

**T.C.
STANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ**

(UZMANLIK TEZİ)

**KRANİOSİNÜZİT HASTALARDA
MOLEKÜLER GENETİK YAKLAŞIM VE
NONSENDROMİK VAKALARDA ARRAY CGH
İLE TÜM GENOM ANALİZİ**

DR. ALPER GEZDIR

**DANIŞMAN
PROF. DR. MUSTAFA ÖZEN**

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

STANBUL-2014

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam oldu unu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dı ı davranı ımın olmadı ını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde etti imi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdi imi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldđ ımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranı ımın olmadı ı beyan ederim.

Dr. Alper GEZD R C

THAF

Beni hiçbir zaman yalnız bırakmayacaklarını bildi im Aileme,
Hayatımda dönüm noktası olan ve beni özüme döndüren en de erli varlı ıma,
Ve tüm gerçek dostlara...



Bu çalı ma, stanbul Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmi tir. **Proje No: 30087**

TE EKKÜR

Tez danışmanlığı üstlenen ve yardımlarını esirgemeyen hocam Sn. Prof. Dr. Mustafa ÖZEN'e,

Yardımcı danışmanlığı üstlenen ve hastalarını bana yönlendiren Sn. Doç. Dr. Ali Metin KAFADAR'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bana katkılarından dolayı Sn. Prof. Dr. Adnan YÜKSEL, Sn. Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ, Sn. Doç. Dr. Mehmet SEVEN, Sn. Doç. Dr. Hakan ULUCAN, Sn. Yrd. Doç. Dr. Gülgün GÜVEN ve Uz. Dr. Elif FENERCİOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimimde kısa bir sürede olsa kendisiyle birlikte çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve birikimlerinden faydalandığım değerli hocam Sn. Prof. Dr. Hülya KAYSERLİ'ye,

Güzel ve sıkıntılı günleri birlikte paylaştığım arkadaşlarım Dr. Gözde YEL, Dr. Ender KARACA, Dr. Sarenur YILMAZ, Dr. Hatip AYDIN, Dr. Asuman KOPARIR, Dr. Erkan KOPARIR, Dr. Emre KIRAT, Dr. Bahtiyar MAMMADOV, Dr. Burhan DÜZ, Dr. Rumeysa TANHAN'a,

Tıbbi Genetik Anabilim dalımız laboratuvarında beraber çalıştığım arkadaşlarım Uzm. Bio. Bahadır BATAR, Uzm. Bio. Serhat SEVLİ, Uzm. Bio. Ömer Faruk KARATA, Uzm. Bio. Kemal KESEROLU, Uzm. Bio. Nazlı BİLGE, Uzm. Bio. Abdullah ÇELEBİ, Bio. Seda YILMAZ, Bio. Murat POLAT, Bio. Betül YÜCETÜRK, Bio. İknur SÜER, Bio. Ali GÖKGÖZ, Bio. Asiye Kasapoğlu DEMİRTAŞ, Bio. Pınar KESKİNER, Bio. Ayşe EMEK, Bio. Derya AKYÜZ, Bio. Özlem Yüksel DEMİREL, Bio. Aslı TATLILIK, Bio. Sinem ATEŞ'ine,

Polikliniğimizde beraber çalıştığımız ve bize yardımlarıyla iş yükümüzü hafifleten Hemşirelerimiz Aysun Ayaz SARI ve Azize TURAN'a,

Anabilim Dalımızın diğer çalışanları Fatma ÖNER, Sibel KOÇ, Salih İNÇE, İbrahim ÇURKU ve İnanç SAYIN'a,

Ve tez çalışmamın laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan bilgi, beceri ve özveriyle katkılarını esirgemeyen Uzm. Bio. Esra GÜZEL'e

En içten teşekkürlerimi sunarım...

Ç NDEK LER

BEYAN.....	
THAF.....	V
TE EKKÜR.....	V
Ç NDEK LER	V
TABLOLAR L STES	X
EK LLER L STES	X
SEMBOLLER / KISALTMALAR L STES	X
ÖZET	X
ABSTRACT.....	X V
1. G R VE AMAÇ.....	1
2. GENEL B LG LER	3
2.1. TAR HÇE	3
2.2. TANIM	5
2.3. KRAN AL KEM KLER N GEL M	6
2.4. SINIFLANDIRMA	10
2.5. SENDROM K KRAN OS NOS TOZ.....	11
2.5.1. Muenke FGFR3 li kili Koronal Sinositoz Sendromu.....	11
2.5.2. Saethre-Chotzen Sendromu.....	13
2.5.3. Crouzon Sendromu	13
2.5.4. Beare-Stevenson Kutis Girata.....	15
2.5.5. Pfeiffer Sendromu	15
2.5.6. Apert Sendromu	17
2.5.7. Crouzon ile Akantozis Nigrikans	17
2.5.8. Craniofrontonasal Sendrom	18
2.5.9. Baller Gerold Sendromu	18
2.5.10. Antley-Bixler Sendromu	21
2.5.11. Boston Tipi Kraniosinositoz	21
2.5.12. Carpenter Sendromu	21
2.6. NON SENDROM K KRAN OS NOS TOZ.....	24
2.6.1. Skafosefali.....	26

2.6.2. Trigonosefali	26
2.6.3. Anterior Plagiocefali	27
2.6.4. Brakisefali	28
2.6.5. Posterior Plagiocefali	29
2.6.6. Bisutural Sinostozis	29
2.6.7. Oksisefali	30
2.7. KRAN İS İNOS İZASYON MOLEKÜLER GENETİK	32
2.7.1. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) Reseptörleri	33
2.7.2. Twist1.....	35
2.7.3. Msx2.....	35
2.7.4. Eph/ephrin sinyal yolu 1	36
2.7.5. TGF β Sinyal yolu 1	36
2.8. KRAN İS İNOS İZASYON MOLEKÜLER TEST YAKLAŞIMI.....	37
2.8.1. Baskın Olarak Koronal Kraniosinostozdan Kaynaklanan Brakisefali ve Anterior Plagiocefali	40
2.8.2. Sagittal Kraniosinostozdan Kaynaklanan Skafosefali	40
2.8.3. Metopik Kraniosinostozdan Kaynaklanan Trigosefali	40
2.9. CGH(KARİTİP İLAVESİ VE KROMOZOMAL DELENKLEME) VE aCGH	41
2.9.1. CGH	41
2.9.2. aCGH	42
2.9.2.1. Metod	42
2.9.2.2. aCGH'e teknolojik yaklaşımlar.....	45
2.9.2.3. Dizayn yaklaşımları	45
2.10. TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI VE GENETİK DANIŞMANLIK.....	46
3. GEREKÇİ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Gereç (Hastalar)	47
3.2. Yöntem.....	48
3.2.1. DNA izolasyonu	48
3.2.2. DNA Kalite ve kantitasyon ölçümleri	49
3.2.3. DNA dizileme protokolü.....	50
3.2.4. aCGH Protokolü.....	51
3.2.4.1. Örneklerin hazırlanması	51

3.2.4.2. Enzim Kesimi.....	51
3.2.4.3. aretleme	52
3.2.4.4. Safla tırma.....	53
3.2.4.5. Hibridizasyon	53
3.2.4.6. Yıkama	54
3.2.4.7. Slaytların okutulması ve sonuçların de erlendirilmesi	54
4. BULGULAR.....	55
4.1. Hastaların Klinik ve Radyolojik Bulguları	55
4.1.1. Sendromik kraniosinotozlu hastalar	55
4.1.2. Non-sendromik kraniosinotozlu hastalar.....	57
4.2. Hastaların Moleküler Genetik Sonuçları	64
4.2.1. Sendromik hastaların moleküler genetik sonuçları.....	64
4.2.2. Non-sendromik hastaların moleküler genetik sonuçları	64
4.3. Non-sendromik hastaların aCGH Bulguları.....	66
5. TARTI MA	75
KAYNAKLAR	83

TABLolar L STES

Tablo 1. Klinik bulgular ve aile hikayesi temelli Kraniosinotoz genetik çalı ma akı eması.....	39
Tablo 2. Enzim kesiminde hazırlanan digestion master mix.....	51
Tablo 3. aretleme sırasında hazırlanan labeling master mix.....	52
Tablo 4. Hibridizasyon a amasında kullanılan solüsyonlar.....	53
Tablo 5. Hastalara ait klinik tanı, fizik muayene ve radyolojik bulgular	63
Tablo 6. Hastalarımıza ait genetik incelemeler	65
Tablo 7. Hasta ve referans örneklerinin DNA ve boya konsantrasyonlarının Spektrofotometre ile ölçüm sonuçları.....	67
Tablo 8. Olguların submikroskopik de i iklik gösteren bölgeleri ve özellikleri	74

EKLER LİSTESİ

ekil 1. Kafatasındaki sütür ve fontanelerin ematik görünümü	9
ekil 2. Muenke Sendromu'na ait hasta görüntüleri.....	12
ekil 3. Saethre-Chotzen Sendromuna ait hastaların yüz görüntüleri.	14
ekil 4. Crouzon Sendromuna ait hasta görüntüleri.	14
ekil 5. Beare-Stevenson Kutis Girata sendromlu hasta görüntüleri.....	16
ekil 6. Pfeiffer Sendromlu hastalara ait görüntüler.....	16
ekil 7. Apert sendromlu hastanın görünümü	19
ekil 8. Crouzon ile Akantozis nigrikans birlikteli i olan hastanın görüntüleri.	19
ekil 9. Craniofrontonasal sendromlu iki farklı hasta	19
ekil 10. Baller-Gerold Sendromlu hastanın görüntüleri	20
ekil 11. Antley-Bixler sendromlu hastaya ait görüntüler	22
ekil 12. Boston tipi kraniosinosisli hastalara ait görüntüler	22
ekil 13. Carpenter sendromlu hastaya ait görüntüler.....	23
ekil 14. Kalvaryal sütürlerin ve kafatası deformitelerinin ematik görünümü	25
ekil 15. Skafosefalili hastalara ait kafatasının üstten ve yandan görünümü	31
ekil 16. Trigonosefalili hastaya ait görüntüler	31
ekil 17. Oksisefalili hastanın önden görünümü ve 3 boyutlu tomografi görüntüsü	31
ekil 18. aCGH protokolünün ematik görüntüsü	44
ekil 19. Craniofrontonasal sendromlu hastanın görüntüleri	56
ekil 20. Apert sendromlu hastanın görüntüleri	56
ekil 21. Olgu 1'in önden görünümü (1) ve 3 Boyutlu Kranial BT görüntüsü(2)	58
ekil 22. Olgu 2'nin yandan görünümü (1) ve 3 Boyutlu Kranial BT görüntüsü(2)	58
ekil 23. Olgu 3 ve 4'e ait görüntüler.....	60
ekil 24. Olgu 5'in görüntüleri	60
ekil 25. Olgu 6'nın önden(1) ve yandan görünümü (2)	62
ekil 26. Olgu 7'nin önden görünümü (1) ve 3 boyutlu Kranial BT görüntüsü(2).....	62
ekil 27. Olgu 8'in önden(1) ve üstten görünümü (2)	62
ekil 28. Örneklerin enzim kesimi sonucu oluşan jel görüntüsü.....	67
ekil 29. Array CGH slaytının taranması sonrası elde edilen görüntü	68
ekil 30. Olgu-1'in kalite kontrol raporu.....	69

ekil 31. Olgu1'e ait de i ikliklerin karyogram üzerinde ematik görünümü	70
ekil 32. 5 nolu hastada tespit edilen 7p14.1 bölgesindeki delesyonun yazılım programındaki ematik görünümü	73
ekil 33. Olgularımızda saptanan de i imlerin Decipher veri tabanındaki hastalar ile karşılaştırılması	73



SEMBOLLER / KISALTMALAR L STES

CGH	Comparative Genomic Hybridisation
aCGH	Array- Comparative Genomic Hybridisation
DNA	Deoksirübo Nükleik Asit
NSK	Non-sendromik kraniosinositozis
CFNS	Craniofrontonasal sendrom
JWS	Jackson-Weiss sendromu
SCS	Saethre-Chotzen sendromu
MÖ	Milattan önce
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
FGFR	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü
FGFR1	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü-1
FGFR2	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü-2
FGFR3	Fibroblast büyüme faktörü reseptörü-3
EFNB1	Efrin B-1
TWIST1	Twist-related protein 1
RECQL4	RecQ protein-like 4
POR	P450 (cytochrome) oxidoreductase
MSX2	Muscle segment homeobox-2
RAB23	Ras ili kili protein 23
TGF	Transforming Growth Factor
GLI3	Gli-Kruppel Family Member 3
TGFBR1	Transforming Growth Factor-Beta Receptor, Tip 1
TGFBR2	Transforming Growth Factor-Beta Receptor, Tip 2
SCA	Spinocerebellar ataksi
Bp	Baz çifti
Mb	Megabaz

ÖZET

Gezdirici A. Kraniosinotolu hastalara moleküler genetik yaklaşım ve nonsendromik vakalarda array CGH ile tüm genom analizi. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi. İstanbul. 2014.

Kraniosinotiz; kafatası üzerindeki bir veya daha fazla sütürün erken füzyonuyla karakterize bir kraniofasyal malformasyondur. Dünya genelinde canlı doğumların yaklaşık olarak 1/2000-2500'ü kraniosinotizden etkilenir. Sütürlerin erken kapanması, ekil açısından bozukluk ortaya koyabildiği gibi, beyin gelişimini de doğrudan etkileyebildiği için, hastalığın erken ve doğru tanısı çok önemlidir. Kraniosinotiz tüm ırksal gruplarda görülür ve tüm vakaların %85'inden fazlası nonsendromiktir. Bugüne kadar TWIST, EFNB1, FGFR1, FGFR2 ve FGFR3 genlerindeki mutasyonların kraniosinotizde rol oynadıkları gösterilmiştir, %85 nonsendromik vakalardaki genetik etkenler ise hala daha tam olarak çözüme kavuşturulabilmediğidir.

Bu çalışmanın amacı, kraniosinotiz vakalarına genetik yaklaşım ve yüksek çözünürlüklü aCGH yöntemi kullanılarak nonsendromik kraniosinotiz izole vakalarda yeni gen ve gen bölgeleri tespit edebilmektir.

Çalışmamıza dahil olan 10 hastadan 2'si kraniosinotiz sendromlarından sırasıyla Craniofrontonasal sendrom ve Apert sendromu tanısı aldı. Bu hastalarımıza sendromlarla ilgili olarak sırasıyla EFNB1 ve FGFR2 gen dizisi analizleri Sanger sekans yöntemi ile uygulandı. Bu hastalardan ilkinde EFNB1 geninde literatürde daha önceden tanımlanmamış bir mutasyon (c.402 T>C) tespit edildi. Diğer hastamızda ise FGFR2 geninde sık görülen c.755 C>G mutasyonu tespit edildi. Geriye kalan 8 nonsendromik vakada ise 60 mer, toplamda 411.056 prob içeren, çözünürlüğü 5.3 KB olan "SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 2x400K (Agilent Technologies)" çipi kullanılarak aCGH uygulandı ve çeşitli bölgelerde delesyon ve duplikasyonlar tespit edildi. Elde edilen verilerin, kraniosinotize yol açan yolları aydınlatılmak adına ön bilgiler sağlayarak kraniosinotizle ilgili yapılacak olan gelecekteki çalışmalara katkı yapacağı öngörüldü.

Anahtar Kelimeler: Kraniosinotizis, nonsendromik, karılaştırılmalı genomik hibridizasyon

ABSTRACT

Gezdirici A. Molecular genetic approach to craniosynostosis patients and whole genom array CGH analysis of nonsyndromic cases. Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Medical Genetics. Istanbul. Specialization in Medicine Thesis. 2014.

Craniosynostosis is a craniofacial malformation in which one or more sutures of the cranial vault are fused prematurely. It is estimated that craniosynostosis affects 1 in 2,000 to 2,500 live births worldwide. Early and accurate diagnosis of craniosynostosis is very important since premature suture closure causes to not only a deformity of skull but also can directly affect the development of brain. Craniosynostosis occurs in all racial groups and more than 85% of all cases are non-syndromic. Until now, mutations in TWIST, EFNB1, FGFR1, FGFR2 and FGFR3 are shown to play role in craniosynostosis, whereas genetics factors of 85% non-syndromic cases haven't been fully identified yet.

The aim of this study is to identify novel genes and gene regions for non-syndromic craniosynostosis cases through utilizing a genetic approach to craniosynostosis cases and high resolution aCGH technique.

Out of 10 patients included in the study, 2 patients were diagnosed with Craniosynostosis syndrome and Apert syndrome. For these patients, molecular analysis of EFNB1 and FGFR2 gene were carried out using Sanger sequencing. Patient diagnosed with Craniosynostosis syndrome has been shown to carry a novel mutation (c.402T>C). Our other patient has been demonstrated to have one of the most common mutations of FGFR2; c.755 C>G. For remaining 8 non-syndromic cases, 'SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 2x400K (Agilent Technologies)' microarray chips, which are made up of 60 mer-long 411.056 probes with 5.3KB resolution, were used to perform aCGH analysis and various deletions and duplications were detected. Results of this study are estimated to provide preliminary information about pathways playing role in the pathogenesis of craniosynostosis, which contribute to the further studies in the field.

Keywords: Craniosynostosis, nonsyndromic, comparative genomic hybridization

1. G R VE AMAÇ

Kafatası kemikleri mezen imden membranöz kemikle me süreciyle fetal hayatın ilk haftalarında ekillenir ve bu süreç fetal hayatın ikinci ve üçüncü ayları boyunca devam eder. Do umda kafatası kemikleri ba dokusu, sütürler ve fontanelle ile ayrılmı tır. Bu yapılar ekstrauterin ya am boyunca kafatasının büyüme ve geli imine olanak sa lar ve genellikle 18. ay öncesinde kapanır (1).

Kraniosinositoz; kafatası üzerindeki bir veya daha fazla sütürün erken füzyonuyla karakterize bir kraniofasyal malformasyondur. Klinik iddeti anomalinin olu tu u zamana ba lıdır ve geli imin erken döneminde olu an anomaliler genelde daha a ır klinik bulgularla ili kilidir. Sütürlerin intrakraniyal doku basıncına kar ı sekonder büyüme alanlarına imkan sa ladı ı dü ünülür ve kafatası içindeki basınç, kafatası ile beynin adaptasyonu için yeni kemiklerin depozisyonunun gerçekleşti i sütürlerdeki kranial kemikleri birbirinden ayırır.

Dünya genelinde canlı do umların yakla ık olarak 1/2000-2500'ü kraniosinositozdan etkilenir. Kraniosinositoz tüm ırksal gruplarda görülür ve tüm vakaların %85'inden fazlası non sendromiktir. Sagittal sinositoz en yaygın fenotiptir, non sendromik vakaların %40-55'inden sorumludur. kinci en yaygın tip %20-25 ile koronal sinositozdur. Metopik sinositoz %5-15 ile üçüncü, lambdoid sinositoz ise nonsendromik vakaların sadece %0-5'inden sorumludur. Yapı ve biçim anomalilerini tanımlama yerine, bugünlerde ara tırmalar daha çok bunların altında yatan moleküler mekanizmaları çözmeye odaklanmı tır. Tüm ilerlemelere ra men, sütür biyolojisi hakkında birçok bilgi sahibi olmamıza ra men kraniosinositozla neden olan yolaklar tam olarak halen anla ılamamı tır (2).

Normal sütür biyolojisi ve kraniosinositozların patogenetik mekanizmaları hakkında bugünkü bilgilerimiz hala sınırlıdır ve esas olarak birkaç otozomal dominant ve resesif kraniosinositozis sendromlarındaki genler ve gen defektlerinin belirlenmesine dayanmaktadır. uanda FGFR1, FGFR2, FGFR3, TWIST1, EFNB1, MSX2, POR ve RAB23 genlerindeki mutasyonların sendromik kraniosinositozlarla olan ili kisi iyi bilinmektedir (3).

Kraniosinositozisin erken ve do ru tanısı çok önemlidir çünkü acil müdahale gerektirebilir. Bu nedenle bu hastalıkların tanısı ve te hisini kolayla tıracak aynı zamanda tedavisine yönelik adımların atılmasına yardımcı olmak amacıyla yeni

tekniklerin kullanılarak etiyolojik nedenlerin ve mekanizmaların saptanması büyük önem arz etmektedir.

Bu çalı mada, Kraniosinositoz hastalarına moleküler genetik yakla ım algortiması uygulanarak hastalar sendromik ve nonsendromik olarak gruplandırıldı, daha sonra sendromik hastalarda bilinen gen analizleri Sanger sekanslama yöntemiyle yapıldı. Geriye kalan nonsendromik kraniosinositoz vakalarında ise öncelikle kraniosinositoz vakalarında en fazla tespit edilen gen olan FGFR2 geni analizi yine Sanger sekanslama yöntemiyle yapıldı. Mutasyon tespit edilemeyen hastalarda yeni gen ve gen bölgelerini tespit ederek genetik temelin ortaya çıkarılmasını sa lamak amacıyla yüksek çözünürlüklü array tabanlı kar ıla tırmalı genom hibridizasyonu ile tüm genom analizi yapılması planlandı.

2. GENEL B LG LER

2.1. TAR HÇE

Kraniosinositozun tanımı ve açıklamaları birkaç bin yıl boyunca uzanan uzun ve karma ık bir geçmi e sahiptir. Etkilenen bireylerin tasvirleri dünyanın her yerinde yayılan çok sayıda kültürde ara tırmalar gerçekte tirilmi tir. En eski kanıtlar 500.000 yıl öncesinde modern spanya'da orta pleiston insan kafatasının bulunmasına dayanır. Burada unilateral lambdoidal sinositoz vardır (oldukça nadir kraniosinositoz tipi) ve buna ba lı kafatası ekleinde deformateler tahmin edilmektedir. Kafatasında artmı intakranial basınca dair kanıtlar gösteriyordu. En ilginç olanı, bireyin ölüm ya mının en az 5-8 ya nda olmasının tahmin edilmesiydi (4).

Daha az eski ama aynı derecede ilginç ve daha spekülatif örnekler de boldur. MÖ yakla ık 1350 yıllarında hüküm sürmü mısır firavunu Akhenaten'in Antley-Bixler sendromuna benzer manifestasyon olarak kraniosinositoz oldu u hipotez olarak kabul görmü tür. O ve onun ailesinin anormal steroidogenez ile uyumlu özelliklere sahip oldu u gösterilmi tir (5). Nanji-Xian-weng gibi bazı uzun ömürlü Çin tanrıları, kraniosinositoz ile uyumlu ciddi frontal çıkıklık gösteriyorlardı (6, 7) .

MÖ 5. Yüzyılda ehrin altın ça ı sırasında Athinada açılan ünlü Atinalı politikacı Perikles'in büstleri sagittal sinositozu do rulayan özellikler gösteriyordu ve "yakı ıklı fakat son derece uzun kafa" olarak nitelendiriliyordu. Gerçekten de büyük generalin kafanın eklini gizlemek için bir kask giydi i tasvir edilmi tir. Perikles birçok bakımdan parlak bir bilgeydi. zole kraniosinositozlu bireylerin birço unun cerrahi tedavi durumu olmasa bile kognitif geli iminin etkilenmezdi i bilinmektedir (8).

Kraniosinositozun en erken tanımlamaları Hipokratın yazılarında görülür, kranial sütürlerin kafa ekliyle geni bir yelpazede ili kisi MÖ. 4. yüzyılda tanımlanmı tir. Birkaç yüzyıl sonra bin yılının ba nda Roman ansiklopedist Cornelius Celcus kafatası ve sütürlerin olmadı ı bir birlikteli i tanımlamı tir (7).

Daha sonraları, 1500'lü yıllarda profesyonel kariyerini talya'da geçiren Brüksel do umlu Alman doktor ve anatomist Andreas Vesalius kraniosinositozun karakteristi i kafa deformateleri çe itlerini tanımlamı tir (9). Ancak tanımlamalar 1700'lü yılların sonu gibi de ildi. Samuel Thomas Sömmering sütürlerin erken kranial geli imin bir

kenarı oldu unu ve erken sütün füzyonunun kafa deformitesine yol açabilece i sonucuna varmı tır (10).

Kraniosinositoz'un modern kavramları Otto ve Virchowun çalı malarına dayalıdır (7). 1851 yılında, ünlü Alman bilim adamı ve Doktor Rudolf Virchow monosutural füzyondan kaynaklanan deformitelerde mantıklı bir sınıflandırma tanımlamı tır. Virchow yasasına göre kafanın geni lemesi füzyon olan sütün boyunca devam ederken, füzyon olan sütün dik olarak sınırlandırılır (11).

Daha genel kraniosinositoz gibi, sendromik kraniosinositozun da karma ık ve etkileyici bir geçmi i vardır. Bu sendromik kraniosinositozların ço u ilk defa klinik olarak 20. Yüzyılın ortalarında Avrupa'da tanımlanmı tır. Ancak bu hastalıkların bir ço unun genetik nedeni 1990'lı yıllarda geli en teknoloji ve mendelian hastalıkların hızlı ke finin oldu u bir dönemde ortaya çıkarılmı tır.

İlk olarak, 1906 yılında, bir Fransız çocuk doktoru olan Eugène Charles Apert, akrocefali ile birlikte el ve ayaklarında sindaktiliden etkilenen bir çocuk tariflemi tır (12). Apert daha önceden vakasına benzer 8 vaka daha kaydetti, bunlardan biri 1854 yılında Wheaton tarafından rapor edilmi ti (13). Apert bu durumu akrocefalosindaktili olarak adlandırmı tı (12). Neredeyse Wheaton 'un tanımlamasından tam 100 yıl sonra 1995'de Wilkie ve ark. FGFR2 genindeki spesifik mutasyonun hastalı ın genetik temelini açıklamak üzere uygun bir aday gen oldu unu buldular (14).

1912 yılında SCA gibi herediter nörolojik hastalıklarda uzmanla mı olan Fransız nörolojist Louis Edouard Octave Crouzon, bir anne ve o lunda, her ikisinde de sendromik özellikler tanımladı ve bu onun adını aldı. İlk tanımlamadan sonra Crouzon bu antite ile me gul oldu ve bu antiteye birçok çalı ma ekledi (15). Di er birçok kraniosinositoz sendromu gibi ba lantı analizi ile bu durumunda FGFR2 geninden kaynaklandı ı ortaya konuldu (16).

Saethre-Chotzen sendromunun öyküsü hem hastaların tanıtımı açısından hem de kendi adını ta ıyan hekimler açısından özellikle ilginçtir. Norveçli bir nörolog ve psikiyatrist olan Haakon Saethre ve Alman psikiyatrist Fritz Chotzen sırasıyla 1930 ve 1932'de birbirinden ba ımsız kalıtsal turrisefali tarif hasta ve ili kili ek küçük anormallikleri olan hastalar tanımlamı lardır (17, 18). Saethre-Chotzen sendromunun moleküler nedeni di er kraniosinositoz sendrom formlarının aksine sitogenetik haritalama ve ba lantı analizinin her ikisi kullanılarak tanımlanmı tır. İlk sitogenetik

ipuçları 1970'lerde ortaya çıktı ise de, TWIST genindeki mutasyonların hastalıktan sorumlu olduğu 1997 yılında gösterilmiştir (19, 20).

1964 yılında da Alman genetikçi Rudolf Pfeiffer, akrocefali ve birinci parmak anomalilerinden etkilenen bir ailenin 8 bireyini tanımladı. Pfeiffer bu ailenin ilk etkilenen bireyini Almanya Münster'de çocuk asistanı iken gördü ve bu deneyimi onun genetik alanında kariyer yapması kararına katkıda bulunmuştu. 1991 yılında Max Muenke, sonradan Muenke sendromunu tanımladı, bu aileyi küçük Westphalian ehrinde (onun çocukluk evine çok yakın olan bir yer) balantı analizi için gerekli örnekleri almak amacıyla ziyaret etti. Balantı analizleri ve aday genlerin dizilenmesi sonucu Pfeiffer sendromunun FGFR1 ve FGFR2 genlerinden kaynaklandığını gösterdi (21-24). İlgili bir şekilde, Orijinal Pfeiffer sendromu ailesindeki mutasyon yıllar sonra aynı lokus olan FGFR2 de tanımlandı (25).

Son olarak bir kraniosinotiz sendromu olarak önerilen Muenke sendromu ilk defa klinik olarak delege moleküler olarak tanımlandı. FGFR3 genindeki spesifik mutasyona bağlı olarak meydana gelen Muenke sendromu daha önceden klinik olarak Pfeiffer sendromu tanısı alan bir ailenin birkaç bireyinde kefedilmiştir, hastalığın balantı analizi ile 4. Kromozom üzerinde lokalize olduğu ve segregasyon sonucunda FGFR3'deki ortak bir mutasyon sonucu olduğu kefedilmiştir (26, 27).

Bu Muenke sendromu vakası tarihi klinik tanımlar ve daha yeni moleküler tanımlar arasındaki genetik alanına giren gerginlikleri vurgular. Sadece son birkaç on yıl içinde, bu durum mendelian hastalıkların büyük çoğunluğu için mümkün hale gelmiştir, burada bile kraniosinotiz sendromik formlarının etiyolojik nedenleri halen bilinmemektedir.

Genetik araştırmalardaki devam eden gelişmeler kesinlikle moleküler tanımlama sürecini hızlandıracak, ama dikkatli klinik ayırım hastalığın anlaşılması için kritik olmaya devam edecektir ve hem klinik yaklaşım hem de moleküler yaklaşımlar birleştirilmiştir bir şekilde devam etmelidir.

2.2. TANIM

Kraniosinotiz, kafatasındaki bir veya daha fazla sütürün zamanından önce birleşmesiyle oluşan kraniofasyal bir malformasyon hastalığıdır ve genel olarak prevalansı 10000 de 3-5 arasındadır (28). Klinik ciddeti anomalinin olduğu zamana bağlıdır ve gelişimin erken döneminde oluşan anomaliler genelde daha ağır klinik

bulgularla ili kilidir. Sütürlerin intrakraniyel doku basıncına karşı sekonder büyüme alanlarına imkân sağladığı düşünülür ve kafatası içindeki basınç, kafatası ile beyin adaptasyonu için yeni kemiklerin depozisyonunun gerçekleştiği sütürlerdeki kranial kemikleri birbirinden ayırır (29).

Bir veya daha fazla sütürün erken füzyonu, kafa tabanı ve kubbesinin eklemlerinde değişikliklere yol açarak asimetrik veya azalmış kraniofasyal büyümeye neden olur. Kraniosinotiz patofizyolojisini ilk defa 1851de Virchow rapor etmiştir. Kemik gelişmesinin karşı yöndeki dengeleyici gelişme ile birlikte kaynamış sütürlere dik yönde durduğunu fark etmiştir. Teknik olarak, kraniosinotiz terimi erken sütür kapanması sürecidir, halbuki kraniostenozis sonucudur. Bugün bu terimler birbirinin yerine kullanılabilir, fakat bu malformasyonları tanımlamak için kraniosinotiz terimi daha yaygın kullanılmaktadır (30).

2.3. KRANIAL KEMİKLERİN GELİŞİMİ

Kalvaryal kemikler osteoblastlar içindeki multipotent mezenkimal hücrelerin çoğalması ve farklılaşması ile oluşurlar. Intramembranöz kemikleme olarak bilinen bu süreç, daha önceden var olan kıkırdak matriksten oluşan vücuttaki diğer birçok kemik gelişiminden (enkondral kemikleme) farklıdır. Kalvaryaya ilk olarak kemiklemenin birincil merkezi olarak adlandırılan mezenkimal kondensasyonundan kaynaklanır. Mezenkimal hücre çoğalması ve sonrasında marjlarda osteoblasta dönüşüm farklılaşma ve osteojenik cephede iki kafatası birbirine yaklaştıkça kadar radyal biçimde kemik büyümesi gerçekleşir. Kemiklerin arasındaki bu yapılar sütür olarak adlandırılır (31). Gelişmekte olan kemikler arasında esnek eklemler gibi olan bu fibröz sütürler gelişim sırasında kafatasının büyümesine ve eklemlerinde birleşmesine olanak sağlarlar. Sütür kenarlarında osteojenik cephelerdeki büyüme ve onarım, çoğalma ve farklılaşma arasında ince bir denge gerektirir. Ek olarak, apoptozunda iki osteojenik cephenin birbirinden ayrı kalmasını sağlayan bir rolü vardır (32). Bu gelişmelerin herhangi birinin bozulması kraniosinotiz olarak bilinen kalvaryal sütürlerin erken füzyonu ile sonuçlanır.

Gelişmekte olan kafatası nörokranium, beyin etrafında koruyucu bir gövde ve visserökranium, yüz iskeleti olarak bölünür. Nörokranium daha sonra kafa tabanını oluşturan kıkırdak parçası ve kafatasını oluşturan membranöz parça olarak bölünür. Kafatasının membranöz kısmı başlıca iki kaynaktan meydana gelir: Notokord ve

Somitlerin paraksial mezodermi. Bu iki kaynaktan oluşan mezenim beyni sarar ve düz kemikleri oluşturmak için membranöz kemikle meydana gelir. Bu düz kemikler birincil kemikle merkezinden periferik doğru yayılan ince benzeri spiküller ile kemikleir.

Enkondral kemikleme ile kaynağı çok sayıda ayrı kırıkdağların olduğu kafatabanında çok benzer bir düzenleme ile görülür. Prekordiyal kısım olarak adlandırılan, notokorddan kaynaklanan kırıkdağlar önden pituiter fossaysa uzanır ve posteriora uzanan kırıkdağlar parakordal ve kordal kısımlar olarak adlandırılan paraksiyal mezodermden köken alırlar. Oksipital kemik üç oksipital sclerotomes ile parachordal kırıkdağ füzyonundan oluşur. Kranialde ise, hipofiz kırıkdağ ve sırasıyla sfenoid ve etmoid kemiklerin formu olan trabekülleri vardır.

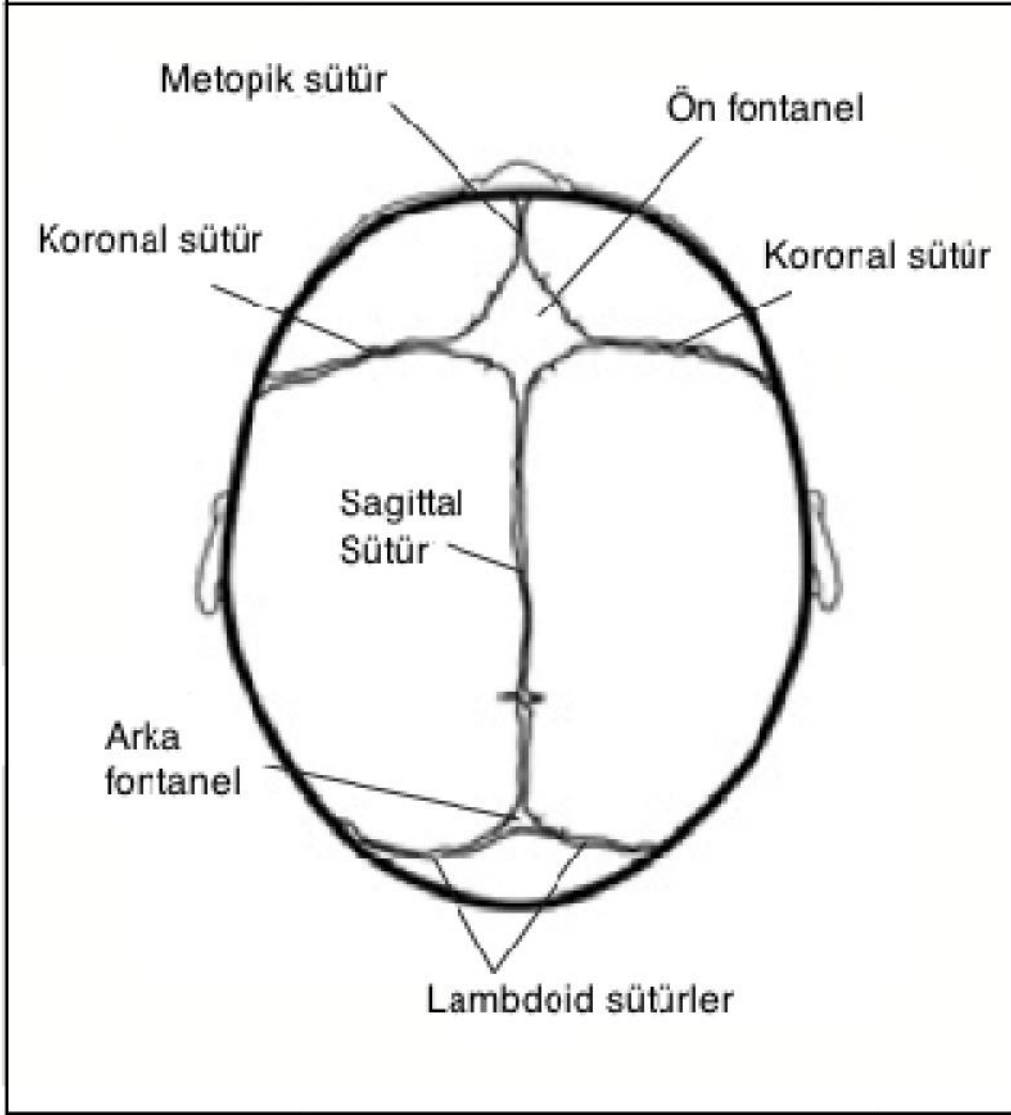
Yeni doğan kafatası, dar kırıkdağ dokusu, dikeyler ile çeyitli düz kemiklere ayrılır. Bunlar; nöral krest hücrelerinden (sagittal sütür) ve paraksiyal mezodermden (koronal sütür) kaynaklanır. Üç kemiğin sütürlerle karıştığı yerlerde bir açıklık kalır ve bu fontanel olarak adlandırılır. Sütür ve fontaneler kalıpsal olarak çocuk doğumu boyunca yardımcıdırlar. Metopik sütür normalde 2 yaşında kapanmaya başlar. Sagittal sütür 22 yaşından sonra, koronal sütür 24 yaşından sonra ve lambdoid sütür 26 yaşından sonra kapanmaya başlar. Normal sınırlar içinde bu sütürler 40 yaşına kadar tamamen kapanabilir.

Kafatası veya kalvarium gelişimi sırasında hızlı büyüme ve genilemeye izin verirken kapalı olan santral sinir sistemi içeriğinde aynı anda korumalıdır. Bu görünümü teçeli kili görev kemik ve bağ dokusu yapıların koordineli entegrasyonu ile gerçekleştirilir. Bu olağanüstü gelişim sürecini sağlayacak genetik / epigenetik ipuçlarının barınması için öncelikle moleküler ve hücresel düzeyde anlaşılması ile gerekir.

İnsanlarda embriyonun kranial ucu fetal hayatta 3. haftanın ortalarında, merkezi sinir sistemi vücutta uzanan içi boş bir tüp olarak 5. haftada gelişir (33). Mezenim kaynaklı kırıkdağlar geni leyan beyin ile birlikte gelişir ve kondrokranium veya kırıkdağ nörokranium olarak adlandırılan kırıkdağ yapılar kafatabanını oluşturmak için kaynağıdır. Gelişimin dokuzuncu haftasında, bu yapıların beyini destekleyen nihai kemik yapılar oluşturmak için endokondral kemikleme geçmesi başlar. Buna karşın, kafatasındaki kemikler intramembranöz kemikleme süreci boyunca gelişir. Hâlbuki endokondral kemikleme süreci bir kırıkdağ araşablon aracılığıyla kemik oluşumunu içerir, intramembranöz kemikleme mezenim hücre kondensasyonlarının direkt

osteojenik farklılaşması ile olur. Daha önce yapılan çalışmalarda kafatasının nöral krest ve mezodermal dokulardan oluştuğu gözlemlenmiştir (34, 35). Bazı çalışmalarda ise tamamen nöral krest kökenli olduğu gözlemlenmiştir. Bu çelişkili durum o zamanki teknik artılara bağlanmıştır. Fakat yakın zamanda transgenik fare çalışmalarında örneğin frontal kemiğin nöral krestten kaynaklandığını, hâlbuki parietal kemiğin mezodermal kökenli olduğu tespit edilmiştir (36).

Kafatasındaki kemik plakalar doğumdan 2 yıl sonra kadar kemiklemeye devam eder. Bu kemikler fibröz kranial suturelerle ayrılırlar. En büyük sutureler, örneğin; Metopik suture iki frontal kemiği ayırır, sagittal suture iki parietal kemiği ayırır, koronal suture parietal ve frontal kemikleri ayırır, lambdoid suture ise arkada oksipital ve parietal kemikleri ayırır (37). (ekil 1)



ekil 1. Kafatasındaki sütür ve fontanelerin ematik görünümü

Ref.(38)'den de i tirilerek alınmı tır.

Fontaneler doğum sırasında kafatasının kalıba uyumuna izin verir ve bebeklik döneminde hızlıca büyüyen beyine uyum sağlar. Anterior (elmas ekleinde koronal sütür anteromedian hattında), posterior (lambdoid sütür posteromedian hatta), iki adet sfenoidal (ön fontanelin hemen altında anterolateral olarak), iki adet mastoid (parietal, oksipital ve skuamoz kemikler arasında posterolateralde) olmak üzere 6 adet fontanel bulunur.

Gelimekte olan kalvaryumun dikkat çekici fonksiyonel plastisitesi karmaşık genetik ve çevresel faktörler tarafından düzenlenir. Normal artlar altında, kafatasındaki entegre kemik, kıkırdak ve fibröz komponentler doğum sonrası gelişim sırasında hızla büyüyen beyine uyum sağlar. Ancak bu dinamik gelişim sürecindeki aberasyonlar, spontan veya bir sendrom kompleksinin parçası veya çevresel etkiler, erken sütür füzyonu ile kraniofasyal malformasyonlara yol açabilir ve toplu olarak bu durum kraniosinotiz olarak adlandırılır.

Kafatası kemikleri mezenimden membranöz kemikleme süreci ile fetal yaşamın ilk haftalarında oluşur, bu süreç fetal hayatın ikinci ve üçüncü aylarında devam etmektedir. Doğumda kafatası kemikleri bağ dokusu, sütürler ve fontaneler ile ayrılmıştır. Bu yapılar ekstrauterin yaşam boyunca kafatasının büyüme ve gelişimine olanak sağlar ve genellikle 18. ay öncesinde kapanır. Sütürlerin intrakraniyel doku basıncına karşı sekonder büyüme alanlarına imkân sağladığı düşünülmüş ve kafatası içindeki basınç, kafatası ile beyin adaptasyonu için yeni kemiklerin depozisyonunun gerçekleştiği sütürlerdeki kranial kemikleri birbirinden ayırır (29, 39).

2.4. SINIFLANDIRMA

Literatürde birçok kraniosinotiz tipi tanımlanmıştır ve sınıflamada üç farklı alt kategori kullanılmıştır.

İlk olarak basit ve kompleks olarak ayrılır. Basit kraniosinotiz tek bir sütürü içermektedir. Örneğin; sagittal, lambdoid, koronal. Kompleks kraniosinotiz ise iki veya daha fazla sütürü içerir. Örneğin; koronal ve sagittal sütürün her ikisi (40).

İkincil olarak, etiyolojideki temele göre primer veya sekonder olarak ayrılır. Primer kraniosinotiz en yaygın tiptir ve izole olarak görülür. Sekonder kraniosinotiz ise talasemi, hipotiroidi, hematolojik ve metabolik bozukluklar gibi diğer bozukluklar ile birlikte görülür.

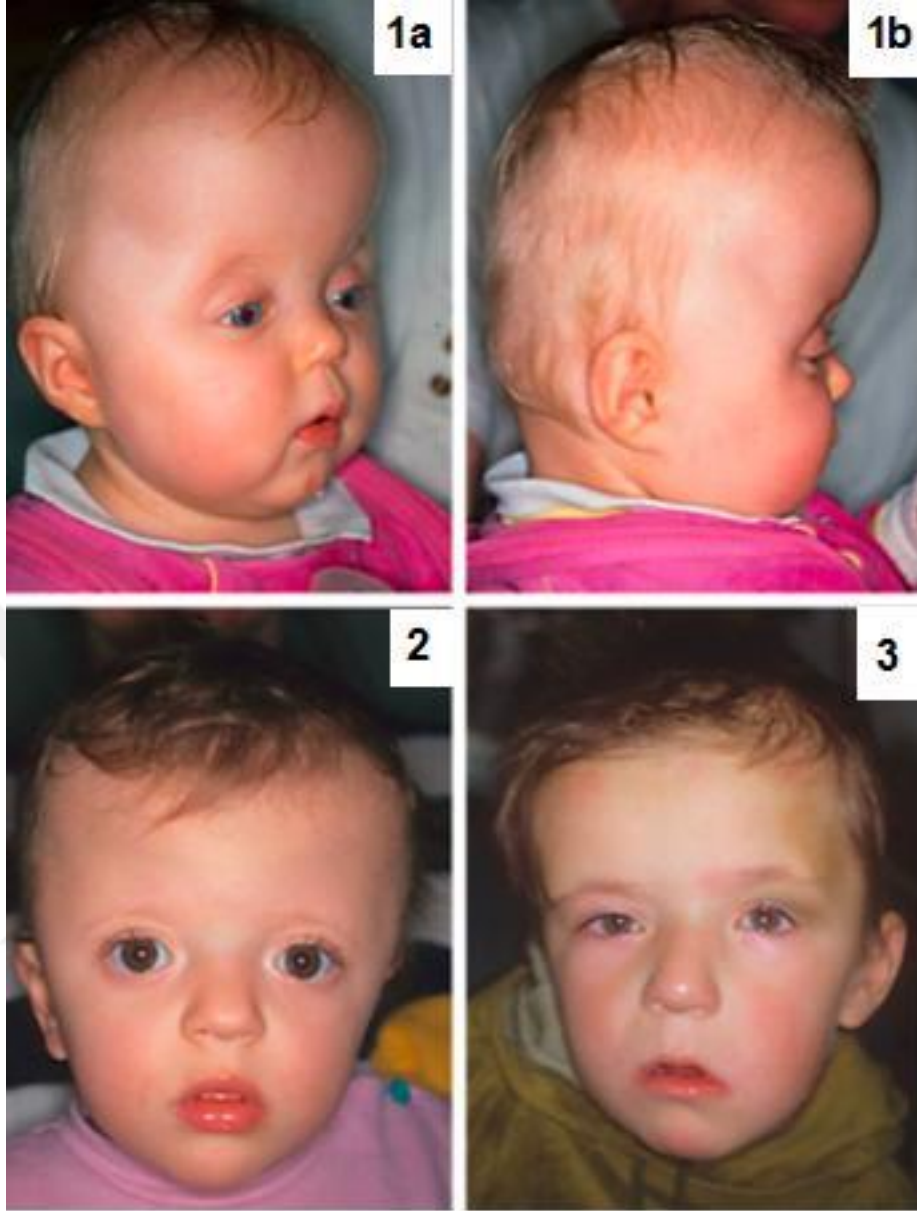
Son olarak ve en yaygın kullanılan sınıflamada ise; Kraniosinotiz ya nonsendromik (izole) veya sendromik olabilir. Nonsendromik veya izole kraniosinotizde nörolojik veya oftalmolojik bulgular gibi erken sütür füzyonu ile ili kili anomalilerden ba ka anomali bulgusu yoktur ve skafosofali, brakisofali, trigonosofali, plagiosofali gibi farklı tipleri vardır (40, 41). Sendromik kraniosinotiz di er vücut deformitelerine e lik eder ve çoklu sistemleri içerir (örne in; kalp, kas-iskelet, genitoüriner). Apert sendromu, Carpenter sendromu, Crouzon sendromu, Muenke sendromu ve Saethre-Chotzen sendromu gibi birçok farklı tipi vardır. Crouzon hastalı ı ve Apert sendromu kraniosinotizla ili kili di er sendromlardan daha sık görülür (42).

2.5. SENDROM K KRAN OS NOS TOZ

180'in üzerinde farklı sendrom kraniosinotiz içerir. Bunlardan en sık görülenler ve klinik özellikleri iyi tanımlanan bazı sendromlar unlardır:

2.5.1. Muenke FGFR3 li kili Koronal Sinotiz Sendromu

Muenke sendromu tek taraflı veya bilateral koronal kraniosinotiz ile oküler hipertelorizm ve yüz orta hat hipoplazisi ile karakterizedir. (ekil 2) Ekstremitte tutulumu brakidaktili, karpal kemik füzyonu ve konik epifizleri içerebilir. Zekâ genellikle normaldir. Di er kraniosinotiz sendromları özellikle Saethre-Chotzen, Pfeiffer ve Jackson-Weiss sendromları ile fenotipik overlap görülür. Bu sendromun hafif anterior plagiosofali ile sonuçlanan izole tek taraflı koronal kraniosinotizden, çift taraflı koronal kraniosinotizden dolayı hafif brakisofali formuna ve birden fazla sütür tutulumundan dolayı yonca yapra ı eklinde kafa deformitesi gibi en uç manifestasyonuna kadar a ır ı klinik variabilite gösterdi i gözlemlenmi tir. Klinik olarak belirgin özellikler bazen görülmeyebilir ve tanı sadece radyolojik inceleme ve moleküler çalı malar sonucunda konulabilir. Aile içinde de i ken variabilite, hafif bir vakaya ancak daha a ır etkilenmi bir vaka do duktan sonra tanı konulabilir anlamına gelir. FGFR3 geni Pro250Arg mutasyonu muenke sendromunun moleküler karakteristi idir. Vakaların tamamına yakını bu mutasyonu ta ır. Hastalık otozomal dominant kalıtım gösterir.



ekil 2. Muenke Sendromu'na ait hasta görüntüleri.

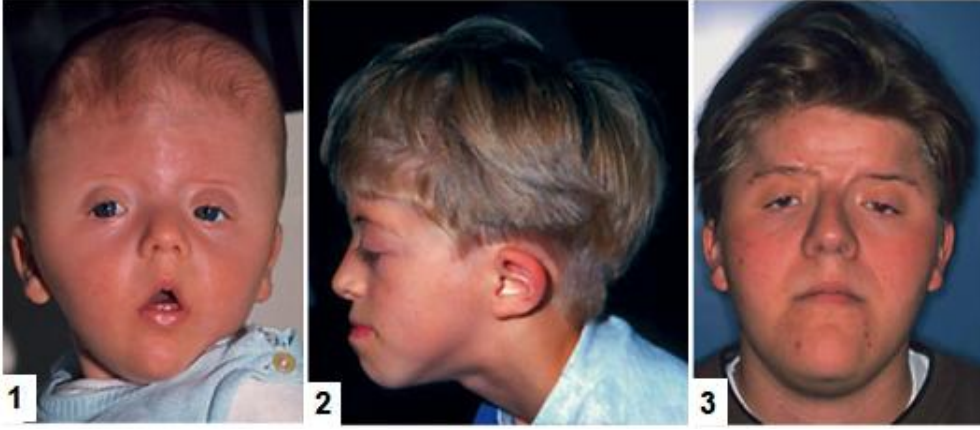
(1a) 1. Hastanın önden, (1b) yandan görüntüsü. (2) 2. Hastanın, (3) 3. Hastanın önden görünümü. Ref(43)'den de i tirilerek alınmıştır.

2.5.2. Saethre-Chotzen Sendromu

Kraniosinotiz genellikle tek taraflı veya bilateral fakat metopik ve sagittal suturelerin etkilenmesiyle olur. Kraniofasyal özellikleri arasında düğük saç çizgisi, papa an gaga burun yapısı, pitozis, anormal kulaklar (küçük ve belirgin yatay krus) , belirgin çene sayılabilir. (ekil 3) Minör iskelet anomalileri görülebilir. Elde 2. ve 3. Parmaklar arasında sindaktili de i ken olarak gözlenebilir. Hafif-orta geli me gerili i rapor edilmesine rağmen (TWIST1 tüm gen delesyonu olanlarda), zekâ genellikle normaldir. Saethre-Chotzen sendromunun daha nadir görülen bulguları arasında; boy kısalı 1, parietal foramina, radioulnar sinostoz, yarık damak, maksilla hipoplazisi, oküler hipertelorizm, halluks valgus, i itme kaybı ve konjenital kalp malformasyonları sayılabilir. Ebeveynlerdeki de i ken ekspresivite daha a ır etkilenen çocu un tanısı konulduktan sonra gözlenebilir. Saethre-Chotzen sendromlu vakaların ço unda (%40-80) TWIST1 gen mutasyonlar görülür (19, 20). Otozomal dominant kalıtım görülür. Mutasyonlar nükleotid de i imleri (yanlı anlamlı veya anlamsız), küçük delesyonlar /eklemeler ve büyük delesyon/eklemeler ve/veya karma ık düzenlemelerdir, temel bir sarmal döngü-sarmal transkripsiyon faktörü olan TWIST1 in fonksiyonel yetersizli i ile sonuçlanır (44-48).

2.5.3. Crouzon Sendromu

Karakteristik yüz bulguları gaga burun, hipertelorizm, propitozis ve yüz orta hat hipoplazisidir. (ekil 4) Kraniosinotiz çift taraflı koronal ile birlikte ara sıra bebeklik ve çocukluk döneminde geli en pansinotizdir, zekâ korunmu tur. Bazı yayınlarda metakarp ve falanks kısalıkları bildirilmesine ra men genellikle ekstremitte tutulumu yoktur (49). lerleyici hidrosefali yaygındır ve vakaların yaklaşık %30'unda görülür (50). FGFR2 genindeki mutasyonlar crouzon sendromundan sorumludur ve otozomal dominant kalıtım görülür.



ekil 3. Saethre-Chotzen Sendromuna ait hastaların yüz görüntüleri.



ekil 4. Crouzon Sendromuna ait hasta görüntüleri.

Crouzon sendromuna sahip (1) anne ve (2) çocu u. (3) Trakeostomi açılmış bir hasta. (4)Belirgin oküler propitozis ve hipertelorizm. (5) Göz globunun subluksasyonu

Ref(43)'den de i tirilerek alınmıştır.

2.5.4. Beare-Stevenson Kutis Girata

Klinik bulgular kraniosinostoz ile sık görülen yonca yapra ı kafatası ve kulak defektlerini içerir. Yüz özellikleri sıklıkla cruzonoid olarak tanımlanır. Bu sendromun en çarpıcı özellikleri oluklu deri kırıklıkları (cutis gyrata), akantozis nigrikans ve skin tag den oluşan cilt bulgularıdır. Cutis gyrata deri kenar derecede eller, ayaklar, gövde, boyun, alın, yüz ve kafa derisini etkiler (ekil 5). Anogenital anomalilerde rapor edilmiştir (51). FGFR2 genindeki mutasyonlar sorumludur fakat başka lokuslarda sorumlu olabilir. Otozomal dominant kalıtım gösterir.

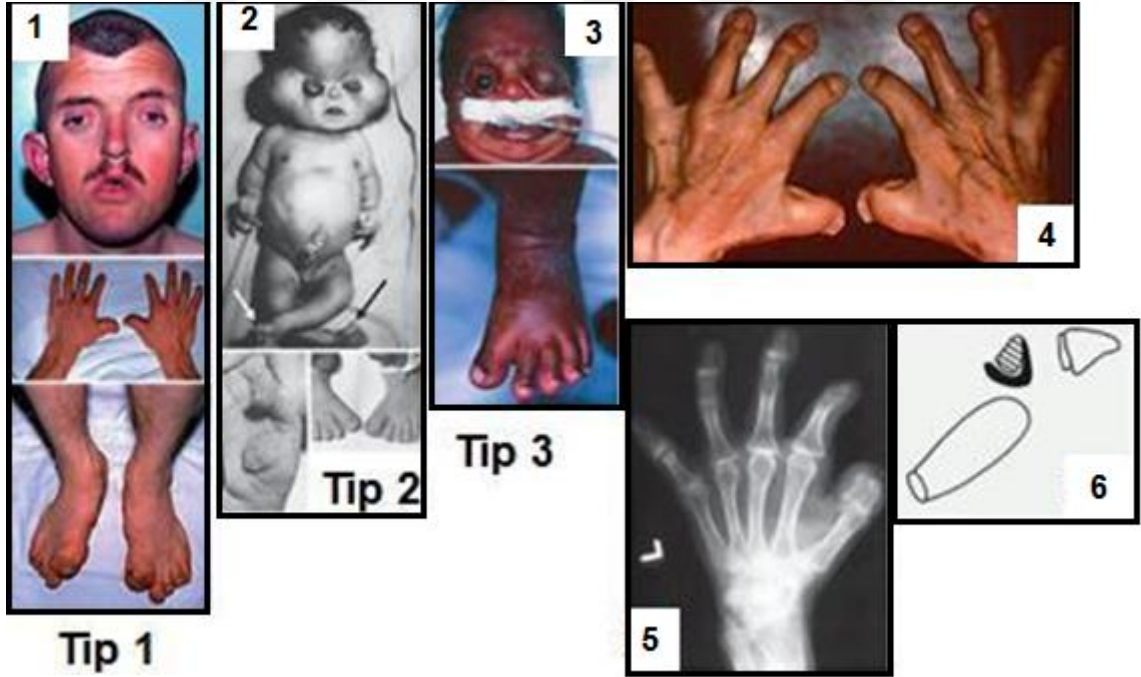
2.5.5. Pfeiffer Sendromu

Karakteristik özellikleri kraniosinostoz, yüz orta hat hipoplazisi, alınlımında geni , kısa, büyük ayak ba parma ı ve deri kenar derecelerde brakidaktildir (39). Pfeiffer sendromunun 3 alt tipi tarif edilebilir, ancak 2. ve 3. alt tipleri arasındaki özellikler örtüdür. Tip1 en yaygın tiptir ve prognoz iyidir. Entelektüel bozulma iktme kaybı ve hidrosefali gibi diğer ili kili malformasyonlar olmadan pek olası değildir. Tip2 daha ciddi ve kötü prognozla ili kilidir. Prenatal veya doğumda gözlenen yonca yapra ı kafatası, ciddi okuler proptozis, geni ayak ba parma ı ve mediale deviye büyük ayaklar görülür. Ek malformasyonlar olarak; Koanal darlığı veya atrezi, laringotrakeal anormallikler, dirsek ankilozu / sinostoz, hidrosefali, nöbetler ve entelektüel bozulma görülebilir. Tip3 ün Tip2 ye benzer yüz görünümü vardır fakat yonca yapra ı kafa görülmez (ekil 6). Entelektüel bozulma yaygındır. Pfeiffer Sendromlu hastaların çoğu FGFR2 mutasyonlarına sahiptir, az sayıda hastada (<5%) FGFR1 mutasyonlarında tanımlanmıştır. Otozomal dominant kalıtım gösterir.



ekil 5. Beare-Stevenson Kutis Girata sendromlu hasta görüntüleri

(1) Yonca kafatası, frontal bölgede kutis girata ve belirgin propitozis. (2) Derin vertikal kulak önü kırık ıklıklar. (3) Belirgin çıkık umblikus. (4) Ayaklarda derin buru ukluklar.



ekil 6. Pfeiffer Sendromlu hastalara ait görüntüler.

(1) Tip1, (2) Tip2, (3) Tip3Pfeiffer sendromlu hastalar. (4) Pfeiffer sendromlu ya lı bir hastanın el görüntüsü. (5) Aynı hastanın el grafisi. (6) Ba parma in ilk falanksının uzunlamasına dirsek yapmı diafiz hattı

Ref(43)'den de i tirilerek alınmı tır.

2.5.6. Apert Sendromu

Bu sendromun tipik yüz bulguları karakteristik ka lar, oküler hipertelorizm, a a 1 bakan palpebral fissürler, trapezoid veya çadır görünümlü ince üst dudakdır (ekil 7). Kafa ekli orta yüz hipoplazisi ile birlikte son derece turribrakisefalik olabilir. Ba langıçta arka fontanelden glabellaya kadar geni bir kalvaryal defekt vardır ve bu defektin anterior kısmı zaman zaman ensefalosel olarak tanımlanır, bu yanlış bir adlandırmadır çünkü kemik obliterasyonu eninde sonunda meydana gelir. Hidrosefali, ventrikülomegali, megalensefali, giral malformasyonlar, korpus kallosum, septum pellusidum, hipokampus ve serebral korteksteki defektleri içeren çok sayıda santral sinir sistemi malformasyonları bu hastalıkta görülür (52, 53). Füzyon olan kemikçikler nedeniyle i itme kaybı ve yarık damakta görülebilir. De i ken derecelerde geli msel gerilik görülebilir. Genel olarak IQ intrakranial basınç ile ters koreledir, ancak büyük orta hat kafatası defekti nedeniyle artmış intrakranial basınç geli me gerili i ile ili kisiz olabilir ve geli imin erken döneminde geni patent fontaneler intrakranial basınca sebebiyet vermez (54). skelet problemleri ciddi ve çok sayıdadır, parmakları biti ik bir eldiven görünümü izlenimi veren ba parma ı korunmu el ve ayaklarda kemik sindaktilisini içerir. Servikal vertebra füzyonu (%68, genellikle C5-6) ve dirsek ankilozu görülür. Kardiyak (%10) ve genitoüriner anomaliler (%9,6) gibi di er konjenital anomaliler görülebilir ve ilk muayene esnasında de erlendirilmesi gerekmektedir (55).

ki FGFR2 mutasyonu, S252W ve P253R, vakaların ço unda gözlenir (sırasıyla %72 ve %26) (56). Bazı genotip-fenotip ili kileri öne sürülmü tür. (örne in; P253R mutasyonlarında a ır sindaktili görülürken, S252W mutasyonlarında yarık damak gözlenir) (14, 57). FGFR2 deki denovo mutasyonlarda baba ya ının etkisi Apert sendromunda moleküler düzeyde kesin olarak gösterilmi tir. Bu hipotezde FGFR2 mutasyonlarında spermin bir avantaj ifade edebilece i öne sürülmü tür çünkü FGF/FGFR yola ı spermatogenezis korunması ve ba latılmasında önemli oldu u bilinir (58).

2.5.7. Crouzon ile Akantozis Nigrikans

Crouzonoid özelliklerine sahip bireylerin yakla ık % 5'inde, hipertelorizm, gaga burun, propitozis, yüz orta hat hipoplazisi ve koltuk altı, kasık gibi derin doku kıvrımlarında pigmenter renk de i iklikleri ile akantozis nigrikans görülür (ekil 8).

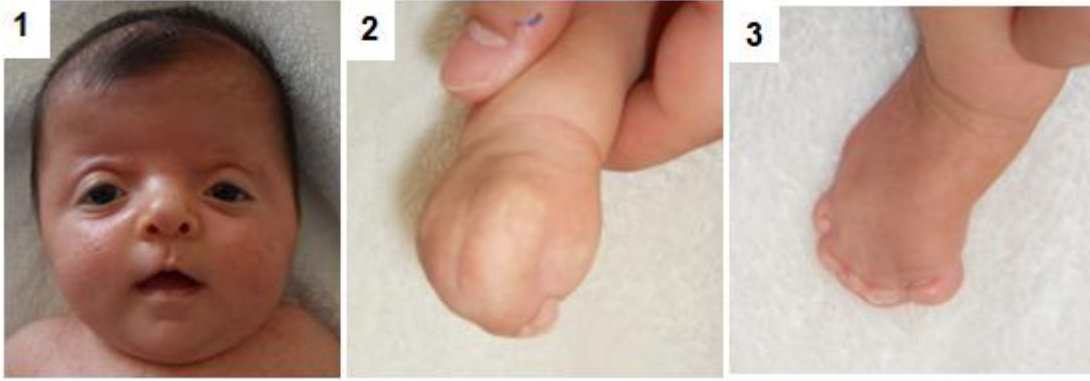
Ekstremiteler normaldir. Crouzon sendromu ile akantozis nigrikansa FGFR3 (A391E) mutasyonu neden olur. İli kili iskelet bulguları arasında koanal atrezi, dar sakroiskiyatik çentikler, kısa vertebra gövdeleri ve kaudal olarak üst lumbar vertebraların interpedinküler mesafelerinin normalden daha az olması sayılabilir (59).

2.5.8. Craniofrontonasal Sendrom

Bu hastalık X'e ba lı dominant kalıtım gösterir ve kızlar daha ciddi olarak etkilenir (60). Özellikleri koronal sinositoz ile brakisefalik görünüm ve hipertelorizm, widows peak, a a ı bakan palpebral fissürler, burun ucunda yarıklanma ve zaman zaman yarık dudak/dama ı içeren frontonazal displazi özellikleridir. (ekil 9) Di er dijital ve eklem anomalileri, anormal klavikular, Sprengel deformitesiyle ili kili yukarı kalkık skapulalardır. Boyuna oluklu tırnaklar bu hastalı ın karakteristik özelli idir. Xq12'de lokalize EFNB1 genindeki mutasyonlar bu hastalı a sebep olur.

2.5.9. Baller Gerold Sendromu

Baller-Gerold Sendromu tipik olarak koronal sütürleri içerir. En belirgin özelli i; hafif hipoplaziden komplet aplaziye kadar de i en ve asimetrik olabilen radyal ray defektidir (Sekil 10). Kısa ve kıvrımlı ulna ile birlikte ba parmak, metakarpal ve karpal kemikler tamamen geli memi olabilir. Ek bulgular arasında oküler hipertelorizm, epikantal kıvrımlar, belirgin burun köprüsü, yüz orta hatta kapiller hemanjiom, genitoüriner malformasyonlar ve entelektüel bozulma görülebilir (61). Otozomal resesif kalıtım gösterir ve Baller-Gerold sendromlu hastaların bir alt grubunda Dna helikaz geni RECQL4 mutasyonları tanımlanmı tır (62). İlginç bir ekilde Baller-Gerold sendromu üpheli bazı hastalarda TWIST1 gen mutasyonları tanımlanmı tır ve bu sendromun Shatre-Chotzen sendromu ile çakı tı ı öne sürülmü tür (63).



ekil 7. Apert sendromlu hastanın görünümü

(1) yüz, (2) el ve (3) ayak görüntüsü

(Cerrahpa a Tıbbi Genetik ABD ar ivinden alınmı tır.)



ekil 8. Crouzon ile Akantozis nigrikans birlikteli i olan hastanın görüntüleri.

Ref(43)'den de i tirilerek alınmı tır.



ekil 9. Craniofrontonasal sendromlu iki farklı hasta

(Cerrahpa a Tıbbi Genetik ABD ar ivinden alınmı tır.)



ekil 10. Baller-Gerold Sendromlu hastanın görüntüleri

(1) Metopik sinositoz, (2) Hafif displastik kulaklar, (3) Radial displazi ile birlikte ba parmak yoklu u

Ref(64)'den de i tirilerek alınmı tır.

2.5.10. Antley-Bixler Sendromu

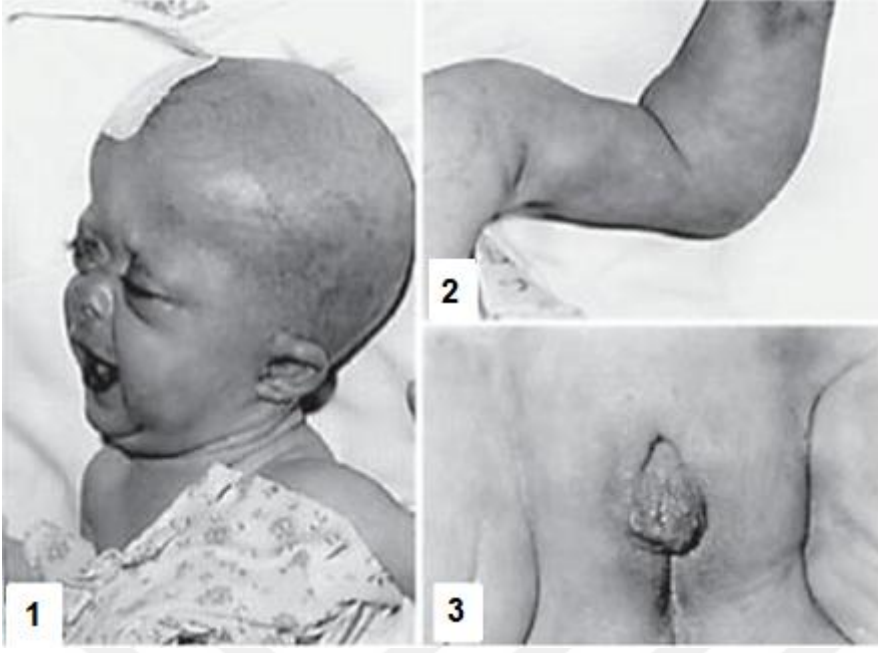
Antley-Bixler Sendromu (Trapezoidosefali, Multiple sinositoz sendromu) sterol biyosentez defekti nedeniyle olur (39). Bu sendromda koronal ve lambdoid sütürlerin erken kapanması, brakisefali ile birlikte frontal çıkıklık, proptozis, a a ı bakan palpebral fissürler, a ır ı çökük burun kökü ve köprüsü (koanal atrezi/stenoz olup/olmaksızın), dü ük ve belirgin kulaklar görülür (ekil 11). Ba lıca ekstremitte bulguları arasında radiohumeral sinositoz, içe do ru kıvrımlı ulna, kıvrımlı femur, silindir ekinde el ve ayaklar, proksimal interfalangeal eklemlerde kontraktürler, kırıklar ve ileri kemik ya ı sayılabilir. Bazı bireylerde konjenital kalp hastalığı, renal anomaliler ve kadınlarda genital anomaliler görülebilir (65). Sitokrom p450 redüktazı kodlayan gendeki (POR) mutasyonlar hastalıktan sorumludur. Otozomal resesif kalıtım gösterir.

2.5.11. Boston Tipi Kraniosinositoz

19 bireyin etkilendi i 1 ailede otozomal dominant bir hastalık olarak tanımlanmıştır (66), fronto-orbital resesyon, frontal çıkıklık, koronal kraniosinositoz sonucu turribrakisefali, yonca yapra ı kafa ve asemptomatik bireyler olmak üzere çok de i ken fenotipler tanımlanmıştır (ekil 12). MSX2 mutasyonları gösterilmiştir (67). Fakat birçok ailede tanımlanamamıştır. Di er majör genler dı lanan kraniosinositozlu 211 bireyde MSX2 mutasyonu gösterilememiştir.

2.5.12. Carpenter Sendromu

Carpenter sendromu obezite, kardiyak defektler, ayaklarda preaksiyal polidaktili, ellerde brakidaktili-sindaktili-orta falankslarda hipoplazi/aplazi ile ili kili otozomal resesif bir kraniosinositoz sendromudur (ekil 13). Mental retardasyon de i ken derecelerde görülebilir. Hedhegog sinyal yola ının negatif düzenleyicisi olarak etki eden vezikül transport proteininin RAB guanozin trifosfat ailesinin bir üyesi olan RAB23 geninde fonksiyon kaybı oldu u varsayılan mutasyonlar tanımlanmıştır (68).



ekil 11. Antley-Bixler sendromlu hastaya ait görüntüler

(1) Karakteristik yüz görünümü, (2) Sabit dirsek eklemi, (3) Klitoral hipertrofi

Ref(43)'den de i tirilerek alınmı tır.



ekil 12. Boston tipi kraniosinosisli hastalara ait görüntüler

(1) Baba, (2) O lu, (3) Bir di er hastanın önden ve yandan görünü ü, (4) Aynı hastanın el görüntüsü

Ref(69)'den de i tirilerek alınmı tır.



ekil 13. Carpenter sendromlu hastaya ait görüntüler.

(1) Yüz, (2) Eller, (3) Ayaklar

Ref(43)'den de i tirilerek alınmı tır.

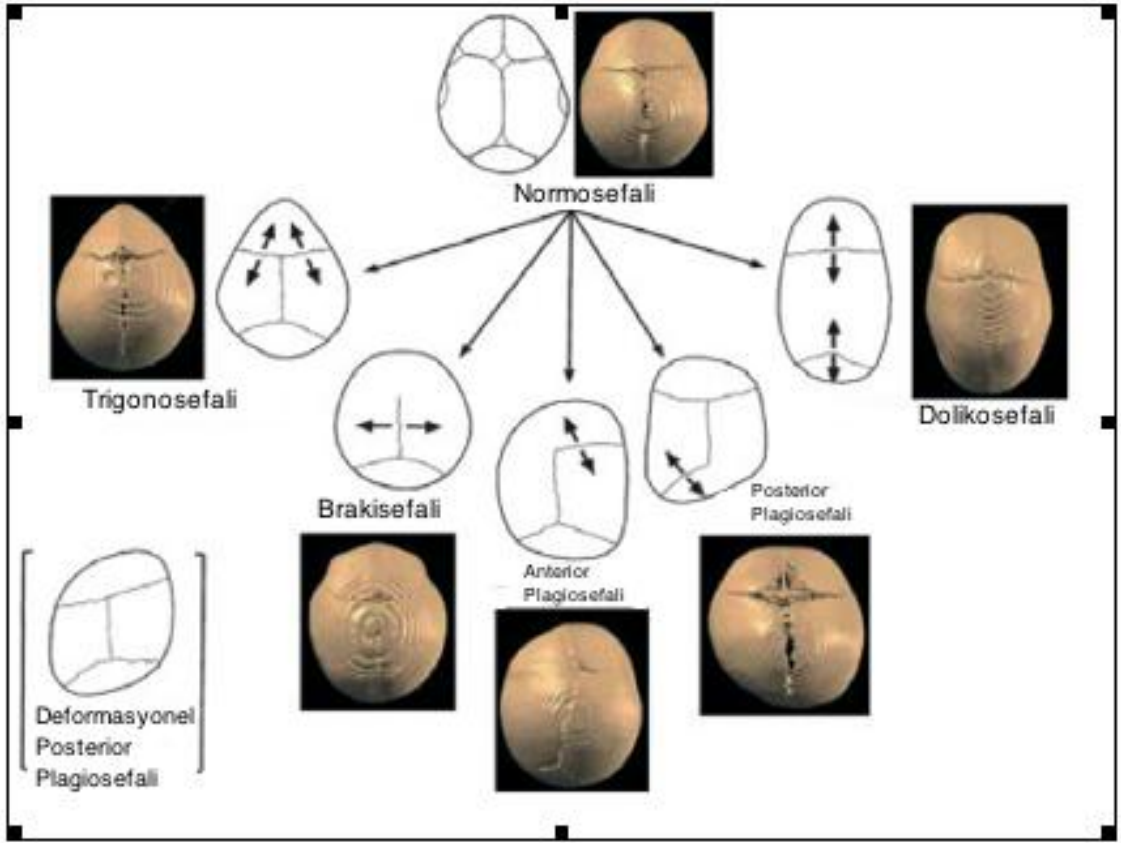
2.6. NON SENDROMİK KRANİOSİNİTOZ

Nonsendromik kraniyosinüz, kraniyosinüzün sekonder formlarının (Metabolik, toksik, vs.) ve bir sendrom varlığına ait eş zamanlı anomaliler dışılandıktan sonra tespit edilebilen bir durumdur. Büyük epidemiyolojik çalışmalarda nonsendromik kraniyosinüzün sendromik kraniyosinüzden çok daha yaygın olduğunu, yaklaşık olarak tüm kraniyosinüzlerin %90'ını oluşturduğunu göstermektedir (70). Pratikte sendromik formların nonsendromik kraniyosinüzlerden ayrımı oldukça zor olabilmektedir. Bu ikilem etkileyici bir şekilde Muenke sendromu tanımlandıktan sonra gösterilmiştir. Daha önceleri Muenke sendromu iç kulak, beyin ve minör kemik anomalileri ile ilişkili olarak herediter izole koronal sinüz olarak sınıflandırılmıştır (26, 27). Benzer şekilde, izole metopik sinüzlu kabul edilen bireylerin önemli bir kısmında aslında sendromik kraniyosinüz vardır (71).

Sendromik kraniyosinüzlu vakaların bile yarısının genetik nedeni halen bilinmemekte iken, nonsendromik kraniyosinüzün temelini anlaması daha da zor görünmektedir (3). Çalışmalarının dataları birden fazla etkileyen genlerin ve çevresel faktörleri içeren muhtemelen multifaktöriyel etolojiyi destekler (72, 73).

Nonsendromik kraniyosinüzün genetiği ile ilgili çalışmaların çoğu, sendromik kraniyosinüzlu hastalardaki bulgulara dayalı olmuştur. Geleceğe bakıldığında, yeni teknolojik gelişmelerin kullanımı ile büyük olasılıkla bilinen lokusları dışılandıktan sonra nonsendromik kraniyosinüzün karmaşık nedenlerini aydınlatmak mümkün olacaktır. Son zamanlarda, Yüksek verimli dizileme teknolojisi ile istatistiksel genomik analizler birçok durumun genetik nedenini ortaya çıkarmıştır (74, 75). Bu yaklaşım dikkatli hasta fenotipleme üzerinde yeni genetik etiyolojilerin ortaya çıkarılmasında büyük ölçekli genomik analiz kullanımı olan ileri teknoloji yarımlı olsa bile klinisyenin rolünün altını çizmektedir. Çok sayıda etkilenmiş hastalara bağlı olan genom boyu ilişkendirme çalışmaları gibi ara tırma çalışmaları ara tırmada bir bağı boyut sağlar, ancak maliyet ve gerekli sayıda katılımcı sayısı bu konuda engelleyici olabilir. Sonuçta, Nonsendromik kraniyosinüzlerde bizim genel anlayışımızı bilgilendirmek amacıyla daha yeni genomik tekniklerle birçok kraniyosinüz tipinden etkilenmiş hastaları içeren daha geleneksel aile temelli çalışmalar da erli olacaktır (76, 77).

Kafatasındaki sütürlerin herbirinin sinüstozu sonucu farklı farklı kafatası şekilleri olur. Bu kafatası şekilleri ematik olarak aşağıda gösterilmiştir (ekil 14).



ekil 14. Kalvaryal sütürlerin ve kafatası deformitelerinin röntgenik görünümü
 Ref(78)'den de i tirilerek alınmıştır.

2.6.1. Skafosefali

Do um öncesi ba langıçlı erken sagittal sütür füzyonu sonucu olu an bu deformite ikna edici bir ekilde Virchow yasasına bir örnektir. Dolikosefal kafa ekline ek olarak, tipik özellikleri i kin bir alın ve oksiput, vertekste kayma (ba n en tepe noktası) ve az geli mi parietal kemik tepeleridir. Sütüral füzyonun bir sonucu olarak, fontaneli füzyon olan sütür tabanı ile üçgen ekli olarak varsayabiliriz. Bazen fontanel bir wormian kemik ile kapatılabilir. Sütüral füzyon dinamik bir süreç oldu u için sütüral füzyonun ba ladı ı yere ba lı olarak kafa deformitesi de i kenlik gösterebilir. Virchow skafosefaliyi önceden 3 alt gruba ayırmı tı. Alın geni li nin intraparietal çapı a tı ı “sfenosefali” en yaygın alt tiptir. Bu ekilde sütüral füzyon sütürün arka yarısından ba lar. Leptosefali, sütürün tamamının e zamanlı füzyonuna ba lı oldu u durumda olu ur. En az görülen tipi Klinosefali ise muhtemelen füzyonun orta kısımdan ba ladı ı ve kafanın retrokoronal kısımda çökmesi anlamına gelir. Bu alt gruplar fonksiyonel açıdan ilgisiz gibi görünüyor olsa da, sfenosefalik ve klinosefalik deformiteler sagittal sinositozu te his etmede oldukça spesfiktir. Skafosefalili hastaların ço unlu unda e lik eden bulgu olarak hafif hipertelizizm rapor edilmi tir. Rutin incelemelerde bu hastalarda kafa içi basıncı de i ik ara tırmalarda sırasıyla %14 ve %23 olarak rapor edilmi tir (79). Hastaların küçük bir oranında ciddi intrakranial hipertansiyon artı ı papil ödem ve optik sinir hasarına yol açabilir (80). Beyin görüntülemeye, kafa içi yapıları deforme olmadıkça önemli derecede de i mi görünmemektedir. Muhtemelen belirgin alın tarafından serebrospinal sıvının akomodasyonu nedeni ile frontal subaraknoid bo lukların geni lemesi yaygın bir bulgudur (81). Son çalı malarda deforme olmu kafa içindeki henüz olgunla mamı sadece deforme olmu beyinin nöromotor geli im üzerine hafif bir etkisi olabilece i gösterilmi tir (82).

zole skafosefali kraniofasyal merkezlere yönlendirilen bireylerin kabaca %50sinde görülür ve tüm kraniosinositozlar içinde en yaygın görülen tiptir. Erkeklerde daha fazla görülür (%80) ve vakaların sadece %5'i aileseldir (72, 83). Prematürite ile ili kiside öne sürülmü tür (84). Vakaların büyük ço unlu unda herhangi bir genetik neden henüz belirlenememi tir.

2.6.2. Trigonosefali

Monosütüral metopik sinositoz için özel olmasına ra men, bu deformite Virchow yasası uygulanarak açıklanamaz. Altta yatan patojenik mekanizma di er

monosütüral sinositoz tiplerinden farklıdır. Çünkü metopik sütün nörall krest mezeniminden farklıdır. İnsanlarda bu sütün diğer majör kranial sütürlerden farklı olarak fizyolojik füzyonu hayatın ilk yılının sonu gibi erkenden meydana gelir. Erken sütün füzyonu tanısı konulacak ise bu durum önemlidir. Ço u vakada benzer kranial deformite ilk klinik karıla mada kolayca tanı konulmasına olanak sağlar. Nörogörüntüleme veya ameliyat esnasında frontal kemiğin skuamöz kısmının hipoplastik olduğu gözlenir. Zole frontal sütün sinositozunun tipik özellikleri arasında omurga ekinde alın, frontal tepciklerin yokluğu, yan supraorbital sırtların yeterzisi, dar etmoidal kemik nedeniyle hipotelorizm ve belirgin epikantal katlantılar sayılabilir. Parietal genişliğin telafi edici artışı trianguler kafa ekli için katkıda bulunur. Kafa deformitesi iddeti de iken olabilir, en hafif formunda, erken metopik sinositozda sadece metopik sırt görünümü olabilir.

Tipik trigonosefalinin tahmin edilen prevalansı yaklaşık olarak 1/15.000'dir (85). Ço u durumda nonsendromik başlamda meydana geldi i görünsede, bu durumun sendromik veya nonsendromik durumlar arasında ayrımı zor olabilir. Aslında, çok sayıda farklı sendromlar, kromozomal aberasyonlar, toksik fetopatiler (örneğin valproik asid maruziyeti gibi) tipik trigonosefali ile ilişkili olabilir fakat birço u halen daha tanımlanmamıştır (71, 85-87). Sendromik trigonosefalilerin aksine nonsendromik formlar daha iyi prognozlu olma e ilimindedir (71, 88). İginc bir ekilde son raporlarda trigonosefali insidansı artmış olmasına rağmen, bunun nedeni bilinmemektedir (89, 90). Skafosefalide olduğu gibi trigonosefalide erkeklerde daha sık görülür ve yaklaşık %5-6 vaka aileseldir (72, 85). Vakaların %10-30'unda nörogelişimsel gerilik bildirilmiştir (71, 91). Nonsendromik kraniosinositozların diğer bazı tiplerinde olduğu gibi, sendromik kraniosinositozdaki anlayışlar nonsendromik trigonosefali için genetik nedenlerin tanımlanmasına olanak sağlamaz, mikroarray analizi ile tespit edilen bazı tekrarlayan genomik aberasyonlar vakaların en azından bir alt kümesi olarak düşünülebilir (92, 93).

2.6.3. Anterior Plagiosefali

Tek taraflı koronal sinositozdan oluşan bu kompleks deformite klinik pratikte nadir olarak kullanılmasına rağmen 3 boyutlu bilgisayarlı tomografi ile en iyi görülebilir. Bu anormal kafa ekli Virchow yasası kullanılarak çok basit bir ekilde açıklanabilmektedir. Tipik kraniofasial özellikleri arasında aynı taraf alın bölgesinde

retrüzyon, dı kantus ve tragus arasındaki azalmı bo lukla sonuçlanan supraorbital kenar sayılabilir. Alındaki retrüzyon kar ı tarafta alındaki belirgin çıkıklık ile kompanze edilebilir. Kraniofasial skolyoz ile etkilenen tarafa yönelik konveksite ve nazal septum ile çenenin kar ı tarafa do ru kayması önemli tanısal özellikleridir. Strabismus sık görülen bir özelliktir ve ambliyopi riski ta ıdı ından dikkat edilmelidir. Oftalmolojik bulgular süperior oblik perezisi ile tutarlıdır, ama esas neden asimetrik bozuk orbitalarda kasların asimetrik yerleşmesi gibi görünmektedir (94). zole tek taraflı koronal sinositozun insidansı hakkında çok az veri vardır. Önceden kraniosinositonun izole formları olarak kabul edilen hastalar aslında Saethre-Chotzen ve Muenke sendromu olarak sunulan hastalar oldu u için bildirilen insidans de erleri artık geçerli de ildir.

2.6.4. Brakisefali

Bu terim aslında artan sefalik indeks için kullanılmakta iken, klinisyenler ise iki taraflı koronal sinositozu belirtmek için kullanır. Kafatasının genişlemesi ve kısılmasının yanı sıra, kafatasının yüksekliği de genellikle artmıştır, bu yüzden bazen turrisefali ile e anlamlı olarak kullanılır. Tipik yüz görünümü yüksek, geni ve genellikle çıkıntılı alın, geni olarak ayrılmış frontal kabarıklıklar ve çökmüş supraorbital kenarlardır. Hipertelorizm yaygındır, midfasial büyüme izole formlarda genelde normale yakındır. Ön kranial fossanın kısılması kafatabanında belirgin bir özelliktir. zole brakisefalinin gerçek prevalansı a ırtıcı derecede dü üktür. Bunun nedeni bu vakaların ço unlu unun aslında özellikle Muenke ve Saethre-Chotzen sendromları gibi bir sendromik ba lamda ortaya çıkmasından kaynaklanmaktadır. zole olan brakisefali formları erkeklerde ve kadınlarda e it oranda görülür. Beyin fonksiyonları üzerine bikoronal sinositozun etkisi hakkında birçok rapor bulunmaktadır ve bu yüzden bu durumun dikkatlice incelenmesi gerekir. Genetik olarak tespit edilen hastalar üzerinde yapılan son çalı malar aslında mental gelişim için bazı girişimler önermiştir fakat dahada fazla araştırılması gerekir (95). İginç bir bulgu olarak tek taraflı veya iki taraflı koronal sinositozun nöral tüp defektleri ile ilişkisi olabilece i rapor edilmiştir (96). Bu istisnai birliktelik rastlantısal olarak görülmektedir ancak etiyojisi halen bilinmemektedir.

2.6.5. Posterior Plagiosefali

Sinostotik arka plagiosefali tek taraflı lambdoid sinostoza sonucu meydana gelir. zole kraniosinotozun bu nadir tipi, Virchow yasası uygulanarak anlaşılabilir: sütünal büyüme kısıtlılığı oksiputta ipsilateral düzleşme ile sonuçlanır, füzyon olan sütünün kompensatuar büyümesi aynı tarafta petröz kemik ve aurikulanın çökmesine ve karşı tarafta parietal bölgenin karakteristik çukur mesine yol açar. Başka bir özelliği, aynı taraf mastoid çıkıntı üzerinde bir kemik tepesi olmasıdır, fakat her zaman mevcut olan bir özellik değildir. Etkilenen tarafta posterior fossanın azalmı boyutu nedeniyle, aynı taraftaki serebellar tonsil genellikle foramen magnum içine herniye olur. Karşı taraf tonsil normal gibidir, nörolojik şekel Chiari malformasyonu olarak görülür. Sinostotik posterior plagiosefali herhangi bir fonksiyonel önemi olmayan pozisyonel eğilim bozukluğu ile karıştırılmamalıdır. Pozisyonel deformasyonun posterior plagiosefaliye göre yaklaşık yüz kat daha sık görüldüğü tahmin edilmektedir (97). Tek taraflı lambdoid sinotozunun kabaca tüm kraniosinotozların %1-3'ünü oluşturduğunu tahmin edilmektedir (97, 98). Genetik analizler FGFR1-3 genlerindeki hotspot bölgelerin nonsindromik plagiosefalide rol oynamadığını göstermektedir (99).

2.6.6. Bisutural Sinostozis

Birçok farklı kombinasyonlar mümkündür ve daha önceden rapor edilmiştir. Örneğin; Sagittal sinotoz frontal, tek taraflı ve bilateral koronal veya lambdoid sinotozla kombine olabilir. Aynı şekilde, koronal ve frontal sinotoz birlikte görülebilir. Sagittal ve metopik sinotozun birlikte sinotozu daha nadirdir ve skafosefali ile daha az göz alıcı trigonosefali ile sonuçlanır. Bikoronal koronal sinotoz ile doğum öncesi başlayan frontal sinotozun birlikte olduğu oldukça nadirdir. Bu kombinasyon tipik turrisefali ile birlikte dar bir alın görünümüne neden olur. Oldukça benzer bir deformite Saethre Chotzen sendromu ve metopik sinotozlu hastalarda görülebilir. Koronal sinotoz ile birlikte sagittal sinotoz kombinasyonu daha yaygındır, %2 civarında görülür. Vakaların çoğunluğunu, yaklaşık %80 erkekler oluşturur. Olguların yaklaşık yarısında, skafosefali ile tipik anterior plagiosefali birlikteliğinde, vakaların bazılarında bilateral koronal sinotoz doğulanmasına rağmen, koronal sütünün tek taraflı yerleşimi görülmektedir. Bu gözlemlerin sonucunda bu vakaların bazılarının aslında progresif multisütünal sinotoz için bir geçiş aşaması olabileceği tahmin edilmektedir, özellikle skafosefalideki sütünal füzyon pansinotozla geçebilir (100).

Tipik bir brakiturrisefali özellikleri arasında belirgin eğilim alın, biparietal darlık ve oksipital orta hatta konkavite sayılabilir. Bu kraniosinotoz tipi birkaç dekat önce

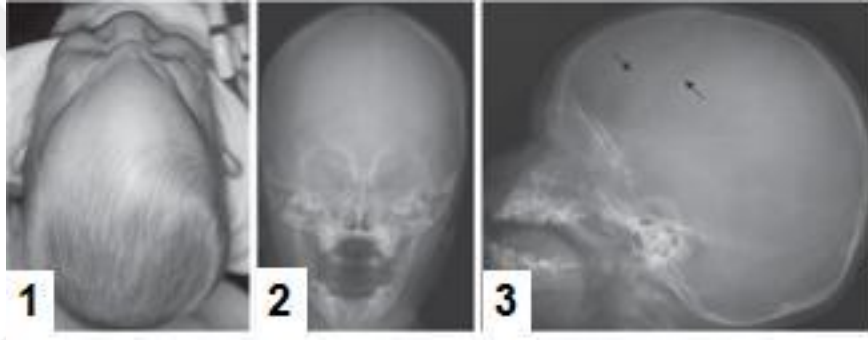
tarif edilmi tir ve tüm kraniosinositozların yakla ık %1'ini olu turur (101, 102). Bu kraniosinositoz tipinde de erkek üstünlü ü vardır (10/4 oranında). Genellikle lambdoid sütünün her iki tarafında etkilenme söz konusudur fakat tek taraflı füzyonda gözlenmi tir. Lambdoid sütünün erken füzyonu posterior fossanın büyüme geli mesinin azalmasına yol açar. Serebellar tonsillerin servikal spinal kanalın içine do ru itilmesi (Chiari I malformasyonu) sonucu potansiyel olarak hidrosefali, beyin sistem disfonksiyonu ve hidrosiringomyeli meydana gelebilir. uan itibariyle bu kraniosinositoz tipinin etiyojisinde herhangi bir teori ortaya konulamamı tır. Moleküler testlerle sendromik kraniosinositoz ile ili kili ortak genlerde herhangi bir mutasyon saptanamamı tır (103).

2.6.7. Oksisefali

Bu terim geçmi te brakisefali ile e anlamlı olarak kullanılmasına ra men multisütüral sinositoz anlamına gelir (Pansinositoz). Oksisefali tanısı tüm kranial sütünlerin do um sonrası progresif kapanması ile sınırlı olmalıdır, çünkü do um öncesi ba layan multisütüral füzyon Kleebblatt deformitesine neden olur. Tüm kafadaki tüm majör sütünleri benzer derecede içerdi i için majör kranial deformite beklenmez hatta bazen hiç deformite gözlenmeyebilir (ekil 17). Oksisefali (sivri kafa)nin en çarpıcı özelli i bregmatik tümse in neden oldu u karakteristik “chapeau de clown” görünümüdür. Beyin hacminin azalmasından dolayı (mikrensefali) mikrosefali ile karı tırlabilen normalin altında ba çevreside aynı zamanda yaygın gözlenen bir özelliktir, sıklıkla mikrensefali sekonder pansinositoz ile ili kilidir. Oksisefali ço unlukla multisütüral füzyondan dolayı intrakranial hipertansiyona neden olur, bu önemlidir çünkü klinik olarak optik sinirde genellikle bulgu vermeyebilir. Oftalmolojik bulgular genellikle ya amın 1. yılından sonra belirgin hale gelebilir. Etkilenen bireylerin %75 kadarında posterior fossanın yetersiz geni lemesinden dolayı Chiari I malformasyonu görülür. Oksisefali ve kraniosinositoz tiplerinin oldukça nadir görülen bir tipidir. Orta Avrupada yapılan kohort çalı malarında prevalansı %2 oranında tespit edilmi tir. Ancak afrikanın kuzey kesimlerinde ve Akdeniz ülkelerinde daha yüksek bir oranda yakla ık %40 oranında görülmektedir (104). u anda etiyojisi henüz bilinmemektedir. Akriba evlili i olan ailelerde etkilenmi bireylerin varlı ı kalıtım konusunda otozomal resesif kalıtımı dü ündürmektedir.



ekil 15. Skafosefalili hastalara ait kafatasının üstten ve yandan görünümü



ekil 16. Trigonosefalili hastaya ait görüntüler

Ref(43)'den de i tirilerek alınmı tır.



ekil 17. Oksisefalili hastanın önden görünü ü ve 3 boyutlu tomografi görüntüsü

Ref(105)'den de i tirilerek alınmı tır.

2.7. KRANİOSİNİTOZUN MOLEKÜLER GENETİK

Son bir kaç yıl boyunca, kraniosinotiz ara tırmaları deformitelerin net tanımlanmalarından erken sütür kapanması ardındaki moleküler etyolojilerin bazılarının anlaşılması ile ilerleme kaydetmiştir. Sendromik kraniosinotizli hastalardaki çalışmalar çeşitli genlerin, moleküler olayların ve kafatasının anormal büyüme ve gelişmesi ile ilgili deformasyonel kuvvetlerin tanımlanması ile sonuçlanmıştır (106-109). En iyi tanımlananlar arasında Fibroblast büyüme faktörleri (FGFs) ve bunların reseptörleri (FGFRs) bulunmaktadır. En az 4 farklı reseptör tanımlanmasına rağmen, sendromik kraniosinotizün çeşitli tiplerinde 3 tanesinin mutasyonları ile bağlantılı bulunmuştur (14, 110-112). Bazıları için, nokta mutasyonlar (Crouzon sendromunda görülen FGFR2 C342Y mutasyonu gibi) yapısal olarak aktif reseptörleri tetikleyerek hücre içi sinyalizasyonu kaskadlarının bir ligand bağımsız aktivasyonu olarak sonuçlanır (113). Kraniosinotizde FGF sinyal yolunun rolünü destekleyen, insan fetal gelişimi sırasında intramembranöz kemikle mede FGFR1,2-3 genlerinin ekspresyonunun kranial sütürlerin belirli bölgelerinde lokalize olduğu birçok çalışmaya yapılmıştır (114). Bu veriler çeşitli form sendromik kraniosinotizlerin etyopatogenezinde FGF reseptörlerinin ve bunların downstream etkilerinin önemini vurgulamaktadır ve erken sütür füzyonunun önlenmesinde gelecekte tedavi gelişmeleri için potansiyel bir yol göstermektedir.

Osteoblastlar tarafından eksprese olan ve kemikte bol bulunan Transforming growth factor BETA (TGF- β) süperailisi kraniosinotiz ile ilgili kapsamlı olarak çalışılmıştır. Bebeklerde erken füzyon olan ve normal dokulardan olan biyopsiler karıştırıldığında, TGF- β 2'nin kraniosinotizli örneklerde yüksek immünreaktivite gösterdiği görülmüştür (115). Kalıcı plagiosefalili çocukların lambdoid sütürlerinde birçok TGF- β izoformunun artmış immünreaktivitesi bulunmuştur (116). Tüm bu bulgulara rağmen, sendromik kraniosinotizli çok az sayıda vakada TGF- β yolağındaki mutasyonlar doğrudan bağlantılı bulunmuştur. Diğer genlerin birçok insanlarda sendromik erken suture füzyonunun diğer birçok formunun gelişiminde bağlantılı bulunmuştur. Boston tipi kraniosinotiz otozomal dominant olup 5. kromozomun uzun kolunda yer alan MSX homeobox geni ile sıkıca bağlantılı bulunmuştur (67, 117). Shatze-Chatzen sendromu diğer nadir otozomal dominant hastalık olup, TWIST transkripsiyon faktöründeki mutasyonların neden olduğu

bulunmu tur. Genetik analizler daha az sıklıkla, ephrin B1'in craniofrontonasal sendromunun, RAB23 geni ile Carpenter Sendromunun, POR ile Antley-bixler sendromunun ve GLI3 ile Greig sefalopolisindaktilin prematür sütür füzyonuyla ili kili oldu unu göstermi tir (68, 118-121). Tüm bu bulgular kalvaryal geli im sırasında yer alan karma ık biyomoleküler yolları anlamak ve aynı zamanda kraniosinostoz hastalarında olası tedavi tasarımı için alternatif hedefleri sa lamak için alternatif yollar sa lamaktadır.

2.7.1. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) Reseptörleri

Memelilerde 22 tane yüksek derecede korunmu FGF ligandı ve 5 adet FGF reseptör geni (FGFR) tanımlanmı tır. FGFR'lar 1 adet hidrofobik membran ve ikiye bölünmü sitoplazmik trozin kinaz domaininden olu an 3 adet ekstrasülüler immünglobulün benzeri domain içerir, 3. Ig domaininin alternatif mRNA kırılması (=splicing) IgIIIb ve IgIIIc izoformlarına neden olur ve bunlar farklı ligand ba lanma özelliklerine sahiptir. FGFR1 olarak da bilinen FGFR5, sitoplazmik trozin kinaz domaininden yoksundur, bu nedenle i levi halen bilinmemektedir fakat son zamanlarda kraniosinostozdan sorumlu oldu u dü ünülmektedir (122).

FGFR reseptör sinyalizasyonu birbirine ba lı 2 FGF molekülünden olu an bir FGFR dimerinin formasyonunu gerektirir. FGFler ba langıçta FGFR'ler için dü ük afiniteye sahiptir, ancak heparin sülfat proteoglikanlarının (HSP) varlı ı bu etkile imi stabilize eder ve daha kararlı bir 2/2 FGF-FGFR kompleksi olu umunu te vik eder. FGF ve HSP arasındaki yüksek afinite ayrıca FGF dokuları arasındaki difüzyonu kısıtladı ı dü ünülmektedir (123). FGF sinyal yola ı hücre ço almasının düzenlenmesi, farklıla ma ve migrasyon dâhil olmak üzere embriyonik geli im sırasında ve eri kin organizmada birçok süreçleri içerir ve iskelet biyolojisinde önemli bir rol oynar. Tüm kraniosinostoz vakalarının yakla ık %20 kadarı FGFR1, FGFR2 ve FGFR3 mutasyonlarından kaynaklanır ve bu mutasyonlar Apert, Crouzon, Pfeiffer, Muenke, Jackson-Weiss ve Beare-Stevenson dâhil olmak üzere en az 6 sendromda bulunmu tur. Di er yandan, FGFR2 ve FGFR3 mutasyonları sendromik olmayan kraniosinostozlu hastaların bazılarında tespit edi mi tir, bu durum suture füzyonunun birçok formunda ortak bir yolak olabilece ini dü ündürmektedir (3).

Kraniosinosisle sonuçlanan FGFR1-3 mutasyonlarının hemen tamamı fonksiyon kazanım mutasyonlarıdır. Bu mutasyonlar reseptör üzerinde ligand bağımlı yada ligand bağımsız aktivasyonla çeşitli birçok mekanizma ile etkisini gösterir, bunlar FGF proteini için artmış afinite, FGF-bağlanma spesifitesinin azalması, ektojik FGFR splice form ekspresyonu ve reseptördeki ligand bağımsız dimerizasyon ve aktivasyondur. Bazı genotip-fenotip korelasyonları vardır, ayrıca aynı mutasyonlar farklı fenotipe, farklı mutasyonlar aynı fenotipe yol açabilir (124). Bu fenotipik değişiklikler genetik düzenleyicilerin varlığını ve reseptörler arasındaki fonksiyonel fazlalığı göstermektedir.

Sendromik kraniosinosisli vakaların yaklaşık %90'ında FGFR2 mutasyonları bulunmaktadır. Örneğin; Apert, Crouzon, Pfeiffer, Jackson-Weiss ve Beare-Stevenson sendromları gibi (3). Mutasyonların çoğunluğu yanlış anlamı aminoasit değişiklikleri sonucu görülür ve bunların yaklaşık %20'si sistein rezidülerini oluşturur veya yok eder. Bu mutasyonlar genellikle IgIII domainindeki moleküller arası disülfid bağlarını bozar ve elektromer sisteinleri oluşturur, bunlar yapısal aktivasyona yol açan reseptör molekül dimerleri arasındaki moleküller arası disülfid bağlarını oluşturur. Bu tipteki ligandan bağımsız aktive olan mutasyonlar, Pfeiffer and Crouzon sendromunun daha ciddi formlarında bulunur. Pfeiffer hastalarının %10'undan IgII domainini kodlayan ekzonların kırılmasını etkileyen mutasyonlar sorumludur ve bunlar daha ciddi ekstremitte anomalilerine sahiptir. IgIIIc kodlayan ekzonların upstreaminde (yukarıya dönük/üretime dönük ucundaki) Alu-elementi eklemeleri bulunan 2 Apert sendromlu hasta da aynı domainden etkilenmiştir. Tüm bu mutasyonlar, sadece FGFR2IIIb'ye bağlanan FGF ligandlarının farklı setlerine olanak sağlayıp FGF sinyalinin normal FGFR2-IIIc ekspresyonu oldu u dokuda aktive ederek FGFR2 IIIb isoformunun ektojik veya arttırılmış ekspresyonuna yol açar. Aynı sonuç, çoğunlukla Apert sendromundan sorumlu olan IgII-IgIII ü bağlayan bölgedeki en yaygın iki mutasyon (Ser252Trp ve Pro253Arg) belirlenmiştir. Bu mutasyonlar ligand afinitesinin artmasıyla sonuçlanırlar. Bazı ligand özgüllük kayıplarının olmasına rağmen, özellikle FGF2 ve FGF9'da ligand afinitesi artışı görülür. Apert vakalarının %66'sından sorumlu olan Ser252Trp mutasyonu, daha ciddi fenotiple ilişkilendirilir ve bu fenotipe sıklıkla yarık damak eklenir. Homolog mutasyonlardan FGFR2 (Pro253Arg) mutasyonu aynı zamanda FGFR1 ve FGFR3te de bulunur. FGFR1 (Pro252Arg) mutasyonu, Pfeiffer

sendromu vakalarının yaklaşık %5'inden sorumludur, FGFR2den kaynaklı olan vakalardan daha hafif fenotip olumuna meyyleder.

FGFR3'teki homolog mutasyon, Pro250Arg, kraniosinositoz hastalarının %6-8'inde bulunmaktadır. Bu mutasyon, en yaygın sendromik kraniosinositoz formu olan Muenke sendromuna sebep olmaktadır.

Genellikle, FGFR1 ve FGFR3teki homolog mutasyonlar, Apert sendromuyla ili kilendirilmi FGFR2 (Pro253Arg) mutasyonundan daha hafif fenotiplerle sonuçlanır (3). Bu durum büyük ihtimalle, sütürler içindeki reseptörlerin ekspresyon seviyeleri ve farklı rölatif ekspresyon paternleri ve di er bölgelerdeki reseptör sinyalindeki belirgin farklılıklardan kaynaklanır.

2.7.2. Twist1

TWIST1'deki mutasyonlar, kraniosinonitozun en yaygın otozomal dominant hastalıklarından biri olan Saethre-Chotzen Sendromu(SCS) ile ili kilidir, 1/25.000 – 1/50.000'de 1 canlı do umda görölmektedir. En sık görölen klinik fenotiplere, koronal sütürün prematüre kapanmasından kaynaklı anormal kafa ekli, hipertelorizm ve yüz orta hat hipoplazisi dâhildir. Tipik ekstremite anormallikleri yumu ak dokuda el ve ayak parmakları arasında sindaktilidir. 100den daha fazla farklı mutasyon TWIST1 geni içinde tanımlanmı tır. Aynı zamanda bu, koronal sütürün prematüre kapanması ve ekstremite anormallikleri de dâhil olmak üzere aynı fenotipte olan *Twist1*^{+/-} fareleriyle gösterilmi tir. Böylece SCS için kullanı lı bir model olu turmu tur. FGFR2 ve FGFR3'teki mutasyonlar SCS ile benzer fenotipe sahip bazı hastalar için rapor edilmi tir, bu mutasyonlu TWIST1'in FGFR sinyal yolunun aktivasyonuymu gibi aynı fenotipi verdi ini göstermektedir.

2.7.3. Msx2

MSX genindeki mutasyonlar sonucu Boston tipi kraniosinositoz meydana gelir, bu gen 5. Kromozom uzun kolunda bulunan son derece korunmu bir gendir. Bu otozomal dominant hastalık koronal sütür sinositozu ile karakterizedir ve fronto orbital çöküklük, frontal kabarıklık ve turribrakisefaliyi içeren de i ken fenotiplerde görölebilir. Proteinin DNA ba layıcı bölgesi içinde Prolin'in histidin'e dönü üümü (Pro148His) sitozinin adenine transversiyonu sonucu olu ur. Proteinin DNA ba layıcı afinitesinin artması artmı protein aktivitesi ile sonuçlanır (109). Son birkaç yıldır kraniosinositozlu ço u hastada ekstra MSX2 kopyası tespit edilmi , böylece MSX2 fonksiyon kazanımının

kraniosinositozu te vik etti i desteklenmi tir(125). Aksine, MSX2 haploinsufiencye neden olan mutasyonlar ossifikasyon yetersizli ine ve parietal foramina ya sebep olur (109).

2.7.4. Eph/ephrin sinyal yola ı

Eph reseptörleri büyük reseptör tirozin kinaz (RTK) ailesinin bir üyesidir. Bu RTKların ligandları, ephrinler 2 alt sınıfa ayrılır;

A alt grubu: Ephrin A1-5, glikozilfosfotidilinozitol(GPI) ba lantıları ile membrana tutturulmu tur.

B alt grubu: Ephrin B1-3, kısa sitoplazmik bölge ile bir transmembran domaini ne sahiptir.

EPH/Ephrin sinyal yolu hücre göçü düzenlenmesinde ve embriyonik geli imde doku sınırlarının olu turulmasında çok önemlidir.

Eph reseptörü ve onun ephrin ligandıyla ilgili bölgesi arasındaki ili ki, hem reseptör hem de liganddaki ifade edilen hücrelerin a a ı akı sinyallenmesinin aynı anda aktivasyonuna neden olur.

EFBN1deki fonksiyon kaybı mutasyonları kraniofrontonazal displaziye sebep olur. Bu, a ırlıklı olarak ve ço unlukla daha ciddi bir ekilde kadınları etkileyen X'e ba lı dominant bir hastalıktır. Bu hastalarda brakisefali, koronal sinostoz, hipertelorizm, a a ı bakan palpebral fissürler, burun ucu yarıkla ması, dudak ve damak yarı ı, anormal klavikula, yükselme skapula mevcuttur (3). EFNA4 geni içindeki mutasyonlar da nonsendromik kraniosinositozlu birçok hastada bulunmu tur (126).

2.7.5. TGF Sinyal yola ı

TGFBR1 ve TGFBR2'deki mutasyonlar, marfanoid kraniosinositoza benzeyen kraniofasial bozukluklarla sonuçlanır (127). Bunlar, bu yolakta insanlardaki kraniosinositoz ile direk ili kili ilk mutasyonlardır ve bu bulgular diki açıklı ı regülasyonundaki TGF sinyal yolunu içine alan birçok çalı mayı destekler. TGF 2 ve TGF 3, sütür açıklı ı üzerinde ters etkiye sahiptir. Patent sütüre TGF 2'nin eklenmesi antikorları nötralize ederken, TGF 2 birle en sütürlerin sinostozunu engelleyerek birle memeyi destekler. TGF 3 için de tam tersi do rudur, TGFBR1 in ekspresyonunun azalmasıyla hareket eder (128).

2.8. KRANİOSİNİTOZDA MOLEKÜLER TEST YAKLAŞIMI

Genetik testler günümüzde üpheli genetik hastalıkların tanısal tetkik sürecinin ayrılmaz bir parçası olmuştur. Diğer birçok durum gibi, kraniosinotozda etiyolojik olarak oldukça heterojendir ve genetik olmayan veya daha karmaşık bir genetik hastalığın bir parçası olarak görülebilir. Çevresel faktörler ve/veya genetik defektler nedeniyle meydana gelen izole kraniosinotoz olarak ortaya çıkabilir veya sınırlı bilgiler ve imkansızlıklar nedeniyle idiyopatik olarak sınıflandırılabilir. Mevcut genetik test stratejileri kullanılarak bugün kraniosinotoz hastalarının yaklaşık %45'ine neden olan genetik defektler tanımlanabilmektedir (33, 129, 130). Genetik defektlerin tanımlanması altında yatan genetik nedeni ve farklı klinik durumları tanımlayarak hasta için ayırıcı tanıyı aydınlatır. Tanının aydınlatılması beklenen klinik seyir ve doğru genetik danışmanlığı için daha kesin bir tahmin olanağı verir. Ayrıca etkilenen aileler için tekrarlama riski, akrabalarında görülme riskinin yanı sıra sonraki gebeliklerde prenatal tanı yaklaşımı hatta preimplantasyon genetik tanı imkanı sağlar. Kraniosinotozlu hastalarda genetik test sonuçları, hastanın izlem aralıklarını hatta tedavi kararlarını bile doğrudan etkileyebilir.

İlk basamak klinik değerlendirilmedir.

Kraniosinotozlu bir hasta iyi bir kraniyocerrah ve klinik dismorfolojist tarafından birlikte multidisipliner bir şekilde değerlendirilmelidir. Dikkate alınması gereken önemli klinik bilgiler şunlardır:

- 1- Hangi kranial sütürlerine etkilendiği ve oluşan kafa şekli
- 2- İleri kili kraniofasyal anormallikler ve dismorfizm
- 3- Beyin malformasyonları ve/veya anomalileri
- 4- Ekstrakranial malformasyonlar/anomaliler (iskelet anomalileri gibi)
- 5- Kraniosinotoz için pozitif aile hikayesinin varlığı, gelişimsel bozukluk, nöbetler gibi altında yatan mendelian kalıtımı düşündürdüğü bulgular.

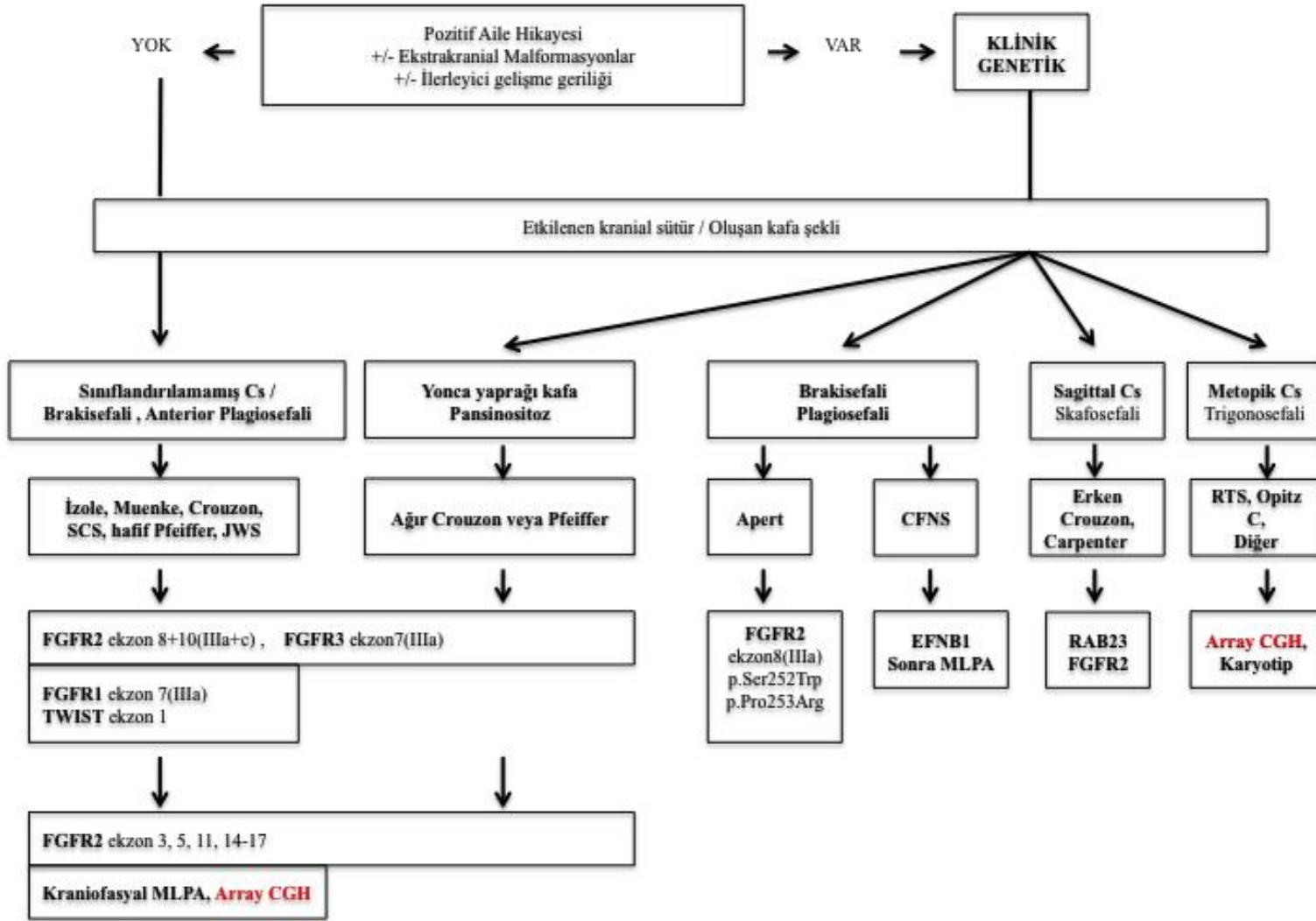
Pozitif aile hikayesi, motor-mental gerilik, ek ekstrakranial malformasyonların varlığında genomik defektleri araştırmada karyotip analizi veya aCGH ilk test seçeneği olabilir. Bazı kraniosinotoz sendromları (Apert, Craniofrontonasal sendrom gibi) ayırt edici klinik bulguları sayesinde kolayca tanımlanabilir ve sendroma özgü genetik test ile tanı doğrulanabilir.

Spesifik genel görünüm ve bariz sendrom olmadığı durumlarda ve ekstrakranial malformasyon varlığında genetik test planlaması etkilenen suture tipine ve oluşturan kafatekline göre planlanmalıdır.

İkinci basamakta genetik test planlaması yapılır.

Özgün sendrom, spesifik genel görünüm ve ekstrakranial malformasyonların yokluğunda ilgili suture tipine ve oluşturan kraniofasyal morfolojiye dayalı genetik testler planlanmalıdır. Kraniosinotiz hastalarının altında yatan genetik defektlerin tespiti için basit bir moleküler genetik test yaklaşımı Tablo 1’de gösterilmiştir.





Tablo 1. Klinik bulgular ve aile hikayesi temelli Kraniosinositoz genetik çalışma akı şeması
Ref(43)'den derlenmiştir.

2.8.1. Baskın Olarak Koronal Kraniosinostozdan Kaynaklanan Brakisefali ve Anterior Plagiosefali

Tek veya iki taraflı koronal sinostozun en yaygın sendromik formları otozomal dominant kalıtım gösterir. En yaygın görülen sendromik formlar olan Apert sendromu, Crouzon sendromu, Jackson-Weiss sendromu (JWS), Muenke sendromu, Pfeiffer sendromu ve Saethre-Chotzen sendromu (SCS) klinik olarak konjenital ve ilerleyici brakisefali ile karakterizedir. Sinostoz sıklıkla tek taraflıdır ve di er ek sütürleride etkileyebilir, spektrumun en a ır formu yonca yapra ı ekinde kafa ekli olarak ortaya çıkar. Hastalarda özellikle elleri ve ayakları etkileyen ek iskelet anomalileri ayrıca propitozis, yüz orta hat hipoplazisi ve gaga burun da dahil olmak üzere ayırte d i c i bir fasyal görünüm görülebilir. Bu genel klinik görünüm do rudan klinik tanıya yönlendirebilir.(Apert, Pfeiffer ve Craniofrontonasal sendrom (CFNS)da oldu u gibi)

2.8.2. Sagittal Kraniosinostozdan Kaynaklanan Skafosefali

İzole kraniyosinostozların en yaygın biçimi, orta hat sagittal (ve bazen metopik) sütürü etkiler, genellikle alta yatan neden FGFR veya TWIST mutasyonları de ildir, bazen mikroskobik veya submikroskopik kromozomal dengesizlikler nedeniyle olu abilir (129, 130). Bu yüzden ileri genetik tetkikler ki isel klinik prezentasyona dayalı olmalıdır. Crouzon sendromlu bazı hastalar ba langıçta sagittal sinostoz ile prezente olur, ancak daha sonra koronal sütürleri de etkilenir. Bu yüzden sagittal sinostoz ve kruzonoid yüz görünümünün birlikte oldu u hastalarda FGFR2nin seçilmi ekzonları genetik test olarak de erlendirilebilir (131).

2.8.3. Metopik Kraniosinostozdan Kaynaklanan Trigosefali

Trigonosefalili hastalarda tanımlanan genetik de i iklikler a ırlıklı olarak kromozomal dengesizliklerdir. Metopik sütür sinostozlu hastaların %30 kadarında bu de i iklikler tespit edilebilir (130). Bu nedenle ilk genetik test konvansiyonel karyotip ve/veya aCGH olmalıdır. Bu testler negatifse veya ek ekstrakraniyal anomaliler varsa dismorfolojistler tarafından Opitz C sendromu gibi farklı genetik sendromlar dikkatlice incelenmelidir (132).

2.9. CGH(KAR İLA TIRMALI GENOM KH BR D ZASYON) VE aCGH

2.9.1. CGH

Kar ıla tırmalı genomik hibridizasyon(CGH), hücre kültürüne gerek kalmadan bir referans örnek ile bir test örneğinin DNA ploidi seviyesine göre kopya sayısı değişimlerinin (CNV'lerin) analizi için geliştirilmiş moleküler bir sitogenetik yöntemdir. Bu tekniğin amacı iki farklı genomik DNA örneğini hızlı ve verimli bir şekilde karşılaştırmaktır, karşılaştırılan iki örnek birbirleriyle yakından ilişkili olmalıdır çünkü tüm kromozomal veya subkromozomal bölgeler arasındaki kazanımlar veya kayıpların karşılaştırılması amaçlanmaktadır. Bu teknik, ilk olarak solid tümör ve normal dokular arasındaki kromozomal farkların belirlenmesi için geliştirilmiştir (133). Daha geleneksel sitogenetik ve Floresan insitu hibridizasyon (FISH) yöntemleriyle karşılaştırıldığında rezolüsyonu 5-10 megabazaya kadar indirgenmiş bir tekniktir (134).

Floresanlı bir mikroskop ve bir bilgisayar yazılımı kullanılarak, farklı olan renkli floresan sinyalleri ile daha sonra iki kaynak arasındaki kromozom farklarının belirlenmesi için her bir kromozomun uzunluğu boyunca karşılaştırılır. Referans örneğinin daha yüksek renkteki bantları bölge test örneğinde kayıp olduğunu gösterirken, test örneğinin daha yüksek bantları gösterdiği bölge ise bu bölgede bir kazanım olduğunu gösterir. Eğer nötr bir renk (yani yeşil ve kırmızı karışımı sarı bir renk) görülürse bu iki örnek arasında hiçbir fark yok anlamına gelir.

CGH yöntemi sadece dengesiz kromozomal anomalileri tespit edebilir. Kopya sayısı değişimleri olmayan resiprokal translokasyonlar, inversiyonlar, ring kromozomlar gibi dengeli kromozomal anomalilerin tespitini gerçekleştiremez. CGH tek bir test ile tüm kromozomları keşfetmeye, delesyon ve duplikasyonları ortaya çıkarmaya izin verir, mikroskopik ölçekte keşfedilmeyi bekleyen aday genlerin belirlenmesine yardımcı olabilir. CGH teknikleri ile birlikte DNA mikroarraylerinin kullanımı sayesinde aCGH diye adlandırılan daha spesifik bir form geliştirilmiş ve rezolüsyonu 100 kilobaz seviyesine kadar düşürülmesine olanak sağlanmıştır (135, 136). Bu geliştirilmiş teknik bilinen veya bilinmeyen durumların etiolojisini keşfetmeye olanak sağlar.

2.9.2. aCGH

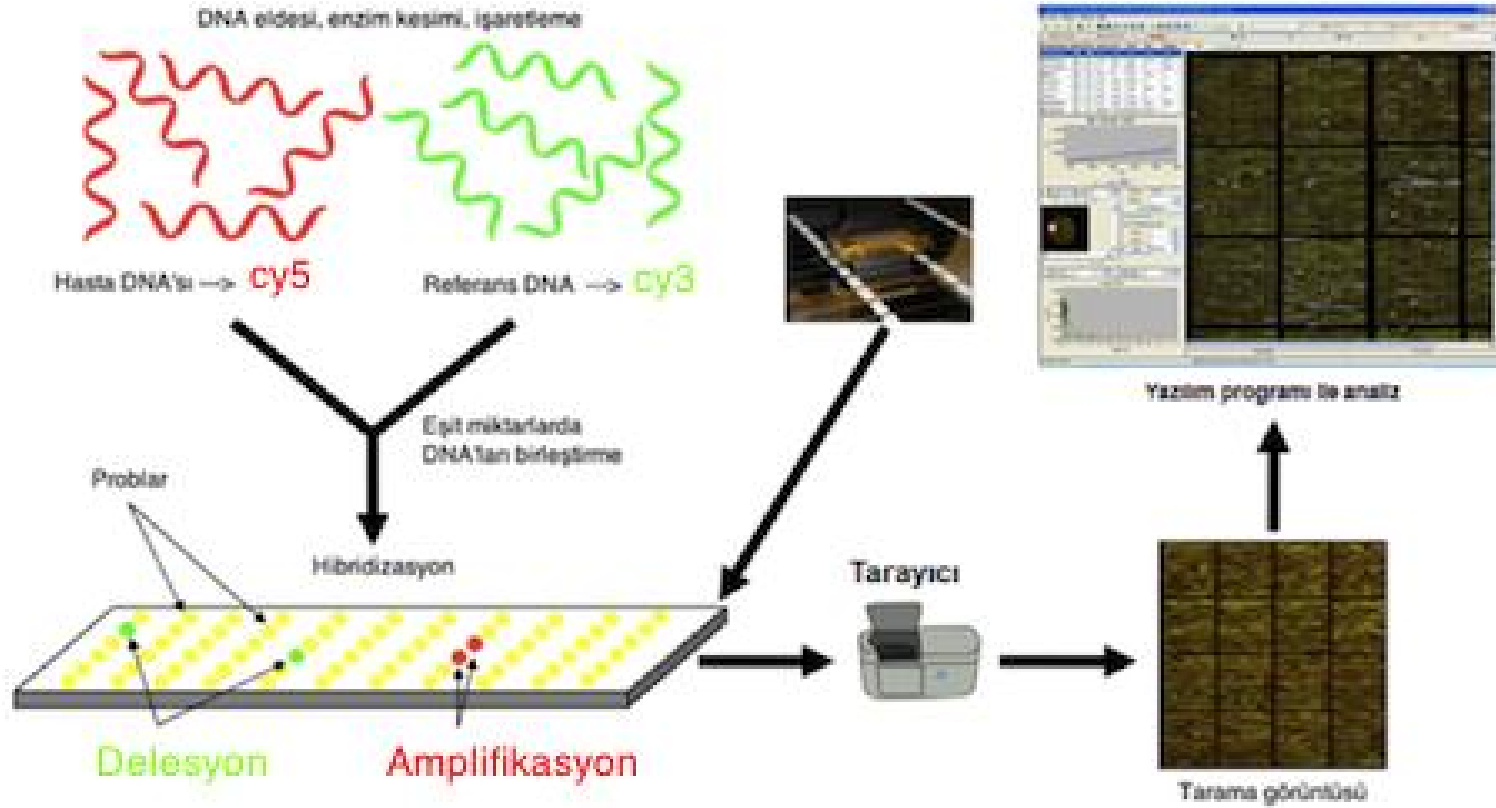
Dizi karılaştırılmalı genomik hibridizasyon (mikroarray tabanlı karılaştırılmalı genomik hibridizasyon, matrix CGH, dizi CGH, aCGH) geni ve yüksek çözünürlüklü ölçekli bir genom üzerinde kromozom kopya sayısı değişikliklerinin tespiti için geliştirilmiş moleküler sitogenetik bir tekniktir (137). Dizi CGH hastanın genomunu bir referans genomla karşılaştırır, geleneksel CGH ve floresans in situ hibridizasyon gibi aynı ilkeleri kullanılarak genomik dengesizlikleri bulur ve iki genom arasındaki farkları belirler. aCGH'in ortaya çıkarılması ile geleneksel CGH'in esas kısıtlaması olan düşük çözünürlük sorunu ortadan kalkmıştır. aCGH'de, Metafaz kromozomlarının lokalizasyonu bilinen 100-200kb'lık klonlanmış DNA fragmentleri ile karşılaştırıldı ve bilinir. Bu, daha ayrıntılı olarak sapmaların tespit edilmesini sağlar ve dahası genomik dizideki değişiklikleri doğrudan harita üzerinde görmek için mümkün kılar (138). aCGH'in diagnostik uygulamalar için DNA kopya sayısı değişikliklerinin analizi için kullanılan diğer yöntemlere göre önemli avantajları sayesinde spesifik, duyarlı, hızlı ve yüksek verimliliği bir teknik olduğu kanıtlanmıştır (139). 2006 yılı itibarıyla, yüksek çözünürlüklü CGH (HR-CGH) sayesinde 200 bp çözünürlükte yapısal değişimleri (SV) tespit etmek için hassas bir hale gelmiştir (140). Bu method kromozomal anomaliler nedeniyle meydana gelen doğumsal defektleri, kanser gibi durumlarda görülen mikrodelsiyon ve duplikasyonlar gibi tekrarlayan kromozomal değişiklikleri belirlememizi sağlar.

2.9.2.1. Metod

aCGH'de konvansiyonel CGH gibi aynı prensibe dayanır. Her iki teknikte de referans (kontrol) DNA örneği ve test (hasta) DNA örneği iki farklı florofor kullanılarak etiketlenir ve probalar kullanılarak nükleotid asit hedefleri üzerine yarı malı olarak kohibridize edilir. Konvansiyonel CGH'de hedef referans metafaz yaymasıdır. aCGH'de ise çeşitli vektörler (BAC veya plazmid gibi), cDNA'lar ve oligonükleotidler gibi çeşitli klonlanmış genom fragmanları olabilir (141).

aCGH'de test edilecek bir genomun DNA'sı genelde yeşil renkte (Cyanine 3) floresan ile işaretlenir ve genelde kırmızı renkte işaretlenmiş (Cyanine 5) normal olduğu bilinen referans bir genomik DNA ile hibridize edilir. İşaretli proplar genomda büyük benzersiz sekansların sunumuna olanak sağlayan tekrarlayan yapıları baskılayan Cot1 DNA'sıyla ön hibridizasyon yapılır. Hibridizasyondan sonra, dijital görüntüleme

sistemleri hibritlenmi florofofların her birinin relatif olarak floresan yo unluklarını de erlendirmek ve ölçmek için kullanılır(141). Floresan yo unluklarının oranı, test ve referans genom DNA dizilerinin kopya sayısı oranı ile orantılıdır. ki genom arasında e it kopya sayılı bölgeler; test ve referans DNA e le tirme miktarı e it ve bölgeler kırmızı ve ye il karı ımı olarak gözükür. Test genomun herhangi bir bölgesinin delesyonunda referans DNA'nın test DNA'sından daha fazla e le mesine ve bu bölgelerin kırmızı gözükmesine neden olacaktır(ekil 18). Test genomun herhangi bir bölgesinin artı ı veya kazanımında test DNA'nın referans DNA'sından daha fazla e le mesine ve buraların ye il gözükmesine neden olacaktır. Flöresan oranın ölçümüyle, yüksek oranda kopya sayısı artı ve azalı ını gösterir her bir metafaz kromozomunun dikey ve uzunlukları boyunca floresan oran profilleri olu turulur. aCGH farklı birçok klinik örnekte submikroskopik dengesiz kromozomal yeniden düzenlenimi ba arıyla tanımlamaya olanak sa ladı ı gösterilmi tir.



ekil 18. aCGH protokolününematik görüntüsü

Ref(142)'den de i tirilerek alınmıştır.

2.9.2.2. aCGH'e teknolojik yaklaşımlar

aCGH teknikleri çok geni bir yelpazede kullanarak uygulamaya koymuştur. Bu nedenle aCGH'in bazı avantajları ve dezavantajları seçilen tekniğe bağlıdır. Başlangıçta, BAC'lar gibi büyük genomik DNA klonlarından üretilen diziler kullanılmıştır. BAC'ların kullanımı tek kopya de i ikliklerini tespit etmek ve do ru sapmaların sınırlarını bulmak için yeterli yoğun sinyalleri sağlar. Ancak izole BAC klonlarının başlangıç DNA verimleri düşüktür ve DNA amplifikasyon teknikleri gereklidir. Bu teknikler arasında, ligasyon aracılı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), bir ya da birden fazla primer setleri kullanılarak dejenere primer PCR ve yuvarlanan çember(rolling circle) amplifikasyonu yer alır (143). Array'ler ayrıca cDNA kullanılarak da dizayn edilebilir. Bu array'ler yüksek çözünürlük verir ancak cDNA'ların sayısı kromozom üzerinde kodlanmış genler ile sınırlıdır ve bunların duyarlılığı çapraz melezleme nedeniyle düşüktür(138). Bu bir genom boyu ölçekte tek kopya de i ikliklerini tespit etmek için yetersizlik ile sonuçlanır(144). Son yaklaşım olarak kısa oligonükleotid diziler ile array'ler tespit edilmiştir. Bu oligoların miktarı neredeyse sınırsızdır ve işlem hızlı, düşük maliyetli ve kolaydır. Oligonükleotidlerin tek kopya de i ikliklerini algılamak için hassasiyeti olmamasına rağmen, kromozom üzerinde birbirine yakın oligoların oranlarının ortalaması bu azalmı hassasiyeti kompanse edebilir (145). Belirli bir kırılma noktalarını kapsamayabileceği için, üst üste gelen problemlere sahip arrayler de kullanılabilir.

2.9.2.3. Dizayn yaklaşımları

Tüm genom veya hedeflenmiş bölgeler için iki farklı aCGH tasarımı vardır.

Tüm genom array'leri tüm insan genomunu kapsayacak şekilde tasarlanmıştır. Genomun sınırları içinde komşu kapsama sahip diziler genellikle genom boyunca geni bir kapsama sağlayan klonlar içerir. Tüm genom dizileri ara tırma uygulamaları için çoğunlukla imal edilmiş ve gen keşif çalışmalarında üstünlüğü kanıtlanmıştır. Benzeri görülmemiş bir çözünürlükte DNA kazanç ve kayıpları için genom taramasında çok değerlidir.

Hedeflenmiş array'ler bu hedef segmenti de erlendirmek amacıyla genomun belirli bir bölgesi veya bölgeleri için tasarlanmıştır. Bu, belirli bir kromozom veya

kromozomal bir parçayı ya da üpheli mikrodelyasyon sendromlarını veya subtelomerik yeniden düzenlemeleri olan bireylerde belirli DNA dozaj anormalliklerini tespit etmek ve değerlendirilmek için tasarlanmıştır (141).

2.10. TEST SONUÇLARININ YORUMLANMASI VE GENETİK DANIŞMANI

Genetik test sonuçlarının raporları düzenli bir şekilde uygulanan test metodu hakkında ayrıntılı bilgileri içermelidir. Genel kural olarak, herhangi bir genetik testin negatif sonuçları yapılan genetik testi kapsamayan diğer genetik defektlikleri dışlamaz. Bu nedenle diğer akrabalar için artmış tekrarlama riskini göz ardı edemeyiz. Herhangi bir genetik testin sonuçları genetik danışmanlık sürecinde hastaya ve/veya onun ailesine bildirilmelidir.

Tanımlanmış mutasyon olmadan ve bir ebeveynde kraniosinosis için minör bir manifestasyon olmadan sporadik nonsendromik kraniosinosis gibi düşünülen hastanın kardeşleri için genel ampirik tekrarlama riski %1 olarak verilebilir, sporadik koronal sinositozlarda ise bu risk %3'dür (146). İndeks vakada mutasyon tespit edilip, ebeveynlerde bu mutasyonun olmadığı tespit edilirse bu de novo mutasyon olarak isimlendirilir. Bu durumda daha sonraki kardeşlerde tekrarlama riski germline mozaisizm olasılığına bağlıdır. FGFR genlerinde bu durumda özellikle paternal germline mozaisizm nedeniyle hafifçe artmış %1 risk rapor edilmiştir (129).

Bir fetal malformasyonun veya anomalinin prenatal tanısı hem ebeveynler hemde sağlık çalışanları için her zaman sorunlu bir süreçtir. Bu durum beklenen çocuğun uzun dönem sonuçları, tedavi seçenekleri ve klinik seyri hakkında kesin verilere dayalı bir karara ulaşmak için altta yatan klinik durumun tanımlanması ve hızlı ayırıcı tanı gerektirir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç (Hastalar)

Tez çalı ma grubumuz Cerrahpa a Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Genetik Poliklini inde ve Nöro irurji poliklini inde tanısı konularak izlenen hastalar arasından seçilerek olu turuldu.

Kraniosinositoz tanısı konularak temel probleminin primer kraniosinositoz ile ili kili olması durumu çalı maya dahil edilme kriteri olarak belirlendi. Çalı mamızda kraniosinositoz hastaları sınıflandırılarak sendromik ve sendromik olmayanlar olarak ayrıldı ve bilinen genetik nedenleri dı lanan non sendromik kraniosinositozlu hastalar aCGH çalı mamıza dahil edildi.

Çalı maya alınacak hastalar, detaylı öykü, fizik muayene, radyolojik görüntülemeler, biyokimyasal testler, metabolik testler ve analizler yapıldıktan sonra travma, enfeksiyon ve hipoksi sekeli olmayan, pre ve perinatal-postnatal öyküleri normal olan hastalar belirlendi.

Bu hastalar arasından primer kraniosinositoz olmayan veya bilinen ili kili genin incelenmesi tamamlanmayanlar çalı manın dı nda bırakıldı.

Kraniosinositoz hastalarının etyolojisini açıklayabilecek sitogenetik anomaliler açısından karyotip analizleri yapıldı ve sonucunda herhangi bir kromozomal anomali saptanmadı.

Bazı do umsal metabolik hastalıklarda kraniosinositoz görülebilece inden hastalar idrarda organik asit ve kanda aminoasit analizi ile metabolik hastalıklar açısından incelendi. Sonuçları normal olan hastalar belirlendi.

De erlendirmeler sonucunda toplam 10 hasta tez çalı mamıza dahil edildi. Tüm hastaların ailelerinden bilgilendirilmi onam formu alındı. Hastalardan örnek alınımı ve analiz çalı malarına stanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik De erlendirme Kurul onayı alındıktan sonra ba landı.

3.2. Yöntem

Çalı maya dahil edilen on hastadan alınan kan örneklerden DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Hastalardan ikisine sendromik kraniosinotiz tanısı konuldu ve bu hastalara sendromdan sorumlu olan EFNB1 ve FGFR2 gen bölgelerine yönelik PZR çalı ması yapılarak Sanger dizileme yöntemiyle analizleri gerçekleştirildi. Diğer sekiz hasta ise non-sendromik kraniosinotiz olarak de erlendirildi inden dolayı genetik etiyolojik ara tırma için aCGH yöntemi uygulandı.

aCGH çalı masında, hibridizasyon ortamı olarak dü ük maliyetle tüm genom analizine imkan sunan, yüksek özgüllükte ele meye de olanak sa layan 60 mer toplamda 411.056 prob içeren, çözünürlü ü 5.3KB olan, her bir slaytta 2 hasta çalı ılmasına olanak sa layan “SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 2x400K (Agilent Technologies)” çipi kullanıldı.

3.2.1. DNA izolasyonu

Çalı maya katılacak olan bireylerden alınan periferik kan örnekleri a a ıda belirtilen a malardan geçirilerek DNA izolasyonları yapıldı.

- Kan örneklerinden DNA izolasyonu için, Roche yarı manuel DNA izolasyon (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) kiti kullanıldı.
- Her bir hastanın 2 cc kan örne i 15 ml’lik falkon tüplere alındı.
- Her bir falkon tüpe daha sonra 6 ml Red Blood Lysis Buffer (RBLB) eklendi.
- Kan ve RBLB karı ımı içeren falkon tüpler 10 dakika (dk) boyunca elde yava bir ekilde çalkalanarak karı tırıldı.
- Takiben tüpler 900 rcf’te 10 dk santrifüj edilerek hücrelerin tüpün alt kısmına çökmesi sa landı.
- Santrifüjden sonra, sıvı kısım dikkatli bir ekilde bo altılıp yerine her bir tüpe 1ml White Cell Lysis Buffer eklendi ve saydam bir karı ım elde edinceye kadar pipetaj yapıldı.

- Takiben falkon tüpler 37 °C’de 15 dakika bekletildi, her bir tüpe 500 µl protein precipitation buffer eklendikten sonra 30 sn boyunca vortekslendi.
- Materyal bu haliyle 1,5 ml’lik ependorf tüplere aktarıldı ve 12000 rcf’te 10 dk santrifüj edildi.
- Sıvı effaf kısım 15 ml’lik falkon tüplere alındı.
- Sıvı üzerine iki katı kadar so uk %100 etil alkol eklendi, tüplerde yüzen DNA’lar gözlenene kadar kısaca çalkalandı.
- Elde edilen DNA, mikropipetler aracılı ıyla 1,5 ml’lik ependorf tüplere alındı.
- DNA üzerindeki sıvı atılarak yerine 1 ml so uk %70 etanol eklendi.
- Materyal bu ekliyle 875 rcf’te 5 dk santrifüje tabi tutuldu, dibe çöken DNA’ya zarar vermeyecek ekilde üstteki sıvı kısım atıldı.
- Kurutma i lemi için a zı açık haldeki ependorf tüpler önceden ısıtılmı 37 °C’deki etüve yerle tirildikten sonra tam kuruma elde edildi.
- Kurutma i leminin ardından fazla beklenmeden DNA’ların 200 µl DNaz’sız bidistile suda çözünmesi gerçekte tirildi.

3.2.2. DNA Kalite ve kantitasyon i lemleri

zole edilen DNA örnekleri belirli oranlarda sulandırılarak, spektrofotometre cihazında 260 nm dalga boyundaki Optik Dansite de eri belirlendi. 260 nm dalga boyunda okunan Optik Dansite de eri, sulandırma katsayısı ve DNA katsayısı ile çarpılarak deri im µg/ml cinsinden hesaplandı. 260 nm / 280 nm de eri, izole edilen DNA’nın saflı mın bir ölçüsü olup, saf DNA için bu de er yakla ık olarak 1,8’dir. Saflık de eri için 1.7 - 1.9 arasındaki DNA örnekleri çalı maya dahil edildi.

µg hesaplanması ise u ekilde olmaktadır;

$\mu\text{g} = \frac{\text{DNA Konsantrasyonu (ng/ } \mu\text{L)} \times \text{Örnek miktarı (}\mu\text{L)}}{1000 \text{ ng/ } \mu\text{g}}$

Konsantrasyonlarda belirlendikten sonra çalı maya dahil olacak DNA’lar aCGH uygulama zamanına kadar -20°C de buzdolabında saklandı.

3.2.3. DNA dizileme protokolü

DNA dizileme protokolü olarak tek gen hastalıklarında u anda en sık kullanılan yöntemlerden olan Boya sonlandırılmalı otomatik DNA dizileme yöntemi kullanıldı.

- İlk önce dizilenmesi istenen DNA bölgesi için o bölgeye spesifik primer (ba langıç dizisi) dizayn edildi.
- Daha sonra bu primerler yardımıyla ilgili DNA bölgesi PZR(Polimerize zincir reaksiyonu) aracılı ıyla ço altıldı.
- Sonra PZR pürifikasyonu “Illustra ExoStar 1-Step Enzymatic PCR and Sequencing Clean-up” kiti kullanılarak reaksiyon dı ında kalan ürünler safla tırıldı.
- Safla tırılmı PZR ürünlerine “ABI Prism Big Dye™ Terminator” kiti kullanılarak i aretleme reaksiyonu gerçekleştirildi.
- aretlenmi ürünler “Applied Biosystems XTerminator Solution” kiti kullanılarak reaksiyona girmemi olan yanlı floresan ı ımalara sebep olabilecek floresan boyalar ve tüm di er reaktifler temizlendi.
- Daha sonra örnekler “Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer” dizileme cihazına yüklenerek kapiller elektroforez yardımıyla dizileme i lemi tamamlandı.
- lem tamamlandıktan sonra “SeqScape3” yazılım programı aracılı ıyla analizi gerçekleştirildi.

3.2.4. aCGH Protokolü

3.2.4.1. Örneklerin hazırlanması

DNA örneklerinin deri imleri 1000 ng olacak şekilde ayarlandı. Array'de kullanılacak platforma göre; 8 hasta ile yapılan çalışmalarda her biri için toplam hacim 10,1 µl olmalı, 2 veya 4 örnek için bu oran 20,2 µl olmalıdır. Bizim çalışmamızda da 2x400K platform kullanıldı ve her bir slaytta 2 hasta ile çalışılarak örneklerimizin hacmi 20,2 µl olacak şekilde ayarlandı.

Örnek: Deri imi 200 µl olan örnek için $\rightarrow 200 \cdot X = 1000$

$X = 5 \text{ ng} / \mu\text{l DNA'ya } 15,2 \text{ dH}_2\text{O}$ eklenerek toplam hacim 20,2 µl'ye tamamlandı.

Hasta cinsiyeti ve sayısı kadar referans erkek/kadın DNA deri imleri de aynı şekilde hazırlandı.

3.2.4.2. Enzim Kesimi

Hem hasta örnekleri için hem de referans örnekler için ayrı ayrı hazırlanan tüpler içine aşağıda tabloda belirtilen miktarlarda enzim kesimi için hazırlanan solüsyonlar karıştırıldı.

x 4.5

Nükleaz içermeyen H ₂ O	2.0 µl	9 µl
10X Tampon B	2.6 µl	11.7 µl
Asetil BSA	0.2 µl	0.9 µl
Alu I	0.5 µl	2.25 µl
Rsa I	0.5 µl	2.25 µl
Toplam	5.8µl	26.1 µl

Tablo 2. Enzim kesiminde hazırlanan digestion master mix.

5,8 µl tüm tüplere dağıtıldı. Böylelikle toplam hacim $5.8 + 20.2 = 26 \mu\text{l}$ oldu.

Daha sonra hazırladığımız bu karışımı;

37°C'de \rightarrow 2 saat

65°C'de \rightarrow 20 dakika kadar inkübasyonda bekletilerek enzim kesimi işlemine bırakıldı.

%2'lik agaroz jel hazırlanarak örneklerden 2' er µl jele yüklendi. Enzim kesiminin gerçeikle ip gerçeikle medi i bu ekilde test edildi. Jel görüntüsünde DNA'ların 200 ila 500 bant seviyesinde yo unla tı ı görüldü.

*(Örnekler bu a amada -20°C'de 1 aya kadar saklanabilir.)

3.2.4.3. aretleme

Örnekler 5'er µl Random Primer eklenerek hafifçe pipetaj yapıldı.

Hedef DNA bölgelerini ayırmak ve primerlerin yapı masını sa lamak için 95 °C'de ısıtıcı blokta 3 dakika bekletildi. Denatüre olan örnekler 5 dk buzda bekletildi.

Örnekler 6000×g de 1dk santrifüj edildi.

x 4.5

Nükleaz içermeyen H ₂ O	2 µl	9 µl
5X Reaksiyon tamponu	10 µl	45 µl
10X dNTPs	5 µl	22.5 µl
Cyanine 3-dUTP / Cyanine 5-dUTP	3 µl	13.5 µl
Exo-Klenow Enzimi	1 µl	4.5 µl
Toplam	21µl	94.5 µl

Tablo 3. aretleme sırasında hazırlanan labeling master mix.

Referanslar ve hastalar için bu karı ımdan ayrı ayrı hazırlanarak tüm tüplere 21'er µl da ıtıldı. Referans örnekleri Cyanine 3, hasta örnekleri ise Cyanine 5 boyası ile boyandı. Toplam hacim 50 µl'dir.

Tüpler kısa bir süre yüksek hızda santrifüj edilerek karı ımları sa landı.

aretlemenin gerçeikle mesi amacıyla tüpler 37 °C'de 2 saat, daha sonrasında ise 65°C'de 10 dakika inkübasyonda bırakıldı.

Ürünler buz üstüne alındı.

3.2.4.4. Safıa tırma

aretlenmi genomik DNA örnekleri tüplerin duvarlarında ve kapaklarındakalmı materyal ihtimaline kar ı 6000g de 1 dakika santrifüj edildi.

Örnekler safıa tırma için Amicon 30 kDa filtrelı kolonlara aktarıldı. Kolonlara yüklendikten sonra her bir tüpe 430µl 1xTE konuldu. 14000 x g 'de 10 dk santrifüj edildi. Alttaki sıvı döküldü. 480 µl 1xTE eklenerek yine 14000 x g 'de 10 dk santrifüj edildi. Altteki tüpler atılarak yenisi konuldu.

Filtrelı kolonlar ters çevirelerek 1000 x g 'de 1 dk santrifüj edildi, filtreye tutunan örneklerin eldesi sa landı. Toplam hacmin yakla ık 20-32 µl olması beklendi.

Örneklerin hacimleri tek tek ölçüldü ve üzerlerine 1xTE eklenerek hepsinin toplam hacmi 41 µl olacak ekilde ayarlandı. Örnekler 5 dakika buzda bekletildi.

Örneklerin spektrofotometrede ölçümleri yapıldı.

Her hasta örne i, cinsiyetlerine göre referanslarla tek bir tüpte birle tirildi.

3.2.4.5. Hibridizasyon

Cot1 DNA	25 µl
10X Blocking Agent	26 µl
2X Hi-rpm Buffer	130 µl

Tablo 4. Hibridizasyon a amasında kullanılan solüsyonlar.

Hibridizasyon için hazır hale gelen örneklere yukarıdaki tabloda belirtilen miktarlarda hibridizasyon solüsyonları eklendi. 2X Hi-rpm Buffer yo un yapısından dolayı tüplere tek tek eklendi ve iyice karı ması için pipetaj yapıldı. Daha sonra 95°C'de 3 dk ve ardından 37°C'de 30 dk inkübe edildi. Tüplere yapı an örnekleri toplamak için 6000 x g'de 1 dk santrifüj edildi.

Ürünler gasket slayta dikkatli bir ekilde yüklenerek üzerine "SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 2x400K" çip konuldu ve 65°C'de 40 saat hibridizasyon fırınında rotasyon altında bekletildi.

3.2.4.6. Yıkama

aCGH Wash Buffer II 37°C’de bir gece öncesinden inkübe edildi.

aCGH Wash I solüsyonu 50 ml’lik falkona konuldu ve üzeri folyo ile sarılarak ıktan korunması sa landı.

Wash I solüsyonu içerisinde çip ve gasket slayt cımbız yardımıyla birbirinden ayrıldı.

Çip, yeni aCGH Wash I içerisinde 5 dakika çalkalandı.

Bir gece bekletilen Wash II solüsyonuna aktarılarak 37°C’de 5 dakika inkübatörde bekletildi.

Agilent yazısı üste gelecek ekilde slayt koruyucusuna yerle tirildi.

Ozon bariyerle üzeri kapatılarak tarama cihazında okutma i lemne hazır hale getirildi.

3.2.4.7. Slaytların okutulması ve sonuçların de erlendirilmesi

Slaytlar yıkama i lemi sonrası tarama için, Agilent Tarayıcı’ya yerle tirildi. Okuma profili Agilent G3_CGH 2x400K’a için ayarlandı. Grid yüklemesi için slaytlarla beraber gelen grid dosyaları kullanıldı. Uygun programlamadan sonra slayt taraması ba latıldı. Tarama i lemi bitti inde görüntü program tarafından kendili inden “tif” uzantılı bir resim dosyası halinde kaydedildi. Elde edilen ham veriler “Feature Extraction Software” programı aracı ıyla okunur ve analiz edilir “txt” dosyası haline getirdi. Ayrıca yapılan taramanın kalitesini gösteren QC raporu ile beraber çıktı alındı. Analiz için elde edilen veriler Agilent CytoGenomics 2.7.22.0 programına Design dosyaları ile beraber yüklendi. Anlamlılık de erlendirmesinde amplifikasyon için temel olarak log de eri 0.7, delesyon için log de eri -0.6 sınırının üstü baz alındı.

4. BULGULAR

4.1. Hastaların Klinik ve Radyolojik Bulguları

Çalı mamıza, Cerrahpa a Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklini inde ve Nöro irurji poliklini inde takip edilen hastalar alındı.

Çalı maya dahil edilen hastaların her birinin kraniosinositozuna neden olan etkilenmi sütür tipi birbirinden farklı oldu undan her bir hastanın tek tek ayrıntılı olarak anamnezleri alındı, muayene edildi, olası e lik edebilecek ek anomaliler açısından di er tüm sistem muayeneleri yapıldı, tüm laboratuvar incelemeleri tamamlandı. ncelemeleri tamamlanmayan hastalar çalı mamıza dahil edilmedi.

4.1.1. Sendromik kraniosinositozlu hastalar

Hastalardan 7 aylık olan kız hastamız Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklini imize kraniosinositoz ve dismorfik özellikleri olması nedeniyle genetik açıdan de erlendirilmesi istemiyle yönlendirilmi ti. Hastamızın yapılan fizik muayenesinde; brakisefali, geni ön fontanel, hipertelorizm, telekantus, a a 1 bakan palpebral fissürler, geni burun kökü, bifid burun ucu, kısa boyun, sa ayak ba parma 1 duplikasyonu tespit edildi (ekil 19). Hastanın 3 Boyutlu Kranial Tomografi (3D-BT)'sinde: Bilateral koronal sinositoz, geni ön fontanel ve metopik sütür tespit edildi. Bu hastaya ön tanı olarak kraniosinositoz sendromlarından Craniofrontonasal sendromu tanısı konuldu ve EFNB1 geni dizi analizi yapıldı.

Bir di er hastamız 23 ya ında erkek, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklini imize Apert sendromu ön tanısı ile yönlendirilmi ti. Hastamızın yapılan fizik muayenesinde; Brakisefali, a a 1 bakan palpebral fissürler, hipertelorizm, bilateral ellerde 3 ve 4. parmaklar arasında sindaktili, ayaklarda total kutanöz sindaktili tespit edildi (ekil 20). Hastaya Apert sendromu tanısı konuldu ve FGFR2 gen dizi analizi yapıldı.



ekil 19. Craniofrontonasal sendromlu hastanın görüntüleri

(1) Yüz, (2) Ayak görüntüleri(sa duplike ba parmak)



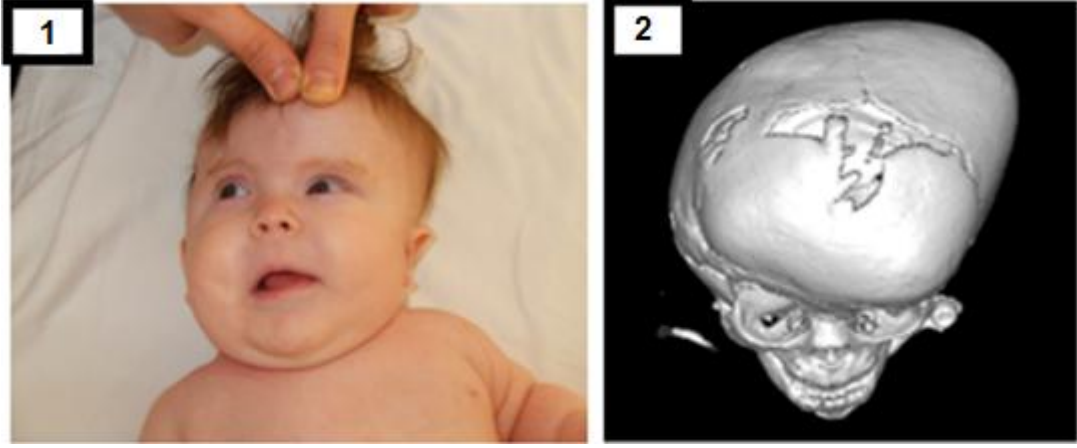
ekil 20. Apert sendromlu hastanın görüntüleri

(1)Yüz, (2) Eller, (3) Ayaklar

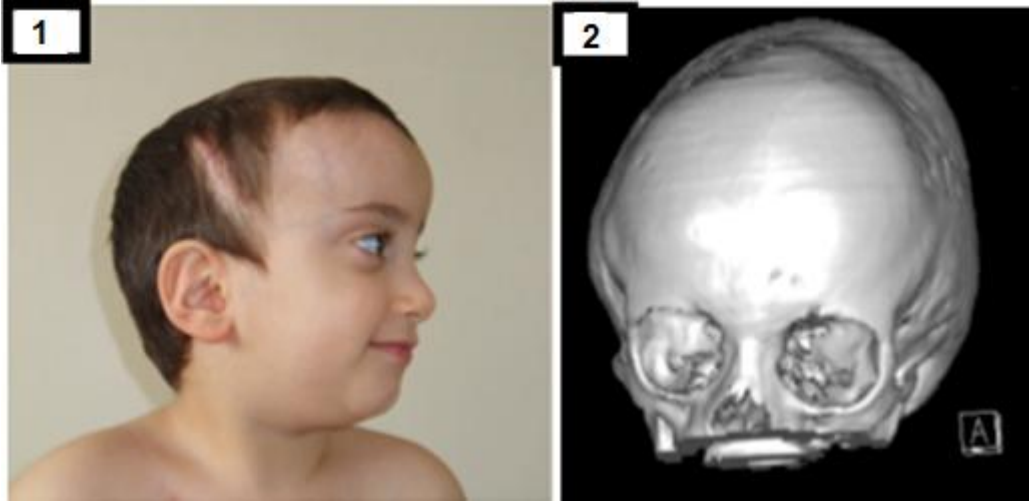
4.1.2. Non-sendromik kraniosinotozlu hastalar

İlk olgumuz 4 ya ında kız hasta, plagiosefali tanısı ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklini imizde 2009 yılından beri takip edilmekteydi. Hastanın yapılan fizik muayenesinde dismorfik olarak; kafada ve yüzde asimetri, basık yüz profili, uzun filtrum, dü ük kulaklar mevcuttu.(ekil 21) Di er sistem muayeneleri do aldı. Laboratuvar incelemelerinde; Kranial USG'de; lateral ventriküllerde asimetri saptandı, Batın USG: normal bulundu. 3 Boyutlu Kranial Tomografi (3D-BT)'de: Metopik sütün kapalı, sa da koronal sütün kısmen kapalı, solda ise lambdoid sütün üst kısmı kapalı bulundu (ekil 21). Bu bulgular sonucunda izole anterior plagiosefali tanısı konularak hasta takibe alındı.

2. olgumuz 5 ya ında erkek hasta, plagiosefali- multiple sütün sinositozu tanısı ile takip ediliyordu. Hastanın yapılan fizik muayenesinde dismorfik olarak; kafada ve yüzde asimetri, skafosefali, kafatasında geçirilmi sütün operasyonuna sekonder skar izleri, geni alın, basık burun kökü, bulböz burun mevcuttu (ekil 22). Di er sistem muayeneleri do aldı. 3 Boyutlu Kranial Tomografi (3D-BT)'de: Tüm kranial sütünlerin kapalı oldu u tespit edildi (ekil 23).



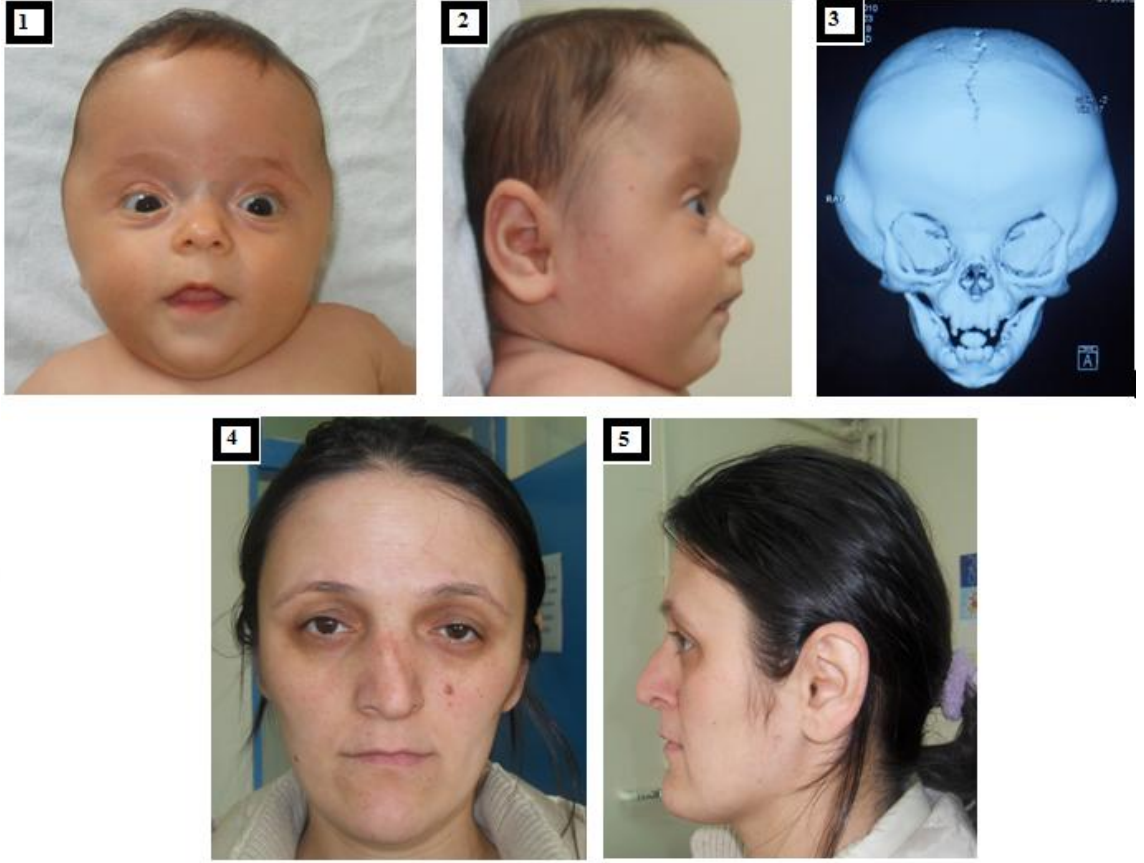
ekil 21. Olgu 1'in önden görünüşü (1) ve 3 Boyutlu Kranial BT görüntüsü(2)



ekil 22. Olgu 2'nin yandan görünüşü (1) ve 3 Boyutlu Kranial BT görüntüsü(2)

3. ve 4. Olgularımız 3 ya ında erkek hasta ve onun 29 ya ında olan annesi idi. Hasta 2010 yılından beri poliklini imizde takip edilmekte idi. 28 günlükken poliklini imize kraniosinositoz phesiyle yönlendirilmi ti. Yapılan fizik muayenesinde dismorfik olarak; anormal kafa ekli (brakisefali), geni alın, basık burun kökü, ince dudaklar, ayırık meme ba ları mevcuttu. Di er sistem muayeneleri do aldı. Laboratuvar incelemelerinde; 3 Boyutlu Kranial Tomografi (3D-BT)'de: Bilateral koronal sütürler kapalı olarak bulundu (ekil 23). Eko: Normal ve Batın USG: Normal bulundu. Hasta bu bulgularla izole brakisefali tanısı alarak takibe alındı. Hastanın annesi de erlendirildi inde annesinde de brakisefali saptandı (ekil 23). Bu ilk planda otozomal dominant kalıtımı akla getirdi. Annenin de di er sistem muayeneleri do al bulundu ve izole brakisefali tanısı alarak anne de çalı mamıza dâhil edildi.

5. olgumuz 3,5 ya ında kız hasta, 2010 yılından itibaren Tıbbi Genetik Anabilim Dalı poliklini imizde anterior plagiosefali tanısı ile takip edilmektedir. Yapılan fizik muayenesinde: sa frontal bölgede ileri derecede i lik, sol parietal bölgede ve sol supraorbital bölgede çöküklük, kafa ön-arka çapının artı ı, yüzde asimetri, geri yerle imli kulaklar, mikrognati gözlendi. Di er sistem muayeneleri do aldı. Hastanın laboratuvar tetkiklerinden 3 boyutlu Kranial Tomografisinde (3D-BT): Tüm sütürlerin kapalı oldu u anterior plagiosefali, Kranial MR'ında: Lateral ventriküllerde asimetri, her iki serebral hemisferlerde sulkuslarda silinme tespit edildi. Tüm Batın Ultrasonu (USG) normal bulundu. Metabolik taraması normal bulundu. EEG'de Bifrontal keskin dalga serileri, generalize diken dalga grupları gösteren düzensiz uyku EEGsi olarak tespit edildi.



ekil 23. Olgu 3 ve 4'e ait görüntüler

Olgu 3'ün (1) önden, (2) yandan görünümü. (3) Olgu 3 'ün 3 Boyutlu Kranial BT'si. Olgu 4'ün (4) önden, (5) yandan görünümü



ekil 24. Olgu 5'in görüntüleri

(1)önden, (2)yandan görünümü ve (3) 3 Boyutlu kranial BT

6. Olgumuz 21 yaşında erkek hasta, 2010 yılından itibaren Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğimizde takip edilmektedir. Daha önceden genetik açıdan hiç incelenmemiştir. Başvurusu nedeniyle hastaneye başvurmuş ve başvurduğu doktoru tarafından dismorfik özellikleri, sağ gözde doğuştan görme kaybı olması nedeniyle tarafımıza yönlendirilmiştir. Yapılan fizik muayenesinde: Mikrosefali, strabismus, yüksek dar damak, hafif ekzoftalmi, uzun yüz, üst çenede persistan süt dişleri, diş eti hiperplazisi, belirgin sivri çene yapısı, pektus carinatum tespit edildi (ekil 25). Dişer sistem muayeneleri normaldir. Göz muayenesinde: Sağ göz el hareketi düzeyinde, sol göz tam görme tespit edildi. Sağ gözde dışa kayma ve her iki optik disk soluk olarak tespit edildi. Kranial görüntüleme: Koronal ve lambdoid sütürlerin kapalı olduğu tespit edildi.

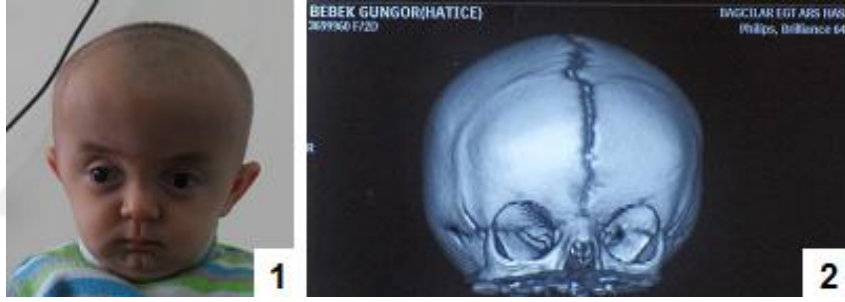
7. Olgumuz 13 aylık kız hasta, Nöroirurji polikliniğinde izole brakisefali tanısı ile takip edilmektedir. Hasta ön fontanelin doğuştan itibaren küçük olması ve kafada ekil bozukluğu olması nedeniyle Nöroirurji polikliniğine başvurmuştur. Yapılan incelemeler sonucunda fontanelin kapalı olduğu fark edilmiş ve çekilen 3 Boyutlu Kranial Tomografisinde (3D-BT): her iki koronal sütürün kapalı olduğu ve sagittal sütürün kesintisiz devamı şeklinde glabellaya kadar uzanan metopik sütür hattı izlendi (ekil 26). Dişer sistem muayenelerinde herhangi bir patoloji saptanmadı.

8. ve son olgumuz 4 yaşında kız hasta, Nöroirurji polikliniğinde plagiosefali tanısı ile takip edilmektedir. Hastanın yapılan fizik muayenesinde; Kafada ekil bozukluğu, yassı oksiput, dar alın, alın çizgisi düz, yüzde asimetri, burun kökü basık, burun köprüsü çökük, burun ucu basık, filtrum uzun olarak görüldü. Göz aksı antimongoloid, telekantus ve propitozis(sol gözde daha belirgin) mevcut (ekil 27). Kulaklar düz, küçük ve malforme yapıda. Ellerde bilateral atipik transvers çizgi mevcut. Ayaklarda bilateral 5. parmakların 4. parmak üzerine yerleşimi mevcuttur. İtme muayenesi: normal ve görme muayenesi: pitozis dışında normaldir.

Hastalarımıza ait klinik tanı, fizik muayene bulguları ve radyolojik bulgular Tablo-5'de özetlenmiştir.



ekil 25. Olgu 6'nın önden(1) ve yandan görünüşü ü(2)



ekil 26. Olgu 7'nin önden görünüşü ü(1) ve 3 boyutlu Kranial BT görüntüsü(2)



ekil 27. Olgu 8'in önden(1) ve üstten görünüşü ü(2)

	Olgu No	Klinik Tanı	Fizik muayene bulguları	Radyolojik bulgular
Sendromik	1	CFNS	Brakisefali, geni ön fontanel, hipertelorizm, telekantus, a a 1 bakan palpebral fissürler, geni burun kökü, bifid burun ucu, kısa boyun, sağ ayak ba parma 1 duplikasyonu	Bilateral koronal sinositoz, geni ön fontanel ve metopik sütür
	2	Apert sendromu	Brakisefali, a a 1 bakan palpebral fissürler, hipertelorizm, bilateral ellerde 3 ve 4. Parmaklar arasında sindaktili, ayaklarda total kutanöz sindaktili	Bilateral koronal sütürler kapalı
Non-sendromik	1	Plagiosefali	Kafada ve yüzde asimetri, basık yüz profili, uzun filtrum, dü ük kulaklar	Metopik sütür kapalı, sağ da koronal sütür kısmen kapalı, solda ise lambdoid sütür üst kısmı kapalı
	2	Plagiosefali, Multiple sütür sinositozu	Kafada ve yüzde asimetri, geçirilmi sütür operasyonuna sekonder skar izleri, geni alın, basık burun kökü, bulböz burun	Koronal, sagittal ve lamdoid sütürler kapalı.
	3	Izole Brakisefali	Anormal kafa ekli (brakisefali), geni alın, basık burun kökü, ince dudaklar	Bilateral koronal sütürler kapalı
	4	Izole Brakisefali	Anormal kafa ekli (brakisefali), geni alın, basık burun kökü, ince dudaklar	Bilateral koronal sütürler kapalı
	5	Anterior plagiosefali	sa frontal bölgede ileri derecede i lik, sol parietal bölgede ve sol supraorbital bölgede çöküklük, kafa ön-arka çapının artı 1, yüzde asimetri, geri yerle imli kulaklar, mikrognati	Tüm sütürlerin kapalı oldu u anterior plagiosefali
	6	Brakisefali	Mikrosefali, strabismus, yüksek dar damak, hafif ekzoftalmi, uzun yüz, üst çenede persistan süt di leri, di eti hiperplazisi, belirgin sivri çene yapısı, pektus carinatum	Koronal ve lambdoid sütürler kapalı
	7	Izole Brakisefali	Geni alın, belirgin filtrum, çenede dimple, Kafa ön arka çapında azalma	Her iki koronal sütür kapalı ve sagital sütürün kesintisiz devamı ekinde glabellaya kadar uzanan metopik sütür hattı
	8	Plagiosefali	Kafada ekil bozuklu u, yassı oksiput, dar alın, alın çizgisi dü ük, yüzde asimetri, burun kökü basık, burun köprüsü çökük, burun ucu basık, filtrum uzun, propitozis(solda daha belirgin)	Koronal sütürler ve sa lamdoid sütür kısmen kapalı

Tablo 5. Hastalara ait klinik tanı, fizik muayene ve radyolojik bulgular

4.2. Hastaların Moleküler Genetik Sonuçları

Hastaların detaylı fizik muayeneleri ve radyolojik incelemeleri tamamlandıktan sonra Kraniosinositoza yönelik genetik etiyojisini ara tırmaları için moleküler genetik analizleri yapıldı.

4.2.1. Sendromik hastaların moleküler genetik sonuçları

Craniofrontonasal sendrom tanısı konulan hastamıza bu hastalıktan sorumlu olan EFNB1 gen analizi yapıldı ve sonucunda EFNB1 geni 2. ekzonunda c.402 T>C heterozigot yanlı anlamlı mutasyon tespit edildi. Literatür incelendi inde bu mutasyonun daha önceden CFNS tanısı alan hastalarda bildirilmedi i görüldü. Mutasyonun Polyphen, SHIFT gibi programlar kullanılarak protein yapısında de i ikli e yol açtı ı ve patojenik oldu u belirlendi. Bu hastamızda kraniosinositoza neden olan genetik de i iklik tespit edildi inden aCGH çalı mamıza dahil edilmedi (147).

Apert sendromu tanısı alan bir di er hastamıza bu hastalıktan sorumlu olan FGFR2 geninde hedef(target) mutasyon analizi yapıldı ve sonucunda c.755 C>G (p.S252W) mutasyonu tespit edildi ve bu hastamıza da kraniosinositoza neden olan de i iklik tespit edildi inden bu hastamızda aCGH çalı mamıza dahil edilmedi.

4.2.2. Non-sendromik hastaların moleküler genetik sonuçları

Spesifik bir sendrom tanısı koyulamayan non-sendromik hastalarımızdan; 1. olgumuza Muenke sendromu ön tanısıyla daha önceden dı merkezde FGFR3(Pro250Arg) mutasyonu bakılmı ve sonucu normal olarak bulunmu tu.

Tüm hastalarımızda etiyojiye yönelik Karyotip analizi yapıldı ve tüm hastalarımızda herhangi bir patoloji saptanmadı. Daha sonra kraniosinositozla ilgili genlerden FGFR2 geni analizi gerçekleştirildi ve yine tüm hastalarımızda incelenen gen bölgelerinde herhangi bir mutasyon tespit edilmedi.

Sendromik ve nonsendromik hastalarımıza ait genetik incelemeler özet ekinde Tablo-6'da gösterilmi tir.

	OLGU NO	KL N K TANI	Karyotip	ncelenen Genler	Mutasyon
Sendromik	1	CFNS	46,XX	EFNB1	c.402 T>C
	2	Apert	46,XY	FGFR2*	c.755 C>G
Non -sendromik	1	Plagiosefali	46,XX	FGFR2* FGFR3(Pro250Arg)	YOK
	2	Plagiosefali, Multiple sütür sinositozu	46,XY	FGFR2*	YOK
	3	zole Brakisefali	46,XY	FGFR2*	YOK
	4	zole Brakisefali	46,XX	FGFR2*	YOK
	5	Anterior plagiosefali	46,XX	FGFR2*	YOK
	6	Brakisefali	46,XY	FGFR2*	YOK
	7	zole Brakisefali	46,XX	FGFR2*	YOK
	8	Plagiosefali	46,XX	FGFR2*	YOK

Tablo 6. Hastalarımıza ait genetik incelemeler

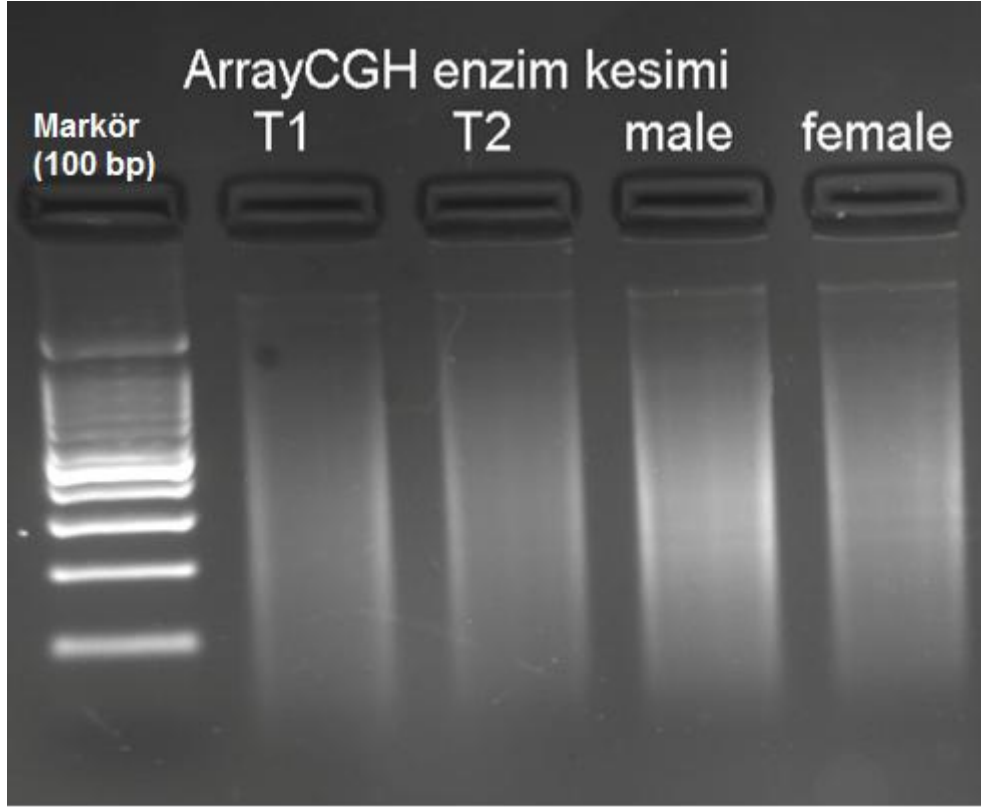
*: FGFR2 geninin 7,8,9,10 ve 11. ekzonları incelenmiştir. Vakaların %80'inden fazlası bu bölgelerdeki mutasyonlardan kaynaklanmıştır(3).

4.3. Non-sendromik hastaların aCGH Bulguları

Çalı mamızda 8 hasta için 4 adet 2x400K Array çipi kullanıldı. Hasta ve referans örnekleri enzimatik kesim i lemi yapıldıktan sonra enzimatik kesimin beklenen ekilde olup olmadığını kontrol etmek için %2'lik agaroz jelde yürütüldü (ekil 28).

Daha sonra Random primerler kullanılarak i aretleme a amasına geçildi. aretleme a amasından sonra reaksiyonu engelleyecek ürünleri uzakla tırmak için safla tırma yapıldı. Örneklerin DNA ve boya ölçümleri kullanılarak spektrofometrede i aretleme de eri, spesifik aktivite ve yield de erleri hesaplandı (Tablo-7).

Safla tırmadan sonra hazır olan örnekler uygun referans örnekler ile hibridize edildi. 40 saat 65°C'de rotasyon altında hibridizasyonda bekletildikten sonra tekrardan ba lanmayan örnekleri uzakla tırmak için yıkama i lemi gerçekleştirildi. En son olarak array çipleri Slayt okuyucu (Agilent tarayıcı) cihazı kullanılarak analiz i lemine alındı. Bu i lem sonunda her bir olgu için slayt görüntüsü (ekil 29) ve QC(Kalite kontrol) raporu elde edildi (ekil 30). Ayrıca hastalarda bulunan de i imleri karyogram üzerinde gösteren cyto report (rapor) dosyaları da elde edildi (ekil 31).



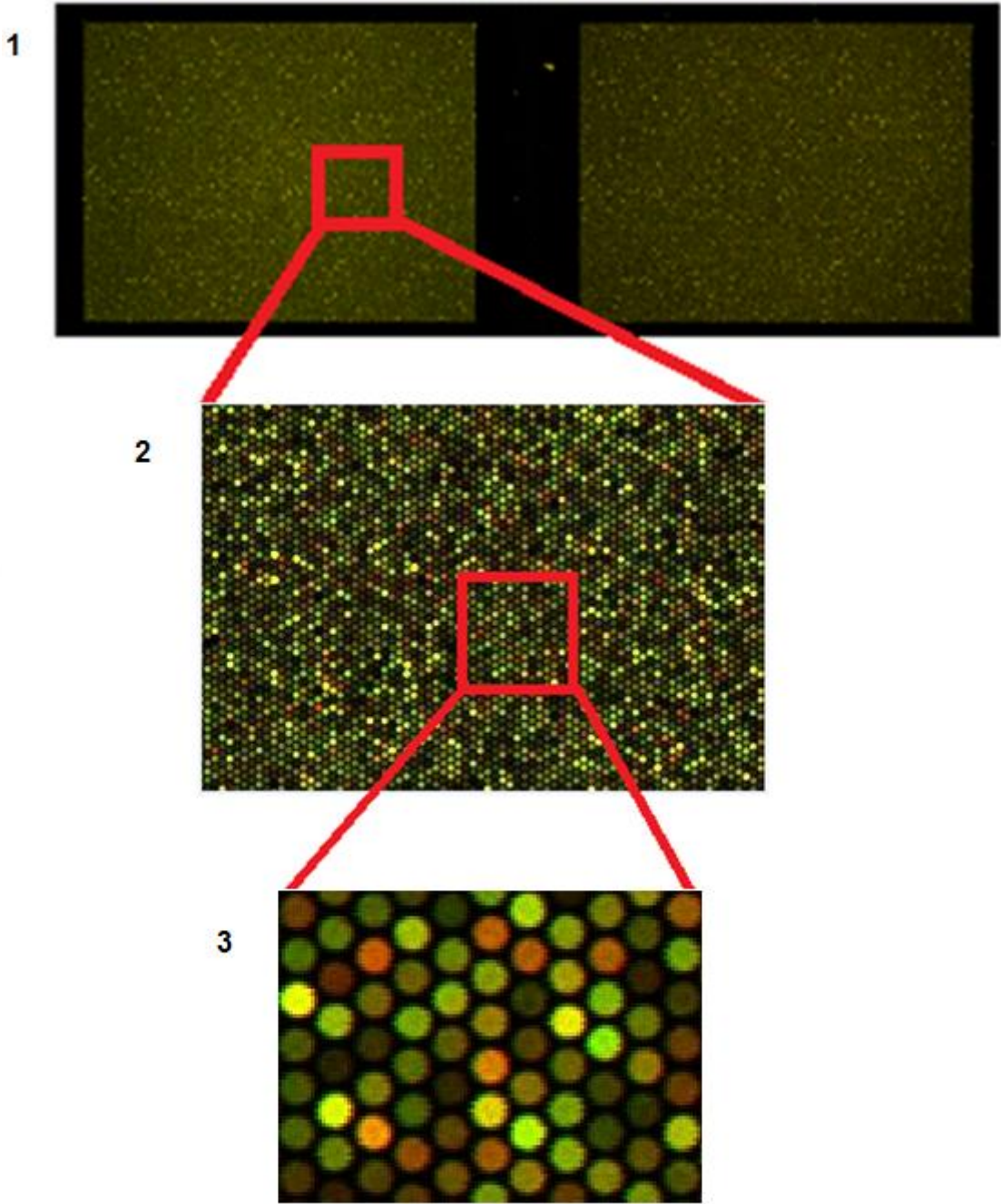
ekil 28. Örneklerin enzim kesimi sonucu oluşan jel görüntüsü

T1:Olgu1, T2: Olgu2, male: Erkek referans, female: bayan referans (Enzim kesimi sonrasında farklı uzunlukta olan DNA parçaları jelde yayma şeklinde görülüyor)

		DNA Konsantrasyonu	(Cy 3)	(Cy5)	aretleme de eri	Spesifik Aktivite	Ürün (yield)
Hasta	1	161,1		3,7	0,78088144	22,96710118	3,3831
	2	118,8		7,2	2,060606061	60,60606061	2,4948
	3	130,2		6,4	1,671274962	49,15514593	2,7342
	4	148,1		6	1,37744767	40,51316678	3,1101
	5	398,6		12,4	1,057701957	31,10888108	8,3706
	6	414		13,2	1,084057971	31,88405797	8,694
	7	287,5		8,2	0,96973913	28,52173913	6,0375
	8	271,8		7,2	0,900662252	26,49006623	5,7078
Referans	F-1	129,2	3,5		0,921052632	27,08978328	2,7132
	M-2	143	4		0,951048951	27,97202797	3,003
	F-3	147,7	6,3		1,450236967	42,65402844	3,1017
	M-4	61,3	3,6		1,996737357	58,72756933	1,2873
	F-5	415	11,9		0,974939759	28,6746988	8,715
	M-6	349,3	9,9		0,963641569	28,34239908	7,3353
	F-7	300,4	11,2		1,267643142	37,28362184	6,3084
	F-8	281,9	11		1,3267116	39,02092941	5,9199

Tablo 7. Hasta ve referans örneklerinin DNA ve boya konsantrasyonlarının Spektrofotometre ile ölçüm sonuçları

*F:female(bayan), M:male(erkek)



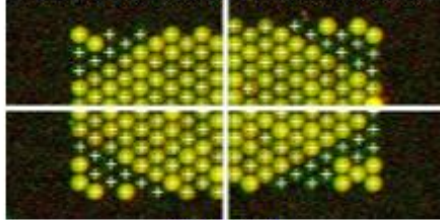
ekil 29. Array CGH slaytının taranması sonrası elde edilen görüntü

- (1) Tüm slayt (lam) (2) 1 nolu olgunun mikroçipi (3) Aynı hastanın genomundan alınan büyütülmü kısım (Her bir spot bir probu i aret etmekte olup bunlar analiz programı sayesinde anlamlı grafiklere çevirmektedir).

QC Report - Agilent Technologies : 2 Color CGH

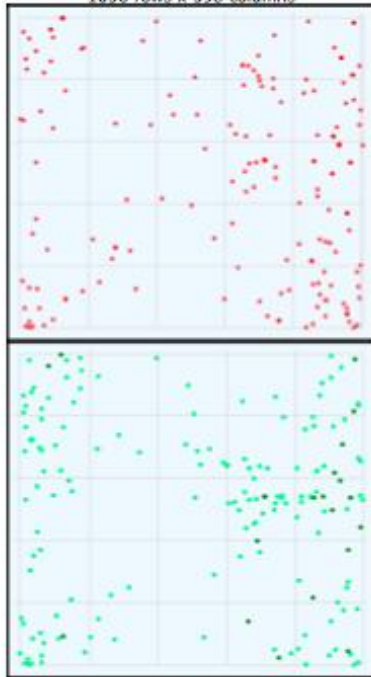
Date	Friday, November 29, 2013 - 14:52	Sample(red/green)	
User Name	Administrator	FE Version	10.7.3.1
Image	US10133796_252185021124_S01 [1_2]	BG Method	Detrend on (NegC)
Protocol	CGH_107_Sep09 (Read Only)	Multiplicative Detrend	True
Grid	021850_D_F_20111015	Dye Norm	Linear
Saturation Value	65527 (r), 65527 (g)		

Spot Finding of the Four Corners of the Array



Grid Normal

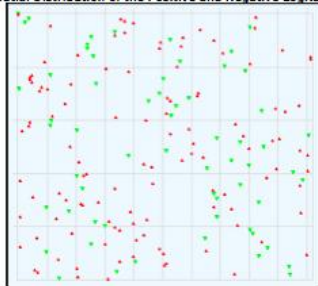
Outlier Numbers with Spatial Distribution
1056 rows x 398 columns



● Red FeaturePopulation ● Red Feature NonUniform
● Green FeaturePopulation ● Green Feature NonUniform

Feature	Red	Green	Any	% Outlier
Non Uniform	21	23	27	0.01
Population	130	147	236	0.06

Spatial Distribution of the Positive and Negative LogRatios



#Positive:5784 (Red) ; #Negative:3014 (Green)
▲Positive_Negative

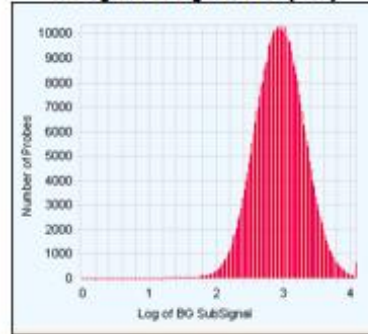
Evaluation Metrics for CGH_QCMT_Sep09 :

Excellent (5) ; Good (6)

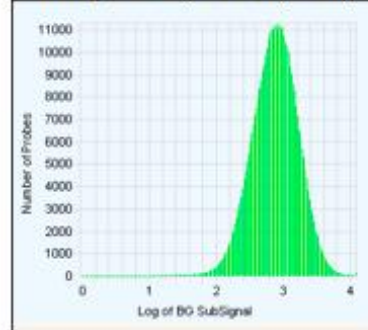
Metric Name	Value	Excellent	Good	Evaluate
IsGoodGrid	1.00	>1	NA	<1
AnyColorPrntFeatNonUn...	0.01	<1	1 to 5	>5
DerivativeLR_Spread	0.18	<0.20	0.20 to 0.30	>0.30
gRepro	0.09	0 to 0.05	0.05 to 0.20	<0 or >0.20
g_BGNoise	6.52	<5	5 to 10	>10
g_Signal2Noise	99.71	>100	30 to 100	<30
g_SignalIntensity	649.70	>150	50 to 150	<50
rRepro	0.09	0 to 0.05	0.05 to 0.20	<0 or >0.20
r_BGNoise	8.08	<5	5 to 10	>10
r_Signal2Noise	91.97	>100	30 to 100	<30
r_SignalIntensity	742.94	>150	50 to 150	<50

◆ Excellent ◆ Good ◆ Evaluate

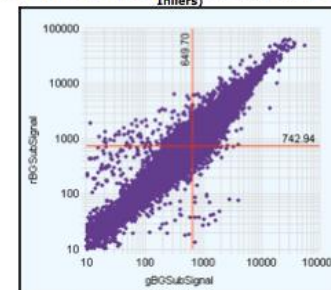
Histogram of Signals Plot (Red)



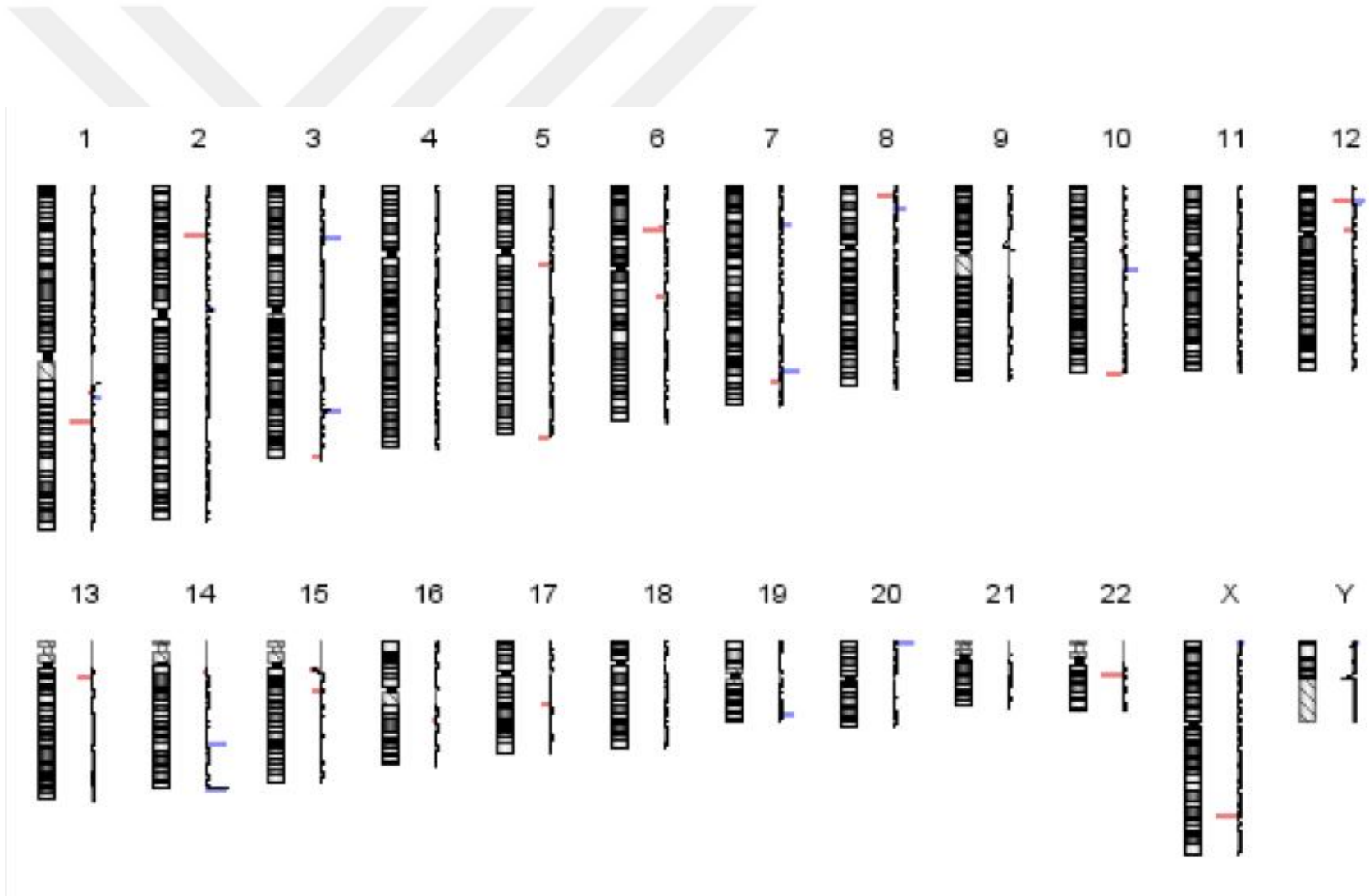
Histogram of Signals Plot (Green)



Red and Green Background Corrected Signals (Non-Control Inliers)



Features (NonCtrl) with BGSubSignals < 0: 64 (Red); 97 (Green)



ekil 31. Olgu1'e ait de i ikliklerin karyogram üzerinde ematik görünümü

*(Kırmızı renkli bölgeler delesyonu, mavi renkli bölgeler amplifikasyonu göstermektedir.)

Olu an verilerin CytoGenomics 2.7.22.0 versiyonu ile analizi sonucunda;

1 nolu olguda 2p11.2 bölgesinde 148,729 bp uzunlu unda 0,897 log de erinde amplifikasyon, 8p23.1 bölgesinde 584,094 bp uzunlu unda -1,37 log de erinde delesyon, 14q32.33 bölgesinde 478,952bp ve 369,565bp'lik sırasıyla 3,116 ve 0,938 log de erinde amplifikasyon, 15q11.1-q11.2 bölgesinde 2,275,008 bp uzunlu unda -0,9 de erinde delesyon tespit edildi.

2 nolu olguda 1p21.1 bölgesinde 112,809 bp uzunlu unda 1,09 log de erinde amplifikasyon, 7p14.1 bölgesinde 97,546 bp uzunlu unda -0,616 log de erinde delesyon, 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp'lik 4,018 log de erinde amplifikasyon, 9p12-p11.2 bölgesinde 3,622,338 bp'lik 0,716 log de erinde amplifikasyon, 14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 692.204bp, 220.129bp, 334.112bp uzunlu unda amplifikasyonlar ve 22q11.22 bölgesinde 195,479 bp uzunlu unda 3,026 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

3 nolu olgunun QC(Kalite kontrol) de erlendirmesi sonucu yeterli analiz de erlerini sa layamadı ı için analize dahil edilmedi.

4 nolu olguda 10q11.22 bölgesinde 730,941 bp uzunlu unda 0,774 log de erinde amplifikasyon, 10q26.3 bölgesinde 126,435bp uzunlu unda -0,907 log de erinde delesyon, 14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 1,044,088 bp, 220.129bp, 334.112bp uzunlu unda amplifikasyonlar, 22q11.22 bölgesinde 189,327 bp uzunlu unda 2,936 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

5 nolu olguda 2p11.2 bölgesinde 176,972 bp uzunlu unda 0,951 log de erinde amplifikasyon, 4q13.2 bölgesinde 96,222 bp uzunlu unda 0,881 log de erinde amplifikasyon, 7p14.1 bölgesinde 77,368 bp uzunlu unda -0,739 log de erinde delesyon (ekil 32), 14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 1,044,088 bp ve 634,499 bp uzunlu unda amplifikasyonlar, 15q11.1-q11.2 bölgesinde 2,145,780 bp uzunlu unda 1,641 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

6 nolu olguda 3p14.2 bölgesinde 148,295 bp uzunlu unda -0,852 log de erinde delesyon, 5q33.1 bölgesinde 316,309 bp uzunlu unda -1,087 log de erinde delesyon, 8p23.1 bölgesinde 514,093 bp uzunlu unda -1,366 log de erinde delesyon, 10q11.22 bölgesinde 628,448 bp uzunlu unda -1,154 log de erinde delesyon, 14q32.33 bölgesinde 478,952 bp uzunlu unda 3,320 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

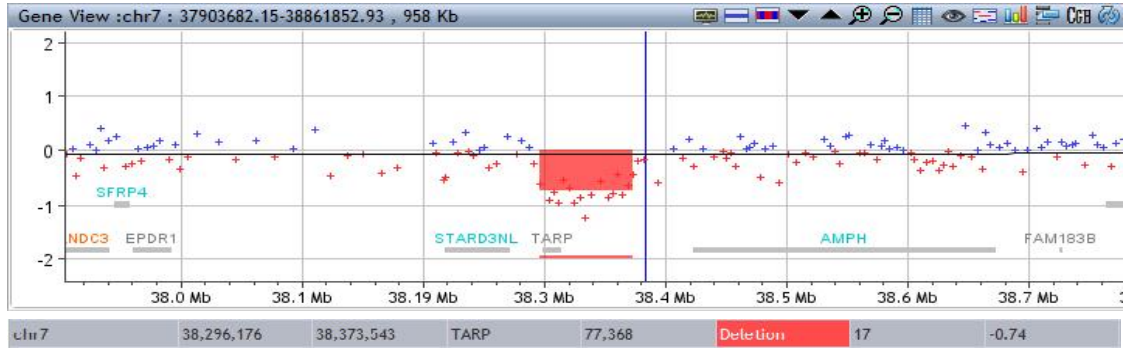
7 nolu olguda 2p11.2 bölgesinde 176,972 bp uzunlu unda 1,123 log de erinde amplifikasyon, 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp'lik 4,005 log de erinde amplifikasyon,

14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 692,209 bp ve 634,499 bp uzunlu unda amplifikasyonlar, 22q11.22 bölgesinde 189,327 bp uzunlu unda 3,021 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

8 nolu olguda 2p11.2 bölgesinde 176,972 bp uzunlu unda 1,357 log de erinde amplifikasyon, 3p26.1 bölgesinde 100,502 bp uzunlu unda 0,875 log de erinde amplifikasyon, 4q13.2 bölgesinde 96,222 bp uzunlu unda 0,942 log de erinde amplifikasyon, 7p14.1 bölgesinde 81,737 bp uzunlu unda -0,837 log de erinde delesyon, 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp'lik 4,34 log de erinde amplifikasyon, 22q11.22 bölgesinde 189,327 bp uzunlu unda 3,354 log de erinde amplifikasyon tespit edildi.

Tüm de i imler Tablo-8'de özetlenmi tir.

Hastalarımızda saptanan de i imler online veri tabanları aracılı ıyla da erlendirilmi tir. Bu veri tabanlarından en bilineni Decipher'dir. DECIPHER (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources) submikroskopik kromozomal dengesizliklerin yorumuna yardımcı olmak için tasarlanmı interaktif web tabanlı bir veritabanıdır. Decipher veri tabanına bakıldı nda çalı ilan hastalarda tespit edilen lokalizasyonlara benzer bölgelerde hastalar oldu u saptandı. Plagiosefali ve multiple sütür sinositozu tanısı alan 2 no'lu olguda (Decipher ID: CMSI282904) 1p21.1 bölgesinde tespit etti imiz amplifikasyon, Decipher ID:618 nolu hastada da aynı bölgede amplifikasyon bildirilmi tir. 618 no'lu olgu veri tabanına göre trigonosefali ve di er bazı dismorfik özellikler ile tanımlanmı tır (148). Yine brakisefali tanısı alan 4 nolu olgumuzda (Decipher ID: CMSI282908) ise 9p22.2 bölgesinde tespit etti imiz delesyon, decipher 891 no'lu olguda da (boyut olarak daha geni olmakla birlikte) gösterilmi tir (ekil 33). 891 no'lu olgu, veri tabanına göre klinik olarak trigonosefali ve entellektüel bozulma tarif edilmi tir (149).



ekil 32. 5 nolu hastada tespit edilen 7p14.1 bölgesindeki delesyonun yazılım programındaki ematik görünümü

Patient CMSI282904



Patient CMSI282908



ekil 33. Olgularımızda saptanan de i imlerin Decipher veri tabanındaki hastalar ile kar ıla tırılması.

Olgu No	Krom.	Band	Ba langıç (bp)	Biti (bp)	De i im Boyutu (bp)	Log	Prob Sayısı
1	2	2p11.2*	89.163.862	89.312.590	148.729	0,897	22
	8	8p23.1 *	7.169.490	7.753.583	584,094	-1,37	8
	14	14q32.33 *	106.331.956	106.810.907	478,952	3,116	61
	14	14q32.33 *	106.848.573	107.218.137	369,565	0,938	72
	15	15q11.1-q11.2*	20.481.702	22.756.709	2.275.008	-0,9	62
2	1	1p21.1	104.098.248	104.211.056	112,809	1,09	10
	7	7p14.1 *	38.296.176	38.393.721	97,546	-0,616	20
	8	8p11.22 *	39.234.992	39.386.158	151,167	4,018	28
	9	9p12-p11.2	43.590.080	47.212.417	3.622.338	0,716	8
	14	14q11.2 *	19.728.641	20.420.849	692,204	0,938	31
	14	14q32.33 *	106.331.956	106.552.084	220,129	2,336	30
	14	14q32.33 *	106.632.343	106.966.454	334,112	0,709	53
22	22q11.22 *	23.050.410	23.245.888	195,479	3,026	51	
4	2	2p11.2*	89.135.619	89.312.590	176.972	1,05	27
	9	9p22.2	17.167.590	17.216.453	48,864	-1,026	9
	10	10q11.22	46.971.947	47.702.587	730,941	0,774	54
	10	10q26.3	135.252.327	135.378.761	126,435	-0,907	24
	14	14q11.2*	19.376.762	20.420.849	1.044.088	0,994	35
	14	14q32.33*	106.331.956	106.552.084	220,129	2,531	30
	14	14q32.33 *	106.632.343	106.966.454	334,112	0,782	53
	22	22q11.22 *	23.056.562	23.245.888	189,327	2,936	50
5	2	2p11.2*	89.135.619	89.312.590	176.972	0,951	27
	4	4q13.2*	69.387.056	69.483.277	96,222	0,881	12
	7	7p14.1 *	38.296.176	38.393.721	77,368	-0,739	17
	14	14q11.2 *	19.376.762	20.420.849	1.044.088	1,175	35
	14	14q32.33 *	106.331.956	106.966.454	634,499	1,014	86
	15	15q11.1-q11.2*	20.432.851	22.578.630	2.145.780	1,641	62
6	3	3p14.2	60.367.507	60.515.801	148,295	-0,852	30
	5	5q33.1	151.231.557	151.547.865	316,309	-1,087	48
	8	8p23.1 *	7.239.491	7.753.583	514,093	-1,366	7
	10	10q11.22	46.968.072	47.596.519	628,448	-1,154	38
	14	14q32.33*	106.331.956	106.810.907	478,952	3,32	61
7	2	2p11.2*	89.135.619	89.312.590	176.972	1,123	27
	8	8p11.22*	39.234.992	39.386.158	151,167	4,005	28
	14	14q11.2 *	19.728.641	20.420.849	692,209	0,967	31
	14	14q32.33 *	106.331.956	106.966.454	634,499	1,162	86
	22	22q11.22 *	23.056.562	23.245.888	189,327	3,021	50
8	2	2p11.2*	89.135.619	89.312.590	176.972	1,357	27
	3	3p26.1	4.053.328	4.153.829	100,502	0,875	21
	4	4q13.2*	69.387.056	69.483.277	96,222	0,942	12
	7	7p14.1*	38.291.807	38.373.543	81,737	-0,837	18
	8	8p11.22*	39.234.992	39.386.158	151,167	4,34	28
	22	22q11.22*	23.056.562	23.245.888	189,327	3,354	50

Tablo 8. Olguların submikroskopik de i klik gösteren bölgeleri ve özellikleri

*: Bu bölgelerdeki de i imler birden fazla hastada görülmü tür.

5. TARTI MA

Son yıllarda kraniosinositozlu hastaların büyük bir ço unlu unda kromozomal yeniden düzenlenmeler tanımlanmıştır. Sütür gelişimi ve kraniosinositozun aday lokusları ve genlerinin tanımlanmasında kromozomal anomalilerin kullanımı özellikle kromozomal yeniden düzenlenmenin tipi, klinik bulguların eksik penetransı ve kromozomal anomali başına düzen vakaların az sayıda olması nedeniyle kolay olmamıştır. Ancak son yıllarda önemli gelişmeler olmuş ve birçok yeni aday bölge tespit edilmiştir.

Hemen hemen tüm kromozomları içeren kromozomal de i iklikler çok geni bir yelpazede sendromik kraniosinositozlu hastalarda rapor edilmiştir. Birkaç kromozomal de i ikler hariç olmak üzere (9p24- p21 ve 11q23- q25 gibi), diğer kromozomal de i iklikler genelde sadece 1 vakada tanımlanmıştır (43). Kromozomal anomalilerin kapsamlı ve dikkate değer çe itlili i bu malformasyonun oldukça geni heterojenite gösterdiğini belirlemektedir ve kraniosinositozun moleküler nedeninin birçok kromozomal bölgedeki genlerle ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır.

Bu kadar kromozomal çalışması olmasına rağmen konvansiyonel sitogenetik yöntemlerin önemli kısıtlamaları bulunmaktadır. Bu yöntemlerin en önemli kısıtlaması ise 5-10 Mb altındaki kromozomal de i imleri tespit etmeye olanak sağlamamalarıdır. Bu yüzden son yıllarda kraniosinositoz ve diğer birçok hastalığı ara tırmak için aCGH gibi yüksek rezolüsyonlu teknolojilerin kullanımı sayesinde tasarım farklılıklarında göz önünde bulunduruldu unda 100-200 baza kadar olan de i imleri tespit etmeye olanak sağlamaktadır. Kromozomal yeniden düzenlenmelerin birçok türü tarif edilmiş olmasına rağmen duplikasyonları takiben en yaygın görülen tip delesyonlardır. aCGH gibi yüksek rezolüsyonlu tekniklerin kullanımı ile aynı kromozomal bölgede bulunan silinme veya duplikasyonları içeren ve çok karma ık olabilen düzenlenmeler gösterilebilmektedir (125, 150, 151).

Bizim çalışmamızda ise;

Sendromik hastalarımızdan CFNS tanılı olgumuzda EFNB1 geninde 2. ekzonda tespit ettiğimiz yeni tanımlanmamış yanlış anlamlı mutasyonun protein konfigürasyonunu de i tirdi i ve patolojik oldu uda do rulandı. Hastamızda bulunan ek iskelet anomalisi (duplike ayak baş parma ı) literatüre bakıldığında CFNS hastalarına e lik eden nadir bir bulgu olarak görüldü (152). İlginç bir şekilde literatürdeki CFNS'e

e lik eden duplike ba parmak vakaları incelendi inde tüm vakalardaki mutasyonların genin ilk 2 ekzonunda tespit edildi i görüldü.

Apert sendromu tanılı di er hastamızda ise FGFR2 geninde S252W muatasyonu tespit edildi. Bu mutasyonun Apert sendromlu hastalarda en sık görülen mutasyon oldu u bilinmektedir.

Nonsendromik hastalarımızdan Plagiosefali tanısı alan 1. olgumuza uygulanan aCGH sonucunda; 8p23.1 bölgesinde 584,094 bp uzunlu unda delesyon tespit edildi. Bu bölgede DEFB103A, FAM90A7, FAM90A14, FAM90A13, FAM90A19, FAM90A18, FAM90A8, FAM90A9, FAM90A10, FAM66B, DEFB109P1B, ZNF705G, DEFB4B, DEFB103B, SPAG11B, DEFB104B, DEFB104A, DEFB106B, DEFB106A, DEFB105B, DEFB105A, DEFB107A, DEFB107B, SPAG11A, DEFB4A genleri bulunmaktadır. DEFB103A geninin fetal akci er dokusunda ekspresyonunun IL1B yi artırarak mikroorganizmalara kar ı savunma sisteminde rol aldı ı bulunmu tur (153). FAM90A ailesi ile ilgili tespit edilmi bir fonksiyon henüz bilinmemektedir. 14q32.33 bölgesinde sırasıyla 478,952 bp ve 369,565 bp uzunlu unda amplifikasyonlar tespit ettik. Bu bölgede KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA0021 genleri bulunmaktadır. KIAA0125 geninin geli msel nöral yollarda NEUROG2 genine kar ıt bir ili ki halinde oldu u ve Alzheimer hastalı ı ile ili kisinin olabilece ini öne süren bir çalı ma mevcuttur (154). A disintegrin ve A metalloproteaz(ADAM) ailesinin bir üyesi olan ADAM6 geninin ise sperm fonksiyonları, sperm-yumurta etkile iminde ili kili oldu unu gösteren bir çalı ma mevcuttur (155). NCRNA00226 ve NCRNA0021 ise RNA kodlamayan genler olarak biliniyor ve u ana kadar fonksiyonları ile ilgili yapılan bir çalı ma bulunmamaktadır. 15q11.1-q11.2 bölgesinde 2,275,008 bp uzunlu unda bir delesyon tespit ettik. Bu bölgede BCL8, HERC2P3, GOLGA6L6, GOLGA8C, POTE, NF1P1, LOC646214, CXADRP2, LOC727924, OR4M2, OR4N4, OR4N3P, RREP3, GOLGA8DP, GOLGA6L1 genleri bulunmaktadır. BCL8 geninin diffüz large cell lenfoma ile olan ili kisi iyi bilinmemektedir (156). GOLGA6L6 geni golgi kompleksinde bulunan GOLGA6 genine yapıca benzerlik gösterir. Golgi kompleksinde transportta görev alan GOLGA6 geninin germ hücre farklılaşmasında belli bir dönem seminifer tübüllerinden ifade edildi i bildirilmi tir (69). POTE, POTE ankrin ailesinin bir üyesidir. Prostat, over, testis, plasenta dokularında ifade edilen bir gen ailesidir. fade edildi i dokularda önemli bir rolü oldu u dü ünülmektedir (157). OR4M2, LOC727924, OR4N4, OR4N3P genleri olfaktör reseptör gen ailesinin üyeleridir. Olfaktör reseptörleri koku algısını tetikleyen nöronal yanıtı ba latmak için

burundaki koku verici molekülleri ile etkile im halindedir. Genomda bulunan en büyük gen ailesidir. Ayrıca OR4M2 geni ile ilgili olarak literatürde otizm spektrum bozukluklarında rolü olabilece ini belirten bir çalı ma mevcuttur (158). Bu bölgede bulunan di er genlerin fonksiyonu ile ilgili bir bilgiye rastlanmamı tır.

Plagiosefali tanılı 2. Olgumuzda 1p21.1 bölgesinde 112,809 bp uzunlu unda amplifikasyon tespit ettik. Bu bölgede AMY2B, AMY2A, AMY1A, AMY1C, AMY1B ve LOC648740 genleri bulunmaktadır. Amilazlar oligosakkaridlerin ve polisakkardilerin 1,4-alfa glukozid ba larını hidrolize eder ve ni asta ve glikojenin sindiriminin ilk a masında salgılanan proteinlerdir (159). nsan genomunda birçok amilaz gen ailesi bulunmaktadır. LOC648740 ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanmadı. 7p14.1 bölgesinde 97,546 bp uzunlu unda bir delesyon tespit edildi. Bu bölgede TARP geni bulunmaktadır. Bu genin prostat, meme gibi bazı kanserle ili kisi biliniyor. Bir çalı mada ise izofreni ile ili kilendirilmi tir (160). 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp uzunlu unda bir amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede ADAM5P VE ADAM3A genleri bulunmaktadır. Gliomalarda ADAM3A geninin homozigot kaybı gösterilmi tir (161). 9p12-p11.2 bölgesinde 3,622,338 bp uzunlu unda bir amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede FAM75A6, CNTNAP3B, FAM27C, FAM27A, KGFLP1 genleri bulunmaktadır. KGFLP1 geni fibroblast growth factor 7 psödogeni olarakda bilinen fakat RNA kodlamayan bir gendir. imdiye dek bu genlerle ilgili ili ilendirilmi herhangi bir patoloji bulunamamı tır. 14q11.2 bölgesinde 692,209 bp uzunlu unda bir amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede POTEM, OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K2, OR4K5, OR4K1 genleri bulunmaktadır. POTEM geni POTE ankrin ailesinin bir üyesidir fakat fonksiyonu bilinmemektedir. Di er genler yukarıda da anlatılan Olfaktör reseptör gen ailesinin üyeleridir. 1. Olgumuzda oldu u gibi yine 14q32.33 bölgesinde sırasıyla 220,129bp ve 334,112bp uzunlu unda amplifikasyonlar tespit ettik. Bu bölgede KIAA0125, ADAM6, NCRNA00226, NCRNA0021 genleri bulunmaktadır. Yukarıda bu genlerin fonksiyonları anlatıldı. 2. Olgumuzda son olarak 22q11.22 bölgesinde 195,479bp uzunlu unda amplifikasyon tespit ettik. Bu bölgede MIR650 ve IGLL5 genleri bulunmaktadır. MIR650 geni MicroRNA'lardan biri olup çe itli kanserlerle ili kili oldu unu gösteren çalı malar mevcuttur (162, 163). IGLL5'in fonksiyonu henüz net olarak bilinmemektedir.

zole brakisefali tanılı 4. Olgumuzda 9p22.2 bölgesinde 48,864 bp uzunlu unda bir delesyon tespit edildi. Bu bölgede CNTLN geni bulunmaktadır. Bu gen sentrozomal bir gen olup henüz fonksiyonu bilinmemektedir. 10q11.22 bölgesinde PPYR1, ANXA8,

GPRIN2, LOC643650, LOC728643, ANXA8L1, FAM25C, FAM25G, FAM25B, AGAP9, LOC642826, FAM35B2, ANTXRL genleri bulunmakta. PPYR1 Y1 reseptör geni (%42 aminoasit uyumu) için en yüksek homolojiye sahip olan 375 aminoasitlik bir polipeptidi kodlar. RT-PCR kullanarak, PPYR1 reseptörünün beyin, koroner arter ve ileum da dahil olmak üzere birçok insan dokusunda eksprese olduğu gösterilmiştir. Fakat halen daha net fonksiyonu bilinmemektedir (159). ANXA8 geni evrimsel olarak korunmuş kalsiyum ve fosfolipid taşıyıcı proteinlerden anneksin ailesinin bir üyesini kodlamaktadır. Kodlanan protein tromboplastin spesifik kompleksi indirek olarak inhibe ederek bir antikoagülan olarak da işlev görebilir. Akut miyelositik lösemi ile ilişkisi bilinmektedir (164). Diğer genlerin fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemektedir. 10q26.3 bölgesinde 126,435 bp uzunluğunda bir delesyon tespit edildi. Bu bölgede CYP2E1, SYCE1, LOC619207 genleri bulunmakta. SYCE1'in mayozda sinaptonemal kompleks içerisinde olduğu bilinmektedir. CYP2E1 SitokromP450 ailesinin bir üyesi olup ilaç, hormon ve ksénobiyotik metabolize edilmesini sağlayan enzim kodlamaktadır. LOC619207 geninin fonksiyonu bilinmemektedir. 14q11.2 bölgesinde 1.044.088 bp uzunluğunda bir amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgede OR11H12, POTEK, POTEK, OR11H2, OR4Q3, OR4M1, OR4N2, OR4K2, OR4K5, OR4K1 genleri bulunmakta. POTEK ve POTEK genleri POTE ankrin ailesinin bir üyesidir fakat fonksiyonu bilinmemektedir. Diğer genler yukarıda da anlatılan Olfaktör reseptör gen ailesinin üyeleridir. Yine 1. ve 2. olgularımızda olduğu gibi 14q32.33 bölgesinde sırasıyla 220,129 ve 334,112 bp uzunluklarında amplifikasyonlar tespit edildi. Son olarakta yine 2. Olgumuzda gözlenen 22q11.22 bölgesinde 189.327 bp uzunluğunda bir amplifikasyon tespit edildi.

Anterior plagiosefali tanılı 5. Olgumuzda 4q13.2 bölgesinde 96,222 bp uzunluğunda amplifikasyon tespit ettik. Bu bölgede UGT2B17, UGT2B15 genleri bulunmaktadır. Bu genler UDP-glikoziltransferaz gen ailesinin üyeleridir. Bu genler potansiyel olarak toksik olan ksénobiyotiklerin ve endojen bileşiklerin eliminasyonu ve konjugasyonunda major rol oynarlar. Ayrıca endojen östrojen ve androjenlerinde glukuronidasyonunu katalize eder. UGT2B17'nin kopya sayısı deşikliklerinin osteoporoz ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmada mevcuttur(165). Bu olguda 2. Olguda da gözlenen 7p14.1 bölgesinde 77,368 bp uzunluğunda delesyon tespit edildi. Yine 2. ve 4. Olgumuzda tespit edilen 14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 1,044,088 bp ve 634,499 bp uzunluklarında amplifikasyonlar ve 1. Olgumuzda da tespit edilen 15q11.1-q11.2 bölgesinde 2,145,780 bp uzunluğunda amplifikasyon tespit edildi.

Brakisefali tanı 6. Olgumuzda 3p14.2 bölgesinde 148,295 bp uzunlu unda bir delesyon tespit ettik. Bu bölgede FHIT geni yer almakta. Bu gen histidin triad gen ailesinin bir üyesidir ve pürin metabolizmasında yer alan 5'5''P1,P3-trifosfat hidrolazı kodlar. Bu gen 3. Kromozomdaki ortak kırılma bölgesi olan FRA3Byi kapsar, bu genin anormal transkripti ve translokasyonları karsinogen indüklü hasara yol açabilir. Bu genin anormal transkriptleri özefagus, mide ve kolon kanserleri gibi çe itli kanserlerin yakla ık yarısında bulunmu tur (166). 5q33.1 bölgesinde 316,309 bp uzunlu unda bir delesyon tespit ettik. Bu bölgede GLRA1 geni yer almaktadır. Bu gen bir ligand kapılı klor kanalı olan glisin reseptörünün alfa 1 subunitini kodlar. Bu reseptör spinal kord ve merkezi sinir sisteminin di er bölgelerinde postsinaptik inhibisyona aracılık eder (167). Bu gen defektlerinde hiperpleksi veya di er adıyla Startle hastalı ı olu ur (168). Yine 8p23.1 bölgesinde 514,093 bp uzunlu unda bir delesyon tespit edildi. Bu bölgedeki delesyon 1. Olgumuzda da tespit edilmi ti. Yine 10q11.22 bölgesinde 628,448 bp uzunlu unda bir delesyon tespit edildi. Bu bölgedeki delesyon 4. Olgumuzda da tespit edilmi ti. Son olarak 1,2 ve 4. Olgularımızda da gözlenen 14q32.33 bölgesinde 478,952 bp uzunlu unda amplifikasyon tespit edildi.

zole brakisefali tanı 7. Olgumuzda 2. Olgumuzda da tespit edilen 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp uzunlu unda amplifikasyon, 1-2-4 ve 5. Olgularımızda tespit edilen 14q11.2 ve 14q32.33 bölgelerinde sırasıyla 692,209 ve 634,499 bp uzunluklarında amplifikasyonlar ve son olarak 4 nolu olgumuzda da saptanan 22q11.22 bölgesinde 189,327 bp uzunlu unda amplifikasyon tespit edildi,

Plagiosefali tanı 8. ve son olgumuzda ise yine 2 ve 5. Olgularımızda saptanan 7p14.1 bölgesinde 81,737 bp uzunlu unda delesyon, 5. Olgumuzda saptanan 4q13.2 bölgesinde 96,222 bp uzunlu unda amplifikasyon, yine 2. ve 7. Olgularımızda saptanan 8p11.22 bölgesinde 151,167 bp uzunlu unda amplifikasyon ve son olarak 2-4 ve 7. Olgularımızda saptanan 22q11.22 bölgesinde 189,327 bp uzunlu unda amplifikasyon tespit edildi.

Ayrıca 1, 4, 5, 7 ve 8. olgularda 2p11.2 bölgesinde amplifikasyon tespit edildi. Bu bölge veri tabanlarında incelendi inde gen içermemekle birlikte bu tip de i imlerin genomik instabiliteyi etkileyerek hastalıkların olu umunda etkili olabilece i öngörüldü.

Literatüre bakıldı nda kraniosinosis ile ilgili yapılan birçok aCGH çalı ması mevcuttur. Örne in;2007 yılında yapılan bir çalı mada; Kompleks kraniosinosis (metopik, sagittal ve lambdoid sütürler) , prenatal ba langıçlı büyüme gerili i, geli me gerili i, fasyal dismorfizm, konjenital kalp defekti ve inguinal hernisi olan 6 aylık bir

erkek hastada genetik incelemeler yapılmı tır. Hastada konvansiyonel karyotip incelemesinde derivatif bir 5. kromozom tespit edilmi tir. Anne baba karyotipi normal bulunmu tur. Hastaya FISH analizi ile Kromozom 5 painting probe (Applied Spectral Imaging GmbH, Edingen Neckarhausen, Germany) kullanılarak analiz yapılmı ve di er kromozomlardan boya almadı ı, intrakromozomal yeniden düzenlenme oldu u tespit edilmi . Daha sonra 75Kb çözünürlüklü aCGH uygulanmı ve 5q35 bölgesinde duplikasyon oldu u tespit edilmi ayrıca MSX2 genini de içeren bölgenin FISH ile yapılan çalı mada ekstradan bir fazla kopyası oldu u tespit edilmi tir (169).

F S Jehee ve arkadaşları yaptıkları çalı mada 45 kraniosinosis hastasını konvansiyonel karyotip, subtelomerik MLPA ve tüm genom aCGH gibi çe itli yöntemler kullanarak incelemi ler bu hastalardan 9'unda konvansiyonel karyotip ile anormallikler saptanmı tır, 10 hastada submikroskopik de i iklikler saptanmı tır. 28 hastaya aCGH uygulanmı , toplam 12 hastada de i iklikler saptanmı ve bunlardan 2 tanesinde anlamlı ve kraniosinosis'e neden olabilecek de i iklikler tespit edilmi tir. Metopik sütün sinosis'e sahip bir hastada Xq22.3 bölgesinde 3.9-4.5Mb'lık duplikasyon, metopik ve bilateral koronal sinosis'e olan bir di er hastada Xp22.2 bölgesinde 0.9Mb'lık duplikasyon saptanmı tır (130).

Heather C. Mefford ve arkadaşları tüm genom aCGH kullanarak, tek sütün kraniosinosis'e sahip 187 hastayı submikroskopik delesyon ve duplikasyonlar için de erlendirmi lerdir, metopik sinosis ve hipodontisi bulunan iki etkilenen kuzende RUNX2 genini kapsayan 1.1Mb'lık duplikasyon tespit etmi lerdir (28).

W. Al-Hertani ve arkadaşları çok ciddi multisütural sinosis'e ve buna ba lı olarak artmı kafa içi basıncı olan, beyin yapılarının deplase oldu u ve kafatasında yo un erezyon gözlenen bir erkek infant bebekte FISH ve SNP microarray (Affymetrix SNP 6.0) kullanılarak 22q11.21 (chr22:17,256,416-19,941,337, hg18) bölgesinde 2.68Mb'lık delesyon saptamı lardır (170).

Ariana Kariminejad ve arkadaşları yaptıkları çalı mada metopik ve koronal sinosis'e ve dismorfik bulguları olan 1 ya ındaki erkek bir hastada konvansiyonel karyotip incelemesi ile 46,XX,add(2)(q37) kromozom kurulu u bulmu lar. Hastaya daha sonra ek olan kromozomal parçanın orjininin tespiti için 244k oligonükleotid aCGH yapmı lar ve sonucunda; 2q37→ter bölgesinde 2Mb'lık delesyon ve 5q34→ter bölgesinde 15Mb'lık duplikasyon tespit edilmi tir ve bu duplikasyon MSX2 geni dahil olmak üzere 70 geni içermektedir (125).

2011'de yapılan bir di er çalı mada daha önceden Fontaine–Farrioux sendromu ön tanısı ile takip edilen periventriküler nodüler heterotopi, kraniosinositozu, geli me gerili i ve multiple konjenital anomalileri olan 11 ya nda erkek bir hastada Mikroarray tabanlı kopya sayısı varyasyonu (CNV) analizi (Affymetrix 250 K SNP platformu) kullanılarak yapılan analiz sonucu Xp22.11 bölgesinde 300kb'lık bir intertisyal delesyon tespit edilmi tir. Bu delesyon 3 adet daha önceden fonksiyonu bilinen geni; ZFX (encoding Zinc finger protein, X-linked (ZFX)), PDK3 (encoding pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme 3 (PDK3)), ve PCYT1B (encoding phosphocholine cytidyltransferase B (PCYT1B) içermektedir. MLPA yöntemi ile yapılan do rulama analizi sonucunda; probandın bu delesyon için hemizigot, annenin heterozigot oldu u gösterilmi tir. Daha sonra X-inaktivasyon çalı ması yapılmı tir. Anne X inaktivasyonu ile birlikte yeni tanımlanan bu delesyonun hastanın fenotipine yol açtı ı gösterilmi fakat daha önce delesyona u rayan bu genlerin hiçbirinin bu fenotiple fonksiyonel bir ili kisi kurulamamı tir (171).

2012'de yayınlanan bir çalı mada; sa koronal sütür sinositozu ve buna e lik eden ellerde bilateral proksimal interfalengeal eklemlerde fleksiyon kontraktürleri, küçük ayaklar, lumbosakral dekstroskolyoz ve bilateral kalça çıkı ı gibi iskelet anomalileri olan 13 aylık bir erkek hastada Affymetrix Genom boyu nsan tek nükleotid polimorfizmi (SNP 6.0) paltformu kullanılarak array yapılmı tir. Sonuç olarak 12 farklı kromozom üzerinde 3Mb ve daha büyük 16 farklı “long contiguous stretches of homozygosity” (LCSH) bölgesi bulunmu tur. Fakat bu bölgelerde bulunan genlerle ilgili çalı ma yapılmamı (172).

2012'de yayınlanan bir ba ka çalı mada bilateral koronal sütür sinositozu, hipoplastik el ba parmakları, imperfore anüs, prenatal geli me gerili i ve dismorfik özelliklere sahip yenido an bir kız çocu unda klinik olarak Baller-Gerold sendromu dü ünülmü ve RECQL4 geni analizi yapılmı tir. Tam bu arada hastanın açıklanamayan hipokalsemileri olması nedeniyle FISH yöntemiyle 22q11.2 delesyonu bakılmı ve delesyon tespit edilmi tir, bu sonuç aCGH yöntemiyle de konfirme edilmi . Hastanın RECQL4 geni analizi negatif saptanmı tir. Sonuç olarak klinik olarak Baller-Gerold sendromu fenotipi olan hastalarda atipik bir prezantasyon olarak 22q11.2 delesyon spektrumunda ayırıcı tanıda akılda tutulması gerekti i belirtilmi tir (173).

Yine 2012'de yayınlanan bir çalı mada kraniosinositozu ve ek dismorfik özellikleri olan bir erkek ve bir kız hastada genetik analiz yapılmı . Erkek hastada metopik ve sagittal sütür sinositozu, kız hastada sol koronal ve sagittal sütür sinositozu

tespit edilmi tir. Hastalar Affymetrix 250K Nsp1 SNP array platformu kullanılarak analiz edilmi tir. Her iki hastada da Kromozom 2p15p16 bölgesinde sırasıyla 6.9 ve 6.8Mb'lık delesyon tespit edilmi . Literatürde daha önceden bu bölge bir mikrodelesyon sendromu olarak tanımlanmı olmasına rağmen tanımlanan hastalarda kraniosinosisoz tarif edilmemi tir. Çalışmada kompleks kraniosinosisozunda bu mikrodelesyon sendromunda incelenmesi gerektiği önerilmi tir (174).

Özet olarak; Çalışmaya katılan 6 hastada 14q32.33 bölgesinde amplifikasyon, 4 hastada 14q11.2 bölgesinde amplifikasyon, 4 hastada 22q11.22 bölgesinde amplifikasyon, 3 hastada 7p14.1 bölgesinde delesyon, 3 hastada 8p11.22 bölgesinde amplifikasyon tespit edildi. Bu bölgelerde bulunan genlerin kraniosinosisoz etiolojisinde önemli olabileceklerini düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

1. Ursitti F, Fadda T, Papetti L, Pagnoni M, Nicita F, Iannetti G, et al. Evaluation and management of nonsyndromic craniosynostosis. *Acta Paediatr.* 2011;100(9):1185-94.
2. Slater BJ, Lenton KA, Kwan MD, Gupta DM, Wan DC, Longaker MT. Cranial sutures: a brief review. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121(4):170e-8e.
3. Passos-Bueno MR, Serti Eacute AE, Jehee FS, Fanganiello R, Yeh E. Genetics of craniosynostosis: genes, syndromes, mutations and genotype-phenotype correlations. *Front Oral Biol.* 2008;12:107-43.
4. Gracia A, Arsuaga JL, Martinez I, Lorenzo C, Carretero JM, Bermudez de Castro JM, et al. Craniosynostosis in the Middle Pleistocene human Cranium 14 from the Sima de los Huesos, Atapuerca, Spain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009 21;106(16):6573-8.
5. Braverman IM, Redford DB, Mackowiak PA. Akhenaten and the strange physiques of Egypt's 18th dynasty. *Ann Intern Med.* 2009 21;150(8):556-60.
6. Wang HS, Kuo MF. Nan-ji-xian-weng: the God of Longevity. *Childs Nerv Syst.* 2010;26(1):1-2.
7. Cohen MM. History, terminology, and classifications of craniosynostosis. In: Cohen MM, MacLean RE, editors. *Craniosynostosis: Diagnosis, Evaluation, and Management.* New York, Oxford Oxford University Press; 2000. p. 103-11.
8. Di Rocco C. Craniosynostosis in old Greece: political power and physical deformity. *Childs Nerv Syst.* 2005;21(10):859.
9. Vesalius A. *De humanis corporis fabrica* Oporinus, Basel 1543.
10. Sömmering S. *Vom Baue des menschlichen Körpers. Erster Teil: Knochenlehre* Warentrapp & Brenner,. Frankfurt/M 1791.
11. Virchow R. Über den Cretinismus, namentlich in Franken, und über pathologische Schädelformen. *Verhandl Phys Med Ges Würzburg* 1851;2::230–70.
12. Apert E. De l'acrocéphalosyndactylie. *Bull Soc Méd Paris* 1906;23:1310– 30.
13. Wheaton S. Two specimens of congenital cranial deformity in infants associated with fusion of the fingers and toes. *Trans Path Soc London* 1894;45:238–41.
14. Wilkie AO, Slaney SF, Oldridge M, Poole MD, Ashworth GJ, Hockley AD, et al. Apert syndrome results from localized mutations of FGFR2 and is allelic with Crouzon syndrome. *Nat Genet.* 1995;9(2):165-72.
15. Crouzon O. Dysostose cranio- faciale héréditaire. *Bull Soc Méd Paris* 1912;33:545– 55.
16. Jabs EW, Li X, Scott AF, Meyers G, Chen W, Eccles M, et al. Jackson-Weiss and Crouzon syndromes are allelic with mutations in fibroblast growth factor receptor 2. *Nat Genet.* 1994;8(3):275-9.
17. Saethre H. Ein Beitrag zum Turmschädelproblem (Pathogenese, Erbllichkeit

und Symptomatologie). *Dtsch Z Nervenheilk* 1931;117:533– 55.

18. Chotzen F. Eine eigenartige familiäre Entwicklungsstörung (Akrocephalosyndaktylie, Dysostosis craniofacialis und Hypertelorismus). *Monatsschr Kinderheilk*. 1932;55:97– 122.
19. el Ghouzzi V, Le Merrer M, Perrin-Schmitt F, Lajeunie E, Benit P, Renier D, et al. Mutations of the TWIST gene in the Saethre-Chotzen syndrome. *Nat Genet*. 1997;15(1):42-6.
20. Howard TD, Paznekas WA, Green ED, Chiang LC, Ma N, Ortiz de Luna RI, et al. Mutations in TWIST, a basic helix-loop-helix transcription factor, in Saethre-Chotzen syndrome. *Nat Genet*. 1997;15(1):36-41.
21. Muenke M, Schell U, Hehr A, Robin NH, Losken HW, Schinzel A, et al. A common mutation in the fibroblast growth factor receptor 1 gene in Pfeiffer syndrome. *Nat Genet*. 1994;8(3):269-74.
22. Lajeunie E, Ma HW, Bonaventure J, Munnich A, Le Merrer M, Renier D. FGFR2 mutations in Pfeiffer syndrome. *Nat Genet*. 1995;9(2):108.
23. Rutland P, Pulleyn LJ, Reardon W, Baraitser M, Hayward R, Jones B, et al. Identical mutations in the FGFR2 gene cause both Pfeiffer and Crouzon syndrome phenotypes. *Nat Genet*. 1995 Feb;9(2):173-6.
24. Schell U, Hehr A, Feldman GJ, Robin NH, Zackai EH, de Die-Smulders C, et al. Mutations in FGFR1 and FGFR2 cause familial and sporadic Pfeiffer syndrome. *Hum Mol Genet*. 1995;4(3):323-8.
25. Kan SH, Elanko N, Johnson D, Cornejo-Roldan L, Cook J, Reich EW, et al. Genomic screening of fibroblast growth-factor receptor 2 reveals a wide spectrum of mutations in patients with syndromic craniosynostosis. *Am J Hum Genet*. 2002;70(2):472-86.
26. Bellus GA, Gaudenz K, Zackai EH, Clarke LA, Szabo J, Francomano CA, et al. Identical mutations in three different fibroblast growth factor receptor genes in autosomal dominant craniosynostosis syndromes. *Nat Genet*. 1996 Oct;14(2):174-6.
27. Muenke M, Gripp KW, McDonald-McGinn DM, Gaudenz K, Whitaker LA, Bartlett SP, et al. A unique point mutation in the fibroblast growth factor receptor 3 gene (FGFR3) defines a new craniosynostosis syndrome. *Am J Hum Genet*. 1997;60(3):555-64.
28. Mefford HC, Shafer N, Antonacci F, Tsai JM, Park SS, Hing AV, et al. Copy number variation analysis in single-suture craniosynostosis: multiple rare variants including RUNX2 duplication in two cousins with metopic craniosynostosis. *Am J Med Genet A*. 2010;152A(9):2203-10.
29. Aviv RI, Rodger E, Hall CM. Craniosynostosis. *Clin Radiol*. 2002;57(2):93-102.
30. Delashaw JB, Persing JA, Broaddus WC, Jane JA. Cranial vault growth in craniosynostosis. *J Neurosurg*. 1989;70(2):159-65.
31. Opperman LA. Cranial sutures as intramembranous bone growth sites. *Dev Dyn*. 2000;219(4):472-85.
32. Furtwangler JA, Hall SH, Koskinen-Moffett LK. Sutural morphogenesis in the mouse calvaria: the role of apoptosis. *Acta Anat (Basel)*. 1985;124(1-2):74-80.

33. Morriss-Kay GM, Wilkie AO. Growth of the normal skull vault and its alteration in craniosynostosis: insights from human genetics and experimental studies. *J Anat.* 2005;207(5):637-53.
34. Noden DM. Interactions and fates of avian craniofacial mesenchyme. *Development.* 1988;103 Suppl:121-40.
35. Le Lievre CS. Participation of neural crest-derived cells in the genesis of the skull in birds. *J Embryol Exp Morphol.* 1978;47:17-37.
36. Jiang X, Iseki S, Maxson RE, Sucov HM, Morriss-Kay GM. Tissue origins and interactions in the mammalian skull vault. *Dev Biol.* 2002 1;241(1):106-16.
37. Ellenbogen RG, Gruss JS, Cunningham ML. Update on craniofacial surgery: the differential diagnosis of lambdoid synostosis/posterior plagiocephaly. *Clin Neurosurg.* 2000;47:303-18.
38. Kabbani H, Raghuvver TS. Craniosynostosis. *Am Fam Physician.* 2004 15;69(12):2863-70.
39. Choen M. Craniosynostosis: diagnosis, evaluation and management. New-York: Oxford University Press. 2000.
40. David L, Glazier S, Pyle J, Thompson J, Argenta L. Classification system for sagittal craniosynostosis. *J Craniofac Surg.* 2009;20(2):279-82.
41. Chumas PD, Cinalli G, Arnaud E, Marchac D, Renier D. Classification of previously unclassified cases of craniosynostosis. *J Neurosurg.* 1997;86(2):177-81.
42. Rice DP. Clinical features of syndromic craniosynostosis. *Front Oral Biol.* 2008;12:91-106.
43. Craniosynostoses: Molecular Genetics, Principles of Diagnosis, and Treatment. M. Muenke WK, H. Collmann, B.D. Solomon, editor: Karger Medical and Scientific Publishers; 2011.
44. Johnson D, Horsley SW, Moloney DM, Oldridge M, Twigg SR, Walsh S, et al. A comprehensive screen for TWIST mutations in patients with craniosynostosis identifies a new microdeletion syndrome of chromosome band 7p21.1. *Am J Hum Genet.* 1998;63(5):1282-93.
45. Zackai EH, Stolle CA. A new twist: some patients with Saethre-Chotzen syndrome have a microdeletion syndrome. *Am J Hum Genet.* 1998;63(5):1277-81.
46. Gripp KW, Zackai EH, Stolle CA. Mutations in the human TWIST gene. *Hum Mutat.* 2000;15(5):479.
47. Chun K, Teebi AS, Jung JH, Kennedy S, Laframboise R, Meschino WS, et al. Genetic analysis of patients with the Saethre-Chotzen phenotype. *Am J Med Genet.* 2002 15;110(2):136-43.
48. de Heer IM, de Klein A, van den Ouweland AM, Vermeij-Keers C, Wouters CH, Vaandrager JM, et al. Clinical and genetic analysis of patients with Saethre-Chotzen syndrome. *Plast Reconstr Surg.* 2005;115(7):1894-902; discussion 903-5.

49. Murdoch-Kinch CA, Ward RE. Metacarpophalangeal analysis in Crouzon syndrome: additional evidence for phenotypic convergence with the acrocephalosyndactyly syndromes. *Am J Med Genet.* 1997 28;73(1):61-6.
50. Cinalli G, Renier D, Sebag G, Sainte-Rose C, Arnaud E, Pierre-Kahn A. [Chiari "malformation" in Crouzon syndrome]. *Arch Pediatr.* 1996;3(5):433-9.
51. Hall BD, Cadle RG, Golabi M, Morris CA, Cohen MM, Jr. Beare-Stevenson cutis gyrata syndrome. *Am J Med Genet.* 1992 1;44(1):82-9.
52. Yacubian-Fernandes A, Palhares A, Giglio A, Gabarra RC, Zanini S, Portela L, et al. Apert syndrome: factors involved in the cognitive development. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005;63(4):963-8.
53. Quintero-Rivera F, Robson CD, Reiss RE, Levine D, Benson CB, Mulliken JB, et al. Intracranial anomalies detected by imaging studies in 30 patients with Apert syndrome. *Am J Med Genet A.* 2006 15;140(12):1337-8.
54. Renier D, Arnaud E, Cinalli G, Sebag G, Zerah M, Marchac D. Prognosis for mental function in Apert's syndrome. *J Neurosurg.* 1996;85(1):66-72.
55. Cohen MM, Jr., Kreiborg S. Visceral anomalies in the Apert syndrome. *Am J Med Genet.* 1993 15;45(6):758-60.
56. Ferreira JC, Carter SM, Bernstein PS, Jabs EW, Glickstein JS, Marion RW, et al. Second-trimester molecular prenatal diagnosis of sporadic Apert syndrome following suspicious ultrasound findings. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;14(6):426-30.
57. Slaney SF, Oldridge M, Hurst JA, Moriss-Kay GM, Hall CM, Poole MD, et al. Differential effects of FGFR2 mutations on syndactyly and cleft palate in Apert syndrome. *Am J Hum Genet.* 1996;58(5):923-32.
58. Van Dissel-Emiliani FM, De Boer-Brouwer M, De Rooij DG. Effect of fibroblast growth factor-2 on Sertoli cells and gonocytes in coculture during the perinatal period. *Endocrinology.* 1996;137(2):647-54.
59. Schweitzer DN, Graham JM, Jr., Lachman RS, Jabs EW, Okajima K, Przylepa KA, et al. Subtle radiographic findings of achondroplasia in patients with Crouzon syndrome with acanthosis nigricans due to an Ala391Glu substitution in FGFR3. *Am J Med Genet.* 2001 1;98(1):75-91.
60. Saavedra D, Richieri-Costa A, Guion-Almeida ML, Cohen MM, Jr. Craniofrontonasal syndrome: study of 41 patients. *Am J Med Genet.* 1996 11;61(2):147-51.
61. Anyane-Yeboah K, Gunning L, Bloom AD. Baller-Gerold syndrome craniosynostosis-radial aplasia syndrome. *Clin Genet.* 1980;17(2):161-6.
62. Van Maldergem L, Siitonen HA, Jalkh N, Chouery E, De Roy M, Delague V, et al. Revisiting the craniosynostosis-radial ray hypoplasia association: Baller-Gerold syndrome caused by mutations in the RECQL4 gene. *J Med Genet.* 2006;43(2):148-52.
63. Seto ML, Lee SJ, Sze RW, Cunningham ML. Another TWIST on Baller-Gerold syndrome. *Am J Med Genet.* 2001 15;104(4):323-30.
64. Jones KL. *Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation.* Sixth Edition ed: Elsevier Saunders; 2006.

65. Bottero L, Cinalli G, Labrune P, Lajeunie E, Renier D. Antley-Bixler syndrome. Description of two new cases and a review of the literature. *Childs Nerv Syst.* 1997;13(5):275-80; discussion 81.
66. Warman ML, Mulliken JB, Hayward PG, Muller U. Newly recognized autosomal dominant disorder with craniosynostosis. *Am J Med Genet.* 1993 Jun 1;46(4):444-9.
67. Jabs EW, Muller U, Li X, Ma L, Luo W, Haworth IS, et al. A mutation in the homeodomain of the human MSX2 gene in a family affected with autosomal dominant craniosynostosis. *Cell.* 1993 5;75(3):443-50.
68. Jenkins D, Seelow D, Jehee FS, Perlyn CA, Alonso LG, Bueno DF, et al. RAB23 mutations in Carpenter syndrome imply an unexpected role for hedgehog signaling in cranial-suture development and obesity. *Am J Hum Genet.* 2007;80(6):1162-70.
69. Florisson JM, Verkerk AJ, Huigh D, Hoogeboom AJ, Swagemakers S, Kremer A, et al. Boston type craniosynostosis: report of a second mutation in MSX2. *Am J Med Genet A.* 2013;161(10):2626-33.
70. Boulet SL, Rasmussen SA, Honein MA. A population-based study of craniosynostosis in metropolitan Atlanta, 1989-2003. *Am J Med Genet A.* 2008 15;146A(8):984-91.
71. Collmann H, Sorensen N, Krauss J. Consensus: trigonocephaly. *Childs Nerv Syst.* 1996;12(11):664-8.
72. Lajeunie E, Crimmins DW, Arnaud E, Renier D. Genetic considerations in nonsyndromic midline craniosynostoses: a study of twins and their families. *J Neurosurg.* 2005;103(4 Suppl):353-6.
73. van Aalst JA, Schultz G, Eppley BL. Craniosynostosis anomalies in twins. *J Craniofac Surg.* 2005;16(4):696-9.
74. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, Bigham AW, Tabor HK, Dent KM, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder. *Nat Genet.* 2010;42(1):30-5.
75. Roach JC, Glusman G, Smit AF, Huff CD, Hubley R, Shannon PT, et al. Analysis of genetic inheritance in a family quartet by whole-genome sequencing. *Science.* 2010 30;328(5978):636-9.
76. Stein CM, Elston RC. Finding genes underlying human disease. *Clin Genet.* 2009;75(2):101-6.
77. Lasky-Su J, Won S, Mick E, Anney RJ, Franke B, Neale B, et al. On genome-wide association studies for family-based designs: an integrative analysis approach combining ascertained family samples with unselected controls. *Am J Hum Genet.* 2010 9;86(4):573-80.
78. Boyadjiev SA. Genetic analysis of non-syndromic craniosynostosis. *Orthod Craniofac Res.* 2007;10(3):129-37.
79. Thompson DN, Malcolm GP, Jones BM, Harkness WJ, Hayward RD. Intracranial pressure in single-suture craniosynostosis. *Pediatr Neurosurg.* 1995;22(5):235-40.

80. Florisson JM, van Veelen ML, Bannink N, van Adrichem LN, van der Meulen JJ, Bartels MC, et al. Papilledema in isolated single-suture craniosynostosis: prevalence and predictive factors. *J Craniofac Surg.* 2010;21(1):20-4.
81. Collmann H, Sorensen N, Krauss J. Hydrocephalus in craniosynostosis: a review. *Childs Nerv Syst.* 2005;21(10):902-12.
82. Kapp-Simon KA, Speltz ML, Cunningham ML, Patel PK, Tomita T. Neurodevelopment of children with single suture craniosynostosis: a review. *Childs Nerv Syst.* 2007;23(3):269-81.
83. Lajeunie E, Le Merrer M, Bonaiti-Pellie C, Marchac D, Renier D. Genetic study of scaphocephaly. *Am J Med Genet.* 1996 29;62(3):282-5.
84. Butzelaar L, Breugem CC, Hanlo P, Mink van der Molen AB. Is isolated sagittal synostosis an isolated condition? *J Craniofac Surg.* 2009;20(2):399-401.
85. Lajeunie E, Le Merrer M, Marchac D, Renier D. Syndromal and nonsyndromal primary trigonocephaly: analysis of a series of 237 patients. *Am J Med Genet.* 1998 Jan 13;75(2):211-5.
86. Lajeunie E, Barcik U, Thorne JA, El Ghouzzi V, Bourgeois M, Renier D. Craniosynostosis and fetal exposure to sodium valproate. *J Neurosurg.* 2001;95(5):778-82.
87. Kini U, Hurst JA, Byren JC, Wall SA, Johnson D, Wilkie AO. Etiological heterogeneity and clinical characteristics of metopic synostosis: Evidence from a tertiary craniofacial unit. *Am J Med Genet A.* 2010;152A(6):1383-9.
88. Azimi C, Kennedy SJ, Chitayat D, Chakraborty P, Clarke JT, Forrest C, et al. Clinical and genetic aspects of trigonocephaly: a study of 25 cases. *Am J Med Genet A.* 2003 1;117A(2):127-35.
89. van der Meulen J, van der Hulst R, van Adrichem L, Arnaud E, Chin-Shong D, Duncan C, et al. The increase of metopic synostosis: a pan-European observation. *J Craniofac Surg.* 2009;20(2):283-6.
90. Di Rocco F, Arnaud E, Renier D. Evolution in the frequency of nonsyndromic craniosynostosis. *J Neurosurg Pediatr.* 2009;4(1):21-5.
91. Bottero L, Lajeunie E, Arnaud E, Marchac D, Renier D. Functional outcome after surgery for trigonocephaly. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102(4):952-8; discussion 9-60.
92. Jehee FS, Johnson D, Alonso LG, Cavalcanti DP, de Sa Moreira E, Alberto FL, et al. Molecular screening for microdeletions at 9p22-p24 and 11q23-q24 in a large cohort of patients with trigonocephaly. *Clin Genet.* 2005;67(6):503-10.
93. Jehee FS, Alonso LG, Cavalcanti DP, Kim C, Wall SA, Mulliken JB, et al. Mutational screening of FGFR1, CER1, and CDON in a large cohort of trigonocephalic patients. *Cleft Palate Craniofac J.* 2006;43(2):148-51.
94. Gosain AK, Steele MA, McCarthy JG, Thorne CH. A prospective study of the relationship between strabismus and head posture in patients with frontal plagiocephaly. *Plast Reconstr Surg.* 1996;97(5):881-91.
95. Arnaud E, Meneses P, Lajeunie E, Thorne JA, Marchac D, Renier D. Postoperative mental and morphological outcome for nonsyndromic brachycephaly. *Plast Reconstr Surg.* 2002 Jul;110(1):6-12; discussion 3.

96. Martinez-Lage JF, Poza M, Lluch T. Craniosynostosis in neural tube defects: a theory on its pathogenesis. *Surg Neurol.* 1996;46(5):465-9; discussion 9-70.
97. Mulliken JB, Vander Woude DL, Hansen M, LaBrie RA, Scott RM. Analysis of posterior plagiocephaly: deformational versus synostotic. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103(2):371-80.
98. Renier D, Lajeunie E, Arnaud E, Marchac D. Management of craniosynostoses. *Childs Nerv Syst.* 2000;16(10-11):645-58.
99. Dhamcharee V, Boles RG. FGFR mutations and plagiocephaly. *J Craniofac Surg.* 2008;19(1):290-1.
100. Reddy K, Hoffman H, Armstrong D. Delayed and progressive multiple suture craniosynostosis. *Neurosurgery.* 1990;26(3):442-8.
101. Neuhauser G, Kaveggia EG, Opitz JM. Studies of malformation syndromes of man XXXIX: a craniosynostosis-craniofacial dysostosis syndrome with mental retardation and other malformations: "craniofacial dyssynostosis". *Eur J Pediatr.* 1976 16;123(1):15-28.
102. Rhodes JL, Kolar JC, Fearon JA. Mercedes Benz pattern craniosynostosis. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(1):299-304.
103. Hing AV, Click ES, Holder U, Seto ML, Vessey K, Gruss J, et al. Bilateral lambdoid and sagittal synostosis (BLSS): a unique craniosynostosis syndrome or predictable craniofacial phenotype? *Am J Med Genet A.* 2009 May;149A(5):1024-32.
104. Renier D, Cinalli G, Lajeunie E, Arnaud E, Marchac D. [Oxycephaly, a severe craniosynostosis. Apropos of a series of 129 cases]. *Arch Pediatr.* 1997 Aug;4(8):722-9.
105. Vinchon M, Pellerin P, Baroncini M, Wolber A, Dhellemmes P. Non-syndromic oxycephaly and brachycephaly: a review. *Childs Nerv Syst.* 2012;28(9):1439-46.
106. Higginbottom MC, Jones KL, James HE. Intrauterine constraint and craniosynostosis. *Neurosurgery.* 1980;6(1):39-44.
107. Lewanda AF, Cohen MM, Jr., Jackson CE, Taylor EW, Li X, Beloff M, et al. Genetic heterogeneity among craniosynostosis syndromes: mapping the Saethre-Chotzen syndrome locus between D7S513 and D7S516 and exclusion of Jackson-Weiss and Crouzon syndrome loci from 7p. *Genomics.* 1994 1;19(1):115-9.
108. Li X, Lewanda AF, Eluma F, Jerald H, Choi H, Alozie I, et al. Two craniosynostotic syndrome loci, Crouzon and Jackson-Weiss, map to chromosome 10q23-q26. *Genomics.* 1994 15;22(2):418-24.
109. Lenton KA, Nacamuli RP, Wan DC, Helms JA, Longaker MT. Cranial suture biology. *Curr Top Dev Biol.* 2005;66:287-328.
110. Lemonnier J, Hay E, Delannoy P, Lomri A, Modrowski D, Caverzasio J, et al. Role of N-cadherin and protein kinase C in osteoblast gene activation induced by the S252W fibroblast growth factor receptor 2 mutation in Apert craniosynostosis. *J Bone Miner Res.* 2001;16(5):832-45.

111. Wilkie AO. Craniosynostosis: genes and mechanisms. *Hum Mol Genet.* 1997;6(10):1647-56.
112. Hajihosseini MK, Wilson S, De Moerlooze L, Dickson C. A splicing switch and gain-of-function mutation in *FgfR2-IIIc* hemizygotes causes Apert/Pfeiffer-syndrome-like phenotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Mar 27;98(7):3855-60.
113. Neilson KM, Friesel RE. Constitutive activation of fibroblast growth factor receptor-2 by a point mutation associated with Crouzon syndrome. *J Biol Chem.* 1995 3;270(44):26037-40.
114. Delezoide AL, Benoist-Lasselin C, Legeai-Mallet L, Le Merrer M, Munnich A, Vekemans M, et al. Spatio-temporal expression of *FGFR 1, 2 and 3* genes during human embryo-fetal ossification. *Mech Dev.* 1998;77(1):19-30.
115. Roth DA, Gold LI, Han VK, McCarthy JG, Sung JJ, Wisoff JH, et al. Immunolocalization of transforming growth factor beta 1, beta 2, and beta 3 and insulin-like growth factor I in premature cranial suture fusion. *Plast Reconstr Surg.* 1997;99(2):300-9; discussion 10-6.
116. Roth DA, Longaker MT, McCarthy JG, Rosen DM, McMullen HF, Levine JP, et al. Studies in cranial suture biology: Part I. Increased immunoreactivity for TGF-beta isoforms (beta 1, beta 2, and beta 3) during rat cranial suture fusion. *J Bone Miner Res.* 1997;12(3):311-21.
117. Ma L, Golden S, Wu L, Maxson R. The molecular basis of Boston-type craniosynostosis: the Pro148-->His mutation in the N-terminal arm of the *MSX2* homeodomain stabilizes DNA binding without altering nucleotide sequence preferences. *Hum Mol Genet.* 1996;5(12):1915-20.
118. Vortkamp A, Franz T, Gessler M, Grzeschik KH. Deletion of *GLI3* supports the homology of the human Greig cephalopolysyndactyly syndrome (GCPS) and the mouse mutant extra toes (Xt). *Mamm Genome.* 1992;3(8):461-3.
119. Jabs EW. Toward understanding the pathogenesis of craniosynostosis through clinical and molecular correlates. *Clin Genet.* 1998;53(2):79-86.
120. Twigg SR, Kan R, Babbs C, Bochukova EG, Robertson SP, Wall SA, et al. Mutations of ephrin-B1 (*EFNB1*), a marker of tissue boundary formation, cause craniofrontonasal syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 8;101(23):8652-7.
121. Wieland I, Jakubiczka S, Muschke P, Cohen M, Thiele H, Gerlach KL, et al. Mutations of the ephrin-B1 gene cause craniofrontonasal syndrome. *Am J Hum Genet.* 2004;74(6):1209-15.
122. Rieckmann T, Zhuang L, Fluck CE, Trueb B. Characterization of the first *FGFRL1* mutation identified in a craniosynostosis patient. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1792(2):112-21.
123. Ornitz DM. FGFs, heparan sulfate and FGFRs: complex interactions essential for development. *Bioessays.* 2000;22(2):108-12.
124. Hollway GE, Suthers GK, Haan EA, Thompson E, David DJ, Gecz J, et al. Mutation detection in *FGFR2* craniosynostosis syndromes. *Hum Genet.* 1997;99(2):251-5.

125. Kariminejad A, Kariminejad R, Tzschach A, Ullmann R, Ahmed A, Asghari-Roodsari A, et al. Craniosynostosis in a patient with 2q37.3 deletion 5q34 duplication: association of extra copy of MSX2 with craniosynostosis. *Am J Med Genet A*. 2009;149A(7):1544-9.
126. Merrill AE, Bochukova EG, Brugger SM, Ishii M, Pilz DT, Wall SA, et al. Cell mixing at a neural crest-mesoderm boundary and deficient ephrin-Eph signaling in the pathogenesis of craniosynostosis. *Hum Mol Genet*. 2006 15;15(8):1319-28.
127. Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T, et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet*. 2005;37(3):275-81.
128. Rawlins JT, Opperman LA. Tgf-beta regulation of suture morphogenesis and growth. *Front Oral Biol*. 2008;12:178-96.
129. Wilkie AO, Bochukova EG, Hansen RM, Taylor IB, Rannan-Eliya SV, Byren JC, et al. Clinical dividends from the molecular genetic diagnosis of craniosynostosis. *Am J Med Genet A*. 2007 15;143A(16):1941-9.
130. Jehee FS, Krepischi-Santos AC, Rocha KM, Cavalcanti DP, Kim CA, Bertola DR, et al. High frequency of submicroscopic chromosomal imbalances in patients with syndromic craniosynostosis detected by a combined approach of microsatellite segregation analysis, multiplex ligation-dependent probe amplification and array-based comparative genome hybridisation. *J Med Genet*. 2008;45(7):447-50.
131. McGillivray G, Savarirayan R, Cox TC, Stojkoski C, McNeil R, Bankier A, et al. Familial scaphocephaly syndrome caused by a novel mutation in the FGFR2 tyrosine kinase domain. *J Med Genet*. 2005;42(8):656-62.
132. Kaname T, Yanagi K, Chinen Y, Makita Y, Okamoto N, Maehara H, et al. Mutations in CD96, a member of the immunoglobulin superfamily, cause a form of the C (Opitz trigonocephaly) syndrome. *Am J Hum Genet*. 2007 Oct;81(4):835-41.
133. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science*. 1992 Oct 30;258(5083):818-21.
134. Weiss MM, Hermsen MA, Meijer GA, van Grieken NC, Baak JP, Kuipers EJ, et al. Comparative genomic hybridisation. *Mol Pathol*. 1999;52(5):243-51.
135. Pinkel D, Albertson DG. Comparative genomic hybridization. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2005;6:331-54.
136. de Ravel TJ, Devriendt K, Fryns JP, Vermeesch JR. What's new in karyotyping? The move towards array comparative genomic hybridisation (CGH). *Eur J Pediatr*. 2007;166(7):637-43.
137. Pinkel D, Albertson DG. Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer. *Nat Genet*. 2005;37 Suppl:S11-7.
138. Oostlander AE, Meijer GA, Ylstra B. Microarray-based comparative genomic hybridization and its applications in human genetics. *Clin Genet*. 2004;66(6):488-95.

139. Ren H, Francis W, Boys A, Chueh AC, Wong N, La P, et al. BAC-based PCR fragment microarray: high-resolution detection of chromosomal deletion and duplication breakpoints. *Hum Mutat.* 2005;25(5):476-82.
140. Urban AE, Korbelt JO, Selzer R, Richmond T, Hacker A, Popescu GV, et al. High-resolution mapping of DNA copy alterations in human chromosome 22 using high-density tiling oligonucleotide arrays. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006 21;103(12):4534-9.
141. Bejjani BA, Shaffer LG. Application of array-based comparative genomic hybridization to clinical diagnostics. *J Mol Diagn.* 2006;8(5):528-33.
142. *Computational Systems Biology of Cancer* 1ed. Emmanuel Barillot LC, Philippe Hupé, Jean-Philippe Vert, Andrei Zinovyev (Chapman & Hall/CRC Mathematical & Computational Biology), editor 2012.
143. Fiegler H, Carr P, Douglas EJ, Burford DC, Hunt S, Scott CE, et al. DNA microarrays for comparative genomic hybridization based on DOP-PCR amplification of BAC and PAC clones. *Genes Chromosomes Cancer.* 2003;36(4):361-74.
144. Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, et al. Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays. *Nat Genet.* 1999;23(1):41-6.
145. Carvalho B, Ouwerkerk E, Meijer GA, Ylstra B. High resolution microarray comparative genomic hybridisation analysis using spotted oligonucleotides. *J Clin Pathol.* 2004;57(6):644-6.
146. Harper P. *Practical Genetic Counselling*, 6th ed. Oxford: Oxford University Press; 2004.
147. Seven M, Gezdirici A, Ulucan H, Karatas OF, Yosunkaya E, Yuksel A, et al. A novel EFNB1 mutation in a patient with craniofrontonasal syndrome and right hallux duplication. *Gene.* 2013 25;527(2):675-8.
148. <https://decipher.sanger.ac.uk/patient/618>. 2013.
149. <https://decipher.sanger.ac.uk/patient/891>. 2013.
150. Gajecka M, Yu W, Ballif BC, Glotzbach CD, Bailey KA, Shaw CA, et al. Delineation of mechanisms and regions of dosage imbalance in complex rearrangements of 1p36 leads to a putative gene for regulation of cranial suture closure. *Eur J Hum Genet.* 2005;13(2):139-49.
151. Ben-Shachar S, Bidwa BM, Potocki L, Lalani SR. Coexistence of an unbalanced chromosomal rearrangement and spinal muscular atrophy in an infant with multiple congenital anomalies. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(3):515-8.
152. Wieacker P, Wieland I. Clinical and genetic aspects of craniofrontonasal syndrome: towards resolving a genetic paradox. *Mol Genet Metab.* 2005 Sep;86(1-2):110-6.
153. Jia HP, Schutte BC, Schudy A, Linzmeier R, Guthmiller JM, Johnson GK, et al. Discovery of new human beta-defensins using a genomics-based approach. *Gene.* 2001 Jan 24;263(1-2):211-8.

154. Uhrig M, Ittrich C, Wiedmann V, Knyazev Y, Weninger A, Riemenschneider M, et al. New Alzheimer amyloid beta responsive genes identified in human neuroblastoma cells by hierarchical clustering. *PLoS One*. 2009;4(8):e6779.
155. Cho C. Testicular and epididymal ADAMs: expression and function during fertilization. *Nat Rev Urol*. 2012 Oct;9(10):550-60.
156. <http://omim.org/entry/601889>. 2013.
157. <http://omim.org/entry/608912>. 2013.
158. Yan G, Liang Y, Wang Y, Huang W, Zou X, Zhong N. [Copy number variation analysis of a Chinese Han family with autism spectrum disorder]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2010;27(6):654-8.
159. <http://omim.org/entry/601790>. 2013.
160. Drummond JB, Tucholski J, Haroutunian V, Meador-Woodruff JH. Transmembrane AMPA receptor regulatory protein (TARP) dysregulation in anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2013;147(1):32-8.
161. Barrow J, Adamowicz-Brice M, Cartmill M, MacArthur D, Lowe J, Robson K, et al. Homozygous loss of ADAM3A revealed by genome-wide analysis of pediatric high-grade glioma and diffuse intrinsic pontine gliomas. *Neuro Oncol*. 2011;13(2):212-22.
162. Zeng ZL, Li FJ, Gao F, Sun DS, Yao L. Upregulation of miR-650 is correlated with down-regulation of ING4 and progression of hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol*. 2013;107(2):105-10.
163. Mraz M, Dolezalova D, Plevova K, Stano Kozubik K, Mayerova V, Cerna K, et al. MicroRNA-650 expression is influenced by immunoglobulin gene rearrangement and affects the biology of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012 1;119(9):2110-3.
164. Chang KS, Wang G, Freireich EJ, Daly M, Naylor SL, Trujillo JM, et al. Specific expression of the annexin VIII gene in acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1992 1;79(7):1802-10.
165. Yang TL, Chen XD, Guo Y, Lei SF, Wang JT, Zhou Q, et al. Genome-wide copy-number-variation study identified a susceptibility gene, UGT2B17, for osteoporosis. *Am J Hum Genet*. 2008;83(6):663-74.
166. Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, Kastury K, Baffa R, Palazzo J, et al. The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell*. 1996 23;84(4):587-97.
167. Grenningloh G, Schmieden V, Schofield PR, Seeburg PH, Siddique T, Mohandas TK, et al. Alpha subunit variants of the human glycine receptor: primary structures, functional expression and chromosomal localization of the corresponding genes. *EMBO J*. 1990;9(3):771-6.
168. Shiang R, Ryan SG, Zhu YZ, Hahn AF, O'Connell P, Wasmuth JJ. Mutations in the alpha 1 subunit of the inhibitory glycine receptor cause the dominant neurologic disorder, hyperekplexia. *Nat Genet*. 1993;5(4):351-8.

169. Bernardini L, Castori M, Capalbo A, Mokini V, Mingarelli R, Simi P, et al. Syndromic craniosynostosis due to complex chromosome 5 rearrangement and MSX2 gene triplication. *Am J Med Genet A*. 2007 15;143A(24):2937-43.
170. Al-Hertani W, Hastings VA, McGowan-Jordan J, Hurteau J, Graham GE. Severe craniosynostosis in an infant with deletion 22q11.2 syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161A(1):153-7.
171. van Kogelenberg M, Lerone M, De Toni T, Divizia MT, de Brouwer AP, Veltman JA, et al. A novel Xp22.11 deletion causing a syndrome of craniosynostosis and periventricular nodular heterotopia. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(12):3144-7.
172. Shanske AL, Goodrich JT, Ala-Kokko L, Levy B. A new syndromic craniosynostosis with involvement of the spine, long bones, pelvis, and digits: molecular genetic and array analysis. *Clin Dysmorphol*. 2012;21(2):69-73.
173. Rojnueangnit K, Robin NH. Craniosynostosis and radial ray defect: a rare presentation of 22q11.2 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161A(8):2024-6.
174. Florisson JM, Mathijssen IM, Dumeé B, Hoozeboom JA, Poddighe PJ, Oostra BA, et al. Complex craniosynostosis is associated with the 2p15p16.1 microdeletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161A(2):244-53.



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KLİNİK ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU



Sayı: B.30.2.İST.0.30.90.00/29617
Konu:

İstanbul/...../.....



İSTANBUL
2012
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü
Başkanlığına

08 Ekim 2012

İLGİ: 21.09.2012 tarihli, 8549 sayılı yazınıza:

Bölümünüze bağlı Tıbbi Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi **Prof.Dr.Mustafa ÖZEN**'in danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr.Alper GEZDİRİCİ**'nin yürütücülüğünde **Doç.Dr.Ali Metin KAFADAR**'ın yardımcılığında yürütülecek olan "Kraniosinotuzlu hastalara moleküler genetik yaklaşım ve nonsendromik vakalarda array CGH ile tüm genom analizi" başlıklı **Uzmanlık Tezi** hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Ekim 2012** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi, durumun adı geçen anabilim dalı başkanlığına bildirilmesini rica ederim.

Eki:
1 dosya

Prof.Dr.Fatih ALTINDAŞ
Dekan Yardımcısı ve Klinik Araştırmalar
Etik Kurulu Başkanı

Not: Yanıtlarımızda yazımızın gün ve sayısını belirtmesi rica olunur.
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/İSTANBUL
Telefon 0 (212) 414 32 52 Dahili: 22300 Faks: 0(212) 632 00 40 e-posta:ctfetik@istanbul.edu.tr.