

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

3M SENDROMLU HASTALARIN KLİNİK, LABORATUVAR,  
RADYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Pelin Özlem ŞİMŞEK KİPER

Genetik Programı  
DOKTORA TEZİ

ANKARA  
2016

T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

3M SENDROMLU HASTALARIN KLİNİK, LABORATUVAR,  
RADYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Pelin Özlem ŞİMŞEK KİPER

Genetik Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Osman Koray BODUROĞLU

ANKARA

2016

Anabilim Dalı : **Pediyatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı**  
 Program : **Genetik Doktora Programı**  
 Tez Başlığı : **3M Sendromlu Hastaların Klinik, Laboratuvar, Radyolojik ve Moleküler Özelliklerinin Araştırılması**

Öğrenci Adı-Soyadı : **Dr. Pelin Özlem ŞİMŞEK KİPER**  
 Savunma Sınavı Tarihi : **15.01.2016**

Bu çalışma jürimiz tarafından ~~yüksek lisans~~/doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı ve Tez Danışmanı : **Prof. Dr. O. Koray Boduroğlu**  
**Hacettepe Üniversitesi**

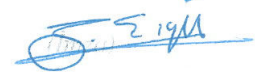
Üye: **Prof. Dr. Mehmet Alikashişoğlu**  
**Hacettepe Üniversitesi**

Üye: **Prof. Dr. Fatih Süheyl Ezgü**  
**Gazi Üniversitesi**

Üye: **Prof. Dr. Yasemin Alanay**  
**Acıbadem Üniversitesi**

Üye: **Prof. Dr. Gülen Eda Utine**  
**Hacettepe Üniversitesi**








ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

  
 Prof. Dr. Ersin FADILLIOĞLU  
 Müdür

## TEŞEKKÜR

Bu doktora tezinin gerçekleştirilmesi sürecinde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen, değerli Tez Danışmanım Sayın Prof. Dr. Osman Koray BODUROĞLU başta olmak üzere, Tez İzleme Komitesi olarak çalışmamı yönlendiren Sayın Prof. Dr. Mehmet ALİKAŞİFOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Fatih Süheyl EZGÜ'ye; Sayın Prof. Dr. Dilek AKTAŞ, Sayın Prof. Dr. Yasemin ALANAY ve Sayın Prof. Dr. Gülen Eda UTİNE'ye; deneylerin yapılması ve sonuçların elde edilmesindeki değerli katkılarından dolayı Sayın Biyolog Can KOŞUKCU ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ekim Zihni TAŞKIRAN başta olmak üzere tüm Genetik Laboratuvarı ve Pediatrik Genetik Bilim Dalı çalışanlarına ve gösterdikleri sabır, anlayış ve destek için aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAB6080 Hızlı Destek Projesi ile desteklenmiştir (Proje ID: 633).

## ÖZET

**Şimşek Kiper, P.Ö. 3M sendromlu hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik ve moleküler özelliklerinin araştırılması. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik Programı Doktora Tezi, Ankara, 2016.** 3M sendromu ağır prenatal ve postnatal büyüme geriliği, tipik yüz bulguları ve normal zeka ile karakterize otozomal resesif kalıtım gösteren bir sendromdur. Etiyolojide şimdiye kadar *CUL7*, *OBSL1* veya *CCDC8*'de homozigot veya bileşik heterozigot fonksiyon kaybı mutasyonları tanımlanmıştır. Bilinen genlerde mutasyon saptanmayan 3M sendromlu hastalarda başka gen mutasyonlarının etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada 3M sendromlu 13 aileden 17 hastanın klinik ve radyolojik bulguları değerlendirilmiş, moleküler etiyojiye yönelik *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* DNA dizi analizi yapılmış ve genotip-fenotip ilişkisi araştırılmıştır. Hastaların 10'unda (n=10/17, %58,8) anne ve babaların aynı mutasyon için heterozigot taşıyıcı oldukları 7 farklı homozigot *CUL7* (n=5/10, %50) veya *OBSL1* (n=5/10, %50) mutasyon saptanmıştır. Saptanan 7 farklı mutasyonun 2'si *OBSL1*, 1'i *CUL7* üzerinde olmak üzere 3'ü yeni mutasyondur. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 3M sendromunun en sık nedeni olarak *CUL7* mutasyonları bildirilmiş olsa da bu çalışmada *CUL7* ve *OBSL1* mutasyonları aynı sıklıkta saptanmıştır. Kısıtlı hasta sayısına rağmen bu bulgu Türk toplumundaki bir *kurucu* mutasyon etkisini yansıtıyor olabilir. 3M sendromunda şimdiye kadar herhangi bir genotip-fenotip ilişkisi bildirilmemiştir. Bu çalışmada *CUL7* mutasyonu olan hastaların doğum vücut ağırlıklarının *OBSL1* mutasyonu olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır (p=0,016). Genotip-fenotip ilişkisi kurabilmek için geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Mutasyon saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik bulgularının mutasyon saptanan hastaların bulgularına benzerlik göstermesi genetik etiyoji açısından heterojen olan 3M sendromunun etiyojisinde bilinen 3 genin dışında başka gen mutasyonlarının da olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda gerçekleştirilecek yeni çalışmalar muhtemelen ortak bir büyüme yolağı üzerinde yer alan bu genlerin ortaya çıkarılmasına ve bu yolağın anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: 3M sendromu, *CUL7*, *OBSL1*, *CCDC8*, akraba evliliği

Destekleyen Kurumlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAB6080, Proje ID: 633).

**ABSTRACT**

**Şimşek Kiper, P.Ö. Clinical, laboratory, radiological and molecular analysis of patients with 3M syndrome. Hacettepe University, Institute of Health Sciences, Ph.D. Thesis in Genetics, Ankara, 2016.** 3M syndrome is a genetically heterogeneous, autosomal-recessive disorder characterized by severe prenatal and postnatal growth retardation, typical facial features and normal intelligence. Uptill now, mutations in either *CUL7*, *OBSL1* or *CCDC8* have been identified in the etiology. However, mutations identified to date do not account for all 3M syndrome patients. Therefore it is postulated that some other genes may be involved in the etiology. In this study clinical, radiological and molecular features of 17 patients from 13 families with 3M syndrome were evaluated and genotype-phenotype correlations were investigated. Seven distinct *CUL7* or *OBSL1* homozygous mutations were identified in 10 patients (n=10/17, 58.8%). Of mutation positive patients (n=10), 4 *CUL7* (n=5/10, 50%) and 3 *OBSL1* (n=5/10, 50%) mutations were detected among which one *CUL7* and two *OBSL1* mutations were new. Although *CUL7* was reported to be the major gene responsible for 3M syndrome so far, *CUL7* and *OBSL1* mutations were detected in equal frequency in the present study. Despite the limited size of the study, this finding might be an indicator of a founder effect in Turkish population. Although no genotype-phenotype correlation was established in 3M syndrome so far, birth weight of patients with *CUL7* mutation was significantly lower than the patients with *OBSL1* mutation (p=0.016). A group of patients with no mutations shared similar clinical and radiological features with the patients harbouring either *OBSL1* or *CUL7* mutations suggesting the involvement of additional gene/genes yet undefined. Further molecular studies will shed light on the identification of these new genes in this common growth pathway.

Key words: 3M syndrome, *CUL7*, *OBSL1*, *CCDC8*, consanguineous marriage

Supported by Hacettepe University Research Projects Management System (BAB6080, Project ID: 633).

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tanım	2
2.2. Prevalans	2
2.3. Tarihçe	2
2.4. Etiyoloji ve Patogenez	3
2.4.1. <i>CUL7</i>	4
2.4.2. <i>Ubiquitin</i> -Proteazom Yolağı	4
2.4.3. <i>CUL7E3 Ubiquitin</i> Ligaz Kompleksi	6
2.4.4. 3M Sendromunda Saptanan <i>CUL7</i> Mutasyonları	9
2.4.5. <i>OBSL1</i>	10
2.4.6. <i>CCDC8</i>	12
2.4.7. 3M Sendromu Yolağı	12
2.4.8. 3M Kompleksi	14
2.4.9. 3M-CUL9-Survivin Yolağı	14
2.5. Klinik Bulgular	16
2.5.1. Büyüme Geriliğı	16
2.5.2. Yüz Bulguları	17
2.5.3. İskelet Sistemi Bulguları	18
2.5.4. Gelişimsel Kalça Displazisi	18

2.5.5. Radyolojik Bulgular	19
2.5.6. Diğer Bulgular	23
2.6. 3M Sendromu Spektrumu	24
2.7. Genotip-Fenotip İlişkisi	25
2.8. Tanı	25
2.9. Ayırıcı Tanı	26
2.9.1. Silver-Russel Sendromu	26
2.9.2. Diğer Sendromlar	27
2.10. Tedavi	30
2.11. Genetik Danışma	30
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	31
3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi	31
3.2. Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem	31
3.3. Klinik ve Radyolojik Değerlendirme	31
3.4. Moleküler Çalışmalar	32
3.4.1. Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu	32
3.4.2. DNA Kalite Kontrolü	33
3.4.3. PCR Reaksiyonu İçin Primer Sentezi	34
3.4.4. PCR Reaksiyonu İçin Optimize Edilen Koşullar	34
3.4.5. PCR Ürünlerinin Pürifiye Edilmesi	34
3.4.6. DNA Dizi Analizi Reaksiyonu	34
3.4.7. DNA Dizi Analizi Reaksiyon Ürünlerinin Pürifiye Edilmesi	35
3.4.8. DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Analizi	35
3.5. İstatistiksel Yöntem	36
4. BULGULAR	37
4.1. Demografik Özellikler	37
4.2. Hastaların Klinik Bulguları	38
4.3. Hastaların Radyolojik Bulguları	48
4.4. Hastaların Mutasyon İncelemeleri	53
4.5. Mutasyon Saptanmayan Hastalar	55



5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
EKLER	
EK 1. Çalışmanın Etik Kurul Onayı	
EK 2. Çalışmada Kullanılan Onam Formları	
EK 3. Hasta Değerlendirme Formu	
EK 4. Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri	
EK 5. Amplifikasyon Koşulları	
EK 6. <i>CUL7</i> Mutasyonu Saptanan Hastaların Özellikleri	
EK 7. <i>OBSL1</i> Mutasyonu Saptanan Hastaların Özellikleri	
EK 8. Mutasyon Saptanmayan Hastaların Özellikleri	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

APC2	<i>Anaphase Promoting Complex 2</i>
CCDC8	Coiled-Coil Domain-Containing Protein 8
CDK	<i>Cyclin-Dependent Kinase</i>
CUL1	<i>Cullin 1</i>
CUL7	<i>Cullin 7</i>
CUL9	<i>Cullin 9</i>
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DOC	<i>Destruction of Cyclin B</i>
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
GH	<i>Growth Hormone</i> ; Büyüme Hormonu
GORASP1	<i>Golgi Reassembly Stacking Protein 1</i>
HEK	<i>Human Embryonic Kidney</i>
IGF-1	<i>Insuline-like Growth Factor-1</i>
IGF-2	<i>Insuline-like Growth Factor-2</i>
IGFBP	<i>Insuline-like Growth Factor Binding Protein</i>
IGFBP-2	<i>Insuline-like Growth Factor Binding Protein-2</i>
IGFBP-5	<i>Insuline-like Growth Factor Binding Protein-5</i>
IRS-1	<i>Insuline Reseptor Substrate-1</i>
IUGR	İntrauterin Büyüme Kısıtlılığı
MAP4K1	<i>Mitogen-activated Protein Kinase Kinase Kinase Kinase 1</i>
MEA1	<i>Male Enhanced Antigen 1</i>
MRPL2	<i>Mitochondrial Ribosomal Protein L2</i>
OBSL1	<i>Obscurin-like 1</i>
PARC	<i>p53 Associated Parkin-like Cytoplasmic Protein</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> ; Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEX6	<i>Peroxisome Biogenesis Factor 6</i>
PPP2R5D	<i>Protein Phosphatase 2 Regulatory Subunit B (B56) Delta Isoform</i>

PTK7	<i>Protein Tyrosine Kinase 7</i>
RCL	<i>Putative c-Myc Response</i>
RING	<i>Really Interesting New Gene</i>
RNA	Ribonükleik Asit
SGA	<i>Small for Gestational Age</i>
siRNA	<i>Small Interfering RNA</i>
SRF	<i>Serum Response Factor</i>
TBCC	<i>Tubulin-specific Chaperone C</i>



## ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. <i>CUL7</i> yapısı ve içerdiği domainler.	4
2.2. <i>Ubiquitin</i> -proteazom yolağı.	6
2.3. <i>CUL7E3 ubiquitin</i> ligaz kompleksi.	7
2.4. <i>OBSL1</i> yapısı ve mevcut isoformları.	11
2.5. 3M sendromu yolağı ve bu yolağın GH-IGF-1 aksı ile olan ilişkisi.	13
2.6. 3M kompleksi ve 3M-CUL9-Survivin yolağı.	16
2.7. 3M sendromlu bir hastanın tipik yüz bulguları.	17
2.8. 3M sendromunda belirgin topuk ve <i>pes planus</i> bulguları.	18
2.9. 3M sendromunda radyolojik olarak ince ve dar ( <i>slender</i> ) kemik bulgusu.	21
2.10. 3M sendromunda yüksek vertebra bulgusu.	22
2.11. 3M sendromunda kemik yaşında gerilik bulgusu.	23
4.1. Mutasyon saptanan hastaların geldikleri bölgeleri gösteren harita.	38
4.2. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların yüz bulguları.	44
4.3. <i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların yüz bulguları.	45
4.4. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları.	46
4.5. <i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları.	47
4.6. <i>CUL7</i> mutasyonu olan Hasta No 1'in el ve ayak fotoğraf ve grafileri.	48
4.7. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri.	49
4.8. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri.	49
4.9. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-El grafileri.	50
4.10. <i>CUL7</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Pelvis grafileri.	50
4.11. <i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri.	51
4.12. <i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri.	51
4.13. <i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-El grafileri.	52

4.14.	<i>OBSL1</i> mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Pelvis grafileri.	52
4.15.	<i>CUL7</i> 'de saptanan mutasyonların gen üzerindeki dağılımları.	55
4.16.	<i>OBSL1</i> 'de saptanan mutasyonların gen üzerindeki dağılımları.	55
4.17.	Mutasyon saptanmayan hastaların klinik fotoğrafları.	56
4.18.	Mutasyon saptanmayan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri.	56
4.19.	Mutasyon saptanmayan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri.	57



## TABLOLAR

	Sayfa
2.1. 3M sendromu tanısında kullanılan klinik ve radyolojik bulgular.	26
4.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik, radyolojik ve moleküler özellikleri.	41
4.2. Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik bulguları.	43
4.3. <i>CUL7</i> ve <i>OBSL1</i> genlerinde saptanan mutasyonlar.	54



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

3M sendromu (MIM 273750, 612921, 614205) ağır prenatal ve postnatal büyüme geriliği, tipik yüz bulguları ve normal zeka ile karakterize otozomal resesif kalıtım gösteren nadir görülen bir sendromdur. Bugüne kadar 3M sendromu etiolojisinde en sıklıkla *CUL7* (MIM 609577), ardından *OBSL1* (MIM 610991) ve daha nadiren *CCDC8* (MIM 614145) mutasyonları tanımlanmıştır. 3M sendromlu hastaların bir kısmında bu üç genden birinde herhangi bir mutasyon saptanmamaktadır. Bu durum genetik etioloji açısından heterojen olduğu kabul edilen 3M sendromu etiolojisinde diğer gen mutasyonlarının da etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bunun yanı sıra üç farklı genin kodladığı üç farklı sitoplazmik proteinin aynı hastalığın etiopatogenezinde yer alıyor olması bu üç proteinin aynı biyokimyasal yolda yer alıyor olabileceğini de düşündürmektedir. Yüksek bir akraba evliliği oranı olan ülkemizde otozomal resesif kalıtım gösteren 3M sendromu ile ilgili klinik ve moleküler özelliklerin tanımlandığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada amaç; Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Bilim Dalı'nda takip edilmekte olan bir grup 3M sendromlu hastadaki klinik, laboratuvar ve radyolojik bulguların tanımlanması, altta yatan moleküler patolojilerin açığa çıkarılması, genotip-fenotip ilişkisinin araştırılması, elde edilecek bulgular doğrultusunda mevcut bilgi birikimine katkı sağlanması ve gelecekte yapılması planlanan yeni çalışmalara ışık tutulması olarak belirlenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Tanım

3M sendromu (MIM 273750, 612921, 614205) ilk kez 1975 yılında Miller, McKusick ve Malvaux tarafından tanımlanmış, karakteristik olarak maternal veya plasental patolojinin eşlik etmediği, prenatal ve postnatal büyümede kısıtlılık, tipik yüz bulguları ve normal zeka ile karakterize otozomal resesif kalıtım gösteren nadir görülen bir sendromdur (1). Sendromun adlandırması; bu sendromu ilk rapor eden hekimler olarak literatüre geçen JD Miller, VA McKusick ve P Malvaux'ın soyadlarının ilk harfi olan "M" harfinden ileri gelmektedir (1). Diğer şiddetli boy kısalığı sendromlarının aksine 3M sendromu fenotipi hemen hemen sadece büyüme ile ilgilidir. Mikrocefali, zihinsel yetersizlik ve organ malformasyonları bu sendroma eşlik etmez (1-5). Büyüme geriliğinin yanı sıra uzun tübüler kemiklerde ince ve dar (*slender*) görünüm, vertebra ön-arka çapında azalma ile beraber yükseklik artışı ve kemik yaşında gerilik gibi bazı iskelet sistemi bulgularıda görülür (1, 3-6). İskeletin genetik bir hastalığı olarak da kabul edilen 3M sendromu iskeletin Genetik Hastalıkları Nozoloji ve Sınıflandırması 2015 Revizyonu'nda 19. grup olan "*Slender* Kemik Displazileri" grubunda yer almaktadır (7).

### 2.2. Prevalans

3M sendromu prevalansı tam olarak bilinmemekle birlikte bu sendrom nadir bir hastalık olarak kabul edilmektedir (6). Bugüne kadar literatürde yaklaşık 200 kadar hasta bildirilmiştir (8).

### 2.3. Tarihçe

3M sendromu ilk kez 1975 yılında Miller ve arkadaşları tarafından aralarında birinci dereceden kuzen evliliği olan anne ve babanın biri kız diğeri erkek iki çocuğunda; düşük doğum ağırlığı, dar yüz, göğüs ön alt kısımda oyuntu, klinodaktili ve normal zeka bulguları ile tanımlanmıştır (1). Ardından Spranger ve arkadaşları benzer klinik özellikleri olan ikişer kardeşten oluşan dört hasta (9), Winter ve arkadaşları dört farklı aileden ikisi kardeş olmak üzere beş hasta (10) ve Hennekam



ve arkadaşları üç kardeş hasta daha bildirmişlerdir (11). Hennekam ve arkadaşları bu sendromun aslında ilk kez 1972 yılında Fuhrman ve arkadaşları tarafından tanımlandığını (12), bu tanımlama sırasında 3M sendromunun tipik bulgularından olan yüksek vertebra bulgusuna da dikkat çekildiğinin üzerinde durmuşlardır (11). Bazı hastalarda tanımlanan intraserebral vasküler aneurizma ve diğer vasküler patolojiler, eklem hipermobilitesi ve eklem dislokasyonu birlikteliği nedeniyle 3M sendromunun bir bağ dokusu hastalığı olabileceği de ileri sürülmüştür (2). Takip eden yıllarda 3M sendromlu hastaların klinik raporlarının bildirilmesine devam edilmiş, 2005 yılından itibaren bu sendromun altında yatan genetik etiyojoloji aydınlatılmaya başlanmıştır (13).

#### 2.4. Etiyoloji ve Patogenez

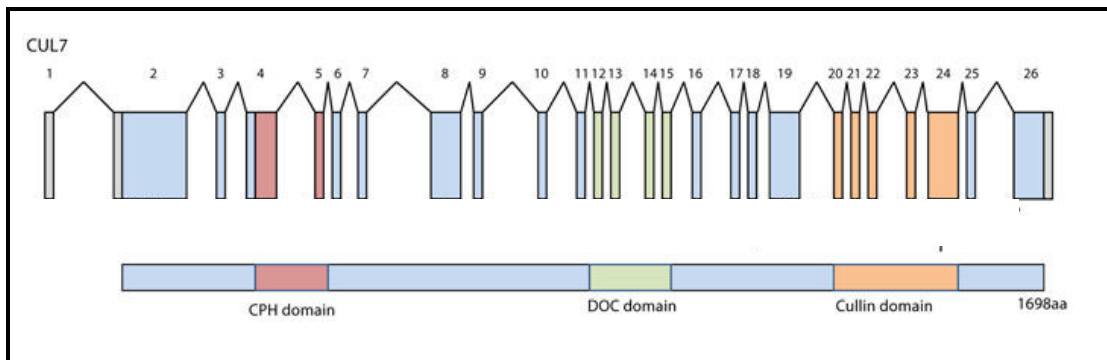
Genetik etiyojoloji açısından heterojen olan 3M sendromunda bugüne kadar *CUL7* (MIM609577), *OBSL1* (MIM 610991) ve *CCDC8* (MIM 614145) fonksiyon kaybı mutasyonları tanımlanmıştır (13-16). Bununla beraber bu üç genden birinde mutasyon saptanmayan 3M sendromlu hastaların olması genetik etiyojijide başka genlerin de yer alıyabileceğini düşündürmektedir (3, 4).

Huber ve arkadaşları ilk kez 2005 yılında ebeveynler arasında akrabalık olan Tunus, Fas ve Fransız asıllı 3M sendromlu yedi ailede homozigosite haritalandırma yöntemi kullanarak hastalık lokusunu kromozom 6p21.1 üzerinde bulunan 3.84 Mb'lık bölgeye lokalize etmişlerdir (13). Bu bölgede yer alan; *serum response factor* (SRF), *protein tyrosine kinase 7* (PTK7), *tubulin-specific chaperone C* (TBCC), *protein phosphatase 2 regulatory subunit B* (B56) *delta isoform* (PPP2R5D), *mitochondrial ribosomal protein L2* (MRPL2), *putative c-Myc response* (RCL), *peroxisome biogenesis factor 6* (PEX6), *male enhanced antigen 1* (MEA1) ve *p53 associated Parkin-like cytoplasmic protein* (PARC) ya da diğer adı ile *CUL9* gibi bazı aday genlerin DNA dizi analizleri sonucunda herhangi bir mutasyon saptanmaması üzerine aday gen olarak *CUL7* üzerinde durulmuştur (13). Fare çalışmalarından elde edilen sonuçlar doğrultusunda (17) iyi bir aday gen olduğu düşünülen *CUL7*'in DNA dizi analizi sonucunda 3M sendromlu 29 aileden 48 hastada 25 farklı *CUL7*

mutasyonu saptanmıştır (13). Böylece 3M sendromu etiolojisinde yer alan ilk gen ortaya çıkarılmıştır.

### 2.4.1. CUL7

Kromozom 6p21.1'de lokalize *CUL7* (MIM 609577) *CUL7* proteinini kodlayan 26 ekzondan oluşur (18). *CUL7* evrimsel olarak korunmuş *cullin* ve DOC (*Destruction Of Cyclin B*) domaininden meydana gelir. DOC domaini farklı ligandların bağlanmasında önemli fonksiyon görür (18). *CUL7*; *CUL1-CUL7*, *CUL9* ve *Anaphase Promoting Complex 2*'den (*APC2*) oluşan *cullin* ailesinin en son tanımlanan üyesidir. Yapısal olarak birbirleri ile ilişkili proteinlerden oluşan *cullin* ailesi proteinleri; hücre siklusu regülasyonu, sinyal iletimi, DNA onarımı ve proteinlerin ubiquitinizasyonundan sorumludurlar (13, 19). Diğer *cullin* proteinlerinden farklı olarak *CUL7*, *CUL7/CUL9/HERC2* bölgesi içinde korunmuş CPH domain içerir (20) (Şekil 2.1). Bu domain *CUL7*'nin bazı non-proteolitik fonksiyonlarından (p53 bağlanma bölgesi olarak fonksiyon görmek gibi) sorumludur (21). *CUL7*, *Ubiquitin-Proteazom* yolağının önemli bileşenlerinden olan E3 *ubiquitin* ligaz kompleksinin oluşumunda önemli rol oynar (18).

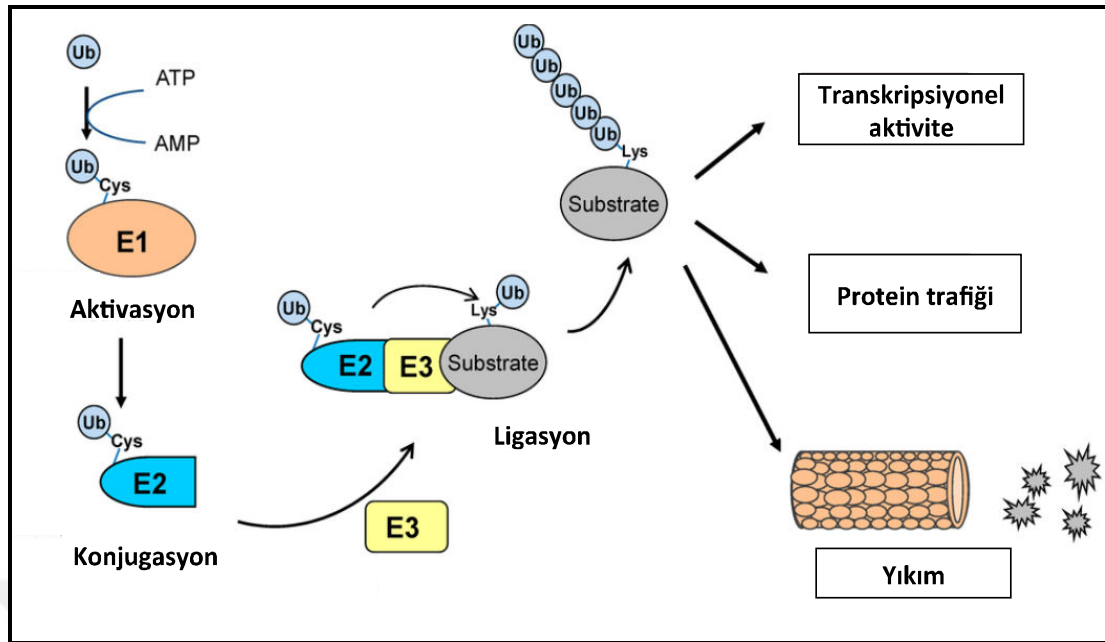


Şekil 2.1. *CUL7* yapısı ve içerdiği domainler.

### 2.4.2. Ubiquitin-Proteazom Yolağı

*Ubiquitin-Proteazom* yolağı bütün ökaryotik hücrelerde bulunan farklı biyolojik olaylarda rol oynayan hayati bir yolaktır (22). Bu yolak; hücre proliferasyonu, apoptozis ve sinyal iletimi gibi önemli biyolojik fonksiyonların devam

ettirilmesinde ve hücre siklus proteinleri (*cyclins*, CDK inhibitörleri ve replikasyon faktörleri), transkripsiyon faktörleri (I $\kappa$ B ve beta *catenin*), tümör supresör proteinleri (Rb ve p53), onkoproteinler (Myc, Jun) ve membran proteinleri (büyüme faktör reseptörleri) gibi farklı regülatörlerin stabilizasyonunun sağlanmasında önemli rol oynar (22-24). Bir proteinin *ubiquitin*-proteazom yolağında yıkımı sırasında 2 önemli basamak vardır; 1) Substrat proteine *ubiquitin* zincirinin kovalent bir şekilde bağlanması, 2) Substratın 26S proteazom tarafından ATP bağımlı bir şekilde proteolizi (25). *Ubiquitin* molekülleri, 76 aminoasid rezidüsünden oluşan ve tüm ökaryotik hücrelerde bulunan moleküllerdir. *Ubiquitin* moleküllerinin substratlara transferi; E1 (*Ubiquitin activating*), E2 (*Ubiquitin conjugating*) ve E3 (*ubiquitin ligase*) enzimlerini gerektirir. *Ubiquitin* proteini, E1 enziminin (*Ubiquitin activating*) *cysteine* (Cys) rezidüsü tarafından aktive edilir, E2 enzimi (*Ubiquitin conjugating*) üzerindeki Cys rezidüsüne taşınır. E2 enzimi ile konjuge olan *ubiquitin* molekülü katalitik bir şekilde E3 (*Ubiquitin ligaz*) enzimi aracılığıyla substrat protein molekülünün *lysine* (Lys) rezidüsüne taşınır. Meydana gelen *ubiquitin* zinciri, E2 ve E3 enzimleri ile bazen de *ubiquitin* zincir elongasyon faktörü olan E4 gibi başka faktörlerin yardımıyla uzatılır. Hedef substrat protein *polyubiquitin* zincirlere kovalent bir bağla bağlandıktan sonra 26S proteazom tarafından yıkıma uğratılır. Yıkım işlemi sonrasında serbest *ubiquitin* ve kısa peptidler ortaya çıkarlar. Bu yolak özellikle transkripsiyonel aktivitenin regülasyonu, hücre kompartmanları arasında protein trafiği ve proteinlerin hedefli bir şekilde yıkımları sırasında fonksiyon görür (19, 24, 26, 27) (Şekil 2.2).

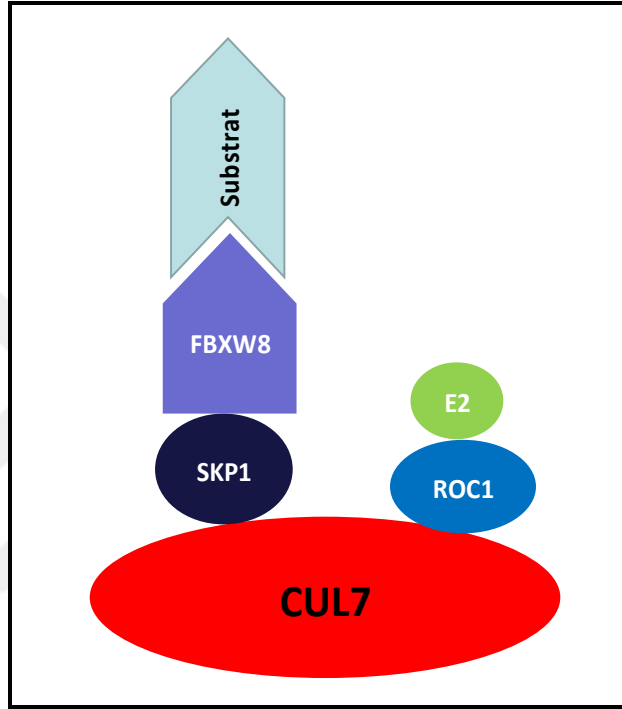


Şekil 2.2. Ubiquitin-proteazom yolağı (27).

### 2.4.3. CUL7 E3 Ubiquitin Ligaz Kompleksi

Ubiquitin-Proteazom yolağının önemli bir basamağını substrat proteinin E3 ubiquitin ligaz kompleksi tarafından tanınması oluşturur (19). CUL7, E3 ubiquitin ligaz kompleksinin oluşturulmasında önemli fonksiyon görür (19). E3 ligazların en büyük grubunu *cullin*-RING kompleksleri oluşturur (19). Bu kompleks yapıda; *cullin* proteini ve RING (*Really Interesting New Gene*) *finger* proteini ROC1 olmak üzere 2 önemli bileşen vardır (28). *Cullin* proteinleri moleküler iskelet olarak görev görürler. Bu proteinler; molekülün fonksiyon gösterebilmesi için bir substrata bağlanması ile birlikte E2 ubiquitin conjugating enzimin ROC1 RING domaine bağlanmasını sağlarlar (19). E3 ubiquitin ligaz kompleksi SKP1 (MIM 601434), FBX29 (MIM 609073) ve ROC1 (MIM 603814) proteinlerinden oluşur (Şekil 2.3). Bu kompleks FBX29 substratının ubiquitinizasyonunu gerçekleştirir (18). FBX29 substrat proteinin tanınmasından, ROC1 ise substratın ubiquitinizasyonu için komplekse ubiquitin ile yüklenmiş E2 ubiquitin conjugating enzimin dahil edilmesinden sorumludur (19). CUL7 hem FBX29'a bağlanmış SKP1 proteininden oluşan heterodimer yapı ile hem de ROC1 RING-finger protein ile etkileşime girer (13), ardından E2 conjugating enzim aktif hale gelir ve bunun sonucunda multimer bir yapı olan E3 ubiquitin ligaz

kompleksi oluşur. *CUL7*'nin, SKP1-FBX29 heterodimeri ile etkileşime giren bölgesinin santral bölgesi olduğu, *CUL7*'de meydana gelen R1445X ve H1464P gibi bazı *nonsense* ve *missense* mutasyonlar sonucunda bu etkileşimin bozulduğu ve *CUL7*'nin ROC1'i bağlamada yetersiz kaldığı yapılan fonksiyonel çalışmalarla gösterilmiştir (13).



Şekil 2.3. *CUL7*E3 *ubiquitin* ligaz kompleksi.

*CUL7* E3 *ubiquitin* ligaz kompleksinin; *mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1*'in (MAP4K1) yıkımına neden olarak hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını etkilediği (29), trofoblastik hücrelerin epitel-mezenkim geçişleri, plasenta gelişimi (30), beyinde golgi morfogenezive dendrit oluşumu sırasında düzenleyici rol oynadığı (31) ve GORASP1 ve MAP4K1/HPK1 gibi bazı proteinlerin (29, 31) ve cyclin D1 (32) ve insülin reseptör substrat 1'in (IRS-1) (33) proteazomal yıkımından sorumlu olduğu bilinmektedir. IRS-1, insülin / *insulin-like growth factor (IGF)*-1 sinyal yolağının önemli ve kritik bir mediatörü olup bu yollarda adaptör protein olarak fonksiyon görür (34). IRS-1, insülin veya IGF-1 reseptörlerine bağlanarak tirozinden zengin C-terminal bölgesinden fosforillenir ve SH-2 domain

içeren diğer proteinler olaya dahil edilirler. Bunun sonucunda AKT ve MAPK/ERK gibi hücre proliferasyonu, hücre siklusunun ilerlemesi ve hücre göçünde önemli rol oynayan yolların aktivasyonu gerçekleşir (34).

IRS-1, *CUL7* E3 ligaz kompleksinin bilinen proteolitik hedef proteinlerinden birisidir (33, 34). *CUL7* E3 ligaz kompleksi IRS-1'in mTOR dayalı ubiquitinizasyonu ve yıkımından sorumludur (33, 34). *CUL7 knock out* farelerden elde edilen fare embriyonik fibroblast örneklerinde IRS-1 akümülesyonunun; AKT ve MAPK/ERK yollarının aktivasyonuna, yetersiz hücre büyümesine ve yaşlanma bulgularının ortaya çıkmasına neden olduğu gösterilmiştir (33). 3M sendromu gibi şiddetli büyüme geriliği ile karakterize bir hastalığın patogenezinde bozulmuş ubiquitinizasyonun rol oynayabileceği 3M sendromu etiyolojisinde *CUL7* mutasyonlarının gösterilmesiyle düşünölmeye başlanmıştır (13).

*CUL7* E3 ligaz kompleksinin bilinen diğer bir proteolitik hedef proteini hücre siklusunda önemli bir düzenleyici olduğu bilinen ve kanser gelişimindeki rolü daha önce gösterilmiş *cyclin D1*'dir (32, 35). *Cyclin D1*'in FBX29 ile etkileşime girdiğinin gösterilmesinin ardından *cyclin D1*'in ubiquitinizasyonundan *CUL7* E3 ligaz kompleksinin sorumlu olduğu düşünölmeye başlanmıştır (32). Yine de *cyclin D1*'in ubiquitinizasyonu ve yıkımında çok sayıda ligaz kompleksi fonksiyon gösterdiği için FBX29/*CUL7* aracılı *cyclin D1* yıkımının hücre siklusu regölasyonundaki önemi henüz tama olarak bilinmemektedir (36).

Bunların yanı sıra *CUL7* E3 ligaz kompleksi, p53 aktivasyonu ve bu molekülün hücre lokalizasyonunda rol alır (20, 37-40). *CUL7*'nin büyüme üzerindeki etkisinin p53 üzerinden olduğu, özellikle p53'ün aktivitesini azaltarak hücre büyümesini hızlandırdığı düşünölmektedir (20, 37, 39, 41). *CUL7*'deki mutasyonlar artmış p53 aktivitesi ve azalmış hücre büyümesi ile sonuçlansa da *CUL7* mutasyonlarının p53 bağımlı apoptozise katkısının olup olmadığı henüz tam olarak bilinmemektedir (37). Bununla beraber *CUL7* ekspresyonunun p53 bağımlı bir şekilde c-Myc ve N-Myc aracılı apoptozisi engellediği bu nedenle *CUL7*'nin anti-apoptotik bir onkogen olduğu yönünde bir düşünce vardır (41). *CUL7*'nin muhtemel tumor supresör fonksiyonu ile ilgili olarak viral transformasyonunda potansiyel tümör supresör rolü SV40 T antijen

modelinin kullanıldığı bir çalışmada ortaya çıkarılmıştır (42). Buna ilave olarak mTOR yolağının hamartoma sendromlarında olduğu gibi hücrelerde hiper aktif olduğu durumlarda malignansi gelişiminin önlenmesinin mTOR/IRS-1 negatif *feedback loop* ile bağlantılı olduğu, bu *loop* sayesinde PI3K aktivitesinin engellendiği ve bu şekilde kansere ilerleyişin durdurulduğu ileri sürülmüştür (43-46). Böylesi bir tümör supresyon aktivitenin en azından bir kısmının IRS-1'in *CUL7* aracılı ubiquitinizasyonu aracılığıyla gerçekleştirildiği tahmin edilmektedir (19).

#### 2.4.4. 3M Sendromunda Saptanan *CUL7* Mutasyonları

*CUL7* mutasyonları 3M sendromlu hastaların yaklaşık olarak %77,5'inden sorumlu olup (4), bugüne kadar 40'tan fazla farklı *CUL7* mutasyonu bildirilmiştir (15, 16). Bu mutasyonların spektrumu incelendiğinde mutasyonların büyük çoğunluğunun *null* mutasyon olduğu (*nonsense*, *splice site* ve az miktarda *missense* mutasyonlar) ve mutasyonların %50'sinin ROC1 proteinine bağlanmakta kritik önemi olan *cullin* domaine yer aldığı, geri kalanların ise gen boyunca bir dağılım gösterdikleri bildirilmiştir (6). *CUL7* mutasyonlarının büyük çoğunluğu protein sentezinin erken sonlanmasına yol açarak (21), az sayıda rapor edilen *missense* mutasyonların da fonksiyonel olmayan bir protein ürününe neden olarak *CUL7* fonksiyon kaybına yol açtıkları tahmin edilmektedir (13, 15, 47). *CUL7* mutasyonları sonucunda *ubiquitin*-proteazom yolağı fonksiyonlarında bozulmalar olduğu düşünülmektedir (8). İnsanda *CUL7* mutasyonları ilk defa 3M sendromlu hastalarda saptanmıştır (13). Huber ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada; 3M sendromlu hastalarda saptanan mutasyonların yarısının ROC1'in bağlanması için kritik bir yapı olan *cullin domain* üzerinde yerleşim gösterdiği, bu mutasyonların protein sentezinin erken sonlanmasıyla sonuçlanan *null* mutasyonlar şeklinde oldukları ve 3M sendromu patogenezinde *CUL7*'nin E3 ligaz kompleks oluşturmasındaki yetersizliğin etkili olabileceği bildirilmiştir (13). Ardından Sibirya'nın kuzeydoğusunda yaşayan izole bir Doğu Asya topluluğu olan Yakut topluluğunda yapılan bir çalışmada 37 Yakut Ailesinden 43 Yakut *Short Stature* sendromlu hastada *CUL7* geninde bütün hastalarda aynı homozigot (c.4582insT [p.1553Ter]) mutasyon saptanmış ve bu bulgunun Yakut topluluğundaki kurucu mutasyon etkisini yansıttığı

düşünülmüştür (47). Klinik bulguların 3M sendromuna benzediği *Yakut Short Stature* sendromlu hastalarda 3M sendromundan farklı olarak yenidoğan döneminde solunum güçlüğü bulgusunun olduğuna dikkat çekilmiş olsa da etiolojide *CUL7* mutasyonlarının ortaya çıkarılmasının ardından *Yakut Short Stature* sendromlu hastaların aslında 3M sendromlu hastalar oldukları ileri sürülmüştür (21).

Huber ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada 3M sendromlu 33 hastanın 23'ünde çoğunluğunu *nonsense* mutasyonların oluşturduğu *CUL7* mutasyonları saptanmış ve mutasyon saptanan ve saptanmayan hastalar arasındaki fenotipik benzerlikler dikkat çekmiştir (15). Aynı grubun daha önce yaptıkları çalışma (13) ile beraber değerlendirildiğinde 3M sendromlu 62 hastanın 52'sinde *CUL7* mutasyonunun saptandığı, bu nedenle 3M sendromu etiolojisinden büyük oranda (%84) *CUL7* mutasyonlarının sorumlu olduğu ve 3M sendromu etiolojisindeki genetik heterojenitenin dikkat çekici olduğu bildirilmiştir (15).

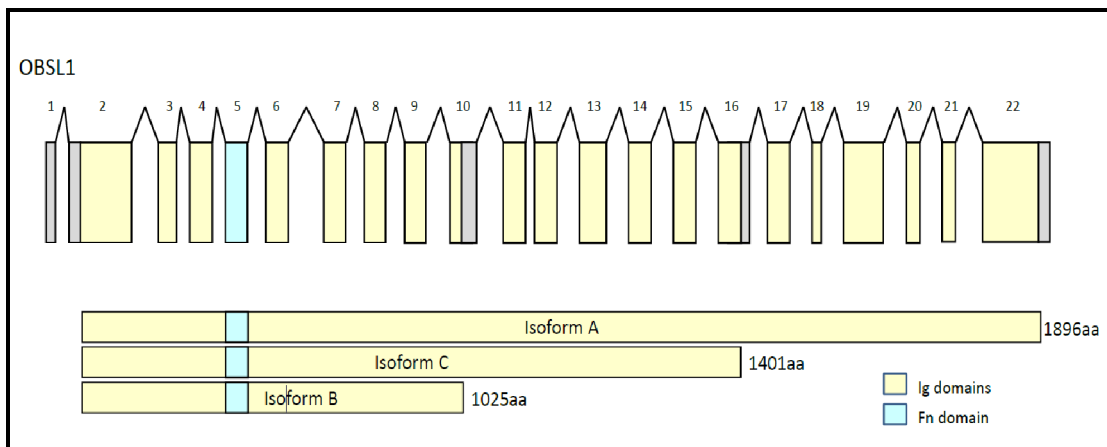
#### 2.4.5. *OBSL1*

3M sendromundan sorumlu esas genin *CUL7* olduğunun ortaya çıkarılmasının ardından *CUL7* mutasyonu saptanmayan hastaların fenotipik olarak *CUL7* mutasyonu olan 3M sendromlu hastalara çok benzedikleri dikkat çekmiş ve bu hastalarda *CUL7* dışındaki gen mutasyonlarının etkili olabileceği düşünülmüştür (15). Bunun üzerine *CUL7* mutasyonu saptanmamış 3M sendromlu hastalar arasında aralarında akrabalık bulunan bazı hastalarda homozigosite haritalandırma yöntemi ile kromozom 2q35-36.1 üzerinde yaklaşık 63 gen içeren 5,7 Mb'lık bir bölge tespit edilmiş, ardından yapılan haplotip analizi sonucunda bu bölge 1,29 Mb'lık bir aralığa daraltılabilmiş ve bu bölgede yer alan genlerin DNA dizi analizleri sonucunda *Obscurin-like 1 (OBSL1)* geninde mutasyon saptanmıştır (14). Hanson ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada 10 aileden 18 hastada 7 farklı *null* mutasyonu saptanmış, saptanan mutasyonların hepsinin ilk 6 ekzon içinde yer aldıkları ve bu nedenle bilinen bütün *OBSL1* isoformlarının etkilendikleri bildirilmiştir (14). Böylece *OBSL1* 3M sendromundan sorumlu ikinci gen olarak tanımlanmıştır.

*OBSL1* (MIM 610991) 23 ekzondan oluşur ve 3 farklı isoformu bulunur (*OBSL1A*, *OBSL1B* ve *OBSL1C*) (48) (Şekil 2.4). *OBSL1*; hücre sinyalizasyonunda görev



gören ve sarkomerde lokalize olan bir kas proteini (obscurin) homologudur. Obscurin, miyozin filamentleri miyositlerin M-bandına bağlayan titin ve myomesin ile etkileşime girer. Titin ve myomesin de OBSL1 ile etkileşime girerler (14, 49). *OBSL1* ekspresyonu insan kalbinde ve iskelet kasında gösterilmiştir (48). *OBSL1*, hücrelerin iç sitoskeletal yapısını hücre membranına bağlar. Bu proteinde N- ve C-terminallerde immünoglobulin benzeri domainler ve merkezi bir *fibronectin* tip 3 domain bulunur. *OBSL1*, *CUL7* gibi 3M kompleksinin çekirdek bir bileşenidir (50). *OBSL1* mutasyonlarının 3M sendromlu hastaların yaklaşık olarak %16 (3, 4) ile %28'inden (8, 21) sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu gendeki mutasyonların çoğunluğu genin ilk 8 ekzonu içinde yer alan ve bilinen bütün isoformların etkilenmesine yol açan fonksiyon kaybı mutasyonlarıdır (6). Bugüne kadar rapor edilen *OBSL1* mutasyonlarının hiçbirisinin *nonsense-associated altered splicing* mekanizmasını indüklediği onun yerine *nonsense mediated decay* mekanizması ile prematür terminasyon kodon içeren mRNA'ların hızlıca yıkıldıkları bildirilmiştir. Bu nedenle 3M sendromunun *OBSL1*'in *null* fenotipini temsil ettiği ileri sürülmüştür (14). 3M sendromunun bir kas hastalığı olarak kabul edilmemesi *OBSL1*'in de esas olarak bir kas proteini olmadığını düşündürmektedir (51).



Şekil 2.4. *OBSL1* yapısı ve mevcut isoformları.

#### 2.4.6. *CCDC8*

*CUL7* ve *OBSL1* genlerinde herhangi bir mutasyon saptanmayan ve 3M sendromu klinik tanısı olan hastaların varlığı bu sendromun etiopatogenezinde diğer genlerin de yer alıyor olabileceğini düşündürmüştür (14, 52). Bu düşüncenin ardından Asya kökenli 3Msendromlu 3 hastada homozigosite haritalandırma ve ardından ekzom dizi analizi yöntemleri ile kromozom 19q13.2-q13.32'de lokalize *Coiled-coil domain-containing protein 8 (CCDC8, MIM 614145)* geninde 1 bp'lik 2 farklı homozigot duplikasyon saptanmıştır (16). Her iki mutasyonun da proteinde trunkasyon ile sonuçlandığı ve fonksiyon kaybına neden oldukları tespit edilmiştir. Böylece 3M sendromu etiolojisindeki üçüncü gen olarak *CCDC8* geni ortaya çıkarılmıştır (16).

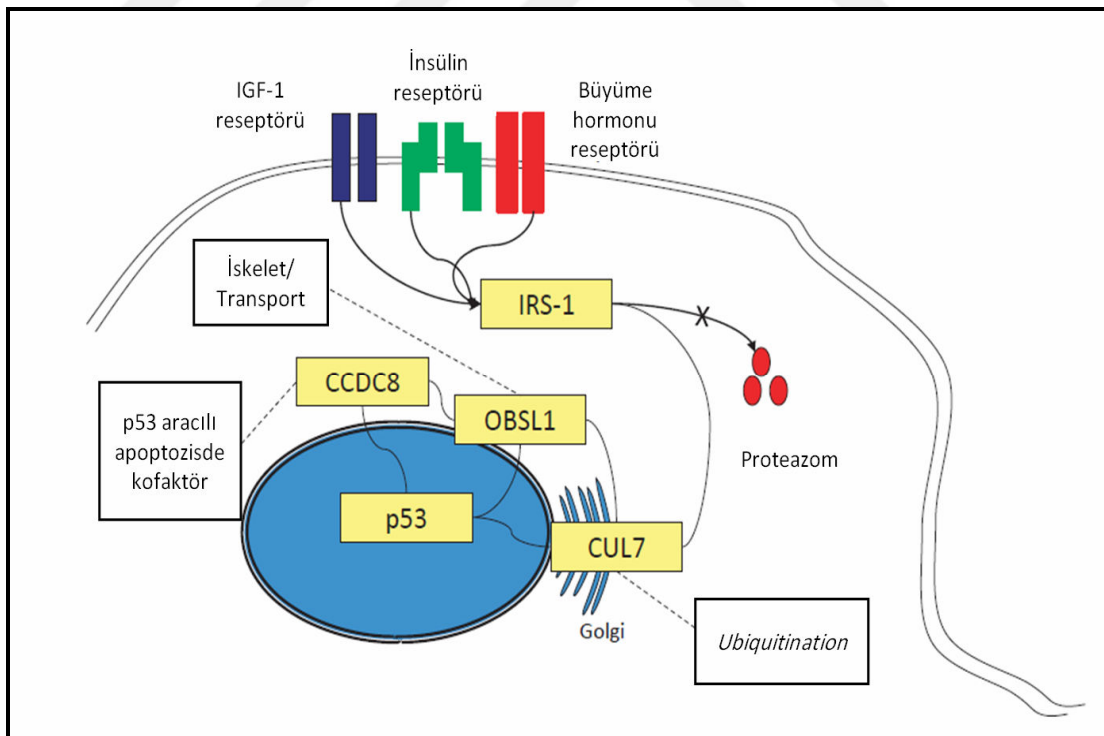
3M sendromlu hastaların <5%'inden *CCDC8* mutasyonlarının sorumlu olduğu bildirilmektedir (16). *CCDC8* tek bir ekzondan oluşur ve fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir (16). Bununla birlikte *CCDC8*'in *OBSL1*'e bağlandığı (16) p53 ile ilişkiye girdiği ve p53 aracılı apoptoziste anahtar bir kofaktör olarak rol aldığı düşünülmektedir (8, 53). *CUL7* ve *OBSL1* gibi *CCDC8* de 3M kompleksinin çekirdek bir bileşenidir (50). *CUL7*, *OBSL1* veya *CCDC8*'den birinde mutasyon saptanmayan 3M sendromlu hastaların varlığı 3M sendromu etiolojisinde henüz bilinmeyen diğer gen/genlerin yer aldığını düşündürmektedir (4).

#### 2.4.7. 3M Sendromu Yolağı

3M sendromu patogenezinde *ubiquitin* ligaz, adaptör bir protein ve p53 aracılı apoptoziste kofaktör olarak rol oynadığı düşünülen ve fonksiyonu henüz tam olarak bilinmeyen bir protein olmak üzere birbirinden farklı üç sitoplazmik proteinin bir arada bulunması bu üç proteinin aynı yolak üzerinde yer alıyor olabileceğini düşündürmüştür (8, 14, 16). 3M sendromu etiolojisinde *CUL7*'den sonra *OBSL1* mutasyonlarının ortaya çıkarılmasının ardından *OBSL1*'in *CUL7* ile ya aynı yolakta ya da *CUL7* E3 *Ubiquitin* ligaz kompleksinin trafiği içinde yer aldığı ileri sürülmüştür (14).

HEK hücrelerindeki *OBSL1* ekspresyonunun siRNA aracılığıyla *knockdown* edildiği çalışmalarda eş zamanlı *CUL7* ekspresyonunda da azalma olması (14),

bununla beraber *CUL7* veya *OBSL1* ekspresyon kaybının *CCDC8* ekspresyonunda bir değişikliğe yol açmaması (8) nedenleriyle *CCDC8*'in bu muhtemel ortak yolda *CUL7* ve *OBSL1*'e göre daha *downstream* yerleşimli olduğu düşünülmektedir (8). Buna ek olarak; *CUL7* ve *OBSL1*'in fiziksel olarak etkileşime girdikleri, *OBSL1* kaybının *CUL7* seviyelerinde düşüşe yol açtığı, *CUL7* protein düzeylerinin regülasyonu için *OBSL1*'e ihtiyaç duyulduğu yapılan ko-immünopresipitasyon çalışmaları sonucunda gösterilmiştir (16). *OBSL1/CUL7* ile *OBSL1/CCDC8* arasında olup *CUL7/CCDC8* arasında olmadığı düşünülen fiziksel ilişki nedeniyle *OBSL1*'in bu yolda birleştirici bir rol üstlendiği tahmin edilmektedir (21). Adaptör bir protein oluşu nedeniyle *OBSL1*'in *CUL7* E3 *Ubiquitin* ligaz kompleksi oluşumunda yardımcı bir rol üstlendiği düşünülmüştür (51). Özellikle *CUL7* ve *CUL1* olmak üzere Cullin-F-box komplekslerinin pek çoğunun ekspresyonu bazı tümör tiplerinde artış göstermektedir (41, 54). Bu nedenle bu yolağın anlaşılmasının önemi sadece büyüme ile ilgili bir yolağın ortaya çıkarılmasıyla sınırlı kalmamaktadır (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. 3M sendromu yolağı ve bu yolağın GH-IGF-1 aksı ile olan ilişkisi (8).

*OBSL1* hem *CUL7* hem de *CCDC8* ile etkileşim içindedir. IRS-1 *CUL7* E3 ubiquitin ligaz kompleksinin bilinen bir hedef proteinidir. *CUL7*'de fonksiyon kaybı IRS-1 birikimine neden olmaktadır. Her üç protein de (*CUL7*, *OBSL1*, *CCDC8*) p53 ile etkileşim halindedir. p53 aracılı apoptozisde hem *CUL7* hem *CCDC8* kofaktör olarak fonksiyon görür (8).

#### **2.4.8. 3M Kompleksi**

Hücrelerin normal bir şekilde büyüyebilmeleri için genomik stabilitenin sağlanması kritik bir basamaktır. Genomik stabilitenin sağlanabilmesi için ise kardeş kromatidlerin hücre siklusunun oldukça kısa fakat dinamik bir fazı olan mitoz bölünmesirasında yavru hücrelere doğru bir şekilde aktarılması gerekir (55). Anafaz sırasında mitotik ağ yapısı telofaz sırasında sitokinez kontrolü için de önemli bir multiprotein kompleks olan santral ağ yapısını oluşturmak üzere yeniden düzenleme geçirir (50). Bu basamaklar sırasında mikrotübül dinamiklerinin ve mikrotübül bütünlüğünün korunuyor olması gerekmektedir (56). Kromozomların normal segregasyonunun düzenlenmesinde mitotik ağ yapısının ne kadar kritik bir rol oynadığı şiddetli prenatal ve postnatal büyüme geriliği ve mikrosefali ile karakterize sendromlarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (57).

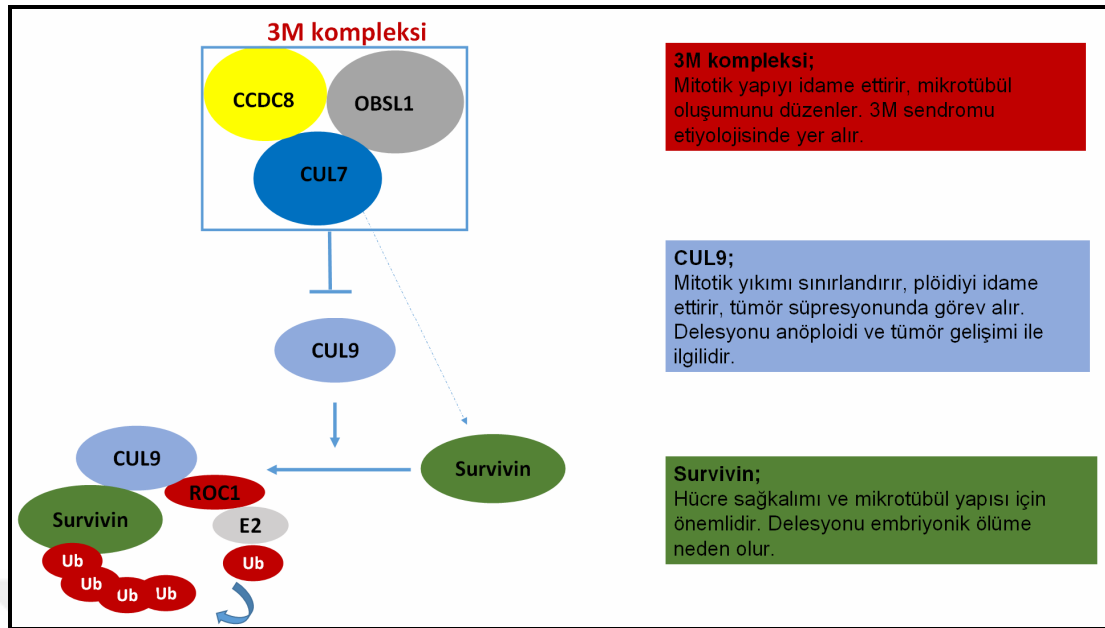
*CUL7*'nin fonksiyonları arasında hedef proteinlerin ubiquitinizasyonunun yanı sıra özellikle son zamanlarda daha iyi anlaşılmaya başlanan mikrotübül dinamiklerinin düzenlenmesi ve genomik bütünlüğün sağlanması da yer alır (19, 50). 3M kompleksinin mikrotübülleri nasıl düzenlediği henüz tam olarak bilinmemekle birlikte mikrotübül stabilizör düzeyinin kontrol edilmesi üzerinden olduğu tahmin edilmektedir (56). 3M kompleksi yapısı içinde *CUL7*'nin yanı sıra *OBSL1* ve *CCDC8* proteinleri de yer alır (50) (Şekil 2.6). Bu 3 proteini kodlayan 3 genden herhangi birinde bir defekt olması şiddetli mikrotübül hasarı, anormal prometafaz, anormal sitokinezis ve hücre ölümü ile sonuçlanır (56).

#### **2.4.9. 3M-CUL9-Survivin Yolağı**

*Cullin 9* (*CUL9*, MIM 607489), alternatif adlandırmasıyla *p53-Associated Parkin-like Cytoplasmic Protein* (PARC), sitoplazmada lokalize olan bir E3 ligazı

kodlar (58). CUL9 *cullin* ailesinin en büyük proteinlerindedir. CUL9'un tümör supresyonundaki hücresel ve moleküler mekanizmaları tam olarak bilinmese de CUL9 *null* farelerin multipl organlarda spontan tümörler (lenfoma, sarkom, pitüiter bez, akciğer, karaciğer, yumurtalık tümörleri) geliştirdikleri bilinmektedir (56). CUL9 delesyonunun anormal nükleer morfoloji, artmış DNA hasarı ve anöploidiye neden olduğu gösterilmiştir (56). Bunun yanı sıra CUL9'un *knockdown* edilmesi, 3M sendromu etiyolojisinde yer alan ve mikrotübül dinamiklerinde fonksiyon gösteren *CUL7* veya *OBSL1* proteinlerinden yoksun hücrelerin mikrotübül ve mitoz defektlerinden kurtarılmasına da neden olmaktadır (56). Birbirleri ile etkileşim halinde olan CUL9 ve *CUL7*'nin beraber heterodimer bir yapı oluşturduğu ve CUL9'un mikrotübül ve genom yapısının bütünlüğünün korunmasında 3M kompleksinin etkili bir *downstream* efektörü olduğu düşünülmektedir (56).

Apoptosis İnhibitör Ailesinin bir üyesi olan ve hücre proliferasyonunda önemli fonksiyon gören *survivin* adlı protein CUL9'un substratları arasında yer alır (56). *Survivin* düzeyleri hem transkripsiyonel (p53 tarafından baskılanarak) (59, 60) hem de post-translasyonel (*ubiquitin*-proteazom yolağı aracılığıyla) şekilde düzenlenebilir (61). *CUL7*, CUL9 ile etkileşime girerek CUL9 aktivitesini inhibe eder ve *survivin*'in ubiquitinizasyonu ve yıkımını sağlar (56). İnsanda pek çok farklı tümör tipinde oldukça yüksek düzeylerde eksprese edilen ve hücre sağ kalımına *caspase* ve *procaspase* enzimlerini inhibe ederek katkıda bulunan *survivin* aynı zamanda mikrotübül dinamiklerinin düzenlenmesinde de önemli fonksiyon görür (56). *CUL7* delesyonu *survivin* düzeylerini düşürürken, *survivin*'in fazla ekspresyonu *CUL7* delesyonundan kaynaklanan defektlerin oluşmasını önler. Bu bilgiler ışığında mikrotübül ve genomik bütünlüğün idame ettirildiği, normal gelişim ve tümör supresyonunun sağlandığı muhtemel bir 3M-CUL9-*survivin* yolağının olduğu ileri sürülmektedir (56) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. 3M kompleksi ve 3M-CUL9-Survivin yolu (56).

## 2.5. Klinik Bulgular

3M sendromunun en tipik klinik özellikleri prenatal ve postnatal ağır büyüme geriliği, tipik yüz bulguları ve iskelet anomalileridir (1, 3, 4).

### 2.5.1. Büyüme Geriliği

3M sendromunun en çarpıcı özelliği ağır büyüme geriliğidir. Prenatal dönemde gebeliğin ikinci yarısından sonra tespit edilen intrauterin büyüme kısıtlılığı bulgusu fetus ile ilgilidir, buna maternal veya plasental bir patoloji eşlik etmez (8). Tipik olarak gebelik haftasına göre küçük (*small for gestational age, SGA*) olarak doğan 3M sendromlu hastaların doğumdaki antropometrik ölçüm ortalamaları; boy 41 cm (40-46 cm), vücut ağırlığı 2200 gr (2000-3050 gr) ve baş çevresi 36 cm (32-37 cm) olarak bildirilmiştir (4). Doğum ağırlığı ve/veya boyu ortalamanın 2 veya daha fazla standart deviasyon (SD) altında olan 3M sendromunda, SGA'lı çocukların %90'ında izlenen "büyüme yakalaması" izlenmez (5). Boy uzunlukları ortalamanın 5-6 SD altında kalarak erişkin dönemde 115-150 cm'ye (-4 ile -8 SD arasında) ulaşırlar (14). Hastaların takiplerinde ağır büyüme geriliği ile uyumlu büyüme eğrileri elde edilir. Diğer *primordial* boy kısalığı sendromlarının aksine 3M sendromunda zeka

normaldir, gelişim basamakları zamanında kazanılır, mikrosefali ve gelişme geriliği beklenmez (1, 3, 5, 13, 62).

### 2.5.2. Yüz Bulguları

3M sendromunun klinik bulguları arasında tipik yüz bulguları yer alır. Yaşamın ilk yıllarında rölatif makrosefali, belirgin alın, yuvarlak yüz, kısa burun, kalkık burun ucu, uzun filtrum, orta yüz hipoplazisi, dudaklarda dolgunluk saptanırken (10), zaman içerisinde sivri çene ve uzun filtrum ile beraber yüz daha üçgen bir şekil alır (4). Belirgin burun ucu, sivri çene ve uzun filtrum dikkat çekicidir (Şekil 2.7). Hipoplastik maksilla, yüksek damak, dilde median fissür, dişlerin geç çıkması, enamel hipokalsifikasyonu ve maloklüzyon orodental bulgular arasında yer alır (62). Yüz bulguları etkilenmiş hastalar arasında değişkenlik gösterebilir (5, 62).



Şekil 2.7. 3M sendromlu bir hastanın tipik yüz bulguları. Üçgen şeklinde yüz, belirgin alın, belirgin burun ucu, dolgun dudaklar, uzun filtrum, malar hipoplazi ve dolikosefali bulgularına dikkat ediniz.

### 2.5.3. İskelet Sistemi Bulguları

Kas ve iskelet sistemi bulguları arasında; kısa ve geniş boyun, kare omuz, lomber hiperlordozis (62), eklem hipermobilitesi (tek bir eklemden veya daha çok eklemden olabilir) (1, 10, 12, 63, 64), yüksek skapula (1), 5. parmakta klinodaktili (9, 62, 63), *pes planus* ve belirgin topuklar (9, 10, 63) yer alır. Genç hastalarda özellikle belirgin topuk bulgusu hemen hemen her zaman mevcuttur (4, 21) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. 3M sendromunda belirgin topuk ve *pes planus* bulguları.

### 2.5.4. Gelişimsel Kalça Displazisi

Gelişimsel kalça displazisi bulgusunun 3M sendromunun bir parçası olup olmadığı tam olarak bilinmese de bu bulgunun 3M sendromlu hastalarda normal popülasyona göre daha sık görülüyor olması bu bulgunun 3M sendromunun bir parçası olabileceğini düşündürmektedir (65). 3M sendromlu hastaların yarısından çoğunda bulunan bir bulgu olan ligament laksitesi gelişimsel kalça displazisine yatkınlık oluşturan bir durumdur (10-12, 63). Kalça dışında diğer eklem dislokasyonları da 3M sendromu ile ilişkili olarak bildirilmiştir (11, 63). Düşük doğum ağırlığı ve doğum boyu nedeniyle yenidoğan döneminde kalça muayenesi güçlükle



yapılabilmektedir. Buna ek olarak eklem laksitesi nedeniyle kalça abdüksiyonunda kısıtlılık mevcut olmayabilir. Bu durum teşhiste gecikmeye ve komplikasyonlara yol açabilir. Bu nedenle 3M sendromlu hastalarda uygun ve erken tedaviye izin verecek şekilde kalça değerlendirmesi mutlaka yapılmalıdır.

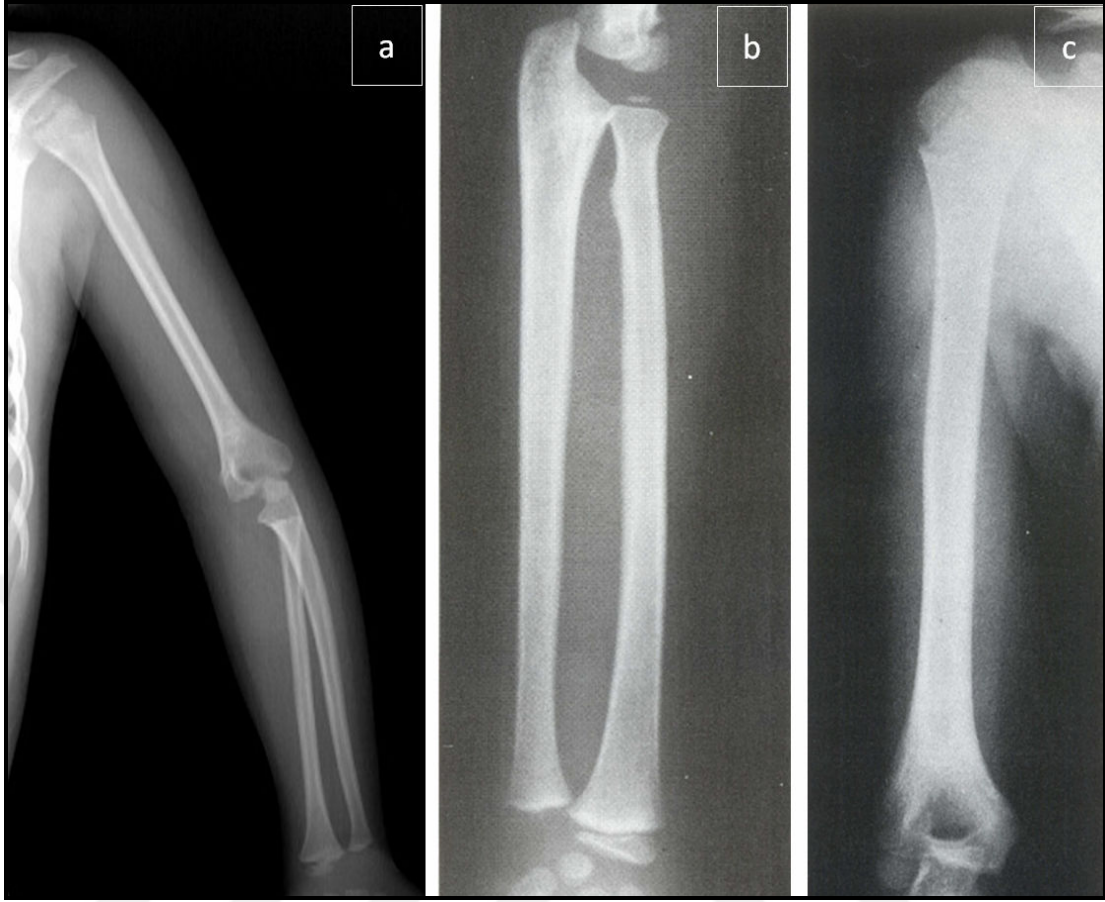
### 2.5.5. Radyolojik Bulgular

3M sendromu özellikle uzun tübüler kemiklerdeki ince ve dar (*slender*) görünüm (Şekil 2.9) ve yüksek vertebra bulguları (Şekil 2.10) gibi bazı iskelet bulguları ile dikkat çekicidir. 3M sendromundaki yüksek vertebra bulgusu ilk defa 1972 yılında Fuhrman tarafından dikkate getirilmiş (12), ardından Hennekam ve Flannery de bu bulgunun üzerinde durmuşlardır (11, 66). Vertebraların yüksek görünümü nedeniyle bu sendromun “3M sendromu” yerine “Dolikospondilik displazi” olarak adlandırılması önerilmişse de (66) yüksek vertebra bulgusunun müsküler hipotoniye ikincil gelişen özgül olmayan bir bulgu olması, bu şekilde bir adlandırmanın tanısal karışıklığa yol açabileceğinin düşünülmesi ve *primordial* şiddetli boy kısalığı sendromlarında displaziden çok hipoplazi bulgularının olması nedenleriyle bu öneri kabul görmemiştir (67).

3M sendromunda radyografik bulgular yaşamın ilk iki yılı içinde saptanmayabilir (3). Bununla beraber geniş toraks ve ince kosta bulguları doğumda ve yenidoğan döneminde fark edilebilir (4). Zaman içerisinde uzun kemikler diafizyeal konstriksiyon ve metafizyeal genişleme ile beraber dar ve ince (*slender*) bir görünüm kazanırlar (4). Bu bulgu günümüzde kullanımı terkedilmiş olan “metakarpal indeks” ile dökümanete edilebilmektedir (68). Metakarpal indeks radyografik olarak kemiklerin dar ve ince (*slender*) görünümünün değerlendirilmesi sırasında kullanılan bir ölçümdür (68). Bu ölçüm sırasında 2. 3. 4. ve 5. metakarpal kemiklerin uzunluk ortalaması, bu metakarpal kemiklerin orta noktalarından elde edilen genişlik ortalamasına bölünerek bir oran elde edilir. Elde edilen bu oran farklı yaş grupları için bildirilmiş normal oranlar ile karşılaştırılır. Bu yöntem ilk defa Marfan sendromunda araknodaktili bulgusunun değerlendirilmesi sırasında kullanılmıştır (68). Bununla beraber bu indeksin kullanımı zaman içerisinde sorgulanmaya başlanmış (69, 70) ve günümüz pratiğinde kullanımı terkedilmiştir.

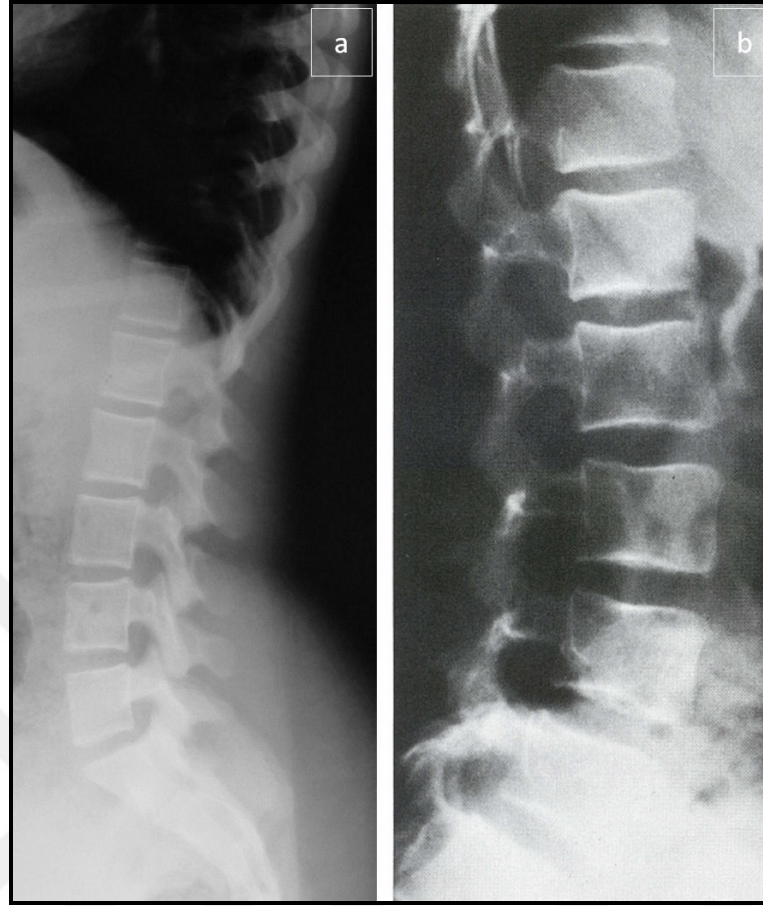
3M sendromunda bir diğerk radyolojik bulgu vertebra ön-arka çapının azalmasıyla ortaya çıkan “yüksek vertebra” görünümüdür (5, 11, 12) (Şekil 2.10). Vertebra ön-arka çapının değerlendirilmesine yönelik “vertebral indeks” kullanılabilir (5). Bu indeks vertebranın en yüksek vertikal çapının en küçük anteroposterior mesafesine bölünmesiyle elde edilir. T12’den L3’e kadar olan vertebra ların farklı yaşlar için normal değerleri mevcuttur. Yüksek vertebra bulgusu özellikle lomber bölgede belirgindir ve artan yaş ile beraber daha belirgin hale gelir. Farklı yaşlarda vertebral indeksin hesaplanması sonucunda L1 vertebral indeksin 3M sendromunun döküman te edilmesinde faydalı bir yöntem olduğu ortaya çıkarılmış olsa da yüksek vertebra bulgusu 3M sendromuna özgül bir bulgu olmayıp hipotoni veya skolyoza ikincil de gelişebileceği (3) için hastaların tanısıal değerlendirmeleri sırasında her zaman belirleyici olmamaktadır. Torasik vertebra ların ön kısımlarında kamalaşma, üst ve alt *end-plate*lerde düzensizlik, torasik kifoskolyoz ve spina bifida okkulta 3M sendromunun diğerk bulguları arasında yer alır (4).

3M sendromunda pelvis genellikle küçüktür. İliyak kanatlarda genişleme, küçük obturatör foramina, femur boynunda darlık ve koksava şimdiye kadar rapor edilen bulgular arasında yer alırlar (4). Toraks geniş ve kısa olup, sternumda deformite saptanabilir (5). Kemik yaşı genellikle geridir (4) (Şekil 2.11).

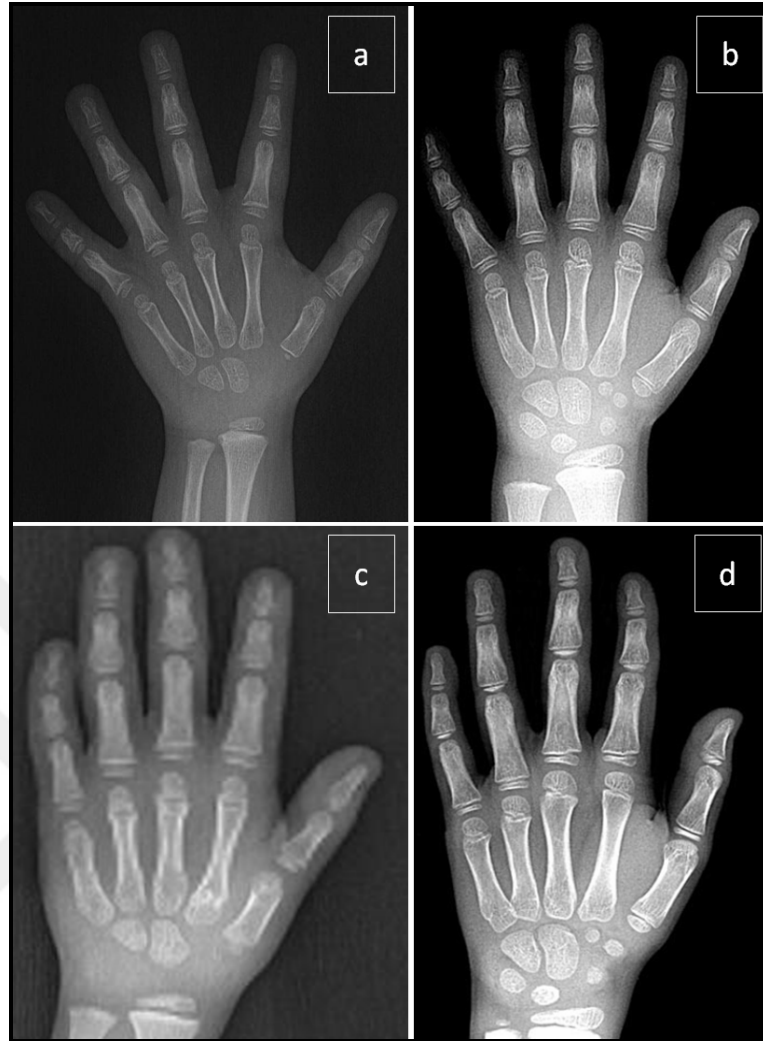


Şekil 2.9. 3M sendromunda radyolojik olarak ince ve dar (*slender*) kemik bulgusu.

a) 3M sendromlu 6 yaşındaki bir erkeğe ait ekstremite grafisi, b) 6 yaşında sağlıklı bir erkeğe ait ön kol grafisi, c) 6 yaşında sağlıklı bir erkeğe ait kol grafisi.



Şekil 2.10. 3M sendromunda yüksek vertebra bulgusu. a) 3M sendromlu 13 yaşındaki bir kız hastaya ait yan vertebra grafisi, b) 13 yaşında sağlıklı bir kız çocuğunun yan vertebra grafisi gösterilmiştir. 3M sendromunda vertebra ön-arka çapının azalarak vertebra yüksekliğinin artmış olduğuna dikkat ediniz.



Şekil 2.11. 3M sendromunda kemik yaşında gerilik bulgusu. a) 3M sendromlu 5 yaşındaki bir kız hastanın el grafisi, b) 5 yaşındaki sağlıklı bir kız çocuğunun el grafisi, c) 3M sendromlu 6 yaşındaki bir erkek hastanın el grafisi, d) 6 yaşındaki sağlıklı bir erkek çocuğun el grafisi.

### 2.5.6. Diğer Bulgular

3M sendromu ile ilişkili diğer bulgular arasında; dolikosefali, düzleşmiş koronal sütür, intraorbital mesafenin daralmış olması, dirsek ekleminde displazi, kısa ulna ve ikinci metakarpal kemikte psödoepifiz yer alır (4). 3M sendromlu hastalarda endokrin fonksiyonlar normal olarak bildirilmişse de (1, 5, 9-11) erkeklerde yüksek FSH düzeyleri, düşük testiküler hacim ve anormal semen analizi ile karakterize gonadal disfonksiyon, infertilite veya subfertilite (5) ve az sayıda bir hastada

hipospadias bulgusu bildirilmiştir (3). Bunun yanı sıra uyarılmış büyüme hormonu düzeylerinin normal/yüksek ve bazal IGF-1düzeylerinin düşük olması büyüme hormonu ve IGF-1 sinyal iletiminde bazı bozuklukların olabileceğini düşündürmektedir (8).

## 2.6. 3M Sendromu Spektrumu

*Gloomy face* ve *Yakut Short Stature* sendromları 3M sendromundan bağımsız bir şekilde büyüme kısıtlılığı ile karakterize sendromlar olarak bildirilmişlerdir (47, 71). *Gloomy faces* sendromu ilk kez 1991 yılında Le Merrer ve arkadaşları tarafından tanımlanmış, otozomal resesif kalıtım gösteren, normal zeka ve tipik yüz bulguları (yuvarlak üzgün yüz görünümü, dolgun dudaklar, kısa burun, antevort burun delikleri) ile karakterize bir sendromdur (71). *Gloomy face* sendromunda 3M sendromundan farklı olarak; yüzün üçgen şeklinde değil yuvarlak olduğu ve radyolojik bulguların olmadığı ileri sürülmüş ve bu sendromun 3M sendromundan farklı olduğu düşünülmüş olsa da (71) etiyolojide *CUL7* mutasyonlarının gösterilmesi ve klinik bulguların benzer olması nedeniyle bu iki durumun aynı antite olduğu kabul edilmiştir (13).

Yakut topluluğu 13. veya 14. yüzyılda Sibirya'nın güneyinden kuzeyine göç etmiş, bugün Sibirya'nın kuzeydoğusunda yaşayan izole bir Doğu Asya topluluğudur (47). Maksimova ve arkadaşları bir grup Yakut ailesinde 3M sendromuna benzer klinik bulgular saptamışlar ve bulguları; prenatal ve postnatal büyüme geriliği, üçgen yüz, orta yüz hipoplazisi, belirgin alın, burun kökünde çöküklük, kısa geniş toraks, brakidaktili, mikromeli, normal zeka ve normal radyografik bulgular olarak tanımlamışlardır (47). 3M sendromundan farklı olarak hastaların %41,9'unda doğumda ciddi asfiksi ve solunum sıkıntısının olduğunu, bu hastaların %11,6'sının doğumdan kısa bir süre sonra bilinmeyen nedenlerden dolayı kaybedildiğini, etkilenmiş bir fetusa yapılan otopsi incelemesinde akciğer bronş laminasında yer alan kıkırdak yapının yeterince gelişmediğini, bir başka vakanın plasenta incelemesinde ise koryonik villus sayısında belirgin artış ve anormal vaskülarizasyon bulgularının olduğunu bildirmişlerdir (47). Bu hastalarda 3M sendromuna benzer klinik bulguların olduğunu ancak sıklıkla radyolojik bulguların eşlik etmediğini,

sadece az sayıda bir hastada 3M sendromuna benzer şekilde *slender* kemik görünümü ve yüksek vertebra bulgularının olduğunu belirtmişlerdir. Yakut topluluğundan olan 37 aileden 43 hastanın hepsinde aynı homozigot *CUL7* mutasyonun (c.4582insT [p.1553Ter]) saptanması üzerine bu sendrom ile 3M sendromunun aynı klinik antite oldukları kabul edilmiştir (47).

## 2.7. Genotip-Fenotip İlişkisi

3M sendromu ile ilgili bugüne kadar herhangi bir genotip-fenotip ilişkisi bildirilmemiştir (3).

## 2.8. Tanı

3M sendromu tanısı klinik ve radyografik bulgular doğrultusunda konulur (1, 3-5). 3M sendromu klinik tanısı ile ilgili klinik ve radyolojik kriterler ilk kez Van der Wal ve arkadaşları tarafından 3M sendromlu 4 aileden 6 hastadaki klinik ve radyolojik bulguların literatürde daha önceden bildirilen 28 hastanın bulgularıyla karşılaştırılması sonucunda belirlenmiştir (5). Van der Wal ve arkadaşları özellikle uzun tübüler kemiklerde ince ve dar (*slender*) görünüm ve vertebralarda ön-arka çapın azalması ve vertebrada yükseklik kazanımı gibi bulguların tanıda yardımcı olduğunu bildirmişlerdir (5). 3M sendromunun klinik bulguları ayrı ayrı değerlendirildiklerinde özgül olmasalar da büyüme geriliği, yüz bulguları ve radyografik değişikliklerin birlikte değerlendirilmesi sonucunda 3M sendromu tanısına ulaşmak güç olmamaktadır (72). Moleküler çalışmalar prenatal başlangıçlı boy kısalığı ile başvuran hastaların ayırıcı tanısında, prenatal tanıda ve genetik danışma sırasında oldukça faydalı olmaktadır. Klinik tanının kesin olmadığı durumlarda da moleküler genetik testlerin yapılabileceği, hastalarda öncelikli olarak *CUL7* DNA dizi analizi, herhangi bir mutasyon saptanmaması durumunda *OBSL1* DNA dizi analizi, yine herhangi bir mutasyon saptanmaması durumunda *CCDC8* DNA dizi analizi yapılması önerilmektedir (3, 4, 6). 3M sendromlu bazı hastalarda bilinen bu 3 gende mutasyon saptanmayabileceği, bu hastalarda yeni gen mutasyonlarının etkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (4). 3M sendromlu hastaların tanıs

değerlendirmeleri sırasında kullanılacak klinik bulgular Tablo 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. 3M sendromu tanısında kullanılan klinik ve radyolojik bulgular.

KLİNİK BULGULAR	RADYOLOJİK BULGULAR
<b>Prenatal ve postnatal ağır büyüme geriliği</b>	Uzun tübüler kemiklerde ince ve dar ( <i>slender</i> ) görünüm, diafizyeal konstriksiyon, metafizyeal genişleme, vertebra ön-arka çapında azalma, yüksek vertebra, kemik yaşında gerilik, ince kosta, dar pelvis.
<b>Tipik yüz bulguları</b> Üçgen yüz, rölatif makrosefali, orta yüz hipoplazisi, burun ucunun belirgin ve dudakların dolgun olması, uzun filtrum, sivri çene, belirgin kaş.	
<b>Normal zeka</b>	
<b>Kas-iskelet sistemi bulguları</b> Kare omuz, kısa ve geniş toraks, pektus deformitesi, artmış lordozis, kısa 5. parmak, klinodaktili, belirgin topuk, <i>pes planus</i> , eklem laksitesi.	

## 2.9. Ayırıcı Tanı

3M sendromu orantılı boy kısalığının olduğu bir büyüme bozukluğudur. Diğer *primordial* boy kısalığı ile karakterize sendromların aksine 3M sendromu fenotipi hemen hemen sadece büyüme ile ilgili bir fenotip sergiler (1, 4). Hastalarda intrauterine büyüme kısıtlılığı bulgusu sıklıkla saptanır. Bununla beraber bu bulgunun bütün canlı doğan çocukların %0,17’sinde özgül olmayan bir şekilde saptanabileceği akılda tutulmalıdır (3). Ayırıcı tanıda yer alan hastalıklar başlıca 2 grupta incelenebilir; 1) Silver-Russel sendromu, 2) Diğer sendromlar.

### 2.9.1. Silver-Russel Sendromu

3M sendromunun ayırıcı tanısında özellikle Silver-Russel sendromunun (SRS, MIM 180860) ayrı bir yeri vardır. Bu sendrom ile ayırıcı tanı yapılması gerektiği ilk defa Feldman ve arkadaşları tarafından dikkate getirilmiştir (72). SRS şiddetli büyüme kısıtlılığı ile karakterizedir (73) ve 3M sendromu ile bazı fenotipik özellikleri paylaşır (8). İlk kez Silver ve arkadaşları (74) ardından Russell ve arkadaşları tarafından (75) tanımlanan SRS; düşük doğum ağırlığı (doğum ağırlığı -2SD skorunun



altında olması), postnatal büyüme kısıtlılığı, normal baş çevresi ve tipik yüz bulguları ile karakterizedir (76). Tipik yüz bulguları arasında; üçgen şeklinde yüz, geniş alın, sivri ve küçük çene, geniş ve ince ağız ve vücut asimetrisi yer alır (76). SRS'li hastaların doğum ağırlıkları tipik olarak ortalamadan -2SD veya daha fazla aşağıda, postnatal büyüme de boya göre ortalamadan -2SD veya daha fazla aşağısındadır. SRS'de görülüp 3M sendromunda görülmeyen klinik bulgular arasında; vücut asimetrisi ve hafif öğrenme güçlüğü bulunur (8). SRS'de 3M sendromunun aksine belirgin topuk ve radyolojik bulgular görülmez (5, 8, 77, 78). Yine de moleküler testlerle SRS olduğu gösterilmiş hastaların bir kısmında 3M sendromundakine benzer şekilde lomber bölgede yüksek vertebra bulgusu rapor edilmiştir (79). SRS'li hastaların erişkin nihayi boy ortalamaları 3M sendromlu hastalara göre ortalamadan 1 SD üzerindedir (5). 3M sendromu otozomal resesif kalıtım gösterirken SRS vakalarının çoğunluğu sporadiktir (8). SRS'li hastaların %10'unda 7. kromozomun maternal UPD'si (80), %50'sinde ise H19 *imprinting* merkezinin hipometilasyonu sonucunda fetal büyüme kısıtlılığına neden olduğu düşünülen *Insuline-like growth factor* (IGF) 2'nin azalmış ekspresyonu saptanır (81, 82). Bununla birlikte SRS klinik tanısı olup ebeveynler arasında akrabalık olan bir grup hastada *CUL7* ve *OBSL1* mutasyonları saptanmış ve bu hastaların aslında 3M sendromu oldukları ortaya çıkarılmıştır (83). Bu nedenle SRS şüphesi olan hastaların özellikle ebeveynler arasında akrabalık olması durumunda 3M sendromu açısından tekrar değerlendirilmeleri önerilmektedir (83).

### 2.9.2. Diğer Sendromlar

SRS dışında 3M sendromu ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken diğer hastalıklar arasında; *Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism I* (MOPD I, MIM 210710), MOPDII (MIM 210720), Seckel (MIM 210600), Meier-Gorlin (MIM 224690), Mulbrey Nanism (MIM 253250), Bloom (MIM 210900) ve Dubowitz (MIM 223370) sendromları yer alır (8, 84). Bu sendromlarda 3M sendromunun aksine baş çevresi genellikle küçüktür ve klinik bulgulara diğer sistem bulguları ve organ malformasyonları eşlik eder. Sıklıkla otozomal resesif kalıtım gösteren ve şiddetli boy kısalığı ile karakterize olan bu sendromlarda kompleks morfogenetik

malformasyonlar ve multisistemik tutulum söz konusudur (85). Bu sendromların etiolojisinde IGF1-GH-pituiter aks anomalileri, sentrozomal patolojiler ve primer silia ve DNA replikasyon ve onarım mekanizmalarındaki defektler saptanabilir (57, 85).

**MOPDI** (MIM 210710): Taybi-Linder sendromu veya MOPD III olarak da bilinir. Klinik olarak çok şiddetli bulgulara yol açabilir. Şiddetli boy kısalığı, mikrosefali, zihinsel yetersizlik santral sinir sistemi malformasyonları, görsel ve işitsel duyu kayıpları ve uzun tübüler kemiklerde kısalık ve eğilme ile karakterize otozomal resesif kalıtım gösteren bir sendromdur. Serebral kortekste agri veya pakigri gibi ağır beyin malformasyonları, kuru cilt ve seyrek saç gibi bulgular tanıda yardımcıdır (86). Etiyolojide homozigot veya bileşik heterozigot *RNU4ATAC* (MIM 601428) gen mutasyonları söz konusudur. Hastalar genellikle ilk üç yaş içinde olmak üzere erken çocukluk döneminde kaybedilirler (87, 88).

**MOPDII** (MIM 210720): İntrauterin büyüme geriliği, şiddetli orantılı boy kısalığı, mikrosefali ile karakterize oldukça iyi tanımlanmış ve tanınabilir özellikleri olan otozomal resesif kalıtım gösteren bir sendromdur (88). Etiyolojide homozigot veya bileşik heterozigot *PCNT* (605925) mutasyonları söz konusudur. Büyüme geriliği çok ağırdır, radyolojik anormallikler ve zihinsel yetersizlik bulguları eşlik edebilir (89). MOPD I'i MOPD II'den ayıran özellikler; MOPD II'de ağır santral sinir sistemi malformasyonlarının, hiperkeratotik cilt bulgularının ve görme ve işitme ile ilgili bulguların olmamasıdır. MOPD II'de özellikle çok şiddetli nörovasküler komplikasyon riski vardır (90).

**Seckel sendromu** (MIM 210600): Belirgin intrauterine ve postnatal büyüme geriliği, ağır boy kısalığı, mikrosefali, zihinsel yetersizlik ve tipik yüz bulguları ile karakterize nadir görülen bir sendromdur. Tipik yüz bulguları arasında; *bird-headed* görünümü, küçük mandibula ve konveks burun köprüsü yer alır(91). Tanıda özellikle yüz bulguları yardımcıdır. Seckel sendromu genetik etiyojisi açısından heterojen bir sendromdur. Etiyolojide homozigot veya compound heterozigot *ATR* (MIM 601215) mutasyonları söz konusu olmakla birlikte *RBBP8* (MIM 604124), *CENPJ* (MIM

609279), *CEP152* (MIM 613529), *CEP63* (MIM 614724), *NIN* (MIM 608684) ve *DNA2* (MIM 601810) mutasyonları da Seckel sendromunun diğer formlarına yol açabilir.

**Meier-Gorlin sendromu** (MIM 224690): Diğer bir adı “Kulak-Küçük Patella-Kısa Boy” sendromudur. Otozomal resesif kalıtım gösteren bu sendrom mikrosefali, ağır prenatal ve postnatal büyüme geriliği, bilateral mikroşia ve patella eksikliği veya patellanın küçük olması ile karakterizedir. Bazı hastalarda zihinsel yetersizlik tanımlansa da zeka genellikle normaldir. Hastaların arkadaş canlısı davranış paterni dikkat çekicidir. Etiyolojide homozigot veya compound heterozigot *ORC1* (MIM 601902) mutasyonları yer alır (92, 93). 3M sendromundan farklı olarak mikrosefali, tipik kulak ve yüz bulguları ve farklı davranış paterni ile karakterizedir.

**Mulibrey Nanism sendromu** (MIM 253250): “Mulibrey” kelimesi *MU*scle, *LI*ver, *BR*ain, *E*yes’dan türetilmiştir. Prenatal ve postnatal büyüme geriliği, üçgen yüz, belirgin alın, fundusta sarı lekelenmeler, perikardiyal konstriksiyon ve karaciğerde büyüme ile karakterizedir. J şeklinde sella tursika ve tibiada fibröz displastik lezyonlar görülebilir. Otozomal resesif kalıtım gösteren bu sendrom *TRIM37* (MIM 605073) mutasyonlarına bağlı gelişmektedir (94). 3M sendromundan farklı olarak ilerleyici kardiyomiyopati, cinsel maturasyon bozuklukları, insülin direnci ve Wilms tümörü için artmış risk ile karakterizedir (95).

**Bloom sendromu** (MIM 210900): Prenatal ve postnatal büyüme geriliği, güneş ışığına duyarlılık, telanjiektazi, hipo ve hiperpigmente cilt lezyonları, kansere yatkınlık ve kromozomal instabilite ile karakterize olan Bloom sendromunun etiolojisinde DNA helicase RecQ protein-like 3 (MIM 604610) kodlayan gendeki mutasyonlar yer alır. 3M sendromundan farklı olarak mikrosefali, cilt lezyonları, zihinsel yetersizlik ve öğrenme güçlüğü, fotosensitivite, artmış enfeksiyon ve malignansi sıklığı ve immünolojik anormallikler ile karakterizedir.

**Dubowitz sendromu** (MIM 223370): Küçük yüz, eğimli alın, geniş burun köprüsü, supraorbital çentiğin sığ olması gibi karakteristik yüz bulguları, mikrosefali, zihinsel yetersizlik, egzama, prenatal ve postnatal büyüme geriliği ile karakterizedir. 3M sendromundan farklı olarak egzama gibi cilt bulguları, zihinsel yetersizlik ve tipik yüz bulguları vardır (6).

### 2.10. Tedavi

3M sendromunun bilinen medikal tedavisi yoktur. Dökümanente edilmiş büyüme hormonu eksikliği olması durumunda hastalara rekombinan insan büyüme hormonu (rhGH) tedavisi başlanabilir (3). Bu tür tedaviler olabildiğince tecrübe sahibi merkezler tarafından verilmelidir. Büyüme hormonu eksikliği olmayan hastalarda rhGH tedavisi uygulaması deneyseldir(3). Yine de rhGH tedavisi ile ilgili net olarak gösterilmiş bir etkinlik yoktur (4).

3M sendromlu hastalara mevcut bulgular doğrultusunda semptomatik bir yaklaşım sergilenebilir. Eklem laksitesi, eklem hiper mobilitesi ve artmış lordozis ile ilişkili sırt ağrısı olması durumlarında hastalar ortopedik değerlendirme ve fizyoterapiden yarar görebilirler (8). Hastalardaki eklem laksitesi bulgusu artrit gelişimine zemin hazırlayabilir (3). Gelişimsel kalça displazisi bulgusunun erken fark edilmesi ve gerekirse girişimde bulunulmaması daha sonra gelişebilecek komplikasyonların önlenmesi açısından önemlidir (4, 65). Ekstremitte uzatma operasyonları bazı merkezlerde hastalara bir seçenek olarak sunulabilmektedir (3).

### 2.11. Genetik Danışma

3M sendromu otozomal resesif kalıtım gösteren kalıtsal bir hastalıktır. Etiyolojide homozigot ya da bileşik heterozigot *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* mutasyonları sorumludur (8, 13, 14, 16). Anne ve baba heterozigot taşıyıcı oldukları için her gebelikte %25 hasta, %25 sağlıklı ve %50 asemptomatik taşıyıcı olma riski söz konusudur (3). Hastalığa sebep olan mutasyonun bilinmesi durumunda risk altındaki bireylere moleküler tanı verme ve preimplantasyon genetik tanı yapma imkanı doğmaktadır. İntrauterine büyüme kısıtlılığı bulgusunun 3M sendromuna özgül bir bulgu olmaması ve iskelet bulgularının doğumdan sonra saptanabilmesi nedeniyle gebelik sırasında ultrasonografik değerlendirme ile 3M sendromundan nadiren şüphe duyulur. Yine de prenatal ultrasonografide saptanabilecek uzun kemiklerdeki büyümenin yavaşlaması bulgusu fikir verebilir (3).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Bilim Dalı'nda 2013-2015 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından etik açıdan uygun bulunmuş (GO 13/165-25) (EK 1) ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından BAB6080 Hızlı Destek Projesi ile desteklenmiştir (Proje ID: 633).

Çalışmaya 3M sendromlu 17 hasta (16 çocuk ve 1 fetüs) dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilme kriterleri; 1) Klinik, laboratuvar ve radyolojik bulguların 3M sendromu klinik tanısı ile uyumlu olması, 2) Hastadaki klinik bulgulara yönelik başka bir moleküler etiyolojinin gösterilmemiş olması, 3) Hastanın anne ve/veya babasının onaylarının alınmış olması olarak belirlenmiştir. 3M sendromunun klinik ve radyolojik tanı kriterleri literatürdeki kriterler doğrultusunda belirlenmiştir (1, 3-5, 13). Çalışma sırasında Tablo 2.1'de gösterilen klinik ve radyolojik bulgular göz önünde bulundurulmuştur.

#### 3.2. Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem

Hastalar Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Bilim Dalı polikliniğinde klinik ve radyolojik bulgular açısından değerlendirildikten, 3M sendromu klinik tanısı konulduktan ve gerekli onamlar (EK 2) alındıktan sonra çalışmaya dahil edilmişlerdir. Moleküler çalışmalar Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Genetik Tanı Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.3. Klinik ve Radyolojik Değerlendirme

Hastaların başvuru sırasındaki antropometrik ölçümleri, dismorfik yüz bulguları ve diğer sistemik muayene bulguları Hasta Değerlendirme Formu kullanılarak kaydedilmiştir. Hasta Değerlendirme Formu EK 3'te gösterilmiştir. Hastalarda büyümenin değerlendirilmesi sırasında; boy, vücut ağırlığı ve baş çevresi

ölçümleri, boy SD skoru (SDS) (96, 97) ve vücut kitle indeksi z skoru (98, 99) dikkate alınmıştır. Radyolojik bulguların değerlendirilmesine yönelik daha önceden elde edilmediyse; iki yönlü kafa grafisi, iki yönlü vertebra grafisi ve anteroposterior ekstremiteler, el ve pelvis grafileri çektilmiştir.

### 3.4. Moleküler Çalışmalar

Klinik ve radyolojik değerlendirmenin ardından 3M sendromu klinik tanısı ile uyumlu olduğu düşünülen hastalar moleküler çalışmaya alınmışlardır. Moleküler çalışmalar kapsamında hastalara *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* genlerine yönelik Sanger yöntemi ile DNA dizi analizi yapılmıştır. Moleküler analizlere literatürde önerildiği üzere *CUL7*'dan başlanmış ve bütün ekzonların dizilenmesi şeklinde ilerlenmiş mutasyon saptanmaması durumunda *OBSL1*'e, yine mutasyon saptanmaması durumunda *CCDC8*'e geçilmiştir (3, 4, 6). Mutasyon saptanan hastalarda DNA dizi analizi işlemine devam edilmemiş, parental segregasyonun gösterilmesi amacıyla anne ve baba DNA örneklerinden aynı gen mutasyonuna yönelik DNA dizi analizi yapılmıştır. DNA dizi analizi yapabilmek için hastalardan periferik kan örnekleri alınmış ve uygun koşullarda DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### 3.4.1. Periferik Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Hastalardan DNA elde etmek amacıyla EDTA'lı tüplere 10 ml periferik venöz kan örneği alınmıştır. DNA izolasyonu için periferik kan örnekleme, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Bilim Dalı'nda poliklinik hemşiresi tarafından yapılmıştır. Alınan kan örnekleri moleküler genetik analiz için Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Genetik Laboratuvarı'na yönlendirilmiştir.

DNA eldesi için tuzda çöktürme (amonyum asetat) yöntemi kullanılmıştır. Öncelikle izolasyon için kullanılacak nükleer lizis tampon, amonyum asetat, proteinaz K ve %10'luk sodyum dodesil sülfat hazırlamak için gereken malzemeler temin edilmiştir. DNA eldesi yapılacak örnekler için öncelikle 10 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kan, her bir hasta için 50 ml'lik Falcon tüplerine boşaltılmış, ayrıca her hasta için 1,5 ml'lik epandorf tüpü hazırlanarak üzerine hasta bilgileri yazılmıştır.

Falkon tüpüne boşaltılan 10 ml'lik kan örneği 40 ml otoklavlanmış distile su ile karıştırılarak 50 ml'ye tamamlanmış ve elle kuvvetlice çalkalanmış, 1750 rpm hızda (500xg) 20 dakika santifrjü edildikten sonra süpernatant lavaboya dökülmüş ve kalan çökelti tekrar otoklavlanmış distile su ile 45 ml'ye tamamlanmıştır. Dipteki pelet hafifçe çalkalanarak çözülmüş, ardından 1900 rpm hızda (600 x g) 20 dakika santifrjü edilmiş, süpernatant lavaboya dökülmüştür. Her bir tüpteki çökelti üzerine 3 ml nükleer lizis tampon eklenerek tüplerin kapakları kapatılmış ve kuvvetlice çalkalanmıştır. Ardından tüplerin kapakları açılarak, her birine 150 µl proteinaz K ve 200 µl %10'luk sodyum dodesil sülfat solüsyonu pipetlenmiştir. Tüpler karıştırılmış ve 16 saat 37 derece sıcaklıkta etüvde bekletilmiştir. 16 saat sonunda her bir tüpe 3 ml amonyum asetat eklenerek kuvvetlice çalkalanmıştır. Bu sırada 20 dakika oda ısısında bekletilen tüplere 400 µl Tris-EDTA tamponu pipetlenmiş, 4000 rpm hızda (3000xg) 20 dakika santifrjü edilmiştir. Süpernatant Pastör pipeti ile dipteki pelete dokunmadan başka bir temiz tüpe alınarak üzerine etil alkol eklenmiştir. Tüpler elde çalkalanmış, tüplerin içinde girdap oluşturularak DNA'nın toparlanması sağlanmıştır. Bu işlem ardından görünür hale gelen DNA pipet ucu yardımıyla toplanarak 400 ml Tris-EDTA tamponu içeren tüpler içerisine dikkatlice yerleştirilmiştir. DNA'lar iyice çözünmesi için bir gece daha etüvde bekletilip ertesi gün tüm örnekler kaydedilerek deney gününe kadar saklanmak üzere -20°C'lik derin dondurucuya yerleştirilmişlerdir.

#### **3.4.2. DNA Kalite Kontrolü**

Genomik DNA konsantrasyonu ve saflığının ölçümü için NanoDrop® ND-1000 UV-Vis Spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. DNA'nın miktar ve saflığı spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında elde edilen değerlerden belirlenmektedir. DNA'nın kalitesi için A260/280 ve A260/230 değerlerine bakılmaktadır. Temiz bir DNA'da A260/280 oranı 1,8-2,0; A260/230 oranı ise 2'den büyük olmalıdır. Çalışma sırasında hasta DNA'larının temiz oldukları ve kontamine olmadıkları doğrulandıktan sonra deneylere devam edilmiştir.

### 3.4.3. PCR Reaksiyonu İçin Primer Sentezi

Genom içerisinde istenen gen bölgelerinin özgül olarak amplifiye edilmesi için Primer Perl programı ve IDT-Oligo Designer web aracı kullanılarak primer dizaynı gerçekleştirilmiştir. Bu primer dizileri üretici firma vasıtasıyla temin edilerek uygun derişimlerde sulandırılmıştır (ana stok 100 mikromolar, çalışma stoğu 10 mikromolar olacak şekilde). Primer dizileri EK 4'te gösterilmiştir.

### 3.4.4. PCR Reaksiyonu İçin Optimize Edilen Koşullar

PCR koşullarının optimize edilmesi için kontrol DNA'sı ile denemeler yapılmıştır. En verimli sonuçların alındığı koşullarda tüm hasta bireylere ait DNA örneklerinde amplifikasyon yapılmıştır. *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* DNA dizi analizi ile ilgili amplifikasyon koşulları EK 5'te gösterilmiştir.

### 3.4.5. PCR Ürünlerinin Pürifiye Edilmesi

Elektroforezde uygun uzunlukta tek bant elde edilen PCR ürünleri "GeneJET PCR Purification System" ile saflaştırılmıştır. Bunun için 45 µl PCR ürünü ile 45 µl membran bağlama çözeltisi karıştırıldı ve pürifikasyon kolonlarının üzerine eklenip, 14.000 g'de 1 dakika santrifüj ile PCR ürünlerinin kolonlara tutunması sağlanmıştır. Ardından, önce 700 µl membran yıkama çözeltisi eklenerek 14.000 g'de 1 dakika ve 500µl membran yıkama çözeltisi eklenerek 14.000 g'de 5 dakika santrifüj ile kolona bağlı olan PCR ürünleri yıkanarak PCR ürünleri safsızlıklardan uzaklaştırılmıştır. 14.000 g'de 1 dakika bir çözelti ekmeden yapılan santrifüj ile membran yıkama çözeltisinin içerisindeki etanol de uzaklaştırıldıktan sonra 40 µl su eklenerek 14.000 g'de 1 dakika santrifüj sonrası pürifiye PCR ürünleri elde edilmiştir.

### 3.4.6. DNA Dizi Analizi Reaksiyonu

Pürifiye edilmiş PCR ürünlerinin derişimleri Nanodrop 2000 c kullanılarak belirlenmiş ve derişimleri 40 ng/µl olacak şekilde seyreltilmiştir. Sekans reaksiyonu için 12 µl su, 4 µl 5X Big-Dye Sekanlama tampon çözeltisi, 2 µl Big-Dye Terminator v3.1 Sekanslama çözeltisi, 1 µl 5' veya 3' primer ve 1 µl pürifiye PCR ürünü karıştırılmıştır. Sekans reaksiyonu programı: 94-3 dakika; 94-15 saniye; 50-15 saniye (25 döngü); 60- 4 dakika olacak şekilde belirlenmiştir.



### 3.4.7. DNA Dizi Analizi Reaksiyon Ürünlerinin Pürifiye Edilmesi

Sekans reaksiyonu ürünleri “Zymo Research DNA Sequencing Clean-Up Kit” ile pürifiye edilmiştir. Bunun için 20 µl sekans reaksiyonu ürünü ile 240 µl sekans bağlama çözeltisi karıştırılmış ve pürifikasyon kolonlarının üzerine eklenmiştir. 14.000 g’de 30 saniye santrifüj ile PCR ürünlerinin kolonlara tutunması sağlandıktan sonra 300 µl membran yıkama çözeltisi eklenerek 14.000 g’de 30 saniye santrifüj ile kolona bağlı olan sekans reaksiyonu ürünleri yıkanarak sekans reaksiyonu ürünleri safsızlıklardan uzaklaştırılmıştır. 20 µl formamid eklenerek 14.000 g’de 30 saniye santrifüj sonrası pürifiye sekans reaksiyonu ürünleri elde edilmiştir. Pürifiye sekans reaksiyonu ürünlerinin “ABI 3130-Genetic Analyzer” ile kapiller elektroforez yapılarak dizileri saptanmıştır.

### 3.4.8. DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Analizi

ABI 3130 cihazından alınan çıktılar Chromas Lite v2.01 programı ile masaüstü bilgisayara aktarılmıştır. Elde edilen diziler okunarak referans genom ile karşılaştırılmış bu aşamada NCBI ve ensembl gibi veri tabanlarından yararlanılmıştır. DNA dizi analizi yönteminde elde edilen genetik değişiklikler patolojik olup olmadıkları yönünde incelenmiş, ardından saptanan genetik değişiklikler genotip-fenotip ilişkisi açısından araştırılmıştır. Bu işlemler sonrasında mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik bulguları birbiri ile karşılaştırılmıştır. Bunun yanı sıra hastaların klinik ve radyolojik bulguları farklı mutasyon grupları arasında da karşılaştırılmıştır. DNA dizi analizi sonucunda mutasyon saptanan hasta ailelerindeki taşıyıcılar ve risk altındaki diğer bireyler pedigrî analiziyle ortaya çıkarılmış ve ailelere bu yönde genetik danışma verilmiştir. Saptanan mutasyonun parental segregasyonu her indeks vaka için gösterilmiştir. Herhangi bir mutasyon saptanmayan ancak klinik ve radyolojik bulguların 3M sendromu ile uyumlu olduğu düşünülen hastalarda altta yatan genetik etiyolojinin aydınlatılmasına yönelik ileri moleküler çalışmalar başka araştırmaların konusu olacak şekilde planlanmıştır.

### 3.5. İstatistiksel Yöntem

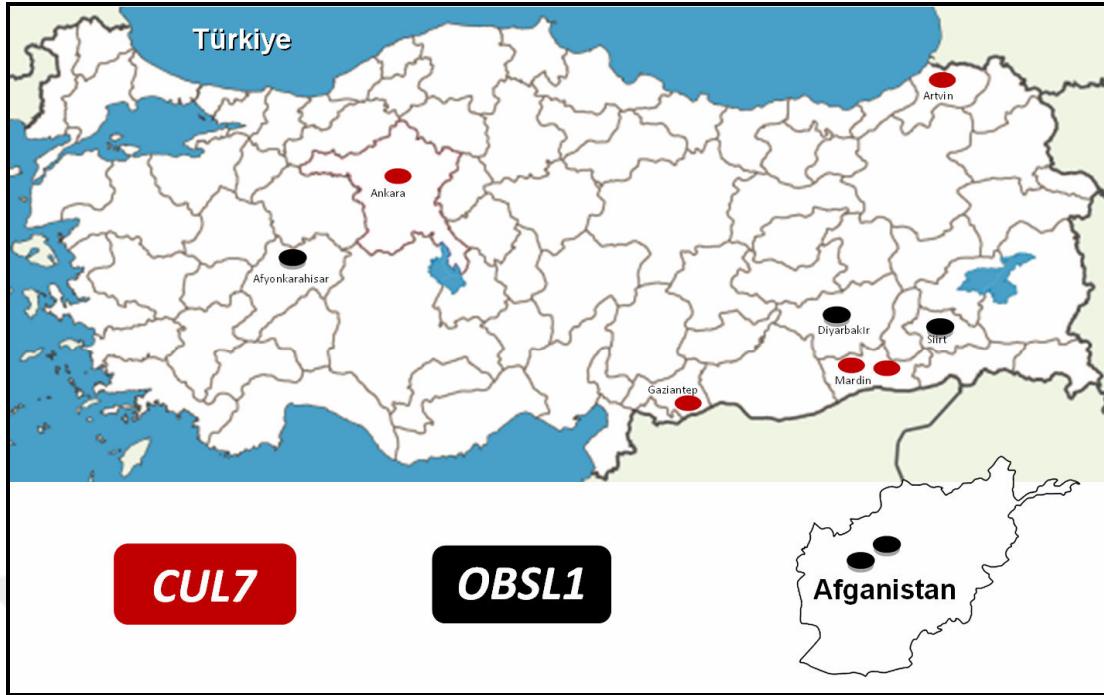
Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi “Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 21.0” paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bağımsız iki grup arasında sayısal değişkenler açısından anlamlı bir fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile nitelik değişkenler açısından fark olup olmadığı Fisher’in kesin ki-kare testi ile incelenmiştir. Tanımlayıcı istatistiklerde nitel değişkenler için sayı ve yüzde; sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerler kullanılmıştır.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Demografik Özellikler

Çalışmaya 3M sendromu klinik tanısı olan 13 aileden 17 hasta (16 çocuk ve bir fetüs) dahil edilmiştir. Bu hastalardan 9'u (n=9/17, %53) kız, 8'i (n=8/17, %47) erkektir. Hastaların (n=16) başvuru yaşı 9 ay ile 192 ay arasında değişkenlik göstermiştir (ortanca başvuru yaşı 80,5 ay). Prenatal dönemde yapılan ultrasonografide tespit edilen ekstremitelerde kısalık nedeniyle kliniğimize 2. trimesterde başvuran Hasta No 2 bu değerlendirme sırasında dışarıda bırakılmıştır. Hastaların 14'ünün (n=14/17, %82) anne ve babası arasında 1. derece kuzen evliliği olduğu, 2'sinin anne ve babasının aynı köy doğumlu oldukları ve 1 hastanın anne ve babası arasında bilinen bir akrabalık olmadığı saptanmıştır. Hasta No 4 ile Hasta No 5; Hasta No 9 ile Hasta No 10; Hasta No 11 ile Hasta No 12 ve Hasta No 15 ile Hasta No 16 kardeşlerdir. Hastaların başvuru bölgeleri arasında; Afganistan (n=2), Afyonkarahisar (n=1), Aksaray (n=1), Amasya (n=1), Ankara (n=1), Artvin (n=1), Denizli (n=1), Diyarbakır (n=1), Gaziantep (n=3), Mardin (n=2) ve Siirt (n=3) yer almaktadır. Hastaların %53'ünün (n=9/17) Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinden başvurdukları görülmüştür. Mutasyon saptanan hastaların başvurdukları bölgeler harita üzerinde gösterilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Mutasyon saptanan hastaların geldikleri bölgeleri gösteren harita.

#### 4.2. Hastaların Klinik Bulguları

Çalışmaya dahil edilen hastaların hiçbirisinde prematür doğum öyküsü yoktur. Hastaların %47'sinde (n=8/17) prenatal dönemde intrauterine büyüme kısıtlılığı ve ekstremitelerde kısalık gibi ultrasonografi bulgularının saptandığı, *CUL7* ve *OBSL1* mutasyonu saptanan 1'er hastada erken postnatal dönemde 7-10 gün kadar kuvöz bakımı gerektirecek solunum sıkıntısı olduğu, bu hastaların izlemlerinde solunum sıkıntısı probleminin devam etmediği ve invazif ventilasyona ihtiyaç duyulmadığı saptanmıştır.

Hastaların 11'inin (n=11/17, %65) doğum boyunun 40-42 cm arasında (ortancası 42 cm, ortalaması 41,2±1 cm) olduğu, diğer hastaların ise doğum koşullarından dolayı (evde doğum) doğum boylarının not edilmediği ancak bu hastaların da anne ve babalarının tabiriyle "küçük ebatlarda" doğdukları öğrenilmiştir. Hastaların doğum vücut ağırlıklarının 1500 gr ile 4250 gr arasında (ortancası 2250 gr, ortalaması 2293±717 gr) değişkenlik gösterdiği, başvuru sırasında boy SD skorunun -11,4 ile -2 arasında (ortancası -4,6 SDS), vücut kitle

indeksi z skorunun -3,47 ile 2,23 arasında (ortancası -0,83) değişkenlik gösterdiği saptanmıştır.

*CUL7* mutasyonu olan hastaların doğum vücut ağırlıklarının 1500 gr ile 1750 gr arasında (ortancası 1575 gr, ortalaması  $1600 \pm 122$  gr), *OBSL1* mutasyonu olan hastaların doğum vücut ağırlıklarının ise 2000 gr ile 2880 gr arasında (ortancası 2450 gr, ortalaması  $2416 \pm 325$  gr) değişkenlik gösterdiği, *CUL7* mutasyonu saptanan hastaların doğum vücut ağırlıklarının *OBSL1* mutasyonu saptanan hastaların doğum vücut ağırlıklarına göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır ( $p=0,016$ ).

*CUL7* mutasyonu olan hastaların başvuru boy SDS'sinin -5,6 ile -4,5 arasında (ortancası -5 SDS), *OBSL1* mutasyonu olan hastaların başvuru boy SDS'sinin -5 ile -2,6 arasında (ortancası -4,4 SDS) değişkenlik gösterdiği ve 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ( $p=0,111$ ).

*CUL7* mutasyonu olan hastaların vücut kitle indeksi z skorunun -1,98 ile 1,62 arasında (ortancası 0,08), *OBSL1* mutasyonu olan hastaların vücut kitle indeksi z skorunun -2,05 ile 2,23 arasında (ortancası 0,5) değişkenlik gösterdiği ve 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

Mutasyon saptanan hastaların doğum vücut ağırlıklarının 1500 gr ile 4250 gr arasında (ortancası 2520 gr, ortalaması  $2602 \pm 874$  gr), mutasyon saptanmayan hastaların doğum vücut ağırlıklarının 1500 gr ile 4250 gr arasında (ortancası 2250 gr, ortalaması  $2293 \pm 717$  gr) değişkenlik gösterdiği ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

Mutasyon saptanan hastaların başvuru sırasındaki boy SDS'sinin -5,6 ile -2,6 arasında (ortancası -4,8 SDS), mutasyon saptanmayan hastaların başvuru boy ölçümü standart deviasyon skorunun -11,4 ile -2 arasında (ortanca -3,8 SDS) değişkenlik gösterdiği ve 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır ( $p=0,536$ ).

Mutasyon saptanan hastaların başvuru sırasındaki vücut kitle indeksi z skorunun -2,05 ile 2,23 arasında (ortancası 0,54) olduğu, mutasyon saptanmayan hastaların başvuru sırasındaki vücut kitle indeksi z skorunun -3,47 ile 2,22 arasında

(ortanca -1,07) olduğu ve 2 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır (p=0,470). Prenatal dönemde letal iskelet displazisi şüphesi ile tıbbi terminasyon uygulanan ve daha sonra yapılan radyolojik ve patolojik incelemeler sonrasında 3M sendromu olabileceği düşünülüp bu çalışmaya dahil edilen Hasta No 2 bu değerlendirmeler sırasında dışarıda bırakılmıştır.

*CUL7* mutasyonu olan hastaların 3, *OBSL1* mutasyonu olan hastaların 1 ve mutasyon saptanmayan hastaların 1'inde hem klinik hem radyografik olarak skolyoz bulgusu; bütün hastalarda belirgin topuk bulgusu; *CUL7* mutasyonu olan hastaların 3 ve *OBSL1* mutasyonu olan hastaların 4'ünde hipertrikoz bulgusu saptanmıştır.

*CUL7* mutasyonu olan 1 hastada, *OBSL1* mutasyonu olan kardeş 2 hastada çalışmanın yürütüldüğü sıralarda Pediatrik Endokrinoloji bölümü tarafından büyüme hormonu eksikliği saptanmış ve rhGH tedavisi başlanmıştır. Bu hastaların endokrinolojik profillerinin ve rhGH'ye verdikleri cevabın değerlendirilmesi bu tez çalışması kapsamına alınmamıştır.

Hastaların hiçbirisinde spina bifida okkulta gibi nöral tüp defekti, gelişimsel kalça displazisi ve gelişme geriliği bulgusu saptanmamıştır. Çalışmaya dahil edilen hastaların demografik, klinik, radyolojik ve moleküler inceleme sonuçları Tablo 4.1'de, çalışmada mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik inceleme sonuçları Tablo 4.2'de, mutasyon saptanan hastaların klinik fotoğrafları Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te, *CUL7* mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları Şekil 4.4'te, *OBSL1* mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları Şekil 4.5'te, *CUL7* mutasyonu olan ve aynı zamanda juvenil idiopatik artrit tanısı olan Hasta No 1'in el ve ayak fotoğraf ve radyografileri Şekil 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik, radyolojik ve moleküler özellikleri.

<b>Klinik Özellikler</b>	
Başvuru yaşı, ay, ortanca (min-maks)	80,5 (9-192)
Güncel yaş, ay, ortanca (min-maks)	147,5 (63-240)
Cinsiyet (K/E)	9/8
Doğum boyu, cm, ortanca (min-maks, ortalama±SD)	42 (40-42, 41,2±1)
Doğum vücut ağırlığı, gr, ortanca (min-maks, ortalama±SD)	2250 (1500-4250, 2293±717)
Başvuruda boy kısalığı (Boy <3 persentil, n)	17/17
Başvuru sırasında boy SDS, ortanca (min-maks)	-4,6 [-11,4-(-2)]
Başvuru sırasında vücut kitle indeksi z skoru, ortanca (min-maks)	-0,83 (-3,47-2,23)
<b>Radyolojik Bulgular</b>	<b>Sıklık</b>
Uzun kemiklerde incelik	16/17
Yüksek vertebra	12/17
Vertebra ön-arka çapında azalma	10/17
Kemik yaşında gerilik	15/17
Dar pelvis	10/17
İnce kosta	5/17
Skolyoz	4/17
Femur boynu kısalığı	4/17
Diafizyeal konstriksiyon	11/17
Pelvis alt kısımda hipoplazi	11/17
<b>Yüz Özellikleri</b>	
Belirgin burun ucu	16/17
Antevert burun delikleri	17/17
Dolgun dudak	14/17
Üçgen yüz	17/17
Dolikosefali	16/17
Frontal bossing	17/17
Ortayüz hipoplazisi	17/17
Uzun filtrum	16/17
Sivri çene	17/17
Belirgin kulak	13/17
Belirgin kaş	12/17
Palpebral aralık aşağı eğimi	15/17
Hipertrikoz	7/17
Rölatif makrosefali	17/17

Tablo 4.1. (devam) Çalışmaya dahil edilen hastaların klinik, radyolojik ve moleküler özellikleri.

<b>Kas-İskelet Sistemi Bulguları</b>	<b>Sıklık</b>
Arka saç çizgisi düşüklüğü	7/17
Kısa boyun	17/17
Kare omuz	17/17
Geniş toraks	17/17
Kısa toraks	17/17
Pektus deformitesi	1/17
Hiperlordozis	14/17
Skolyoz	5/17
Eklem hiper mobilitesi	15/17
5. parmakta klinodaktili	10/17
Belirgin topuk	17/17
Gelişimsel kalça displazisi	0/17
Protuberan abdomen	16/17
<i>Pes planus</i>	16/17
Genu valgum	5/17
<b>Moleküler Bulgular</b>	
Mutasyon saptanan hastalar	10/17
<i>CUL7</i>	5/10
<i>OBSL1</i>	5/10
Yeni mutasyon	3/7 mutasyon
Parental segregasyon	10/10
<b>Akrabalık (1. Derece Kuzen Evliliği)</b>	14/17
<b>Prenatal Özellik</b>	8/17
<b>Prematür Doğum Öyküsü</b>	0/16
<b>Natal Özellik</b>	2/16
<b>Gelişme Geriliği</b>	0/16
<b>Büyüme Hormonu Eksikliği</b>	3/16

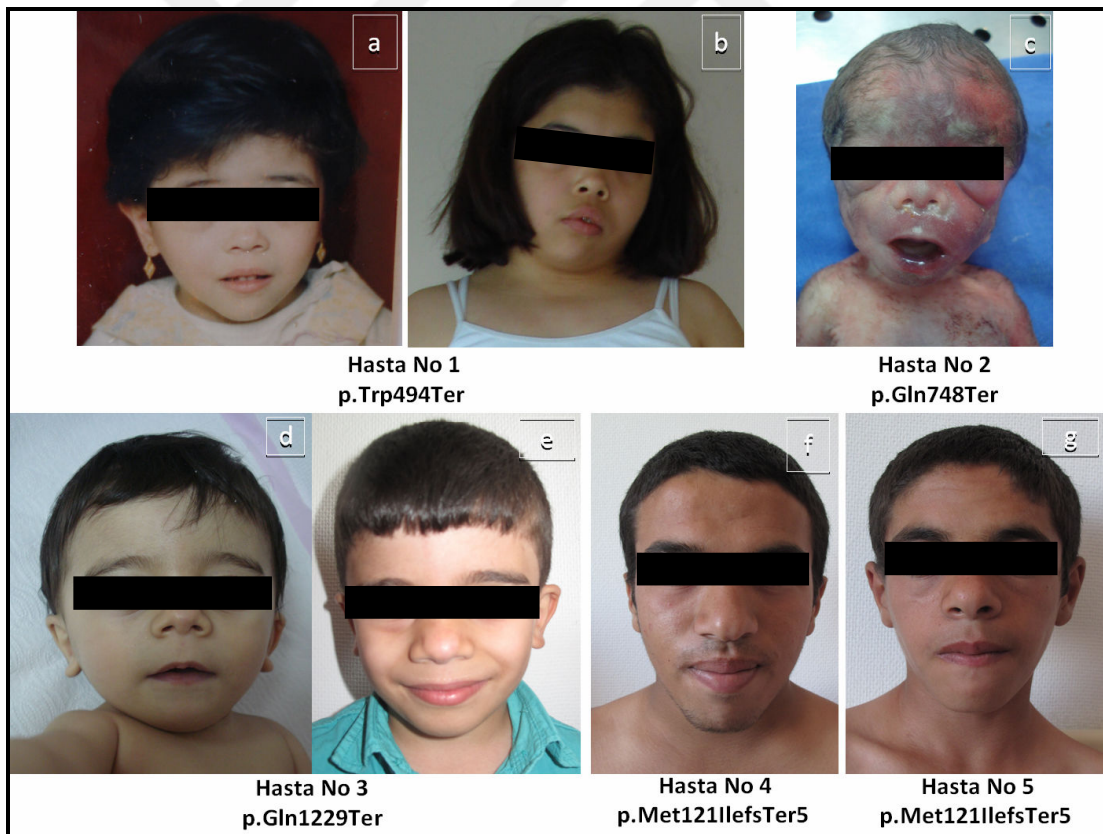


Tablo 4.2. Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik bulguları.

	Mutasyon saptandı (n=10)		Mutasyon saptanmadı (n=7)
	CUL7 (n=5)	OBSL1 (n=5)	
Doğum vücut ağırlığı, gr, ortanca (min-maks, ortalama $\pm$ SD)	1575 (1500-1750, 1600 $\pm$ 122)	2450 (2000-2880, 2416 $\pm$ 325)	2520 (1500-4250, 2600 $\pm$ 870)
Başvuru sırasında boy SDS, ortanca (min-maks)	-5 [-5,6 - (-4,5)]	-4,4 [-5 -(-2,6)]	-3,8 [-11,4 -(-2)]
Başvuru sırasında vücut kitle indeksi z skoru, ortanca (min-maks)	0,08 [-1,98 - 1,62]	0,5 (-2,05 - 2,23)	-1,07 (-3,47 - 2,22)
Prematür doğum öyküsü	0	0	0
Cinsiyet (K/E)	1/4	3/2	5/2
<b>Radyolojik bulgular</b>			
Uzun kemiklerde incelik	5/5	5/5	6/7
Yüksek vertebra	4/5	5/5	3/7
Vertebra ön-arka çapında azalma	3/5	5/5	2/7
Kemik yaşında gerilik	4/5	5/5	6/7
Dar pelvis	4/5	3/5	3/7
İnce kosta	1/5	4/5	0/7
Skolyoz	3/5	0/5	1/7
Femur boynu kısa	1/5	0/5	0/7
Diafizyeal konstriksiyon	4/5	4/5	3/7
Pelvis alt kısım hipoplazik	4/5	4/5	1/7
<b>Yüz özellikleri</b>			
Belirgin burun ucu	5/5	5/5	6/7
Antevert burun delikleri	5/5	5/5	7/7
Dolgun dudak	4/5	5/5	5/7
Üçgen yüz	5/5	5/5	7/7
Dolikosefali	4/5	5/5	7/7
Frontal bossing	5/5	5/5	7/7
Ortayüz hipoplazisi	5/5	5/5	7/7
Uzun filtrum	5/5	4/5	7/7
Sivri çene	5/5	5/5	/7
Belirgin kulak	4/5	4/5	5/7
Belirgin kaş	4/5	5/5	3/7
Palpebral aralık aşağı eğimli	4/5	5/5	6/7
Hipertrikoz	3/5	4/5	0/7
Rölatif makrosefali	5/5	5/5	7/7

Tablo 4.2. (devam) Mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların klinik ve radyolojik bulguları.

Kas İskelet sistemi bulguları			
Arka saç çizgisi düşüklüğü	1/5	4/5	2/7
Kısa boyun	5/5	5/5	7/7
Kare omuz	5/5	5/5	7/7
Geniş ve kısa toraks	5/5	5/5	7/7
Pektus deformitesi	0/5	0/5	2/7
Hiperlordozis	4/5	5/5	5/7
Skolyoz	3/5	1/5	1/7
Eklemler hipermobilitesi	4/5	5/5	6/7
5. parmakta klinodaktili	4/5	3/5	4/7
Belirgin topuk	5/5	5/5	7/7
Protuberan abdomen	5/5	5/5	6/7
<i>Pes planus</i>	4/5	5/5	7/7
<i>Genue valgum</i>	4/5	2/5	2/7



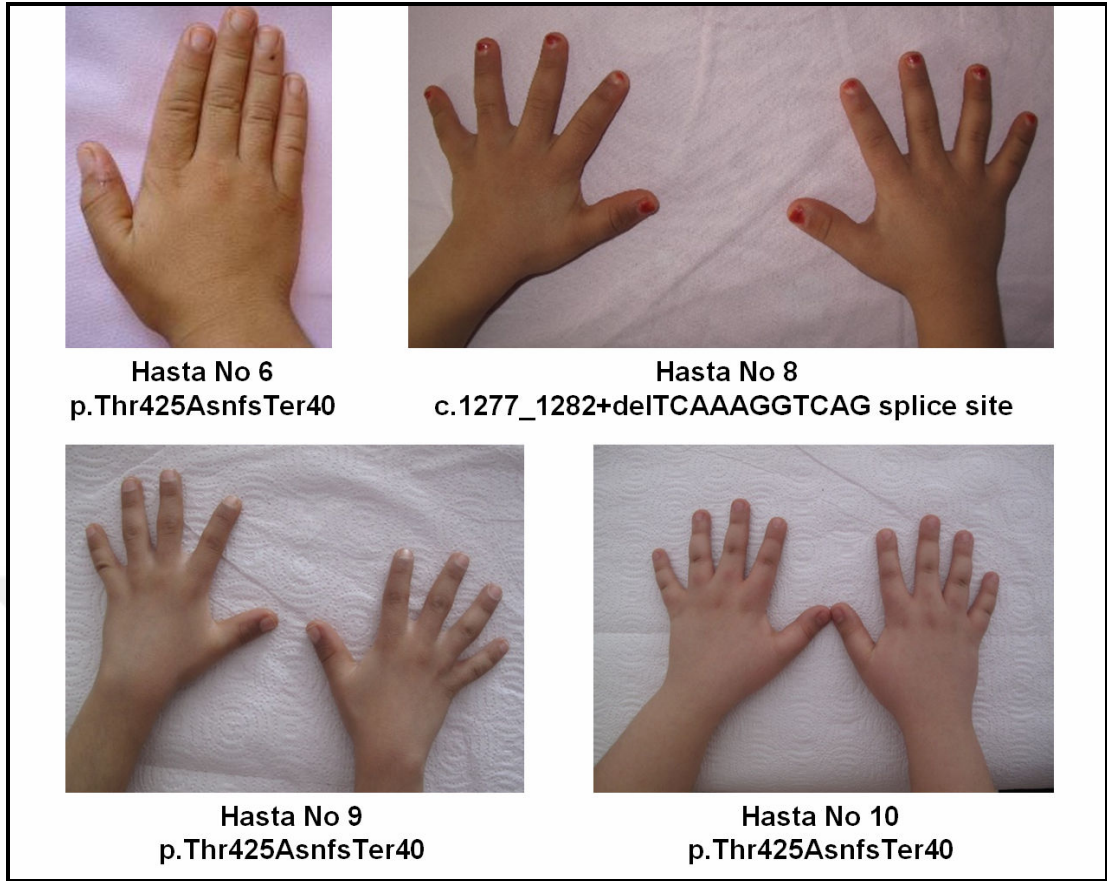
Şekil 4.2. *CUL7* mutasyonu olan hastaların yüz bulguları. a) Hasta No 1 (3 yaşında), b) Hasta No 1 (13 yaşında), d) Hasta No 3 (9 aylıkken), e) Hasta No 3 (6 yaşındayken), d) Hasta No 4 ve e) Hasta No 5 kardeşler.



Şekil 4.3. *OSL1* mutasyonu olan hastaların yüz bulguları. Hasta No 9 ve Hasta No 10 kardeşlerdir.



Şekil 4.4. *CUL7* mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları. Hasta No 1'in sağ el 2. parmaktaki deformitesine ve hastalardaki klinodaktili bulgusuna dikkat ediniz.



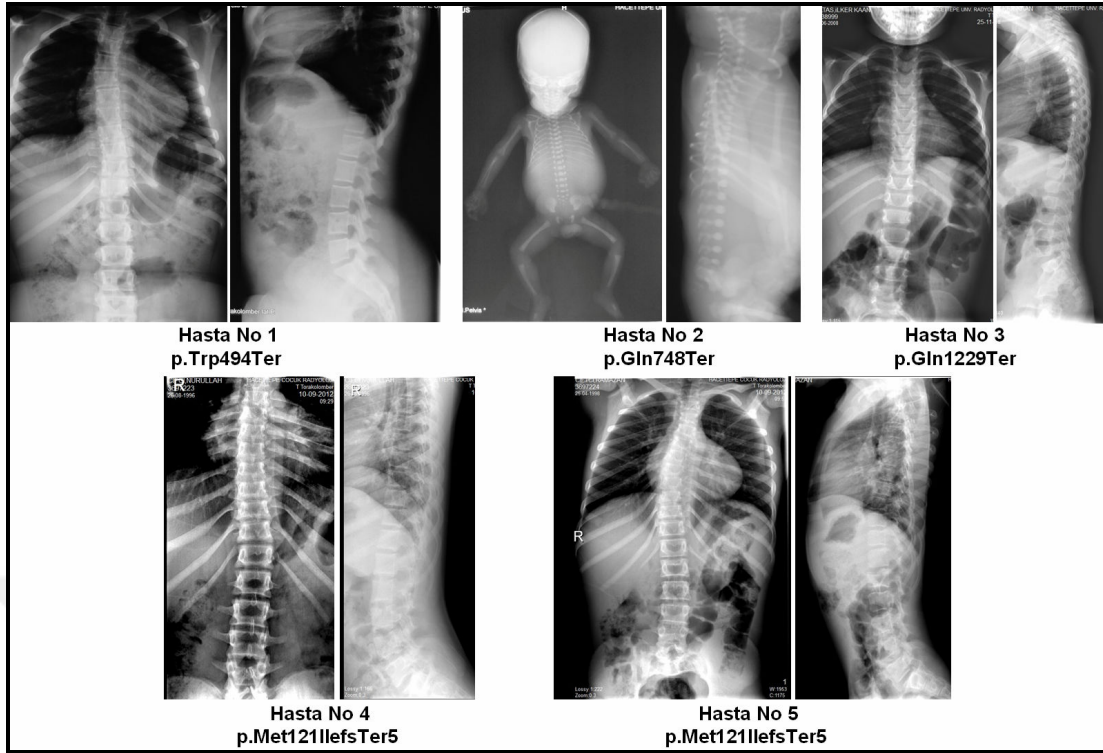
Şekil 4.5. *OSL1* mutasyonu olan hastaların el fotoğrafları. Klinodaktili bulgusuna dikkat ediniz.



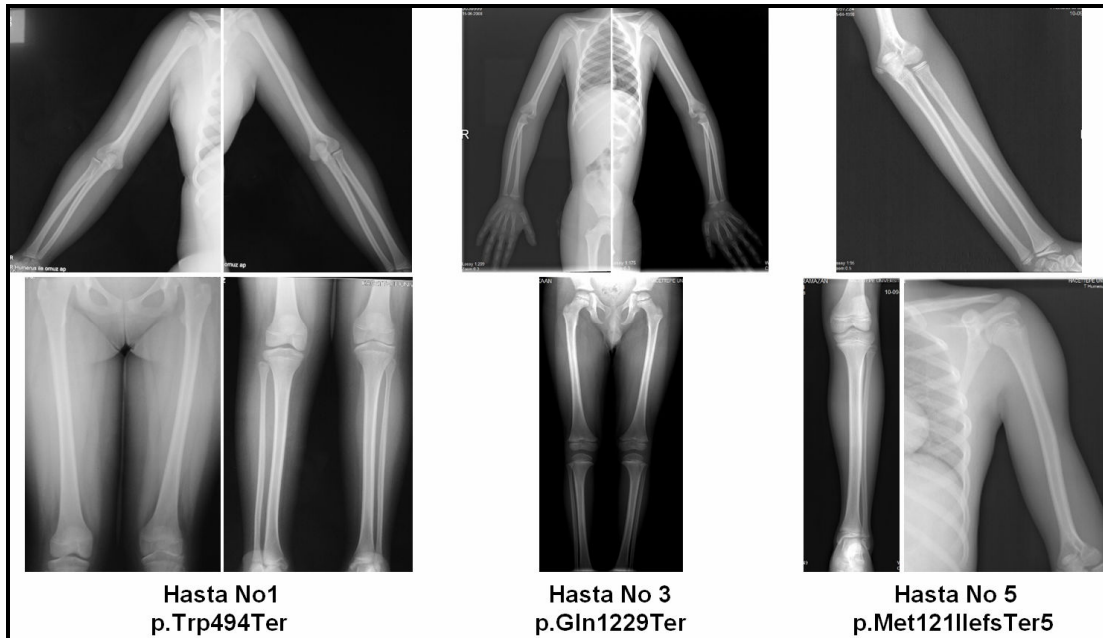
Şekil 4.6. *CUL7* mutasyonu olan Hasta No 1'in el ve ayak fotoğraf ve grafileri. Hasta No 1'in sağ elindeki deformiteye, klinodaktili ve pes planus bulgularına dikkat ediniz. El grafisinde sağ el 1. metakarpal kemiğin disloke ve sağ el 2. parmakta orta ve distal falankslar deforme görünümündedir. Bu hastanın el bulgularının 3M sendromu ile doğrudan ilişkili olmadığı eşlik eden juvenile idiopatik artrite ikincil gelişen bulgular oldukları düşünülebilir.

### 4.3. Hastaların Radyolojik Bulguları

Çalışmaya dahil edilen hastaların ve mutasyon saptanan ve saptanmayan hastaların radyolojik bulguları Tablo 4.1, Tablo 4.2, EK 6, EK 7 ve EK 8'de gösterilmiştir. *CUL7* mutasyonu saptanan ve aynı zamanda juvenile idiopatik artrit tanısıyla takipte olan Hasta No 1'in el ve ayak bulguları Şekil 4.6'da gösterilmiştir. *CUL7* mutasyonu olan hastaların vertebra grafisi bulguları Şekil 4.7'de, ekstremitte grafisi bulguları Şekil 4.8'de, el grafisi bulguları Şekil 4.9'da, pelvis grafisi bulguları Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Benzer şekilde *OBSL1* mutasyonu olan hastaların vertebra grafisi bulguları Şekil 4.11'de, ekstremitte grafisi bulguları Şekil 4.12'de, el grafisi bulguları Şekil 4.13'te, pelvis grafisi bulguları Şekil 4.14'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. *CUL7* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri.  
Yüksek vertebra, artmış lordozis ve skolyoz bulgularına dikkat ediniz.



Şekil 4.8. *CUL7* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri.



Şekil 4.9. *CUL7* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-El grafileri.

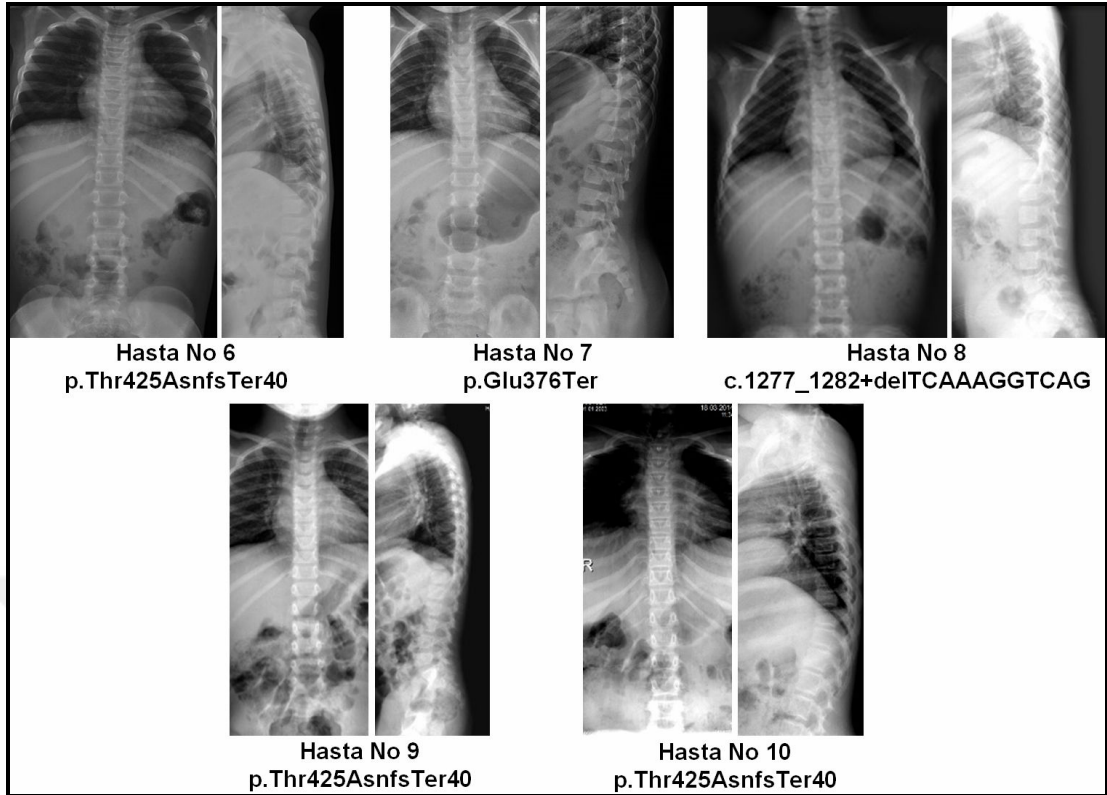
Kemik yaşında gerilik, metakarpal kemiklerdeki diafizyeal konstriksiyon bulgularına dikkat ediniz. Hasta No 1'in bulguları için Şekil 4.6'ya bakınız.



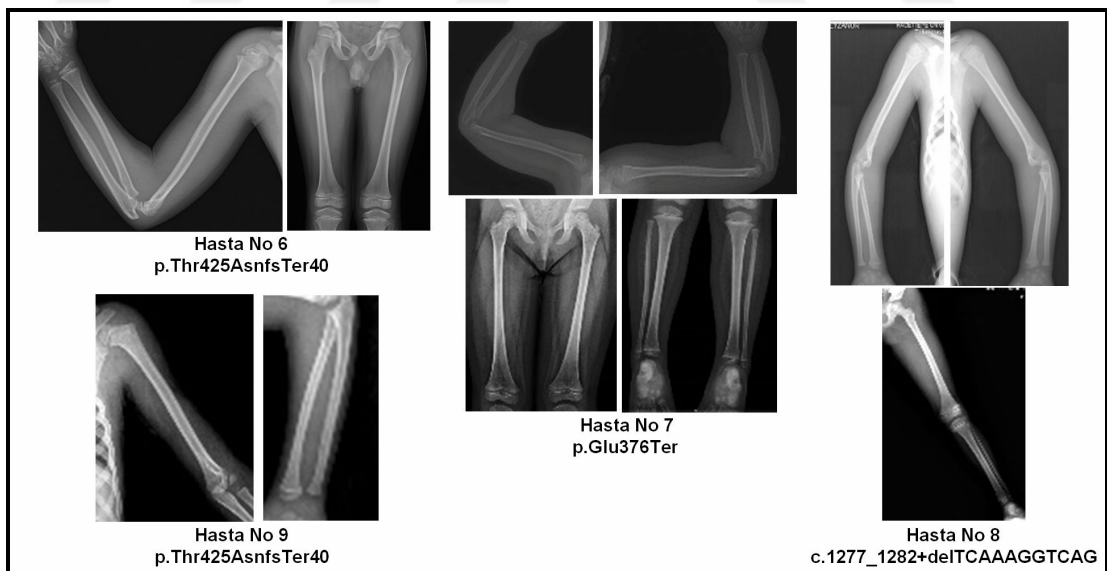
Şekil 4.10. *CUL7* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Pelvis grafileri.

Hafif basilar hipoplazi dışında belirgin bir patolojik bulgu saptanmamıştır.

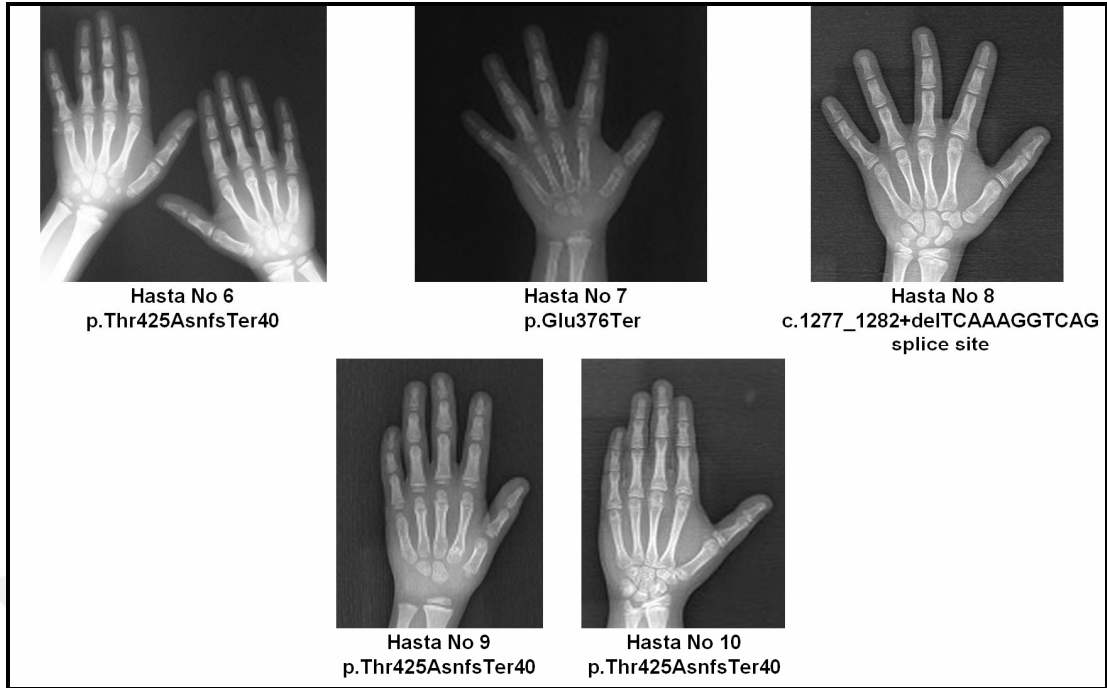




Şekil 4.11. *OSL1* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri.

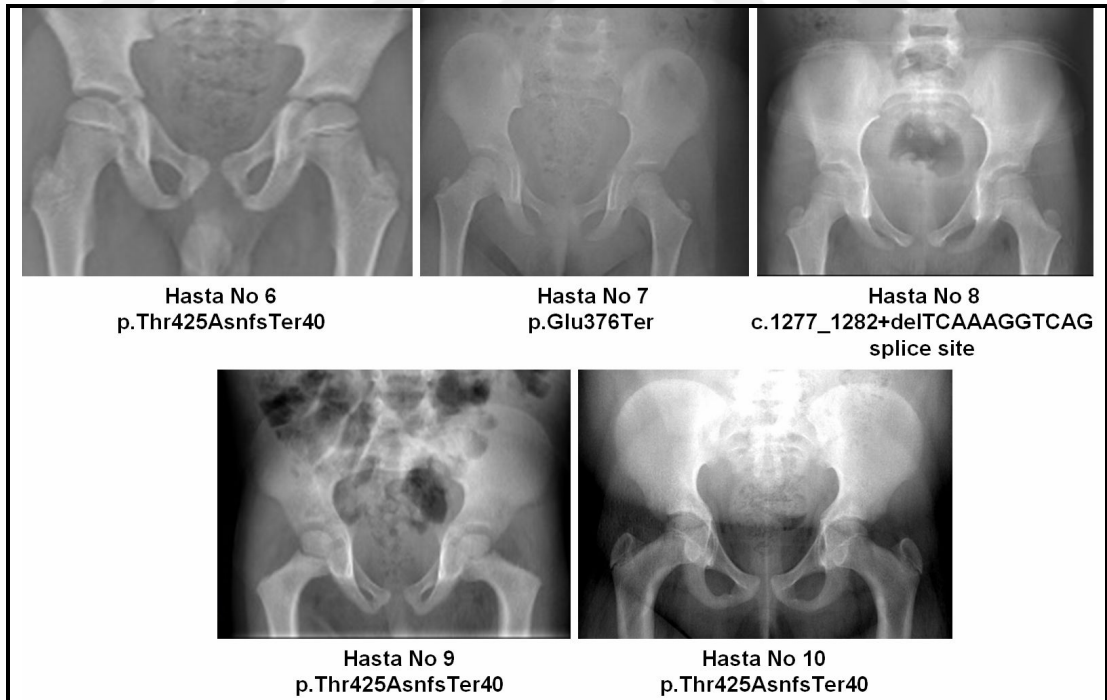


Şekil 4.12. *OSL1* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri. Uzun tübüler kemiklerdeki ince ve dar görünümüne dikkat ediniz.



Şekil 4.13. *OBSL1* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-El grafileri.

Kemik yaşında gerilik ve klinodaktili bulgularına dikkat ediniz.



Şekil 4.14. *OBSL1* mutasyonu olan hastaların radyolojik bulguları-Pelvis grafileri.

Hafif basilar hipoplazi dışında patolojik bir bulgu saptanmamıştır.

#### 4.4. Hastaların Mutasyon İncelemeleri

Çalışmaya dahil edilen 17 hastanın 10'unda (n=10/17, %58,8) 7 farklı homozigot *CUL7* veya *OBSL1* mutasyonu saptanmıştır (Tablo 4.3). Saptanan 7 farklı mutasyonun 3'ü yeni 4'ü ise daha önceden bildirilmiş mutasyonlardır. Mutasyon saptanan hastaların (n=10) 5'inde (%50) 4 farklı *CUL7* mutasyonu, 5'inde (%50) 3 farklı *OBSL1* mutasyonu saptanmıştır.

Hasta No 1'de *CUL7*'nin 6. ekzonunda c.1482G>A [p.Trp494Ter] mutasyonu saptanmıştır. *Nonsense* tipte bir mutasyon olan bu mutasyon protein sentezinin prematür terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmiştir.

Hasta No 2'ye prenatal dönemde letal iskelet displazisi şüphesi ile tıbbi terminasyon uygulanmış, daha sonra yapılan radyolojik ve patolojik incelemeler sonrasında bulguların 3M sendromu ile uyumlu olabileceği düşünülmüş ve çalışmaya dahil edilmiştir. Terminasyon sonrasında elde edilen DNA örneğinden yapılan DNA dizi analizinde *CUL7*'nin 10. ekzonunda c.2242C>T [p.Gln748Ter] mutasyonu saptanmıştır. *Nonsense* tipte bir mutasyon olan bu mutasyon protein sentezinin prematür terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmiştir.

Hasta No 3'te *CUL7*'nin 20. ekzonunda c.3685C>T [p.Gln1229Ter] mutasyonu saptanmıştır. *Nonsense* tipte bir mutasyon olan bu mutasyon protein sentezinin prematür terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmiştir.

Hasta No 4 ve Hasta No 5 kardeşlerdir. Anne ve babaları arasında 1. derece kuzen evliliği vardır. Her iki hastada da *CUL7*'nin 2. ekzonunda c.361\_362insT [p.Met121IlefsTer5] mutasyonu saptanmıştır. Çerçeve kayması / *frameshift* tipinde mutasyon olup protein sentezinin 5 amino asit sonra terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmemiştir.

Hasta No 6'da *OBSL1*'in 3. ekzonunda c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40] mutasyonu saptanmıştır. Çerçeve kayması / *frameshift* tipinde mutasyon olan bu mutasyon protein sentezinin 40 amino asit sonra terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmiştir.

Hasta No 7'de *OBSL1*'ın 2. ekzonunda c.1125\_1126insT [p.Glu376Ter] mutasyonu saptanmıştır. *Nonsense* tipte olan bu mutasyon protein sentezinin prematür terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmemiştir.

Hasta No 8'de *OBSL1*'ın 2. ekzonunda c.1277\_1282+5delTCAAAGGTCAG mutasyonu saptanmıştır. Bu mutasyon bir *splice site* mutasyonudur. Daha önce bildirilmemiştir.

Hasta No 9 ve Hasta No 10 kardeşirler. Anne ve babaları arasında 1.derece kuzen evliliği vardır. Her iki hastada da *OBSL1*'ın 3. ekzonunda c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40] mutasyonu saptanmıştır. Çerçeve kayması / *frameshift* tipinde mutasyon olan bu mutasyon protein sentezinin 40 amino asit sonra terminasyonuna neden olmaktadır. Daha önce bildirilmiştir.

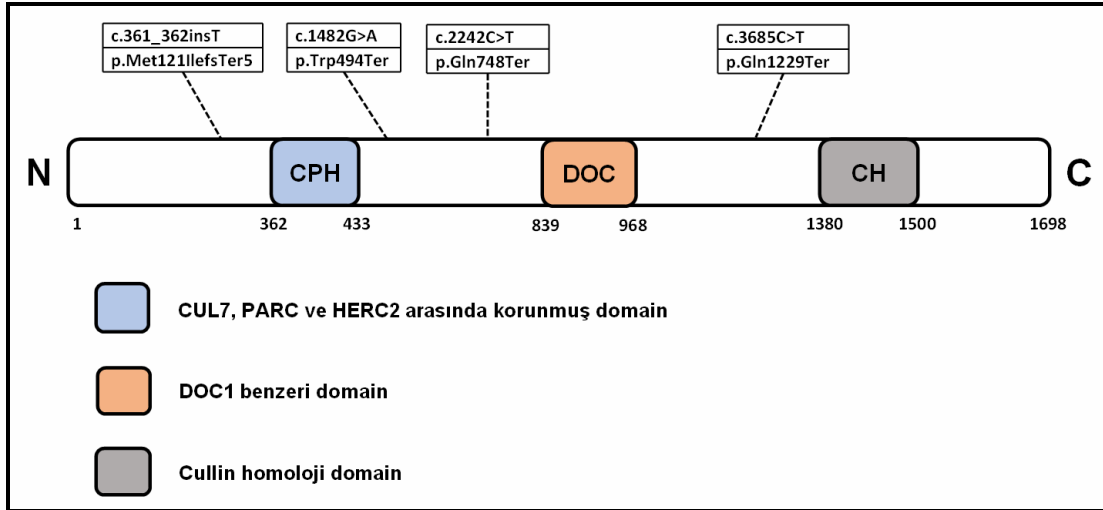
Hastaların hiçbirinde *CCDC8*'de mutasyon saptanmamıştır. Mutasyon saptanan hastaların anne ve babalarının aynı mutasyon için heterozigot taşıyıcı oldukları segregasyon çalışmaları ile gösterilmiş ve ailelere gerekli genetik danışma hizmeti verilmiştir. *CUL7* ve *OBSL1*'de saptanan mutasyonlar ve gen üzerindeki yerleşimleri Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da gösterilmiştir.

Tablo 4.3. *CUL7* ve *OBSL1* genlerinde saptanan mutasyonlar.

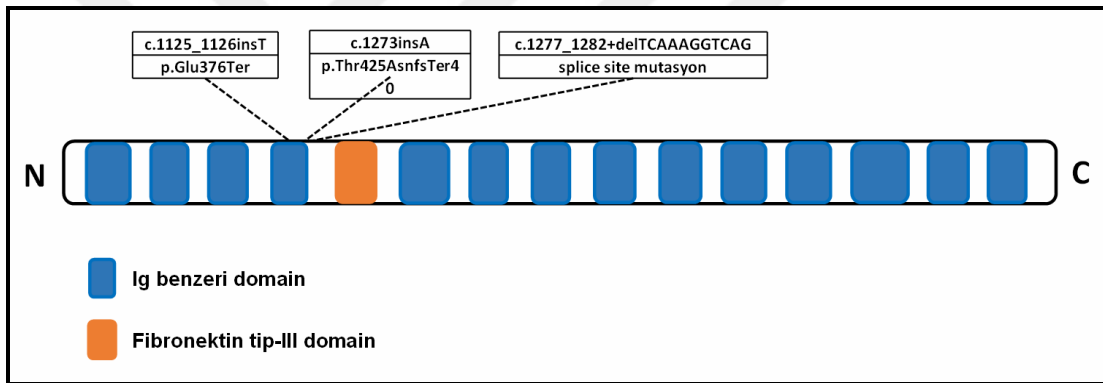
<i>CUL7</i>	<i>OBSL1</i>
Ekzon 2, c.361_362insT [p.Met121IlefsTer5]**	Ekzon 2, c.1125_1126insT [p.Glu376Ter] **
Ekzon 6, c.1482G>A [p.Trp494Ter]*	Ekzon 2, c.1277_1282+delTCAAAGGTCAG** <i>splice site</i>
Ekzon 10, c.2242 C>T [p.Gln748Ter]*	Ekzon 3, c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40]*
Ekzon 20, c.3685C>T [p.Gln1229Ter]*	

\*Daha önce bildirilmiş mutasyon

\*\*Daha önce bildirilmemiş mutasyon



Şekil 4.15. *CUL7*'de saptanan mutasyonların gen üzerindeki dağılımları.



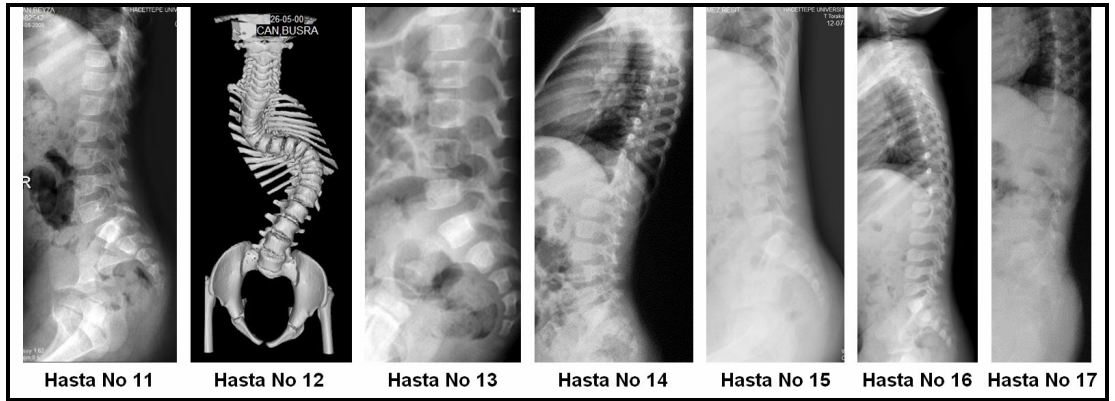
Şekil 4.16. *OBSL1*'de saptanan mutasyonların gen üzerindeki dağılımları.

#### 4.5. Mutasyon Saptanmayan Hastalar

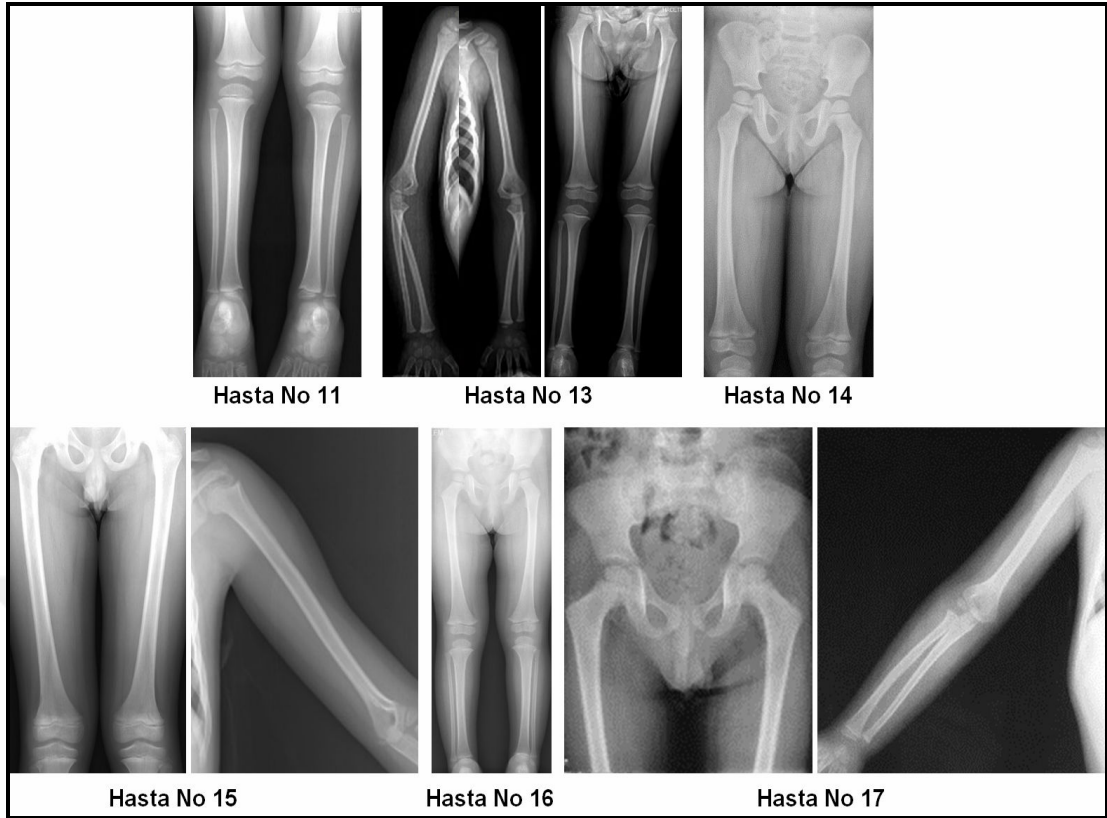
Çalışmaya dahil edilen 17 hastanın 7'sinde *CUL7*, *OBSL1* veya *CCDC8* genlerinden birinde herhangi bir mutasyon saptanmamıştır. Bu hastaların klinik fotoğrafları Şekil 4.17'de, radyografik bulgulardan bazıları Şekil 4.18 ve Şekil 4.19'da gösterilmiştir. Mutasyon saptanan ve saptanmayan tüm hastaların klinik, radyolojik ve moleküler genetik inceleme sonuçları tüm detayları ile EK 6, EK 7 ve EK 8'de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Mutasyon saptanmayan hastaların klinik fotoğrafları. Hasta No 11 ile Hasta No 12 ve Hasta No 15 ile Hasta No 16 kardeş olup bu hastaların anne ve babaları arasında 1. dereceden kuzen evliliği vardır.



Şekil 4.18. Mutasyon saptanmayan hastaların radyolojik bulguları-Vertebra grafileri. Hasta No 12'nin görüntüsü bilgisayarlı tomografi incelemesinden alınmıştır. Şiddetli rotatuvar skolyoz bulgusuna ve diğer hastalardaki yüksek vertebra ve artmış lordozis bulgularına dikkat ediniz.



Şekil 4.19. Mutasyon saptanmayan hastaların radyolojik bulguları-Ekstremite grafileri. Uzun tübüler kemiklerdeki ince ve dar görünümüne dikkat ediniz.

## 5. TARTIŞMA

3M sendromu şiddetli büyüme geriliği, tipik yüz özellikleri, normal zeka ve bazı iskelet sistemi bulguları ile karakterize, otozomal resesif kalıtım gösteren nadir bir sendromdur. 3M sendromu etiolojisinde şimdiye kadar *CUL7*, *OBSL1* veya *CCDC8* genlerinde fonksiyon kaybı ile karakterize mutasyonlar bildirilmiştir (13-16). Bununla beraber bilinen genlerde herhangi bir mutasyon saptanmayan 3M sendromlu bir grup hastanın varlığı genetik etioloji açısından heterojen olduğu kabul edilen 3M sendromu etiolojisinde başka gen/genlerin de etkili olabileceğini (3, 4) ve bu genlerin muhtemelen ortak bir yolak üzerinde bulduklarını düşündürmektedir (4, 8, 16, 21).

Bu çalışmada 3M sendromlu bir grup hastadaki klinik ve radyolojik bulgular incelenmiş, moleküler etioloji açığa çıkarılmış ve genotip-fenotip ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmaya 3M sendromlu 16 yaşayan hasta ve 1 fetüs olmak üzere toplam 13 aileden 17 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların 10'unda (n=10/17, %58,8) 3'ü yeni 4'ü daha önce bildirilmiş olmak üzere 7 farklı homozigot *CUL7* veya *OBSL1* mutasyonu saptanmıştır. Mutasyon saptanan 10 hastanın 5'inde (%50) *CUL7*, 5'inde (%50) *OBSL1* mutasyonu saptanmıştır. Hastaların hiçbirinde *CCDC8* mutasyonu saptanmamıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda 3M sendromunun en sık (~%70-75) nedeni olarak *CUL7* mutasyonları bildirilse de (4, 8, 13, 21) bu çalışmada *CUL7* mutasyon sıklığı (%50) literatürde bildirilenden (%70-75) daha düşük saptanmıştır. *OBSL1* mutasyonlarının 3M sendromlu hastaların yaklaşık olarak %16 (3, 4) ile %28'inden (8, 21) sorumlu olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada mutasyon saptanan hastaların yarısında *OBSL1* mutasyonu tespit edilmiş olup *OBSL1* mutasyon sıklığının ise literatürde bildirilenden (%16-28) daha yüksek (%50) olduğu görülmüştür. *OBSL1*'in 3. ekzonunda bulunan c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40] mutasyonu çalışmaya dahil edilen hastaların 3'ünde saptanan bir mutasyondur. Bu hastalardan ikisi kardeş olup Afganistan'dan, 1 hasta ise Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinden başvurmuştur. Bu mutasyon daha önce başka araştırmacılar tarafından da hem Türk hem diğer popülasyonlara ait hastaların değerlendirildiği çalışmalarda



bildirilmiştir (14, 52). Bu yayınlarda yer alan hastaların etnik kökenleri tam olarak bilinmese de bu bulgu Türk toplumundaki bir kurucu mutasyon etkisini yansıtır olabilir. Bu konuda daha çok sayıda hastanın değerlendirildiği geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

3M sendromu prevalansı tam olarak bilinmemekle birlikte bu sendrom literatürde “nadir hastalık” olarak kabul edilmektedir (3). Nadir hastalık; Avrupa’da genel popülasyonda sıklığın 2000’de 1’in altında olduğu, ABD’de ise nüfusun 200.000’den azının etkilendiği hastalık olarak tanımlanmaktadır (100). Genel olarak otozomal resesif kalıtım gösteren nadir hastalıkların görülme sıklıklarının akraba evliliği oranının yüksek olduğu ülkelerde beklenenin üzerinde olduğu tahmin edilmektedir (101-103). Türkiye akraba evliliği oranının yüksek olduğu (%22) (102) ve bu nedenle batı literatüründe nadir görüldüğü bildirilen ve çoğu otozomal resesif kalıtım gösteren hastalıkların sık görüldüğü bir ülkedir (101, 103). Ülkemizde şimdiye kadar 3M sendromu prevalansı ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmasa da iskeletin genetik hastalıkları ile ilgili son zamanlarda ülkemizden yapılmış ilk geniş çaplı retrospektif bir çalışmaya göre klinik tanının akondroplazi veya osteogenezis imperfekta gibi sıklıkla otozomal dominant geçiş gösteren bir hastalık olmayıp, otozomal resesif kalıtım gösteren başka bir hastalık olduğu durumlarda bu hastalığın görülme sıklığının literatürde bildirilenin çok daha üzerinde olduğu bildirilmiştir (103). Aynı çalışmada akraba evliliği oranının “İskeletin Genetik Hastalıkları” grubunda %53-79'lara kadar çıktığına dikkat çekilmiştir (103). Bu nedenle yüksek bir akraba evliliği oranına sahip ülkemizde otozomal resesif kalıtım gösteren 3M sendromunun literatürde bildirilen sıklığın üzerinde bir sıklıkta görülebileceği öngörülebilmektedir.

3M sendromu ile ilgili şimdiye kadar herhangi bir genotip-fenotip ilişkisi bildirilmemiştir (3, 4). Bununla beraber bazı iskelet bulgularının *CUL7* mutasyonu olan hastalarda daha nadir görüldüğü (47) ve boy SD skorunun *CUL7* mutasyonu olan hastalarda daha düşük olduğu (104) ileri sürülmektedir. Bu çalışmada da *CUL7* ve *OBSL1* mutasyonu olan gruplar arasında radyolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Gerek *CUL7* gerek *OBSL1*

mutasyonu olan hastaların klinik ve radyolojik bulgularının 2 grup arasında homojen bir özellik gösterdiği, yüksek vertebra, uzun tübüler kemiklerde ince ve dar görünüm ve kemik yaşında gerilik gibi bulguların hemen hemen bütün hastalarda saptandığı dikkat çekmiştir. Bununla beraber 3M sendromlu hastalardaki radyolojik bulguların değişken olabildikleri de bilinmektedir (8). Benzer durum hastaların yüz özellikleri için de geçerlidir. Gerek *CUL7* gerek *OBSL1* mutasyonu olan hastalarda benzer yüz özellikleri saptanmıştır ( $p>0,05$ ).

Kısıtlı hasta sayısına rağmen bu çalışmada *CUL7* mutasyonu olan hastaların doğum vücut ağırlıklarının *OBSL1* mutasyonu olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu görülmüştür ( $p=0,016$ ). Bununla beraber hastaların başvuru sırasındaki boy SD skoru ve vücut kitle indeksi z skoru açısından *CUL7* mutasyonu olan grup ile *OBSL1* mutasyonu olan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p$  değerleri sırasıyla,  $p=0,111$ ;  $p>0,05$ ). Bu konuda genotip-fenotip korelasyonu kurulabilmesi için daha fazla sayıda hastanın değerlendirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

3M sendromundaki büyüme geriliğinin oluş mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bu durumun temel hücrel büyümedeki anormallikler ve hücrelerin büyüme faktörlerine olan cevaplarındaki değişikliklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (8, 14, 21, 104). *CUL7*'nin büyümenin yeni bir düzenleyicisi olduğu ile ilgili farklı ve birbirinden bağımsız iki çalışmada *CUL7* mutasyonları kalıtsal bir büyüme geriliği sendromu olan 3M sendromu ile ilişkilendirilmiştir (13, 47). *CUL7*<sup>-/-</sup> fare çalışmalarında da şiddetli intrauterin büyüme kısıtlılığı olduğu, bu farelerin ileri gestasyonel evrelerde daha düşük doğum ağırlığı ve plasental anomalilerle doğdukları, *cullin* ailesinin diğer üyelerinin disrupsiyona uğratıldığı durumlarda erken embriyonik ölümler gerçekleşirken, özellikle *CUL7*'nin *knock-out* edildiği farelerde anomalilerin ileri gestasyonel evrelerde ortaya çıktıkları gösterilmiştir (105-108). Bunun yanı sıra *FBW8* gen delesyonu olan farelerde *CUL7*<sup>-/-</sup> farelerdekine benzer bir fenotipin geliştiği (109-110), bununla beraber *CUL7*<sup>-/-</sup> farelerde yenidoğan döneminde şiddetli respiratuvar distress bulgusu saptanırken, *FBW8* gen delesyonu olan farelerde daha hafif bir kliniğin olduğu ve plasenta ve büyüme anomalilerinin

izlendiği bildirilmiştir (19). Bu nedenle *CUL7*'nin büyüme üzerindeki düzenleyici fonksiyonunu tam olarak gösterebilmesi için *FBW8*'e ihtiyaç duyduğu şeklinde bir sonuca varılmıştır (19). *CUL7* ve *FBW8* ekspresyon profilinin E3 ligaz aktivitesi ile bir korelasyon gösterip göstermediği, gösteriyorsa bunun nasıl bir korelasyon olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir (19). Bununla beraber 3M sendromu patogenezinde *CUL7* E3 ligazın proteolitik aktivitesindeki düşüklüğün en önemli mekanizma olduğu tahmin edilmektedir (19). IRS-1'in *CUL7*E3 ligazın proteolitik bir hedefi olduğunun ortaya çıkarılmasının bu konunun aydınlanmasında önemli bir aşama olduğu kabul edilmektedir (33). *CUL7*, IRS-1'in mTOR dayalı bir şekilde ubiquitinasyonu ve yıkımından sorumludur (33). Bilindiği üzere IRS-1; insülin/IGF-1 sinyal yolağının önemli ve kritik bir medyatörüdür (34). IGF-1 (111) ve IGF1-1 reseptörlerinde (112-114) meydana gelen fonksiyon kaybı mutasyonlarının IGF-1 yolağının aktivitesini etkileyerek şiddetli büyüme geriliğine yol açtığı bilinmektedir. Fare çalışmalarından elde edilen sonuçlar da IGF-1 sinyalizasyonunun büyüme üzerindeki rolünü vurgulamaktadır (19). *CUL7*<sup>-/-</sup> farelerden elde edilen embriyonik fibroblastlarda *CUL7* E3 ligazın iyi fonksiyon göstermemesi sonucunda, IRS-1'in aşırı miktarda biriktiği ve IRS-1'in *downstream*'inde bulunan PI3K/Akt ve RAS-MAPK yolaklarının aktive oldukları, bunun sonucunda da hücre büyümesinin şiddetli bir biçimde etkilendiği ve hücrelerde yaşlanma belirtilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (19, 33).

3M sendromlu hastaların endokrinolojik fonksiyonlarının normal olduğu bildirilmişse de (1, 5, 9-11), bugün 3M sendromunun bir özelliğinin de GH-IGF-IGFBP aks disregülasyonu olduğu düşünülmektedir (8, 51, 52). 3M sendromlu hastaların fibroblast örneklerinden elde edilen hücre hatlarında yapılan ekspresyon çalışmalarında IGFBP düzeylerinde IGFBP2 ve IGFBP5 RNA düzeyinde (52); IGFBP2, IGFBP5 ve IGFBP7 protein düzeyinde (51) olacak şekilde bazı değişiklikler tanımlanmıştır (104). Transgenik fare çalışmalarında ise artmış *igfbp5* ekspresyonunun bütün vücutta büyüme inhibisyonuna yol açtığı gösterilmiştir (115, 116). *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8* mutasyonları olan hastalardan alınan fibroblast örneklerinden elde edilen hücre hatlarının kullanıldığı ve büyüme hormonu veya

IGF1'e olan sinyal cevaplarının ve GH-IGF aksının değerlendirildiği bir çalışmada IGFBP düzeylerinde ve IGF-1 sinyal iletiminde bazı değişiklikler saptanmıştır (51). Hastaların çoğunluğunda normal *peak* serum GH ve normal/düşük IGF1 düzeylerinin saptandığı, IGFBP üretiminin düzensiz olduğu, GH uygulamasına verilen STAT5b ve MAPK cevabının kontrol grupları ile karşılaştırıldığında *CUL7*<sup>-/-</sup> hücrelerde normal, *OBSL1*<sup>-/-</sup> ve *CCDC8*<sup>-/-</sup> hücrelerde düşük olduğu; IGF1 uygulamasına verilen AKT cevabının *CUL7*<sup>-/-</sup> ve *OBSL1*<sup>-/-</sup> hücrelerde azalmış, *CCDC8*<sup>-/-</sup> hücrelerde normal olduğu, bu durumun GH ve/veya IGF-1 direncinin bir yansıması olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (51). *CUL7*<sup>-/-</sup> hücrelerde IGF-1, *CCDC8*<sup>-/-</sup> hücrelerde GH ve *OBSL1*<sup>-/-</sup> hücrelerde hem GH hem de IGF-1 sinyal yollarının bozuk olması GH-IGF-IGFBP aksının regülasyon bozukluğunun bir göstergesi olduğu düşünülmektedir (51). Bunun yanı sıra 3M sendromlu hastalardan elde edilen fibroblast örneklerden elde edilen hücre hatlarında yapılan transkriptom analizlerinde azalmış IGF2 ekspresyonu saptanmıştır (104). IGF2 ekspresyonundaki azalmanın oluş mekanizması henüz tam olarak bilinmemekle birlikte bu azalmanın SRS'nin etiyolojisinde yer alan DMR'de H19 hipometilasyonu ile ilgili olmadığı düşünülmektedir (104).

Dökümanite edilmiş büyüme hormonu eksikliği olması durumunda 3M sendromlu hastalara rhGH tedavisi başlanması önerilmektedir (3). Moleküler mekanizması tam olarak bilinmese de bu hastalarda rhGH tedavisine değişken bir cevap alınabilmektedir (8, 104). Bununla beraber 3M sendromlu çocukların rhGH tedavisine verdikleri cevabın diğer nedenlerden dolayı SGA'lı doğan çocukların rhGH tedavisine verdikleri cevaba göre daha kötü olduğu bildirilmektedir (8). Yine de 3M sendromlu hastalarda rhGH tedavisi ile ilgili net olarak gösterilmiş bir etkinlik yoktur (4). Bu konuda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

*CUL7*'nin endokondral osifikasyon ve kondrogenез süreçlerini de içine alacak şekilde in-utero dönemden itibaren büyüme süreçlerinde önemli bir fonksiyon gösterdiği düşünülmektedir (8). Prenatal ve postnatal büyüme geriliği bulgusu ile birlikte iskelet bulgularının beraber bulunması bu düşüncüyü destekler şekilde *CUL7*'nin endokondral osifikasyon süreçlerinde önemli rol oynadığının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (13). 3M sendromlu bir fetüsün femurundan alınan

büyüme plağı üzerinde yapılan incelemelerde kondrosit yoğunluğunda artış ve *resting* ve *proliferative* zonlarda matris üretiminde defektler saptanmış ve *CUL7*'nin kondrosit büyümesi ve proliferasyonu üzerinde rol oynadığı ileri sürülmüştür (13). Bu çalışmada iskelet sistemi bulgularından; yüksek vertebra, ince ve dar görünümlü uzun tübüler kemikler, kemik yaşında gerilik ve 5. parmakta klinodaktili ve *pes planus* bulguları *CUL7* ve *OBSL1* mutasyonu saptanan hastaların çoğunluğunda belirgin topuk bulgusubütün hastalarda saptanmıştır. *CUL7* mutasyonu olan 3 hastada skolyoz bulgusu saptanırken *OBSL1* mutasyonu olan hastalarda skolyoz tespit edilmemiştir. İlginç olarak 3M sendromunun sık rastlanılan bir bulgusu olarak değerlendirilen gelişimsel kalça displazisi bulgusu bu çalışmada yer alan hastaların hiçbirinde saptanmamıştır. 3M sendromlu hastalarda düşük doğum boyu ve kilosunun kalça muayenesini güçleştirdiği, ligaman laksitesinin kalça dislokasyonuna yatkınlık oluşturduğu bu nedenle bu hastalarda kalça dislokasyonu teşhis ve tedavisinde güçlükler yaşanabileceği bilinmektedir (65). 3M sendromlu hastaların mümkün olduğunca erken bir dönemde bir pediatrik ortopedi uzmanı tarafından değerlendirilmeleri önerilmektedir. Geç başvuru ve hastaların teşhisinde gecikmeler yaşanması bu hastalarda sıklıkla bulunan eklem laksitesi zemininde, başlangıç tedavisi kapsamında uygulanacak cilt traksiyonu işleminin başarısız olmasına ve komplikasyon gelişimine neden olacaktır (65).

Mutasyon saptanmayan hastalarda (özellikle Hasta No 11, Hasta No 12, Hasta No 14 ve Hasta No 15) mutasyon saptanan hastalardakine benzer klinik ve radyolojik bulgular olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde hastaların fenotipik olarak homojen özellikler gösterdikleri anlaşılmıştır. *CUL7* mutasyonu olan hastalar ve *OBSL1* mutasyonu olan hastalar arasında klinik ve radyolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamış olup bu durum literatürde bildirilen 3M sendromunun klinik bulgularının homojen özellikte olduğu bilgisiyle uyumludur (3, 4, 8, 15). Klinik ve radyolojik bulguları 3M sendromu ile uyumlu olan ve yapılan DNA dizi analizinde *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8*'de herhangi bir mutasyon saptanmayan hastalarda *CUL7*, *OBSL1* ve *CCDC8*'in de içinde olduğu ortak büyüme yolağında yer alan başka gen/genlerde patolojik

değişiklik/değişiklikler olabileceği düşünülmektedir. Hasta 11-12 ve Hasta 14-15 kardeştir ve bu hastaların ebeveynleri arasında akraba evliliği (1. derece kuzen evliliği) bulunmaktadır. Bu bilgi, ailedeki fenotipten sorumlu olan genetik etkenin homozigot durumda bulunması ihtimalini güçlendirmektedir. Bununla beraber şimdiye kadar tanımlanan üç gende mutasyon saptanmamış olması, ileri moleküler genetik analizlerin yapılması noktasında teşvik edici bir unsurdur. Özellikle genetik haritalama/ekzom dizileme stratejisi ile 3M sendromuna sebep olan yeni bir genetik etkenin tanımlanması söz konusu olabilir. Bu hipotez, bağımsız ve yeni bir projenin çıkış noktasını oluşturabilir. Bu konunun aydınlatılabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu açıktır.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. 3M sendromu tanısı klinik bir tanıdır. 3M sendromu klinik bulgular açısından homojen özellikleri olan bir sendromdur. Mutasyon saptanan hastalar arasında klinik ve radyolojik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu durum literatür ile uyumludur.
2. 3M sendromu genetik etiyoloji açısından heterojen bir sendromdur. 3M sendromu klinik tanısı olup, bilinen genlerde mutasyon saptanmayan bir grup hastadaki klinik ve radyolojik bulgular mutasyon saptanan grupla benzerlik göstermektedir.
3. Çalışmaya dahil edilen hastaların %82'inin anne ve babaları arasında 1. derece kuzen evliliği vardır. Türkiye'deki akraba evliliği oranının %22 olduğu göz önünde bulundurulacak olursa çalışmada saptanan akraba evliliği oranı bazı nadir görülen otozomal resesif kalıtım gösteren hastalıkların aralarında akrabalık olan ailelerde daha sık görüldüğü bilgisi ile uyumludur.
4. Mutasyon saptanan 3M sendromlu hastaların %50'sinden *CUL7*, %50'sinden *OBSL1* mutasyonları sorumludur. Bu sıklıklar literatürde 3M sendromu etiyolojisinde yer alan gen mutasyonları ile ilgili bildirilen sıklıklardan farklıdır. Bu çalışmada *OBSL1* mutasyon sıklığı literatürde bildirilenden daha yüksek saptanmıştır. Daha önceden tanımlanmış bir mutasyon olan *OBSL1* geni 3. ekzonunda yer alan c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40] mutasyonu bu çalışmada 2'si kardeş 3 hastada saptanmıştır. Çerçeve kayması / *frameshift* mutasyonu tipinde olan bu mutasyon protein sentezinin 40 amino asit sonra terminasyonuna neden olmaktadır. Bu mutasyon daha önce başka araştırmacılar tarafından da hem Türk hem de diğer popülasyonlara ait hastalarda bildirilmiştir. Bu yayınlarda yer alan hastaların etnik kökenleri tam olarak bilinmese de bu bulgu Türk toplumundaki bir kurucu mutasyon etkisini yansıtır olabilir.

Bu konuda daha çok sayıda hastanın değerlendirildiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. 3M sendromu etiyolojisinde daha önce bildirilmemiş olan *CUL7* üzerinde 1 yeni çerçeve kayması / *frameshift* mutasyonu (c.361\_362insT [p.Met121IlefsTer5]), *OBSL1* üzerinde 1 yeni *splice site* mutasyonu (c.1277\_1282+5delTCAAAGGTCAG) ve 1 yeni çerçeve kayması / *frameshift* mutasyonu (c.1125\_1126insT[p.Glu376Ter]) olmak üzere 2 yeni mutasyon saptanmıştır. Bu mutasyonların protein sentezinin erken sonlanmasına yol açarak proteinde fonksiyon kaybına neden oldukları tahmin edilmektedir.
6. Kısıtlı hasta sayısına rağmen *CUL7* mutasyonu olan hastaların doğum vücut ağırlıklarının *OBSL1* mutasyonu olan hastalara göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde düşük olduğu saptanmıştır. Bununla beraber *CUL7* mutasyonu olan hastalar ile *OBSL1* mutasyonu olan hastalar ve mutasyon olan ve mutasyon olmayan hastalar arasında başvuru sırasındaki boy SD skorları ve vücut kitle indeksi z skoru açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu konuda bir genotip-fenotip ilişkisi kurabilmek için daha çok sayıda hastanın değerlendirildiği daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.
7. Çalışmaya dahil olan hastaların hiç birisinde 3M sendromunda sık rastlanılan bir bulgu olarak bildirilen gelişimsel kalça displazisi bulgusu saptanmamıştır.
8. 3M sendromlu olup herhangi bir mutasyon saptanmayan hastalardaki klinik ve radyolojik bulgular ile mutasyon saptanan hastalardaki bulgular arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu durum mutasyon saptanmayan hastalarda da 3M sendromu etiyolojisinde yer alan genlerle aynı yolağını paylaşan diğer bazı gen mutasyonlarının söz konusu olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda ileri genetik testler planlanabilir.



**KAYNAKLAR**

1. Miller, J.D., McKusick, V.A., Malvaux, P., Temtamy, S. ve Salinas, C. (1975). The 3-M syndrome: a heritable low birthweight dwarfism. *Birth Defects Original Article Series*, 11 (5), 39-47.
2. Mueller, R.F., Buckler, J., Arthur, R., Bonsor, G., Dear, P., Walters, K. ve diğeri. (1992). The 3-M syndrome: risk of intracerebral aneurysm? *Journal of Medical Genetics*, 29(6), 425-427.
3. Holder-Espinasse, M. (1993). 3-M Syndrome, *Gene Reviews*. Pagon, Seattle (WA).
4. Huber, C., Munnich, A. ve Cormier-Daire, V. (2011). The 3M syndrome. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 25(1), 143-151.
5. van der Wal, G., Otten, B.J., Brunner, H.G. ve van der Burgt, I. (2001). 3-M syndrome: description of six new patients with review of the literature. *Clinical Dysmorphology*, 10(4), 241-252.
6. Holder-Espinasse, M., Irving, M. ve Cormier-Daire, V. (2014). Clinical utility gene card for: 3-M syndrome-update 2013. *European Journal of Human Genetics*, 22(4), e1-e4.
7. Bonafe, L., Cormier-Daire, V., Hall, C., Lachman, R., Mortier, G., Mundlos, S. ve diğeri. (2015). Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. *American Journal of Medical Genetics A*, doi: 10.1002/ajmg.a.37365.
8. Clayton, P.E., Hanson, D., Magee, L., Murray, P.G., Saunders, E., Abu-Amero, S.N. ve diğeri. (2012). Exploring the spectrum of 3-M syndrome, a primordial short stature disorder of disrupted ubiquitination. *Clinical Endocrinology*, 77(3), 335-342.

9. Spranger, J., Opitz, J.M. ve Nourmand, A. (1976). A new familial intrauterine growth retardation syndrome the "3-M syndrome". *European Journal of Pediatrics*, 123(2), 115-124.
10. Winter, R.M., Baraitser, M., Grant, D.B., Preece, M.A. ve Hall CM. (1984). The 3-M syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 21(2), 124-128.
11. Hennekam, R.C., Bijlsma, J.B. ve Spranger, J. (1987). Further delineation of the 3-M syndrome with review of the literature. *American Journal of Medical Genetics*, 28(1), 195-209.
12. Fuhrmann, W., Nägele, E., Gugler, R. ve Adili, E. (1972). Familial dwarfism with disproportionately high vertebral bodies. *Humangenetik*, 16(4), 271-282.
13. Huber, C., Dias-Santagata, D., Glaser, A., O'Sullivan, J., Brauner, R., Wu, K. ve diğerleri. (2005). Identification of mutations in CUL7 in 3-M syndrome. *Nature Genetics*, 37(10), 1119-1124.
14. Hanson, D., Murray, P.G., Sud, A., Temtamy, S.A., Aglan, M., Superti-Furga, A. ve diğerleri. (2009). The primordial growth disorder 3-M syndrome connects ubiquitination to the cytoskeletal adaptor OBSL1. *American Journal of Human Genetics*, 84(6), 801-806.
15. Huber, C., Delezoide, A.L., Guimiot, F., Baumann, C., Malan, V., Le Merrer, M. ve diğerleri. (2009). A large-scale mutation search reveals genetic heterogeneity in 3M syndrome. *European Journal of Human Genetics*, 17(3), 395-400.
16. Hanson, D., Murray, P.G., O'Sullivan, J., Urquhart, J., Daly, S., Bhaskar, S.S. ve diğerleri. (2011). Exome sequencing identifies CCDC8 mutations in 3-M syndrome, suggesting that CCDC8 contributes in a pathway with CUL7 and OBSL1 to control human growth. *American Journal of Human Genetics*, 89(1), 148-153.
17. Arai, T., Kasper, J.S., Skaar, J.R., Ali, S.H., Takahashi, C. ve DeCaprio, J.A. (2003). Targeted disruption of p185/Cul7 gene results in abnormal vascular

morphogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(17), 9855-9860.

18. Dias, D.C., Dolios, G., Wang, R. ve Pan, Z.Q. (2002). CUL7: A DOC domain-containing cullin selectively binds Skp1.Fbx29 to form an SCF-like complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), 16601-16606.
19. Sarikas, A., Xu, X., Field, L.J. ve Pan, Z.Q. (2008). The cullin7 E3 ubiquitin ligase: a novel player in growth control. *Cell Cycle*, 7(20), 3154-3161.
20. Kaustov, L., Lukin, J., Lemak, A., Duan, S., Ho, M., Doherty, R. ve diğeri. (2007). The conserved CPH domains of Cul7 and PARC are protein-protein interaction modules that bind the tetramerization domain of p53. *The Journal of Biological Chemistry*, 282(15), 11300-11307.
21. Hanson, D., Murray, P.G., Black, G.C. ve Clayton, P.E. (2011). The genetics of 3-M syndrome: unravelling a potential new regulatory growth pathway. *Hormone Research in Paediatrics*, 76(6), 369-378.
22. Hershko, A. ve Ciechanover, A. (1998). The ubiquitin system. *Annual Review of Biochemistry*, 67, 425-479.
23. Majewski, F. ve Goecke, T. (1982). Studies of microcephalic primordial dwarfism I: approach to a delineation of the Seckel syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 12(1), 7-21.
24. Willems, A.R., Schwab, M. ve Tyers, M. (2004). A hitchhiker's guide to the cullin ubiquitin ligase s: SCF and its kin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1695(1-3), 133-170.
25. Pickart, C.M. (2001). Mechanisms underlying ubiquitination. *Annual Review of Biochemistry*, 70, 503-533.
26. Liu, F. ve Walters, K.J. (2010). Multitasking with ubiquitin through multivalent interactions. *Trends in Biochemical Sciences*, 35(6), 352-360.

27. Chen, Z. ve Lu, W. (2015). Roles of ubiquitination and SUMOylation on prostate cancer: mechanisms and clinical implications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(3), 4560-4580.
28. Petroski, M.D. ve Deshaies, R.J. (2005). Function and regulation of cullin-RING ubiquitin ligases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6(1), 9-20.
29. Wang, H., Chen, Y., Lin, P., Li, L., Zhou, G., Liu, G. ve diğerleri. (2014). The CUL7/F-box and WD repeat domain containing 8 (CUL7/Fbxw8) ubiquitin ligase promotes degradation of hematopoietic progenitor kinase 1. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(7), 4009-4017.
30. Fu, J., Lv, X., Lin, H., Wu, L., Wang, R., Zhou, Z. ve diğerleri. (2010). Ubiquitin ligase cullin 7 induces epithelial-mesenchymal transition in human choriocarcinoma cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(14), 10870-10879.
31. Litterman, N., Ikeuchi, Y., Gallardo, G., O'Connell, BC., Sowa, M.E., Gygi, S.P. ve diğerleri. (2011). An OBSL1-Cul7Fbxw8 ubiquitin ligase signaling mechanism regulates Golgi morphology and dendrite patterning. *PLoS Biology*, 9(5), e1001060.
32. Okabe, H., Lee, S.H., Phuchareon, J., Albertson, D.G., McCormick, F. ve Tetsu, O. (2006). A critical role for FBXW8 and MAPK in cyclin D1 degradation and cancer cell proliferation. *PLoS One*, 1, e128.
33. Xu, X., Sarikas, A., Dias-Santagata, D.C., Dolios, G., Lafontant, P.J., Tsai, S.C. ve diğerleri. (2008). The CUL7 E3 ubiquitin ligase targets insulin receptor substrate 1 for ubiquitin-dependent degradation. *Molecular Cell*, 30(4), 403-414.
34. Dearth, R.K., Cui, X., Kim, H.J., Hadsell, D.L. ve Lee, A.V. (2007). Oncogenic transformation by the signaling adaptor proteins insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2. *Cell Cycle*, 6(6), 705-713.

35. Alao, J.P. (2007). The regulation of cyclin D1 degradation: roles in cancer development and the potential for therapeutic invention. *Molecular Cancer*, 6, 24.
36. Lin, D.I., Barbash, O., Kumar, K.G., Weber, J.D., Harper, J.W., Klein-Szanto, A.J. ve diğerleri. (2006). Phosphorylation-dependent ubiquitination of cyclin D1 by the SCF (FBX4-alphaB crystallin) complex. *Molecular Cell*, 24(3), 355-366.
37. Andrews, P., He, Y.J. ve Xiong, Y. (2006). Cytoplasmic localized ubiquitin ligase cullin 7 binds to p53 and promotes cell growth by antagonizing p53 function. *Oncogene*, 25(33), 4534-4548.
38. Jung, P., Verdoodt, B., Bailey, A., Yates, J.R. 3rd, Menssen, A. ve Hermeking, H. (2007). Induction of cullin 7 by DNA damage attenuates p53 function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(27), 11388-11393.
39. Kasper, J.S., Arai, T. ve DeCaprio, J.A. (2006). A novel p53-binding domain in CUL7. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 348(1), 132-138.
40. Skaar, J.R., Florens, L., Tsutsumi, T., Arai, T., Tron, A., Swanson, S.K. ve diğerleri. (2007). PARC and CUL7 form atypical cullin RING ligase complexes. *Cancer Research*, 67(5), 2006-2014.
41. Kim, S.S., Shago, M., Kaustov, L., Boutros, P.C., Clendening, J.W., Sheng, Y. ve diğerleri. (2007). CUL7 is a novel antiapoptotic oncogene. *Cancer Research*, 67(20), 9616-9622.
42. Kasper, J.S., Kuwabara, H., Arai, T., Ali, S.H. ve DeCaprio, J.A. (2005). Simian virus 40 large T antigen's association with the CUL7 SCF complex contributes to cellular transformation. *Journal of Virology*, 79(18), 11685-11692.
43. Um, S.H., Frigerio, F., Watanabe, M., Picard, F., Joaquin, M., Sticker, M., ve diğerleri. (2004). Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity. *Nature*, 431(7005), 200-205.

44. Shah, O.J., Wang, Z. ve Hunter, T. (2004). Inappropriate activation of the TSC/Rheb/mTOR/S6K cassette induces IRS1/2 depletion, insulin resistance and cell survival deficiencies. *Current Biology*, 14(18), 1650-1656.
45. Harrington, L.S., Findlay, G.M., Gray, A., Tolkacheva, T., Wigfield, S., Rebholz, H. ve diğerleri.(2004). The TSC1-2 tumor suppressor controls insulin-PI3K signaling via regulation of IRS proteins. *Journal of Cell Biology*, 166(2), 213-223.
46. Inoki, K., Corradetti, M.N. ve Guan, K.L. (2005). Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease. *Nature Genetics*, 37(1), 19-24.
47. Maksimova, N., Hara, K., Miyashia, A., Nikolaeva, I., Shiga, A., Nogovicina, A. ve diğerleri. (2007). Clinical, molecular and histopathological features of short stature syndrome with novel CUL7 mutation in Yakuts: new population isolate in Asia. *Journal of Medical Genetics*, 44(12), 772-778.
48. Geisler, S.B., Robinson, D., Hauringa, M., Raeker, M.O., Borisov, A.B., Westfall, M.V. ve diğerleri. (2007). Obscurin-like 1, OBSL1, is a novel cytoskeletal protein related to obscurin. *Genomics*, 89(4), 521-531.
49. Fukuzawa, A., Lange, S., Holt, M., Vihola, A., Carmignac, V., Ferreira, A. ve diğerleri. (2008). Interactions with titin and myomesin target obscurin and obscurin-like 1 to the M-band: implications for hereditary myopathies. *Journal of Cell Science*, 121(11), 1841-1851.
50. Yan, J., Yan, F., Li, Z., Sinnott, B., Cappell, K.M., Yu, Y. ve diğerleri. (2014). The 3M complex maintains microtubule and genome integrity. *Molecular Cell*, 54(5), 791-804.
51. Hanson, D., Murray, P.G., Coulson, T., Sud, A., Omokanye, A., Stratta, E. ve diğerleri. (2012). Mutations in CUL7, OBSL1 and CCDC8 in 3-M syndrome lead to disordered growth factor signalling. *Journal of Molecular Endocrinology*, 49(3), 267-275.

52. Huber, C., Fradin, M., Edouard, T., Le Merrer, M., Alanay, Y., Da Silva, D.B. ve diğerleri. (2010). OBSL1 mutations in 3-M syndrome are associated with a modulation of IGFBP2 and IGFBP5 expression levels. *Human Mutation*, 31(1), 20-26.
53. Dai, C., Tang, Y., Jung, S.Y., Qin, J., Aaronson, S.A. ve Gu, W. (2011). Differential effects on p53-mediated cell cycle arrest vs. apoptosis by p90. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(47), 18937-18942.
54. Hershko, D.D. (2008). Oncogenic properties and prognostic implications of the ubiquitin ligase Skp2 in cancer. *Cancer*, 112(7), 1415-1424.
55. Walczak, C.E., Cai, S. ve Khodjakov, A. (2010). Mechanisms of chromosome behaviour during mitosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(2), 91-102.
56. Li, Z., Pei, X.H., Yan, J., Yan, F., Cappell, K.M., Whitehurst, A.W. ve diğerleri. (2014). CUL9 mediates the functions of the 3M complex and ubiquitylates survivin to maintain genome integrity. *Molecular Cell*, 54(5), 805-819.
57. Rauch, A., Thiel, C.T., Schindler, D., Wick, U., Crow, Y.J., Ekici, A.B. ve diğerleri. (2008). Mutations in the pericentrin (PCNT) gene cause primordial dwarfism. *Science*, 319(5864), 816-819.
58. Nikolaev, A.Y., Li, M., Puskas, N., Qin, J. ve Gu, W. (2003). Parc: a cytoplasmic anchor for p53. *Cell*, 112(1), 29-40.
59. Mirza, A., McGuirk, M., Hockenberry, T.N., Wu, Q., Ashar, H., Black, S. ve diğerleri. (2002). Human survivin is negatively regulated by wild-type p53 and participates in p53-dependent apoptotic pathway. *Oncogene*, 21(17), 2613-2622.
60. Hoffman, W.H., Biade, S., Zilfou, J.T., Chen, J. ve Murphy, M. (2002). Transcriptional repression of the anti-apoptotic survivin gene by wild type p53. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(5), 3247-3257.

61. Zhao, J., Tenev, T., Martins, L.M., Downward, J. ve Lemoine, N.R. (2000). The ubiquitin-proteasome pathway regulates survivin degradation in a cell cycle-dependent manner. *Journal of Cell Science*, 113 Pt 23, 4363-4371.
62. Temtamy, S.A., Aglan, M.S., Ashour, A.M., Ramzy, M.I., Hosny, L.A. ve Mostafa, M.I. (2006). 3-M syndrome: a report of three Egyptian cases with review of the literature. *Clinical Dysmorphology*, 15(2), 55-64.
63. Cantú, J.M., García-Cruz, D., Sánchez-Corona, J., Fragoso, R., Hernández, A. ve Nazará-Cazorla, Z. (1981). 3-M slender-boned nanism. An intrauterine growth retardation syndrome. *American Journal of Diseases of Children*, 135(10), 905-908.
64. Van Goethem, H. ve Malvaux, P. (1987). The 3-M syndrome. A heritable low birthweight dwarfism. *Helvetica Paediatrica Acta*, 42(2-3), 159-165.
65. Badina, A., Pejin, Z., Odent, T., Buzescu, A., Huber, C., Cormier-Daire, V. ve diğerleri. (2011). Hip dislocation in 3-M syndrome: risk of misdiagnosis. *Clinical Dysmorphology*, 20(2), 114-116.
66. Flannery, D.B. (1989). 3-M syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 32(2), 252-254.
67. Spranger, J. (1989). Radiologic nosology of bone dysplasias. *American Journal of Medical Genetics*, 34(1), 96-104.
68. Joseph, M.C. ve Meadow, S.R. (1969). The metacarpal index of infants. *Archives of Disease in Childhood*, 44(236), 515-516.
69. Thomas, S.M., Younger, K.A., Child, A. ve Wilson, A.G. (1996). Is the metacarpal index useful in the diagnosis of Marfan syndrome? *Clinical Radiology*, 51(8), 570-574.
70. Nelle, M., Tröger, J., Rupprath, G. ve Bettendorf, M. (1994). Metacarpal index in Marfan's syndrome and in constitutional tall stature. *Archives of Disease in Childhood*, 70(2), 149-150.



71. Le Merrer, M., Brauner, R. ve Maroteaux, P. (1991). Dwarfism with gloomy face: a new syndrome with features of 3-M syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 28(3), 186-191.
72. Feldmann, M., Gilgenkrantz, S., Parisot, S., Zarini, G. ve Marchal, C. (1989). 3M dwarfism: a study of two further sibs. *Journal of Medical Genetics*, 26(9), 583-585.
73. Davies, P.S., Valley, R. ve Preece, M.A. (1988). Adolescent growth and pubertal progression in the Silver-Russell syndrome. *Archives of Disease in Childhood*, 63(2), 130-135.
74. Silver, H.K., Kiyasu, W., George, J. ve Deamer, W.C. (1953). Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics*, 12(4), 368-376.
75. Russell, A. (1954). A syndrome of intra-uterine dwarfism recognizable at birth with cranio-facial dysostosis, disproportionately short arms and other anomalies (5 examples). *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 47(12), 1040-1044.
76. Price, S.M., Stanhope, R., Garrett, C., Preece, M.A. ve Trembath, R.C. (1999). The spectrum of Silver-Russell syndrome: a clinical and molecular genetic study and new diagnostic criteria. *Journal of Medical Genetics*, 36(11), 837-842.
77. Galli-Tsinopoulou, A., Emmanouilidou, E., Karagianni, P., Grigoriadou, M., Kirkos, J. ve Varlamis, G.S. (2008). A female infant with Silver Russell Syndrome, mesocardia and enlargement of the clitoris. *Hormones (Athens)*, 7(1), 77-81.
78. Rossignol, S., Netchine, I., Le Bouc, Y. ve Gicquel, C. (2008). Epigenetics in Silver-Russell syndrome. *Best Practice Research Clinical Endocrinology Metabolism*, 22(3), 403-414.

79. Bruce, S., Hannula-Jouppi, K., Peltonen, J., Kere, J. ve Lipsanen-Nyman, M. (2009). Clinically distinct epigenetic subgroups in Silver-Russell syndrome: the degree of H19 hypomethylation associates with phenotype severity and genital and skeletal anomalies. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 94(2), 579-587.
80. Eggermann, T., Wollmann, H.A., Kuner, R., Eggermann, K., Enders, H., Kaiser, P. ve diğerleri. (1997). Molecular studies in 37 Silver-Russell syndrome patients: frequency and etiology of uniparental disomy. *Human Genetics*, 100(3-4), 415-419.
81. Gicquel, C., Rossignol, S., Cabrol, S., Houang, M., Steunou, V., Barbu, V. ve diğerleri (2005). Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nature Genetics*, 37(9), 1003-1007.
82. Abu-Amero, S., Wakeling, E.L., Preece, M., Whittaker, J., Stanier, P. ve Moore, G.E. (2010). Epigenetic signatures of Silver-Russell syndrome. *Journal of Medical Genetics*, 47(3), 150-154.
83. Akawi, N.A., Ali, B.R., Hamamy, H., Al-Hadidy, A. ve Al-Gazali, L. (2011). Is autosomal recessive Silver-Russell syndrome a separate entity or is it part of the 3-M syndrome spectrum? *American Journal of Medical Genetics A*, 155A(6), 1236-1245.
84. Eggermann, T. (2010). Russell-Silver syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part C Seminars in Medical Genetics*, 154C(3), 355-364.
85. Jackson, P.K. (2014). Regulating microtubules and genome stability via the CUL7/3M syndrome complex and CUL9. *Molecular Cell*, 54(5), 713-715.
86. Sigaudy, S., Toutain, A., Moncla, A., Fredouille, C., Bourlière, B., Ayme, S. ve diğerleri. (1998). Microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism Taybi-Linder type: report of four cases and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics*, 80(1), 16-24.

87. Pierce, M.J. ve Morse, R.P. (2012). The neurologic findings in Taybi-Linder syndrome (MOPD I/III): case report and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 158A(3), 606-610.
88. Klingseisen, A. ve Jackson, A.P. (2011). Mechanisms and pathways of growth failure in primordial dwarfism. *Genes Development*, 25(19), 2011-2024.
89. Willems, M., Geneviève, D., Borck, G., Baumann, C., Baujat, G., Bieth, E. ve diğerleri. (2010). Molecular analysis of pericentrin gene (PCNT) in a series of 24 Seckel/microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type II (MOPD II) families. *Journal of Medical Genetics*, 47(12), 797-802.
90. Bober, M.B., Khan, N., Kaplan, J., Lewis, K., Feinstein, J.A., Scott, C.I.Jr. ve diğerleri. (2010). Majewski osteodysplastic primordial dwarfism type II (MOPD II): expanding the vascular phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 152A(4), 960-965.
91. Shanske, A., Caride, D.G., Menasse-Palmer, L., Bogdanow, A. ve Marion, R.W. (1997). Central nervous system anomalies in Seckel syndrome: report of a new family and review of the literature. *American Journal of Medical Genetics*, 70(2), 155-158.
92. Bicknell, L.S., Bongers, E.M., Leitch, A., Brown, S., Schoots, J., Harley, M.E. ve diğerleri. (2011). Mutations in the pre-replication complex cause Meier-Gorlin syndrome. *Nature Genetics*, 43(4), 356-359.
93. Bicknell, L.S., Walker, S., Klingseisen, A., Stiff, T., Leitch, A., Kerzendorfer, C. ve diğerleri. (2011). Mutations in ORC1, encoding the largest subunit of the origin recognition complex, cause microcephalic primordial dwarfism resembling Meier-Gorlin syndrome. *Nature Genetics*, 43(4), 350-355.
94. Avela, K., Lipsanen-Nyman, M., Idänheimo, N., Seemanová, E., Rosengren, S., Mäkelä, T.P. ve diğerleri. (2000). Gene encoding a new RING-B-box-Coiled-coil protein is mutated in mulibrey nanism. *Nature Genetics*, 25(3), 298-301.

95. Hämäläinen, R.H., Mowat, D., Gabbett, M.T., O'brien, T.A., Kallijärvi, J. ve Lehesjoki, A.E. (2006). Wilms' tumor and novel TRIM37 mutations in an Australian patient with mulibrey nanism. *Clinical Genetics*, 70(6), 473-479.
96. Neyzi, O., Gümöz, H., Furman, A., Bundak, R., Gökçay, G., Darendeliler, F. ve diğerleri. (2008). Türk çocuklarında vücut ağırlığı, boy uzunluğu, başı çevresi ve vücut kitle indeksi referans değerleri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 51, 1-14.
97. Gümöz, H., Bundak, R., Furman, A., Darendeliler, F., Sakal, N., Baş, F. ve diğerleri. (2014). Z-Score Reference Values for Height in Turkish Children Aged 6 to 18. *Journal of Clinical Research Pediatric Endocrinology*, 6: 28-33.
98. Barlow, S.E. ve Dietz, W.H. (1998). Obesity evaluation and treatment: Expert Committee recommendations. The Maternal and Child Health Bureau, Health Resources and Services Administration and the Department of Health and Human Services. *Pediatrics*, 102(3), E29.
99. Kuczmarski, R.J. ve Flegal, K.M. (2000). Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(5), 1074-1081.
100. Taruscio, D., Vittozzi, L. ve Stefanov, R. (2010). National plans and strategies on rare diseases in Europe. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 686, 475-491.
101. Tuncbilek, E. (2001). Clinical outcomes of consanguineous marriages in Turkey. *Turkish Journal of Pediatrics*, 43(4), 277-279.
102. Koc, I. (2008). Prevalence and sociodemographic correlates of consanguineous marriages in Turkey. *Journal of Biosocial Science*, 40(1), 137-148.
103. Kurt-Sukur, E.D., Simsek-Kiper, P.O., Utine, G.E., Boduroglu, K. ve Alanay, Y. (2015). Experience of a skeletal dysplasia registry in Turkey: a five-years

- retrospective analysis. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 167A(9), 2065-2074.
104. Murray, P.G., Hanson, D., Coulson, T., Stevens, A., Whatmore, A., Poole, R.L. ve diğeri. (2013). 3-M syndrome: a growth disorder associated with IGF2 silencing. *Endocrine Connections*, 2(4), 225-235.
  105. Li, B., Ruiz, J.C. ve Chun, K.T. (2002). CUL-4A is critical for early embryonic development. *Molecular Cell Biology*, 22(14), 4997-5005.
  106. Singer, J.D., Gurian-West, M., Clurman, B. ve Roberts, J.M. (1999). Cullin-3 targets cyclin E for ubiquitination and controls S phase in mammalian cells. *Genes Development*, 13(18), 2375-2387.
  107. Wang, Y., Penfold, S., Tang, X., Hattori, N., Riley, P., Harper, J.W. ve diğeri. (1999). Deletion of the Cul1 gene in mice causes arrest in early embryogenesis and accumulation of cyclin E. *Current Biology*, 9(20), 1191-1194.
  108. Dealy, M.J., Nguyen, K.V., Lo, J., Gstaiger, M., Krek, W., Elson, D. ve diğeri. (1999). Loss of Cul1 results in early embryonic lethality and dysregulation of cyclin E. *Nature Genetics*, 23(2), 245-248.
  109. Tsutsumi, T., Kuwabara, H., Arai, T., Xiao, Y. ve Decaprio, J.A. (2008). Disruption of the Fbxw8 gene results in pre- and postnatal growth retardation in mice. *Molecular Cell Biology*, 28(2), 743-751.
  110. Tsunematsu, R., Nishiyama, M., Kotoshiba, S., Saiga, T., Kamura, T. ve Nakayama, K.I. (2006). Fbxw8 is essential for Cul1-Cul7 complex formation and for placental development. *Molecular Cell Biology*, 26(16), 6157-6169.
  111. Walenkamp, M.J., Karperien, M., Pereira, A.M., Hilhorst-Hofstee, Y., van Doorn, J. ve diğeri. (2005). Homozygous and heterozygous expression of a novel insulin-like growth factor-I mutation. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 90(5), 2855-2864.

112. Abuzzahab, M.J., Schneider, A., Goddard, A., Grigorescu, F., Lautier, C., Keller, E. ve diğerleri. (2003). IGF-I receptor mutations resulting in intrauterine and postnatal growth retardation. *New England Journal of Medicine*, 349(23), 2211-2222.
113. Kawashima, Y.,Kanzaki, S., Yang, F., Kinoshita, T., Hanaki, K., Nagaishi, J. ve diğerleri. (2005). Mutation at cleavage site of insulin-like growth factor receptor in a short-stature child born with intrauterine growth retardation. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 90(8), 4679-4687.
114. Walenkamp, M.J., van der Kamp, H.J., Pereira, A.M., Kant, S.G., van Duyvenvoorde, H.A., Kruithof, M.F. ve diğerleri. (2006). A variable degree of intrauterine and postnatal growth retardation in a family with a missense mutation in the insulin-like growth factor I receptor. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*, 91(8), 3062-3070.
115. Hoeflich, A., Wu, M., Mohan, S., Föll, J., Wanke, R., Froehlich, T. ve diğerleri. (1999). Overexpression of insulin-like growth factor-binding protein-2 in transgenic mice reduces postnatal body weight gain. *Endocrinology*, 140(12), 5488-5496.
116. Salih, D.A., Tripathi, G., Holding, C., Szeszak, T.A., Gonzalez, M.I., Carter, E.J. ve diğerleri. (2004). Insulin-like growth factor-binding protein 5 (Igfbp5) compromises survival, growth, muscle development, and fertility in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(12), 4314-4319.

## EKLER

## EK 1. Çalışmanın Etik Kurul Onayı



**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**GİRİŞİMSSEL OLMAYAN**  
**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**

06100 Sıhhiye-Ankara  
 Telefon: 0 (312) 305 1082 • Faks: 0 (312) 310 0580  
 E-posta: goetik@hacettepe.edu.tr

Sayı: 16969557 - 339

**ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU**

**Toplantı Tarihi** : 13.03.2013 ÇARŞAMBA  
**Toplantı No** : 2013/05  
**Proje No** : GO 13/165 (Değerlendirme Tarihi 27.02.2013)  
**Karar No** : GO 13/165 - 25

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, öğretim üyelerinden Yrd.Doç.Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper'in sorumlu araştırmacı olduğu Prof.Dr. Koray Boduroğlu ve Doç.Dr. Gülen Eda Utine ile birlikte çalışacakları Dr. Ekim Taşkıran'ın tezi olan GO 13/165 kayıt numaralı ve "3M Sendromlu Hastaların Klinik, Laboratuvar, Radyolojik ve Moleküler Özelliklerinin Araştırılması" başlıklı proje önerisi Kurulumuzda değerlendirilmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur.

- |   |  |
|---|--|
| 1. Prof. Dr. Nurten Akarsu (Başkan)     | 9 Prof. Dr. Melahat Görduysus (Üye)        |
| 2. Prof. Dr. Nüket Örnek Buken (Üye)    | 10. Prof. Dr. Cansın Saçkesen (Üye)        |
| 3. Prof. Dr. M. İldırım Sara (Üye)      | 11. Doç. Dr. R. Köksal Özgül (Üye)         |
| 4. Prof. Dr. Sevda F. Müftüoğlu (Üye)   | 12. Doç. Dr. Ayşe Lale Doğan (Üye)         |
| İZİNLİ                                  | İZİNLİ                                     |
| 5. Prof. Dr. Cenk Sökmensüer (Üye)      | 13 Doç. Dr. S. Kutay Demirkan (Üye)        |
| 6. Prof. Dr. Volga Bayrakçı Tunay (Üye) | 14. Yrd. Doç. Dr. H. Hüsrev Turnagöl (Üye) |
| 7. Prof. Dr. Songül Vâzıoğlu (Üye)      | GÖREVLİ                                    |
| KATILMADI                               | 15. Av. Meltem Onurlu (Üye)                |
| 8. Prof. Dr. Yılmaz Selim Erdal (Üye)   |  |

## EK 2. Çalışmada Kullanılan Onam Formları

### ARAŞTIRMA AMAÇLI ÇALIŞMA İÇİN ÇOCUK RIZA FORMU

Sevgili Kardeşim,

Benim adım Pelin Özlem Şimşek Kiper. 3M sendromlu hastalarda bir araştırma yapıyoruz. Bu çalışma ile 3M sendromuna neden olan genetik faktörleri araştırmayı hedefledik. Amacımız bu grup hastalığa doğru tanı koymak ve ileride daha etkin tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunabilmektir. Bu araştırma ile yeni bilgiler öğreneceğiz. Bu araştırmaya katılmayı öneriyoruz.

Araştırmayı ben, Pelin Özlem Şimşek Kiper ve başka bazı doktorlar birlikte yapıyoruz. Bu araştırmaya katılacak olursan senden kan alacağız. Kan alırken canın biraz acıyabilir ama çabuk geçecektir.

Bu araştırmanın sonuçları senin gibi 3M sendromu olan çocuklar için yararlı bilgiler sağlayacaktır. Bu araştırmanın sonuçlarını başka doktorlara da söyleyeceğiz, sonuçları bildireceğiz, ama senin adını söylemeyeceğiz.

Bu araştırmaya katılıp katılmamak için karar vermeden önce anne ve baban ile konuşup onlara danışmalısın. Onlara da bu araştırmadan bahsedip onaylarını ve izinlerini alacağız. Anne ve baban tamam deseler bile sen kabul etmeyebilirsin. Bu araştırmaya katılmak senin isteğine bağlı ve istemezsen katılmazsın. Bu nedenle hiç kimse sana kızmaz ya da küsmez. Önce katılmayı kabul etsen bile sonradan vazgeçebilirsin. Bu tamamen sana bağlı. Kabul etmediğin durumda da doktorlar muayene ve diğer işlemlerde sana önceden olduğu gibi iyi davranırlar. Önceye göre farklılık olmaz.

Aklına şimdi gelen veya daha sonra gelecek olan soruları istediğin zaman bana sorabilirsin. Telefon numaram ve adresim bu kağıtta yazıyor. Bu araştırmayı kabul ediyorsan aşağıya lütfen adını ve soyadını yaz ve imzanı at. İmzaladıktan sonra sana ve ailene bu formun bir kopyası verilecektir.

Çocuğun adı ve soyadı:

Çocuğun imzası:

Tarih:

Velisinin adı ve soyadı:

Velisinin imzası:

Tarih:

Araştırcının adı ve soyadı:

Araştırcının imzası:

Tarih:

Araştırcının adresi: Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Çocuk Genetik Ünitesi, Sıhhiye, Ankara, Türkiye

Telefon: 0 312 311 55 22/ 0 532 285 41 83



## GENETİK ARAŞTIRMALARDA AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU (HASTA)

(Hekimin Açıklaması)

Sayın.....

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Ünitesi'nde "3M sendromlu hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik ve moleküler özelliklerinin araştırılması" isimli bir araştırma yapmaktayız. 3M sendromu aralarında akrabalık olan eşlerin çocukları arasında daha sık görülen, ağır büyüme geriliği, fasiyal dismorfizm ve normal zeka ile karakterize nadir görülen bir sendromdur. Bu sendromun ülkemizde görülme sıklığı tam olarak bilinmemesine de yüksek akrabalık oranı nedeniyle dikkate değer bir orana sahip olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma ile 3M sendromuna neden olan genetik faktörleri araştırmayı hedefledik. Amacımız bu grup hastalığa doğru tanı koymak ve ileride daha etkin tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunabilmektir.

Bu tip bir çalışma için az miktarda kan veya tükürük örneği yeterli olmaktadır. Etkin bir araştırma için hastanın yanısıra hastanın anne ve babasından ve diğer aile üyelerinden de örnek olmak gerekli olabilir. Çocuğunuzda/ailenizde/sizde böyle bir sendrom bulunması nedeni ile eğer kabul ederseniz sizi de araştırmaya dahil etmek istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi, çok gerekli olduğu zaman yurtdışında bir laboratuvarında tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper tarafından muayene edilecek, fotoğrafınız çekilecek ve aile ağacı bilgileriniz çıkarılacaktır. Genetik analiz için kolunuzdan 1 tüp (10ml) kan alınacaktır. Bazen ikinci bir tüp kan daha almak veya cilt biyopsisi uygulamak gerekli olabilir. Ayrıca bazı durumlarda yanak içinden sürüntü ya da tükürük örneğinden de yararlanabiliriz. Toplanan kanda yeterli genetik materyal elde edilemediği durumda ya da farklı bir metodla çalışılma gerekliliğinde toplanan kandan/dokudan hücre çoğaltması yoluna gidilebilir. Bu işlem "hücre kültürü" olarak adlandırılır ve bu yolla hücreleriniz ölümsüz olarak çoğaltılabilir. Kan alınırken iğne batması nedeniyle hafif bir acı duyabilirsiniz. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alırken kanamanın uzaması ya da enfeksiyon gelişmesi riskleri olabilir. Yanak içinden sürüntü alınması halinde düşük bir ihtimalle de olsa sürüntü yerinde enfeksiyon görülebilir.

Kişiyeye ait genetik bilgiler maddi ve sosyal açıdan istismar edilebilecek bilgilerdir. Örneğin genetik testte biyolojik anne ve babayı belirlemek mümkündür. O nedenle, araştırma sonuçlarının yalnızca bilimsel amaçlarla ve kimliğinizi gizli tutarak kullanılacağını tekrar vurgulamak istiyoruz. Araştırma sonucunda kendinizde bu hastalık görülmesi bile hastalığa yol açabilecek genleri taşıdığınız ve çocuğunuza kalıtmış olduğunuz ortaya çıkabilir. Bu bilgileri herhangi bir ücret talep etmeden size bildirebiliriz. Bilgi edinmek istemiyor iseniz lütfen yazılı formun altında belirtiniz.

Bu risklere ek olarak alınan örnekte tüm genom bilgilerinin elde edileceği geniş ölçekli bir analiz yapılması da gerekli olabilir. Bu analiz sonucunda başka hastalıklar için taşıyıcılık durumu ya da ileride bu tarz hastalıkların gelişeceği bilgisi edinilebilir. Buna ek olarak bazı hastalıklara yakınlık yaratan genom değişikliklerini de taşıdığı saptanabilir. Bu bilgilerin büyük bir kısmı henüz klinik önemi ispatlanmamış araştırma düzeyinde olan bilgilerdir. Bu nedenle çalışmada klinik önemi olduğu kesinlik kazanmış olan bilgileri herhangi bir ücret talep etmeksizin size iletebiliriz. Diğer bilgiler kimlik bilgileriniz ile ilişkilendirilmeden veri bankalarına eklenerek araştırmacıların kullanımına açılabilir. Alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin iznimize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Tarafınızdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin iznimize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler kimlik belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçlar dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

**(Katılımcının/Hastanın Beyanı)**

Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper tarafından 3M sendromu ile ilgili genetik araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı, uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma ile ilgili sorularım için Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper (0312 305 1173; 0 532 285 41 83) ile temas edebileceğim bana bildirildi. İstedikim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılımımın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile kendimin /çocuğumun katılmasına olurum vardır.

Katılımcı	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza
Veli/Vasi	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza
Tanık	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza
Hekim	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza

**Görüşme tarih ve saati:**

Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri,

Öğrenmek istiyorum ( )

Öğrenmek istemiyorum ( )

Tarafımdan alınan kodlanmış\* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

**\*Kodlanmış örnek:** Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

## GENETİK ARAŞTIRMALARDA AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU (EBEVEYNLER İÇİN)

(Hekimin Açıklaması)

Sayın.....

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Genetik Ünitesi Bilim Dalı'nda "3M sendromlu hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik ve moleküler özelliklerinin araştırılması" isimli bir araştırma yapmaktadır. 3M sendromu aralarında akrabalık olan eşlerin çocukları arasında daha sık görülen, ağır büyüme geriliği, fasiyal dismorfizm ve normal zeka ile karakterize nadir görülen bir sendromdur. Bu sendromun ülkemizdeki görülme sıklığı tam olarak bilinmese de yüksek akrabalık oranı nedeniyle dikkate değer bir orana sahip olduğu düşünülmektedir. Bu çalışma ile 3M sendromuna neden olan genetik faktörleri araştırmayı hedefledik. Amacımız bu grup hastalığa doğru tanı koymak ve ileride daha etkin tedavi yöntemlerinin gelişmesine katkıda bulunabilmektir. Bu tip bir çalışma için az miktarda kan veya tükürük örneği yeterli olmaktadır. 3M sendromu bulunması nedeni ile eğer kabul ederseniz çocuğunuzu araştırmaya katmak istiyoruz.

Bu araştırmanın sonuçları yalnızca bilimsel amaçlarla kullanılacak ve kimliğiniz her zaman gizli tutulacaktır. Bu araştırmaya katılmanızdan dolayı sizden herhangi bir para talep edilmeyecektir. Aynı şekilde size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır. Toplanan kanlar öncelikle yurt içi, çok gerekli olduğu zaman yurtdışında bir laboratuvarında tetkik edilecektir.

Araştırmaya katılmak isterseniz Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper tarafından çocuğunuz muayene edilecek, fotoğrafı çekilecek, gerekli durumlarda video kayıtları alınacak ve klinik takip sırasında alınan radyolojik tetkikler ile birarada değerlendirilecektir. Genetik analiz için çocuğunuzun kolundan 1 tüp (10ml) kan alınacaktır. Bazen ikinci bir tüp kan daha almak veya cilt biyopsisi yapmak gerekli olabilir. Ayrıca bazı durumlarda yanak içinden sürüntü ya da tükürük örneğinden de yararlanabiliriz.. Toplanan kanda yeterli genetik materyal elde edilemediği durumda ya da farklı bir metotla çalışılma gerekliliğinde toplanan kandan/dokudan hücre çoğaltması yoluna gidilebilir. Bu işlem "hücre kültürü" olarak adlandırılır ve bu yolla hücreleriniz ölümsüz olarak çoğaltılabilir. Kan alınırken iğne batması nedeniyle çocuğunuz hafif bir acı duyabilir. Çok düşük bir ihtimal olsa da kan alınırken kanamanın uzaması ya da enfeksiyon gelişmesi riskleri olabilir. Yanak içinden sürüntü alınması halinde düşük bir ihtimalle de olsa sürüntü yerinde enfeksiyon görülebilir.

Kişiyeye ait genetik bilgiler maddi ve sosyal açıdan istismar edilebilecek bilgilerdir. Örneğin genetik testte biyolojik anne ve babayı belirlemek mümkündür. O nedenle, araştırma sonuçlarının yalnızca bilimsel amaçlarla ve kimliğinizi gizli tutarak kullanılacağını tekrar vurgulamak istiyoruz.

Bu risklere ek olarak çocuğunuzun örneğinde tüm genom bilgilerinizin elde edileceği geniş ölçekli bir analiz yapılması da gerekli olabilir. Bu analiz sonucunda çocuğunuzun başka hastalıklar için taşıyıcı olduğu ya da ileride bu tarz hastalıkları geliştirebileceği bilgisi edinilebilir. Buna ek olarak bazı hastalıklara yatkınlık yaratan genom değişikliklerini de taşıdığı saptanabilir. Bu bilgilerin büyük bir kısmı henüz klinik önemi ispatlanmamış araştırma düzeyinde olan bilgilerdir. Bu nedenle çalışmada klinik önemi olduğu kesinlik kazanmış olan bilgileri herhangi bir ücret talep etmeksizin size iletebiliriz. Diğer bilgiler kimlik bilgileriniz ile ilişkilendirilmeden veri bankalarına eklenerek araştırmacıların kullanımına açılabilir. Çocuğunuzdan alınan örneğin saklanması ve ileride yapılacak diğer çalışmalarda kullanımı ancak sizin izninize tabidir. Bu örnekler uzun yıllar saklanabilir ve başka genetik araştırmalarda örneğin kontrol örneği olarak kullanılabilir. Lütfen yazılı formun altındaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyerek bu konudaki görüşünüzü belirtiniz.

Sizinle ilgili tıbbi bilgiler gizli tutulacak, ancak çalışmanın kalitesini denetleyen görevliler, etik kurullar ya da resmi makamlarca gereği halinde incelenebilecektir. Sizinle ilgili tıbbi bilgiler kimlik belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçlar dışında kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Araştırmaya katılmak zorunda olmadığınız gibi araştırmaya katılmayı kabul ettiğinizde, istediğiniz anda ayrılma hakkına da sahipsiniz. Ancak bu kararınızı bize önceden bildirirseniz araştırmanın bozulmasına meydan vermemiş olursunuz. Katılmak istemediğinizde şu anda sürdürülen tedavi işlemleri bundan etkilenmeyecektir.

**Katılımcının Beyanı**

Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper tarafından yürütülecek olan “3M sendromlu hastaların klinik, laboratuvar, radyolojik ve moleküler özelliklerinin araştırılması” isimli bir araştırma hakkında bana bilgi verildi. Araştırmanın amacı, uygulama biçimi ile riskleri ve tıbbi bilgilerimle ilgili gizliliğin sağlanacağı konusunda yeterli açıklama yapıldı. Araştırma ile ilgili sorularım için Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper ile temas edebileceğim (0 312 305 11 73, 0 532 285 41 83) bana bildirildi. İstedğim zaman araştırmadan çekilebileceğimi biliyorum. Araştırmaya katılımımın tamamen gönüllü olduğu, katılmam ya da katılıp daha sonra araştırmadan çekildiğim durumda tedavi ve tetkiklerimin bundan etkilenmeyeceği belirtildi. Bu araştırmaya kendi gönüllü onayım ile çocuğumun katılmasına olurum vardır.

Veli/Vasi	_____	_____	_____	_____
	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza
Tanık	_____	_____	_____	_____
	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza
Hekim	_____	_____	_____	_____
	Adı Soyadı	Doğum Tarihi	Adres/Tel	İmza

**Görüşme tarih ve saati:**

Bu çalışmada elde edilecek çocuğumla ilgili bilgileri,  
Öğrenmek istiyorum ( ) Öğrenmek istemiyorum ( )

- Çocuğumdan alınan kodlanmış\* örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.
- Çocuğumdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.
- Çocuğumdan alınan kodlanmış örneğin gelecekte her türlü genetik çalışmada (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

\*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

**EK 3. Hasta Değerlendirme Formu**

Hasta adı soyadı:

Hacettepe dosya no:

Doğum tarihi:

Öyküsü:

Genetik dosya no:

Doğum yeri:

Özgeçmiş:

Prenatal:

Natal:

Doğum kilosu (gr, persentil):

Doğum boyu (cm, persentil):

Doğum baş çevresi (cm, persentil):

Postnatal:

Motor ve mental gelişim basamakları:

Beslenme:

Soygeçmiş:

Anne yaşı, boy:

Baba yaşı, boy:

Pedigri:

Akrabalık:

Fizik muayene:

Boy:

VA:

BÇ:

Kulaç:

Üst segment/alt segment:

Oranları:

Normal

Kısa gövde

Kısa ekstremiteler

Yüz bulguları:

Toraks:

Kalp:

Abdomen:

Ekstremiteler:

Brakidaktili:

GUS:

NM:

Bilinen diğer sistemik hastalıklar ve yapısal malformasyonlar:

Radyolojik bulgular:

Laboratuvar bulguları:

Moleküler bulgular:

Tanı:

Plan:



#### EK 4. Çalışmada Kullanılan Primer Dizileri

##### CUL7

CUL7ex1F: CCCACCTCCTGGATATCTTT
CUL7ex1R: GGTCCTTGAATACTCCAGTGA
CUL7ex2F: TGAAGTCCCTCATTCCAGAGA
CUL7ex2R: CGCACATAAACACGATCTAC
CUL7ex3F: GGATTGAAAGAGTAGAGGGT
CUL7ex3R: AACTGAACTCCAGCTCCA
CUL7ex4F: GCCAAAGGTTGTATCCCA
CUL7ex4R: CCATATAGAAGTCCAGCTC
CUL7ex5-6F: GGGCTATAGTCTCAGTACT
CUL7ex5-6R: GAGCCTTCAAATGCTCTA
CUL7ex7F: GATCAGGATGGAGGGTATGT
CUL7ex7R: AGCTTCTAAGGTGGCATCA
CUL7ex8F: GATTAGATCCCCAAACCTAACT
CUL7ex8R: GCAGAGAAATGTGTAGCCA
CUL7ex9F: GACTGTGCTGAGGTGAGAG
CUL7ex9R: CTCAAACCAAGAGCTCAAAGG
CUL7ex10F: CCAGTACACAGAGTACACAG
CUL7ex10R: GTCACTAGAGTCACCTGCT
CUL7ex11-12F: CTGCATGGTCTCTCCTTCA
CUL7ex11-12R: CCATTTGGAAGTGTAGACAGG
CUL7ex13F: CCCTGTCTACAAGTTCCAAAT
CUL7ex13R: ACAAGCACAGGGATAAAGGA
CUL7ex14F: CATGAGGACAGCTTTGTCAG
CUL7ex14R: ACAGGACTATCTTCACTCGC
CUL7ex15F: CAGGCAGATCTTAAGCCAGA
CUL7ex15R: CCTCCATCTCACAGCTTCTAT
CUL7ex16F: GTTAGCTGGCAGTCTTAGGA
CUL7ex16R: CAGGACATAATCCAGGTGGT
CUL7ex17F: CAGTTGCTCTATCTCCACAC
CUL7ex17R: AGCCTGTGGTGTACACAT
CUL7ex18-19F: TGGCAGCATGTCAGGAAA

CUL7ex18-19R: CATAGAATGGGAATGGAAGGG
CUL7ex20F: CCAGCATTTCATATCTACTTTCCAG
CUL7ex20R: TGCCTCTATCCCAGACTTCC
CUL7ex21F: GAAGTCTGGGATAGAGGCA
CUL7ex21R: CTGAAGGAGCACAGGGTT
CUL7ex22F: GAGTGCCTTGGAAGGGATAA
CUL7ex22R: CATCAAGCCTCCCAACATCA
CUL7ex23F: ACACGCCTTGCAGAGATAA
CUL7ex23R: ACAGATGGGAGACATTCAGG
CUL7ex24F: TGGCTACTGCTGTATCTCAA
CUL7ex24R: GAAATAAATGCTGATCACTCACTC
CUL7ex25F: CTGGACCTTCACGAGCAA
CUL7ex25R: CCACCTTGTCTGTAGACTG
CUL7ex26F: GTTGGAGTGGGAAGCTCAAG
CUL7ex26R: CCACTCAAATCTCTAGCAGTC

**OBSL1**

OBSL1ex1F: CCCACACTGTACTGGGAGAA
OBSL1ex1R: ACCACCTCTCCTCCAGTCT
OBSL1ex2F: GTCATCTTAGGAACCA
OBSL1ex2R: CGGACAGGAATCCATCAA
OBSL1ex3F: CTCATCATCCACAGGCTGAA
OBSL1ex3R: CTACTTCACCAACCCAGCT
OBSL1ex4F: AGCTGGGTTGGTGAAGTAG
OBSL1ex4R: GTGCAGCTGTCAGAACTAGA
OBSL1ex5F: TCTAGTTCTGACAGCTGCAC
OBSL1ex5R: CTCTCCTGGCCCAGATACA
OBSL1ex6F: GCAGTTGTTCCCTCTGATG
OBSL1ex6R: CAAGTAGGCAGCAGACCA
OBSL1ex7F: CCTACACAGCAGGACCTTA
OBSL1ex7R: CCTTAGCCAAGACCAATGT
OBSL1ex8F: CTCTTCAACACATGGCCTA
OBSL1ex8R: GGCTCATCTCAGCAAGAA
OBSL1ex9F: TATGTGGGTGATAGGGACTT
OBSL1ex9R: GGCTAAGCAGGATTCTGAT



OBSL1ex10F: GCACTGTTCTCAAGAGCTG
OBSL1ex10R: AAGGTGTCATCCCATGCTT
OBSL1ex11F: ATGAGGCCATCACCTTCAA
OBSL1ex11R: GCCACTCTCAGGCTTAATG
OBSL1ex12F: CCCACTTCTCTCAGTACCTT
OBSL1ex12R: CCTAGAAAGTGGCAGATGG
OBSL1ex13F: GAGCTGGCATCTTGTCTT
OBSL1ex13R: CAAGGCTGCTGGAATCCT
OBSL1ex14F: CACCTAGGGACAGACCAGT
OBSL1ex14R: GACTCCAGGACAGCCAGAA
OBSL1ex15F: GATGAGGATTGACTGCAAC
OBSL1ex15R: GGGTCAGTATTCATGCCT
OBSL1ex16F: CACTCGCTAGTGTCTCTA
OBSL1ex16R: GGGCATTATTATCGTTGGTG
OBSL1ex17F: CCGCTTGGCATCAACAAA
OBSL1ex17R: GACAGCTCCGCAAGTCTC
OBSL1ex18F: AGACTTGCGGAGCTGTCTT
OBSL1ex18R: GGGATCTGTTCGAGCCTG
OBSL1ex19F: CCACCCTAGCATACTAAC
OBSL1ex19R: CAAGTCCGTCAGTCCCAT
OBSL1ex20F: CTAAGGCCAGGAGTGGAGA
OBSL1ex20R: CTCCCATAGGTGTGGCTTAA

**CCDC8**

CCDC8_1F: CCAGATATCACCTGGAGA
CCDC8_1R: CCAGTTCCTCATCATCCTC
CCDC8_2F: AGACCTCCAGAGACAAGAG
CCDC8_2R: CCTCTGATTATCTGCAGCC
CCDC8_3F: ATGGAGGCCCAAGATCAA
CCDC8_3R: GTCTGGAACCTCACTGTCT
CCDC8_4F: CACATAATCAGAGGGCAGG
CCDC8_4R: GTTGTTAGGTGGAGACGTG

## EK 5. Amplifikasyon Koşulları

	<b>Ekzon</b>	<b>Amplifikasyon koşulları</b>	<b>PCR programı</b>
<b>CUL7</b>	<b>2, 3, 4, 5-6, 8, 9, 10, 16, 21, 22, 23</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.25 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul Betain 5 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 7 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 58- 40 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye
	<b>1, 7, 11-12, 13, 14, 15</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.5 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 12 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 56- 30 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye
	<b>17, 18-19, 20, 24, 25, 26</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.25 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 12 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 58- 30 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye

<b>OBSL1</b>	<b>Ekzon</b>	<b>Amplifikasyon koşulları</b>	<b>PCR programı</b>
	<b>1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 17, 18, 19, 20</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.5 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 12 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 56- 30 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye
	<b>3, 6, 10, 13, 14, 15, 16</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.25 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 12 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 59- 30 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye

	<b>Ekzon</b>	<b>Amplifikasyon koşulları</b>	<b>PCR programı</b>
<b>CCDC8</b>	<b>1-1, 1-2, 1-3, 1-4</b>	Buffer 2 ul MgCl <sub>2</sub> 1.5 ul dNTP 0.5 ul Primer F 1 ul Primer R 1 ul DNA 2 ul (50 ng ara stoktan) Taq Polimeraz 0.2 ul Su 11 ul	94- 2 dakika 94- 30 saniye 57- 30 saniye (35 döngü) 72- 30 saniye

## EK 6. *CUL7* Mutasyonu Saptanan Hastaların Özellikleri

Klinik özellikler	Sıklık	Hasta No 1	Hasta No 2	Hasta No 3	Hasta No 4	Hasta No 5
Başvuru yaşı (ay)		156	25 hafta	9	192	172
Güncel yaş(ay)		240	-	90	228	204
Cinsiyet		Kız	Erkek	Erkek	Erkek	Erkek
Doğum boyu (cm)		42	28.5(38.1+1.6)	?	?	?
Doğum vücut ağırlığı (gr)		1750	615 (747+110)	1650	1500	1500
Başvuru boyu (cm) (SDS)		128 (-5,6)	28.5(38.1+1.6)	56 (-5)	137 (-5)	126 (-4,5)
Başvuru vücut ağırlığı (kg)		43	-	5.4	44	25
Başvuru vücut kitle indeksi (z skoru)		1,62	-	-0,67	0,84	-1,98
Başvuru baş çevresi (cm)		54		56	58	57
Başvuru kulaç (cm)		125	26	55	142	131
<b>Radyolojik bulgular</b>						
Uzun kemiklerde incelik	<b>5/5</b>	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek vertebra	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
Vertebra PA çapta azalma	<b>3/5</b>	Var	Yok	Yok	Var	Var
Kemik yaşında gerilik	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
Dar pelvis	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
İnce kosta	<b>1/5</b>	Yok	Var	Yok	Yok	Yok
Skolyoz	<b>3/5</b>	Var	Yok	Yok	Var	Var
Femur boynu kısa	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
Diafizyeal konstriksiyon	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
Pelvis alt kısım hipoplazik	<b>4/5</b>	Var	Yok	Var	Var	Var
Displazi bulgusu	<b>0/5</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

Diğer	1/5	Birinciperapal kemikte dislokasyon, sağ el ikinci parmak orta falanksta deformite					
<b>Yüz özellikleri</b>							
Belirgin burun ucu	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Antevert burun delikleri	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Dolgun dudak	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
Üçgen yüz	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Dolikosefali	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
Frontal bossing	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Ortayüz hipoplazisi	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Uzun filtrum	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Sivri çene	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Belirgin kulak	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
Belirgin kaş	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
Palpebral aralık aşağı eğimi	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var	Var
Hipertrikoz	3/5	Yok	Var	Yok	Var	Var	Var
Rölatif makrosefali	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
<b>Kas İskelet sistemi bulguları</b>							
Arka saç çizgisi düşüklüğü	1/5	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Kısa boyun	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Kare omuz	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek yerleşimli skapula	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Geniş toraks	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Kısa toraks	5/5	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Pektus deformitesi	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

Hiperlordozis	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var
Skolyoz	3/5	Var	Yok	Yok	Var	Var
Eklem hipermobilitesi	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var
5. parmakta klinodaktili	3/5	Yok	Yok	Var	Var	Var
Belirgin topuk	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Spinaperaokkulta	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Gelişimsel kalça displazisi	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Protuberan abdomen	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Pes planus	4/5	Var	Yok	Var	Var	Var
Genue valgum	1/5	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Diğer klinik özellikler</b>		JIA Oligoartiküler tip ile takip ediliyor.	Önceki gebelikte iskelet hastalığı şüphesi ile tıbbi terminasyon uygulanmış. Tanı konulmamış. Bu gebeliğe de tıbbi terminasyon uygulandı.	İnguinal herni nedeniyle opera edilmiş.	-	-
<b>Moleküler bulgular</b>		CUL7, ekzon 6'da homozigot c.1482G>A mutasyonu [p.Trp494Ter]	CUL7, ekzon 10'da homozigot c.2242 C>T mutasyonu [p.Gln748Ter]	CUL7, ekzon 20'de homozigot c.3685C>T mutasyonu [p.Gln1229Ter]	CUL7, ekzon 2'de homozigot c.361_362insT mutasyonu [p.Met1211IlefsTer5]	CUL7, ekzon 2'de homozigot c.361_362insT mutasyonu [p.Met1211IlefsTer5]
<b>Yeni mutasyon</b>	¼	Hayır	Hayır	Hayır	Evet	Evet
<b>Parental segregasyon</b>	5/5	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı
<b>Akrabalık</b>	4/5	Var (1. derece kuzen evliliği)	Var (1. derece kuzen evliliği)	Aynı köy	Var (1. derece kuzen evliliği)	Var (1. derece kuzen evliliği)

<b>Prenatal özellik</b>	<b>3/5</b>	<b>İntrauterin büyüme kısıtlılığı</b>	<b>2.trimesterde ekstremitte kısalığı saptanmış.</b>	<b>İntrauterin büyüme kısıtlılığı</b>	<b>Evde doğum</b>	<b>Evde doğum</b>
<b>Prematür doğum öyküsü</b>	<b>0/5</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Natal özellik</b>	<b>1/4</b>	Bir hafta kuvözde kalmış.	-	Yok	Yok	Yok
<b>Gelişme geriliği</b>	<b>0/4</b>	Yok	-	Yok	Yok	Yok
<b>Büyüme hormonu eksikliği</b>	<b>1/5</b>	Yok	-	Var	Yok	Yok

## EK 7. OBSL1 Mutasyonu Saptanan Hastaların Özellikleri

Klinik özellikler	Sıklık	Hasta No 6	Hasta No 7	Hasta No 8	Hasta No 9	Hasta No 10
Başvuru yaşı (ay)		108	64	77	74	132
Güncel yaş		192	140	122	95	155
Cinsiyet		Erkek	Kız	Kız	Erkek	Kız
Prematür doğum öyküsü		Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Doğum boyu (cm)		?	?	?	42	42
Doğum vücut ağırlığı (gr)		2500	2250	2000	2880	2450
Başvuru boyu (cm) (SDS)		108 (-4,8)	95 (-2,6)	89 (-5)	94 (-4,4)	123 (-4,4)
Başvuru vücut ağırlığı (kg)		20	15	12	12	45
Başvuru vücut kitle indeksi (z skoru)		0,54	0,89	-2,05	-1,83	2,23
Başvuru baş çevresi (cm)		55	49,5	49,5	51	54
Başvuru kulaç (cm)		105	93	88	97	127
<b>Radyolojik bulgular</b>						
Uzun kemiklerde incelik	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek vertebra	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Vertebra ön-arka çapta azalma	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Kemik yaşında gerilik	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Dar pelvis	3/5	Yok	Var	Var	Yok	Var
İnce kosta	4/5	Yok	Var	Var	Var	Var
Skolyoz	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Femur boynu kısa	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Diafizyeal konstriksiyon	4/5	Var	Var	Yok	Var	Var
Pelvis alt kısım hipoplazik	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Displazi bulgusu	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok



<b>Yüz özellikleri</b>						
Belirgin burun ucu	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Antevert burun delikleri	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Dolgun dudak	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Üçgen yüz	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Dolikosefali	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Frontal bossing	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Ortayüz hipoplazisi	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Uzun filtrum	4/5	Var	Var	Var	Var	Yok
Sivri çene	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Belirgin kulak	4/5	Var	Var	Yok	Var	Var
Belirgin kaş	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Palpebral aralık aşağı eğimi	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Hipertrikoz	4/5	Yok	Var	Var	Var	Var
Rölatif makrosefali	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
<b>Kas iskelet sistemi bulguları</b>						
Arka saç çizgisi düşüklüğü	4/5	Yok	Var	Var	Var	Var
Kısa boyun	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Kare omuz	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek yerleşimli skapula	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Geniş toraks	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Kısa toraks	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Pektus deformitesi	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Hiperlordozis	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Skolyoz	1/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Var
Eklemler hiper mobilitesi	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
5. parmakta klinodaktili	3/5	Var	Yok	Yok	Var	Var

Belirgin topuk	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Spina bifida okkulta	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Gelişimsel kalça displazisi	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Protuberan abdomen	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Pes planus	5/5	Var	Var	Var	Var	Var
Genue valgum	2/5	Yok	Var	Yok	Yok	Var
Diğer				Ayakta 1. ve 2. parmak arasında sandal gap	Postenfeksiyöz hiperpigmente lezyonlar	
<b>Moleküler bulgular</b>		OBSL1, ekzon3'te, c.1273insA[p.Thr425AsnfsTer40]	OBSL1, ekzon 2'de c.1125_1126insT[p.Glu376Ter]	OBSL1, ekzon 2'de c.1277_1282+delTCA AAGGTCAG	OBSL1, ekzon 3'te c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40]	OBSL1, ekzon 3'te c.1273insA [p.Thr425AsnfsTer40]
<b>Yeni mutasyon</b>	2/3	Hayır	Evet	Evet	Hayır	Hayır
<b>Parental segregasyon</b>	5/5	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı	Anne baba heterozigot taşıyıcı
<b>Akrabalık</b>	4/5	Var (1.derece kuzen evliliği)	Aynı köy	Var (1.derece kuzen evliliği)	Var (1.derece kuzen evliliği)	Var (1.derece kuzen evliliği)
<b>Prenatal Özellik</b>	3/5	Yok	32.haftada ekstremitelerde kısalık saptanmış.	Yok	32. haftada intrauterin büyüme kısıtlılığı saptanmış.	32. haftada intrauterin büyüme kısıtlılığı saptanmış.
<b>Prematür doğum öyküsü</b>	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Natal Özellik</b>	1/5	Yok	Yok	Yok	Solunum sıkıntısı nedeniyle 10 gün kuvözde kalmış.	Yok
<b>Gelişme geriliği</b>	0/5	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Büyüme hormonu eksikliği</b>	2/5	Yok	Yok	Yok	Var	Var

## EK 8. Mutasyon Saptanmayan Hastaların Özellikleri

Klinik özellikler	Sıklık	Hasta No 11	Hasta No 12	Hasta No 13	Hasta No 14	Hasta No 15	Hasta No 16	Hasta No 17
Başvuru yaşı (ay)		18	120	72	58	108	36	84
Güncel yaş (ay)		88	191	63	100	160	77	168
Cinsiyet (K/E)		Kız	Kız	Kız	Kız	Erkek	Kız	Erkek
Doğum boyu (cm)		40	42	42	40	42	40	40
Doğum vücut ağırlığı (gr)		1500	2000	2520	2700	3000	4250	2250
Başvuru boyu (cm) (SDS)		64.5 (-3,63)	80 (-11,4)	58 (-2)	97 (-2)	113 (-3,8)	74 (-5,25)	56 (-5)
Başvuru vücut ağırlığı (kg)		5.9	8.5	5.8	19.2	19	8.5	5
Başvuru vücut kitle indeksi (z skoru)		-1,89	-3,47	-1,18	2,22	-1,07	-0,99	0,83
Başvuru baş çevresi (cm)		43.5	?	43	51	52	45	?
Başvuru kulaç (cm)		63	85	55	101	114	75	55
<b>Radyolojik bulgular</b>								
Uzun kemiklerde incelik	<b>6/6</b>	Var	?	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek vertebra	<b>3/6</b>	Var	?	Var	Var	Yok	Yok	Yok
Vertebra PA çapta azalma	<b>2/6</b>	Var	?	Var	Yok	Yok	Yok	Yok
Kemik yaşında gerilik	<b>6/6</b>	Var	?	Var	Var	Var	Var	Var
Dar pelvis	<b>3/6</b>	Var	?	Var	Var	Yok	Yok	Yok
İnce kosta	<b>0/6</b>	Yok	?	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Skolyoz	<b>1/7</b>	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Femur boynu kısa	<b>0/6</b>	Yok	?	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Diafizyeal konstriksiyon	<b>3/6</b>	Var	?	Var	Yok	Var	Yok	Yok
Pelvis alt kısım hipoplazik	<b>2/6</b>	Yok	?	Var	Yok	Yok	Var	Yok
Displazi bulgusu	<b>0/6</b>	Yok	?	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok

<b>Yüz özellikleri</b>								
Belirgin burun ucu	6/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok
Antevert burun delikleri	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Dolgun dudak	5/7	Var	Var	Var	Yok	Var	Var	Yok
Üçgen yüz	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Dolikosefali	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Frontal <i>bossing</i>	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Ortayüz hipoplazisi	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Uzun filtrum	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Sivri çene	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Belirgin kulak	5/7	Var	Var	Var	Yok	Var	Var	Yok
Belirgin kaş	3/7	Yok	Var	Var	Yok	Var	Yok	Yok
Palpebral aralık aşağı eğimi	6/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok
Hipertrikoz	0/7	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Rölatif makrosefali	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
<b>Kas iskelet sistemi bulguları</b>								
Arka saç çizgisi düşüklüğü	2/7	Var	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Kısa boyun	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Kare omuz	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Yüksek yerleşimli skapula	2/7	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Yok	Yok
Geniş toraks	6/7	Var	Var	Var	Var	Var	Yok	Var
Kısa toraks	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Pektus deformitesi	2/7	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Var
Hiperlordozis	5/7	Var	Var	Yok	Var	Var	Yok	Var
Skolyoz	1/7	Yok	Var	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Eklemler hiper mobilitesi	6/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Yok
5. parmakta klinodaktili	4/7	Yok	Var	Yok	Yok	Var	Var	Var

Belirgin topuk	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Spina bifida okkulta	0/7	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Gelişimsel kalça displazisi	0/7	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
Protuberan abdomen	6/7	Var	Var	Var	Var	Yok	Var	Var
Pes planus	7/7	Var	Var	Var	Var	Var	Var	Var
Genue valgum	2/7	Yok	Yok	Yok	Var	Yok	Yok	Var
Diğer				Sol ön göğüs duvarında 7x3 cm hemanjioma	Aksesuar meme basi, glabellada hemanjioma			
<b>Akrabalık</b>	<b>6/7</b>	1.derece kuzen evliliği	1.derece kuzen evliliği	Yok	1.derece kuzen evliliği	1.derece kuzen evliliği	1.derece kuzen evliliği	1.derece kuzen evliliği
<b>Prenatal özellik</b>	<b>2/7</b>	Yok	Yok	İkili test yüksekliği nedeni ile fetal karyotip analizi yapılmış, normal sonuç elde edilmiş.	Yok	Yok	30. haftada intraüterin büyüme kısıtlılığı şüphesi olmuş.	Yok
<b>Prematür doğum öyküsü</b>	<b>0/7</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Natal özellik</b>	<b>1/7</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	1 hafta kadar solunum problemi nedeniyle kuvözde kalmış.	Yok
<b>Gelişme geriliği</b>	<b>0/7</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok
<b>Büyüme hormonu eksikliği</b>	<b>0/7</b>	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok	Yok