonlara yatkınlığını artırır (31).

Enfeksiyon olmasa bile KF'li hastaların bronkoalveoler lavaj sıvısında polimorfonükleer lökositler, inflamatuvar sitokinlerden interlökin 1 (IL1), interlökin 6, interlökin 8, tümör nekrozis faktör (TNF) alfa düzeyleri artar; anti-inflamatuvar sitokinlerden IL 10, lipoksin ve doksahexaenoik asit düzeyleri azalır (41, 42). KF ile ilişkili kronik akciğer hastalığındaki uzamış endobronşiyal proteaz aktivitesi, akciğere özgü bağışıklık cevabının birçok basamağına zarar verir (43). Artmış lökosit elastaz aktivitesi ise doğumsal ve edinilmiş bağışıklığın birçok elemanını olumsuz etkileyerek hava yolundaki direnci azaltır. Bu nedenle KF'yi sadece epitelyal bir hastalık olarak değil, aynı zamanda bir nötrofil hastalığı olarak da değerlendirmek gerekir (44).

Erken dönemde pulmoner değişiklikler; küçük hava yolları obstrüksiyonlarını bronşiyal bezlerin hipertrofisi takip eder ve sonuç olarak mukus tıkaçları meydana gelir. Hava yolu ve akciğer parankimindeki akut ve kronik inflamatuvar ve yapısal farklılaşmalar hava yolu obstrüksiyonlarına, havalanma artışına, yaygın fibrozis, doku kaybı ve ventilasyon-perfüzyon bozukluklarına neden olur (45,46). Altı aydan uzun yaşayan hastaların hepsinde farklı derecelerde bronşiektazi mevcuttur (47).

*Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stafilococcus aureus* ve *Haemophilus influenzae* gibi patojenler koyu kıvamlı, yapışkan olan solunum yolu salgılarına yerleşirler ve sonrasında etkin bir şekilde uzaklaştırılamazlar. Özellikle *P. aeruginosa* pulmoner mikro çevreye uyum sağlayarak makro koloniler (biofilmler) ve

antimikrobyal ajanların penetrasyonunu engelleyen kapsüler polisakkarit (aljinat) oluşturur (31).

### **2.3.2. Gastrointestinal ve Hepatobiliyer Sistemin Patogenezi**

KF'nin hepatobiliyer komplikasyonları akciğer hastalıklarından sonra ikinci en sık ölüm nedenidir (46). KF'li hastaların yaklaşık üçte birinde karaciğer tutulumu görülmektedir (48). KF'de hepatobiliyer hastalık, öncelikle safra kanalı epitel hücrelerinin etkilenmesi ile oluşur. KFTR proteini intra- ve ekstra-hepatik safra yolları epitel hücrelerinin apikal membranlarında yer alır. KFTR gen mutasyonu Cl sekresyonunu bozar ve sonuçta oluşan safra su ve elektrolitlerden fakir ve koyu kıvamlı olur (49). Koyu kıvamlı olan bu salgılar intrahepatik safra kanallarında tıkaçlar oluşturur. Karaciğer tutulumunun en erken bulgusu KF'li yenidoğanların yaklaşık %5'inde görülen neonatal kolestazdır (50, 51). Staza bağlı bakteri kolonizasyonları ve sitokinlerin oluşturduğu inflamatuvar ortam sonucu karaciğer progresif olarak periportal fibrozis, köprüleşme fibrozisi ve fokal biliyer siroza doğru ilerler. İleri evre hasarlarda ösefageal varisler, portal hipertansiyon ve bu komplikasyonlar sonucunda ölüm görülebilmektedir (46). Karaciğer hastalığının şiddeti ile genotip arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir.

KF'de bağırsaklar mukozal KFTR defektine, pankreas ve safra yolları tutulumuna bağlı olarak etkilenir ve bağırsaklarda malabsorbsiyona bağlı klinik belirtiler ortaya çıkar. Klor sekresyonundaki defekte bağlı yenidoğanlarda mekonyum ileusu ve obstrüktif bağırsak hastalığı meydana gelir (46). Mekonyum ileusu KF'nin en erken klinik belirtisidir ve yenidoğanlarda görülme sıklığı %15-20 civarındadır ve sıklıkla pankreas yetmezliği ve F508del mutasyonu ile ilişkilidir. Yenidoğan döneminde distal intestinal obstrüksiyon sendromu (DIOS), kabızlık, megakolon, rektal prolapsus da diğer gastrointestinal sistem problemleridir (1).

### **2.3.3. Pankreasın Patogenezi**

KF hastalarının %85-90'ında pankreatik yetmezlik vardır (1). Pankreas tutulumu ve KFTR genotipi arasında sıkı bir ilişki vardır; klas 1, 2, 3 mutasyona sahip olan vakalarda pankreatik yetmezlik daha sık gözlenir (52, 53).

Yenidoğan taraması ile KF tanısı alan hastaların %40'ının tanı anında pankreas fonksiyonları normal olmasına rağmen bu hastaların yarısından fazlasının 3-5 yaş civarında pankreas fonksiyonları bozulur (54).

Pankreasta KFTR özellikle sentrilobüler ve duktus epitel membran hücrelerinde bulunur. Normal koşullarda bu hücrelerden salgılanan sodyum bikarbonatla lümene salgılanan klor yer değiştirmektedir. KFTR proteininde defekt olması durumunda yer değiştirme yeterli düzeyde gerçekleştirilemeyip, salgının viskozitesi artmakta ve duktal obstrüksiyona neden olmaktadır. Pankreas kanallarında genişleme ile başlayan histolojik anormallikler, asiner atrofi ve fibrozis şeklinde progresyon gösterir (55). Pankreas fonksiyon bozukluğu olan hastaların prognozu genellikle kötüdür (46, 56).

Öncelikle pankreasın ekzokrin fonksiyonları etkilenirken sonrasında kronik pankreatit ve adacık hücre kaybına bağlı olarak insülin salınımında azalma ve insülin direnci sonucu diyabet gelişir. Diyabetes Mellitus (DM) % 2-5 oranında görülür ve insidansı yaş ile artar (53).

#### **2.3.4. Ter Bezlerinin Patogenezi**

Ter bezi fonksiyon bozukluğu sodyum-klor dengesinin sağlanamaması ile ilgilidir. Salgılanan ter, cilt yüzeyine ulaşmadan ter bezi kanalından geçerken iyon ve su konsantrasyonunda değişiklikler meydana gelir (31). Fizyolojik koşullarda sodyum ve klor, lümeden geçerken apikal sodyum kanalları ve KFTR proteini yoluyla kanal lümeninden aktif olarak geri emilir ve ter izotonik olarak üretilir (38).

KF'de emilim kanalı hücrelerinin apikal membranında KFTR'nin olmaması intraluminal membrandan geri emilen klor miktarında azalmaya sebep olur ve yüksek klor konsantrasyonlu (60-120 mmol/l) ter, kanallardan sekrete edilir (13, 57). Hastalarda klor geri emilimi ile sodyum geri emilimi de azalır. Sonuç olarak ter normalden daha tuzlu olur (6, 57).

#### **2.3.5. Renal Hastalık Patogenezi**

KF hastalarının Psödo Bartter sendromu eğilimleri vardır (40). KFTR, proksimal ve distal tübül epitelinin apikal bölgesinde bulunur. KFTR'nin proksimal

tübülden reseptör aracılı endositoz ile düşük molekül ağırlıklı proteinlerin geri emiliminde görev aldığı ve KF'li hastalarda bu proteinlerin renal geri emiliminde sorun olduğu düşünülmektedir (58).

### **2.3.6. Üreme Sistemi Hastalıkları ve Patogenezi**

Erkek KF hastalarında epididim, vas deferens ve seminal kanallarda çift taraflı atrofi vardır ve vas deferensin doğumsal yokluğu da görülebilmektedir. Konjenital bilateral vas deferans yokluğu (CBAVD), normal erkeklerin %3'ünde, KF hastalarının ise %95'inde infertiliteye neden olur (10, 59, 60). CBAVD izole bir anomali olarak görülebileceği gibi sistemik KF hastalığının bir parçası olarak da ortaya çıkabilir. Bu hastaların %75'inde KFTR geninde bir veya iki mutasyon ve intron 8'de 5T polimorfizmi; %10'unda tek bir mutasyon veya tek bir 5T polimorfizmi bulunurken; %15'inde ise herhangi bir mutasyon ya da 5T polimorfizmi bulunmamaktadır (59, 61). İnfertilite, çoğunlukla obstrüktif azospermiye bağlıdır. KF'li kadınlar ise fertildirler, fakat servikal mukus kalınlığındaki ve vizkositesindeki artış gebe kalmayı zorlaştırır.

### **2.3.7. Diğer tutulumlar**

KF'de sekresyonlarla dolu olan paranazal sinüsler, hiperplastik ve hipertrofik sekretuar elemanlarla sıvalıdır. Sinüslerin içerisinde polipoid lezyonlar, mikopyelozel ve kemik erozyonu vardır. Nazal mukoza inflamatuvar hücreler içerebilir, ödemli olabilir, büyük veya multipl polipler oluşturabilir (1).

Beslenmeden bağımsız olarak KF hastalarında, KFTR mutasyonları ile azalmış kemik mineral dansitesi arasında ilişki bulunmuştur. Hastada F508del mutasyon varlığı azalmış kemik mineral dansite riskini arttırabilir (61).

KF'li hastalarda beslenme bozukluğu sonucu gelişen büyüme geriliği, prognozu etkileyen önemli bir problemdir. Yağda eriyen vitaminler, esansiyel yağ asitleri, prealbümin, albümin, trigliseritler, kolesterol ve bazı eser elementler malnütrisyonndan etkilenir. Erken dönemde beslenme desteği başlanmalıdır.

## **2.4. Klinik Bulgular**

KF solunum sistemi, gastrointestinal sistem, pankreas, karaciğer, ter bezleri ve genitouriner sistemi etkileyen multisistem bir hastalıktır. Hastalarda ilgili organ sistemlerine ait bulguların hepsi bir arada bulunmayabilir (1). KF hastanın yaşına, genetik mutasyonun tipine, organların tutulumuna ve komplikasyonlarına göre farklı klinik bulgular gösterir. Ortalama tanı yaşı 6 aydır ve hastaların %90'ı sekiz yaşına kadar tanı alır. Amerika 2009 yılı verilerine göre ortalama yaşam süresi 35 yıla uzamıştır.

Persistan solunum yolu sikayetleri, büyüme geriliği, malnütrisyon, anormal gaita, mekonyum ileusu, intestinal obstrüksiyon, aile hikayesi, elektrolit ve asit-baz dengesizlikleri en sık ilk başvuru nedenleridir (1). Tablo 3' te ABD 'de 25000' den fazla KF' li hastanın başvuru bulguları gösterilmiştir (1).

### **2.4.1. KF' de akciğer bulguları**

KF'li hastaların akciğer dokuları doğumda normal olmasına rağmen zamanla akciğerde mukus tıkaçlarına ve inflamatuvar cevaba bağlı olarak değişiklikler meydana gelir (62). Akciğer hastalığının progresyon hızı morbidite ve mortalitenin ana belirleyicisidir.

Akciğer tutulumunun en sık görülen semptomu öksürüktür. Öksürük ilk dönemlerde kuru ve kesik kesik iken sonraki dönemlerde prodüktif hale gelir, balgam genellikle pürülandır (1). Süt çocukluğu döneminde anormal mukus sekresyonu ve buna bağlı gelişen bronş obstrüksiyonu tipiktir. Okul öncesi dönemlerde tedaviye geç yanıt veren akciğer enfeksiyonları görülürken; atelektazi, hemoptizi, pnömotoraks, allerjik bronkopulmoner aspergillozis (ABPA), kor pulmonale, balgam miktarı ve infiltrasyonda artış, akciğer grafisinde yeni lezyon oluşumu, kilo kaybı ile karakterize pulmoner alevlenmeler sonraki dekatlarda görülmektedir (1,6,62). ABPA fungal antijenlere karşı oluşan, immün globülin E (IgE) aracılı aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bronşiektazi KF'li hastalarda sık görülen bir komplikasyondur. Bronşiektazinin üst loblarda ve iki taraflı görülmesi KF'ye özgü bir bulgudur (63).

Erken yaşlarda en sık karşılaşılan KF patojenleri Staphylococcus aureus ve Haemophilus influenzae iken ileri dönemlerde ise en sık saptanan patojen Pseudomonas

aeruginosa'dır. P. aeruginosa ile enfekte olan hastalar iyi tedavi edilmediği takdirde mukoid olmayan geçici kolonilerin yerini aljinat örtü ile kaplı olan mukoid koloniler almaktadır. Aljinat örtü, P. aeruginosa kolonilerini antibiyotiklerden korur (35). Daha nadir görülen patojenler ise Stenotrophomonas maltophilia, Achromobacter xylosoxidans ve Burkholderia cepacia'dır. KF hastalarında fungal enfeksiyonlara ve kolonizasyona da sık rastlanır. Son dönem solunum yetmezliğinin tedavisi akciğer transplantasyonudur.

**Tablo 3.** ABD 'de 25000' den fazla KF' li hastanın başvuru bulguları

ÖZELLİK	%	2007' de ortaya çıkan hastaların yüzdesi
Akut veya persistan respiratuar semptomlar	45,6	31,2
Büyüme geriliği, malnutrisyon	37,5	18,7
Anormal dışkı	28,8	13,8
Mekonyum ileusu, intestinal obstrüksiyon	19,9	14
Aile hikayesi	16	12
Yenidoğan taraması	6,4	30,7
Elektrolit, asit-baz anormalliği	4,2	1,1
Rektal prolapsus	3,3	3,3
Nazal polip, sinüs hastalığı	3,3	4,6
Hepatobiliyer hastalık	1,2	1,4
Diğer*	3-4	6,7

\*Pseudotümör serebri, azospermi, akrodermatitis benzeri döküntü, vitamin eksikliği durumları, hipoproteinemik ödem, kanamalı hipoproteinemi ve mekonyum tıkaç sendromunu içerir.

#### 2.4.2. KF'de hepatobiliyer tutulum

Karaciğer disfonksiyonu sıklıkla ilk 15 yılda ortaya çıkar ve hastaların yaklaşık %30'unda saptanmıştır (1). Hepatobiliyer tutulum asemptomatik karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklikten biliyer siroza kadar değişebilen geniş yelpazede görülebilir.

Karaciğer tutulumunun en erken bulgusu KF'li yenidoğanların yaklaşık %5'inde görülen neonatal kolestazdır (64). Diğer bulguları ise sarılık, asit, özefageal varislerden hematemez ve hipersplenizmdir. Yenidoğanda hepatit benzeri bir tablo ve



steatoza bağlı masif hepatomegaliye neden olabilir (1). Karaciğer hastalığına ve/veya K vitamini eksikliğine bağlı protrombin zamanında uzama, sık rastlanan bulgulardan biridir.

Karaciğer yetmezliği ve hepatik ensefalopati nadir görülen ve geç ortaya çıkan komplikasyonlardır (65). KF’de karaciğer hastalığının en spesifik lezyonu olan fokal biliyer siroz hastaların sadece %5-7’sinde semptomatik olur (1).

İlerleyen yaşlarda kolelitiazis ve kolesistit görülme oranı artmaktadır. Kolelitiazise ikincil olarak biliyer kolik yaşamın ikinci dekatı ve sonrasında ortaya çıkabilir.

Karaciğer hastalığı genotipten bağımsız oluşur fakat pankreatik yetersizlik ve mekonyum ileusu ile ilişkilidir. Hastalığın progresyonu önlenemez ama ursodeoksikolik asit kullanımı ile karaciğerin biyokimyasal profilinde iyileşme sağlanmaktadır (1).

#### **2.4.3. KF’de intestinal tutulum**

Gastrointestinal sistemde en erken ortaya çıkan bulgu, mekonyum ileusu’dur. KF’li yenidoğanların % 15-20’sinde ileum tamamen mekonyum ile tıkanmıştır (1). Sıklıkla pankreas yetmezliği ve delta F508 mutasyonu ile ilişkilidir. Mekonyum ileusu prenatal dönemde oluşur. Hayatın ilk 24-48 saatinde karında distansiyon, safralı kusma ve mekonyum çıkaramama görülür. Karın grafilerinde hava-sıvı seviyesi ile birlikte genişlemiş bağırsak ansları ve alt orta karın bölgesinde granüler, buzlu cam görünümünde materyal birikimi görülür. Nadiren bağırsak duvarının intrauterin dönemde rüptürüne bağlı mekonyum peritoniti gelişir ve radyolojik olarak peritonda veya skrotumda kalsifikasyonlar saptanır (1). Mekonyum ileusu olan bebeklerde intestinal obstrüksiyon, peritonit, intestinal atrezi ve perforasyon gibi komplikasyonlar ortaya çıkabilir(40). İlerleyen yıllarda çocuklarda mekonyum ileus ekivalanı olarak DIOS, ince bağırsaklarda ve ileoçekal bileşkede tekrarlayan obstrüksiyon atakları ile kendini gösterebilir. (67).

Rektal prolapsus 5 yaş altı olan KF hastalarının %10-20’sinde görülmektedir ve bazen KF’nin ilk bulgusu olabilir. Rektal prolapsus kendiliğinden iyileşebilir. Uygun

pankreatik enzim replasman tedavisi ve kabızlığı olan hastalarda laksatif verilmelidir (68).

KF'li hastalarda gastroözafagiyal reflü (GÖR) ve özafajit %25-76 oranında görülür. GÖR'ün akciğer hastalığı ve tedavisinde kullanılan, alt özafagus sfinkterini gevşeten ilaçlara bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. GÖR saptanan hastaların yaklaşık %50'sinde özafajit görülür (68).

Hastalarda genellikle kilo alamama ve malabsorbsiyon bulguları vardır. Aynı yaş grubu sağlıklı çocuklar ile karşılaştırıldığında erişkin döneme kadar büyüme ve gelişmede gerilik gözlenmektedir. KF'de büyümeyi etkileyen majör faktörler temel olarak beslenme yetersizliği, kronik inflamasyon, DM, karaciğer hastalıkları ve kortikosteroid tedavisidir. Hastaların takibinde büyüme ve gelişmenin değerlendirilmesi, tedaviye cevabın izlenmesi açısından çok önemlidir.

#### **2.4.4. KF'de pankreas tutulumu**

Pankreatik yetmezlik hastaların %85-90'ında görülmekle birlikte doğumda kistik fibrozların %65'inde görülür. Pankreas yetersizliği KF hastalarında kötü prognozu gösterir. Eski KF topluluklarında delta F508 mutasyonu taşımayan birleşik heterozigotların %60'ında pankreas fonksiyonları normal olmasına rağmen; delta F508 homozigot mutasyonu olan hastaların hepsinde, birleşik heterozigot olan hastaların ise %70'inde pankreas yetmezliği saptanmıştır (69).

Pankreasta %98 fonksiyon kaybı olması durumunda malabsorbsiyon tablosu gelişir. Pankreas yetersizliği yağ, protein, karbonhidrat ve yağda eriyen vitaminlerin emilim bozukluğuna neden olabilir ve bunlara bağlı klinik ortaya çıkabilir. Steatore, büyüme geriliği, hipoproteinemi ve ödem, abdominal distansiyon, tekrarlayan karın ağrıları, tekrarlayan pankreatit, anemi, vitamin eksikliklerine bağlı (vitamin E eksikliğine bağlı hemoliz, periferik nöropati, vitamin K eksikliğine bağlı kanama diyatezi ve vitamin A eksikliğine bağlı gece körlüğü, artmış kafa içi basıncı bulguları, çinko eksikliğine bağlı akrodermatit, D vitamini eksikliğine bağlı osteopeni, osteoporoz, depresyon) bulgular görülebilir (70). Hastalara pankreatik enzim replasmanı yapılması gerekir.

Egzokrin pankreas yetersizliğine ilave olarak poliüri ve kilo kaybının aralarında olduğu hiperglisemi ve glikozüri özellikle ikinci dekatta ortaya çıkabilir. 11-17 yaş arası hastaların %8'inde ve 25 yaş üzeri hastaların %30'unda kistik fibrozis ilişkili DM saptanmıştır. Çoğu vakada ketoasidoz olmaz ancak 10 yıldan fazla yaşayan hastalarda göz, böbrek ve diğer vasküler sistemler ile ilgili komplikasyonlar bildirilmiştir (1).

#### **2.4.5. KF'de Genitoüriner sistem tutulumu**

Kistik fibrozlarda cinsel gelişim sağlıklı bireylere göre yaklaşık iki yıl gecikir. Erkek hastaların wolf kanallarının gelişim defekti nedeniyle %95'inden fazlası azospermik olmasına rağmen cinsel fonksiyonları genellikle bozulmamıştır. İnmemiş testis, inguinal herni, hidrosel insidansı beklenenin üzerindedir. Adolesan dönemdeki kız hastalar pulmoner hastalıklara bağlı alevlenmelerden dolayı sekonder amenore yaşayabilirler. Kız hastalarda anatomik bozukluk yoktur ancak servisit ve servikal kanalda yapışkan mukus birikmesi bildirilmiştir. Buna bağlı olarak fertiliteleri azalmıştır. Gebelik süreci akciğer fonksiyonları iyi olan kadın hastalarda iyi tolere edilebilirken; orta veya ciddi akciğer problemleri olanlarda klinik, gebelik döneminde kötü progresyon gösterir (1).

#### **2.4.6. Psödo-Bartter Sendromu**

KF hastalarında hipokalemik, hipokloremik, hiponatremik metabolik alkaloz, normal kan basıncı ve buna eşlik eden renin ve aldesteron yüksekliği ile karakterize Psödo-Bartter sendromu gelişebilir. İştahsızlık, kusma, kilo kaybı ve uykuya meyil gibi ek şikayetleri de vardır. KF'li süt çocuklarında görülme sıklığı %12-16,8 civarındadır. Bunun sebebi, süt çocuklarının vücut yüzey alanının vücut hacmine oranının fazla olmasıdır. Aileler uygun hidrasyon ve tuz alımı konusunda bilgilendirilmelidir. Ataklar intravenöz sıvı ve sodyum klorür replasmanı ile tedavi edilmelidir.

#### **2.4.7. KF' de ter bezleri tutulumu**

Tuz kaybı olan KF' li küçük çocuklarda aşırı miktardaki tuz kaybı epizodlarına, özellikle sıcak havalarda ve gastroenterit durumunda yatkınlık olur. Bu

çocuklarda klinik, hipokloremik alkolozla kendini gösterir. Genellikle ebeveynler tarafından çocuklarının cildi öpüldüğünde tuz tadı aldıkları bildirilmiştir. Birkaç genotipin normal ter klor değerleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (1).

## 2.5. Tanı

Kistik fibrozis tanısı, klinik bulguların biyokimyasal veya genetik tetkikler ile bütünleştirilmesiyle konur (71,72,73). Bazı vakalarda tanıda spesifik mutasyon testi, nazal potansiyel fark, immünreaktif tripsinojen, gaita yağ hazmi, pankreatik enzim sekresyonu faydalı olmasına rağmen, ter testi asıl tamamlayıcı laboratuvar testidir. Pozitif ter testi sonucuna ( $Cl > 60$  mEq/ lt) ek olarak bir veya daha fazla özellikle tanı konur; tipik kronik obstrüktif akciğer hastalığı, ekzokrin pankreatik yetmezlik ve pozitif aile hikayesi (1). KF'nin klinik özellikleri ve tanı kriterleri sırasıyla Tablo 4 ve Tablo 5'te gösterilmiştir (1).

**Tablo 4.** KF'nin klinik özellikleri

<b>Kronik sinopulmoner hastalıklar ile kendini gösteren anormallikler</b> Tipik KF patojenleri ile persistan kolonizasyon (S. aureus, H. influenza, P. aeruginosa ve B. cepacia) Kronik öksürük ve balgam üretimi Devamlı akciğer grafisi anormalliği (broşiektazi, atelektazi, infiltrasyon) Wheezing ve hava hapsi ile karakterize solunum yolu obstrüksiyonları Nazal polipler Çomak parmak
<b>Gastrointestinal ve nutrisyonel anormallikler</b> <b>İntestinal:</b> mekonyum ileusu, distal intestinal obstrüksiyon sendromu, rektal prolapsus <b>Pankreatik:</b> pankreatik yetmezlik, rekürren pankreatit <b>Hepatik:</b> kronik karaciğer hastalığı veya histolojik olarak kanıtlanmış fokal biliyer siroz veya multilobüler siroz <b>Nutrisyonel:</b> gelişme geriliği (protein-enerji malnutrisyonu), hipoproteinemi ve ödem, yağda eriyen vitamin eksikliklerine sekonder komplikasyonlar
<b>Tuz kaybı sendromları</b> Akut tuz kaybı, kronik metabolik alkaloz
<b>Ürogenital anormallikler</b> Erkeklerde obstrüktif azospermi

**Tablo 5.** Kistik fibrozisin tanı kriterleri

Tipik klinik bulguların varlığı (tablo bir önceki)
VEYA
Kardeşte KF öyküsü
VEYA
Pozitif yenidoğan tarama testi
+
KFTR disfonksiyonu için laboratuvar kanıtı/ KF transmembran regülatör
Farklı günlerde alınan 2 ayrı yüksek ter klor konsantrasyonu
VEYA
2 KF mutasyonu tanımlanması
VEYA
Anormal nazal potansiyel farkı ölçümü

### 2.5.1. Prenatal tanı

KF tanısı gebeliğin 10. haftasında alınan koryonik villus örneğinden veya 15-18. haftalarda yapılan amniosentez sıvı kültürlerinden elde edilen fetal hücrelerden yapılan DNA bağlantılı ve direkt mutasyon analizleri sonucu yüksek sensitivite ve spesifite ile konulur ya da ekarte edilebilir (62).

Bir hasta üzerinde uygun testlerin yürütülmesi için bir takım soruların cevaplanması gerekir:

1. Ailede KF öyküsü var mıdır?
2. Ailede KF öyküsü varsa, etkilenmiş kişinin genotipi biliniyor mu?
3. Test edilen kişinin etnik kökeni nedir?

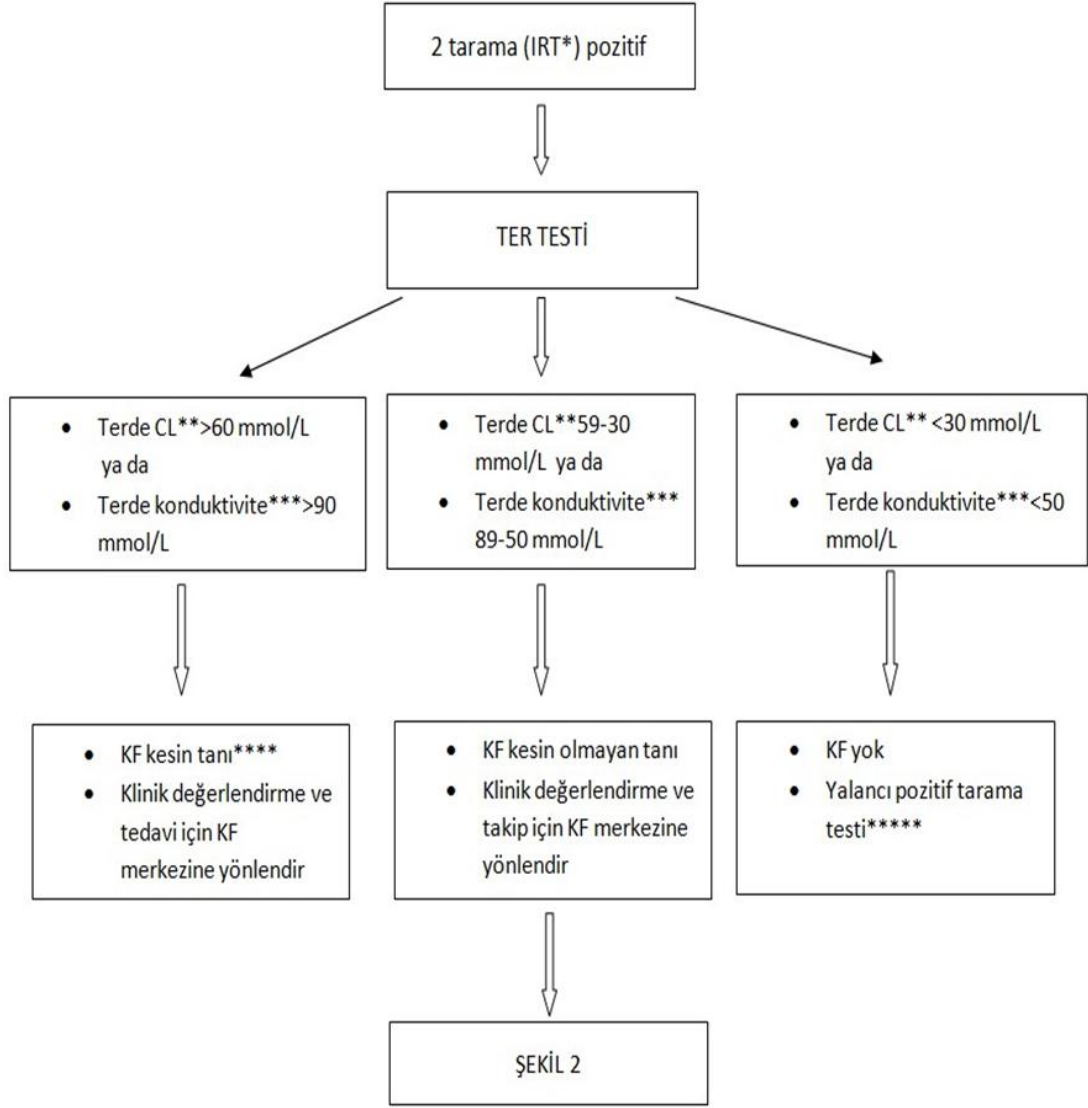
Bir örnek üzerinde uygulanan analizin tipi ve kapsamı test edilen kişinin aile öyküsüne bağlıdır. Ailenin mutasyon analizi önceden yapılmış ise potansiyel taşıyıcılar veya fetusun mutasyon analizi hakkında bize yardımcı olabilir (1). Bir taşıyıcının eşini, standart panel problemleri ile tetkik etmek %90 sensitiviteye sahiptir ve ileriki dönemlerde testlerin garantili olması açısından KFTR geninin tümüne sekans analizi uygulanması gerekir. Prenatal test, KF aile hikayesi olanlara ve KF'li kadınların eşlerine ek olarak,

bütün çocuk planlayan çiftlere önerilebilir ancak Amerikan Tıbbi Genetik Bölümü ve Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Bölümü, özellikle Aşkenazi yahudilerinde, beyaz ırkta ve diğer özgün etnik gruplarda KF taşıyıcılarının taranmasını önerir. Etkilenmiş olan çocukların kardeşlerinde özellikle tarama önerilmektedir (1).

### **2.5.2. Yenidoğan taraması**

KF'li yenidoğan infant taramasında birçok algorithmden yararlanılır. İmmün reaktif tripsinojen (IRT) ve kanda DNA analizi kombinasyonu sonrasında ter testi ile doğrulanabilir (1). Etkilenmiş olan KF'li yenidoğanlarda doğumda IRT, karakteristik olarak yüksektir, ancak bu durum sağlıklı infantlarda da olabilir. KF'li yenidoğanlarda IRT değerleri birkaç ay yüksek kalma eğiliminde olmasına rağmen yanlış pozitif olanlarda genellikle yaşamın ilk haftalarında normal değerlerine dönerler (74). Doğumdan itibaren yaklaşık sekiz hafta sonra başlangıçtaki IRT değeri negatifleşmişse sonuç, genellikle anlamlı olmamasına rağmen yüksek değerler hala devam ediyorsa KF tanısını güçlü olarak destekler (75). Tarama testi %95 sensitiviteye sahiptir. İkinci testinde IRT hala yüksek ise veya DNA analizinde bir veya iki KFTR mutasyonu saptanmış ise, kesin genetik tanı ve ter testi analizi için ve KF olduğu doğrulanan hastalara kapsamlı tedavi başlanması için KF merkezine yönlendirilmesi gerekir (76).

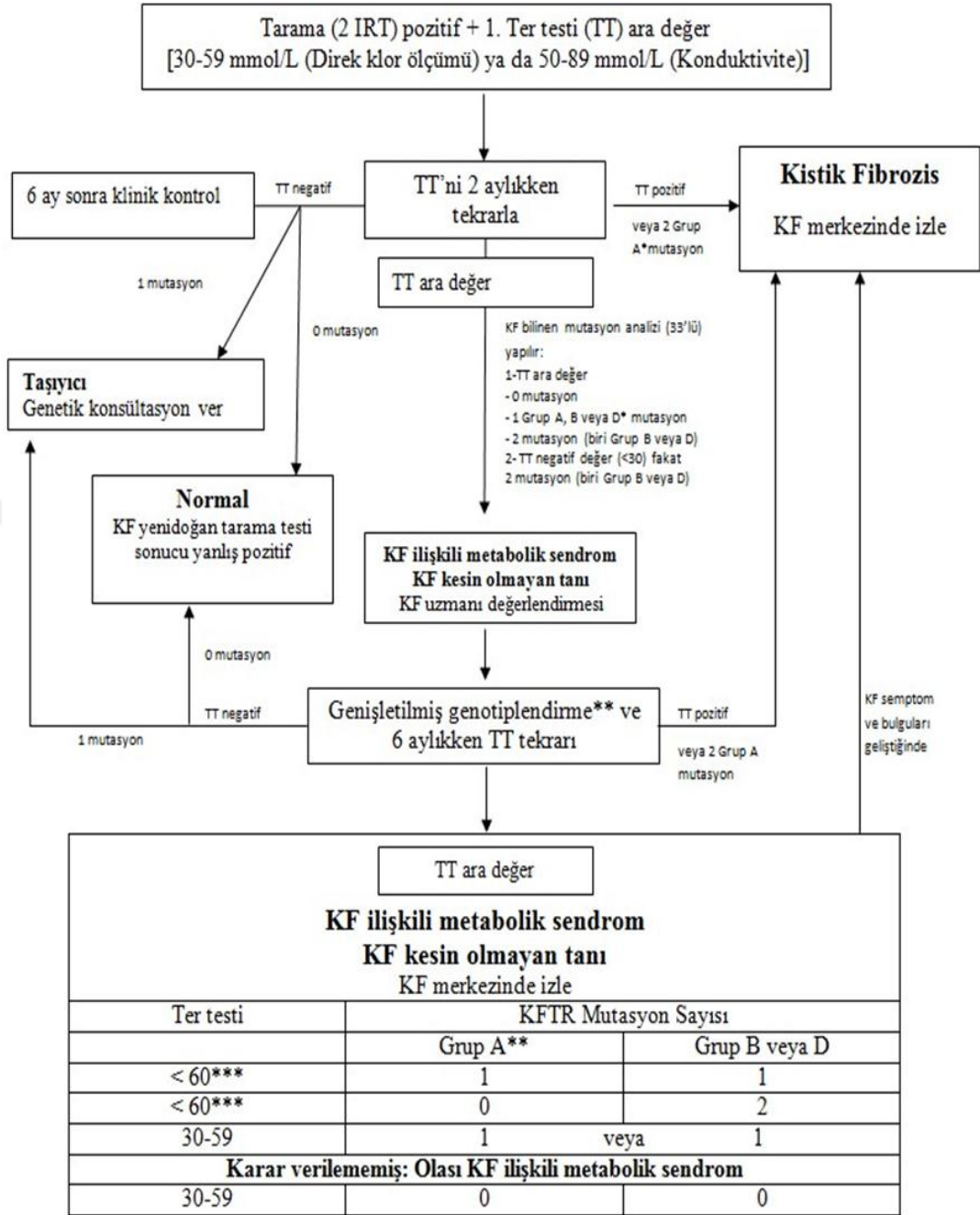
Yenidoğan döneminde tanı konulması erken nutrisyonel eksiklikler, uzun dönemde ortaya çıkan gelişme geriliği ve belki de kognitif fonksiyonların etkilenmesinin önüne geçebilir (1). Birçok ülkede yenidoğan tarama programı uygulanmaktadır, ülkemizde de uygulanmaya başlanmıştır. Yenidoğan tarama testi sonrası hastaları yönlendirme şeması Şekil 2'de gösterilmiştir (77). İlk ter testi ara değer çıkan hastaların izlem şeması ve "KF ilişkili metabolik sendrom- KF kesin olmayan tanı" tanımlanması Şekil 3'de gösterilmiştir (77).



**Şekil 2.** Yenidoğan tarama testi sonrası hastaları yönlendirme şeması

\*IRT: İmmun reaktif tripsinojen ,\*\*Terde direk klor ölçümü yapan aletlerin sonuçları

\*\*\*Terde konduktivite (İletkenlik) ölçümü yapan aletlerin sonuçları , \*\*\*\*Kesin tanı için mümkünse 2 ter testi pozitifliği gereklidir. \*\*\*\*\*Yenidoğan tarama testi negatif çıkan ya da tarama testi pozitif çıktığı halde ter testi negatif çıkan hastalarda da yaşamın ilerleyen yıllarında KF ortaya çıkabildiğinden, ilerleyen zamanlarda KF klinik bulguları gösteren hastalar bu açıdan değerlendirilmelidir.



\*A=KF'ye neden olan, B=KFTR-ilişkili hastalık, D=Klinik ilişkisi bilinmeyen veya belirsiz olan  
\*\* KF tüm gen dizi analizi, duplikasyon ve delesyon testi ve IVS-8-TG tekrarları için değerlendirilme.  
\*\*\*Bu durumda ter testinin alt limiti belirlenmemiştir.

**Şekil 3.** İlk ter testi ara değer çıkan hastaların izlem şeması ve "KF ilişkili metabolik sendrom- KF kesin olmayan tanı" tanımlanması



### 2.5.3. Ter testi

KF hastalarında KFTR fonksiyon kaybı sonucu; ter duktuslarından sodyum ve klor reabsorbsiyonunun azalması nedeniyle, terde sodyum ve klor seviyesi yükselir (78). Klor KFTR fonksiyonu ile ilişkilidir fakat sodyum KFTR'den bağımsız mekanizmalarla da ilişkili olabilir. Bu yüzden klor, ter testinde asıl analiz edilen iyondur. Yapılan ölçümlerde sodyum ile klor arasında görülen büyük fark hatalı ölçümü gösterir. Terin toplanması Gibson Cook yöntemi ya da Macroduct ter toplama yöntemi ile yapılmaktadır. Her iki yöntemde de ön kola 5mV'luk elektrik akımı verilerek pilokarpin iyontoforez yöntemiyle ter stimule edilir. Pilokarpin iyontoforez yöntemi, KF için çok sensitiv ve spesifik bir testtir. Pilokarpin iyontoforez yöntemi ter üretimi, ter birikimi ve terdeki klor konsantrasyon analizini içerir. Ter testi üretim hızını artırmak için pilokarpin nitrat denilen kolinerjik agonist verilerek uyarı yapılır (78). Elektrik akımı pilokarpini önkol cildinin içine taşır ve ter bezlerini lokal stimüle eder (1). Şekil 24'de Gibson Cooke yöntemi ve Şekil 5'de Macroduct yöntemi gösterilmiştir (40).



**Şekil 4.** Gibson Cooke yöntemi



**Şekil 5.** Macroduct yöntemi

Ter testinde 40mmol/L'nin altındaki değerler anlamlı değildir. 40 - 59 mmol/L arasındaki değerler şüpheli değerlerdir ve bazı durumlarda sonucu netleştirmek için ileriki zamanlarda ter testini tekrarlamak gerekebilir. Terde elektrolitler ilk 24 saatte yükselmeye başlar, bu yüzden hayatın ilk 48 saatinde infantlara ter testi yapılmaması önerilir. Ter testi 2 haftadan büyük ve vücut ağırlığı 3 kg'dan fazla olan, dehidratasyon bulgusu olmayan bebeklere uygulanabilir (78). Genellikle ter testi >60mmol/L üzerinde ise KF için diagnostik olarak düşünülür (79). Ödem, yetersiz ter volümü, dilüsyon, eliminasyon, tartı hataları, cilt kurulanmasındaki yanlışlıklardan dolayı farklı test sonuçları ortaya çıkabilir. Ter testi cut-off değerleri yapılan yöntemle göre farklılık göstermektedir. Ter testi sonuçları ve yorumlanması Tablo 6'da verilmiştir(77). Yalancı pozitif ve yalancı negatif ter testi sonuçları Tablo 7'de verilmiştir (1) .

**Tablo 6.** Ter testi sonuçları ve yorumlanması

<b>Yöntem</b>	<b>Yaş grupları</b>	<b>Ter testi negatif (KF olasılığı çok düşük)</b>	<b>Ara değer (Test tekrarı gerekir)</b>	<b>Ter testi pozitif (KF tanısını destekler)</b>
<b>Terde direk klor ölçümü</b>	İlk 6 ay	<30 mmol/L	30-59 mmol/L	>60 mmol/L
	6 ay ve üzeri	<40 mmol/L	40-59 mmol/L	>60 mmol/L
<b>Terde konduktivite ölçümü</b>	Her yaş grubu	<50 mmol/L	50-89 mmol/L	>90 mmol/L

**Tablo 7.** Yalancı pozitif ve yalancı negatif ter testi sonuçları

<b>YALANCI POZİTİF TER TESTİ SONUCU</b>	<b>YALANCI NEGATİF TER TESTİ SONUCU</b>
Egzema (atopik dermatit) Ektodermal disgenezi Malnutrisyon/ büyüme geriliği/ yoksunluk, anoreksi nervoza Konjenital adrenal hiperplazi, adrenal yetersizlik Glukoz-6-fosfat eksikliği, fukozidoz Mauriac sendromu Ailesel hipoparatiroidizm, hipotiroidizm Nefrojenik diyabetes insipitus Psödohipoaldosteronizm Klinefelter sendromu Ailesel kolestaz sendromu Otonomik disfonksiyon Prostaglandin E infüzyonu Munchausen sendrom by proksi	Dilüsyon Malnutrisyon, ödem Yetersiz ter miktarı, hiponatremi Ter kanalı fonksiyonu korunurken KFTR mutasyonunun varlığı

#### 2.5.4. Atipik kistik fibrozis

Vakaların büyük bölümünde KF tanısı, klinik özellikler ve ter testinin >60 mmol/L olması ile konur. Ancak küçük bir vaka grubunda; KF hastaları, şüpheli aralıkta (40-59 mmol/L) veya yüksek-normal (30-39 mmol/L) ter klor seviyelerine sahiptir. Örneğin, bu hastaların pankreas yetmezliği yoktur ve bu hastalar hayatlarının daha geç dönemlerinde tanı alırlar. Çünkü onlar tanımlanan klasik KF özelliklerine sahip değildirler, onlar bazen "atipik", "non-klasik" veya "hafif KF" olarak adlandırılırlar (7).

Örnek verilecek olursa; ergenlik dönemindeki hastaların allerji, ciddi sinüs hastalığı, polipleri olup ter klor seviyesi 48mmol/L olması veya genç hastanın astım tedavisine olumsuz cevap veren kronik öksürük, spirometride hafif obstrüktif patern ile birlikte ter klor seviyesinin 52 mmol/L olmasıdır. Vakalarda, KF'nin diğer klinik özellikleri iyice değerlendirilmeli ve tanısal çalışmalar takip edilmelidir. KFTR geninde mutasyonun varlığı veya nazal potansiyel farkı ölçümü ile KFTR fonksiyon bozukluğu gösterilmelidir. Hastalar genellikle tek organ hastalığı ile başvururlar. Ter testi şüpheli olan hastaların değerlendirilmesinde önerilen tanısal çalışmalar Tablo 8'de verilmiştir. Klinik sonuçları ile ilişkili olarak bazı KFTR mutasyon örnekleri Tablo 9'da verilmiştir (77).

**Tablo 8.** Şüpheli ter testi sonucu olan hastaların değerlendirilmesinde önerilen tanısal çalışmalar

<b>Önerilen tanısal çalışmalar</b>
Solunum yolu hastalıklarının değerlendirilmesi; Solunum yolu kültürleri (orofarengeal, balgam, bronkoalveolar lavaj) Bronşiektazinin bilgisayarlı tomografi ile değerlendirilmesi Paranasal sinüslerin değerlendirilmesi Pankreas fonksiyonlarının fekal elastaz ölçümü ile değerlendirilmesi Karaciğer fonksiyonlarının değerlendirilmesi; Karaciğer biyopsisi Erkek genital sisteminin değerlendirilmesi; Semen analizi, ürolojik muayene, skrotal araştırma, ultrasonografi

**Tablo 9.** Klinik sonuçları ile ilişkili olarak bazı KFTR mutasyon örnekleri

<b>Grup A</b>	<b>Grup A veya B</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup B veya C</b>	<b>Grup C</b>	<b>Grup D</b>
KF-oluşturan		KFTR-ilişkili bozukluklar		“Bilinen klinik sonuçları yok”	“Anlamı bilinmiyor ya da belirsiz”
1078delT 1677delTA 1898+1G>A 2184insA 2789+5G>A 3120+1G>A 3659delC 3849+10kbC>T 621+1G>T 711+1G>T A455E E822X F508del G542X G551D G85E I507del N1303K R1158X R1162X R334W R347P R553X R560T S549N TG13-T5 W1282X	711+3A>G D1152H D565G L206W R117H-T5 R117H-T7 R297Q TG12-T5 TG13-T5	L997F M952I R668C- G567AD443Y R74W-D1270N	TG11-T5	2752-15G/C 875+40A/G E528E F508C I148T I506V I521F I807M M470V P1290P R75Q T854T	Birçok missense mutasyon *

### **2.5.5. Nazal potansiyel fark ölçülmesi**

Nazal potansiyel fark (NPF) ölçülmesi uzun yıllardan beri vardır. İlk ölçümler 1980'lerin başında Knowles ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (80). Daha sonra bu temel yöntem devam etmiş ancak yeni modifikasyonlar yapılmıştır. Burun mukozasından "transepitelyal potansiyel farkı"nın ölçülmesi, KFTR proteinin aktivitesinin değerlendirildiği elektrofizyolojik bir testtir (80, 81). KF'de Na Emiliminde artma ve Cl geçirgenliğinde azalma olması nedeniyle solunum yolu ve intestinal epitelde transepitelyal bir fark oluşur. Na transport inhibitörü olan amilorid verildiği zaman fark daha da artar, isoproterenol gibi  $\beta$  adrenerejik agonist verildiği zaman ise voltaj farkı ortadan kalkar. Normalde yüksek potansiyel ölçülürken, klor içermeyen bir solüsyon ve izoproterenol perfüzyonu sonrası düşük potansiyel farkı oluşması KF hastalığına işaret eder.

Nazal potansiyel farkı ölçümleri yenidoğan dahil tüm yaş gruplarında uygulanabilen bir testtir. KF'ye özgü gastrointestinal veya pulmoner semptomların daha az, özellikle de ter testi sonuçlarının normal veya sınırda olduğu atipik KF vakalarında başvurulan yardımcı bir testtir (82).

### **2.5.6. Pankreatik fonksiyon değerlendirilmesi**

Pankreas disfonksiyonu, KF hastalarının büyük kısmında vardır. Yetmezlik tablosunun ortaya çıkabilmesi için pankreasın %98'den fazlasında defekt olması gerekir. Taze gaita örneğinde tripsin ve kimotripsin aktivitesinin ölçülmesi kesin sonuç vermemekle birlikte, anlamlı tarama aracıdır. Diğer bir test ise 72 saatlik dışkıda yağ düzeyi bakılmasıdır (83).

Endokrin pankreas disfonksiyonu sıklığı, tahmin edilenden daha fazladır. Hastalarda 10 yaşından sonra her yıl glikolize hemoglobin düzeylerinin görülmesi önerilir (1).

### **2.5.7. Mutasyonlar**

KFTR geninde 1900'ün üzerinde mutasyon saptanmıştır (84). Bu mutasyonların allel frekansları hastaların etnik kökenlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca hastalık seyrinin ciddiyeti çevre etkenlerine, her iki allelde

taşıyan mutasyon tipine ve hastanın genomunda bulunan ve hastalık fenotipini modifiye edebilecek varyasyonların varlığına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Hastalarda az sayıda mutasyon ancak %0,1 sıklığa ulaşabilirken, bazı mutasyonlar bazı topluluklarda çok sık görülmektedir (beyaz ırkta F508 del sıklığı %80'e ulaşabilir). KFTR genetik analiz panelinin mutasyon saptama oranı >%95 olmalıdır ancak toplumumuzda beyaz ırkta görülen mutasyonların düşük sıklıkta olduğu düşünülürse bu orana ulaşmak güçtür (54, 74).

Saptanan 1900 mutasyonun hepsinin analiz edilebilmesi mümkün değildir. KF hastalarının %1-5'inde farklı teknikler bir arada kullanılmasına rağmen iki mutasyona uğramış allel saptanamayabilir. Tek bir mutasyonun gösterilebildiği hastalarda ise tanıya klinik bulgular ve diğer laboratuvar yöntemleri yardımcı olur. Klinik bulguları uyumlu olan bir hastada bilinen iki KF mutasyonunun gösterilmesi tanıyı doğrulamaktadır. KF'de klinik bulgular, KFTR genotipinden ve diğer genetik ve çevresel faktörlerden etkilenir. KF'de grup I, II ve III mutasyonları taşıyan hastalar daha ağır kliniğe sahip iken, grup IV ve V, VI mutasyonu taşıyan hastaların prognozu daha iyidir (54,85,86). KF'de taşıyıcılık oranı %4'tür. KF'li hastaların, 2/3'ünün taşıyıcı olma riski vardır. İkinci ve üçüncü derece akrabalarında taşıyıcılık oranı sırasıyla %50 ve %25'tir. Taşıyıcı bireylerin çocuklarında ise diğer ebeveynde hiç mutasyon yoksa KF heterozigotluk riski %25'tir (87). Aynı genotipe sahip hastalarda farklı fenotipler ortaya çıkabilir. Mutasyonun bilinmesi genetik danışmanın verilebilmesini ve aynı zamanda bazı fenotipik özelliklerin önceden tahmin edilebilmesini sağlar (54,85,86).

İnsersiyon/delesyon tipi mutasyonların ve normale göre kısa protein sentezine yol açan anlamsız (non sense) mutasyonların, genelde ciddi fenotipe neden olduğu, yanlış anlamlı (missense) ve "splicing" tipi mutasyon etkilerinin ise değişken olabileceği bilinmektedir.

Mutasyonların yanısıra 5/ 7/ 9 T olarak adlandırılan ve KFTR geninin 8. intronunda görülen polimorfik değişimler hem KF fenotipini modifiye edebilmekte, hem de 5T allelleri erkek infertilitesine neden olan doğuştan vas deferens eksikliği (CBAVD) fenotipi ile ilişkili bulunmaktadır. Türk CBAVD vakalarında 5T allel frekansı % 20 olarak saptanmıştır.

## 2.6. Mikrobiyoloji

KF'de solunum yollarında kolonizasyona ve enfeksiyona neden olan en sık mikroorganizmalar *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Burkholderia cepacia* kompleks olup, ikinci derece de öneme sahip olanlar ise respiratuvar sinsityal virüs, influenza virüs, *Aspergillus fumigatus*'dur. Non-tüberküloz mikobakteriler, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Achromobacter xylosoxidans*'ın insidansı son yıllarda giderek artmaktadır (88, 89).

KF'de sekresyonlar sıklıkla visköz olduğundan örneklerin uygun bir yöntemle çözünmesi amacıyla balgam dihidrothreitol veya DNase gibi mukolitik ajanlar ile gerekli işlemler yapıldıktan sonra sulandırılmalı ve kantitatif kültür yapılmalıdır (90). Alt solunum yolu enfeksiyonlarını göstermek için bronkoalveolar lavaj önerilir. Polimikrobiyal kolonizasyon/enfeksiyon, KF için karakteristik olduğundan örnekte bulunan her mikroorganizmanın ayrı ayrı izole edilmesi ve tanımlanması önem taşır. KF solunum yolu örneklerinin mikrobiyolojik değerlendirmesi için seçici besiyerlerinin kullanılması gerekmektedir. Tablo 10'da KF solunum yolu patojenlerinin kültürü için önerilen koşullar gösterilmiştir (40).

KF ortamında çoğu bakteri yavaş üreme fazına geçtiğinden, ekim yapılan besiyerlerinin 48-96 saat inkübasyonu bakteri izolasyon şansını artırmaktadır. Bakterilerin doğru tanımlanması doğru tedavi edilebilmesi açısından önemlidir.

## 2.7. Tedavi

Tanı konulduktan sonra çalışmalar yoğunlaştırılmalı, bunlar hastanın değerlendirilmesini, tedavinin başlatılmasını, pulmoner tutulumun netleştirilmesini, hasta ve ailenin bilgilendirilmesini içerir (1).

Temel bakım; çocuğun yaşına, kliniğine, pulmoner tutulumun derecesine, diğer sistem tutulumlarına, gelişen komplikasyonlara, tedavi için uygun olan zamana ve hastanın tedaviye uyumuna göre belirlenir. Tedavinin üç primer bileşeni vardır: pulmoner, gastrointestinal, hasta ve aile için sosyal ve psikolojik destek (1).



**Tablo 10.** KF solunum yolu patojenlerinin kültürü için önerilen koşullar

<b>Organizma</b>	<b>Besiyeri</b>	<b>İnkübasyon koşulları</b>	<b>Tanımlama metodu</b>
Haemophilus influenzae	300 µg/ml basitrasin içeren at kanlı agar	35-37°C, %5-10 CO2, 72 saat	Konvansiyonel
Staphylococcus aureus	Mannitol tuz agar, Columbia kanlı agar	35-37°C, normal atmosfer, 72 saat	Konvansiyonel
Pseudomonas aeruginosa	MacConkey agar, EMB agar	35-37°C, normal atmosfer, 72 saat	Konvansiyonel
Burkholderia cepacia complex	BCSA, OFBL, MacConkey agar	35-37°C, normal atmosfer, 96 saat	Moleküler
Stenotrophomonas maltophilia	MacConkey agar, EMB agar	35-37°C, normal atmosfer, 72 saat	Konvansiyonel
Achromobacter xylosoxidans	MacConkey agar, EMB agar	35-37°C, normal atmosfer, 72 saat	Konvansiyonel, moleküler
Nontüberküloz mikobakteriler	BACTEC, Löwenstein Jensen	37°C, normal atmosfer, 6-8 hafta	PCR, RFLP, Sekans analizi
Aspergillus spp.	Sabouroud dekstroz agar	30°C, normal atmosfer, 3 hafta	Konvansiyonel

EMB: Eosin methylen blue agar, BCSA: Burkholderia cepacia selective agar, OFBL: Oxidative fermentative bacitracin lactose agar, RFLP: Restriction fragment length poly.

Son 10 yılda destekleyici tedavi basamaklarının düzenlenmesi ile birlikte genetik temellerin aydınlatılması, genotip- fenotip ilişkisine ait bilgilerdeki artış, modifiye edici genetik yapıların ortaya çıkarılması ve en önemlisi klinik bulguya neden olan moleküler problemlerin aydınlatılması yeni tedavi seçeneklerinin bulunmasına olanak sağlamıştır (91). Bu tedavi KFTR'deki genetik defektin ya da üründeki moleküler patolojinin düzeltilmesine yöneliktir (92). Yeni tedavi seçenekleri başlıca gen terapisi, defektif protein yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesine yönelik ilaçlar, membran sodyum/klor transportunun restorasyonunu sağlayan ajanlar ve anti inflamatuvar ajanlardır. Bu tedavilerin çoğu henüz rutinde kullanılamamaktadır ancak çalışmalar devam etmektedir (40).

Tedavi multidisipliner yaklaşım gerektirir. Tedavi ekibinde göğüs hastalıkları uzmanı, gastroenterolog, metabolizma ve beslenme uzmanı, diyetisyen, fizyoterapi uzmanı ve mikrobiyolog olmalıdır. Hedef uzun dönemde stabil durumun sağlanmasıdır. Hastaların çoğunda aralıklı değerlendirme ve ev tedavi programının ayarlanmasıyla bu hedefe ulaşılabilmektedir (1).

### 2.7.1. Akciğer Hastalığının Tedavisi

KF hastalığında akciğer hastalığının progresyon hızı morbidite ve mortalitenin esas belirleyicisidir. Akut belirtiler olmaksızın düşük dereceli başlangıç gösteren enfeksiyon, geri dönüşümsüz pulmoner fonksiyon kaybına neden olabilir (1).

Fizyoterapi, çeşitli mukolitik ajanlar, inhaler tedaviler, antibiyotikler, anti-inflamatuvar ajanlar ve gerekli durumlarda non-invazif mekanik ventilasyon akciğer hastalığı tedavisinin temelini oluşturur. Son dönem hastalarda akciğer transplantasyonu uygulanmaya başlanmıştır. Tablo 11' de KF Hastalarında pulmoner alevlenme ile ilişkili belirti ve bulgular gösterilmiştir (1).

**Fizyoterapi:** Pulmoner hastalık bulgusu olan KF'li hastalarda tüm tedavi programlarının dayanak noktasıdır. Öksürük, büyük hava yollarındaki mukusu temizler. Ekspiratuvar akım hızlarının düşük olduğu, küçük hava yollarındaki sekresyonların hareket etmesi için vibrasyona da ihtiyaç olduğu düşüncesine dayanan bu yöntem, genellikle postural drenaj ile perküsyondan oluşur (1). KF hastalarında küçük hava yollarında sekresyon birikmesi, semptomlar ortaya çıkmadan önce başlar. Fizyoterapi,

aşırı bronşiyal sekresyon, nefes darlığı, göğüs duvarı gerginliği ve azalan egzersiz toleransının tedavisinde büyük öneme sahiptir.

Fizyoterapi kısa dönemde; havayolu obstrüksiyonunun azaltılması, havayolunda ortaya çıkan biyokimyasal etkinin azaltılması, havayolu direncinin azaltılması, egzersiz toleransının ve ventilasyonun geliştirilmesini hedefler. Uzun dönemdeki amacı ise solunum probleminin ilerlemesinin geciktirilmesi ve optimal solunum fonksiyonlarının korunmasıdır (93). Göğüs fizyoterapisinin akciğer disfonksiyonunun şiddetine bağlı olarak günde bir ila dört kez arasında yapılması önerilir. Tablo 12’de KF’de kullanılan hava yolu temizleme teknikleri gösterilmiştir (40).

**Tablo 11.** KF hastalarında pulmoner alevlenme ile ilişkili belirti ve bulgular

<b>BELİRTİLER</b> Öksürük sıklığı ve süresinde artma Balgam üretiminde artma Balgamın görünüşünde değişiklik Nefes darlığında artma Egzersiz toleransında azalma İştah azalması Göğüste artmış konjesyon hissi
<b>BULGULAR</b> Solunum hızında artma Solunum için yardımcı kasların kullanılması İnterkostal retraksiyonlar Göğüs oskültasyon muayenesinde değişiklik Pulmoner fonksiyon ölçümlerinde obstrüktif hava yolu varlığı ile uyumlu azalma Ateş ve lökositoz Kilo kaybı Göğüs radyografisinde yeni infiltrasyon

**Tablo 12.** KF’ de kullanılan hava yolu temizleme teknikleri

Postüral drenaj ve perküsyon
Aktif solunum teknikleri döngüsü
Otojenik drenaj
Pozitif ekspiratuar basınç (PEP)
Havayoluna ossilasyon yaptırın aletler (Flutter, Acapella)
Yüksek frekanslı göğüs duvarı ossilasyonu
Egzersiz

**İnhaler tedavi (Bronkodilatör tedavi):** Aerosoller KF’li hastalarda bronşları genişletmek, mukus viskozitesini azaltmak, mukozal ödem ve inflamasyonu azaltmak, mikrobiyal üremeyi baskılamak amacıyla kullanılır (76). KF’li olguların %40-60’ında gelişen bronşiyal hiperreaktivite vardır, bu durum bronkodilatör tedavi gerekliliğini doğurur. Özellikle beta-2 agonistler potent bronkodilatördür ve mukosilyer aktivite artışına sebep olurlar. KF’ li hastaların bronkodilatör yanıtları da astımdan farklıdır. KF’ li hastaların %60’ı özellikle beta-2 agonistlere çok iyi bronkodilatör yanıt verirler, yaklaşık %30’unda değişiklik olmaz, %10’unda ise FEV1 değerinde düşme ve bronkokonstriksiyonun diğer bulguları (paradoksal bronkospazm) görülebilir (94). KF’ de bronkodilatör amaçlı kullanılan başlıca üç ilaç vardır: beta-2 agonistler, antikolinergik ajanlar ve daha az sıklıkla kullanılan metilksantinlerdir.

**Mukolitik Tedavi:** KF hastalarının balgam yapısı ile diğer kronik süpüratif akciğer hastalıklarının balgam yapısı karşılaştırıldığında birbirinden farklıdır; çünkü KF hastalarının balgamlarında özellikle DNA ve F-aktin bol miktarda bulunur, diğerlerinin aksine müsin içeriği daha azdır (95). KF’ de etkinliği kanıtlanmış olan mukolitikler; dornaz alfa ve hipertonic salindir (40).

**Dornaz alfa (rekombinan insan deoksiribonükleaz):** Dornaz alfa (Rekombinan insan DNaz), human DNaz I enziminin rekombinant formudur. Bu ilaç, KF hastalarının mukusundaki nekroza uğramış nötrofillerden açığa çıkan çok sayıda serbest DNA’yı yıkmak ve bunun sonucunda solunum yolu sekresyonlarının viskoelastisitesini azaltmak, mukusun klirensini artırmak ve solunum yolu enfeksiyonlarının sıklık ve şiddetini azaltmak yoluyla akciğer fonksiyonlarını korumak

ya da iyileştirmek amacıyla kullanılır (96). 6 yaş ve üzerindeki orta ve ağır akciğer hastalığı olan KF hastalarında, solunum fonksiyonlarının düzeltilmesi ve alevlenmelerin önlenmesi için dornaz alfa uzun süre kullanılmalıdır (97). Bu tedavi sonucunda FEV1’de hızlı düzelmeye olduğu ve solunum fonksiyonlarında kötüleşme hızının yavaşladığı saptanmıştır (98).

**Hipertonik salin:** Solunum yolu yüzey sıvısının hidrasyonunu artırarak mukosilier klirensi artırır. Birçok merkezde bronkokonstrüksiyona neden olabileceği için hipertonik salin öncesinde rutin olarak bronkodilatör tedavi uygulanır (40). İşlem sonrası fizyoterapi yapılmalıdır.

Hipertonik salinin %7’lik formununun, %3’lük formuna göre daha az yan etkisi vardır ve daha etkilidir, ancak piyasada bu formu bulunmamaktadır. Balgam induksiyonu için %3’lük, fizyoterapi için ise %6-7’lik salin kullanılır (97).

Solunum fonksiyonlarında orta düzeyde bir etki ve akut alevlenmelerde azalmaya neden olur.

**Anti-inflamatuvar tedavi:** KF’li hastaların solunum yollarında yoğun nötrofilik inflamasyon vardır. Bu döneme kadar çeşitli anti-inflamatuvar ilaçlar KF’li hastaların tedavisinde yer almıştır. Kortikosteroidlerin, KF akciğer hastalığının tedavisinde pulmoner fonksiyonları düzeltiyor ve hospitalizasyon oranlarını azaltıyor gibi görünmesine rağmen, çok merkezli yapılan 4 yıllık çift-kör bir çalışmada; hafif ve orta dereceli akciğer hastalığı olan hastalarda sadece ılımlı etkisinin olduğu ve 2 mg/kg dozunda büyüme geriliği, katarakt ve glukoz tolerans bozukluğu; 1mg/kg dozda ise büyüme geriliği gibi kısıtlayıcı yan etkilerinin olduğu gösterilmiştir (1).

Uzun süreli ibuprofen kullanımı, özellikle hafif akciğer hastalığı olan genç hastalarda, hastalığın progresyonunda etkileyici bir yavaşlama sağlamıştır. Non-steroidal ilaçların çeşitli yan etkileri saptanmıştır (1).

**Antibiyotik tedavisi:** Antibiyotikler, akciğer enfeksiyonlarının ilerlemesini kontrol altına almak için düzenlenmiş tedavilerin temelini oluşturur. Amaç endobronşiyal enfeksiyon yoğunluğunu azaltmak ve progresif akciğer hasarını önlemektir. Akciğer enfeksiyonlarının ateş, takipne veya göğüs ağrısı gibi semptom ve

bulguları genellikle yoktur. Bu yüzden, hastanın öyküsü ve muayenesindeki iştahsızlık, kilo kaybı ve aktivite azalması gibi veriler tedavinin düzenlenmesinde yol gösterici olarak kullanılmalıdır.

Oral, intravenöz ve aerosolize antibiyotik tedavi seçenekleri vardır. Hangi tedavi seçeneğinin başlanacağına hastanın durumuna göre karar verilir (1).

KF' de akut alevlenme ve kronik kolonizasyonda hangi antibiyotik tedavisinin başlanacağına ve hangi antibiyotiklerin kombine edilmesi gerektiğine genellikle balgam kültürlerinde üretilen mikroorganizmanın kültür ve antibiyotik duyarlılık testleri sonuçlarına göre karar verilir. Mikroorganizma dirençli olduğunda ampirik seçim yapılmalıdır (40).

**Oral antibiyotik tedavisi:** Solunum sistemi bulguları olduğunda ve solunum sistemine ait kültürlerde patojenik mikroorganizmalar saptandığında tedavi başlanır. Antibiyotik seçimi invitro duyarlılık testlerine göre yapılmalıdır. Staphilococcus aureus ve Haemophilus influenzae sıklıkla saptanırken, Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia ve diğer gram negatif basillerin sıklığı giderek artmaktadır. İlk iki etken genellikle eradike edilebilirken, Pseudomonas aeruginosa' nın tedavisi daha zordur. Tedavisi genellikle 2 haftadan uzun sürer ve maksimum doz önerilir (1).

**Aerosolize antibiyotik tedavisi:** Antibiyotiklerin aerosol olarak verilmesi tobramisin, gentamisin, kolistin gibi ek ajanların evde verilebilmesi açısından bir seçenek oluşturur (1). İlaçların doğrudan akciğer içine verilmesi ile epiteli döşeyen sıvının vasfı düzelir, balgamın viskozitesi azalır ve enfeksiyon ya da inflamasyonun düzelmesine yardımcı olur (99).

**İntravenöz antibiyotik tedavisi:** KF'li hastalara akciğerlerdeki alevlenmelerin tedavisi sırasında intravenöz antibiyotiklerin verilmesi gerekmektedir. Hastaların çoğunda 7 günde düzelme gözlemlenmesine rağmen, genellikle tedavinin en az 14 güne uzatılması önerilir. Kültür sonuçlarına ve iyileşmenin olmamasına göre tedavi planı değiştirilebilir. Hastalarda düzelme olmazsa; kalp yetersizliği, reaktif hava yolları ve virus enfeksiyonu, Aspergillus fumigatus, Mycobacteria veya diğer nadir organizmalar düşünülmelidir. Burkholderia cepacia antimikrobiyal tedaviye genellikle dirençlidir (1).

### 2.7.2. Akciğer transplantasyonu

Kalp-akciğer veya çift-akciğer transplantasyonu, son dönem hastalığı olan sınırlı sayıda KF'li hastada başarılı olmuştur. Bir yıllık sağ kalım oranları %50-85 civarındadır.

### 2.7.3. Beslenme

KF'li hastalarda büyüme modelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, normal kilo-boy oranının akciğer fonksiyonlarının daha yavaş hızla bozulması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (76). Bu nedenle gastrointestinal tedavinin asıl amacı iyi beslenmeyi sağlamak ve yaşa uygun beslenme alışkanlıklarını öğretebilmektir. KF'li çocuklarda uygun kilo alımı ve büyüme için ve KF'li erişkinlerde kiloyu korumak için alınması gereken günlük kalori miktarı, genel toplum için gerekli standart enerji alımına göre %110-200 daha fazla olmalıdır. Kistik Fibrozis Kurumu ortak görüş paneli davranışsal tedavi, oral beslenme takviyeleri ve gerektiğinde enteral beslenme takviyelerinin 2 yaş altındaki çocuklarda kilo/boyun 50. percentil veya üzerinde korunması ve 2-20 yaş arasındaki çocuk ve adolesanların vücut kitle indekslerini 50. percentilin üzerinde tutulması ile kilo kazanma amaçlarını iyileştirebileceğini belirtir.

KF hastalarında oral beslenme ile kalori ihtiyacını karşılayamayan ya da kilo kaybı gözlenen vakalarda oral destek ürünleri verilebilir. Bu ürünler asıl beslenmenin yerini tutmamalıdır (100).

Oral destek ürünleri ve davranışsal tedaviler sorunu düzeltmeye yetmezse enteral beslenme desteği verilmelidir. Genellikle İVA %'si (ideal vücut ağırlığının yüzdesi) / boya göre ağırlık %85'in altında ise, 2 aydan uzun süredir devam eden ağırlık kaybı varsa, 5 yaş altında 3 aydan, 5 yaş üzerinde ise 6 aydan uzun süredir kilo alımı yoksa enteral beslenme önerilir. Bu destek nasogastrik sonda ile (kısa süreler için) veya gastrostomi ile verilebilir (40). Nakil (akciğer, karaciğer) öncesi, enteral beslenmenin etkili olmadığı ya da tolere edilemediği, rezeksiyona bağlı kısa bağırsağı olan vakalarda parenteral beslenme önerilir (46).

Ailelere, bebeklik döneminde hastalarda büyümede duraklama olmadığı takdirde ilk 4-6 ay sadece anne sütü ile beslemeleri ve anne sütüne 12. aya kadar devam

etmeleri önerilmelidir. Anne sütü, hastanın immün sistemini güçlendirir, büyümeyi ve bağırsak fonksiyonlarını düzenler. Anne sütünün sindirim sistemi ile ilişkili ve sindirim sistemi dışı enfeksiyonlara karşı koruyucu görevi vardır (40).

KF hastalarında özellikle ateşli hastalık, ishal, aşırı sıcak ve güneşe maruz kalma, egzersiz durumlarında terle sodyum kaybı arttığından oral sodyum desteği verilmelidir. Kaybın çok fazla olduğu ve klinik durumun kötü olduğu durumlarda parenteral sodyum tedavisi verilmelidir.

Yağ malabsorpsiyonu ve vitamin D eksikliği ile ilişkili olarak genellikle bağırsaktan kalsiyum emilimi bozulur. Kalsiyum desteğinin kemik mineral dansitesi üzerinde etkisi net olmamakla birlikte adölesan dönemde kalsiyum desteği verilmesinin yararlı olabileceği düşünülmektedir (101). Esansiyel yağ asitlerinin eksikliği yaklaşık %85 oranında görülür. KF'li hastalarda yağda eriyen vitaminlerin eksikliği sık görüldüğü için takviyesi yapılmalıdır (102). Yağda eriyen vitaminler için önerilen günlük dozlar Tablo 13'te verilmiştir (40).

**Tablo 13.** Yağda eriyen vitaminler için önerilen günlük dozlar

YAŞ	A VİT (İÜ)	E VİT (İÜ)	D VİT (İÜ)	K VİT (MG)
0-12 AY	1500	40-50	400	0,3-0,5
1-3 YAŞ	5000	80-150	400-800	0,3-0,5
4-8 YAŞ	5000-10000	100-200	400-800	0,3-0,5
>8 YAŞ	>10.000	200-400	400-800	0,3-0,5

#### 2.7.4. Pankretik enzim tedavisi

Pankreas yetmezliği olan bebeklerin ve çocukların belirlenen dozda pankreas enzimlerini her beslenme öncesinde almaları çok önemlidir. Enzim dozu; bebeklerde 250-500 ünite/ kg, daha büyük çocuklarda 500-2000 ünite/kg lipaz olarak başlanır. Sonrasında verilen doza alınan cevaba göre (dışkıının görünümü, dışkılama sayısı, ağırlık kazanımı gibi) enzim dozu değiştirilebilir.



Uzun süreli yüksek dozda kullanımda perianal irritasyon ve fibrozan kolonopatiye neden olabilir. Maksimum enzim dozu 2.500 ünite/kg/öğün veya 10.000 ünite/kg/gün'ü geçmemelidir (46).

### **2.7.5. Karaciğer Hastalığının Tedavisi**

Biliyer siroza bağlı karaciğer fonksiyon testleri bozukluğu tedavisinde ursodeoksikolik asit kullanılır. Karaciğer hasarı belirgin olan KF'li hastalarda kullanılır, önerilen doz 15-20 mg/kg'dır. Portal hipertansiyon ile özefageal varisler, hipersplenizm veya asit, KF'li çocukların %2 veya daha azında görülür (1). Varis kanaması en korkulan komplikasyondur ve tedavisi, KF olmayan hastalarda olduğu gibidir. Dekompanze siroz ve hepatik sentez yetmezliği gelişen hastalar karaciğer transplantasyonu yönünden deneyimli bir merkeze yönlendirilmelidir (103).

### **2.7.6. Yeni tedavi seçenekleri**

Son 10 yılda destekleyici tedavi başlıklarının düzeltilmesi ile birlikte genetik temellerin aydınlatılması, genotip-fenotip ilişkisine ait verilerdeki artış, modifiye edici genetik yapıların ortaya çıkarılması ve moleküler problemlerin aydınlatılması yeni tedavi yaklaşımlarına imkan sağlamıştır (91). Bu yeni tedavi yaklaşımları KFTR'deki genetik defektin ya da üründeki moleküler patolojinin düzeltilmesine yöneliktir. Tedaviler için genellikle mutasyon tipi temel alınmaktadır (92). Temel amaç kronik akciğer hastalığının önlenmesidir. Çünkü ortalama yaşam süresinin dördüncü dekada çıkarılabilmesi bu hastalarda çocukluk çağından itibaren daha radikal moleküler uygulamaları zorunlu hale getirmektedir (40).

KF' deki yeni tedavi seçenekleri: gen terapisi, defektif protein yapı ve fonksiyonunun düzeltilmesine yönelik ilaçlar, membran sodyum/klor transportunun restorasyonunu sağlayan ajanlar ve anti inflamatuarlardır. Çoğunluğunun henüz uygulanma aşamasına geçmemesine rağmen çalışmalar devam etmektedir.

### **2.8. Prognoz**

Geçtiğimiz 30-40 yıl içerisinde sağ kalımda dramatik bir artış sağlanmış olsa da KF yaşam süresini kısıtlayan bir hastalık olmaya devam etmektedir. Genellikle erkeklerin yaşam süresi nedeni bilinmemekle birlikte kadınlardan daha fazladır.

Sosyoekonomik dezavantajları olan ailelerin çocuklarının prognozunun daha kötü olduğu bildirilmiştir. Uzun dönem prognoz, tanı ve tedavinin başlama zamanına göre değişir. Birçok çalışmada, erken tanı alan ve agresif tedavi programına belirgin pulmoner hasar oluşmadan önce başlanan KF hastalarının, anlamlı pulmoner doku kaybedildikten sonra fark edilen ve tedavi edilenlerden daha iyi pulmoner fonksiyonlara ve sağ kalıma sahip oldukları gösterilmiştir.

Yaşam beklentisinin artmasıyla birlikte, bağımlılık-bağımsızlık konuları, öz bakım, akrabalarla olan ilişkiler, cinsellik, sterilite, madde kullanımı, eğitimin ve meslek seçiminin planlanması, finansal sorunlar, sağlık ve prognoza yönelik kaygıları kapsayan yeni bir psikososyal yaklaşım biçimi ortaya çıkmıştır. Bu sorunların birçoğuyla psikososyal disfonksiyonlar ortaya çıkmadan önce öngörücü bir yaklaşım sergileyerek baş edilebilir. Uygun tıbbi ve psikososyal destekle, KF' li çocuk ve ergenler genellikle iyi bir şekilde hastalığın üstesinden gelebilirler. Birçoğu için bağımsız ve üretken bir erişkinlik dönemi gerçekçi bir yaklaşımdır.

### 3. ARAÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, çocukluk çağı kistik fibrozis hastalarında KFTR gen mutasyonlarının bölgemizdeki sıklığı ve dağılımını belirlemek ve klinik ilişkilerini değerlendirmek üzere yapılandırılmıştır.

Çalışmaya, Ocak 2012-Nisan 2016 tarihleri arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Allerji ve İmmünoloji, Çocuk Gastroenteroloji, Çocuk Genel Poliklinik, Çocuk Enfeksiyon polikliniklerinden Çocuk Genetik Bilim Dalı'na yönlendirilen, 0-18 yaş arası Kistik Fibrozis ön tanılı 210 çocuk hasta dahil edildi.

Çalışmaya dahil edilen hastalara, dizileme (sekans) ve ters hibridizasyon yöntemleri ile mutasyon analizleri, tez veri toplama çalışmaları başlamadan önce laboratuvar sorumlu ekibi tarafından yapılmıştı. Mutasyon sonuçlarına, söz konusu genetik laboratuvar arşivlerinden ulaşıldı. Hasta bilgileri için hastane arşiv dosyası ve genetik poliklinik dosyaları kullanıldı. Bilgilerine ulaşılamayan hastalar çalışma dışında bırakıldı (Tablo14).

Çalışma için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı.

#### 3.1. Hasta seçimi

Çalışma retrospektif dosya taraması yöntemi ile yapıldı. Hastaların **epidemiyolojik ve klinik bulgu kriterleri** Tablo-14' de özetlenmiştir.

**Tablo 14.** Hastaların epidemiyolojik ve klinik bulgu kriterleri

Epidemiyolojik bulgular	Tanı yaşı, cinsiyet, aile öyküsü, başvuru yılı
Başvuru nedenleri	Tekrarlayan akciğer enfeksiyonu, kronik ishal, kilo alamama, mekonyum ileusu, diğer gastrointestinal sistem bulguları(rektal prolapsus, ileus, bağırsak obstrüksiyonu), tekrarlayan pankreatit atakları, bronşiektazi, sinüzit, nazal polip, topuk kanında KF şüphesi, KF' li kardeş öyküsü, mekonyum ileusu

Hastalar öncelikle KF klinik tanısında en önemli parametrelerden biri olan **ter testi** sonuçlarına göre kategorize edildi.

Ter testi merkez laboratuvar tarafından Nanoduct Konduktivite yöntemi ile çalışıldı: Sonuçlar >80mmol/L anlamlı, 60-80 mmol/L şüpheli, <60 mmol/L normal olarak değerlendirilmekte idi. Bu çalışmada bu değerlerler modifiye edilerek ter testi 50-60 mmol/L arasında olan grup ayrı olarak değerlendirildi. Ter testi 80 mmol/L ve üzeri olanlar yüksek anlamlı grup 1, 60-80 mmol/L olanlar anlamlı grup 2, 50-60 mmol/L olanlar şüpheli grup 3, 49 mmol/L'nin altında olanlar normal grup 4 ve ter testi yapılamayanlar grup 5 olarak tanımlandı.

Vakaların **beslenme durumlarını** belirlemek için antropometrik ölçümleri yapıldı; vücut ağırlığı ve boy ölçümleri yaş gruplarına göre değerlendirildi. Değerlendirmede Gomez sınıflaması kullanılmıştır. Vücut ağırlığı ölçümüne dayanan ve oldukça sık kullanılan bu sınıflamaya göre ölçülen ağırlık aynı yaştaki beslenmesi iyi, sağlıklı bir çocuğun vücut ağırlığı ile karşılaştırılır. Gomez'in protein enerji malnütrisyonu sınıflaması Tablo 15'te gösterilmiştir (104).

**Tablo 15.** Gomez Sınıflaması

KATEGORİ	YAŞA GÖRE AĞIRLIK
Beslenme durumu normal	> %90
Hafif malnütrisyon (I. derecede)	%75–89
Orta malnütrisyon (II. derecede)	% 60–74
Ağır malnütrisyon (III. deede)	< % 60

### 3.2. Klinik tanımlamalar

Bir çocuğun 1 yılda iki pnömoni atağı geçirmesi veya herhangi bir zaman diliminde 3 pnömoni atağı geçirmesi **tekrarlaman akciğer enfeksiyonu** olarak tanımlandı. Astım hastası olarak değerlendirilen hastaların dosya verileri temelinde, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu olan grubun içinde değerlendirildi.

Akut olarak başlayan ve 14 günden fazla süren ishal **persistan ishal**, 4 haftadan uzun süren ishal **kronik ishal** olarak tanımlandı.

**Bronşiektazi, nazal polip, sinüzit** nedeniyle başvuran hastaların tümünün tanısı, bilgisayarlı tomografi sonucuna göre konuldu.

### 3.3. Mutasyonların Klinik Etkilerine Göre KFTR Sınıflaması

Elde edilen mutasyonlar klinikteki etkilerine göre sınıflandı. Bu uygulama için 2 protokol esas alındı (**1.Klasifikasyon:** 2007 yılı Avrupa Kistik Fibrozis Topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği Konferansı KFTR Mutasyon Sınıflaması, **2.Klasifikasyon:** KFTR mutasyonlarında meydana gelen defektin yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre sınıflama) (105).

Klasifikasyon-1, Tablo 16’da özetlenmiştir.

**Tablo 16.** Mutasyonun Klinik etkisine göre KFTR sınıflaması (2007)

<b>Grup A</b>	<b>Grup B</b>	<b>Grup C</b>	<b>Grup D</b>
Klasik KF (KF’ye neden olan mutasyonlar)	Klasik olmayan KF(KFTR )	Klinik sonuçları yok	Klinik bilinmiyor
711 + 3A > G*, R117H-T5*, D1152H*, L206W*, TG13-T5*	TG13-T5 <sup>a</sup> , R117H-T5 <sup>a</sup> , D1152H <sup>a</sup> , L206W <sup>a</sup> , L997F, M952I, D565G <sup>a</sup> , TG11-T5 <sup>b</sup> , R117H-T7 <sup>b</sup> , D443Y- G576AR668C, R74WD1270N, R75Q <sup>b</sup>	TG11-T5 <sup>b</sup> , R117H-T7 <sup>b</sup> , R75Q <sup>b</sup> , 875 + 40A/G, M470V, T854T, P1290P, I807M, I521F, R74W, F508C, I506V, I148T	All mutations (mostly missense) not yet analyzed or undergoing functional analysis

<sup>a</sup> Mutasyonlar grup A veya B olabilir.

<sup>b</sup> Mutasyonlar grup B veya C olabilir.

Tablo 16’da değinilen mutasyonlar dışında Tablo 17’deki 23 mutasyonun da grup A’ya dahil edilebileceği, Amerikan Tıbbi Genetik Akademisi (American College of Medical Genetics (ACMG)) tarafından bildirilmiştir (105).

**Tablo 17.** ACMG' nin belirlediği Klasik KF'ye neden olan 23 mutasyonun listesi

G85E	I507del	R560T	621 + 1G > T	2789 + 5G > A
R117H	F508del	R1162X	711 + 1G > T	3120 + 1G > A
R334W	G542X	W1282X	1717 - 1G > A	3659delC
R347P	G551D	N1303K	1898 + 1G > A	3849 + 10kbC > T
A455E	R553X		2184delA	

**2. klasifikasyon**da yer alan mutasyonlar Tablo 18'de gösterilmiştir.

- **Klas I mutasyonlar (Protein sentezinde bozukluk):** Mutasyonlar sonucunda KFTR geni yapısal olarak ağır derecede bozulmakta, prematür stop kodon varlığından ötürü protein sentezi erken sonlanmaktadır.
- **Klas II mutasyonlar (Protein olgunlaştırılmasında bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlarda protein sentezi bozulmaz ancak KFTR proteininin sentezlendikten sonra olgunlaşma süreci etkilenir ve oluşan mutant protein endoplazmik retikulum veya golgi cisimciğinde parçalanır. KFTR görev yapamaz ya da görevi azalmıştır
- **Klas III mutasyonlar ( KFTR düzenlenmesinde bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlar klor iyon kanalının regülasyonunda bozukluğa sebep olur. KFTR sentezlenir, işlenir ve apikal membrandaki yerini alır, ancak apikal membranda fonksiyon görmeyen KFTR proteini vardır
- **Klas IV mutasyonlar (KFTR kanal geçirgenliğinde bozukluk):** Bu grupta yer alan mutasyonlarda protein sentezi, işlenmesi, proteinin hücre zarında yerleşimi ve fosforilasyonunda problem yoktur; ancak proteinin iyon iletimi bozulmuş ve klor iyonlarının taşınması olumsuz etkilenmiştir.
- **Klas V mutasyonlar (Aktif KFTR miktarında azalma) :** Bu gruptaki mutasyonlar ise farklı mutasyonların kombinasyonuna bağlı olarak hem normal hem de anormal transkriptlerin oluşmasına neden olur.
- **Klas VI mutasyonlar (KFTR'nin hücre yüzeyindeki stabilitesinde bozukluk):** Bu mutasyonlar KFTR'nin düzenleyici özelliklerini etkileyen nükleotit değişikliklerini içerir. Genin C terminalindeki 70- 98 aminoasit rezidüsünün kaybolması sonucunda gelişir. Bu değişiklik proteinin iyon kanalı

fonksiyonunu etkilemez ancak proteinin stabilitesini olumsuz yönde etkiler. Protein daha hızlı yıkılır.

**Tablo 18.** Yapısal ve fonksiyonel sınıflamada mutasyonların dağılımı

Klas I	Klas II	Klas III	Klas IV	Klas V	KlasVI	Sınıflandırılmayan mutasyonlar
G542X	ΔF508	G551D	R117H	3272 A>G	Q1412X	
W1282X	A455E	G551S	R334W	3849+10Kb C>T	279insA	
R553X	N1303K	G178R	R347P	A455E	4326delT C	
621+1 G>A	G85E	S549N	D1152H	2789+5 G>A	4279insA	
1717-1 G>A	I507 del	S549R	P1205S			
1078 del T	R560T		I618T			
3659 del C	A561					
Y122X						
2183A A>G						
1677 DEL TA						
3120+1 G>A						

### 3.4. DNA İzolasyonu

DNA, hastaların periferik kan örneklerinden, QIAamp DNA Kiti (Qiagen GmbH, Hilden, Almanya) ile elde edilmiştir. Elde edilen DNA ürünlerinin konsantrasyon ve saflık dereceleri spektrofotometri cihazıyla ölçülmüştü. Ölçüm için 1 µl genomik DNA spektrofotometreye yüklenmiş ve 260 nm ve 280 nm dalga boylarında elde edilen ölçümlerinin oranı ile DNA'nın saflığı ve DNA'nın miktarı ng/µl cinsinden belirlenmiştir. Polimeraz Zincir Reaksiyonunda (PCR) kullanılacak DNA'nın saflığı 1,7 ile 1,9 arasında, konsantrasyonu ise 20-60 ng/µl arasında olacak şekilde

uyarlanmış, gerektiğinde DNA sulandırılmıştı. Elde edilen DNA örnekleri -20°C’de saklanmıştı.

### 3.5. PCR ve Dizileme Aşaması

KFTR dizi analizi için sırası ile 2 ayrı protokol uygulandı. Bunun nedeni protokol geliştirme süreci paralelinde laboratuvar olanaklarının zaman içinde değişime uğraması idi.

Mutasyon çalışmaları önce 3 ekzonlu sekans ile başladı.

KFTR geninin üç ekzonu, 7, 10, 11. Ekzonları, hazır primer kiti (SeqFinder Sequencing System CFTR Kit; GML A.G. Wallerau, İsviçre) kullanılarak amplifiye edilmişti. Uygulamada kullanılan PCR reaksiyonlarının içeriği sırası ile Tablo 19’da belirtilmiştir.

**Tablo 19.** KFTR geni Ekzon 7, 10 ve 11’in PCR protokolü

İçerik	Hacim (µL) /Materyal
GML PCR Miks	7,5
GML Taq Polimeraz	0,2
CFTR Exon-7, 10 veya 11 Primer Mix	1,0
G/C Enhancer	2,0
Distile Su	3,0
Genomik DNA (20-60 ng/µl)	1,5
<b>Toplam</b>	<b>15</b>

Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700 (ThermoFisher Scientific Inc., Foster City, CA, ABD) cihazında PCR işlemleri 35 siklus olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo20).



**Tablo 20.** Thermal-cycler Protokolu

Aşama	Açıklama	Sıcaklık	Zaman
1	Aktivasyon	95°C	10 dk.
2	Amplifikasyon <b>35 Siklus</b>	95°C	30 sec
		59°C	45 sec.
		72°C	50 sec.
3	Final Ekstensiyon	72°C	7 dk.
4	Durma	4°C	

2. protokolde 12 ekzon incelenmişti. KFTR geninin 3, 4, 7, 8, 10, 11, 13-1, 13-2, 15, 17a, 17b, 20 ve 21. Ekzonları hazır primer kiti (SeqFinder Sequencing System CFTR Kit; GML A.G. Wallerau, İsviçre) kullanılarak amplifiye edilmişti. Uygulamada kullanılan PCR reaksiyonlarının içeriği sırası ile Tablo 21’de belirtilmiştir.

**Tablo 21.** KFTR geni Ekzon 3, 4, 7, 8, 10, 11, 13-1, 13-2, 15, 17a, 17b, 20, 21 PCR protokolu

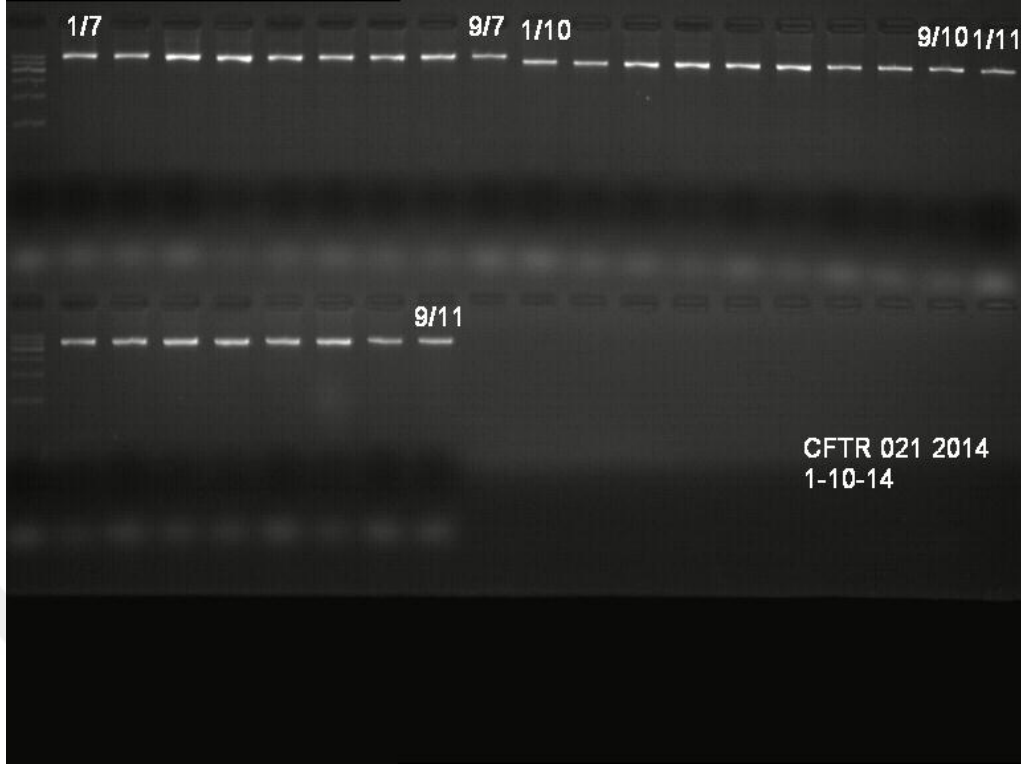
İçerik	Hacim (µL) /Materyal
GML PCR Miks	7,5
GML Taq Polimeraz	0,2
CFTR Exon-7, 10 veya 11 Primer Mix	1,0
G/C Enhancer	2,0
Distile Su	3,0
Genomik DNA (20-60 ng/µl)	1,5
<b>Toplam</b>	<b>15</b>

Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700 (ThermoFisher Scientific Inc., Foster City, CA, ABD) cihazında PCR işlemleri 40 siklus olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 22).

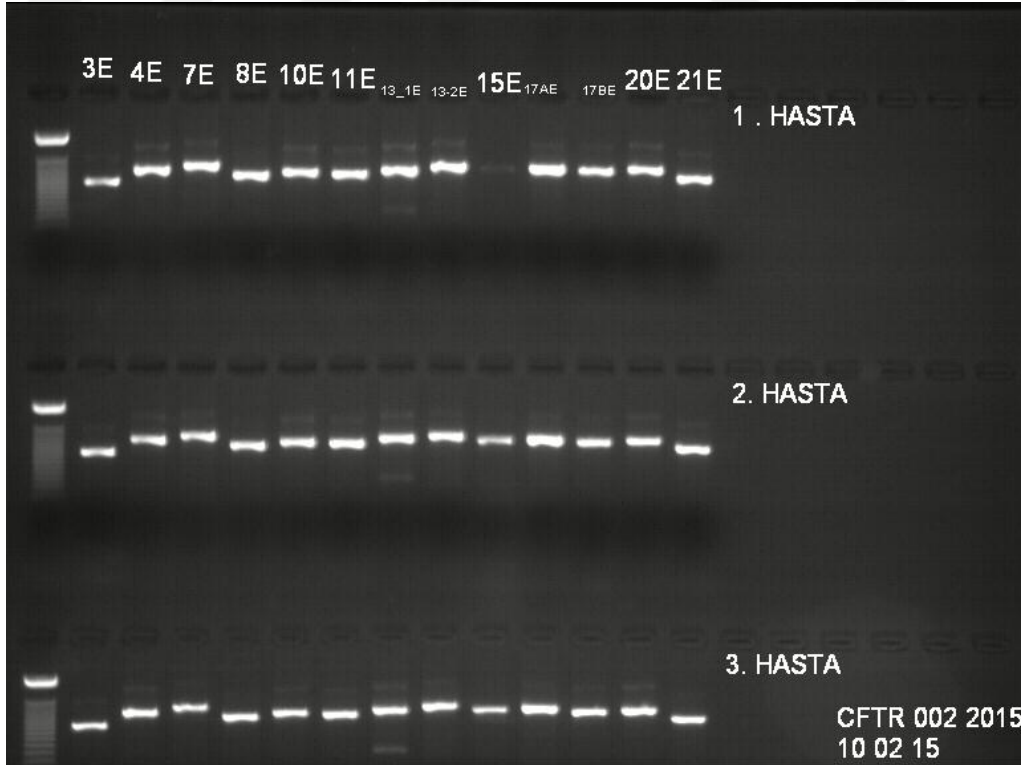
**Tablo 22.** Thermal-cycler Protokolü

Aşama	Açıklama	Sıcaklık	Zaman
1	Aktivasyon	95°C	10 dk.
2	Amplifikasyon <b>40 Siklus</b>	95°C	30 sec
		59°C	45 sec.
		72°C	50 sec.
3	Final Ekstensiyon	72°C	7 dk.
4	Durma	4°C	

PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezde yürütülmüştü. **3 Ekzonlu KFTR geni** (Şekil 6) ekzon 7 için 599bp, ekzon 10 için 502bp, ekzon 11 için 478bp; **12 ekzonlu KFTR geni** (Şekil 7) ekzon 3 için 348bp, ekzon 4 için 518bp, ekzon 7 için 599bp, ekzon 8 için 455bp, ekzon 10 için 502bp, ekzon11 için 478bp, ekzon 13-1 için 853bp, ekzon 13-2 için 597bp, ekzon 15 için 516bp, ekzon 17-a için 571bp, ekzon 17-b için 542, ekzon 20 için 585bp ve ekzon 21 için 467bp'lik PCR ürünün elde edildiği jelin ultraviyole (UV) ışığa veren transilluminatör (VilberLourmant, Eberhardzell, Almanya) ile incelenmesiyle saptanmıştı. Transilluminatör cihazına bağlı olan bilgisayar sistemi kullanılarak fotoğraflar alınmıştı.



Şekil 6. KFTR geni ekzon 7, 10, 11 PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü



Şekil 7. KFTR geni 12 ekzonlu PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

Jel elektroforezde PCR ürünlerinin varlığı saptandıktan sonra, PCR ürünlerinin PCR artefaktlarından temizlenmesi için, GML firmasına ait ExoSAP ürünü (GML A.G., Wallerau, İsviçre) kullanılarak, ilgili üründeki enzimatik reaksiyonlarla “clean-up” aşaması gerçekleştirilmiştir. Daha sonra ilgili PCR ürünleri, ABI PrismBigDyeTerminator v3.1 kit (ThermoFisher Scientific Inc., Foster City, CA, ABD) ile dizi analizine hazırlanmıştır. Bunun için ABI Genetic Analyzer 3500XL kapiller elektroforez sekans cihazı (ThermoFisher Scientific Inc., Foster City, CA, ABD) kullanılmıştır. Sekans verileri Ensemble veri tabanı kullanılarak Seqscape 3 analiz programı ile analiz edilmiştir.

### 3.6. Multipleks PCR Amplifikasyonu

Reverse hibridizasyon tekniği ile Kistik Fibrozis ile ilişkili bilinen 27 mutasyonu içeren analiz yapıldı.

### 3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Çalışmamızda KFTR geninin ilgili bölgelerinin çoklu (multipleks) amplifikasyonu için ViennaLab Diagnostik PCR amplifikasyon kiti kullanıldı. Kit, bir amplifikasyon karışımı (gen bölgesine ait biyotin işaretli primerler, ve diğer amplifikasyon için gerekli bileşenleri içerir), Taq DNA polimeraz ve Taq dilution buffer'dan oluşmaktadır. Toplam 35 sikludan sonra elde edilen PCR ürünleri ters hibridizasyon tekniğinde değerlendirilmek üzere +4 C°'de saklandı. Tablo 23'te Miks A Multipleks PCR protokolü ve Tablo 24'de Miks B Multipleks PCR protokolü gösterildi.

**Tablo 23.** Miks A Multipleks PCR protokolü

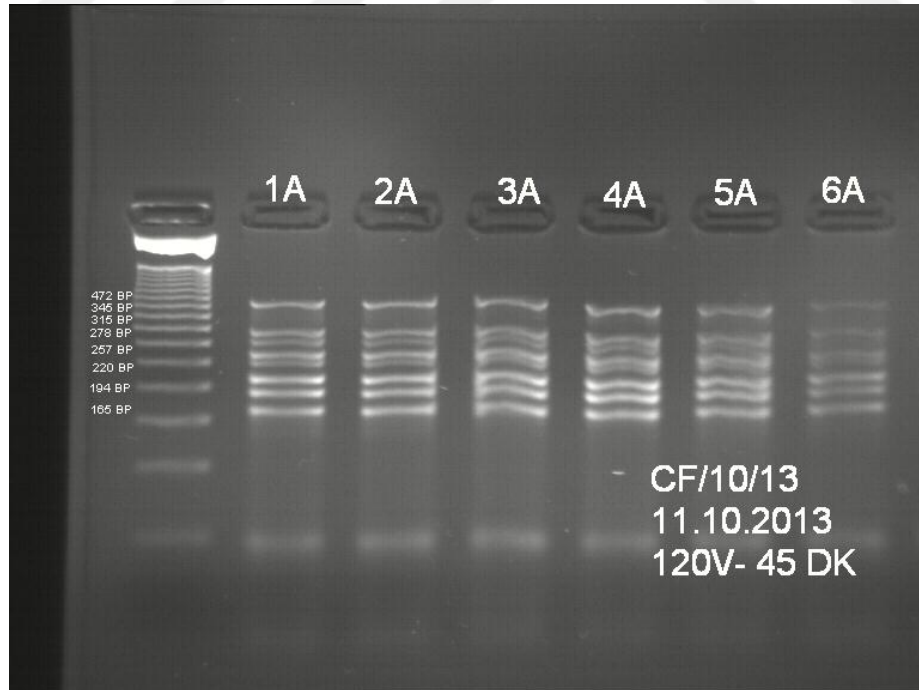
İçerik	Hacim (µL) /Materyal
Miks A	15
Taq Dilution Buffer	4,8
Taq DNA Polimeraz	0,2
Genomik DNA(98°' de inkübe edilen)	5
35siklus	
<b>Toplam</b>	25

**Tablo 24.** Miks B Multipleks PCR protokolü

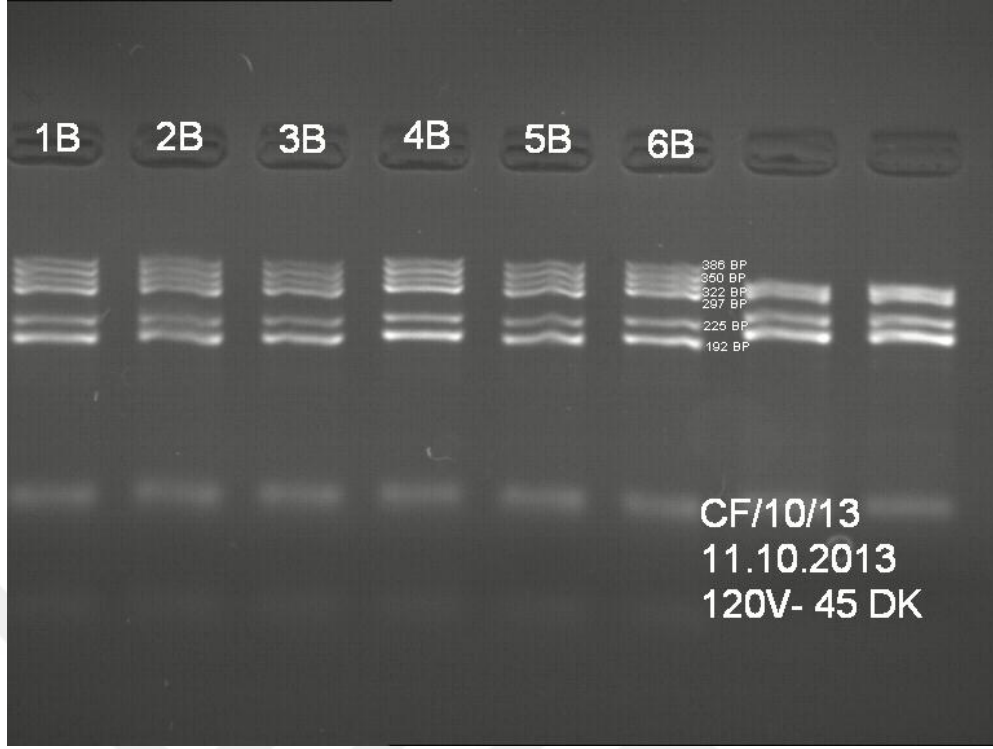
İçerik	Hacim (µL) /Materyal
Miks B	15
Taq Dilution Buffer	4,8
Taq DNA Polimeraz	0,2
Genomik DNA(98° de inkübe edilen)	5
35siklus	
<b>Toplam</b>	<b>25</b>

### 3.8. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezde yürütülmüştü. KFTR geni PCR ürünleri elde edildiği, jelin ultraviyole (UV) ışığa veren transilluminatör (VilberLourmant, Eberhardzell, Almanya) ile incelenmesiyle saptanmıştı. Transilluminatör cihazına bağlı olan bilgisayar sistemi kullanılarak fotoğraflar alınmıştı (Şekil-8 ve Şekil-9).



**Şekil 8.** KFTR geni Miks A PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü



**Şekil 9.** KFTR geni Miks B PCR ürünü fragmanları jel elektroforez görüntüsü

### **3.9. Revers-Hibridizasyon**

Southern Blot analiz için Revers-hibridizasyon AUTOLİPA48 hibridizasyon cihazı (Nova Healthcare Ltd, New Delhi, India,) kullanıldı. Revers-hibridizasyon, biyotin işaretli primerlerle çoklu (multiplex) polimeraz zincir reaksiyonu sonrasında oluşan ürünlerin nitrosellüloz membranlar (stripler) üzerindeki kendi komplementer zincirlerine bağlanması ve bir konjugat-substrat reaksiyonu oluşturması esasına dayanan bir tekniktir.

### **3.10. Revers Hibridizasyon Basamakları ve Kullanılan solüsyonlar**

Strip test tekniğinde Revers Hibridizasyon 3 temel basamaktan ibarettir;

- a) Strip üzerindeki probler ve PCR ürünlerinin bağlanması-hibridizasyon.
- b) Yıkama.
- c) Renk oluşumu.

### 3.11. Multipleks PCR Değerlendirilmesi

Her analiz bandının üst tarafında kırmızı ve alt tarafında yeşil bir belirteç bulunmaktadır. Bunun dışında hibridizasyon sonrası bantların değerlendirmeye alınabilmesi için kontrol bantının oluşmuş olması gerekmektedir. Kontrol bantları oluşmamış stripler değerlendirilmeye alınmazlar.

Mutant olmayan gen bölgesine ait problemler stripin alt kısmında, mutant gen bölgelerine ait problemler ise stripin üst kısmında sinyal verecek şekilde dizayn edilmişlerdir. Hibridizasyon sonrası normal aleli gösteren bantların mevcut olduğu ve mutant gen bölgesine ait bantın bulunmadığı bir strip profili hastanın mutasyona sahip olmadığını gösterir. Mutant gen bölgelerine ait bantta sinyal alınıyorsa sinyal alınan mutasyonun normal allel kodonunun karşılığına bakılarak saptanan mutasyonun homozigot ya da heterozigot olma durumuna karar verilir. Mutasyonun normal alelini gösteren bantın mevcut olması durumunda mutasyon heterozigot, mevcut olmaması durumunda ise homozigot olarak değerlendirilir.

### 3.12. İstatistik

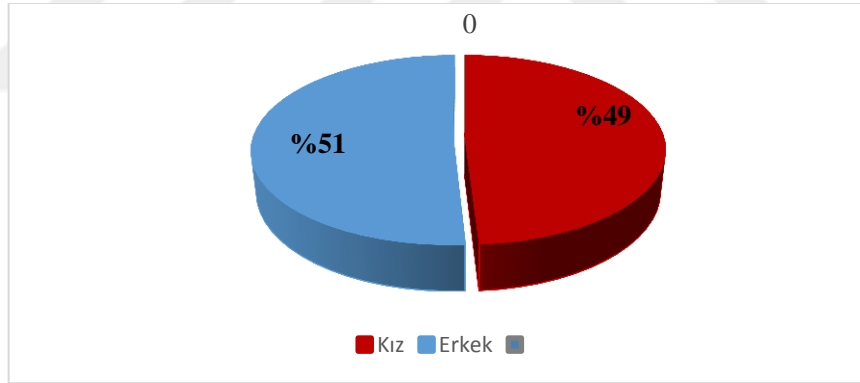
Veriler *Pearson ki kare* testi ve *Mann-WhitneyU* test ile değerlendirilerek istatistiksel anlamlılıklarına bakıldı.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamız Ocak 2012- Nisan 2016 tarihleri arasında OMÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Genetik Bilim Dalı'na Kistik Fibrozis ön tanısı ile başvuran 210 hastada gerçekleştirildi.

Bütün hastalara sekans ve reverse hibridizasyon multipleks PCR yöntemi ile KFTR gen mutasyon analizleri yapıldı. Genetik bilim dalımızda 14.08.2014 tarihine kadar 3 ekzonlu, sonrasında 12 ekzonlu sekans analizi uygulandığından hastaların 112'sinde 3 ekzonlu (%53,3), 98'inde 12 ekzonlu (%46,7) sekans analizi çalışılmış oldu. 3 ekzonlu çalışma ekzon 7, 10, ve 11' i; 12 ekzonlu çalışma ise ekzon 3, 4, 7, 8, 10, 11, 13, 15, 17A, 17B, 20, ve 21' i içermekte idi.

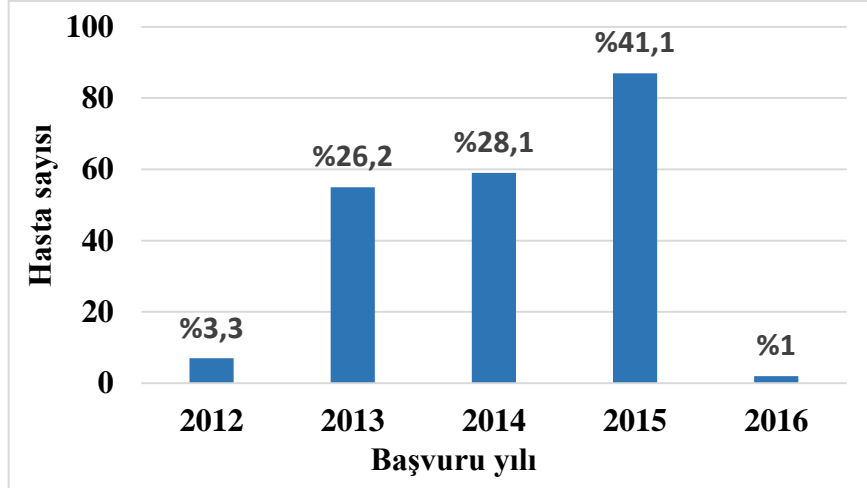
Çalışmamıza dahil olan hastaların yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay, ortalama yaş 17 ay idi. Hastaların 107'si erkek (%51), 103'ü kız (%49) idi. Erkeklerin kızlara oranı 1.03 olarak bulundu (Şekil 10).



**Şekil 10: Hastaların cinsiyet dağılımı**

Hastaların yıllara göre dağılımı, analiz edilen hasta sayısının her yıl giderek arttığını yansıtmaktaydı (Şekil 11)





Şekil 11. Hastaların yıllara göre dağılımı

Hastaların % 25,2'sinde akrabalık saptandı.

Hastalar **terde saptanan klor miktarına göre yapılandırılmış olan ve araç ve yöntemler bölümünde tanımlanan sınıflamada**, gruplara ayrıldı. Hastaların yaklaşık %40'nın Grup 1, 2 ve 3'te toplandığı belirlendi. En yoğun hasta grubu ise grup 4 idi {116 hasta (%55,2)}. Grup 1, ortalanca yaş 3 ay olarak en genç hasta grubunu oluşturdu. Grup 2'de ortalanca yaş 18 ay, grup 3'te ortalanca yaş 76 ay, grup 4'te ortalanca yaş 24 ay, grup 5'te ise ortalanca yaş 17 ay saptandı (Tablo 25).

Tablo 25. Ter testi gruplarında hasta dağılımı ve yaş

Ter Testi (mmol/Lt)	Hasta sayısı	%	Ortanca yaş(ay)
Grup 1 (>80)	48	22,9	3
Grup 2 (60-79)	18	8,6	18
Grup 3 (50-59)	13	6,2	76
Grup 4 (<49)	116	55,2	24
Grup 5 (olmayanlar)	15	7,1	17
Toplam	210	100	17

Hastaların **başvuru nedenleri** sorgulandığında; en yoğun hasta grubunun 101 (%48; 101/210) hasta ile "tekrarlayan akciğer enfeksiyonu" ve 56 (%26,7; 56/210) hasta ile "kilo alamama" olduğu görüldü. Hastaların 55 (%26,2; 55/210)'inde kronik ishal, 13 (%6,2; 13/210)'ünde tekrarlayan pankreatit atakları, 11 (%5,2; 11/210)'inde topuk kanında KF şüphesi, 8 (%3,8; 8/210)'inde bronşiektazi, 7 (%3,3; 7/210)'sinde

mekonyum ileusu, 7 (%3,3; 7/210)'sinde diğ er gastrointestinal sistem bulguları (rektal prolapsus, ileus, bağırsak obstrüksiyonu), 5 (%2,4; 5/210)'inde sinüzit, 5 (%2,4; 5/210)'inde kardeş KF öyküsü, 4 (% 1,9; 4/210)'ünde nazal polip, 2 (%1;2/210)'sinde ise sarılık oldu ğ u belirlendi (Tablo 26).

**Tablo 26.** Hastaların Başvuru Nedenleri

Başvuru Nedeni	Hasta Sayısı(n/210)	%(n/210)
<b>Tekrarlayan Akciğ er Enfeksiyonu</b>	101	%48 (101/210)
<b>Kilo Alamama</b>	56	%26,7 (56/210)
<b>Kronik İshal</b>	55	% 26,2 (55/210)
<b>Tekrarlayan Pankreatit</b>	13	%6,2 (13/210)
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	11	%5,2 (11/210)
<b>Mekonyum İleusu</b>	7	%3,3 (7/210)
<b>Diğ er Gis Bulguları (rektal prolapsus, ileus, bağırsak obstrüksiyonu)</b>	7	%3,3 (7/210)
<b>Bronşiektazi</b>	8	%3,8 (8/210)
<b>Kardeş KF Öyküsü</b>	5	% 2,4 (5/210)
<b>Sinüzit</b>	5	%2,4 (5/210)
<b>Nazal Polip</b>	4	% 1,9 (4/210)
<b>Sarılık</b>	2	%1 (2/210)

**Mutasyon analizinde,** hastaların tamamına, 1. yöntem olarak uygulanan sekans analizi sonucunda, 210 hastanın 71 (%33,8)'inde homozigot, bileşik heterozigot veya heterozigot formda, 28'i farklı toplam 87 mutasyon oldu ğ u görüldü. En sık görülen mutasyonlar, sırası ile F508del, 1677del TA, L997F, S1045F, R347P, R297Q, R75Q, R668C, R785X idi. L467F, W1282X, M348K, S492A, Y301C, M469V, I506V, T966T, M952I, M952I, G542X, E92K, I148T, F1052V mutasyonları ise tek hasta

bildirimi olarak kaldı. Mutasyon sıklıkları ve allelik frekans detayları Tablo 27-a ve 27-b'de belirtilmiştir.

**Tablo 27-a.** Sekansda Ekzon 7, 10, 11'de Saptanan Mutasyonların Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı (n:210)

<b>Mutasyon Tipi</b>	<b>Ekzon</b>	<b>Allel Sayısı</b>	<b>Mutasyon Frekansı % (n/210)</b>	<b>Allelik frekans % (n/420)</b>
<b>F508del</b>	10	27	%13(27/210)	%6,4
<b>1677del TA</b>	10	10	%4,8(10/210)	%2,4
<b>E528E</b>	10	3	%1,5(3/210)	%0,7
<b>R347P</b>	7	3	%1,5(3/210)	%0,7
<b>R297Q</b>	7	2	%1(2/210)	%0,5
<b>L467F</b>	10	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>M348K</b>	7	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>S492A</b>	10	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>Y301C</b>	7	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>M469V</b>	10	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>I506V</b>	10	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>V318V</b>	7	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>G542X</b>	11	1	%0,5(1/210)	%0,2
<b>Toplam</b>		53	%25,5	%12,6

**Tablo 27-b.** 12 Ekzonlu Sekansda Ekzon 3, 4, 8, 13, 15, 17A, 17B, 20, 21’de Saptanan Mutasyonların Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı (n:98)

<b>Mutasyon Tipi</b>	<b>Ekzon</b>	<b>Allel Sayısı</b>	<b>%(n/98) Mutasyon Frekansı</b>	<b>%(n/196) Allelik Frekans</b>
<b>P1290P</b>	20	9	%9,2 (9/98)	%4,6
<b>L997F</b>	17A	7	%7,2 (7/98)	%3,6
<b>S1045F</b>	17A	3	%3,0 (3/98)	%1,5
<b>R75Q</b>	3	2	%2,0 (2/98)	%1,0
<b>R668C</b>	13	2	%2,0 (2/98)	%1,0
<b>R785X</b>	13	2	%2,0 (2/98)	%1,0
<b>W1282X</b>	20	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>S737S</b>	13	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>T966T</b>	15	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>M952I</b>	15	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>T1095 T</b>	17B	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>K68E</b>	3	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>E92K</b>	4	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>I148T</b>	4	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>F1052V</b>	17B	1	%1,0 (1/98)	%0,5
<b>Toplam</b>		34	%34,7(34/98)	%17,3

71 hastada saptanan toplam 87 allel, hastalık nedeni olan klasik genotipik kombinasyon (**homozigot ya da bileşik heterozigot**) açısından değerlendirildi.

Hastaların 19'u homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlendi. Bu oran toplam popülasyonun %9'unu, tüm mutasyonların ise %26,7 (19/71)'sini kapsamaktaydı. Bu grupta saptanan mutasyonlar sırası ile F508del, 1677del TA, R347P, R785X, L467F, W1282X, L997F, M469V, I506V idi. Tüm mutasyonlar içinde F508del ve 1677del TA mutasyonu sıklık sırasında ilk 2 sırayı oluşturmakta idi (Tablo 28).

**Tablo 28.** Sekans Analizinde Homozigot, Birleşik Heterozigot Mutasyonların Dağılımı (n:19) ve Genotip ve Allel Frekansları

Mutasyon tipi	Mutasyon olan hasta sayısı(n/19)	% (n/71)	% (n/210)
F508del Homozigot	7 (%36,8)	%9,9	%3,3
1677del TA Homozigot	3 (%15,8)	%4,2	%1,4
R347P Homozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
R785X Homozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
F508del Heterozigot / L467F Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
F508del Heterozigot/ W1282X Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
F508 Del Heterozigot /1677 del TA Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
1677 del TA Heterozigot/ L997F Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
M469V Heterozigot/ I506V Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
R347P Heterozigot/ 2789+5 G>A Heterozigot	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
Delesyon*	1 (%5,3)	%1,4	%0,5
Toplam	19 (100%)	%26,8	%9,0

Hastalarımızdan birinde (\*), KFTR geni ile ilişkili ekzon 7 ve ekzon 10'un, PCR amplifikasyonu 2 kez başarısız olunca, delesyon olabileceği düşünülerek farklı protokollere geçildi. Ters hibridizasyon PCR çalışmasında, KFTR geninde geniş bir delesyon gösterildi. Delesyon kodon 508, 1677, 2789+5, kodon 85, kodon 92, kodon 152, 621+1, kodon 334, kodon 347 ve IVS 5T, IVS 7T, IVS 9T bölgelerini kapsamaktaydı. Array CGH çalışması uygulanan hastada 7q31.2' de KFTR gen bölgesini içeren 100 kb'lik homozigot bir delesyon olduğu gözlemlendi.

**Mutasyonlar ve Klinik ilişkilendirildi.** Sekans analizi yapılan hastalarda mutasyon oranı en yüksek grup mekonyum ileusu grubu idi; 7 hastanın 4 (%57,1; 4/7)'ünde mutasyon saptandı, mutasyon saptanan hastaların tümü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon idi; İshal, bronşiektazi, kilo alamama, pankreatit atakları, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu mutasyon oranı açısından takibeden grupları oluşturdu (%52,8, %37,5, %33,9, %30,8 ve %29,7). Bronşiektazi ile başvuran 8 hastanın 3 (%37,5; 3/8)'ünde mutasyon saptandı ancak homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanamadı; diğer gastrointestinal sistem bulguları (Rektal Prolapsus, İleus, Bağırsak Obstrüksiyonu) olan 7 hastanın 2 (28,6; 2/7)'sinde mutasyon saptandı, 1 (%14,3; 1/7)'inde homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon vardı; sinüzit ile başvuran 5 hastanın 1 (%20; 1/5)'inde mutasyon saptandı, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanamadı; nazal polip ile başvuran 4 hastanın 1 (%25; 1/4)'inde mutasyon saptandı, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanamadı; sarılık ile başvuran hastalarımızda mutasyon bulunamadı KF'li kardeş öyküsü olması nedeniyle başvuran 5 hastanın 4 (%80; 4/5)'ünde mutasyon saptandı, 1 (%20; 1/5)'inde homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptandı (Tablo 29).

Klinik temelde, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon sıklığı en yüksek olan klinik bulgu, mekonyum ileusu idi (%57). Bunu kronik ishal (%16,4), tekrarlayan pankreatit atakları (%15,4), kilo alamama (%10,7) ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (%7,9) takip ediyordu. Bronşiektazi ve nazal polip grubunda ise, toplam mutasyon oranları 1/3 ve 1/4 olmasına karşın, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon sıklığı negatif idi (Tablo 29).

**Tablo 29.** Sekansda Saptanan Mutasyonlar-Hasta Başvurusu İlişkisi

<b>Başvuru Nedeni</b>	<b>Homozigot ya da Bileşik Heterozigot Mutasyon</b>	<b>Mutasyon (Homozigot, Bileşik Heterozigot, Heterozigot)</b>	<b>Toplam Hasta Sayısı</b>
<b>Mekonyum İleusu</b>	4(%57,1)	4(%57,1)	7
<b>KF'li Kardeş Öyküsü</b>	1(%20)	4(%80)	5
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	2(%18,2)	6(%54,6)	11
<b>İshal</b>	9(%16,4)	29(%52,8)	55
<b>Pankreatit</b>	2(%15,4)	4(%30,8)	13
<b>Diğer Gis Bulguları (Rektal Prolapsusu, İleus, Bağ Obst)</b>	1(%14,3)	2(%28,6)	7
<b>Kilo Alamama</b>	6(%10,7)	19(%33,9)	56
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	8(%7,9)	30(%29,7)	101
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	3(%37,5)	8
<b>Sinüzit</b>	0(%0)	1(%20)	5
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	1(%25)	4
<b>Sarılık</b>	0(%0)	0(%0)	2

Sekansda saptanan mutasyon tiplerinin hasta başvurusuna göre dağılımı incelendi (Tablo 30).

**Tablo 30.** Sekansda saptanan mutasyon tipleri ve hasta başvurusuna göre dağılımı

<b>Mutasyon</b>	<b>Başvuru Nedenleri</b>	<b>Mutasyon</b>	<b>Başvuru Nedenleri</b>
<b>ΔF508:</b> <b>(n:20)</b>	Tekrarlayan akc:7 Kronik ishal:8 Kilo alamama:6 Kardeş KF öyküsü:3 Mekonyum ileusu:2 Pankreatit atakları:2 Topuk kanında KF şüphesi:2 Diğer GİS bulguları:1	<b>1677del</b> <b>TA:</b> <b>(n:7)</b>	Tekrarlayan akc:2 Kronik ishal:4 Kilo alamama:4 Kardeş KF öyküsü:1 Pankreatit atakları:1 Topuk kanında KF şüphesi:1 Diğer GİS bulguları:1
<b>R347P:</b> <b>(n:2)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:1 Mekonyum ileusu:1	<b>R297Q:</b> <b>(n:2)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:1 Diğer GİS bulguları:1 Bronşiektazi:1
<b>L467F:</b> <b>(n:1)</b>	Kronik ishal:1 Pankreatit atakları:1	<b>P1290P:</b> <b>(n:9)</b>	Tekrarlayan akc:4 Kronik ishal:2 Kilo alamama:4
<b>M348K:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1	<b>S492A:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1
<b>W1282X:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:1	<b>Y301C:</b> <b>(n:1)</b>	Kronik ishal:1 Kilo alamama:1
<b>R75Q:</b> <b>(n:2)</b>	Tekrarlayan akc:1 Bronşiektazi:1	<b>E528E:</b> <b>(n:3)</b>	Tekrarlayan akc:2 Kronik ishal:1
<b>M469V/I506V:</b> <b>(n:1)</b>	Kronik ishal:1	<b>G542X</b> <b>(n:1)</b>	Topuk kanında KF şüphesi:1
<b>R785X:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1 Mekonyum ileusu:1	<b>S1045F:</b> <b>(n:3)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:2
<b>E92K:</b> <b>(n:1)</b>	Bronşiektazi:1 Nazal polipozis:1 Sinüzit:1	<b>R668C:</b> <b>(n:2)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:1 Kilo alamama:1
<b>M952I:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1	<b>V318V:</b> <b>(n:1)</b>	Topuk kanında KF şüphesi:1
<b>L997F:</b> <b>(n:7)</b>	Kronik ishal:3 Kilo alamama:1 Pankreatit atakları:2 Topuk kanında KF şüphesi:2	<b>S737S:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1 Kronik ishal:1
<b>K68E:</b> <b>(n:1)</b>	Kronik ishal:1	<b>T1095T:</b> <b>(n:1)</b>	Kronik ishal:1
<b>I148T:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1	<b>F1052V:</b> <b>(n:1)</b>	Kilo alamama:1
<b>T966T:</b> <b>(n:1)</b>	Kilo alamama:1	<b>Delesyon:</b> <b>(n:1)</b>	Tekrarlayan akc:1



Sekansda elde edilen **mutasyonlar ve ter testi** ilişkilendirildi.

Mutasyonlar ve hasta tanıları modifiye ettiğimiz ter testine dayandırılarak değerlendirildiğinde (**eşik değer 60**), ter testi 60 üzeri olan toplam 66 hasta saptandı. 66 hastada, 16'sı farklı toplam 52 (%79) mutasyon saptandı. 66 hastanın 18'inde (%27) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu; 18 hastanın ter testi sonucu grup 1'e dahildi. Klinikte mutasyonlarla birliktelikte en yüksek ilişki oranı, ter testi ilişkisi oldu.

Ter testinde **eşik değer 50 ve üzeri** olan grubu değerlendirdiğimizde, toplam 79 hasta saptandı. Bunların 55'inde homozigot, heterozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptandı (%70). 79 hastanın 19'unda (%24) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu; 19 hastanın 18'sinin (%95;18/19) ter testi sonucu grup 1'e dahildi. Biri (%5) ise grup 3'te idi.

Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip hastaların başvuru yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay bulundu, ortanca yaş ise 2 aydı. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olmayan hastalarda başvuru yaşı ise 1 ay-214 ay idi ve ortanca yaş 19,5 ay olarak bulundu. Grup 1'de ortanca yaş ile diğer grupların tamamındaki ortanca yaş karşılaştırıldığında, hasta tanı yaşı yoğun ter testi grubunda diğerlerine göre küçüktü; fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0,01$ ).

Bu gruptaki hastaların % 47,3 (9/19)'ünde akrabalık vardı.

Çalışmamızda **3 ve 12 ekzonlu dizi analizi** sonuçları da karşılaştırıldı. Dizi analiz mutasyonları ve allel sayıları tablo 31'de gösterildi.

3 ekzon için sekans analizi yapılan 112 hastanın 22'sinde (%19,6), 12 ekzon için sekans analizi yapılan 98 hastanın ise 49'unda (%50) mutasyon vardı. 3 ekzonlu ve 12 ekzonlu sekans analizi yapılan hastalar, mutasyon saptama açısından karşılaştırıldığında, 12 ekzonlu sekans analizi yapılan grupta istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

**Tablo 31. 3 ekzon ve 12 ekzon dizi analiz mutasyonları ve allel sayıları**

<b>3 Ekzonlu (7,10,11) (n:28)</b>	<b>12 Ekzonlu (3,4,7,8,10,11,13,15,17a,17b,20,21) (n:59)</b>		
<b>Ekzon7</b> M348K :1 R297Q :2 R347P :1 Y301C :1	<b>Ekzon3</b> K68E :1 R75Q :2	<b>Ekzon11</b> G542X :1	<b>Ekzon20</b> P1290P :9 W1282X :1
<b>Ekzon 10</b> F508del :18 S492A :1 1677del TA:4	<b>Ekzon 4</b> E92K :1 I148T :1	<b>Ekzon13</b> R668C :2 R785X :2 S737S :1	
	<b>Ekzon7</b> V318V :1 R347P :2	<b>Ekzon15</b> M952I :1 T966T :1	
	<b>Ekzon10</b> F508del :9 1677 Del TA :6 E528E :3 I506V :1 L467F :1 M469V :1	<b>Ekzon 17A</b> L997F :7 S1045F :3	
		<b>Ekzon17B</b> T1095 T :1 F1052V :1	

3 ekzonlu ve 12 ekzonlu sekans analizi, tüm popülasyonda homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon yakalama açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak fark anlamlı değildi (p=0,58). Mutasyonların içindeki homozigotluk oranı ise iki grupta fark göstermekte idi. 3 ekzon analizinde 22 mutasyonun 9'u (%40), 12 ekzon analizinde 49 mutasyonun 10'u (%20) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon idi.

### **SEKANS ANALİZ SONUÇLARINDA GENOTİP- FENOTİP İLİŞKİSİ**

**ΔF508 mutasyonu:** Sekans yapılan 210 hastanın 20'sinde F508del mutasyonu saptanmıştı. Bu 20 vakada genotip-fenotip ilişkisine bakıldı; Mutasyon ve ishal ve kardeş KF öyküsü birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,044 ve p<0,01). Ancak tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (p=0,850), kilo alamama (p=0,723), pankreatit (p=0,457), topuk kanında KF şüphesi (p=0,315), bronşiektazi (p=1), diğer gastrointestinal sistem bulguları (p=0,668), mekonyum ileusu (p=0,081), sinüzit (p=1),

nazal polip (p=1), sarılık (p=1) olan hastalardaki birliktelik ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 32).

**Tablo 32.** Sekans Analizi Yapılan Tüm Hastalarda F508del Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:20)

	<b>F508 Mutasyonu Var(n/20)</b>	<b>F508 Mutasyonu Yok(n/190)</b>	<b>P Değeri</b>	<b>Toplam (n/210)</b>
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	10(%50)	91(%47,9)	0,850	101(%48,1)
<b>Kilo Alamama</b>	6(%30)	50(%26,3)	0,723	56(%26,7)
<b>İshal</b>	9(%45)	46(%24,2)	0,044	55(%26,2)
<b>Pankreatit</b>	2(%10)	11(%5,8)	0,457	13(%6,2)
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	2(%10)	9(%4,7)	0,315	11(%5,2)
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	8(%4,2)	1	8(%3,8)
<b>Diğer Gis Bulguları (Rektal Prolapsusu, İleus, Bağ Obst)</b>	1(%5)	6(%3,2)	0,668	7(%3,3)
<b>Mekonyum İleusu</b>	2(%10)	5(%2,6)	0,081	7(%3,3)
<b>Sinüzit</b>	0(%0)	5(%2,6)	1	5(%2,4)
<b>KF'li Kardeş Öyküsü</b>	3(%15)	2(%1,1)	<0,01	5(%2,4)
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	4(%2,1)	1	4(%1,9)
<b>Sarılık</b>	0(%0)	2(%1,1)	1	2(%1)

Mutasyon gözlenen 71 hastanın 20'sinde F508del mutasyonu saptanmıştı. Bu 20 vakada genotip-fenotip ilişkisine bakıldı: mutasyon ve kardeş KF öyküsü birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,03) (Tablo 33).

**Tablo 33.** Sekans Analizinde Mutasyon Saptanan Hastalarda F508del Mutasyonu İçin Genotip-Fenotip İlişkisi (N:20)

	<b>F508 Mutasyonu Var(n/20)</b>	<b>F508 Mutasyonu Yok(n/51)</b>	<b>P Değeri</b>	<b>Toplam (n/71)</b>
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	10(%50)	20(%39,2)	0,408	30(%42,3)
<b>Kilo Alamama</b>	6(%30)	13(%25,5)	0,699	19(%26,8)
<b>İshal</b>	9(%45)	20(%39,2)	0,656	29(%40,8)
<b>Pankreatit</b>	2(%10)	2(%3,9)	0,314	4(%5,6)
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	2(%10)	4(%7,8)	1	6(%8,5)
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	3(%5,9)	1	3(%4,2)
<b>Diğer Gis Bulguları (Rektal Prolapsusu, İleus, Bağ Obst)</b>	1(%5)	1(%2)	0,487	2(%2,8)
<b>Mekonyum İleusu</b>	2(%10)	2(%3,9)	0,314	4(%5,6)
<b>Sinüzit</b>	0(%0)	1(%2)	1	1(%1,4)
<b>KF'li Kardeş Öyküsü</b>	3(%15)	1(%2)	0,030	4(%5,6)
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	1(%2)	1	1(%1,4)
<b>Sarılık</b>	0(%0)	0(%0)	-	0(%0)

**1677del TA mutasyonu:** Sekans analizi yapılan 210 hastanın 7'sinde 1677del TA mutasyonu saptanmıştı. Bu 7 vakada genotip-fenotip ilişkisine bakıldı; tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (p=0,448), kilo alamama (p=0,083), pankreatit (p=0,365), topuk kanında KF şüphesi (p=0,318), bronşiektazi (p=1), diğer gastrointestinal sistem bulguları (p=1), mekonyum ileusu (p=1), sinüzit (p=1), kardeş KF öyküsü (p=0,157), nazal polip (p=1), sarılık (p=1) alt gruplarının hiç birinde genotip-fenotip ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı. İshal birlikteliği ise sınırda anlamlılık verdi (p=0,058).

Sekans analizinde saptanan diğer mutasyonların frekansı düşük olduğundan genotip- fenotip ilişkisi analiz edilemedi.

**2007 yılında Avrupa Kistik Fibrozis topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği konferansı KFTR mutasyon sınıflaması (1.klasifikasyon)** (105), sekans analizi yapılan hastalarımıza uyarlandığında, hastalarımız kliniklerine göre sınıflandırıldığında, A grubuna dahil olan olguların klasifikasyonla uyumlu olarak, Klasik KF ile takipli olduğu görüldü. B ve C grubunda olan hastalar hafif klinikle seyrederken, D grubundaki mutasyonların kliniğe etkisi bilinmiyordu (Tablo 34).

**Tablo 34. Sekans Analizinde Mutasyonların Klinik Etkilerine ile Değerlendirilmesi**

Mutasyonlar	Ekzon	Hasta Sayısı	Gruplar	Klinik
F508del	10	20	A	Klasik KF
1677 del TA	10	7	A	Klasik KF
R347P	13	2	A	Klasik KF
R297Q	7	2	A veya B	Klasik KF
W1282X	20	1	A	Klasik KF
G542X	11	1	A	Klasik KF
L997F	17A	7	B	Klinik yok
R668C	13	2	B	Hafif klinik
M952I	15	1	B	Hafif klinik
P1290P	20	9	C	Hafif klinik
E528E	10	3	C	Hafif klinik
R75Q	3	2	C	Hafif klinik
I148T	4	1	C	Hafif klinik
L467F	10	1	D	Anlamı bilinmiyor
M348K	7	1	D	Anlamı bilinmiyor
S492A	10	1	D	Anlamı bilinmiyor
Y301C	7	1	D	Anlamı bilinmiyor
M469V	10	1	D	Klasik KF(bileşik heterozigot)
I506V	10	1	D	Klasik KF(bileşik heterozigot)
T966T	15	1	D	Anlamı bilinmiyor
V318V	7	1	D	Anlamı bilinmiyor
T1095T	17B	1	D	Anlamı bilinmiyor
K68E	3	1	D	Anlamı bilinmiyor
E92K	4	1	D	1 hasta klasik KF, diğerinde bilinmiyor
S1045F	17A	3	D	Anlamı bilinmiyor
F1052V	17B	1	D	Anlamı bilinmiyor
S737S	13	1	D	Anlamı bilinmiyor (ter testi yüksek)
R785X	13	1	D	Klasik KF

Sekans analizinde KFTR gen mutasyonları, meydana gelen defektin **sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre** (105) yapılandırılan sınıflamaya uyarlandı(**2.klasifikasyon**). Mutasyonlar 6 grupta değerlendirildi. Hastalarımızın %8,4'ü (12/142) klas I mutasyonu, %19'u (7/142) klas II mutasyonu, %2'si klas IV mutasyonu idi. %31,6'sı ise sınıflandırılmadı. klas III, klas V ve klas VI mutasyona sahip hastamız yoktu (Tablo 35).

**Tablo 35. Sekans KFTR Yapısal ve Fonksiyonel Klasifikasyonu**

Klasifikasyon	Mutasyon	Ekzon	Allel Sayısı	Mutasyon	Ekzon	Allel Sayısı	TOPLAM%
<b>Klas I</b>	1677del TA	10	10				%8,4 (12/142)
	W1282X	20	1				
	G542X	11	1				
<b>Klas II</b>	ΔF508	10	27				%19 (27/142)
<b>Klas III</b>	-	-	0				
<b>Klas IV</b>	R347P	13	3				%2,11 (3/142)
<b>Klas V</b>	-	-	0				
<b>Klas VI</b>	-	-	0				
<b>Diğer Mutasyonlar</b>	P1290P	20	9	Y301C	7	1	%31,6 (45/142)
	L997F	17A	7	M469V	10	1	
	S1045F	17A	3	I506V	10	1	
	E528E	10	3	T966T	15	1	
	R668C	13	2	M952I	15	1	
	R297Q	7	2	V318V	7	1	
	R75Q	3	2	T1095T	17B	1	
	R785X	13	2	K68E	3	1	
	Delesyon	-	1	E92K	4	1	
	L467F	10	1	I148T	4	1	
	S737S	13	1	F1052V	17B	1	
	M348K	7	1				
	S492A	10	1				

Başvuran hastaların tamamına 2. mutasyon protokolü olarak 1. protokoldeki 12 ekzondan farklı ekzon ve mutasyonları da içeren, 24 mutasyonlu **ters hibridizasyon multipleks PCR** ile direkt mutasyon analizi yapıldı.

210 hastanın 40'ında mutasyon saptandı (%19). Allel temelinde, 14 farklı, toplam 61 mutasyon mevcuttu. F508del allel frekansının, mutasyon saptanan hasta grubundaki oranı % 33,7 (27/80) ve tüm hastalardaki oranı %6,4 (27/420) bulundu. İkinci en sık görülen mutasyon olan 1677del TA allel frekansı mutasyon saptanan hasta grubunda %12,5 (10/80), tüm hastalardaki oranı %2,4 (10/420) idi. Saptanan diğer mutasyonların allel frekansları Tablo 36'da gösterildi.

**Tablo 36. Multipleks PCR Analizinde Saptanan Mutasyonların Mutasyon Frekansı ve Allel Frekans Dağılımı(n:210)**

Mutasyon Tipi	Ekzon	Mutasyon Sayısı (n:61)	Mutasyon Frekansı %(n/210)	Allelik Frekans %(n/420)
<b>F508del</b>	10	27	% 13,0	% 6,4
<b>1677del TA</b>	10	10	% 4,8	% 2,4
<b>2789 +5 G&gt;A</b>	İntron 14b	6	% 2,9	% 1,4
<b>R1162X</b>	19	4	% 2,0	% 1,0
<b>E92K</b>	4	2	% 1,0	% 0,5
<b>D1152H</b>	18	2	% 1,0	% 0,5
<b>N1303K</b>	21	2	% 1,0	% 0,5
<b>R347P</b>	7	2	% 1,0	% 0,5
<b>E831X</b>	14a	1	% 0,5	% 0,2
<b>G542X</b>	11	1	% 0,5	% 0,2
<b>2043 del G</b>	13	1	% 0,5	% 0,2
<b>2183A A&gt;G</b>	13	1	% 0,5	% 0,2
<b>Delesyon</b>	-	1	% 0,5	% 0,2
<b>W1282X</b>	20	1	% 0,5	% 0,2
<b>Toplam</b>	-	61	%29,0	%14,5

24 mutasyon multipleks PCR analizi ile saptanabilen ancak hastalarımızda hiç saptanmayan mutasyonlar: 1717-1 G>A(intron 10), 2184 İns A(ekzon 13), R1158X(ekzon 19), G85E (ekzon3), E92X (ekzon 4), M152V (ekzon 4), 621+1 G>T (intron 4), R334V (ekzon 7), R347H (ekzon7), W1098X (ekzon 17b) idi.

E92X (ekzon 4), E92K olarak ve R347H (ekzon7) ise R347P olarak saptandı.

40 hastada saptanan 61 mutasyonun 23(%11; 23/210)'ü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlendi. Bu grupta saptanan mutasyonlar sırası ile

F508del, 1677del TA, R1162X, R347P, D1152H, W1282X, 2183A A>G, 2789+5 G>A, N1303K idi. Tüm mutasyonlar arasında  $\Delta$ F508 ve 1677del TA mutasyonu, sıklık sırasına göre yine ilk iki sırada idi (Tablo 37).

**Tablo 37. Multipleks PCR Analizinde Homozigot, Birleşik Heterozigot Mutasyonların Dağılımı (n:23) ve Genotip ve Allel Frekansları**

Mutasyon Tipi	Mutasyon Sıklığı (n/23)	% (n/40)	% (n/210)
F508del Homozigot	7(%30,4)	%17,5	%3,3
1677del TA Homozigot	3(%13)	%7,5	%1,4
F508del Heterozigot / R1162X heterozigot	2(%8,7)	%5,0	%1,0
R347P Homozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508 del Heterozigot/ D 1152 H Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508del Heterozigot/ W1282X Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508del Heterozigot / 2183A A>G Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508 del Heterozigot/ 2789+5 G>A Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508 del Heterozigot / 1677 del TA Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
F508del Heterozigot /N1303K Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
R1162X Homozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
1677del TA Heterozigot / 2789+5 G>A Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
R347P Heterozigot/ 2789+5 G>A Heterozigot	1(%4,3)	%2,5	%0,5
Delesyon	1(%4,3)	%2,5	%0,5
<b>Toplam</b>	<b>23(%100)</b>	<b>%57,5</b>	<b>%11</b>

Multipleks PCR analizi yapılan hastalarda mutasyonların başvuru nedenleri ile ilişkisi tablo 38' de özetlenmiştir,



**Tablo 38. Multipleks PCR Analizinde Saptanan Mutasyon-Hasta Başvurusu İlişkisi**

<b>Başvuru Nedeni</b>	<b>Homozigot ya da Bileşik Heterozigot Mutasyon (n)</b>	<b>Mutasyon (Homozigot, Bileşik Heterozigot ya da Heterozigot)(n)</b>	<b>Toplam Hasta Sayısı(n)</b>
<b>Mekonyum İleusu</b>	3(%42,9)	3(%42,9)	7
<b>İshal</b>	14(%25,5)	17(%31)	55
<b>KF'li Kardeş Öyküsü</b>	1(%20)	5(%100)	5
<b>Kilo Alamama</b>	11(%19,6)	13(%23,2)	56
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	2(%18,2)	4(%36,4)	11
<b>Diğer Gis Bulguları (Rektal Prolapsusu, İleus, Bağ Obst)</b>	1(%14,3)	1(%14,3)	7
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	11(%10,9)	15(%14,9)	101
<b>Pankreatit</b>	1(%7,7)	5(%38,5)	13
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	1(%12,5)	8
<b>Sinüzit</b>	0(%)	1(%20)	5
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	1(%25)	4
<b>Sarılık</b>	0(%0)	1(%50)	2

Multipleks PCR'da elde edilen **mutasyonlar ve ter testi** ilişkilendirildi. Mutasyonlar, hasta tanıları ter testine göre değerlendirildiğinde (**esik değer 60 mMol/L**), toplam 66 saptandı. Bunların 50'sinde (%76) homozigot, heterozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon bulundu. 23'ünde ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan 23 hastanın %100 (23/23)'ünün ter testi grup 1'e dahildi. **Klinikte mutasyonlarla birliktelikte en yüksek ilişki oranı, ter testi ilişkisi oldu.**

Mutasyonla, hasta tanıları ter testine göre (esik değer 50 mMol/L) değerlendirildiğinde toplam 79 hasta mevcuttu. Bunların 52'sinde (%66) homozigot, heterozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon bulundu. 23'ünde ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan 23 hastanın tümünde (23/23; %100) ter testi yüksek pozitif grupta idi (grup 1).

Bu grupta hastaların başvuru yaşı minimum 1 ay, maksimum 111 ay bulundu, ortanca yaş ise 2 aydı. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olmayan hastalarda başvuru yaşı minimum 1 ay maksimum 216 ay ve ortanca yaş 20,5 ay bulundu.

Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan hastalarda, Grup 1 ortanca yaşı ile diğer grupların tamamındaki ortanca yaş karşılaştırıldığında, hasta tanı yaşı yoğun ter testi grubunda diğerlerine göre küçüktü; fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0,01$ ). Bu gruptaki hastaların % 39,1 (9/23)'ünde akrabalık vardı.

T polimorfik allel dağılımı incelendi. Multipleks PCR'da 8 hastada 5T-7T (%3,8; 8/210), 138 hastada 7T-7T (%65,7; 138/210), 53 hastada 7T-9T (%25,2; 53/210), 10 hastada 9T-9T (%4,8; 10/210) polimorfizmi saptandı (Tablo 39).

**Tablo 39. 5T-7T-9T mutasyonları dağılımı**

Polimorfizm	Hasta Sayısı	%
5T-7T	8	3,8(8/210)
7T-7T	138	65,7(138/210)
7T-9T	53	25,2(53/210)
9T-9T	10	4,8(10/210)

## MULTİPLEKS PCR SONUÇLARININ FENOTİPLE İLİŞKİSİ

**F508 mutasyonu:** Multipleks PCR analizi yapılan 210 hastanın 20'sinde F508del mutasyonu saptanmıştı. Bu 20 olguda genotip-fenotip ilişkisine bakıldı;

Mutasyon ve ishal (p=0,044) ve kardeş KF öyküsü (p<0,1) birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı idi.

Ancak tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (p=0,850), kilo alamama (p=0,723), pankreatit (p=0,457), topuk kanında KF şüphesi (p=0,315), bronşiektazi (p=1), diğer gastrointestinal sitem bulguları (p=0,668), mekonyum ileusu (p=0,081), sinüzit (p=1), nazal polip (p=1), sarılık (p=1) olan hastalardaki birliktelik istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 40).

**Tablo 40. Multipleks PCR Analizi Yapılan Tüm Hastalarda F508 Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:20)**

	F508 Mutasyonu Var(n/20)	F508 Mutasyonu Yok(n/190)	P Değeri	Toplam (n/210)
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	10(%50)	91(%47,9)	0,850	101(%48,1)
<b>Kilo Alamama</b>	6(%30)	50(%26,3)	0,723	56(%26,7)
<b>İshal</b>	9(%45)	46(%24,2)	0,044	55(%26,2)
<b>Pankreatit</b>	2(%10)	11(%5,8)	0,457	13(%6,2)
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	2(%10)	9(%4,7)	0,315	11(%5,2)
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	8(%4,2)	1	8(%3,8)
<b>Diğer GİS Bulguları</b>	1(%5)	6(%3,2)	0,662	7(%3,3)
<b>Mekonyum İleusu</b>	2(%10)	5(%2,6)	0,081	7(%3,3)
<b>Sinüzit</b>	0(%0)	5(%2,6)	1	5(%2,4)
<b>Kardeş KF Öyküsü</b>	3(%15)	2(%1,1)	<0,01	5(%2,4)
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	4(%2,1)	1	4(%1,9)
<b>Sarılık</b>	0(%0)	2(%1,1)	1	2(%1)

Multipleks PCR analizinde mutasyon gözlenen 40 hastanın 20'sinde F508 del mutasyonu, 7'sinde 1677del TA mutasyonu saptanmıştı. Bu gruplarda genotip-fenotip

ilişkinine bakıldı; hiç bir alt grupta mutasyon ile hastalık birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Multipleks PCR analizi yapılan 210 hastanın 7'sinde 1677del TA mutasyonu saptanmıştı. Bu grupta genotip-fenotip ilişkinine bakıldı; hiç bir alt grupta mutasyon ile hastalık birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (tablo 16). Kilo alamama ve ishal birlikteliği ise sınırda anlamlılık verdi (p=0,058) (Tablo 41).

**Tablo 41. Multipleks PCR Analizi Yapılan Tüm Hastalarda 1677del TA Mutasyonu için Genotip-Fenotip İlişkisi (n:7)**

	1677del TA Mutasyonu Var(n/7)	1677del TA Mutasyonu Yok(n/203)	P Değeri	Toplam (n/210)
<b>Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu</b>	2(%28,6)	99(%48,8)	0,448	101(%48,1)
<b>Kilo Alamama</b>	4(%57,1)	52(%25,6)	0,083	56(%26,7)
<b>İshal</b>	4(%57,1)	51(%25,1)	0,058	55(%26,2)
<b>Pankreatit</b>	1(%14,3)	12(%5,9)	0,365	13(%6,2)
<b>Topuk Kanında KF Şüphesi</b>	1(%14,3)	10(%4,9)	0,318	11(%5,2)
<b>Bronşiektazi</b>	0(%0)	8(%3,9)	1	8(%3,8)
<b>Diğer Gis Bulguları (Rektal Prolapsusu, İleus, Bağ Obst)</b>	0(%0)	7(%3,4)	1	7(%3,3)
<b>Mekonyum İleusu</b>	0(%0)	7(%3,4)	1	7(%3,3)
<b>Sinüzit</b>	0(%0)	5(%2,6)	1	5(%2,4)
<b>KF'li Kardeş Öyküsü</b>	1(%14,3)	4(%2)	0,157	5(%2,4)
<b>Nazal Polip</b>	0(%0)	4(%2)	1	4(%1,9)
<b>Sarılık</b>	0(%0)	2(%1)	1	2(%1)

**2007 yılında Avrupa Kistik Fibrozis topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği konferansı KFTR mutasyon sınıflaması**, multipleks PCR analizi yapılan hastalarımıza uyarlanarak hastalarımız kliniklerine göre sınıflandırıldığında A grubuna dahil olan olguların klasifikasyonla uyumlu olarak, Klasik KF ile takipli olduğu görüldü. B ve C grubunda olan hastalar hafif klinikle seyrederken, D grubundaki mutasyonların kliniğe etkisi bilinmiyordu (Tablo 42).

**Tablo 42. Multipleks PCR Analizinde Mutasyonların Klinik Etkileri ile Değerlendirilmesi (2007 yılında Avrupa Kistik Fibrozis topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği konferansı)**

Mutasyonlar	Ekzon	Hasta Sayısı	Gruplar	Klinik
F508del	10	20	A	Klasik KF
1677 del TA	10	7	A	Klasik KF
R347P	7	1	A	Klasik KF
W1282X	20	1	A	Klasik KF
G542X	11	1	A	Klasik KF
2789+5 G>A	İntron 14b	6	A	Klasik KF
D1152H	18	2	A veya B	Klasik KF
R1162X	19	2	A	Klasik KF
N1303K	21	2	A	Klasik KF
E831X	14A	1	D	Hafif klinik KF
2043del G	13	1	D	Anlamı bilinmiyor
2183A A>G	13	1	D	Klasik KF(bileşik heterozigot)
E92K	4	2	D	1 Klasik KF, diğerinin anlamı bilinmiyor
Delesyon		1	-	Klasik KF

Multipleks PCR'da KFTR gen mutasyonları, meydana gelen defektin sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre yapılandırılan sınıflamaya uyarlandı (2.protokol). Mutasyonlar 6 grupta değerlendirildi.

Hastalarımızın %16,3'i (13/80) klas I mutasyonu, %36,3'i (29/80) klas II mutasyonu, %2,5'i klas IV ve %7,5'i klas V idi. 11 hasta ise (%13,8) ise sınıflandırılmadı. Klass III ve klas VI mutasyona sahip hastamız yoktu (Tablo 43).

**Tablo 43. Multipleks PCR KFTR Yapısal ve Fonksiyonel Klasifikasyonu**

Klasifikasyon	Mutasyon	Ekzon	Allel Sayısı	Toplam % (n/80)
<b>Klas I</b>	1677del TA	10	10	%16,3 (13/80)
	W1282X	20	1	
	2183A A>G	13	1	
	G542X	11	1	
<b>Klas II</b>	F508 Del	10	27	%36,3 (29/80)
	N1303K	21	2	
<b>Klas III</b>	-	-	0	-
<b>Klas IV</b>	R347P(1)	13	2	%2,5 (2/80)
<b>Klas V</b>	2789+5 G>A	İntron 14b	6	%7,5 (6/80)
<b>Klas VI</b>	-	-	0	-
<b>Diğer Mutasyonlar</b>	D1152H	18	2	%13,8 (11/80)
	E92K	4	2	
	R1162X	19	4	
	Delesyon	-	1	
	2043 Del G	13	1	
	E831X	14a	1	

**Sekans ile multipleks PCR analiz sonuçları mutasyon saptama açısından karşılaştırıldı.** Sekans analizi yapılan 210 hastanın 71'inde (%34; 71/210) mutasyon bulunmuştu, aynı hasta grubunda multipleks PCR yöntemi ile 210 hastanın 40'ında (%19; 40/210) mutasyon saptanmıştı; fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0,01$ ) (Tablo 44).

**Tablo 44. Sekans analizi ile Multipleks PCR'ın Karşılaştırılması**

<b>Multipleks PCR Mutasyon</b>	<b>Sekans Mutasyon Var</b>	<b>Sekans Mutasyon Yok</b>	<b>Toplam</b>
<b>Var</b>	33 %46,5	7 %5	40 %19
<b>Yok</b>	38 %53,5	132 %95	170 %81
<b>Toplam</b>	71 %100	139 %100	210 %100

Sekans analizinde 210 hastanın 19'unda (%9; 19/210) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon bulundu, Multipleks PCR analizinde ise 210 hastanın 23'ünde (%11; 23/210) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptandı. 16 hastada her iki grupta da ortak mutasyonlar vardı. Multipleks PCR ve sekans analizini homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyonları saptama açısından karşılaştırdığımızda, hastalara multipleks PCR analizi yapıldığında bulunan fark istatistiksel olarak anlamlı idi( $p<0,01$ ).

Sekansda homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon gözlenen 3 hastada bulunan R785X (Ekzon 13), M469V (Ekzon 10), I506V (Ekzon 10), L997F (Ekzon 17A) mutasyonları, multipleks PCR'da gösterilemedi (Tablo 45).

**Tablo 45. Sekans Analizinde Saptanıp PCR'da Gösterilemeyen Mutasyonlar**

	<b>Sekans Mutasyon</b>	<b>Sekans Ekzon Sayısı</b>	<b>Multipleks PCR Mutasyon</b>
<b>1. Hasta</b>	R785X	12 ekzonlu	WT
<b>2. Hasta</b>	M469V / I506V	12 ekzonlu	WT
<b>3. Hasta</b>	1677del TA/ L997F	12 ekzonlu	1677del TA

Multipleks PCR' da homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanan 7 hastada bulunan R1162X (Ekzon 19), 2789+5 G>A (İntron 14b), 2183A A>G (Ekzon 13) mutasyonları sekansda gösterilemedi. 21. Ekzonda olan N1303K mutasyonu ise hastamızın sekans analizi 3 ekzonlu yapıldığı için, bulunamadı (Tablo 46).

**Tablo 46. PCR analizinde Saptanıp Sekans Analizinde Gösterilemeyen Mutasyonlar**

	<b>Multipleks PCR Mutasyon</b>	<b>Sekans Mutasyon</b>	<b>Sekans Analizi Ekzon Sayısı</b>
<b>1. Hasta</b>	F508 del/ R1162X	F508 del/-	3 Ekzonlu
<b>2. Hasta</b>	F508 del/ R1162X	F508 del/-	12 Ekzonlu
<b>3. Hasta</b>	F508 del/ 2789+5 G>A	F508 del/-	3 Ekzonlu
<b>4. Hasta</b>	F508 del/ 2183A A>G	F508 del/-	3 Ekzonlu
<b>5. Hasta</b>	1677del TA/ 2789+5 G>A	1677del TA/-	12 Ekzonlu
<b>6. Hasta</b>	R1162X	WT	3 Ekzonlu
<b>7. Hasta</b>	F508 del/ N1303K	F508 del/-	3 Ekzonlu

Mutasyon frekans çalışmalarında homojenite sağlamak amacı ile 12 ekzonlu sekans analiz grubu kendi içinde ayrıca değerlendirildi(Tablo 47).

12 ekzonlu sekans analizi yapılan 98 hastanın %50 (49/98) 'sinde mutasyon bulundu, aynı hasta grubunda bakılan multiplex PCR analizinde ise 98 hastanın %18,3 (18/98) 'ünde mutasyon saptandı. 12 ekzonlu sekans analizi ile Multiplex PCR analizi hastalarda mutasyon saptama açısından karşılaştırıldıklarında, 12 ekzonlu sekans analizi yapıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p<0,01$ ).



**Tablo 47. 12 ekzonlu sekans analizinde saptanan mutasyonların frekansı ve allel frekans dağılımı**

<b>Mutasyon Tipi</b>	<b>Ekzon</b>	<b>Mutasyon Sayısı</b>	<b>%(n/98) Mutasyon Frekansı</b>	<b>%(n/196) Allelik Frekans</b>
<b>F508del</b>	10	9	%9,2	%4,6
<b>P1290P</b>	20	9	%9,2	%4,6
<b>L997F</b>	17A	7	%7,1	%3,6
<b>1677del TA</b>	10	6	%6,1	%3,0
<b>E528E</b>	10	3	%3,0	%1,5
<b>S1045F</b>	17A	3	%3,0	%1,5
<b>R347P</b>	13	2	%2,0	%1,0
<b>R75Q</b>	3	2	%2,0	%1,0
<b>R668C</b>	13	2	%2,0	%1,0
<b>R785X</b>	13	2	%2,0	%1,0
<b>L467F</b>	10	1	%1,0	%0,5
<b>W1282X</b>	20	1	%1,0	%0,5
<b>S737S</b>	13	1	%1,0	%0,5
<b>M469V</b>	10	1	%1,0	%0,5
<b>I506V</b>	10	1	%1,0	%0,5
<b>T966T</b>	15	1	%1,0	%0,5
<b>M952I</b>	15	1	%1,0	%0,5
<b>V318V</b>	7	1	%1,0	%0,5
<b>T1095 T</b>	17B	1	%1,0	%0,5
<b>K68E</b>	3	1	%1,0	%0,5
<b>G542X</b>	11	1	%1,0	%0,5
<b>E92K</b>	4	1	%1,0	%0,5
<b>I148T</b>	4	1	%1,0	%0,5
<b>F1052V</b>	17B	1	%1,0	%0,5
<b>Toplam</b>		59	%60,2	%30,1

Tüm çalışma popülasyonumuzda sekiz hastamızda tek allelde (heterozigot formda) mutasyon mevcuttu ancak, hastaların kliniği, klasik KF ile uyumlu idi; grup IV de olan bir hastamız haricinde 7 hastanın (%87,5; 7/8) ter testi 80'in üzerinde idi (Tablo 48).

**Tablo 48. Heterozigot Mutasyon Saptanıp Klinik KF Olan Hastalar**

	<b>Ter Testi</b>	<b>Başvuru Nedeni</b>	<b>Sekans Analizi</b>	<b>Multipleks PCR</b>
<b>1. Hasta</b>	111	İshal+ Bronşiektazi+ Diğer GİS bulguları	R297Q Heterozigot	WT
<b>2. Hasta</b>	43	Tekrarlayan Pankreatit Atakları	WT	N1303K Heterozigot
<b>3. Hasta</b>	100	Kilo Alamama	WT	2789+5 G>A Heterozigot
<b>4. Hasta</b>	100	Tekrarlayan Pankreatit Atakları + Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	F508 Del Hetrozigot	F508 Del Heterozigot
<b>5. Hasta</b>	99	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	1677 Del TA Heterozigot	1677 Del TA Heterozigot
<b>6. Hasta</b>	88	Topuk Kanı KF Şüphesi	G542X Heterozigot	G542X Heterozigot
<b>7. Hasta</b>	115	Nazal Polip+Bronşiektazi+Sinüzit	E92K Heterozigot	E92K Heterozigot
<b>8. Hasta</b>	89	Pankreatit Atakları	WT	E831X Heterozigot

14 hastamızın ter testi yüksek olup, klasik KF kliniğine sahip değildi. Bu hastalarda ya hiç mutasyon yoktu (WT) ya da polimorfik olarak tanımladığımız sessiz mutasyona sahipti (Tablo 49). 1 hastada S1045F formatında daha önce tanımlanmamış bir mutasyon heterozigot olarak bulundu.

**Tablo 49. Ter Testi yüksek saptanıp Homozigot ya da Bileşik Heterozigot mutasyon saptanmayan hastaların özellikleri**

Adı Soyadı	Ter Testi mMol/L	Başvuru Nedeni	Sekans Analizi	Multipleks PCR
1. Hasta	101-50	Kronik İshal + Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	V470M Heterozigot	WT
2. Hasta	84	Kr.İshal+ Bağırsak Malabsorbsiyonu	S737S Heterozigot	WT
3. Hasta	85-94-68	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	WT	WT
4. Hasta	89	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	WT	WT
5. Hasta	119	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu + Kilo Alamama	WT	WT
6. Hasta	86-51	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	V470M Heterozigot	WT
7. Hasta	133	Mekonyum İleusu	WT	WT
8. Hasta	126	Kronik İshal + Kilo Alamama	WT	WT
9. Hasta	86	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu + Kilo Alamama	WT	WT
10. Hasta	85	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	P1290P Heterozigot	WT
11. Hasta	105	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	V470M Heterozigot	WT
12. Hasta	89	Tekrarlayan Akciğer Enfeksiyonu	V470M Heterozigot	WT
13. Hasta	83	Bronşiektazi	V470M Heterozigot	WT
14. hasta	84	Kronik İshal	S1045F Heterozigot	WT
15. hasta	89	Kilo Alamama	WT	WT

210 hastanın 32'sinde (%15), ter testi <49 olmasına rağmen heterozigot ya da polimorfik dediğimiz mutasyonlar saptandı. 32 hastamızın 12'sinde, sadece polimorfik olarak tanımladığımız sessiz mutasyonlar mevcuttu. Ancak 20'sinde (%63) heterozigot mutasyon tanımlanmıştı: bunların 18'inde aminoasid değişikliğine yol açan heterozigot

tek bir mutasyon vardı. 2 hastada ise V470M heterozigot mutasyonun eşlik ettiği sırası ile N1303K bileşik heterozigot ve 2789+5 G>A bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu ve N1303K mutasyonuna sahip olan hasta klinikte KF tanısı ile takipli edilmekte idi. Ter testi negatif (<49) olup mutasyon saptanan hastalar Tablo 50’de gösterilmiştir.

**Tablo 50. Ter testi negatif(<49) olup mutasyon saptanan hastalar**

Hasta	Ter testi<49 mMol/L	Sekans analizi	Multipleks PCR
1.,2.,3.,4.,5.,6. Hasta	<49	P1290P Heterozigot	WT
7. ,8. ,9. Hasta	<49	E528E Heterozigot	WT
10. Hasta	<49	S492A Heterozgot	WT
11. Hasta	<49	M348K Heterozigot	WT
12. Hasta	<49	Y301C Heterozigot	WT
13. ,14. ,15. Hasta	<49	F508del Heterozigot	F508del Heterozigot
16.,17.,18. Hasta	<49	L997F Heterozigot	WT
19. Hasta	<49	WT	E92K Heterozigot
20. Hasta	<49	V470M Heterozigot	N1303K Heterozigot
21. Hasta	<49	K68E Heterozigot	WT
22. Hasta	<49	T966T Heterozigot	WT
23. ,24. Hasta	<49	R668C Heterozigot	WT
25. Hasta	<49	M952I Heterozigot	WT
26. Hasta	<49	V318V Heterozigot	WT
27. Hasta	<49	V470M Heterozigot	2789+5G>AHeterozigot
28. Hasta	<49	T1095T Heterozigot	WT
	<49	I148T Heterozigot	WT
29. , 30. Hasta	<49	R75Q Heterozigot	WT
31. Hasta	<49	S1045F Heterozigot	WT
32. Hasta	<49	F1052V Heterozigot	WT

Ter testi >80 olan 48 hastanın 36 (%75)’sında homozigot, bileşik heterozigot ya da heterozigot formda mutasyon gözlemlendi, mutasyon saptanan hastaların 3’ünde polimorfik olarak tanımladığımız sessiz mutasyonlar saptandı. 48 hastanın 33’ü (%69) klasik KF ile takipli idi. Hastaların 25’inde (%52; 25/48) homozigot ya da bileşik

heterozigot mutasyon saptandı. Ter testi 80 ve üzeri olan hastalar Tablo 51’de gösterilmiştir.

**Tablo 51. Ter testi 80 ve üzeri olan hastalar**

Hasta	Ter testi	Sekans	Multipleks PCR
1-12. hasta	>80	WT	WT
13-19. hasta	>80	F508 del Homozigot	F508 del Homozigot
20. hasta	>80	F508 del Heterozigot	F508 del Heterozigot
21. hasta	>80	F508 del Heterozigot/ L467F Heterozigot	F508 del Heterozigot/ D1152H Heterozigot
22, 23. hasta	>80	F508del Heterozigot	R1162X heterozigot/ F508 del Heterozigot
24. hasta	>80	F508 del Heterozigot	F508 del Heterozigot / 2183AA>G Heterozigot
25. hasta	>80	F508 del Heterozigot / W1282X Heterozigot	F508 del Heterozigot / W1282X Heterozigot
26. hasta	>80	F508 del Heterozigot	F508del Heterozigot/ N1303K Heterozigot
27. hasta	>80	F508 del Heterozigot	F508 del Heterozigot/ 2789+5 G>A Heterozigot
28. hasta	>80	F508 del Hetrozigot / 1677 del TA Heterozigot	F508 del Heterozigot / 1677 del TA Heterozigot
29, 30, 31. hasta	>80	1677 del TA Homozigot	1677 del TA Homozigot
32. hasta	>80	1677 del TA Heterozigot	1677 del TA Heterozigot
33. hasta	>80	1677 del TA Heterozigot	1677 del TA Heterozigot/ 2789 +5 G>A
34. hasta	>80	R347P Homozigot	R347P Homozigot
35. hasta	>80	S737S Heterozigot	WT
36. hasta	>80	R297Q Heterozigot	WT
37. hasta	>80	WT	2043 del G Heterozigot
38. hasta	>80	R347P Heterozigot	2789+5 G>A
39. hasta	>80	WT	R1162X Homozigot
40. hasta	>80	M469V Heterozigot/ I506V Heterozigot	WT
41. hasta	>80	WT	2789+5 G> A Heterozigot
42. hasta	>80	R785X Homozigot	WT
43. hasta	>80	Delesyon	delesyon
44. hasta	>80	P1290P Heterozigot	WT
45. hasta	>80	G542X Heterozigot	G542X Heterozigot
46. hasta	>80	E92K Heterozigot	E92K Heterozigot
47. hasta	>80	WT	E831X Heterozigot
48. hasta	>80	S1045F Heterozigot	WT

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamız 210 Kistik Fibrozis ön tanıli pediatrik hasta popülasyonunda gerçekleştirilmiştir. Bugünkü verilere göre KFTR gen mutasyon analizi açısından ülkemizden uygulanan en geniş hasta grubunu yansıtmaktadır. Çalışmada 2 farklı mutasyon analiz yönteminin kullanılmış olması, çalışmanın bir diğer özgün yanını yansıtmaktadır.

Çalışmada epidemiyolojik parametrelerle ilgili veriler literatürden farklılık göstermemiştir. Her 2 farklı mutasyon analiz grubunda da, erkekler ile kızların oranı hemen hemen eşit bulunmuştur (1,08 ve 1,1). KF hastalığında cinsiyet farkının olmadığı yurt içi ve yurt dışı çalışmalarda da gösterilmiştir. 2014'de yayınlanan 2013 UK KF kayıtlarında cinsiyet ayrımının olmadığı vurgulanmıştır (84). 2013 yılında Sami Ulus Eğitim ve Araştırma Hastanesinde Erdem ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, 41 hastanın %54'ü kız, %46'sı erkek olarak raporlanmıştır (106). 2006 yılında İran'da Alibakhshi ve arkadaşlarının çalışmasında da hastaların 39'u erkek, 31'i kızdı (107). Bu veriler KF hastalığında anlamlı bir cinsiyet farkının olmadığını göstermektedir.

Türkiye'de akraba evliliğinin görülme sıklığı, Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması 2003 verilerine göre %22'dir. Çalışma popülasyonunda hastalarımızın ebeveynleri arasında ise %25,2 oranında akrabalık saptanmıştır. Mutasyonların homozigot ya da bileşik heterozigot olduğu hasta gruplarında ise akrabalık oranı daha da yüksek, sırasıyla % 47,3 ve % 39,1 bulunmuştur. 2013'te Erdem ve arkadaşlarının 41 KF hastası ile yaptığı çalışmada, hastaların %61'inde (106), Karakoç ve arkadaşlarının çalışmasında 60 hastanın %38,3'ünde (108), Hacettepe üniversitesinin yaptığı çalışmada 300 hastanın %39,7'inde (109) akrabalık saptanmıştı. Çalışmamızda akraba evliliği oranının normal popülasyona göre yüksek bulunması, bölgesel bir özellik olarak kabul edilebilir. KF'nin OR geçiş göstermesi bir diğer faktör olarak düşünülmelidir.

Çalışmamıza dahil olan hastaların yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay, ortalama yaş 17 aydır. Her iki yöntemle ilgili homozigot ya da bileşik heterozigot hasta grubunda ise başvuru ortalama yaşı çok erken döneme kaymış ve 2 ay olarak belirlenmiştir. Bu durum klasik bulguların varlığında KF klinik tanısının, yaşamın ilk aylarında konabileceğini göstermektedir. Benzer biçimde, Amerika Kistik Fibrozis

Derneği (KFD) 2013 hasta kayıtlarında vakaların %72,6'sı 0-3 ay içinde tanı almıştır (84). Bu sonuçlar çalışmamızla uyumludur. Tanı yaşının küçük olması hastalığın ağır klinikle seyrettiğinin göstergesi olarak da düşünülebilir.

Ter testi, KF klinik tanısında en önemli parametre olarak halen yerini koruyan bir testtir. Çalışmamızda da ter testi ve mutasyon ilişkisi, bu önemi bir kez daha vurgulamıştır. Tanı koydurucu mutasyon formatları olan homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan olguların tümünde (%100) ter testi sonucunun 80 ve üzeri olduğu belirlenmiştir.

Hastaların başvuru nedenleri sorgulandığında, en yoğun hasta grubunun "tekrarlayan akciğer enfeksiyonu" ve "kilo alamama" olduğu görülmüştür. Bunu kronik ishal ve tekrarlayan pankreatit atakları takip ediyordu. Türkiye'de ki diğer çalışmalarda da KF ön tanısıyla başvuran hastalarda solunum sistemi bulguları en yoğun grubu oluşturuyordu. Göçmen ve arkadaşları ile Kaya ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda hastalar, sırasıyla %87'si ve %57'si tekrarlayan akciğer enfeksiyonlarını içeren solunum sistemi semptomları ile başvurmuşlardı (110, 111).

Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon birlikteliği en yüksek olan klinik bulgu, mekonyum ileusu idi. Mekonium ileusu olan bebeklerin %57'sinde homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanmıştı. Akciğer enfeksiyonu için bu oran %7,9, kronik ishal, tekrarlayan pankreatit atakları ve kilo alamama için ise %10-%16 arasında değişmekte idi.

Literatürde de KF hastalarının en sık olan klinik bulgusu, GİS ilişkili bulgulardır. 2010 yılında Fallahi ve arkadaşlarının 243 KF hastası ile yapmış olduğu çalışmada, hastaların çoğunluğu gastrointestinal bulgular (%62,6; 152/243) ile prezente olmuştur. Çalışmamızda bulgularımız literatürle uyumludur (112).

Çalışmamız farklı 2 mutasyon analiz protokolü içerdiğinden, popülasyonlarda mutasyon tespit etme gücü açısından kıyaslanabilmıştır. 12 ekzonlu sekans yönteminin, KF öngörülü bir pediatrik popülasyonda mutasyon saptama gücü, bilinen mutasyonların tarandığı bir panel olan multipleks PCR'in mutasyon saptama gücünden (%50 versus %18) yüksek bulunmuştur. Görüldüğü gibi sekans metodunun mutasyon tespit oranı daha güçlüdür. İlginç olarak mutant popülasyondaki homozigot ya da bileşik

heterozigot mutasyon oranını belirleme gücü, sekansda, multipleks PCR'dan daha düşüktü (%26,7; 19/71 versus % 57,5; 23/40). Tüm popülasyonda homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon oranını belirleme gücü ise hemen hemen eşitti (%9 versus %11).

Sekansda saptanan tüm mutasyonlar (F508del, 1677del TA, P1290P, L997F, E528E, S1045F, R347P, R297Q, R75Q, R668C, R785X, L467F, W1282X, S737S, M348K, S492A, Y301C, M469V, I506V, T966T, M952I, V318V, T1095T, K68E, G542X, E92K, I148T)'ın içinde, 19 mutasyon, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlenmişti. Bu grupta 10 mutasyonun adı geçmekte idi (F508del, 1677del TA, R347P, R785X, L467F, W1282X, L997F, M469V, I506V, delesyon). Diğer bir deyişle bu 10 mutasyon, bu popülasyonun KF'yi belirleyici mutasyonları idi ve tüm mutasyonların yaklaşık %27'sini, toplumun ise %9'unu temsil ediyordu.

Sekans analizinde en sık saptanan mutasyonlar F508del, 1677del TA, P1290P, L997F, E528E, S1045F, R347P olup, bunların içinde KF'ye neden olan mutasyonlar F508del, 1677del TA, R347P idi. P1290P ve E528E, aminoasid değişikliğine neden olmayan sessiz mutasyonlardı ve polimorfizm olarak adlandırılmaktaydı. L997F, önceleri polimorfizm olarak tanımlanmış bir mutasyondur. Daha sonra KF akciğer hastalığı, bronşiektazi, idiopatik pankreatit, neonatal geçici hipertripsinemi ve konjenital vas deferens yokluğunda etkinliği tartışıldı. Toplumda frekansı %0,5'tir. S1045F mutasyonu olasılıkla yeni bir mutasyonu yansıtmakta idi.

Multipleks PCR analizi ile saptanan mutasyonlar ise F508del, 1677del TA, 2789+5 G>A, R1162X, E92K, D1152H, N1303K, R347P, E831X, G542X, 2043 del G, 2183A A>G, W1282X, delesyon idi. Olguların 23'ünde ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon gözlenmişti: F508del, 1677del TA, R1162X, R347P, D1152H, W1282X, 2183A A>G, 2789+5 G>A, N1303K, delesyon idi.

Multipleks PCR analizinde en yaygın saptanan mutasyonlar: F508del, 1677del TA, 2789+5 G>A, R1162X, E92K, D1152H, N1303K, R347P olup, mutasyon frekansları sırasıyla %13(27/210), %4,8(10/210), %2,9(6/210), %2,0(4/210), %1,0(2/210), %1,0(2/210), %1,0(2/210), %1,0(2/210) bulundu. Diğer mutasyonların frekans sıklıkları ise %1'nin altında idi.



Her iki yöntemde de F508del, 1677del TA en sık görülen mutasyonları oluşturdular.

2 protokol arasında tespit edilen mutasyonlar açısından benzerlikler yanında, farklar da vardı. Analiz edilen ekzon farklılıkları nedeni ile sekansda homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon gözlenen 3 hastada bulunan R785X (Ekzon 13), M469V (Ekzon 10), I506V (Ekzon 10), L997F (Ekzon 17A) mutasyonları, multipleks PCR'da gösterilemedi.

Multipleks PCR'da homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon saptanan 7 hastada bulunan R1162X (Ekzon 19), 2789+5 G>A (İntron 14b), 2183A A>G (Ekzon 13) mutasyonları ise sekansda gösterilemedi. 21. Ekzonda olan N1303K mutasyonu ise hastamızın sekans analizi 7, 10 ve 11 ekzonlarında yapıldığı için, saptanamadı.

Her iki yöntemle de ayrı ayrı saptayamadığımız mutasyonları düşündüğümüzde, eğer KFTR geninin tamamı taranmış olsa idi, popülasyonumuzda saptadığımızdan daha fazla bileşik heterozigot mutasyon gözleyeceğimizi öngörebiliriz.

Onay ve arkadaşlarının 1997 yılında 73 KF hastası ile yaptığı çalışmada, benzer biçimde F508del ve 1677del TA sıklığı ön planda idi (%18,8 ve %7,3), 2183A A>G ve G542X'i ise %4,9 sıklıkta bulmuşlardı (28). Kılınç ve arkadaşlarının çalışmasında, F508del sıklığı %23,5, 1677del TA (%7,2), 2183A A>G (%4,2), G542X (%3,6), W1282X (%3), N1303K (%2,4) saptanmıştı (29). Mutasyonların görülme sıklığı bu 2 çalışmada bizim değerlerimizden biraz yüksekti.

Hacettepe üniversitesinin, 300 KF hastası ile yapmış olduğu tez çalışmasında da sık görülen mutasyonlar çalışmamızla büyük oranda örtüşmüştür ancak 2.sıklıkda gözlenen G85E mutasyonuna çalışmamızda hiç rastlanmamıştır (F508del frekansı (%41,1), G85E (%10,28), 1677delTA (%7,17), 2789+5G-A (%6,85), N1303K (%5,61) (109).

2006 yılında İran'da Alibakhshi ve arkadaşlarının 70 İranlı hasta ile yapmış oldukları çalışmada, saptanan mutasyonların allel frekansları sırasıyla F508del %17,8, N1303K %4,3, G542X %3,6 oranında saptanmıştır (107).

Literatür ile karşılaştırdığımızda, bizim çalışmamızda mutasyon oranları biraz düşük bulunmuştur. Düşük olmasının bir nedeni hasta popülasyon özellikleri olabilir.

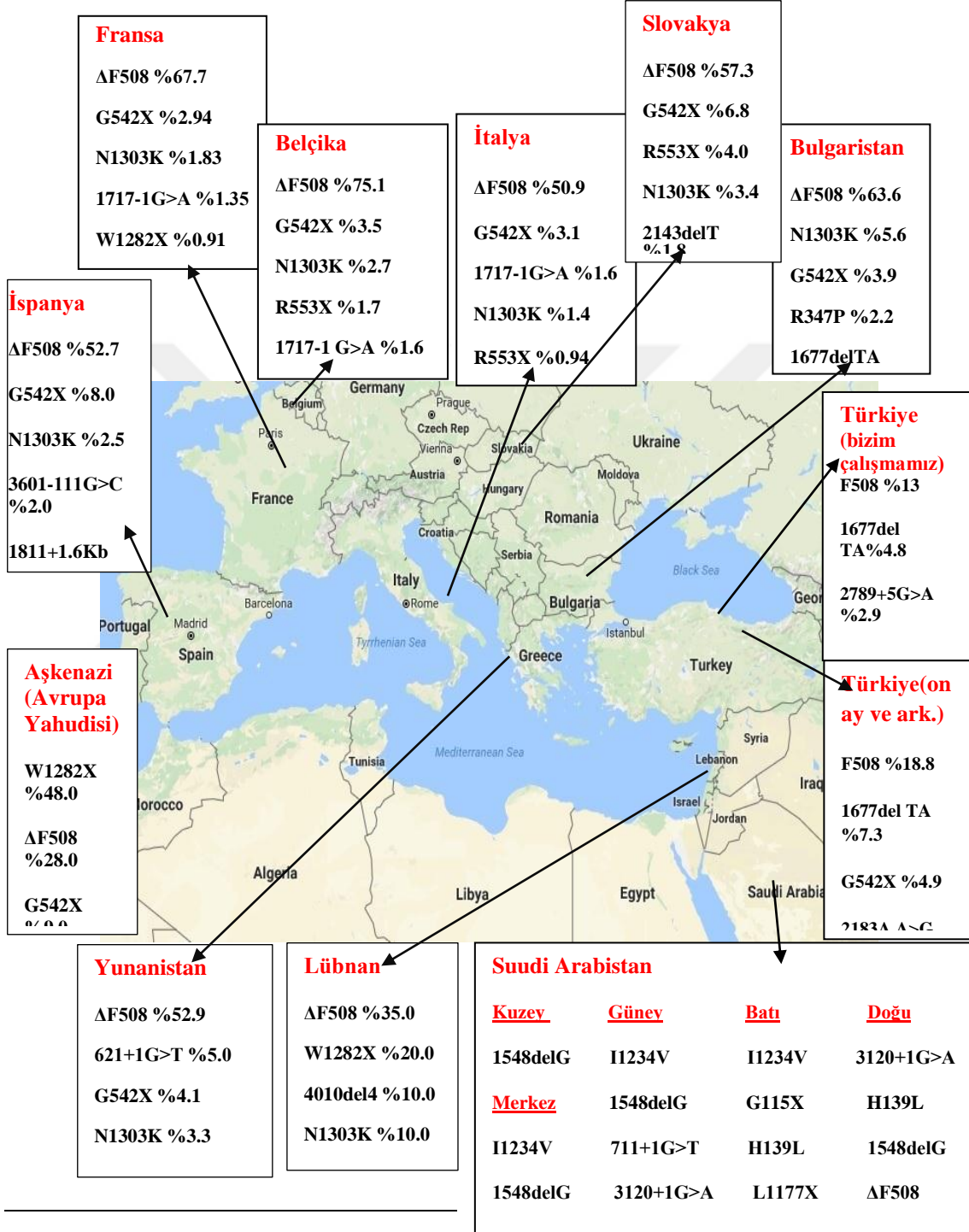
Literatürdeki pek çok çalışmada, çalışmaya dahil edilen hastalar, klinik olarak KF tanısı ile takipli hastalardı ve ter testi anlamlı yüksek olan grubu oluşturuyordu. Bizim çalışmamızda ise çeşitli kliniklerden KF ön tanısıyla yönlendirilen hastalar klinik kriterlere bakılmaksızın çalışmaya dahil edilmiştir ve heterojen bir hasta grubu olması nedeniyle saptanan mutasyon oranı literatüre göre daha düşük bulunmuştur. Ancak popülasyonumuz özgün kriterlerle değerlendirildiğinde örneğin, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan ve ter testi pozitif olan sekans hastalarında F508del sıklığına baktığımızda, 19 hastanın %52,6'sında en az bir allelinde F508del mutasyonu mevcuttu, multipleks PCR'da ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan 23 hastanın, %65'inde en az bir allelinde F508del mutasyonu mevcuttu. Çalışmamızda ter testi eşik değerini, diğer çalışmalar ile benzer olarak 60 kabul ettiğimizde, toplam 66 hastanın ter testi 60 ve üzeri idi. 66 hastada, 16'sı farklı toplam 52 mutasyon (%79) mevcut idi.

Bazı Avrupa ve Orta Doğu ülkelerinde sık görülen mutasyonlar ve frekansları Şekil- 12'de verilmiştir.

Çalışmamızda mutasyon frekansı %13 (27/210) saptanan **F508del mutasyonu**, 7 hastada homozigot, 3 hastada bileşik heterozigot, 10 hastada ise heterozigot formda idi. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan olguların tümünde (7/7; %100) ter testi sonucu grup 1'de yüksek pozitif idi. Heterozigot mutasyona sahip olan 10 olgunun ise 7'sinin (7/10; %70) ter testi sonucu grup 1'de idi ve KF kliniğine sahipti. 3 olguda ter testi negatif idi ikisinde ter testi sonucu grup 4'de, birinin ise grup 5'te idi. Bu 3 olgunun kliniği de KF ile uyumlu değildi; kardeş KF öyküsü nedeniyle kliniğimize yönlendirilmişti.

Hacettepe üniversitesinin 300 hasta ile yapmış olduğu tez çalışmasında (109) F508del frekansı %41,1; Erdem ve arkadaşlarının çalışmasında (106) %41,6 saptanarak, Türkiye'de yapılan diğer çalışmalara göre yüksek bulunmuştur. Onay ve arkadaşlarının çalışmasında (28) F508del sıklığı %18,8; Karakoç ve arkadaşlarının çalışmasında (108) %17 tespit edilmiştir. Alibakhshi ve arkadaşlarının 69 İranlı KF hastası ile yapmış olduğu çalışmada F508del allel frekansı %18,1 bulunmuştur (113). Alibakhshi ve arkadaşlarının 70 olgu ile yaptığı başka bir çalışmada ise F508del allel frekansı %17,8 saptanmıştır(107). Asya'da F508del sıklığı %12-31 arasındadır (28, 29). Avrupa ve

diğer popülasyonlar ile F508del sıklığı karşılaştırıldığında; F508del allel frekansının, Avrupa'da %50'den fazla olduğu görülür (23, 114).



Şekil 12. Avrupa ve Orta doğu ülkelerinde sık görülen mutasyonlar ve frekans dağılımı

Avrupa'nın kuzeybatısından güneydoğusuna indikçe coğrafi dağılıma bağlı olarak F508del sıklığı azalmaktadır (23, 114). Avrupa'da en yüksek oranın %82,6 ile Danimarka'ya ait olduğu bildirilmiştir (115). 2010 ABD KfV hasta kayıtlarına göre vakaların %91,7'sinin mutasyonu tanımlanmış ve vakaların %88,5'inin F508del mutasyonuna en az bir allelinde sahip olduğu gösterilmiştir (116). F508del allel frekansı, diğer ülkelere göre ülkemizde daha düşük saptanmıştır; bu farklılıkların genotipik olarak heterojen yapımıza bağlı olabileceği ve bu çeşitliliğin ise Türkiye'nin coğrafi konumundan ileri gelebileceği kanısına varıldı. Türkiye, eski çağlardan beri Avrupa ile Asya ve Afrika arasındaki ipek, baharat ve göç yollarının geçiş noktası olarak köprü görevi görmüştür.

**1677 del TA**, Türkiye'de genellikle Karadeniz Bölgesi'ndeki insanlarda görülen ve diğer ülkelerde fazla rastlanmayan bir mutasyondur. Kılınç ve arkadaşlarının 125 KF hastası ile yapmış olduğu çalışmada, 1677del TA'yı 5 hastada homozigot, 2 hastada heterozigot olarak saptamıştı ve sıklığı %7,2 bulunmuştu (29). Onay ve arkadaşlarının çalışmasında, 1677del TA sıklığı %7,3 saptanmıştır (28). Yunanistan'da Kanavakis ve arkadaşlarının çalışmasında, 1677del TA sıklığı %0,9 saptanmıştı (117). Bizim sekans çalışmamızda, 3 hastada homozigot, 2 hastada bileşik heterozigot mutasyon görüldü; 2 hastada ise tek allelde heterozigot mutasyon olup diğer allelde mutasyon görülmedi. Bizim çalışmamızda, Türkiye'deki diğer çalışmalarla benzer olarak, mutasyon frekansı %4,8 (10/210) olarak bulundu. Homozigot mutasyon olan hastaların klinik olarak kronik ishali ve ağır malnutrisyonu vardı, bir hasta da ise ek olarak tekrarlayan akciğer enfeksiyonu vardı. Hepsinin ter testi grup 1'e dahil idi. Tek bir allelinde 1677del TA taşıyan 4 hastanın biri hariç hepsinin ter testi grup 1'e dahildi, bir hastanın grup 3 idi: ancak tüm hastalar klinik olarak KF ile uyumlu idi.

**2789+5 G>A mutasyonu**, ender mutasyonlardandır, dünyada saptanan KF mutasyonları arasında %1 civarında görülür (118). Alibakhshi ve arkadaşlarının çalışmasında %4,3 (113), Hacettepe Üniversitesinin tez çalışmasında (109) %6,85 bulunmuştu. Avrupa'dan bildirilen yayınlarda 2789+5 G>A bulunamadı. Çalışmamızda multipleks PCR analizinde, en sık KF oluşturan üçüncü mutasyon olan 2789+5 G>A mutasyonu frekansı %7,5 (6/80) bulundu. Hastaların 2'si bileşik heterozigot mutasyona sahip, ter testi grup 1'e dahil ve KF ile takipli idi. Hastaların geri kalan 4'ü heterozigot

mutasyona sahip olup; 2'sinin ter testi grup 1'e dahildi ve hastaların klinikleri KF ile uyumlu idi. Literatür ile karşılaştırıldığında verilerimiz diğer çalışmalar ile benzer idi. Mutasyona sadece orta doğu ülkelerinde rastlanması, Avrupa ve diğer kıtalarda nadir görülmesi; mutasyonun bu bölgeye özgü olduğunu düşündürmekteydi.

**N1303K mutasyonu**, Fenikelilerin göçü boyunca Akdeniz ülkelerine yayılmış olan mutasyonlardandır. Bu nedenle Akdeniz'e sahili olan ülkelerde dünya geneline oranla daha fazla görülmektedir (23). En yüksek frekansı Tunus'da %17,2 olarak bildirilmiştir (107). Alibakhshi ve arkadaşlarının çalışmasında (107) N1303K allel frekansı %4,3, Yunanistan'dan Kanavakis ve arkadaşlarının çalışmasında %2,6 bulunmuştur (117). Türkiye genelinde sıklığı %1,5-3,7'dir. Onay ve arkadaşlarının 2001 yılında yapılan çalışmasında mutasyonun sıklığı %1,8 olarak saptanmıştır (27). Çalışmamızda da ülkemizdeki değerlere yakın bulunarak %1 saptandı. İki hastamızda N1303K mutasyonu belirlendi: olgularımızın biri bileşik heterozigot mutasyona sahipti, tekrarlayan akciğer enfeksiyonu ve kronik ishal ile başvurmuştu, ter testi sonucu grup 1'e dahil idi. Diğer hastamız ise tekrarlayan pankreatit atakları vardı, ter testi sonucu grup 4'e dahildi ve klinik KF ile uyumlu idi. 2010 yılında Ataseven ve arkadaşlarının çalışmasında homozigot N1303K mutasyonu saptanan vakada yenidoğan döneminde bilateral spontan pnömotoraks olduğu bildirildi ve literatürde bu klinikle saptanan tek olguydu (119). Literatürde diğer çalışmalarda mutasyon-klinik ilişkisi verilmediği için çalışmamızla karşılaştırılmadı.

**G542X mutasyonu**, en yaygın olarak Avrupa ve Afrika'nın Akdeniz bölgelerinde bildirilmektedir (23) ve dünya çapında KF mutasyon frekansı % 2,4 olarak hesaplanmıştır (120). Alibakhshi ve arkadaşlarının çalışmasında (107) mutasyonun frekansı %3,6; Kılınç ve arkadaşlarının çalışmasında (29) %3,6 bulunmuştu. Çalışmamızda topuk kanında KF şüphesi ile başvuran ve ter testi grup 1'e dahil olan, tek KF olgumuz(%1,25) tek allelinde mutasyonu taşıyordu. Bizim çalışmamız da literatürle uyumlu olarak mutasyon frekansı düşük olarak saptanmıştır.

**2183A A>G mutasyonu**, sadece 1 hastamızda görüldü (%0,5; 1/210): bileşik heterozigot mutasyona sahip olan hastanın ter testi grup 1'e dahildi. F508del ile bileşik heterozigot olan hastamızda tekrarlayan akciğer enfeksiyonu ve kronik ishal öyküsü

mevcuttu. Ülkemizde 2183A A>G sıklığı %2,5-4,9 arasında, İtalya'nın kuzeydoğusunda %9,3 sıklıkta saptanmıştı (23).

**R347P mutasyonu**, 2 hastamızda saptandı; hastaların biri mekonyum ileusu ile başvurmuştu ve homozigot mutasyona sahipti. İkinci hasta ise kronik ishale başvurmuştu ve bileşik heterozigot mutasyona sahip olan hastanın, sekansında R347P heterozigot, multipleks PCR'ında ise 2789+5 G>A heterozigot mutasyonu vardı. Her iki hastanın da ter testi grup 1'e dahildi ve birinci hasta, birinci ayında, ikinci hasta ise beş aylıkken tanı almıştı. Varon ve arkadaşlarının 19 Çek, Slovak, Alman ve Bulgar asıllı R347P mutasyonu taşıyan KF hastası ile yapmış olduğu çalışmada, olguların 2'sinde R347P mutasyonu homozigot formda idi. Hastaların çoğunda erken dönemde pankreatik yetmezlik, erken akciğer tutulumu gibi KF bulguları ortaya çıkmıştı (121). Hastaların klinik özellikleri ve başvuru yaşları çalışmamızla uyumlu idi.

**W1282X mutasyonu**, Aşkenazi Yahudilerinden köken alan ve onların etkisinde kalan ülkelerde sık görülür. İsrail'de mutasyonun sıklığı %36,2-51 arasındadır (122). Türkiye'de Öztürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada mutasyonun frekansı %2,4 bulunmuştur (123). Bizim çalışmamızdaki sonuçlar da Türkiye'de ki diğer çalışmalara benzer olup, bu mutasyona sahip bir (%1; 1/196) hastamız vardı: bileşik heterozigot mutasyonu olan olgunun diğer allelinde F508del mutasyonu mevcuttu, hasta 4 aylıkken kronik ishal ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonu kliniği ile başvurmuştu ve ter testi grup 1'e dahildir.

Hastalarımızın birinde KFTR gen mutasyonunun delesyon tipinde olduğu saptandı. KFTR geni ile ilişkili ekzon 7 ve ekzon 10'un, PCR amplifikasyonu 2 kez başarısız olunca, mutasyonun delesyon olabileceği düşünülerek farklı protokollere geçildi. Ters hibridizasyon PCR çalışmasında, KFTR geninde geniş bir delesyon gösterildi. Delesyon kodon 508, 1677, 2789+5, kodon 85, kodon 92, kodon 152, 621+1, kodon 334, kodon 347 ve IVS 5T, IVS 7T, IVS 9T bölgelerini kapsamaktaydı. Array CGH çalışması uygulanan hastada 7q31.2'de KFTR gen bölgesini içeren 100 kb'lik homozigot bir delesyon olduğu gözlemlendi. Hasta, klasik KF ile takipli, ter testi grup 1'de anlamlı idi ve diğer olgulardan farklı olarak hasta, mental retarde idi.

Çalışmamızda, 3 hastada **S1045F** formatında daha önce tanımlanmamış bir mutasyon heterozigot olarak bulundu. Hastaların ikisi kronik ishal, biri ise tekrarlayan akciğer enfeksiyonu ile başvurmuştu ancak klasik KF özelliklerini taşıyordu. Hastaların ter testi sonuçlarının tümü pozitif olup birincisi grup 1’de, ikincisi grup 2’de, üçüncüsü ise grup 3’te idi.

Kistik fibrozisli hastalarda akciğer tutulumu, hastaların klinik durumunu, yaşam kalitesini ve yaşam süresini belirleyen temel faktördür. KF’li hastaların %90’ından fazlasının ölüm sebebi solunum yetmezliğidir (26). Çalışmamızda akciğer tutulumu olan 101 hastanın 30’unda (%29,7) homozigot, bileşik heterozigot veya heterozigot mutasyon; 8’inde (%7,9) ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olduğu görüldü. Ancak tekrarlayan akciğer enfeksiyonu ile mutasyonları ilişkilendirdiğimizde anlamlı fark bulamadık ( $p>0,05$ ). Literatüre baktığımızda da akciğer hastalığının varlığı genotip ile ilişkilendirilememiştir (1).

Mekonyum ileusu, KF’nin en erken klinik belirtisidir ve yenidoğanlarda görülme sıklığı %15-20 civarındadır. Sıklıkla pankreas yetmezliği ve F508del mutasyonu ile ilişkilidir (1). Olgularımızda mutasyon oranı en yüksek grup mekonyum ileusu grubu idi; 7 hastanın 4 (%57,1; 4/7)’ünde mutasyon saptandı, mutasyon saptanan hastaların tümü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon idi; hasta sayısı istatistiksel değerlendirme yapacak kadar yeterli değildi ancak hastalarımızda gözlenen 4 mutasyonun 2’si (%50) F508del homozigot idi. Çalışmamız literatürle uyumlu bulunmuştur.

F508del mutasyonu olan 20 vakada genotip-fenotip ilişkisine bakıldı: mutasyon ile ishal ve kardeş KF öyküsü birlikteliği istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,044$  ve  $p<0,01$ ). Literatürde, pankreas tutulumu ve KFTR genotipi arasında sıkı bir ilişki saptanmıştır; klas 1, 2, 3 mutasyona sahip olan vakalarda pankreatik yetmezlik daha sık gözlenmiştir (52, 53). Kerem ve arkadaşlarının çalışmasında, F508del homozigot mutasyonu olan hastaların hepsinde, birleşik heterozigot olan hastaların ise %70’inde pankreas yetmezliği saptanmıştır (69). İshalin pankreatik yetmezliğin bulgularından biri olduğu fikri temelinde bulgularımız literatür ile uyumlu olarak yorumlanmıştır.

1677del TA mutasyonu ile ishal birlikteliği ise istatistiksel olarak sınırdan anlamlı idi ( $p=0,058$ ). 1677del TA mutasyonu, klas 1 mutasyondur ve literatürde klas 1-2-3 mutasyonları ile pankreas tutulumu arasında sıkı ilişki olduğu bildirilmiştir (52, 53).

Kliniğimize yenidoğan tarama testi sonucu topuk kanında KF şüphesi ile başvuran 11 hasta çalışmamıza dahildi; bu 11 olgunun 6'ında (%54; 6/11) mutasyon gözlemlendi, 2'sinde (%18,2; 2/11) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon vardı. 1 olgu ise tek allelinde G542X mutasyonu taşıyordu ve ter testi 80'nin üzerinde idi ve bu hastalar klasik KF kliniği ile uyumlu idi ve aileler bilgilendirilerek olgular ilgili bölümlerde takip edilmeye başlandı. KF'li yenidoğan infant taramasında birçok algoritmden yararlanır. İmmün reaktif tripsinojen (IRT) ve kanda DNA analizi kombinasyonu sonrasında ter testi ile doğrulanabilir (1).

Etkilenmiş olan KF'li yenidoğanlarda doğumda pankreatik kanalların tıkanmasına bağlı olarak enzimlerin dolaşıma karışması sonucu pankreatik enzim prekürsörü olan IRT, karakteristik olarak yüksektir, ancak bu durum sağlıklı infantlarda da olabilir. KF'li yenidoğanlarda IRT değerleri birkaç ay yüksek kalma eğiliminde olmasına rağmen yanlış pozitif olanlarda genellikle yaşamın ilk haftalarında normal değerlerine dönerler (74). Doğumdan itibaren yaklaşık sekiz hafta sonra başlangıçtaki IRT değeri negatifleşmemişse ve yüksek değerler hala devam ediyorsa, IRT değeri KF tanısını güçlü olarak destekler (75). Tarama testi %95 sensitiviteye sahiptir. İkinci testinde IRT hala yüksek ise veya DNA analizinde bir veya iki KFTR mutasyonu saptanmış ise, kesin genetik tanı ve ter testi analizi için ve KF olduğu doğrulanan hastalara kapsamlı tedavi başlanması için KF merkezine yönlendirilmesi gerekir (76). Yenidoğan döneminde erken tanı konulması nutrisyonel eksiklikler, uzun dönemde ortaya çıkan gelişme geriliği ve belki de kognitif fonksiyonların etkilenmesinin önüne geçebilir (27). Birçok ülkede yenidoğan tarama programı uygulanmaktadır, ülkemizde de uygulanmaya başlanmıştır.

5/ 7/ 9 T varyantları, KFTR geninin 8. intronunda görülen polimorfik değişimlerdir; KF kliniğini etkileyebilmektedirler. Özellikle 5T allelleri, erkek infertilitesine neden olan doğuştan vas deferens eksikliği (CBAVD) fenotipi ile ilişkili bulunmaktadır. CBAVD'li hasta erkeklerin %70'inde mutasyon tespit edilmektedir. Literatürde genel popülasyonla karşılaştırıldığında CBAVD'li erkeklerin %3-5'inde 5T



alleli bulunmuştur (124). Ürgenalp ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 254 olguda 5T alleli %5 sıklıkta görülmektedir, CBAVD'li on örnekten ikisinde F508del mutasyonu (%10) heterozigot olarak, bir örnekte ise homozigot 5T polimorfizmi (%10) görülmüş ve bu gruptaki toplam mutasyon ve polimorfizm allel sıklığı %20 bulunmuştur (125). Bizim çalışmamızda multipleks PCR'da 8 hastada 5T (%3,8; 8/210) polimorfizmi tek allelde saptandı ancak olgularımızda CBAVD tanısı yoktu.

Avrupa Kistik Fibrozis topluluğu ve Avrupa İnsan Genetiği konferansı KFTR mutasyon sınıflaması (2007) **(1.klasifikasyon)**, sekans ve multipleks PCR yapılan hastalarımıza uyarlandı (105); olguların çoğunluğu alt gruplarla uyumlu klinik bulgular taşıyordu ancak uyumsuzluklar da saptandı. A, B, C grubuna girmediğinden D grubuna dahil edilen 5 mutasyon mevcuttu: M469V, I506V, R785X, 2183A A>G, E92K mutasyonlarıdır (D grubu, klinik anlamı belirgin olmayan mutasyonları içeren gruptur). M469V, I506V, R785X, 2183A A>G, E92K mutasyonları D grubu özelliklerinin aksine belirgin KF klinik bulgularını yansıtıyordu. M469V/ I506V mutasyonları bileşik heterozigot, 2183A A>G bileşik heterozigot (F508del ile), R785X homozigot mutasyon olarak saptanmıştı ve tümünün ter testi sonuçları grup 1 olarak pozitifdi. Sadece E92K heterozigot mutasyonuna sahip olan 2 hastamızdan, ter testi sonucu negatif olanın kliniği 1. Klasifikasyonda olduğu gibi D grubu ile uyumlu idi; ter testi pozitif olan E92K mutasyonuna sahip 2. hastamız ise D grubunun aksine klasik KF kliniğine sahipti. 2183A A>G mutasyonu 1.klasifikasyonun aksine 2.klasifikasyonda klasik KF'ye neden olan klas-I mutasyon grubunda idi. E92K ise 2. Klasifikasyonda sınıflandırılmayan gruba dahil olmaktaydı.

2. kalsifikasyonda da benzer sonuçlar elde edildi. Mutasyonların bir grubu sınıflama ile uyumlu olduğu halde uyumsuz mutasyonlar da mevcuttu. Çalışmamızda klas I ve II'ye dahil olan grup, 2. Klasifikasyon ile uyumlu olarak klasik KF özellikleri taşıırken; klas-IV'de yer alan R347P mutasyonu beklenen hafif klinik özelliklerin aksine olgumuzda, homozigot formda, ter testi sonucu yüksek pozitif grup 1'deydi ve hasta klasik KF özelliklerine sahipti. Ayrıca R347P mutasyonu Amerikan Tıbbi Genetik Akademisinin belirlediği klasik KF'ye neden olan yirmiüç mutasyon arasında (105) ve *cftr2.org*' da belirlenen klasik KF'ye neden olan mutasyonlar arasında yer alıyordu (126).

Benzer bir uyumsuzluk R297Q, R785X, E92K, M469V, I506V mutasyonları içinde geçerli idi. Bu mutasyonlardan R785X homozigot, M469V/I506V bileşik heterozigot formda olup, hepsinin ter testi pozitif idi ve klasik KF ile takipli olukları halde sınıflandırılmayan gruba girmişti. Ek olarak R297Q, E92K mutasyonlarının ikisinde heterozigot olup, bu mutasyonları taşıyan 2'şer hasta mevcuttu. Her iki mutasyonunda ter testi sonucu grup 1'e dahil olan birer hastası klasik KF özelliklerine sahipti.

Multipleks PCR'da saptanan mutasyonlar, 2.klasifikasyona göre uyarlandığında, 40 hastada saptanan 61 mutasyonun %16,25'i (13/80) klas-I mutasyonu, %36,25'i (29/80) klas-II mutasyonu, %2,5'i klas-IV, %7.5'i klas-V, %13,75'i ise sınıflandırılmadı. Klas-III ve klas-VI mutasyona sahip hastamız yoktu (37). Klas-I ve klas-II multipleks PCR mutasyona sahip olan hastalarımız klasik KF özellikleri taşıırken, klas IV ve V mutasyona (R347P, 2789+5 G>A) sahip olan hastalarımız gruplarının özelliklerinin aksine, klasik KF kliniğine sahipti ve ter testi sonuçları grup 1'e dahil idi.

Multipleks PCR'da 2. Klasifikasyona göre (105), sınıflandırılmayan grupta yer alan R1162X, D1152H, E831X ve E92K değerlendirildiğinde; R1162X mutasyonunu taşıyan hastaların tümü homozigot ya da bileşik heterozigot, D1152H mutasyonu F508del ile bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu ve klasik KF kliniğinde idiler, hastaların tümünün ter testi sonucu anlamlı yüksekti. E92K mutasyonu taşıyan bir hasta ve E831X mutasyonu taşıyan bir diğer hastanın da ter testi anlamlı yüksekti ve klasik KF özelliklerine sahipti.

*CFTR2.org*'ye (126) göre R1162X, E831X, E92K KF oluşturan mutasyonlar arasında yer alıyor idi, R1162X aynı zamanda ACMG'nin klasik KF'ye neden olan 23 mutasyonunun arasında idi (105).

2. Klasifikasyonda sekans ve multipleks PCR'ı karşılaştırdığımızda; sekansda yer alan mutasyonların %31,6'sı, multipleks PCR'da ise mutasyonların %13,75'i sınıflandırılmayan grupta yer almıştır. Her iki protokol arasındaki farkın yüksek olmasının nedeni; söz konusu uyumsuzlukların yarattığı yanlış sınıflama olabileceği gibi mutasyon tanıyan protokoller arasındaki fark da olabilir. Multipleks PCR klasik

KF'ye neden olduğu bilenen en sık görülen mutasyonları taşıyan bir paneldir. Polimorfizmler dışlanmıştır. Sekansda ise taranan ekzonda yer alan patolojik mutasyonlar yanında polimorfik olarak değerlendirdiğimiz sessiz variantların tümü saptanabilmektedir.

Her iki mutasyon tarama yönteminin de zayıf ayakları mevcuttur. Aynı ayrı saptayamadığımız mutasyonlar açısından düşündüğümüzde, alternatif olarak tüm gen taraması gündeme gelebilir. Eğer KFTR geninin tamamı taranmış olsa idi, popülasyonumuzda saptadığımızdan daha fazla bileşik heterozigot mutasyon gözleyeceğimiz açıktır.

3 ekzon için sekans analizi yapılan 112 hastanın 22'sinde (%19,6), 12 ekzon için sekans analizi yapılan 98 hastanın ise 49'unda (%50) mutasyon vardı. mutasyon saptama açısından karşılaştırıldığında, 12 ekzonlu sekans analizi yapılan grupta anlamlı fark olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). Bunun nedeni 3 ekzonlu da sadece ekzon 7, 10, 11 çalışılabilirken, 12 ekzonlu sekansta buna ek olarak 9 ekzon daha taranmaktadır. Bu durum daha fazla mutasyon saptama olanağı sağlar ve 12 ekzonlu sekans analizinin 3 ekzonlu ya üstünlüğünü açıklayabilir. Bu üstünlük 24 mutasyon multipleks PCR karşılaştırmasında da mevcuttu. 12 ekzonlu sekansda 98 hastanın 49'unda (%50), 24 mutasyon multipleks PCR'da 98 hastanın 18'inde (%18,3) mutasyon gözlemlendi, 12 ekzonlu sekans analizinde mutasyon yakalama oranının yüksek bulunması istatistiksel olarak anlamlı idi.

Hastalarımızın 8'inde tek allelde heterozigot formda mutasyon taşımalarına rağmen, hastalar Klasik KF kliniğine sahip idi. Saptanan mutasyonlar: N1303K, 2789+5 G>A, ΔF508, 1677del TA, G542X, E92K, E831X idi. Olgularımızda gözlenen mutasyonlar, *CFTR2.org*'da Temmuz 2013'de belirlenen KF oluşturan mutasyon grubunda yer alıyordu (126). Olguların 7'sinin ter testi sonucu grup 1'e aitti, biri ise grup 4'te idi. Hastalarda homozigot ya da heterozigot mutasyon olmasa da; klinik bulguların olması, ter testi sonucu pozitifliği ve mutasyon pozitifliği KF tanı kriterlerini karşılıyordu.

Hastalarımızdan 15'inin ter testi grup 1'de anlamlı yüksek olmasına rağmen, KF kliniğine sahip değildi. Hastaların 3'ünde ter testi tekrarlanmıştı ve tekrarlanan

sonuç grup 3'e aitti. Olguların çoğunun mutasyon analiz sonucu WT idi. Gözlenen mutasyonlar ise V470M, S737S, P1290P ve S1045F idi. V470M 10. Ekzonda, P1290P 20. Ekzonda, S737S ise 13. Ekzonda bulunan polimorfik varyasyonlardır. Bu mutasyonlar *CFTR2.org*'nin KF oluşturan mutasyonlar listesinde bulunmamaktadır (126). Adı geçen mutasyonlar, 1. Klasifikasyona göre klinik sonuçları olmayan (C grubu) ya da anlamı belirlenemeyen (D grubu) mutasyonlar arasında yer almışken, 2. Klasifikasyona göre hiç bir klas'da yer alamamış ve sınıflandırılmayan gruba dahil edilmişlerdir.

Ayrıca malnutrisyon, anoreksiya nervoza, atopik dermatit, egzema, konjenital adrenal hiperplazi, adrenal yetmezlik, hipotiroidi, hipoparatiroidi, panhipopituitarizm, klinefelter sendromu, otonomik disfonksiyon, tip 1 glikojen depo hastalığı, glukoz 6 fosfat dehidrogenaz eksikliği, mukopolisakkaridoz, ektodermal displazi, fukosidoz, nefrojenik diabetes insipidus, Munchausen sendrom by proksi, Mauriac sendromu, ailesel kolestaz sendromu, otonomik disfonksiyon, prostaglandin E infüzyonu, yanlış ter testi uygulaması durumlarında yanlış ter testi sonucu pozitifliği gözlenebilir (1). Retrospektif çalışma yaptığımız için, çalışmamızda yer alan bu gruptaki hastaların, ter testi yapıldığı dönemde yanlış ter testi pozitifliğine neden olabilecek klinik verilerine dosyalarından ulaşılamamıştır.

Ter testi 80 ve üzeri olan hastaları incelediğimizde, toplam 48 hasta var idi. Bu hastaların 36 (%75)'sında homozigot, bileşik heterozigot ya da heterozigot formda mutasyon gözlemlendi, mutasyon saptanan hastaların 3'ünde polimorfik olarak tanımladığımız sessiz mutasyonlar saptandı. 48 hastanın 33'ü (%69) klasik KF ile takipli idi. Hastaların 25'inde (%52; 25/48) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon gözlemlendi. Ter testi KF ilişkisinin klinikteki önemini vurgulanmış oldu.

Çalışmamızda ter testi negatif hastalarda patolojik mutasyon olup olmadığı da incelendi. 32 hastamızın (%15) ter testi sonucu negatif (<50) olduğu halde, sekans veya multipleks PCR analizinde heterozigot mutasyonlara sahiplerdi. Hastaların biri hariç diğerleri KF kliniğine sahip değildi. Saptanan mutasyonlar 33 hastanın 6'sında P1290P, 3'ünde E528E, 3'ünde F508del, 3'ünde L997F, 2'sinde R668C olarak belirlendi. Diğerleri S492A, M348K, Y301C, E92K, N1303K, K68E, T966T, R668C, M952I, V318V, 2789+5 G>A, T1095T, I148T, R75Q, S1045F, F1052V mutasyonları

ise, hastalarda tek tek (x1) saptandı. Bu mutasyonların bir kısmı polimorfik ya da sessiz mutasyon olarak tanımlayabileceğimiz mutasyonlardı ve klinik olarak da bu hastalar KF açısından tartışmalı hastalardı. Ancak kimi mutasyonlar örneğin F508del, 2789+5, N1303K klasik KF oluşturan mutasyonlar arasında idi. Analiz kesitinde bu hastalardan sadece N1303K mutasyonu taşıyan hastanın klinikte de KF bulguları mevcuttu. Diğer patolojik mutasyonları taşıyan hastalar takibe alındı.

Bu veriler klinik nihai KF kararında her 3 parametre: ter testi, mutasyon ve KF klinik bulguların birlikte değerlendirilmesi gereğini bir kez daha vurguladı.



## 6. SONUÇLAR

Çalışmamız Ocak 2012- Nisan 2016 tarihleri arasında OMÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Genetik Bilim Dalı'na Kistik Fibrozis ön tanısı ile başvuran 210 hastada gerçekleştirildi.

1. Olguların 107'si erkek (%51), 103'ü kız (%49) idi. Erkeklerin kızlara oranı 1,03 olarak bulundu.
2. Hastaların başvuru yaşı minimum 1 ay, maksimum 216 ay, ortanca yaş 17 ay idi. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon gözlenen hastaların başvuru yaşı ortaca 2 ay idi.
3. Hastaların yaklaşık %40'nın (79/210) ter testi grup 1, 2 ve 3'te yer alıyordu. Grup 1, ortanca yaş 3 ay olarak en genç hasta grubunu oluşturdu.
4. Hastaların başvuru şikayetleri sorgulandığında, en sık tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (%48), ikinci sırada kilo alamama (%26,7) yer alıyordu. Bunları kronik ishal (%26,2) ve tekrarlayan pankreatit atakları (%6,2) takip ediyordu.
5. Sekans analizinde 210 hastanın 71 (%33,8)'inde homozigot, bileşik heterozigot veya heterozigot formda, 28'i farklı toplam 87 mutasyon bulundu. En sık görülen mutasyonlar, sırası ile F508del (%13), 1677del TA (%4,8), L997F (%7,2), S1045F (%3), R75Q (%2), R668C (%2), R785X (%2), R347P (%1,5), R297Q (%1) idi.
6. Multipleks PCR analizi ile saptanan mutasyonlar ise F508del, 1677del TA, 2789+5 G>A, R1162X, E92K, D1152H, N1303K, R347P, E831X, G542X, 2043del G, 2183A A>G, W1282X, delesyon idi.
7. Sekans hastalarının 19'unda homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon belirlendi. Bu oran toplam popülasyonun %9'unu, tüm mutasyonların ise %26,7 (19/71)'sini kapsamaktaydı. Tüm mutasyonlar içinde F508del ve 1677del TA mutasyonu sıklık sırasında ilk 2 sırayı oluşturuyordu.
8. Klinik temelde, homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon sıklığı en yüksek olan klinik bulgu, mekonyum ileusu (%57) idi. Bunu kronik ishal (%16,4), tekrarlayan pankreatit atakları (%15,4), kilo alamama (%10,7) ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonu (%7,9) takip ediyordu.
9. Mutasyonlar ve ter testi birlikte değerlendirildiğinde (**eşik değer 60**), toplam 66 (%32) hasta mevcuttu. 66 hastada, 16'sı farklı toplam 52 (%79) mutasyon

- saptandı. 66 hastanın 18'inde (%27) homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu.
10. Multipleks PCR'da elde edilen mutasyonlar ve ter testi ilişkilendirildiğinde ter testi >60 olan 66 hasta saptandı. Bunların 50'sinde (%76) mutasyon bulundu. 23'ünde ise homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon mevcuttu. Homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyona sahip olan 23 hastanın %100 (23/23)'ünün ter testi grup 1'e dahildi. Klinikte mutasyonlarla birliktelikte en yüksek ilişki oranı, ter testi ilişkisi oldu.
  11. Sekans analizi yapılan hastalarda F508del genotip-fenotip ilişkisine bakıldığında; mutasyon ile kronik ishal ve kardeş KF öyküsü birlikteliği anlamlı bulundu. 1677del TA aynı şekilde değerlendirildiğinde, mutasyon ile kronik ishal birlikteliği sınırdan anlamlı bulundu.
  12. Ters hibridizasyon multipleks PCR analizinde, 210 hastanın 40'ında mutasyon saptandı (%19). Allel temelinde, 14 farklı, toplam 61 mutasyon mevcuttu. F508del allel frekansının, mutasyon saptanan hasta grubundaki oranı %33,75 (27/80) ve tüm hastalardaki oranı %6,4 (27/420) ;1677del TA allel frekansı mutasyon saptanan hasta grubunda %12,50 (10/80), tüm hastalardaki oranı %2,4 (10/420) idi.
  13. Ters hibridizasyon multipleks PCR analizinde, 40 hastada saptanan 61 mutasyonun 23 (%11; 23/210)'ü homozigot ya da bileşik heterozigot mutasyon olarak belirlendi.
  14. T polimorfik allel dağılımı incelendiğinde; multipleks PCR'da 8 hastada 5T-7T (%3,8), 138 hastada 7T-7T (%65,7), 53 hastada 7T-9T (%25,2), 10 hastada 9T-9T (%4,8) polimorfizmi saptandı.
  15. Ters hibridizasyon multipleks PCR analizi yapılan hastalarda F508del genotip-fenotip ilişkisi değerlendirildiğinde, mutasyon ile kronik ishal ve kardeş KF öyküsü birlikteliği anlamlı bulundu.
  16. Sekansda KFTR gen mutasyonları, meydana gelen defektin sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre sınıflandırıldığında, hastalarımızın %8,4'ü (12/142) klas I mutasyonu, %19'u (7/142) klas II mutasyonu, %2'si klas IV mutasyonu idi.

17. Ters hibridizasyon multipleks PCR'da KFTR gen mutasyonları, meydana gelen defektin sentezlenen protein üzerindeki yapısal ve fonksiyonel etkilerine göre değerlendirildiğinde, hastalarımızın %16,3'i (13/80) klas I mutasyonu, %36,3'i (29/80) klas II mutasyonu, %2,5'i klas IV ve %7,5'i klas V idi.
18. Özetle, Kistik Fibrozis ön tanılı 210 çocuk hasta popülasyonunda KFTR gen mutasyon analizi ve klinik korelasyonlarını hedefleyen çalışmamız, 12 ekzonlu dizi analizi ve multipleks PCR mutasyon analiz yöntemlerinin her ikisinin de, mutasyon sıklığı ve allel frekansını belirlemede etkin ve tamamlayıcı olduğunu göstermiştir. Dizilemenin mutasyon saptama gücü PCR'dan üstün, PCR'ın homozigot ve bileşik heterozigot hasta yakalama gücü, dizilemeden üstün olduğu görülmüş ve 2 yöntemin tamamlayıcı olduğu kanısına varılmıştır. Mutasyon profilinde sık görülen mutasyonlar **ΔF508, 1677del TA, R347P, 2789+5 G>A, R1162X, E92K, D1152H, N1303K** olarak belirlenmiş ve mutasyonların bölgesel özellikler yansıttığı gösterilmiştir. Mutasyon-klinik ilişkisinde ter testi, mekonyum ileusu, ve ishal önemi ile ter testi negatif hastaların arasında da KF olabileceği vurgulanmıştır.
19. Çalışmamız bugünkü verilere göre KFTR gen mutasyon analizi ve klinik ilişkiler açısından ülkemizden uygulanan en geniş hasta grubunu yansıtmaktadır.



## 7. KAYNAKLAR

1. Egan M. Cystic Fibrosis. In: Kliegman RM, Stanton B, Geme JS, Schor N, Behrman R, editors. Nelson Textbook of Pediatric. 19th Edition, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri. 2011; 1481-1497.
2. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, Boerkoel CF. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. 6th Edition. İstanbul, Güneş pres. 2005 ISBN:975-277-031-2.
3. Kerem E. Mutation specific therapy in CF. Paed Respir Rev 2006; 7: 166-169.
4. Voter KZ, Ren CL. Diagnosis of Cystic Fibrosis Clinical Reviews in Allergy & Immunology Volume 35, Issue 3. December 2008; 100-106.
5. Accurso J, Sontag M. Gene modifiers in cystic fibrosis. J Clin Invest 2008; 118: 839– 841.
6. Hodson M, Geddes D, Bush A. Cystic fibrosis. 3 th Ed., London, CRC press. 2007.
7. From the mid-17th century there were many reports of infants who may well have had cystic fibrosis. <http://www.cfmedicine.com/history/>,10.10.2013.
8. Göçmen A. Kistik fibrozisin dünyadaki ve Türkiye'deki durumu. Katkı Pediatri Dergisi 2002; 23: 117-121.
9. American Thoracic Society, ATS statement: Guidelines for the six-minute walk test. Am J Respir Crit Care Med. 2002; 166:111-117.
10. Lommatzsch ST, Aris R. Genetics of Cystic Fibrosis. Seminars in Respiratory and critical care medicine 2009; 30: 531-538.

11. Anderson DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathologic study. *Am J Dis Child* 1938; 56: 344-399.
12. Wallis C. Diagnosing cystic fibrosis: blood, sweat and tears. *Arch Dis Child* 1997; 76: 85-88.
13. Quinton MP. Physiological Basis of Cystic Fibrosis: A Historical Perspective. *Physiol Rev* 1999; 79: 3-22.
14. Gilligan PH, Kiska DL, Appleman MD, Cumitech 43. Cystic Fibrosis Microbiology. Washington DC, ASM Press. 2006; 2-7.
15. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. Lung Infections Associated with Cystic Fibrosis. *Clin Microbiol Rev* 2002; 194-222.
16. Norris RF, Tyson RM. The pathogenesis of polycystic pancreas: reconstruction of cystic elements in one case. *Am J Pathol* 1946; 23: 485-499.
17. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dispmim.cgi?id=602421>, 05.04.2010.
18. Moss RB. Cystic fibrosis: pathogenesis, pulmonary infection and treatment. *Clin Infect Dis*. Oct 1995; 21(4): 839-849.
19. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry 2000 Annual Report. Bethesda, Maryland. September 2001.
20. Seren LP. Kistik Fibrozisli hastaların retrospesifik değerlendirilmesi. <http://www.metinindir.com/docs/1554/index-2374.html>, 10.10.2013.

21. Ilgazlı A. Solunum Fonksiyon Testi Endikasyonları. Ilgazlı A, Çağlar T, Editörler. Solunum Fonksiyon Testi Endikasyonları ve Klinik Kullanımı. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri. 2004; 32-51.
22. Kessler R, Faller M, Fourgaut G, Menecier B, Weitzenblum E. Predictive factors of hospitalization for acute exacerbation in a series of 64 patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 1999; 159: 158–164.
23. Bobadilla JL, Macek M, Fine JP, Farrell PM. Cystic Fibrosis: A Worldwide Analysis of CFTR Mutations. Correlation With Incidence Data and Application to Screening. *Human Mutation* 2002; 19: 575-606.
24. Patient Registry: Annual Data Report 2012.
25. Hull J. Basic Science of Cystic Fibrosis. *Current Pediatrics* 2003; 13: 253- 258.
26. Aydemir Ö. Kistik Fibrozisde Akciğer ve bağırsak enflamasyonunun değerlendirilmesinde kalprotektin ve 8 isoprostan. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastalıkları, Uzmanlık Tezi, 2008.
27. Onay T, Zielenski J, Topaloglu O, et al. Cystic fibrosis mutations and associated haplotypes in Turkish cystic fibrosis patients. *Hum Biol* 2001; 73: 191-203.
28. Onay T, Topaloglu O, Zielenski J, et al. Analysis of the CFTR gene in Turkish cystic fibrosis patients: identification of three novel mutations (3172delAC, P1013L and M1028I). *Hum Genet* 1998; 102: 224-230.
29. Kiliç MO, Ninis VN, Dağlı E, et al. Highest heterogeneity for cystic fibrosis: 36 mutations account for 75% of all CF chromosomes in Turkish patients. *Am J Med Genet* 2002; 113: 250-257.

30. Grasemann H, Ratjen F. Emerging therapies for cystic fibrosis lung disease. *Exp Opin Emerg Drugs* 2010; 15: 653–659.
31. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005; 352: 1992–2001.
32. Cystic Fibrosis Mutation Database 2009; 169.
33. Cutting GR, Zeitlin PL. Genetics and pathophysiology of Cystic Fibrosis. In: Chernick V, Kendig EL, editors. *Kending's disorder of the respiratory tract in Children.* 7th Edition, Philadelphia, W.B. Saunders. 2006; 848- 860.
34. Cant N1, Pollock N1, Ford RC2. CFTR structure and cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* DOI: 10.1016/j.biocel.2014.02.004. 2014 Jul; 52: 15-25. Epub 2014 Feb 15.
35. Özçelik U. Kistik fibrozis. *Katkı Pediatri Dergisi* 2010; 32: 133-155.
36. Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev* 1999; 79 (Suppl 1): 23-45.
37. Collins FS. Cystic fibrosis: Molecular biology and therapeutic implications. *Science* 1992; 256: 774-779.
38. Goss CH, Burns JL. Exacerbations in cystic fibrosis. *Epidemiology and pathogenesis.* *Thorax* 2007; 62: 360-367.
39. Heijerman H. Infection and inflammation in cystic fibrosis: a short review. *J. Cystic Fibrosis* 2005; 4: 3-5.
40. Türk Toraks Derneği Kistik Fibrozis Tanı ve Tedavi Rehberi. 2011.

41. Machenm TE. Innate immune response in CF airway epithelia: hyperinflammatory? *Am. J. Physiol. Cell Physiol* 2006; 291: 218-230.
42. Rao S, Grigg, J. New insights into pulmonary inflammation in cystic fibrosis. *Arc Dis. Child* 2006; 91: 786-788.
43. Griese M, Kappler M, Gaggar A, Hartl D. Inhibition of airway proteases in cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J* 2008; 32(3): 783-795.
44. Jacquot J, Tabary O, Clement A. Hyperinflammation in airways of cystic fibrosis patients: what's new?. *Expert Rev Mol Diagn* 2008; 8(4): 359-363.
45. Krysa J, Steger A. Pancreas and cystic fibrosis the implications of increased survival in cystic fibrosis. *Pancreatology* 2007; 7(5-6): 447-450.
46. Dodge JA, Turck D. Cystic fibrosis nutritional consequences and management. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006; 20(3): 531-546.
47. Bulun A, Kale G. KF'in Histopatolojik Bulguları. *Katkı Pediatri Dergisi* 2002; 23: 127-134.
48. Colombo C. Liver disease in cystic fibrosis. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2007; 13: 529-536.
49. Ersöz DD. Türk Toraks Derneği. Kistik Fibrozis Tanı ve Tedavi Rehberi. *Türk Toraks Dergisi* 2011; 12: 1-140.
50. Bartlett JR, Friedman KJ, Ling SC, et al. Genetic Modifiers of Liver Disease in Cystic Fibrosis. *JAMA* 2009; 302: 1076-1083.
51. Fernandez TP, Serrano PL, Tomas E, et al. Diagnostic and therapeutic approach to cholestatic liver disease. *Rev Esp Enferm Dig.* 2004; 96: 60-73.

52. Abdel Rahman H, Abdul Wahab A, Abdel Rahman MO. Faecal elastase-1 concentration in cystic fibrosis patient with CFTR I1234V mutation. *Acta Paediatr* 2006; 95:1066-1069.
53. Stalvey MS, Muller C, Schatz DA, Wasserfall CH, CampbellThompson ML, Theriaque DW, Flotte TR, Atkinson MA. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficiency exacerbates islet cell dysfunction after beta- cell injury. *Diabetes* 2006; 55: 1939-1945.
54. Castellani C, Cuppens H, Macek M, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cystic Fibrosis* 2008; 7: 179-196.
55. Alves CA, et al. Diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol* 2007; 33.2: 213-221.
56. Akata D, Akhan O. Liver manifestations of cystic fibrosis. *European Journal of Radiology* 2007; 61: 11-17.
57. Özçelik U. Kistik fibrozis akciğer hastalığında patogenezi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2004; 47: 299-302.
58. Jouret F, Devuyst O. CFTR and defective endocytosis: new insights in the renal phenotype of cystic fibrosis. *Physiol Rev* 2009; 89: 1227- 1236.
59. Taulan M, Girardet A, Guittard C, et al. Large genomic rearrangements in the CFTR gene contribute to CBAVD. *BMC Med Genet* 2007; 8: 22.
60. Ratbi I, Legendre M, Niel F, et al. Detection of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene rearrangements enriches the mutation spectrum

in congenital bilateral absence of the vas deferens and impacts on genetic counselling. *Hum Reprod* 2007; 22: 1285–1291.

61. King SJ, Topliss DJ, Kotsimbos T, et al. Reduced bonedensity in cystic fibrosis: DeltaF508 mutation is an independent risk factor. *Eur Respir J*. 2005; 25: 54–61
62. Elmas C. Kistik fibroziste diğ er sistem belirti ve bulguları. *Katkı Pediatri Dergisi* 2002; 23: 179-196.
63. Yalçın E. KF’de solunum sistemi komplikasyonları. *Katkı Pediatri Dergisi* 2002; 23:197-201.
64. Figen ÇÇ. Kistik fibroziste gastrointestinal tutulum ve tedavi. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Gastroenteroloji-Hepatoloji Ve Beslenme Bilim Dalı. *Güncel Pediatri* 2009.
65. Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso F, Cutting RC. Cystic Fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D, editors. *Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th Ed., New York, McGraw-Hill. 2001; 51215184.
66. Kerem E, Reisman J, Kerem B, Durie P, Tsui LC, Levinson H. Clinical and genetic comparison of patients with cystic fibrosis with or without meconium ileus. *J Pediatr* 1989; 114(5): 767-773.
67. Feingold J, Guilloud-Bataille M. Genetic comparisons of patients with cystic fibrosis with or without meconium ileus. Clinical Centers of the French CF Registry. *Ann Genet* 1999; 42: 147-150.
68. Gaskin KJ. Exocrine Pancreatic Dysfunction Cystic Fibrosis. In: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Sherman PM, editors. *Pediatric Gastrointestinal Disease*. 4th Ed., New York, BC Decker Inc. 2004; 1606-1623.

69. Kerem E. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *N Eng J Med* 1990; 323: 1517-1522.
70. Adriana H, Giselle GA. *World journal gastroenterology* December 2013; 14: 18-46.
71. Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, et al. Cystic fibrosis. adult care consensus conference report. *Chest* 2004; 125:1S.
72. Wilfond BS, Gollust SE. Policy issues for expanding newborn screening programs the cystic fibrosis newborn screening in the United States. *J Pediatr* 2005; 146:668.
73. Balfour-Lynn IM. Newborn screening for cystic fibrosis evidence for benefit. *Arch Dis Child* 2008; 97:3.
74. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M. On behalf of the Diagnostic Working Group. Cystic fibrosis terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 2006; 61: 627–635. DOI: 10.1136/thx.2005.043539.
75. Wells J, Rosenberg M, Hoffman G, et al. A decision-tree approach to cost comparison of newborn screening strategies for cystic fibrosis. *Pediatrics* 2012; 129: 339.
76. Orenstein M. Cystic Fibrosis. In: Rudolph CD, Rudolph MA, Lister GE, First LR, Gershan AA, editors. *Rudolph's Pediatrics*. 22nd Edition, 2011; 1977-1986.
77. KF Yenidoğan Tarama Testi ile Tanı Alan Hastaları İzleme Rehberi 2015.
78. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ. Jr. Diagnostic sweat testing the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *J Pediatr* 2007; 151: 85–89.



79. Grosse SD, Boyle CA, Botkin JR, Comeau AM, Kharrazi M, Rosenfeld M et al. Newborn screening for cystic fibrosis evaluation of benefits and risks and recommendations for state newborn screening programs. *MMWR Recomm Rep* 2004; 53: 1–36.
80. Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1981; 305: 1489-1495.
81. Rowe SM, Accurso F, Clancy JP. Detection of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity in early phase clinical trials. *Proc Am Thorac Soc*.
82. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus panel. *J. Pediatr* 2008; 132: 589-595. 2007; 4: 387-398.
83. Cystic Fibrosis Foundation Cystic fibrosis foundation patient registry. Cystic Fibrosis Foundation. Bethesda MD 2006.
84. Cytic Fibrosis Mutation Database. <http://www.genet.sickkids.on.ca/app>, 08.09.2013.
85. Hurt K, Simmonds NJ. Cystic Fibrosis Management of Haemoptysis. *Paediatric Respiratory* 2012; 13: 200–205.
86. Farrell FM, Rosenstein BJ, White TB, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults cystic fibrosis foundation consensus report. *J Pediatr* 2008; 153: 4-14.
87. Hannula K, Lipsanen-Nyman M, Kristo P, et al. Genetic screening for maternal uniparental disomy of chromosome 7 in prenatal and postnatal growth retardation of unknown cause. *Pediatrics* 2002; 109: 441–448.

88. Rajan S, Saiman L. Pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *Semin Respir Infect* 2002; 17: 47-56.
89. Doring G, Hoiby N, Consensus Study Group. Early intervention and prevention of lung disease in cystic fibrosis: A European Consensus. *J Cyst Fibros* 2004; 3: 67-91.
90. May ML, Robson J. Microbiological diagnostic procedures in respiratory infections suppurative lung disease. *Pediatr Respir Rev.* 2007; 8: 185-94.
91. Steven M. Rowe SM, Clancy JP. Advances in cystic fibrosis therapies. *Curr Opin Pediatr* 2006; 18: 604-613.
92. Amaral MD, Kunzelmann K. Molecular targeting of CFTR as therapeutic approach to cystic fibrosis. *TRENDS in Pharmacol Science* 2007; 28: 334-342.
93. Dodd ME, Prasad SA. Physiotherapy management of cystic fibrosis. *Chronic Respir Dis.* 2005; 2: 139-149.
94. Brand PLP. Bronchodilators in cystic fibrosis. *J R Soc Med.* 2000; 93: 37-39.
95. Duncan FG. Mucoactive Agents for Airway Mucus Hypersecretory Diseases. *Respir Care* 2007; 52: 1176-1193.
96. Henke MO, Ratjen F. Mucolytics in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2007; 8: 24- 29.
97. Flume PA, O'Sullivan BP, Robinson KA, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med.* Vol. 2007; 176: 957-969.

98. Konstan MW, Wagener JS, Pasta DJ, Silva SJ, Morgan WJ. Pulmozyme (dornase alfa) use is associated with a slower rate of lung function decline in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2006; 29(suppl): 337.
99. Tiddens HAWM, Devadason SG. Delivery of therapy to the cystic fibrosis lung. In: Hodson M, Geddes D, Bush A, editors. *Cystic Fibrosis*. 3rd ed., Great Britain, Hodder Arnold Ltd.. 2007; 185-98.
100. Smyth R, Walters S. Oral calorie supplements for cystic fibrosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007; Issue 1. Art. No.:CD000406.
101. Kalnins D, Durie PR, Pencharz P. Nutritional management of cystic fibrosis patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2007; 10: 348-354.
102. Maqbool A, Stallings VA. Update on fat-soluble vitamins in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2008; 14: 574-581.
103. Demir H, Özen H. Kistik fibrozisli hastalarda gastrointestinal sistem bulguları ve tedavisi. Dağlı E, Karakoç F, editörler. *Çocuk Göğüs Hastalıkları*. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2007; 237-246.
104. Gomez F, Ramos Galvan R, Frenk S, et al. Mortality in second and third degree malnutrition 1956. *Bull World Health Organ* 2000; 78: 1275-80.
105. Fanen P, Wohlhuter-Haddad A, Hinzpeter A. Genetics of cystic fibrosis CFTR mutation classifications toward genotype-based CF therapies. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* Volume 52 July 2014; 94–102.
106. Erdem M, Zorlu P, Acar M, Şenel S. Evaluation of Demographic and Clinical Characteristics of Patients with Cystic Fibrosis. Received: 14.02.2013, Accepted: 06.05.2013 DOI: 10.12956/tjpd.2013.3.06.

107. Alibakhshi R1, Zamani M. Mutation Analysis Of Cftr Gene İn 70 Iranian Cystic Fibrosis Patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2006; 5(1): 3-8.
108. Karakoç F, Karadağ B, Erdoğan T, Arif Kut, Dağlı E. Kistik fibrozisli hastaların klinik özellikleri ve tedavi yaklaşımları. *Clinical findings and treatment modalities in cystic fibrosis patients. Türk Pediatri Arşivi* 2002; 37: 19-24.
109. Çetinkaya, A. Kistik fibrozisli 300 vakanın klinik ve laboratuvar özellikleri. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. 2012.
110. Göçmen A, Özçelik U, Kiper N, Erdem H. Kistik fibrozisli 104 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 1995; 38: 21-3. 15.
111. Kaya A, Derman U, Yaramış A ve ark. Güneydoğu Anadolu bölgesindeki kistik fibrozisli 23 hastanın klinik ve laboratuvar özellikleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*. 2000; 43: 345- 51.
112. Fallahi G, Najafi M, Farhmand F, Bazvand F, Ahmadi M, Ahmadi F, et al. The clinical and laboratory manifestations of Iranian patients with cystic fibrosis. *Turk J Pediatr* 2010; 52:132-8. 11.
113. Alibakhshi R1, Kianishirazi R, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations. *J Cyst Fibros Mar* 2008; 7(2):102-9. Epub Jul 27 2007.
114. Scotet V, Gillet D, Dugue'pe'roux I, Audrezet MP, Bellis G, Garnier B, et al. Spatial and temporal distribution of cystic fibrosis and its mutations in Brittany, France; a retrospective study from 1960. *Hum Genet* 2002; 111:247–254.
115. UK Cystic Fibrosis Registry Annual data report 2010.

116. Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 2010 annual data report. Bethesda, M.D: Cystic Fibrosis Foundation 2010.
117. Kanavakis E, Efthymiadou A, Strofalis S, et al. Cystic fibrosis in Greece: molecular diagnosis, haplotypes, prenatal diagnosis and carrier identification amongst high-risk individuals. *Clin Genet* 2003; 63: 400-409.
118. Ferrie RM, Schwartz MJ, Robertson NH, Vaudin S, Super M, Malone G, et al. Development, multiplexing, and application of ARMS tests for common mutations in the CFTR gene. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 251-62.
119. Ataseven F, Özer S, Yılmaz R, Şenaylı A. Bilateral spontaneous pneumothorax in a newborn with N1303K mutation of cystic fibrosis (CFTR) gene. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2010; 58(2): 181-183.
120. Dawson KP, Frossard PM. A hypothesis regarding the origin and spread of the cystic fibrosis mutation deltaF508. *QJM* 2000; 93(5):313-5.
121. Varon R, Stuhmann M, Macek M Jr, Kufardjieva A, Angelicheva D, Magdorf K. Pancreatic insufficiency and pulmonary disease in German and Slavic cystic fibrosis patients with the R347P mutation. *Hum Mutat* 1995; 6(3):219-25.
122. Kerem E, Kalman YM, Yahav Y, Shoshani T, Abeliovich D, Szeinberg A, et al. Highly variable incidence of cystic fibrosis and different mutation distribution among different Jewish ethnic groups in Israel. *Hum Genet* 1995; 96:193-7.
123. Öztürk Ö, Kibar F, Karaçor ED, Çetiner S, Şahin G, Yaman A. Adana İlinde CFTR Gen Mutasyonlarının Değerlendirilmesi Evaluation of CFTR Gene Mutations in Adana. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi (Cukurova Medical Journal)* 2013; 38 (2):202-208.

124. Chillon M, Casals T, Mercier B et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. N Engl J Med. 1995; 332:1475-1480.
125. Ülgenalp A. Strip Assay Metodu Kullanılarak Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Geni Mutasyonlarının Analizi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. 2009; C23/S2.
126. CFTR2: clinical and functional translation of CFTR. [www.cftr2.org](http://www.cftr2.org).

