

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SİLVER-RUSSELL SENDROMU BULUNAN HASTALARDA EPİGENOTİP  
VE FENOTİP İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Buse ÖZER BEKMEZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**ANKARA 2014**

**T.C.**  
**HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SİLVER-RUSSELL SENDROMU BULUNAN HASTALARDA EPİGENOTİP  
VE FENOTİP İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Buse ÖZER BEKMEZ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Olarak Hazırlanmıştır**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. O. Koray BODUROĞLU**

**ANKARA 2014**

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tezimin hazırlanması aşamasında bana bilimsel katkıda bulunan, hekimliğinin yanı sıra insani değerleri ile de örnek aldığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genetik Bilim Dalı başkanı Sayın Prof. Dr. Osman Koray Boduroğlu'na;

Tezimin hazırlanması aşamasında zorluklarla karşılaştığım her anda sonsuz desteğini gördüğüm, gerek hekimlik gerekse insanlık yönünden örnek aldığım Sayın Doç. Dr. Gülen Eda Utine'ye;

Yol göstericiliği ve esirgemediği destekleri için Sayın Yrd. Doç. Dr. Pelin Özlem Şimşek Kiper'e;

Her an destek ve yardımlarını gördüğüm Genetik Bilim Dalının tüm çalışanlarına;

Tezimin hazırlanması sırasında yardımları için başta Serkan Kabaçam olmak üzere tüm Genetik laboratuvarı çalışanlarına;

Eğitimim sırasında verdiği destek için Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Hasan Özen'e;

Hiçbir teşekkür kelimesinin yeterli olmayacağı kadar üzerimde emeği olan, her anlamda ömür boyu örnek aldığım sevgili annem ve babama; iyi ve kötü günümde hep yanımda olan eşime sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.

## ÖZET

**ÖZER BEKMEZ, B., Silver-Russell Sendromu (SRS) Bulunan Hastalarda Epigenotip ve Fenotip İlişkisinin Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi. Ankara, 2014.** Silver-Russell Sendromu (SRS) ciddi büyüme geriliği ile karakterli, klinik ve genetik özellikleri açısından oldukça heterojen bir hastalıktır. Prader-Willi ve Angelman sendromuna kıyasla nispeten daha ‘genç’ bir *imprinting* bozukluğudur. Silver- Russell Sendromu; intrauterin ve postnatal büyüme geriliği, rölatif makrosefali, üçgen yüz görünümü, vücut asimetrisi, beşinci falanksta klinodaktili ve beslenme problemleri ile karakterlidir. Özelliklerin sendroma özgü olmaması ve şiddetindeki farklılıklar nedeniyle bu sendromun sıklığını saptamak oldukça zordur. Buna ek olarak bulgular en çok bebeklik ve erken çocukluk döneminde belirgin olduğu için daha büyük çocukların değerlendirilmesi güç olabilir. Bu özellikler SRS’ye özgü olmadığı için güvenilir bir klinik tanı koymak oldukça zordur ve tanı sıklıkla atlanabilmektedir. SRS’deki klinik seyir değişkenliğinin moleküler etiyolojinin heterojenitesiyle ilişkili olabileceği düşünülerek birçok çalışmada epigenotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmış, moleküler temele bağlı fenotipik farklılıklar bildirilmiştir. Moleküler etiyolojinin saptanmasının, epigenotip-fenotip ilişkisi kurulmasında, sendromun erken tanısında ve uygun multidisipliner yaklaşım sağlanmasında önemli olacağı düşünülerek, bu çalışmada SRS ile klinik yönden uyumlu 24 hastanın DNA örneğinden MS-MLPA yöntemiyle 11p15 bölgesinde metilasyon değişikliği ve kopya sayısı değişiklikleri araştırılmıştır. 11p15 bölgesinde hipometilasyon saptanan ve saptanmayan olmak üzere iki grupta sınıflanan hastalarda epigenotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır. Hastalar prematürite, yardımcı üreme teknikleri ile doğum öyküsü, düşük doğum ağırlığı, düşük vücut ağırlığı, boy kısalığı, rölatif makrosefali, fazla terleme, çeşitli yüz görünümü bulguları, iskelet anomalileri, beslenme problemleri, beşinci falanksta klinodaktili, diğer konjenital anomaliler, gelişme geriliği, anne baba arasında akrabalık yönünden incelenmişler, ancak gruplara dağılan hasta sayılarının az olması nedeniyle bu değişkenlerin çoğunda istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmamıştır. SRS’nin fenotipik ve moleküler olarak çok

heterojen bir hastalık olması nedeniyle, hastaların olası tüm klinik bulgular yönünden yakın ve multidisipliner izlemi sağlanmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** Silver-Russell Sendromu (SRS), epigenotip-fenotip korelasyonu, hemihipoplazi, *imprinting*, uniparental dizomi

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (HÜBAB Proje no: 014 D04 101 010).

## ABSTRACT

**OZER BEKMEZ, B., Epigenotype and phenotype correlation in patients with Silver-Russell Syndrome (SRS). Thesis in Pediatrics. Ankara, 2014.** Silver-Russell Syndrome (SRS) is a heterogenous disease in terms of clinical and genetic features, characterised by intrauterine and postnatal growth restriction, poor postnatal growth, relative macrocephaly, triangular face, asymmetry and feeding difficulties. SRS is a relatively 'young' *imprinting* disorder compared to Prader-Willi and Angelman disorders. As many of these wide range of the features are non-specific and clinical severity is highly variable, clinical diagnosis of SRS remains difficult and frequency is not known exactly. Pediatricians could face this syndrome during their medical practice. The diagnosis is likely to be skipped due to these characteristics, so knowledge and experience is necessary about SRS. Various previous investigations showed that heterogeneous molecular etiology may contribute to clinical variability and epigenotype-phenotype correlation exists in SRS. This study was performed to detect the molecular etiology in our patients with SRS, in order to search for epigenotype-phenotype correlation and to provide appropriate individualized multidisciplinary approach. The epigenotype was determined using MS-MLPA for copy number and methylation status of 11p15 and 24 patients were evaluated for epigenotype-phenotype correlations. Different molecular etiology groups were evaluated for prematurity, conception with assisted reproductive techniques, low birth weight, low postnatal weight, short stature, relative macrocephaly, excessive sweating, different facial characteristics, skeletal anomalies, feeding difficulties, fifth finger clinodactyly, other congenital anomalies, developmental delay and consanguinity between parents. Differences between groups were not statistically significant owing to the small number of patients in individual groups. All patients clinically suggestive of SRS should be followed-up in a multidisciplinary approach for all possible manifestations of the disorder.

**Keywords:** Silver-Russell Syndrome (SRS), epigenotype and phenotype correlation, hemihypoplasia, *imprinting*, uniparental disomy

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research and Development Office (Project Number: 014 D04 101 010).

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
KISALTMALAR.....	x
TABLolar .....	xii
ŞEKİLLER.....	xiii
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Büyümenin Fizyolojik ve Genetik Temelleri .....	3
2.2. Boy Kısılığı .....	4
2.3. Epigenetik Bozuklukların Moleküler Temelleri .....	8
2.3.1. Epigenetik Düzenlenme .....	8
2.3.2. <i>Imprinting</i> .....	9
2.3.3. Uniparental Dizomi.....	11
2.4. Silver-Russell Sendromu .....	12
2.4.1. Tanım .....	12
2.4.2. Epidemiyoloji.....	13
2.4.3. SRS'nin Moleküler Temeli .....	14
2.4.4. SRS'deki Moleküler Değişiklikler .....	18
2.4.5. Klinik Bulgular .....	24
2.4.5.1. Büyüme .....	24
2.4.5.2. Kraniyofasiyal Bulgular.....	25



2.4.5.3. Diğer Konjenital Anomaliler .....	25
2.4.5.4. Beslenme Problemleri .....	25
2.4.5.5. İskelet Anomalileri.....	26
2.4.5.6. Gelişim Problemleri .....	26
2.4.5.7. Fazla Terleme ve Hipoglisemi .....	27
2.4.5.8. Myoklonus-Distoni .....	27
2.4.6. Yardımcı Üreme Teknikleri ( <i>Assisted Reproductive Techniques; ART</i> ) .....	27
2.4.7. Epigenotip-Fenotip İlişkisi.....	29
2.4.8. Tanı ve Aile Öyküsü .....	33
2.4.8.1. Aile Öyküsü ve Klinik Tanı.....	33
2.4.8.2. Moleküler Tanı .....	34
2.4.8.3. Prenatal Tanı .....	35
2.4.9. İzlem, Tedavi ve Prognoz .....	35
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>38</b>
3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi .....	38
3.2. Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem.....	38
3.2.1. DNA İzolasyonu .....	39
3.2.2. MS-MLPA Analizi.....	40
3.2.3. Sitogenetik Analiz.....	44
3.3. İstatistiksel Analiz.....	44
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>45</b>
4.1. Demografik Özellikler .....	45
4.2. Prenatal ve Perinatal Özellikler .....	46
4.3. Büyüme ile İlgili Özellikler .....	47
4.4. Kraniofasiyal Özellikler.....	47
4.5. Beslenme Problemleri .....	48

4.6. Beşinci Parmakta Klinodaktili .....	49
4.7. Fazla Terleme.....	49
4.8. Gelişim Problemleri .....	49
4.9. Diğer Konjenital Anomaliler .....	50
5. TARTIŞMA .....	52
6. SONUÇLAR.....	61
EK 1. Hastaların Dökümü.....	62
EK 2. SALSA MS-MLPA ME030-C1 BWS/RSS Kiti İçeriği.....	64
KAYNAKLAR .....	66

## KISALTMALAR

ART :	<i>Assisted Reproductive Techniques</i> ; yardımcı üreme teknikleri
AS :	Angelman sendrom
BWS :	Beckwith-Wiedemann Sendromu
CDKN1C :	<i>Cyclin-dependent kinase inhibitor 1C</i>
DMR :	<i>Differentially methylated region</i>
DNA :	Deoksiribonükleik asit
GHRH :	Büyüme hormonu salgılatıcı hormonu
hHG :	İnsan büyüme hormonu
IUBK :	İntrauterin büyüme kısıtlılığı
IC :	<i>Imprinting center</i> ; imprinting merkezi
IGF :	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
IGFBP :	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein
IGFR :	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Reseptörü
KCNQ1 :	<i>Potassium channel, voltage-gated, KQT-like subfamily, member 1</i>
KCNQ1OT1 :	<i>KCNQ1-overlapping transcript 1</i>
SGA :	<i>Small for gestational age</i> ; gebelik haftasına göre küçük
MS-MLPA :	<i>Methylation Specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification</i>
PCR :	<i>Polymerase Chain Reaction</i> ; polimeraz zincir reaksiyonu
PWS :	Prader-Willi sendromu
RNA:	Ribonükleik asit
SRS:	Silver-Russell sendromu
SPSS:	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UPD :	Uniparental dizomi
US :	Ultrasonografi

SD :	Standart deviasyon
CFTR :	<i>Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator</i>
DNMT :	<i>DNA methyltransferase</i>
IR :	İnsülin Reseptörü
EGFR :	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
PDGFR :	<i>Platelet-derived growth factor receptor</i>

**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Boy Kısaliğı Sınıflandırması .....	6
<b>Tablo 2.2.</b> SRS’de görülen moleküler bozukluklar ve tanı yöntemleri.....	23
<b>Tablo 2.3.</b> ART ile ilişkili olduğu bildirilen SRS vakaları .....	28
<b>Tablo 2.4.</b> SRS’ de Epigenotip – Fenotip Korelasyonu .....	32
<b>Tablo 4.1.</b> Hastaların cinsiyet, yaşı, vücut ölçümleri ortalaması .....	46
<b>Tablo 4.2.</b> Hastaların klinik bulguları .....	51

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Dokuya özgü epigenotip oluşumunu gösteren diyagram .....	20
Şekil 2.1. Kromozom 11p15.5 ilişkili Silver-Russell Sendromu.....	21
Şekil 3.1. MS-MLPA prensibi .....	41
Şekil 4.1. SALSA MS-MLPA PROBEMIX ME030-C3 BWS/RSS.....	42

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Büyüme, hayatın erken dönemlerindeki fiziksel, zihinsel ve sosyal gelişimi kapsayan; beslenme, genetik, hormonal, çevresel çok sayıda etken tarafından belirlenen ve çocukların sağlık durumlarını en iyi yansıtan ölçüdür. Pediatriinin amaçlarından biri her çocuğun büyüme ve gelişme açısından kendi potansiyelini kazanmasına, böylece olgun bir erişkin olmasına yardım etmektir. Bu amaca ulaşmak için önemli bir yaklaşım normal büyüme ve gelişme gidişatı ve anormalliklerin taranması için her çocuğu aralıklı olarak izlemektir.

Büyümenin gidişindeki sapmalar ciddi hastalıkların özgün olmayan, ancak çok önemli göstergeleridir. Normal büyüme sürecinde hızlanmış dönemler ve duraksamalar vardır, bu nedenle büyüme eğrisinde bazı kaymalar beklenebilir, ancak büyük sapmalar büyüme kısıtlılığının patolojik nedenleri açısından dikkat gerektirir. Silver-Russell Sendromu fetal hayattan başlayıp sonrasında da devam eden büyüme kısıtlılığı ile karakterli, bulguları sendroma özgü olmayan, şiddetindeki farklılıklar nedeniyle tanının atlanma ihtimali oldukça yüksek ve tedavi edilmediği takdirde ciddi boy kısalığı ile sonuçlanan bir sendromdur.

Silver-Russell Sendromu (SRS; MIM #180860) intrauterin büyüme geriliğine, postnatal büyüme yetersizliğinin de eşlik ettiği bir sendrom olup, evrensel olarak kabul edilmiş klinik tanı kriterleri yokluğu nedeniyle moleküler tanının mutlaka gerektiği bir hastalık grubunu oluşturmaktadır (1,2). En önemli sonucu olan büyüme-gelişme geriliği ve öğrenme problemleri nedeniyle bu sendromun tanısını koymak başta tedavinin düzenlenmesi olmak üzere birçok açıdan önemlidir (3). İnsan büyüme hormonu (hGH) tedavisinin herhangi bir nedenle intrauterin büyüme kısıtlılığı (İUBK) tanısı alan tüm hastalarda boy uzaması konusunda belirgin yarar sağladığı gösterilmiştir (4). SRS'den etkilenmiş hastalarda hGH eksikliği olmasa bile tedavinin büyümeyi hızlandırdığı ve son boy üzerine belirgin yarar sağladığı birçok çalışmada ispatlanmıştır (5-8).

Klinik bulguları ile SRS tanısı düşünülen hastaların yaklaşık %30-40'ında altta yatan moleküler mekanizma hala aydınlatılamamaktadır. Farklı çalışmalarda klinik

seyirdeki değişikliklerle altta yatan moleküler mekanizmalar arasında ilişki incelenmiş, ancak henüz moleküler etiyojisi ortaya konamayan oldukça büyük bir grubun varlığı bu durumu güçleştirmiştir (9-15). Bu sendromun teşhis edilmesi için hala evrensel olarak kabul edilmiş klinik tanı kriterleri olmayışı, tanı için moleküler çalışmaları gerekli kılmaktadır. Böylelikle hem epigenotip-fenotip ilişkisinin kurulmaya çalışılmasında, hem de henüz bilinmeyen farklı moleküler mekanizmaların ortaya konmasında, hem gelişebilecek büyüme-gelişme yetersizliğinin, öğrenme problemlerinin erken dönemde farkedilip hem de hastaya uygun tedavinin planlanmasında faydalı olacağı düşünülmektedir.

Çalışmamız klinik özellikleriyle SRS ile uyumlu 24 hastalık serimizde; etiyojide büyük bir yüzdeyi oluşturan moleküler düzensizlikleri saptayan bir teknik yöntem aracılığı ile öncelikle klinik tanıyı moleküler olarak doğrulamak ve klinikte görülen fenotipik heterojenitenin, neden olan moleküler patofizyolojiyi ne ölçüde yansıttığını anlamak, rutin uygulamada kullanılan klinik bulguların öncelik ve önem yönünden değerlendirmeye alınmasını sağlamak ve epigenotip/fenotip ilişkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. SRS'den etkilenen hastalarda klinikte en önemli sorun olan boy kısalığı ve öğrenme problemleri açısından daha iyi izlenmelerini sağlayıp özellikle hGH tedavisinin erken dönemde uygun bir şekilde düzenlenmesine yardımcı olmak da önemli hedeflerimizden biridir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Büyümenin Fizyolojik ve Genetik Temelleri

Büyüme; hücre sayısı ve hücre büyüklüğünün artması sonucu vücut hacminin ve kütesinin artması olarak tariflenirken, gelişme hücre ve dokuların yapı ve bileşimindeki değişimler sonucu biyolojik işlevlerin kazanılması olarak tanımlanmaktadır. Çocuk organizmasını erişkinden ayıran en önemli özellik, sürekli bir büyüme, gelişme ve değişme süreci içinde olmasıdır. Fetal dönemden itibaren çok sayıda faktörün etkileşimi hücre farklılaşması, çoğalması ve apoptozuna neden olur. Bu etkileşim insan genomu ile genel sağlık, beslenme durumu ve psikososyal çevre arasında olmaktadır (16).

Uzun kemiklerin distal epifiz ve santral metafiz bölgelerindeki büyüme plağında boyuna büyüme gerçekleşir (17). Fetal hayattan başlayıp çocukluk çağının sonuna kadar devam eden büyüme süreci değişik dönemlerde farklı etken ve mekanizmalar ile gerçekleşir.

Fetusun büyümesi, birbirini takip eden doku ve organ büyümesi, farklılaşma ve besinlerin anne tarafından karşılanarak bunların plasenta aracılığıyla transferi ve genom tarafından yönlendirilen fetal büyüme potansiyeli ile belirlenen matürasyonla karakterlidir. Genellikle fetusların gebeliğin ilk yarısındaki büyüme eğrileri aynıdır. Büyümedeki yavaşlama genellikle ikinci yarıda ortaya çıkar (18). Fetal gelişimin yeterliliği için başta insülin olmak üzere, insülin benzeri büyüme faktörü I – II (IGF) gibi hormonal faktörler ilk trimesterden sonra esastır (19-20). Fetüsün büyümesi genetik bir plan temelinde yüksek oranda, plasenta tarafından sağlanan oksijen ve besin maddelerine bağlıdır (21). Plasenta oksijen ve besin sağlamanın yanı sıra, fetüs için hormonların ve büyüme faktörlerinin düzenleyicisi rolünü üstlenen bir endokrin organ gibi görev yapar (22). Postnatal dönemde büyümede temel rol oynayan hormonlar, intrauterin dönemde kritik öneme sahip değildir. Fetüste hGH çok yüksek konsantrasyonlarda bulunmasına rağmen, hGH reseptörleri bu dönemde azdır (23). Bu nedenle hGH'nin intrauterin dönemde büyüme üzerine etkisi kısıtlıdır.

Postnatal ve intrauterin dönem arasındaki en önemli fark da postnatal dönemde hGH etkisiyle düzenlenen IGF-I'in, fetal hayatta daha çok metabolik faktörler ile düzenleniyor olmasıdır. Bu durum yine fetusteki hGH reseptörü azlığı ile açıklanabilir. Bunun yanı sıra fetüste gebeliğin başından sonuna doğru hGH konsantrasyonu azalırken, IGF-1 ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3 (IGFBP-3) konsantrasyonu giderek artmaktadır. IGF-1'in ve IGFBP-3'ün intrauterin büyüme üzerinde çok belirgin etkisi vardır. Term bir bebekteki IGF-1 düzeyi bebeğin doğum ağırlığı ile doğru orantılıdır (24).

Beslenme durumu intrauterin dönemde olduğu gibi postnatal dönemde de büyüme üzerinde oldukça etkilidir. Tiroid hormonu ve hGH bebeklik döneminden itibaren büyüme üzerinde önemli etkinliğe sahip olur (25). Hipotiroidi varlığında görülen kemik yaşı geriliği tiroid hormonlarının büyüme üzerine olan etkisini kanıtlamaktadır (25-26). Seks steroidleri IGF-I ve hGH düzeylerini artırarak etki eder ve pubertal büyümenin en önemli hızlandırıcı faktörleridir

hGH, hipotalamik büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (GHRH), ghrelin ve somatostatin etkisi ile ön hipofizden pulsatil bir şekilde salgılanan ve çocukluk çağı büyümesinde temel rol oynayan hormondur. hGH, büyük oranda karaciğerde üretilen bir polipeptid olan IGF'ler ve onların bağlayıcı proteinleri aracılığıyla lineer büyümeyi etkiler (27). Aynı zamanda direkt olarak da büyümeye (özellikle kıkırdak büyümesi üzerine) etkisi vardır.

Çeşitli çevresel, hormonal ve genetik faktörler büyüme üzerine farklı dönemlerde farklı düzeylerde etkili olmakla birlikte nihai boyda temel belirleyici kişinin genetik potansiyelidir (28).

## **2.2. Boy kısalığı**

Boy kısalığı; o yaş, cinsiyet ve etnik gruptaki ortalama uzunluğun iki standart deviasyon (SD) değerinden daha düşük boy değerleri veya boy persentil eğrilerinde boyun üçüncü persentilin altında olması olarak tanımlanır (29). Boy kısalığı nedenleri Tablo 2.1'de özetlenmiştir. Boy kısalığını değerlendirirken en önemli ve öncelikli nokta büyüme geriliği ile boy kısalığı, normal ve patolojik ayrımının yapılmasıdır (29-

30). Normalin varyantı ile patolojik boy kısalığının ayırıcı tanısında en önemli parametre büyüme hızıdır. Büyüme geriliği, lineer büyüme hızındaki azalma olarak tanımlanır. Etiyolojik açıdan bakıldığında olguların büyük çoğunluğunu, normalin varyantı boy kısalığı oluşturur. Bunların içinde genel olarak erkeklerde yapısal, kızlarda ise ailevi boy kısalığının daha ön planda olduğu görülmekle birlikte İUBK gösteren hastalar da genellikle bu grup içerisinde yer almaktadır.

İUBK, boy kısalığının ayırıcı tanısını yaparken öyküde ilk sorgulanması gereken özelliklerden biridir (31-33). İUBK, sıklıkla ultrasonografik (US) ölçümlere göre hesaplanan fetal ağırlığın gestasyonel yaşa göre 10 persentilin altında olması olarak tanımlanır ve gebelik yaşına göre küçük bir bebek (SGA) ile sonuçlanabilir. Önceleri bu iki ifade sıklıkla birbirinin yerine kullanılmaktayken şu anda sadece prenatal büyüme geriliğinin altında yatan nedeni saptanabilen hastalar için kullanılması önerilmektedir (34). İUBK'nin sadece vücut ağırlığına dayalı olduğu görüşü doğru değildir. Fetal hayatın her aşamasında boy ve oksipitofrontal çevre uzunluğu için tanımlanmış standart ölçümler mevcuttur (35). Doğum ağırlığı ve/veya boyu gebelik haftası ve cinsiyete göre ortalamanın en az iki SD (üç persentil) altında olan infantlar, SGA (*'small for gestational age'*) olarak tanımlanır (36-38). Bu bebekler genellikle iki yaş civarında yaşitlarının boylarını yakalarken yaklaşık %10-15'inde patolojik nedenler saptanmaktadır.

İUBK tanısı konulduktan sonra yapılması gereken orantılı/orantısız ayırımının yapılmasıdır. Orantısız İUBK genellikle osteokondrodizplazi ile ilişkilidir. Orantılı İUBK olan hastalar genellikle iki yaşına kadar yaşitlarını yakalamakla birlikte bir grup hastada boy kısalığı kalıcı olabilmektedir (39-40). Boy kısalığının fetal hayatta başladığı hastalarda ayırıcı tanıda Cornelia de Lange, Rubinstein-Taybi, Johansson-Blizzard ve Hallerman-Strieff gibi birçok genetik hastalık yer almaktadır. Fakat bu sendromların çoğu tipik fenotipik bulguları ile kolaylıkla tanımlanabilmektedir. Yine benzer bulgulara neden olabilecek birçok kromozom hastalığı, plasental kromozomal mozaikizm durumları ve teratojenler mevcuttur. Bunların dışında Bloom, Dubowitz, Floating-Harbor, *Microcephalic Osteodysplastic Primordial Dwarfism 2* (MOPD), Mulibrey-Nanism, SHORT ,3 M ve SRS gibi fetal ve postnatal hayatta ciddi büyüme

kısıtlılığı yapan ve patognomonik klinik bulguları olmadığı için tanınması güç sendromlar mevcuttur (41).

**Tablo 2.1. Boy kısalığı sınıflandırması (29)**

<p><b>A. İdiyopatik/ normalin varyantı</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Genetik-ailevi boy kısalığı</li> <li>• Yapısal boy kısalığı</li> <li>• İkisinin birlikte olduğu ya da ayırt edilemeyen durumlar</li> </ul>
<p><b>B. Endokrin olmayan nedenler</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• İntrauterin büyüme kısıtlılığı ve gebelik yaşına göre düşük doğum ağırlığı</li> <li>• Malnütrisyon</li> <li>• Boy kısalığı ile seyreden sendromlar ( Turner, Noonan, Prader-Willi, Laurence-Moon, Bardet-Biedl, Silver-Russell, Bloom, Cornelia de Lange, Cockayne sendromu gibi)</li> <li>• Diğer otozomal anomaliler ve dismorfik sendromlar</li> <li>• Kronik sistemik hastalıklar <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Malabsorbsiyon ve gastrointestinal hastalıklar</li> <li>○ Hematolojik hastalıklar</li> <li>○ Kardiyovasküler hastalıklar</li> <li>○ Pulmoner hastalıklar</li> <li>○ Renal hastalıklar</li> <li>○ İmmünolojik hastalıklar</li> <li>○ Romatolojik hastalıklar</li> <li>○ Santral sinir sistemi hastalıkları</li> <li>○ Kronik karaciğer hastalıkları</li> <li>○ Kronik enfeksiyonlar</li> </ul> </li> <li>• Yutma bozuklukları</li> </ul>

- İskelet sisteminin intrinsik hastalıkları
  - Uzun kemikler ve omurganın gelişim bozuklukları (akondroplazi, metatropik cücelik, diastrofik cücelik, metafizyal kondrodisplazi)
  - Kıkırdak ve fibröz yapının gelişim bozuklukları (çoklu kıkırdaksı ekzositozlar, cilt pigmentasyonu ile giden fibröz displaziler)

### C. Endokrin

- hGH eksikliği
  - Hereditör
    - GHRH reseptör mutasyonu
    - hGH gen delesyonu
    - hGH direnci
    - Konjenital hipopituitarizm
  - İdiyopatik
    - İzole hGH eksikliği
    - Kombine pituitör hormon eksikliği
  - Edinilmiş
    - Geçici: psikososyal boy kısalığı
    - Organik: tümör, radyoterapi, enfeksiyon, travma
- IGF-1 eksikliği/ duyarsızlığı (Laron tipi cücelik)/ reseptör defekti
- Hipotiroidi
- Fazla kortizol salgılanması – Cushing hastalığı ve Cushing sendromu
- Puberte prekoks
- Psödohipoparatiroidizm
- Raşitizm
- İyi kontrol edilmemiş diabetes mellitus

### 2.3. Epigenetik bozuklukların moleküler temelleri

Epigenetik bozuklukların anlaşılması için öncelikle bazı kavramların öğrenilmesi gerekmektedir.

#### 2.3.1. Epigenetik Düzenlenme

*Epigenetik*, ilk kez 1942 yılında Conrad Waddington tarafından genotipin fenotipi nasıl oluşturduğunu inceleyen bir bilim dalı anlamı ile kullanılmıştır. Bu tanımlama yanlış olmamakla birlikte kalıtsal yönü başta olmak üzere çeşitli eksikler içermektedir. Yine DNA metilasyonunun gen ifadesini etkileme yeteneğine sahip bir kalıtsal değişiklik olarak ilk kez öne sürülmesinden bu yana da 30 yıldan fazla bir süre geçmiştir. Bir metil grubunun sitozin bazına eklenmesi primer DNA dizisini değiştirmez, bu nedenle ‘üstüne’ veya ‘ilaveten’ anlamına gelen epigenetik bir değişiklik olarak kabul edilmektedir.

*Epigenetik*, DNA dizilimine bağlı olmayan gen aktivite ve ifadesinin düzenlenmesindeki değişiklikleri inceleyen yeni bir bilim dalıdır. Hem gelecek nesillere aktarılabilen gen ifadesi değişiklikleri, hem de hücrenin transkripsiyonel potansiyelinde çoğunlukla kalıtılmayan değişikliklere işaret eder. Prensipte olarak, DNA dizisini değiştirmeden genoma düzenleyici bilgiler sağlayan herhangi bir mekanizma **epigenetik** olarak düşünülebilir. Epigenetik değişiklikler; DNA dizilimini etkilemeyen, hücrelerin kendi kimliğini belirlemesine yardımcı olan ve gen ifade özelliklerinin bir nesilden diğerine geçişini sağlayan düzenleyici mekanizmaları içermektedir (42,43).

Epigenetik mekanizmalar, gen ekspresyonunu doğrudan veya dolaylı yoldan etkilemelerine göre iki başlıkta değerlendirilebilir. Başta metilasyon olmak üzere DNA modifikasyonları ile asetilasyon gibi kromatin modifikasyonları, ayrıca kodlamayan RNA doğrudan etkileyen grupta yer almaktayken; posttranskripsiyonel değişiklikler dolaylı yoldan etkisi olan epigenetik olaylar arasında yer almaktadır(44).

DNA metilasyonu, üzerinde en çok çalışılan epigenetik mekanizma olup, gen ifadesinin baskılanmasını sağlayarak; embriyonik gelişim, transkripsiyon, kromatin yapısı, X-kromozom inaktivasyonu, genomik “*imprinting*” düzenlenmesi ve kromatin

kararlılığının korunmasında fonksiyon görmektedir. DNA metilasyonu, DNA metil transferaz (DNMT) enzimleri tarafından katalizlenmekte ve genellikle CpG bölgelerindeki sitozinden (C) metillenmektedir. Genomda tekrar dizilerinin ve transpozonların bulunduğu heterokromatinin CpG bölgelerinde metilasyon oranı yüksek görülmekte, bu sayede transkripsiyon baskılanmakta ve transpozonların genom içindeki hareketi engellenerek kromozomun kararlı halde kalması sağlanmaktadır. CpG adacıkları ise genlerin promotor bölgelerinde bulunan, yaklaşık 500 baz çifti uzunluğunda ve %55'ten fazla CpG içeren, metilasyon oranı düşük olan korunmuş dizilerdir. DNA metilasyonunun, transkripsiyon faktörlerinin bağlanmasını engelleyerek veya metilli DNA'ya bağlanan protein kompleksleri sayesinde kromatin yapısını değiştirerek genlerin ifadesini baskıladığı düşünülmektedir (44).

Başta DNA metilasyonu olmak üzere epigenetik olayların herhangi birindeki hata, genlerin ifadesini aşırı artırarak veya baskılayarak SRS gibi bazı hastalıklara neden olmaktadır (44, 45).

### **2.3.2. *Imprinting***

*Imprinting*, genetik materyalin anneden veya babadan kalıtılmış olmasına bağlı olarak, farklı ekspresyonudur. Genomik *imprinting* epigenetik bir mekanizmadır. Farelerde yapılan çalışmalarda iyi tanımlanmış olan bu mekanizmanın, muhtemelen partenogenezi (kendi kendini dölleyebilme) önleyen bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. Genomik *imprinting*, hem maternal hem de paternal allel varolduğunda oluşur. Bir allel ekspresse olurken diğeri inaktif kalır. Mendelyen prensiplerine göre bir otozomal genin bir allelinin, anne veya babanın her birinden erkek veya dişi cinsiyetteki çocuklarına eşit olasılıkla kalıtıldığı düşünülse de maternal ve paternal genomların bazı bölgeleri işlevsel olarak eşit değildir. Böyle bölgelerdeki gen lokusları, parental kökenlerine göre aktivite farklılıkları gösterebilirler. Bu nedenle bazı genler için anne ve babaya ait genomlar embriyonun gelişmesine farklı şekillerde katkıda bulunurlar (46). *Imprinting* kromatinde DNA dizisini değiştirmeyen ancak genin ekspresyonunu etkileyen bir değişiklik ile oluşur. Dolayısıyla bir mutasyon değil, geri dönüşümü olanaklı bir gen inaktivasyonudur.

*Imprinting* çok basamaklı bir süreç olarak tanımlanabilir:

1. Kromozom, parental kökenine göre işaretlenir. Bunun, iki allelin birbirinden fiziksel olarak farklı bölümlerde bulunduğu bir dönemde (gametogenez ya da zigotta çekirdek birleşmesi öncesinde) kazanılan bir özellik olduğu öngörülür.

2. Parental orijine özgü işaret, hücre bölünmelerinde ve farklılaşma sürecinde korunur ve sürdürülür.

3. Bu işaret, transkripsiyonu gerçekleştiren hücresel birimler tarafından tanınır ve böylece '*monoallelik expression*' sağlanır.

4. Germ hücrelerinde silinerek yeniden uygun şekilde düzenlenir.

İlk işaretin nasıl konulduğu kesin olarak bilinmemekle birlikte, CpG metilasyonunun işaretleme mekanizması için en güçlü aday olduğu düşünülmektedir. Her defasında yeniden oluşturulduğu germ hücreleri dışında diğer tüm hücrelerde bu *imprint*ler korunmaktadır (47).

*Imprinted* genler, insan genomunun sadece % 0.1-1'ini oluşturdukları halde kapladıkları alanın hakettiğinden çok daha fazla ilgi çekmektedir (47). *Imprint* genin komşuluğundaki diğer genler de olaydan etkilenir. Bu etkilenme metilasyonun bifonksiyonel rolü nedeniyle karşılıklı *imprinting* şeklinde ya da komşu genlerin işbirliği ile çalışması şeklinde gerçekleşir. Bu nedenle farklı kromozomlarda büyüme, gelişme ve canlılığı etkileyen *imprinted* genler "*imprinting* merkezler" (*imprinting center*; IC) kontrolü altında kümeler halinde yerleşir ve birlikte kontrol edilir. IC'ler ayırt edici işaretin oluşturulması ve bunun gelişim boyunca sürdürülmesinden sorumlu bölgelerdir (48). Bu mekanizmanın etkilenmesiyle oluşan hastalıklar ise büyüme, gelişme ve metabolizmayı etkileyen bir grup konjenital hastalıktan oluşmaktadır (48-51). Ebeveyne özgü gen ekspresyon profilinin bozulduğu bu durum, gen regülasyonu (örneğin epigenetik mutasyonlar) ve daha nadir olarak gen kodlayan dizilimdeki (örneğin genetik mutasyonlar) değişiklikler nedeniyle oluşmaktadır.

Şu ana kadar klinik olarak birçok *imprinting* hastalığı ( SRS, BWS, Transient Neonatal Diabetes Mellitus, Psödohipoparatiroidizm tip 1b, Wang sendromu, Angelman sendromu, Prader-Willi sendromu ve Temple sendromu) tanımlanmıştır (41). Bu grubun klinik yelpazesinin oldukça geniş ve bulguların o hastalığa



patognomonik olmaması nedeniyle tanı sıklıkla atlanmaktadır. Bu gruptaki her bir hastalığın klinik bulguları ve spesifik kromozomal bölgelerdeki defektleri ayrı olarak tanımlanmasına rağmen geçmiş beş yıl içerisinde bu hastalıklar arasında birçok klinik ve moleküler çakışmalar olduğu saptanmıştır. Farklı klinik özellikler ile tanı alan hastalarda sadece hastalığa özgü bölgelerde değil diğer kromozomal bölgelerde de epigenetik bozukluklar olduğu görülmüştür. Bu çoklu bölge metilasyon sorunlarının tanımlanması, bu hastalıkların ayrı ayrı değil tek bir klinik antite olarak değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

### 2.3.3. Uniparental Dizomi (UPD)

Uniparental Dizomi bir çiftteki kromozomun iki üyesinin tümünün veya bir parçasının aynı ebeveynden gelmesi durumudur. Aktarılan kromozomların içerik olarak aynı ya da farklı olmasına göre izodizomi (UPID) ve heterodizomi (UPHD) olarak ayrılabilir. Kromozom bütünlüğü açısından incelendiğinde ise tüm kromozom UPD'si (komplet UPD) ya da kromozomun bir parçasına ait UPD (segmental UPD) olmak üzere yine iki tipi mevcuttur. Yalnızca moleküler yöntemlerle anlaşılabilen bu durumların çoğunda karyotip normaldir. UPD durumları ve bunların fenotipik etkileri birçok kromozom için tanımlanmıştır.

Şu ana kadar UPD'ye sebep olan birçok mekanizma tanımlanmıştır. En yaygın bilineni mayotik hatalardır. Mayoz I'de oluşan hata heterodizomi, Mayoz II'de oluşan hata izodizomiye sebep olmaktadır. Bunların dışında monozomik homologun kendini eşlemesi (*'monosomic rescue'*) ya da trizomik homologlardan birinin kaybedilmesi (*'trisomic rescue'*) de etiolojide rol oynayabilir.

UPD'ler ve fenotipik etkileri birçok kromozom için tanımlanmakla birlikte birçoğu için anne ya da baba kaynaklı UPD'nin klinik önemi olmadığı belirlenmiştir. Ancak SRS gibi bazı hastalıkların etiolojisinde önemli rol oynadığı ispatlanmıştır. UPD, hücre bölünmesi sırasında kromozom dağılımı olasılıklarına bağlı olarak farklı şekillerde karşımıza çıkmaya devam eden önemli genetik mekanizmalardan biridir. *Imprinted* genlerin kromozom lokalizasyonunu araştırmak için iyi bir kaynak, resesif genlerin haritalanması için bir fırsat oluşturmasıyla genetik biliminde önemini korumaktadır. Büyüme gelişme geriliği, bilişsel gerilik ve UPD ile de oluşabilecek

linik sendromlarda genetik danışma sırasında verilecek tekrarlama risklerinin belirlenmesinde var olup olmadığını belirlemek gerekmektedir (52).

## **2.4. Silver-Russell Sendromu**

### **2.4.1. Tanım**

Silver-Russell sendromu (MIM #180860) ciddi intrauterin ve postnatal büyüme yetersizliği, tipik yüz bulguları ve vücut asimetrisi ile karakterli klinik olarak oldukça heterojen bir hastalıktır (10-13). Sendrom ilk olarak 1953'te Silver ve arkadaşları tarafından konjenital hemihipertrofi, düşük doğum ağırlığı, kısa boy ve artmış idrar gonadotropinleri olan iki vakada tanımlanmıştır (53). Russell ise 1954'te intrauterin büyüme geriliği, tipik yüz bulguları ve vücut asimetrisi olan beş hasta tanımlamıştır (53). Her iki bilim insanı tarafından farklı klinik özellikler vurgulanmış olmakla birlikte tüm klinik tablo 1988 yılında Silver-Russell Sendromu olarak tanımlanmıştır.

Ortak fikir birliği ile kabul edilmiş tanı kriterlerinin yokluğu ve klinik özelliklerin oldukça geniş bir yelpazede olması SRS'yi sıklıkla olası bir tanı haline getirmektedir. Bu şüpheli vakaların sadece bir bölümü moleküler tanı alabilmektedir. Tipik fenotipik özelliklere sahip IC1'de metilasyon azlığı olan hastalarda genetik test yapmak için vaka seçimi daha kolay olmakla birlikte bu durum diğer moleküler gruplarda ve idiyopatik SRS'de oldukça zordur (11-12). Aynı zamanla geç çocukluk döneminde yüz bulguları belirginliğini yitirdiği için tanı koymak daha zor bir hale gelir.

Çeşitli araştırma grupları, genetik test yapılması amacıyla vaka seçimi için kullanılacak farklı klinik puanlama sistemleri geliştirmiştir. Bununla birlikte henüz evrensel olarak kabul görmüş klinik tanı kriterleri bulunmamaktadır. Şu ana kadar geliştirilmiş olanlar da bir araştırma laboratuvarında, o çalışma için seçilmiş hasta kohortlarında, özel ilgi alanı SRS olan klinisyenler tarafından yapılmış çalışmalara dayanmaktadır. Genetik testin temel klinik bilimin bir parçası olabilmesi için moleküler testten fayda görecektir hasta seçiminin sadece uzman hekimlerce değil, tüm klinisyenler tarafından yapılmasını sağlayan güvenilir kılavuzlar gerekmektedir. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda çeşitli tanı kriterleri geliştirilmiştir (54). Silver ve

Russell tarafından bildirilen hastalardan sonra ilk kez 1994 yılında Lai ve arkadaşları tarafından düşük doğum ağırlığı, postnatal boy kısalığı, tipik yüz görünümü, asimetri ve klinodaktili olarak beş tanı kriteri belirlenmiş, bunlardan üçünün varlığı durumunda SRS tanısı konulabileceği ileri sürülmüştür (55). 1999 yılında hastalığın tanı kriterleri Price ve arkadaşları tarafından düşük doğum ağırlığı, postnatal dönemde büyüme yetersizliği, nispeten normal baş çevresi, klasik yüz bulguları ve asimetri olarak tanımlanmış ve dördünün varlığı durumunda tanı konulabileceği belirtilmiştir (56). Bu iki farklı araştırmacı tarafından belirlenen tanı kriterleri, IC1'de metilasyon azlığının SRS ile ilişkili olduğu gösterilmeden önceki döneme denk gelmektedir. 2007 yılında Netchine ve arkadaşları özellikle IC1'de metilasyon azlığı olan hasta grubunu değerlendirme amaçlı kullanılabilecek tanı kriterleri oluşturmuştur. Zorunlu kriter olarak İUBK belirlenerek iki yaşından sonra kısa boy, rölatif makrosefali, belirgin alın, asimetri ve beslenme problemlerinin üçünün varlığında SRS tanısı koyulabileceği ileri sürülmüştür (57). Bartholdi ve arkadaşları, sadece IC1 metilasyon azlığı değil mUPD7 hastalarını da değerlendirmek için kullanılabilen kriterler geliştirmiştir. Klinik özellikleri; doğum parametreleri, postnatal seyir, asimetri, fasiyel ve diğer özellikler olmak üzere beş gruba ayırmışlardır. Her bir grup içinde en az üç özellik oluşturulmuş ve klinik bulguların varlığına göre 0-3 arası puanlandırma yapılmıştır (58). Tüm bu araştırmalar ile belirlenen tanı kriterlerinin dışında, araştırmalara dayanmayan Birmingham SRS puanlama sistemi geliştirilmiştir. SGA, boy kısalığı, göreceli makrosefali (baş çevresinin  $>1.5$  SD) ve asimetri olmak üzere dört kriter belirlenmiş ve üçünün varlığında SRS tanısı düşünüleceği ileri sürülmüştür.

#### **2.4.2. Epidemiyoloji**

SRS insidansı kullanılan tanı kriterlerine bağlı olarak farklı çalışmalarda 1/3000 ile 1/100.000 aralığında seyretmektedir. Ancak hafif klinik bulguları olan hastaların gözden kaçması, bazı moleküler gruplarda fenotipik özelliklerin çok belirgin olmaması, özellikle çocukluk döneminden sonra tipik yüz bulgularının belirginliğini yitirmesi ve sendromun çok iyi bilinmemesi nedeniyle insidansın daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Kadın ve erkeklerde eşit sıklıkta rastlanır. Sıklıkla sporadik olarak görülmektedir (59).

### 2.4.3. SRS'nin Moleküler Temeli

Genetik faktörlerin etiyojideki rolü SRS tanılı birden fazla çocuğu olan ailelerin gösterilmesi ile belgelenmiştir. Vakaların çoğu sporadik olmakla birlikte hastaların %19'una varan oranda ailesel bir yatkınlık olduğu Duncan ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Ailesel vakaların büyük bir kısmının otozomal dominant kalıtıldığını bildirilmiştir. Otozomal resesif kalıtım sekiz ailede düşünölmüş, fakat bunların altısında klinik tanı netleştirilememiştir. Bartholdi ve arkadaşları 11p15 bölgesinde IC1 metilasyon azlığı olan ilk ailesel vakaları yayınlamıştır. İlerleyen zamanlarda kromozom 7 ve 11'in kısa kolunun kalıtımsal dengesizlikleri olan birçok aile daha saptanmıştır. Aslında ikiz çalışmaları SRS'ye genetik faktörlerin katkısı olduğunun güçlü bir kanıtı olmakla birlikte ne yazık ki ikiz çalışmalarının sayısı şu anda yetersizdir (59).

SRS'nin bazı özelliklerinin kromozomal hastalıklarda sık görölen klinik bulgulara benzerliği olması birçok hastada saptanan kromozomal dengesizliklerin fenotipik özelliklerle ilişkisi olabileceğini akla getirmektedir. SRS tanısı düşünölen hastalarda birçok farklı kromozomal aberasyon varlığı gösterilmekle birlikte tanı kriterlerini taşıyan hastalarda sadece kromozom 7, 11, 15 ve 17 anormallikleri gösterilmiştir. Diğer kromozomlarda görölen aberrasyonlar hastalık için tipik olmayan klinik bulgular ile ilişkilendirilmiştir (60).

SRS'nin moleküler temeli yüksek oranda heterojenite göstermektedir. İlk tanımlanan moleküler mekanizma hastaların %10'unda gözlenen kromozom 7'nin her iki kopyasının maternal kaynaklı olduğu durum olan maternal uniparental dizomidir (mUPD). UPD birkaç mekanizma ile gerçekleşebilmekle birlikte en yaygın bilineni mayotik hatalardır. Bunların dışında, üç kromozomal kopyası olan döllenmiş ovumun normal diploid hale gelmek için bir kopyasını kaybetmesi sonucunda geriye kalan iki kopyanın da aynı ebeveynden gelmesi halinde UPD'ye neden olan bir genetik olay olan '*trisomic rescue*' ya da monozomik bir zigot oluşumu ve sonrasında bu kromozomun duplikasyonun gerçekleştiği '*monosomic rescue*' olarak ifade edilen mekanizma da etiyojide rol oynayabilir.

UPD nedeniyle ortaya çıkan hastalıklar da başlıca iki mekanizmayla gerçekleşmektedir. Ya resesif allelin homozigositeye redüksiyonu, ya da *imprinted* genlerin ekspresyonunun bozulması aberran fenotiplerin nedeni olabilir. SRS fenotipi ile ilişkili olan genler şu ana kadar net olarak tanımlanamamıştır. Hemen hemen tüm vakalarda mUPD(7) heterodizomi gözlenmesi nedeniyle trizomi 7 mozaisizminin etiolojide rol oynadığı düşünülmüştür. Bazı çalışmalarda SRS'li hastaların ne lökositlerinde ne de fibroblastlarında trizomi 7 hücrelerinin saptanmaması muhtemelen, trizomi 7 letalitesi ve bu vakalarda analiz edilen doku sayısının kısıtlılığı ile ilişkilidir. mUPD7 ilk kez *CFTR* gen mutasyonu için homozigot olup büyüme geriliği olan bir kistik fibrozis hastasında gösterilmiştir. Bu yüzden resesif mutasyonlar SRS fenotipinin nedeni olarak düşünülebilir, ancak ortak bir izodizomik segment varlığı mevcut değildir. Bu yüzden bu durumun en muhtemel açıklaması ya maternal kaynaklı büyümeyi baskılayan genlerin fazla ekspresyonu ya da paternal kaynaklı büyümeyi indükleyen genlerin az ekspresyonudur (61,81-82).

***Peg1/ Mest*** (*mesoderm expressed transcript*) geni kromozom 7q32'de yer alan ve SRS etiolojisinde rol oynadığı düşünülen bir *imprinted* genidir. Paternal eksprese edilen (*paternally expressed genes- Pegs*) sekiz gen içerisinde embriyolarda özellikle de mezoderimde en çok miktarda eksprese edilen ve kromozom 7'de ilk tanımlanan *imprinted* genidir. Ancak sekans ve metilasyon çalışmaları ile henüz gösterilen bir kanıt yoktur (62,64-67).

***Grb10*** (*Growth factor receptor-bound protein 10*) geni ise kromozom 7p13-p12.1 bölgesinde yer alan bir *imprinted* gen olup, *insulin receptor* (IR) ve *insulin-like growth factor-1 receptor* (IGF1R) gibi hücre yüzeyinde yer alan tirozin kinaz reseptörlerinin mitojenik sinyal yolağına, *epidermal growth factor receptor* (EGFR) ve *platelet derived growth factor receptor* (PDGFR) bağlanmasını kolaylaştıran sitoplazmik bir adaptör protein kodlamaktadır. Bu gen, SRS patogenezi için çok güçlü bir adaydır. SRS hastalarında görülen büyüme geriliğinin, *Grb10* geninin fazla ekspresyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte yeri ve ileri sürülen fonksiyonuna rağmen, SRS'nin *Grb10 imprinting* kaybı/fazla ekspresyonu veya fonksiyon kazanımına neden olan mutasyonlar nedeniyle olduğuna dair kesin bildirimler mevcut değildir (68-71).

Maternal 11p15 duplikasyonu taşıyan hastaların tanımlanmasını, bu kromozomal bölgenin epimutasyonları ile ilgili çalışmalar izlemiş ve 11p15 epimutasyonları tanımlanmıştır. Kromozom 11p15.5, *imprinting* merkezler tarafından kontrol edilen iki *imprinted* gen kümesi içerir. Diğer bir adı da farklılaşarak metillenen bölgelerdir (*differentially methylated region*; DMR). İlki IC1 (DMR1) tarafından kontrol edilen *IGF2 / H19 domaini*, diğeri ise IC2 (DMR2) tarafından kontrol edilen *CDKN1C / KCNQ1OT1 / KCNQ1 domaini*dir. SRS'ye neden olan moleküler mekanizmaların gerçekleştiği bu bölgeler Şekil 2'de belirtilmiştir.

Kromozom 11p15.5 bölgesinde IC1 (DMR1) tarafından kontrol edilen *domain* 1'de iki *imprinted* gen vardır: *IGF-2* ve *H19*. *IGF-2* paternal, *H19* ise maternal allelden eksprese edilir. *H19* ilişkili IC1 paternal kromozomda metile iken maternal kromozomda metile değildir. IC1'nin maternal kromozomdaki etkisi transkripsiyonel '*insulator*' modeli ile açıklanabilir. '*Insulator*', *promoter* ile *enhancer* arasında yer aldığında transkripsiyonu engelleyen DNA dizisi olarak tanımlanır. Bir *insulator* olan *H19* bölgesinin metilsiz olduğu durumda CTCF proteininin bu bölgeye bağlanması mümkün olurken metilasyon bu proteinin fonksiyonunu engeller ve *IGF-2* ekspresyonu oluşur. CTCF transkripsiyon faktörü olarak çalışmaktadır. Paternal kromozomda birinci *domain* metilasyonu bu bağlanmayı ve dolayısı ile önündeki *H19* geninin transkripsiyonunu engeller. CTCF bağlanmasının metilsiz olan maternal kromozoma özgü olduğu gösterilmiştir. CTCF bağlanması ile *H19*'dan transkripsiyon başlar. Diğer yandan metilsiz IC1, aktif *insulator* olarak *IGF-2 promoter* ile *enhancer* ilişkisini engeller ve *IGF-2* ekspresyonunu azaltır.

***IGF2*** fetal büyüme faktörü ve SRS patogenezi için mükemmel bir adaydır. Sadece paternal kromozomda ifade edilir. Hastaların fibroblastlarında *IGF2* ekspresyonu azalmasına rağmen serum düzeyleri normal sınırlardadır. Serum düzeylerindeki negatif bulgular nedeniyle IC1 bölgesindeki metilasyon azlığının *IGF2* salınımını direkt olarak etkilemediği, fakat bu bozulmuş *IGF2* üretiminin fetusta muhtemelen bir parakrin etkisinin olduğu düşünülmektedir. Bu genin, fetal ve erken çocukluk dönemindeki fazla ekspresyonu ile aşırı büyümeye neden olması ve sporadik tümörlerin büyük çoğunluğu ile ilişkisi BWS patogeneziinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. *H19* metilasyon azlığının, bu genin biallelik ekspresyonuna ve

*IGF2* ekspresyonunun ise azalmasına neden olarak büyüme geriliğine neden olduğu ileri sürülmektedir (72-74).

**H19** evrimsel süreçte çok iyi korunmuş bir protein kodlamayan RNA'dır. Maternal kromozomda ifade edilir. İlk tanımlanan kodlamayan transkriptlerden olmasına rağmen fonksiyonu hala tam bilinmemektedir. *H19*'un RNA kodlayan diziliminin uzaklaştırılmasının *IGF2* ekspresyonu üzerine etkisi yoktur. Bu da RNA'nın kendisinin fonksiyonel olmadığına kanıtıdır. Bununla birlikte *H19*'un memeli hayvanlar arasında çok iyi korunmuş bir gen olduğu gerçeği henüz bilinmeyen önemli fonksiyonları olduğunu göstermektedir. Yakın zamanda yapılmış bir çalışma *H19*'un, bazı mRNA'ların posttranskripsiyonel *downregülasyon*unda primer mikro RNA prekürsörü olarak fonksiyon gördüğünü göstermiştir (72-73). Artmış ekspresyonunda fetal hayattan başlayan ağır büyüme geriliğinin görülmesi, büyümenin sınırlandırılmasıyla ilişkili olduğunun kanıtı olarak kabul edilebilir (60-61).

*Domain 2*'de yer alan *imprinted* genler olan *KCNQ1OT1*, *KCNQ1* ve *CDKN1C* ve IC2 (DMR2) tarafından kontrol edilmekte ve kromozom 11p15.5'te sentromerik / proksimal yerleşmektedir. Burada maternal allel metiledir ve *KCNQ1OT1* sessiz iken, *CDKN1C* ve *KCNQ1* eksprese olmaktadır. Paternal allel ise metile değildir ve *CDKN1C* ve *KCNQ1* ekspresyonu azalırken *KCNQ1OT1* ifade edilir.

Kromozom 11p15 duplikasyonları ve mUPD11 daha nadir moleküler bulgular olmakla birlikte IC1 bölgesinde metilasyon azlığı farklı çalışmalara göre %40-60 oranla şu anda bilinen temel moleküler değişikliktir. Bununla birlikte, lenfositlere dayanan rutin tanısal yaklaşım, mozaisizmin lenfositler dışındaki dokuları da etkileyebilmesi nedeniyle bir grup hastayı saptamakta başarısız olabilir. Ayrıca IC1'de metilasyon azlığının düzeyi fenotipin ciddiyetini etkileyebilmektedir. IC1 hipometilasyonu saptama oranları farklı çalışmalarda %19.3 ile %63.8 arasında değişmektedir. Bu büyük farklılıklar kullanılan metodların farklılığına bağlı olmakla beraber büyük oranda genetik test için kullanılan tanı kriterlerinin çeşitliliği ve farklılığı ile ilişkilidir (74).

11p15'deki IC2'nin SRS patogenezinde rolü olup olmadığı hala tartışmalıdır. IC2 bölgesine sınırlı duplikasyonu olan bir hasta bildirildiği için bu bölgenin de

etiyojide rolü olabileceği düşünülmüştür. Aslında tüm 11p15 duplikasyonu taşıyıcılarında her iki IC de etkilenmelidir. IC1'de hipometilasyon saptanan hastaların sadece %4'ünde IC2 hipometilasyonu saptanması oldukça ilginçtir, fakat bu durum düzgün bir metilasyon sağlanmadaki genel başarısızlığı yansıtmaktadır (74).

Hemen tüm SRS hastalarında saptanan 11p15 epimutasyonunun mozaik dağılımı, döllenme sonrası hatayla ilişkilendirilebilir. Bu mozaiklik klinik olarak kendini birçok hastada bulunan hemihipoplazi ile göstermektedir. İkiz çalışmalarından alınan veriler de bu mozaik dağılımla uyumludur (76-77). Şu ana kadar dört diskordant, bir tane de konkordant monozyotik ikiz bildirilmiştir. Diskordant tek yumurta ikizleri IC1 epimutasyonunu lenfositlerde taşımalarına rağmen etkilenmiş ikizin cilt fibroblastlarında metilasyon kaybı olduğu gösterilmiştir (78-79). BWS ikizlerinde de benzer bulgulara rastlanmıştır. Sonuçta IC1 ve IC2 epimutasyonlarının döllenme sonrası meydana gelmesi, SRS ve BWS tanılı ikizlerin birbiriyle uyumsuzluğunu açıklamaktadır. Tüm bu farklı durumlardan alınan veriler, aberran metilasyon mozaikliğinin fertilizasyon sonrası oluşan epigenetik hatadan kaynaklandığını ve *imprinted* bölgelerdeki metilasyon sinyallerinin korunmasını etkilediğini göstermektedir (80-82).

#### 2.4.4. SRS'deki Moleküler Değişiklikler

SRS'de ilk tanımlanan moleküler mekanizma olan mUPD(7) hastaların yaklaşık %7-10'unda bulunur. Bu hastalardaki SRS fenotipinin en muhtemel açıklaması kromozom 7'deki *imprinted* genlerin bozulmuş ekspresyonudur. mUPD(7) genellikle büyüme geriliği ve SRS fenotipik özellikleri ile uyumlu olmakla birlikte paternal UPD(7)'de bu bulgulara rastlanmaz. Kromozom 7p32'de yer alan *Peg1/Mest* ve 7p13-p12.1 bölgesinde yer alan *Grb10 imprinted* genleri suçlanmakla birlikte patofizyolojideki rolü kanıtlanmamıştır. Sonuç olarak maternal kaynaklı büyümeyi baskılayan genlerin fazla ekspresyonu ya da paternal kaynaklı büyümeyi indükleyen genlerin az ekspresyonu nedeniyle SRS geliştiği düşünülmektedir.

Yakın zamanda gösterilmiş olan ve SRS'de farklı çalışmalara göre hastaların %35-60'ında görülen moleküler değişiklikte, birinci *domain*'de paternal allelin metilasyonunun kaybı nedeniyle normalde paternal allelde eksprese olan *IGF2*



ekspresyonunun kaybı ve normalde sessiz olan *H19* ekspresyon paterni gelişir (Şekil 2B). Hastaların %1'inden azında ise selektif *IGF2* veya *H19* metilasyon kaybı saptanmaktadır. Kromozom 11p15.5 bölgesindeki *imprinted* gen kümelerinde m(UPD) SRS'li hastaların %1-2'sinde bulunur. Bu hastalarda kromozom 11p15.5 için iki kopya maternal allel bulunurken bu bölge için paternal allelin katkısı yoktur. Yani mUPD nedeniyle her iki *domainde* biallelik maternal ekspresyon profili oluşur.

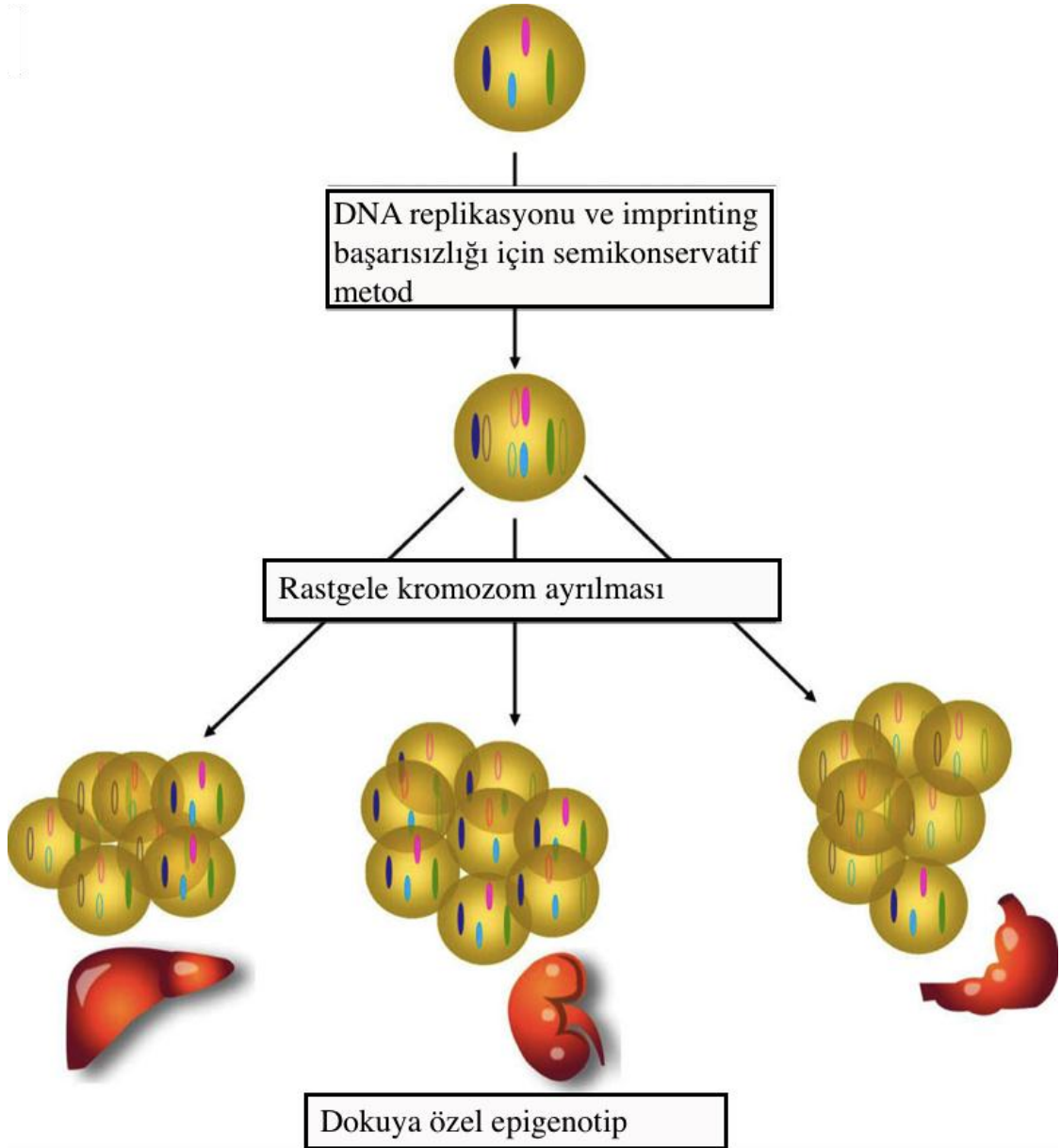
Hastaların yaklaşık %4'ünde maternal 11p15.5 segmental duplikasyonu nedeniyle bir kopya paternal ekspresyona karşılık iki kopya maternal ekspresyon paterni gösteren *imprinted domain* oluşması da gözlenen mekanizmalardan biridir. Bu hastaların hiçbirinde sentromerik IC1'de *KCNQ1OT1* geninde metilasyon değişikliklerine rastlanmamakla birlikte bazı hastaların lenfosit ve fibroblastlarında parsiyel metilasyon azlığı olduğu görülmüştür. Dolayısıyla *H19* gibi maternal ekspresyonu olan büyüme baskılayıcı genlerin ekspresyonu artarken *IGF-2* başta olmak üzere paternal eksprese olan büyüme düzenleyici genlerin ekspresyonu kaybı olur (Şekil 2B). İlaveten, bu bölgedeki metilasyon azlığının düzeyinin klinik bulguların ağırlığı ile ilişkili olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur.

İkinci *domain*'deki metilasyon bozukluklarının etiyolojide rolü olabileceğine dair kanıtlar sadece vaka raporları ile sınırlı olmakla birlikte SRS'li hastaların %1-4'ünde ikinci *domain*'de maternal kopyanın metilasyonunun kaybı nedeniyle normalde maternal allelde sessiz olan *KCNQ1OT1* eksprese olur ve *CDKN1C* ve *KCNQ1*'in maternal ekspresyonunun kaybı gerçekleşir. Bu mekanizma ile gerçekleşen intrauterin büyüme geriliğinin, hücre çoğalması ve büyüme geriliğinin negatif düzenleyicisi olan *CDKN1C* veya *PHLDA2* geninin artmış ekspresyonu ile meydana geldiği gösterilmiştir.

*H19* normal metilasyonu ile birlikte kromozom 6q25-q27 bölgesinde yer alan *IGFR2R* hipermetilasyonu da yine nadir görülen mekanizmalardan biridir.

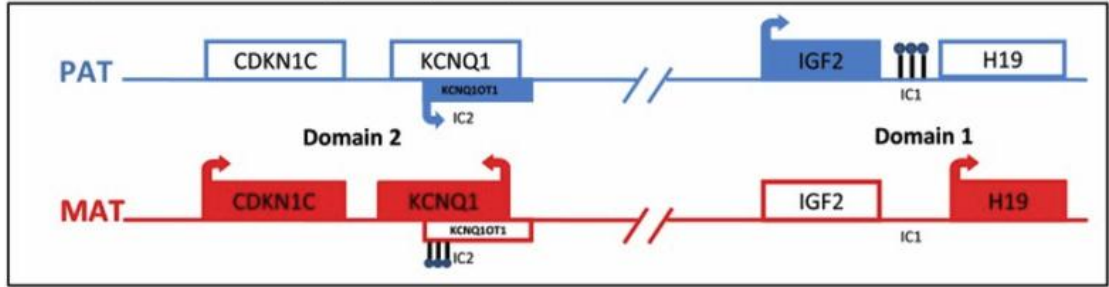
7 ve 11 dışında kromozom 1, 8, 15 ve 17'de de SRS için aday olabilecek bölgeler yer almaktadır. Bunların daha iyi anlaşılabilmesi için bu moleküler düzensizliklerin daha fazla sayıda gösterilmesi gerekmektedir.

Hastaların yaklaşık %30-40'ında SRS'nin moleküler etyolojisi belirlenememiştir. Bu grupta mozaisizm nedeniyle aslında dokuda var olan metilasyon azlığı lenfositlerde gösterilemeyen, diğer bölgelerde metilasyon düzensizlikleri (Şekil 1) ya da hala tanımlanmamış başka mekanizmaları olan hastalar yer alabilir.



**Şekil 1.** Embriyogenez sırasında *imprinting* bozukluğu varlığında dokuya özgü epigenotip oluşum mekanizmaları. İçi dolu semboller normal metillenmiş kromozomları, boş olanlar ise *imprinting* bozukluğu nedeniyle metillenmemiş kromozomları temsil etmektedir.

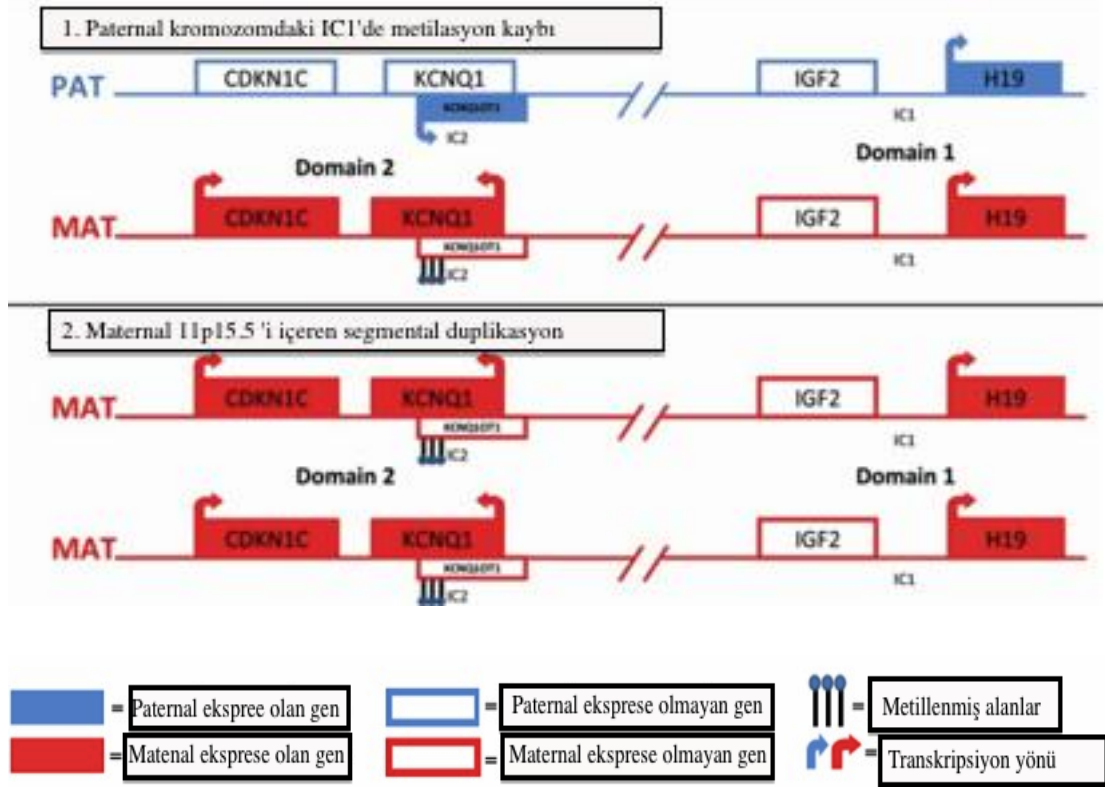
**Şekil 2.1. Kromozom 11p15.5 ilişkili Silver-Russell Sendromu- *Imprinting Cluster* (IC) şematik gösterimi (75)**



**Şekil 2A.** Kromozom 11p15.5'deki IC fonksiyonel olarak iki *domain*'e ayrılır.

**Domain 1.** Bu bölgenin düzensizliği 11p15.5 ilişkili SRS'ye neden olur. Bu bölgede iki *imprinted* gen vardır: *IGF-2* ve *H19*. *H19* ilişkili IC1 paternal kromozomda metilli iken maternal kromozomda metilsizdir; bu yüzden *IGF-2* paternal, *H19* ise maternal allelden eksprese edilir.

**Domain 2.** *CDKN1C*, *KCNQ1* ve *KCNQ1OT1* başta olmak üzere birçok *imprinted* gen içerir. Normal durumda, ikinci *domainde* maternal allel metiledir ve *KCNQ1OT1* sessizdir. Bu sayede *CDKN1C* ve *KCNQ1* eksprese olabilir. Paternal allel ise metile değildir ve *KCNQ1OT1* ekspresyonu nedeniyle *CDKN1C* ve *KCNQ1* sessizdir.



**Şekil 2B.** SRS'ye neden olan iki *imprinting* bozukluğu örneği

1. Paternal IC1'de metilasyon kaybı sonucu H19 ekspresyonu ve IGF-2 ekspresyonu azlığı
2. Maternal 11p15.5 segmental duplikasyonu

SRS'de görülen moleküler bozukluklar ve izlenmesi gereken tanı yöntemleri Tablo 2.2'de verilmiştir.

**Tablo 2.2. SRS’de görülen moleküler bozukluklar ve tanı yöntemleri (9)**

<b>SRS moleküler tipi</b>	<b>Genetik mekanizma</b>	<b>Test metodu</b>	<b>Mutasyon / Genetik düzensizlikler</b>	<b>Genetik mekanizmanın yüzdesi</b>
<b>Kromozom 11p15.5 ilişkili SRS</b>	Paternal kromozomda IC1’de metilasyon kaybı	Metilasyon analizi	Paternal IC1’de metilasyon azlığı	%35-50
	Maternal 11p15.5 duplikasyonu	Delesyon/duplikasyon analizi	11p15.5 duplikasyonu	%1-4
<b>Kromozom 7 ilişkili SRS</b>	UPD (maternal)	UPD analizi (farklı metodlar)	Kromozom 7 maternal dizomi	%7-10
	Delesyon/duplikasyon	Delesyon/duplikasyon analizi	Kromozom 7 anomalileri	Nadir

## 2.4.5. Klinik Bulgular

### 2.4.5.1. Büyüme

SRS'li hastalarda sıklıkla intrauterin hayatın ortalarında başlayıp, sonrasında boy kısalığı ile sonuçlanan bir büyüme geriliği görülür. Büyüme hızı normal olmakla beraber esas problem boy kısalığı ve çok düşük vücut kütle indeksidir. Term bebeklerde doğum ağırlığı genellikle 1900-2000 gram civarındadır. Hastaların büyük bir kısmında doğum kilosuna ilaveten değerlendirme anındaki vücut ağırlığıyla boyu yaşa ve cinsiyete göre iki SD'nin altındadır. Boy uzunluğu dört yaş civarında normalden üç ile dört SD aşağıdadır. Kemik yaşı da genellikle gecikmiştir. Yine de büyüme parametrelerinin etkilenme şiddeti arasında ciddi farklılıklar vardır. hGH tedavisi almamış SRS tanılı yetişkin erkeklerin boyu ortalama 151.2 cm iken kadınların ise 139.9 cm'dir (61,83-84). Bazı hastalar tedavisiye rağmen normal boya ulaşamamaktadır. Hastaların bir kısmında normal alt-üst segment oranıyla birlikte boya göre kısa kulaç uzunluğu saptanmasına rağmen genellikle orantılı bir büyüme beklenir (85-88). Plasental yetmezliğe bağlı İUBK gelişen hastaların aksine çoğunluğu doğum sonrası dönemde büyüme eğrisini yakalayamazlar. Geç çocukluk döneminde yaşitlarını yakalayan hastalarda klasik SRS dışında başka durumların varlığı akla gelmelidir. Hastalarda orantılı boy kısalığına normal sınırlarda baş çevresi uzunluğu eşlik etmektedir.

Etkilenen kısmın büyüme azlığına bağlı olarak gelişebilen hemihipotrofi, ekstremiteler uzunluğunda asimetriye neden olabilmektedir. Bunun dışında gövde ve yüzü de etkileyebilen asimetri hastaların üçte birinde görülmektedir. Ekstremiteler arasındaki uzunluk farkı en fazla iki buçuk cm olmakla birlikte erişkin çağda genellikle iki cm'dir. Çocukluk döneminin ilerleyen zamanlarında veya erişkin dönemde bu farkta bir değişiklik olmamaktadır (6-13).

Büyüme geriliğinin mekanizması yapılan çalışmalarda tam olarak aydınlatılamamıştır. Hastaların büyük bir kısmında hGH eksikliği varlığı gösterilmiştir. IC1'de metilasyon azlığı saptanan hastalarda büyüme geriliğinin çok önemli bir prenatal büyüme faktörü olan IGF-2 üretiminin azalması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Sağlıklı kontrollere göre bu epimutasyonu taşıyan hastaların

fibroblast kültürlerinde daha az miktarda IGF2-mRNA olduğu gösterilmiştir. IC1 metilasyon durumunun, önemli bir fetal ve postnatal büyüme faktörü olan IGF-1 regülasyonunda etkisi olmadığı düşünülmektedir. IGF-1 büyüme ve gelişmede rolü olan önemli bir protein molekülüdür. IGF-1 ve IGF-2 biyolojik etkilerini IGF-1R aracılığı ile göstermektedir. Yakın zamanda, *IGF2/H19* metilasyon azlığı bulunan hastaların kısa boy ve düşük kilolarına rağmen IGF-1 ve IGF-1R düzeylerinin yüksekliği IGF-1 direnci varlığını düşündürmektedir. Bu durumun aksine mUPD7 olan hastalarda ise boy ve kilolarına göre düşük IGF-1 düzeyleri olduğu görülmüştür. Şu ana kadar SRS tanılı hastalarda IGF-1 reseptör (IGF-1R) defekti bildirilmediği için büyüme geriliği patogenezinde rol oynadığı düşünülmemektedir (89-93).

#### **2.4.5.2. Kraniyofasiyal bulgular**

SRS tanılı hastalarda belirgin alın ve dar çeneyle karakterli üçgen yüz görünümü, aşağı dönük ağız kenarları, düşük yerleşimli kulaklar, göz ve diş anomalileri gibi karakteristik yüz bulguları olabilir. SRS'li hastaların yüz bulguları sıklıkla çocukluk döneminden sonra hafifler, bu yüzden etkilendiği düşünülen adolesan ve erişkin hastaların erken çocukluk çağındaki fotoğraflarını değerlendirmek yararlı olur (6,56-60,83).

#### **2.4.5.3. Diğer konjenital anomaliler**

Büyüme ve gelişme geriliğinin yanı sıra Pierre-Robin sekansı, yarı damak, bifid uvula, mikrodonti, yüksek damak, rölatif mikrognați ve küçük ağız yapısına ikincil gelişen diş bozuklukları gibi anomaliler hastaların az bir kısmında görülmektedir (94-95).

Hipospadias ve kriptorşidizm en sık görülen genitoüriner problemler arasında olmakla birlikte hidronefroz, renal tübüler asidoz, posterior üretral valv ve atnalı böbrek gibi renal anomaliler de görülmektedir (96).

#### **2.4.5.4. Beslenme problemleri**

Erken çocukluk döneminde beslenme problemleri SRS'nin temel özelliklerinden biridir. Aileler sıklıkla doğumdan itibaren olan emme ilgisizliği ve

iştah yokluğundan şikayet ederler. Hastaların %34'ünde gastroözefageal reflü, %25'inde özefajit, %32'sinde beslenmeye karşı isteksizlik bildirilmiştir (6). Başka bir çalışmada beslenme problemlerinin %86 oranla en sık görülen özellik olduğu belirtilmiştir. Hastaların birçoğunda nazogastrik ya da gastrostomi tüpüyle beslenme ihtiyacı olmaktadır. Bu problemler zamanla birkaç yıl içinde düzelme eğilimi gösterir. İştahlarında belirgin değişiklik olmamakla birlikte okul çağına geldiklerinde genellikle normal beslenme eğilimi göstermeye başlamaktadır (97).

#### **2.4.5.5. İskelet anomalileri**

SRS tanılı hastalarda iskelet sorunları genellikle alt ekstremitte uzunluğu ve çap farklılığı ile sınırlı olmakla birlikte beşinci parmakta klinodaktili en sık tanımlanan iskelet anomalilerinden birini oluşturmaktadır. Metakarp ve falanks problemleri, skolyoz, ayak parmaklarında sindaktili ve gelişimsel kalça displazisi de bu hastalarda nadir gözlenen iskelet bulguları arasındadır. SRS'den etkilenen hastaların yaklaşık %20'sinde terminal interfalangeal eklemlerde gelişen artrogripozisle birlikte jeneralize kamptodaktili görülebilmektedir. Yine hastaların büyük çoğunluğunda kemik yaşı geridir. Alt ekstremitte uzunluk farkı olan bazı hastalara ekstremitte uzatma, gelişimsel kalça displazisi olanlara ise pelvik ve/veya femoral osteotomiler yapılmaktadır (98).

#### **2.4.5.6. Gelişim problemleri**

Büyüme ile ilgili sorunlara ilaveten bilişsel gelişim SRS tanılı hastaların ailelerinin en çok merak ettikleri konuların başında gelmektedir. İlk yapılan çalışmalarda normal zeka gelişimi olduğuna dair birçok veri olmasına rağmen son yıllardaki yayınlarda SRS tanılı hastaların hem gelişme geriliği (motor ve bilişsel gelişim), hem de öğrenme problemleri açısından ciddi risk altında olduklarına dair birçok kanıt mevcuttur (6,13). Lai ve arkadaşları tarafından yaşları altı ile 12 arasında değişen SRS tanılı 20 hastanın değerlendirildiği bir çalışmada ortalama '*Intelligence quotient*' (IQ) 86 olarak bulunmuştur. SRS tanılı 36 hastanın katıldığı Noeker ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada ise ortalama IQ düzeyleri 95.7 iken kardeşlerinin 104.2 olarak saptanmıştır. Yine aynı çalışmada bilişsel gelişimin doğum boyu, doğum kilosu, hGH tedavisi, fenotipik bulguların ağırlığı ya da cinsiyet ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Global gelişme geriliği hastaların yaklaşık üçte birinde



mevcuttur. Erken dönemde motor gecikme oldukça sık görülür ve bu durum bebeklik döneminde nispeten büyük baş çevresi ve düşük kas kütlelerinin etkisine bağlanmaktadır.

Konuşma gecikmesi de nispeten sık görülen bulgulardandır. Davranış problemleri genellikle nadir ve hafiftir. Literatürde iki hastada otistik regresyon bildirilmiştir (6,13,100-102).

#### **2.4.5.7. Fazla terleme ve hipoglisemi**

Ciltaltı yağ dokularının azlığı, oldukça zayıf ve iştahsız olmaları hipoglisemi açısından risk altında olmalarının sebepleri arasındadır. Zayıf iştahları ve beslenme azlığına ikincil olarak düşük miktarda kalori alımı, kas kütleleri azlığı ve birçok hastada mevcut olan hGH eksikliği hipoglisemi gelişimini açıklamaktadır. Fazla terleme gibi hipoglisemi belirtileri birçok hastada gözlenmekle birlikte bazı hastalar hipoglisemi ataklarını asemptomatik atlattıklarıdır. Terleme hipoglisemi ile ilişkilendirilmiş olsa da hipoglisemi olmadan da görülebilmektedir (6,13,103).

#### **2.4.5.8. Myoklonus-distoni**

mUPD(7) olan hastaların myoklonus-distoni gelişimi açısından risk altında olduğunu gösteren çalışmaların sayısı artmaktadır. Bu hastalık kromozom 7q21'de yer alan paternal kaynaklı *imprinted* bir gen olan  $\epsilon$ -*sarcoglycan* (*SGCE*) mutasyonları ile ilişkilidir. Genellikle erişkin dönemden önce hafif distoni (servikal distoni veya '*writer's cramp*' gibi) ve/veya özellikle kol veya aksiyal kaslarda myoklonik atımlar gelişmektedir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada mUPD(7) olan hastaların %15'inde benzer şikayetler olduğu görülmüştür (6,13,104).

#### **2.4.6. Yardımcı Üreme Teknikleri (*Assisted Reproductive Techniques; ART*)**

Yakın zamanda yapılan birçok çalışmada yardımcı üreme teknolojisi ile oluşan gebeliklerde Beckwith-Wiedemann Sendromu ve Angelman Sendromu gibi *imprinting* hastalıklarının sıklığının arttığı gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalar da temel olarak vaka raporlarına dayanmaktadır. Mevcut bilgilerimizle SRS ve ART arasında, diğer

*imprinting* hastalıklarına benzer şekilde ilişki kurmak olanaklı değildir. Şu ana kadar bildirilen ART vakaları Tablo 2.3'te verilmiştir. ART sonrası doğduğu bildirilen 13 hasta mevcuttur. Bu hastaların üçünde moleküler veriler mevcut olmayıp diğer hastaların 9'unda IC1'de metilasyon azlığı saptanmıştır. Diğer hastada ise *MEST* lokusunda metilasyon kazanımı varlığı görülmüştür. Bununla birlikte SGA, ART sonrasında oldukça sık bir bulgu olup *imprinting* defektlerinin bu gözleme katkısı olduğu ileri sürülmektedir.

Sonuç olarak az sayıda hasta ile yapılmış kısıtlı sayıda çalışmada SRS sıklığının da arttığı farkedilmekle birlikte ilişkili olduğunu söyleyebilmek için daha fazla sayıda çalışma yapılması gerekmektedir. Bu artışın nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte embriyo kültürü etkisi veya infertilite ile ilişkili olabilmektedir (105-115).

**Tablo 2.3. ART ile ilişkili olduğu bildirilen SRS vakaları (77)**

Hasta	Cinsiyet	Gebelik	Konsepsiyon	Fenotip	Moleküler data
Svensson (2005)-1	kız	tek	IVF/ICSI	Tipik	?
Svensson (2005)-2	kız	tek	IVF/ICSI	Tipik	?
Bliek (2006)	kız	tek	IVF/ICSI*	Benzer (pre/postnatal büyüme geriliği)	IC1'de metilasyon azlığı
Kagami (2007)	kız	ikiz	IVF	Tipik	<i>MEST</i> parsiyel metilasyon fazlalığı
Galli-Tsinopoulou (2008)	kız	tek	IVF	Tipik +(mezokardi ve klitoral büyüme)	?
Douzgou (2008)	erkek	tek	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı
Chopra (2012)	kız	ikiz	IVF/ICSI	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı

Hiura (2012)-1	?	?	IVF	Tipik	IC1, <i>ZNF597</i> metilasyon azlığı <i>PEG1</i> , <i>PEG10</i> , <i>GRB10</i> metilasyon artışı
Hiura (2012)-2	?	?	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı
Hiura (2012)-3	?	?	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı <i>PEG1</i> metilasyon artışı
Hiura (2012)-4	?	?	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı <i>PEG10</i> metilasyon artışı
Hiura (2012)-5	?	?	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı <i>GRB10</i> metilasyon artışı
Cocchi (2013)	kız	ikiz	IVF	Tipik	IC1'de metilasyon azlığı

\*: *intracytoplasmatic sperm injection*

#### 2.4.7. Epigenotip-Fenotip İlişkisi

SRS'nin etiolojisindeki moleküler farklılıkların klinik bulgular üzerindeki etkisini aydınlatmak amacıyla birçok çalışma yapılmıştır (6,13,57-59,116-124).

mUPD7 saptanan hastalarla yapılan ilk çalışmalarda bu hastaların daha hafif bir fenotipi olduğu gösterilmiştir. Ciddi beslenme problemleri, konuşmada gecikme ve aşırı terleme gibi özellikler nispeten sık olmakla birlikte tipik yüz görünümü ve asimetri bu grupta daha az görülmektedir. Birinci *domainde* metilasyon kaybı olan gruptaki hastalar ise İUBK, boy kısalığı, tipik kraniyofasiyel özellikler ve birçoğunda olan asimetri ile daha tipik bir fenotipe sahiptir. Ancak bu iki moleküler grubu, klinik özelliklere göre açıkça ayırt etmek olanaksızdır (6,13,57-59,116-118).

Bazı çalışmalar fenotip ağırlığının metilasyon azlığı derecesiyle ilişkili olabileceğini ileri sürmüş olsa da bu durum tam olarak netlik kazanmamıştır. Bruce ve arkadaşları *HpaII* veya *NotI* gibi metilasyona duyarlı restriksiyon enzimleri yardımı ile *H19* metilasyon düzeyini ölçüp fazla hipometilasyon, orta hipometilasyon ve normal metilasyon olarak sınıflandırma yaparak bu hastalarda klinik özellikleri değerlendirmişler. Birinci *domainde* fazla metilasyon kaybı SRS tanılı hastalarda, orta düzeyde hipometilasyon kaybı veya mUPD7 olan hastalara göre daha yüksek oranda ekstremite asimetrisi, mikrognati ve iskelet sorunları (anormal yüksek lomber vertebra, lomber hareket azlığı, radiohumeral dislokasyon, farklı el ve ayak anomalileri, sindaktili ve skolyoz) olduğu gösterilmiştir. Bunlar dışında kızlarda Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser sendromu eş değeri olan konjenital uterus ve üst vajina aplazisi, erkeklerde ise kriptorşidizm ve testiküler agenezi fazla metilasyon kaybı olan grupta bildirilen diğer sorunlardandır (117).

Klinik bulguların çok geniş bir yelpazede oluşu açısından olası açıklamalar; birinci *domainde* metilasyon kaybının doku mozaisizmi içermesi, *H19* veya *IGF2*'de seçici metilasyon azlığı, çoklu *imprinting* bölgesinin metilasyon kaybı olabilir (122).

SRS'den etkilenmiş hastaların büyük bir kısmında doğum kilosu ve boyu iki SD'nin altındadır. Plasental yetmezliğe bağlı İUBK hastalarının aksine doğum sonrası dönemde büyüme hızını yakalayamazlar. Bazı çalışmalara göre büyüme parametrelerinin etkilenme derecesi konusunda farklı moleküler gruplar arasında farklılıklar vardır. Bu çalışmalarda mUPD7 saptanan hastalarla kıyaslandığında birinci *domainde* metilasyon azlığı olan grupta doğum ağırlığının daha düşük, doğum boyunun ise daha uzun olduğu saptanmıştır (123,124).

Üçgen görünümlü yüz, alın belirginliği, aşağı dönük ağız kenarları ve mikrognati tipik özelliklerdir. Göreceli makrosefali ve frontal çıkıntının birinci *domainde* metilasyon azlığı olan hastalarda daha sık olması, bu hastaların daha karakteristik bir yüz görünümü olmasını açıklamaktadır. Üçgen yüz görünümüne ise mUPD7 olan hastalarda daha sık rastlanmaktadır. Ancak hastaların bir kısmında bu bulguların çoğunluğu saptanmayabilir. Yaşla birlikte tipik yüz görünümü bulguları daha az aşikar bir hale gelir. Büyük çocukların erken bebeklik fotoğraflarına bakmak fikir verici olabilir.

Asimetri gövde, yüz ve/veya ekstremiteleri etkileyebilmekle birlikte hastaların üçte birinde görülmektedir. Yetişkin yaşta alt ekstremitede uzunluk farkı yaklaşık iki cm'dir (6,13). Asimetri, birinci *domainde* metilasyon azlığı olan grupta daha sık görülmektedir ve bu durum doku seviyesinde metilasyon azlığı açısından mozaikliği yansıtır olabilir.

Beslenme problemleri erken çocuklukta SRS'den etkilenmiş hastalarda önemli problemlerden biridir. Aileler sıklıkla çocuklarının emme isteksizliğinden ve iştahsızlığından yakınırlar. Yapılan bir çalışmada beslenme problemlerinin %86 oranla en sık karşılaşılan klinik bulgu olduğu gösterilmiştir (6,13). Bu problemler hayatın ilk birkaç yılı içerisinde gitgide düzelir. Okul çağına geldiklerinde iştahları oldukça az olmakla birlikte normal beslenirler. Beslenme sorunları açısından farklı moleküler gruplar arasında anlamlı bir fark yoktur (6,13).

Hastaların üçte ikisinde özellikle bebeklik döneminde aşırı terleme ve bazı hastalarda hipoglisemi bildirilmiştir. Ancak iki temel moleküler bozukluk olan grup arasında bu açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır (6,13).

Entellektüel disabilite, SRS'den etkilenmiş hastaların üçte birinden çoğunda bildirilmiştir (6,13). Global gelişme geriliği genellikle hafiftir ve çocukluk döneminin sonuna kadar aşikar hale gelmeyebilir. mUPD7 olan hastalarda gelişme geriliği ve konuşmada gecikme daha sık olduğu için özel eğitim alan hastaların sayısı bu moleküler grupta daha fazladır.

Konjenital anomaliler bu hastaların oldukça az bir kısmında gösterilmiştir. Yarık damak, konjenital kalp hastalıkları, genitoüriner anomaliler ve ekstremitte defektleri bunların bir kısmıdır. Hastaların yaklaşık %20'sinde yaygın kamptodaktili olmakla birlikte diğer eklem kontraktürleri ile birlikte beşinci parmakta klinodaktili normal popülasyona göre oldukça sıktır. Klinodaktili dahil tüm bu anomaliler birinci *domainde* metilasyon azlığı olan grupta daha sık görülmektedir (6-13).

Tablo 2.4'te SRS'de epigenotip-fenotip korelasyonu gösterilmiştir.

**Tablo 2.4. SRS' de Epigenotip – Fenotip Korelasyonu (13)**

<b>KLİNİK ÖZELLİKLER</b>	<b>MOLEKÜLER ETİYOLOJİ</b>
<b>ASİMETRİ</b>	mUPD7 (daha az sıklıkta) IC1'de metilasyon kaybı (en sık)
<b>BÜYÜME GERİLİĞİ</b> <b>DOĞUM AĞIRLIĞI <math>\leq -2SD</math></b> <b>BOY <math>\leq -2SD</math></b> <b>RÖLATİF MAKROSEFALİ</b>	IC1'de metilasyon kaybı (en sık) mUPD7 (en sık) mUPD7 (en sık)
<b>GELİŞİM</b> <b>I.GLOBAL GELİŞME GERİLİĞİ</b> <b>II.KONUŞMA PROBLEMLERİ</b>	mUPD7 (en sık) IC1'de metilasyon kaybı (daha az sıklıkta)
<b>BESLENME PROBLEMLERİ</b>	mUPD7 (en sık) IC1'de metilasyon kaybı (daha az sıklıkta)
<b>AŞIRI TERLEME</b>	mUPD7 (en sık) IC1'de metilasyon kaybı (daha az sıklıkta)
<b>KONJENİTAL ANOMALİLER</b>	IC1'de metilasyon kaybı (en sık) mUPD7 (daha az sıklıkta)
<b>MYOKLONUS-DİSTONİ</b>	mUPD7
<b>KRANİYOFASİYEL ÖZELLİKLER</b> <b>ÜÇGEN YÜZ</b> <b>ALINDA BELİRGİNLİK</b> <b>MİKRO/RETROGNATİ</b> <b>KULAK ANOMALİLERİ</b>	mUPD7 (en sık)/ IC1'de metilasyon azlığı mUPD7 / IC1'de metilasyon azlığı (eşit) mUPD7/ IC1'de metilasyon azlığı (en sık) mUPD7 (en sık)/ IC1'de metilasyon azlığı
<b>5. PARMAKTA KLİNODAKTİLİ</b>	IC1'de metilasyon kaybı (en sık) / mUPD7

## 2.4.8. Tanı ve Aile Öyküsü

### 2.4.8.1. Aile Öyküsü ve Klinik Tanı

SRS genetik ve klinik olarak oldukça heterojen bir hastalıktır. Etkilenmiş bireylerin çoğunda sporadik görülür. Literatürde otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı kalıtım modeli olan vakalar bildirilmiştir. Ayrıca hem konkordant hem diskordant ikizler bildirilmiştir. Ailesel vakaların büyük bir kısmında da *de novo* otozomal dominant kalıtım görülmektedir. Şu ana kadar otozomal resesif kalıtım gösteren sadece birkaç vaka vardır. Kardeşte tekrarlama riski çok düşük olduğu için diğer kalıtım şekilleri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu durum ebeveynlerden birinde *imprinted* gen veya IC'de bir mutasyon varlığında söz konusu olabilir (53,99).

IC1'de metilasyon kaybı gibi moleküler değişikliklere bağlı SRS'de, hastanın çocuğunda tekrarlama riski germ hücrelerindeki *imprint* normale düşüktür. mUPD7'ye bağlı SRS'de de hastanın çocuğunda tekrarlama riski düşüktür, ancak bu konuyla ilgili veriler yeterli değildir.

Şu ana kadar Netchine, Bartholdi, Eggermann ve Wakeling tarafından yapılan farklı çalışmalardan edinilen verilere dayanarak tanısal amaçlı kriterler oluşturulmuştur. Aşağıdaki kriterlerden üç majör veya iki majör ve iki minör kriter olması durumunda SRS klinik tanısı konulmaktadır:

#### **Majör kriterler**

1. İntrauterin büyüme kısıtlılığı / gebelik yaşına göre düşük doğum ağırlığı
2. Postnatal boy kısalığı
3. Normal baş çevresi uzunluğu (3-97 persentil)
4. Ekstremitte, gövde ve /veya yüz asimetrisi

#### **Minör kriterler**

1. Normal üst-alt segment oranına eşlik eden kısa kulaç

2. Beşinci falanksta klinodaktili
3. Üçgen yüz görünümü
4. Frontal belirginlik

#### **Destekleyici kriterler**

1. Cafe au lait lekeleri /pigmentasyon değişiklikleri
2. Genitoüriner anomaliler (kriptorşidizm, hipospadias)
3. Motor, dil ve/veya bilişsel gerilik
4. Beslenme bozuklukları
5. Hipoglisemi

#### **2.4.8.2. Moleküler tanı**

SRS moleküler tanısı, kromozom 11p15'teki IC1 ile kromozom 7'nin uzun ve kısa kolunun bilinen *imprinted* bölgelerini saptayabilen metilasyona duyarlı yaklaşımlar ile konmaktadır. Bu amaçla, öncelikli tercih edilen yöntem olan MS-MLPA ile kromozom 11p15'de farklı lokuslardaki metilasyon bozuklukları ve kopya sayısı değişiklikleri saptanabilir. Bu yöntemle her iki IC'deki metilasyon sorunlarına ilaveten bu bölgenin duplikasyon ve UPD'leri de tanımlanabilir. Mozaisizm nedeniyle bazı hastalardaki metilasyon değişiklikleri atlanabilir. Eğer klinik şüphe çok güçlü ise farklı bir hücrede moleküler tetkik yapılması önerilebilir. MS-MLPA'dan sonra doğrulama amaçlı ikinci bir teste genellikle ihtiyaç olmamakla birlikte kromozom 11p15 bölgesinin delesyon, duplikasyon ve UPD'leri mikrosatellit analizi veya kantitatif PCR ile gösterilebilir (9).

MS-MLPA yöntemi ile kromozom 11'de bir düzensizlik bulunmazsa, literatürde özellikle kromozom 7'nin uzun kolunun segmental UPD'si olan birçok hasta bildirildiği için sırasıyla 7p13 ve 7q32'deki lokuslar için UPD7 analizleri kullanılmalıdır. Pozitif bir sonuç elde edilmesi halinde mUPD7'yi doğrulamak ve



izole *imprinting* bozukluğu ve delesyonları dışlamak için mikrosatellit analiz yapılması gerekir.

Bu iki bölgenin moleküler analizlerinin normal bulunması halinde submikroskopik kromozomal düzensizliklerin ortaya konması için karyotip analizi yapılması önerilir.

#### **2.4.8.3. Prenatal tanı**

Genellikle tek bir aile bireyinde görülmesi nedeniyle diğer gebeliklerde artmış bir riskten bahsetmek olanaklı değildir. Bu yüzden prenatal tanı şu anki mevcut bilgilerimizle mümkün değildir (125-127).

Fetal US ile İUBK saptanan gebeliklerde, amniosentez ile elde edilen fetal hücrelerde IC1'de metilasyon kaybı ve mUPD7 polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile gösterilerek prenatal tanı koymak mümkün olabilmektedir. Ancak fetal hayatta metilasyon düzenlemelerinin ne zaman gerçekleştiğinin bilinmemesi nedeniyle bu dönemdeki tanısız tetkikler yanıltıcı olabilir. Ayrıca güvenli bir İUBK tanısı koymanın genellikle üçüncü trimesterde olanaklı hale geldiği unutulmamalıdır (128-129).

#### **2.4.9. İzlem, Tedavi ve Prognoz**

SRS klinik tanısı konulan bir hasta ile karşılaşıldığında öncelikle büyüme eğrisi değerlendirilmelidir. Fizik muayenede kraniyofasiyel özellikler ve muhtemel alt ekstremite asimetrisi varlığı sorgulanmalıdır. hGH eksikliği açısından hormonal tetkikleri yapılmalıdır. Aşırı terlemesi olan çocuklar hipoglisemi açısından tetkik edilmelidir. Gastroözefageal reflü şüphesi olan hastalara baryumlu grafi, pH monitorizasyon ve üst endoskopi planlanabilmektedir. Yine nörobilişsel gelişim ve konuşma açısından mutlaka psikometrik değerlendirme yapılmalıdır.

Bu sendromun tanısını koymak birçok açıdan faydalıdır. hGH tedavisinin herhangi bir nedenle İUBK tanısı alan tüm hastalarda boy uzaması konusunda belirgin yarar sağladığı gösterilmiştir. Birleşik Krallık'ta NICE kılavuzları doğum boyu ve/veya ağırlığı -2 SD altında olup büyüme eğrisini yakalayamayan dört yaş ve üzerinde boy kısalığı devam eden çocuklara hGH tedavisine onay vermektedir. SRS

tanısı olan hastaların birçoğu bu kriterleri karşılamaktadır. Bazı pediatrik endokrinoloji uzmanları ise ciddi SRS şüphesi olan hastalara tedavinin daha erken başlanması yararlı olabileceğini savunmaktadır. Tüm bunlara rağmen özellikle SRS tanısı olan hastalarda hGH'nin etkili olduğuna dair randomize kontrollü çalışma mevcut olmamakla birlikte etkin olduğunu gösteren çalışmalar az sayıda ve genellikle moleküler tanısı olmayan hastalara dayanmaktadır. Yine de diğer SGA tanılı çocuklara kıyasla özellikle SRS'den etkilenmiş hastalarda, hGH eksikliği olmasa bile tedavinin büyümeyi hızlandırdığı ve son boy üzerinde belirgin yararlar sağladığı düşündürücü kanıtlar mevcuttur. İspatlanmış hGH eksikliği olmayan hastalarda bile tedavi verilmesi gerekebilmektedir. Bu yüzden SRS tanısı konulan hastalar tedavi açısından değerlendirilmek üzere mutlaka pediatrik endokrinoloji uzmanının bulunduğu bir merkeze yönlendirilmelidir (6,13).

Yapılan çalışmalarda mUPD7 ve idiopatik SRS tanılı hastalara kıyasla IC1'de metilasyon azlığı olanlarda muhtemelen IGF-1 duyarsızlığına bağlı olarak IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyleri oldukça yüksektir. mUPD7 saptanan hastalarda hGH tedavisine yanıt ile boy uzamasındaki artışın, muhtemelen bu mekanizmaya bağlı olarak birinci *domainde* metilasyon azlığı olan gruba göre daha iyi olduğu gösterilmiştir. Buna rağmen, birinci *domainde* metilasyon azlığı olan ve uzun dönem hGH tedavisiyle birlikte normal sınırlarda erişkin boya erişen çok sayıda hasta bildirilmiştir. Beserra ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, hGH tedavisinden sonra IGF1 ve IGFBP3 düzeyleri ile büyüme hızı arasında bir ilişki gösterilememiştir. Ancak bu çalışmadaki hastalara SRS tanısı klinik bulgulara göre konulmuş, herhangi bir moleküler inceleme yapılmamıştır. Ortalama 9.8 yıl boyunca hGH tedavisi verilmiş 26 hastanın incelendiği bir çalışmada, tedavi başında -2.7 SD olan boy uzunluğunun tedavi bitimiyle -1.3 SD olduğu görülmüştür. Genetik heterojeniteye göre farklı moleküler mekanizmalar saptanan hastalarda hGH tedavisinin etkinliğindeki farklılıkların daha geniş ve prospektif araştırmalar ile gösterilmesi gerekmektedir (130).

hGH tedavisinin ekstremite veya gövde asimetrisi, özellikle alt ekstremitede uzunluk farkı açısından etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu farkın üç cm'den fazla olduğu durumlarda kompensatuar skolyoz gelişebilmektedir. İlk yaklaşım taban

yükseltici kullanımı olabilir. Etkisiz kaldığı durumlarda müdahale gerektirebilir ve çocukluk çağının ilerleyen dönemlerinde distraksiyon osteogenez ve epifizyodez yapılması düşünülebilir.

hGH'nin diğer muhtemel faydaları arasında lipid profilini iyileştirici etkisi, kemik mineral dansitesinde artış, davranış değişiklikleri ve farkındalık algısı yer almaktadır. Yan etki olarak, yeteri kadar kanıt olmamakla birlikte, insülin rezistansı gelişimi görülebilmektedir (6,13).

Bu çocukların zihinsel gelişiminin yakın takip edilmesi de oldukça önemlidir. Hipotonisi olan infantların erken dönemde müdahale edilerek fizik tedavi ve özel eğitim programına alınması gerekmektedir. Sıklıkla karşılaşılan dil ve konuşma problemleri, öğrenme güçlükleri nedeniyle çeşitli testler yapılarak gerekirse bireysel özel eğitim programlarına yönlendirilmelidir. Birçok çalışmada SGA bebeklerin ilerideki yaşamlarında diyabetes mellitus, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, kalp hastalığı, hiperkoagülabilite ve osteoporoz riski altında olduğu gösterilmiştir (6,13). Bu yüzden SRS tanılı hastalar uzun dönemde bu hastalıklar yönünden takip edilmelidir.

SRS'li çocuğu olan, riskli gebeliği olan veya pozitif aile öyküsü olan ailelere genetik danışmanlık verilmelidir. Genetik danışma bireylere ve ailelerine, genetik hastalıkların doğası, kalıtımı ve etkileri üzerine bilgi verme, tıbbi ve kişisel karar verme aşamasında önemli bir süreçtir.

SRS'de rutin uygulamada kullanılan klinik bulguların öncelik ve önem yönünden değerlendirmeye alınmasını sağlayıp klinik çeşitliliğin altta yatan moleküler patolojiyi ne ölçüde yansıttığını aydınlatmak amacıyla bazı çalışmalarda hem MLPA hem de UPD7 analizi gibi yöntemlerden yararlanarak, şu ana kadar tanımlanan iki temel moleküler grup arasında epigenotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır. Böylelikle henüz herkes tarafından kabul edilmiş klinik tanı kriterleri olmayan bu hastalıkta klinik bulgular sıklık ve önem yönünden değerlendirilip sıklıkla gelişen büyüme ve gelişme geriliğinin erken dönemde yakalanmasını ve gerekirse tedavi edilmesi sağlanacaktır. Çalışmamız bu nedenlerle SRS'li hastaların moleküler etiyojisinin belirlenerek epigenotip-fenotip ilişkisi kurmak üzere planlanmıştır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Planı ve Hasta Seçimi

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı'nda SRS klinik tanısı alan 24 pediatrik hastada yapılmıştır. Morfolojik bulguları ile SRS'den şüphelenilen hastalara kromozom 11p15'teki kopya sayısı ve metilasyon değişiklikleri açısından MS-MLPA yöntemiyle moleküler çalışma yapılmıştır. Sonrasında hastalar MS-MLPA yöntemiyle patoloji gösterilen ve gösterilmeyen olarak iki grupta değerlendirilmiştir. Bu iki grup, hastaların sık görülen özellikleri yönünden istatistiksel olarak incelenmiş ve epigenotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır.

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Etik Kurulu tarafından tıbbi etik açısından uygun bulunmuştur (Proje No:GO 13/410, Karar No: GO 13/410 - 03). Çalışmamız Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (HÜBAB Proje no: 014 D04 101 010). Retrospektif olarak düzenlenen bu çalışmaya dahil olmaları için hastaların sorumlu ebeveynlerinden, onay verdiklerini beyan edip, "Bilgilendirilmiş Onam Formu"nu imzalamaları istenerek yazılı ve sözlü izin alınmıştır.

#### 3.2. Çalışmanın Yürütülmesi ve Yöntem

Yardımcı üreme teknikleri kullanımı, infertilite öyküsü, ebeveynlerin yaşları, intrauterin veya postnatal gelişme geriliği, prematürite, doğum ağırlığı, doğum boyu ve baş çevresi, gelişim basamakları gibi özellikler ve ölçümler açısından fikir sahibi olup; bebeklik döneminde aşırı terleme, beslenme problemleri, hGH tedavisi alıp almadığı sorgulanmıştır.

Fizik muayenede hastaların vücut ağırlığı, boy ve baş çevresi ölçümleri, fizik muayene bulguları, fenotipik özellikleri, malformasyon ve anomalileri kaydedilmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Rölatif makrosefali, değerlendirme yapılan yaştaki boy uzunluğu ile oksipitofrontal çevre uzunluğu arasında en az bir SD fark olması olarak

tanımlanmıştır. Hemihipoplazi varlığı açısından ekstremite uzunlukları ve çapları ölçülerek farklılıklar kaydedilmiştir. Geniş alın ve mikrognati ile karakterli üçgen yüz görünümü, aşağı eğimli ağız kenarları, kulak ve diş anomalileri ve rölatif makrosefali gibi tipik kraniyofasiyel bulgular açısından değerlendirilmiştir. Tüm hastalar sık rastlanan beşinci parmakta klinodaktili yönünden değerlendirilmiştir.

Denver Gelişim Tarama Testi veya psikometrik değerlendirme ile nörobilişsel gelişim değerlendirilmiştir. Anne-baba arasındaki akrabalık varlığı açısından sorgulama yapılmıştır.

Metilasyona duyarlı multipleks ligasyon-bağımlı prob amplifikasyonu (*Methylation Specific-Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*; MS-MLPA) yöntemiyle DNA örneklerinde moleküler inceleme yapılmıştır.

### 3.2.1. DNA İzolasyonu

Hastalardan DNA elde etmek amacıyla EDTA'lı tüplere 10 ml periferik kan örneği alınmıştır. DNA örnekleri hastalardan alınan periferik kandan, yüksek tuz konsantrasyonu yöntemi ile izole edilmiş ve -20°C'de saklanmıştır.

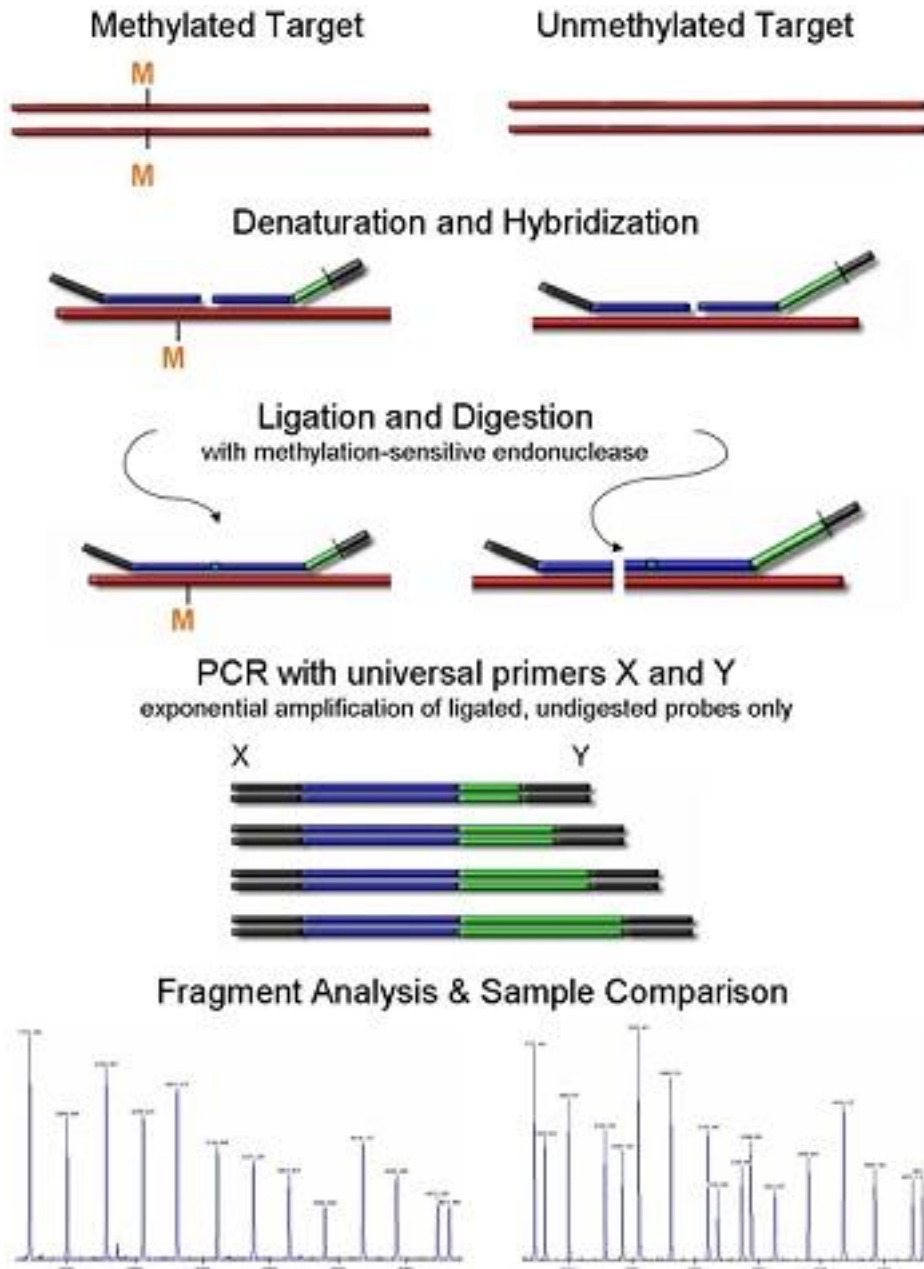
DNA izolasyonu amonyum asetat tuzuyla çöktürme yöntemiyle yapılmıştır. Tuzla çöktürme yönteminde 10 cc'lik EDTA'lı tüplere alınan periferik kan Falcon® tüpüne boşaltılarak, otoklavlanmış soğuk distile su ile 50 ml'ye tamamlanmış ve kuvvetlice çalkalanmıştır. Yirmi dk boyunca 1750 rpm santrifüjden sonra süpernatant dökülerek otoklavlanmış soğuk distile suyla 45 ml'ye tamamlanmıştır. Dipteki pelet hafifçe çalkalanarak çözdürülmüş ve 1900 rpm 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant döküldükten sonra tüpe 3 ml NLB solüsyonu eklenmiş ve tüpün kapağı kapatılarak kuvvetlice çalkalandıktan sonra kapak tekrar açılarak önceden dondurucudan çıkarılarak eritilmiş 150 µl Proteinaz-K ve 200 µl %10'luk SDS pipetlenmiştir. Vorteksle karıştırıldıktan sonra 16 saat süreyle 37°C etüvde bekletilen tüpe 3 ml amonyum asetat eklenerek kuvvetlice çalkalanmış ve oda sıcaklığında 20 dk bekletilmiştir. 4000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek, içinde DNA bulunan süpernatant pastör pipetiyle dipteki pelete dokunmadan ikinci bir Falcon® tüpüne alınmış ve üzerine aynı miktarda alkol eklenmiştir. Çalkalandıktan sonra alkol eklenmesiyle

gözle görünür hale gelen DNA yumağı pipet ucu yardımıyla toplanarak, bir ependorfa konan TE tampon içine yerleştirilmiştir. DNA'nın çözünmesi için bir gece daha etüvde bekletilen DNA kullanılacağı zamana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilmiştir.

### 3.2.2. MS-MLPA Analizi

MLPA bir primer çifti ile aynı anda birden fazla genomik bölgenin incelenmesini sağlayan bir multipleks PCR yöntemidir (131). MLPA sadece multipleks bir teknik olduğu için değil, aynı zamanda çok kısa diziler (50-70 nt) hedeflendiğinden, küçük olduğu için diğer yöntemler ile tespiti mümkün olmayan sık tek gen değişikliklerinin belirlenebilmesi sağlaması bakımından avantaj sunmaktadır. Genomik DNA veya RNA dizisinde normal olmayan kopya sayısının tespitini sağlamaktayken tek bir nükleotid değişikliği olan dizilerin dahi ayrımını sağlayacak kadar hassas bir yöntemdir. MLPA bu bölgelerin hem kopya sayısı değişikliklerini, hem de metilasyon durumlarını gösterebilir. MS-MLPA ise metilasyon durumlarının ve kopya sayısı değişikliklerinin metilasyona duyarlı enzim aracılığı ile saptandığı yarı kantitatif bir MLPA tekniği türevidir (132).

MLPA yöntemi (Şekil 3.1.) yan yana yerleştirilmiş iki probun hibridizasyonu ile incelenecek her bir noktadaki hedef nükleotid dizisinin varlığını belirler. Bir ligasyon reaksiyonu aracılığıyla hibridize olan problemler bir araya getirilerek primerlerle yapılan multipleks PCR ile amplifiye edilir. Ligasyona uğrayan problemler sadece hedef diziye hibridize olanlardır ve PCR ile amplifiye olurlar. Bu aşamada PCR ürününün bir kısmı metilasyona duyarlı *HhaI* enzimi ile kesime bırakılır. Sadece metillenmiş kopyaların amplifiye olmasını sağlamak için farklılaşmış metillenmiş bölgelerde metillenmemiş allellerin kesilmesi sağlanır. Böylece *imprinted* bölgelerdeki metilasyon durumu saptanabilir hale gelmektedir. Amplifiye edilen ürünler 130 ile 480 nt arasındaki uzunluklarda değişir ve kapiler jel elektroforez ile analizi yapılabilir. Hedef dizinin rölatif kopya sayısı amplifikasyon ürününün pik alanı normal kontrollere göre oranlanarak tespit edilir.



**Şekil 3.1. MS-MLPA prensibi.**

MS-MLPA, metilasyon değişikliklerinin etiyolojide büyük bir yüzdeyi oluşturduğu *imprinting* hastalıklarının yanı sıra tümörlerin sınıflandırılması ve tanınmasında da kullanılmaktadır (133,134).

Şekil 4.1.'de çalışmamızda kullanılan MS-MLPA probunun özellikleri verilmiştir.

Length (nt)	SALSA MLPA probe	HhaI site	% methylated in normal blood-derived DNA	% expected signal reduction	Chromosomal position reference BWS/RSS
64-70-76-82	Q-fragments: DNA quantity; only visible with less than 100 ng sample DNA				
88-92-96	D-fragments: Low signal of 88 or 96 nt fragment indicates incomplete denaturation				
100	X-fragment: Specific for the X chromosome				
105	Y-fragment: Specific for the Y chromosome				
130	Reference probe 11622-L12379	-			10q25
135 ¥	<b>H19 probe</b> 08743-L20532	Yes	50%	50%	H19DMR/IC1
141 ¥	<b>KCNQ1OT1 probe</b> 07173-L19191	Yes	50%	50%	KvDMR/IC2
148 * ±	Reference probe 12415-L13416	-			14q24
154	Reference probe 02944-L02376	-			7q31
160 ¥	<b>H19 probe</b> 14731-L01713	-			5' Region
166 ±	<b>KCNQ1OT1 probe</b> 06276-L05782	Yes	50%	50%	KvDMR/IC2
171 ± ¥ ^	<b>IGF2 probe</b> 06269-L20841	Yes	0%	100% <sup>^</sup>	5' DMR0
178 *	Reference probe 05725-L05164	-			9q21
184 ¥	<b>H19 probe</b> 14063-L08764	Yes	50%	50%	H19DMR/IC1
190 *	<b>H19 probe</b> 16671-L19242	-			5' Region
196 ±	<b>CDKN1C probe</b> 06262-L05768	-			Exon 1b
202 * ±	Reference probe 05927-L07395	-			22q11
208 *	Reference probe 07404-L07051	-			12q13
214	<b>H19 probe</b> 10586-L11141	-			5' Region
221 *	<b>KCNQ1 probe</b> 14791-L16502	-			Exon 3
228 *	<b>H19 probe</b> 16670-L19241	-			Exon 5
238 *	<b>H19 probe</b> 14792-L16503	Yes	50%	50%	H19DMR/IC1
256 ±	Reference probe 01462-L00927	-			17p12
266 ~ ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 14733-L18343	-			Exon 13
274 ¥	<b>KCNQ1OT1 probe</b> 16654-L19204	Yes	50%	50%	KvDMR/IC2
284 ±	<b>IGF2 probe</b> 06272-L05778	-			Exon 7
292 *	Reference probe 03262-L20515	-			3q29
301	<b>H19 probe</b> 06266-L05772	Yes	50%	50%	H19DMR/IC1
310	Reference probe 04528-L03917	-			2q24
319 *	<b>NSD1 probe</b> 16702-L02529	-			Exon 24
328 ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 15055-L04802	-			Exon 7
337 *	Reference probe 02416-L01862	-			16q22
346 * ±	<b>CDKN1C probe</b> 15054-L18042	Yes	10%	90%	Exon 1b
355 * #	<b>Digestion control probe 09153-L09311</b>	Yes	0%	100%	<b>8p21</b>
364 ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 16669-L19240	-			Exon 8
373 *	<b>KCNQ1 probe</b> 14793-L16504	-			Exon 15
383 *	Reference probe 00973-L18737	-			10q21
393	<b>KCNQ1OT1 probe</b> 07172-L06781	Yes	50%	50%	KvDMR/IC2
400 ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 16655-L20510	-			Exon 9
411 ± ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 03555-L21092	-			Exon 17
418 *	<b>NSD1 probe</b> 17048-L02071	-			Exon 22
427 *	Reference probe 07800-L07555	-			18q21
436 ± ¥	<b>KCNQ1 probe</b> 14732-L02903	-			Exon 2
445 ± ¥	<b>CDKN1C probe</b> 14734-L20842	-			Exon 3a
454 ±	<b>H19 probe</b> 10588-L11143	-			5' Region
463 *	Reference probe 13471-L11729	-			2p25

Şekil 4.1. SALSA MS-MLPA PROBEMIX ME030-C3 BWS/RSS. Kromozom 11p15 bölgesinde yer alan BWS/SRS bölgesine özgü 26 prob içermektedir. Bunların 10 tanesi *HhaI* tanıyan bölgelerdir ve hedef dizilimin metilasyon durumu konusunda bilgi verir. Probların genişliği, isimleri, *HhaI* tanıyan bölgeler, beklenen tahmini sinyaller ve kromozomda yer aldığı pozisyonlar belirtilmiştir. Metilasyon bozukluklarının saptanmasının dışında analiz edilen örnekteki kopya sayısı değişiklikleri konusunda da faydalı olmaktadır. Sotos sendromu ile ilişkili olan NSD1 bölgesi için iki prob bulunmaktadır. IC1ve IC2'deki *imprinted* genler burada mevcuttur. *H19* ile *KCNQ1OT1* genlerini hedefleyen problemler birbirine çok yakın yerleşimlidir. Normal kişilerde metillenmemiş kopyanın *HhaI* enzimiyle kesimi sonrası bu problemlerin amplifikasyon ürünleri diğer problemlerin yaklaşık %50'si kadardır. Her iki allelde de metillenmemiş bölgelere ait ve amacı enzimin çalışmasını kontrol etmek olup sinyal yaratmayan bazı problemler de mevcuttur.



Çalışmamızda SRS'den patogenezinin sorumlu metilasyon ve kopya sayısı değişikliklerinin ticari olarak ulaşılabilen uygun ve hazır prob karışımı (Ek 2) kullanılarak yapılan MS-MLPA (*Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification*) aşağıdaki basamaklar izlenerek yapılmıştır:

**1. DNA'nın denatürasyonu ve SALSA problemleri ile hibridizasyonu:** Bu basamakta uygun konsantrasyondaki (4-100 ng/mL) DNA örneği 98°C'de 5 dk denatüre edildikten sonra 25°C'ye soğutulmuş, 1.5 mL SALSA prob karışımı ve 1.5 mL MLPA tamponu ile karıştırılmış ve 95°C'de 1 dk boyunca birlikte denatüre edilmiştir. Bundan sonra 60°C'de 16 saat hibridizasyona bırakılmıştır.

**2. Ligasyon reaksiyonu:** Hibridizasyon süresinin sonunda 3 mL Ligase tampon A ve 10 mL su eklenerek, karışımın 10 mL'si bir başka tüpe alınmış ve 49°C'de 1 dk inkübasyon sonrası tüplerden birine 10 mL Lig karışımı (1.5 mL Ligase-65 B tamponu, 8.25 mL su ve 0.25 mL Ligase-65 karışımı), diğerine 10 mL Lig-Dig karışımı (1.5 mL Ligase-65 B tamponu, 7.75 mL su, 0.25 mL Ligase-65 ve 0.5 mL *HhaI* (Promega R6441, 10 ünite/mL) eklenerek, 30 dk boyunca 49°C'de inkübe edildikten sonra 5 dk boyunca 98°C'de tutulmuştur.

**3. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR):** Elde edilen karışımlardan 5 mL alınarak ve üzerine 2 mL 10xSALSA PCR tamponu, 13 mL su, 10 mL MLPA ligasyon reaktanı ve 5 mL polimeraz karışımı (1 mL SALSA PCR primeri, 1 mL SALSA enzim dilüsyon tamponu, 2,75 mL su ve 0.25 mL SALSA polimeraz) eklenerek polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapılmıştır. PCR 95°C'de denatürasyon (30 sn), 60°C'de hibridizasyon (30 sn) ve 72°C'de elongasyon (60 sn) basamaklarından oluşan 33 döngü sonrasında 72°C'de 20 dk inkübasyon ile sonlandırılmıştır.

**4. Amplifikasyon ürünlerinin ayrılması ve miktarlarının belirlenmesi:** Bu aşamada 1 mL PCR ürününe 0.5 mL ROX-500 ve 8,5 mL deiyonize formamide eklenmiştir. ABI-3100 dizi analizi cihazında 36 cm kapillerlere yüklenerek 60°C'de çalıştırılmış ve veriler elde edilmiştir.

### 3.2.3. Sitogenetik Analiz

Kromozom analizi yapmak için, önce periferik kan örneğinden 1 ml alınarak 10 ml'lik kültür ortamına (25 ml RPMI, 2 ml glutamin, 0,2 ml gentamisin ve 2 ml fitohemaglutinin içeren karışım) eklenmiştir. Hücre kültürü 37°C'de 72 saat bekletilmiş ve sonra tüpün içine kolsemid eklenerek 37°C'de 20 dk bekletilmiştir. Ardından tüpe %0,56'lık KCl eklenerek santrifüjlenmiş, bu aşamadan sonra tüpe 3:1 oranında hazırlanmış metanol : asetik asit karışımı ile fiksasyon yapılmıştır. Daha sonra örnek lama yayılarak minimum 550 bandın ayırdedilebildiği metafaz kromozomları üzerinde ve toplam 20 metafaz sayılarak karyotip analizi yapılmıştır.

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Sonuçların istatistiksel değerlendirmesi “Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) for Windows 18.0” paket programı kullanılarak yapılmıştır. Sayı ve yüzde tanımlayıcı istatistiklerde nitel değişkenler için; ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerler sayısal değişkenler için kullanılmıştır.  $\chi^2$  (ki-kare) analizi ve Fisher'in kesin  $\chi^2$  testinin çok gözlü tablolara genellenmiş hali nitel değişkenler arasında ilişkilerin araştırılması için kullanılmıştır. Gruplar arasında sayısal değerlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi ve Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İstatistiksel testlerin tümünde p değerinin 0.05'in altında olması istatistiksel anlamlılık olarak tanımlanmıştır.

## 4. BULGULAR

Bu çalışma Ağustos 2013 - Ağustos 2014 tarihleri arasında Hacettepe Üniversitesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Genetik Ünitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Çalışmaya ilk değerlendirmede klinik bulgularına göre SRS ile uyumlu olduğu düşünülen 24 hasta alınmıştır (Ek 1).

Bu aşamada 24 hasta MS-MLPA sonuçlarına göre 2 gruba ayrılmıştır: Grup 1: MS-MLPA ile altta yatan moleküler patoloji gösterilenler (n=16); Grup 2: Altta yatan patolojinin gösterilemediği hastalar (n=8). Grup 1 hastaların tümünde saptanan patoloji IC1'de metilasyon kaybı iken Grup 2'de diğer mekanizmalara bağlı olarak SRS olan hastalar ve tanısı aslında SRS olmayabilecek hastalar vardır.

Gruplarda saptanan moleküler değişiklikleri gösteren örnek MS-MLPA analiz çıktısı Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Tüm hastaların kromozomal analizleri de yapılmış ve normal bulunmuştur.

### 4.1. Demografik Özellikler

Çalışmamıza dahil edilen 24 hastanın 12'si (%50) kız, 12'si (%50) erkektir. Grup 1'deki 16 hastanın 5'i (%31) kız, 11'i (%69) erkek; Grup 2'deki 8 hastanın 7'si (%87) kız, 1'i (%13) erkektir. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ( $p=0,007$ ).

Tüm gruptaki hastaların yaş ortalaması  $92.3\pm 57.8$  aydır (14-243). Çalışmamızdaki 12 kız hastanın yaş ortalaması  $84.1\pm 65.2$  ay (14-243) ve 12 erkek hastanın yaş ortalaması  $100.5\pm 50.9$  ay (43-199) olarak hesaplanmıştır. Grup 1'deki 16 hastanın yaş ortalaması  $100.5\pm 51.3$  ay (14-199), Grup 2'deki 8 hastanın yaş ortalaması  $76.1\pm 70$  ay (27-243) bulunmuştur.

**Tablo 4.1. Hastaların cinsiyet, yaş, vücut ölçümleri ortalaması**

	<b>Grup 1 (n=16)</b>	<b>Grup 2 (n=8)</b>	<b>Tüm grup (n=24)</b>	<b>p</b>
<b>Kız : erkek</b>	5:11	7:1	12:12	<b>0,007</b>
<b>Yaş (ay)</b>	100.5	76.1	92.3	0,716
<b>Doğum ağırlığı (g)</b>	1787.5	2283	1952.9	0.518
<b>Boy (cm)</b>	101.4	95	99.3	0,234
<b>Vücut Ağırlığı (kg)</b>	15.75	15.53	15.6	0,962

#### 4.2. Prenatal ve Perinatal Özellikler

Tüm gruptaki 24 hastanın 9'unda (%38) prematüre doğum öyküsü varken, 15'inde (%62) yoktur. Grup 1'de 16 hastanın 7'inde (%44); Grup 2'de 8 hastanın 2'inde (%25) prematürite öyküsü vardır. Prematürite açısından da gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,371$ ).

Toplam 24 hastadan 2'sinin (%8) yardımcı üreme tekniği (ART) ile, 22 (%92) hastanın ise spontan gebelik sonucu doğduğu öğrenilmiştir. Bu hastaların ikisi de Grup 1'de yer almaktadır (2/16, %12.5). Grup 2'de ART ile doğum öyküsü yoktur ve ART açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,536$ ).

Tüm gruptaki 24 hastanın doğum ağırlığı ortalaması  $1952.9 \pm 501$  g (1160-2900) olarak hesaplanmıştır. Doğum ağırlıkları ortalama değerleri Grup 1'de  $1787.5 \pm 508$  g (1160-2900) iken Grup 2'de  $2283 \pm 291$  g (1840-2790)'dır.

Çalışmadaki 24 hastanın 17'sinde (%71) gestasyonel yaşa göre düşük doğum ağırlığı bulunmuştur. Grup 1'deki 16 hastanın 12'sinde (%75), Grup 2'deki 8 hastanın 5'inde (%63) düşük doğum ağırlığı mevcuttur. Bu bulgu yönünden gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p=0,647$ ).

#### 4.3. Büyüme ile İlgili Özellikler

Hastalarımızın poliklinik başvurularında yapılan fizik muayene ve ölçümler sonucunda vücut ağırlığı, boy ve baş çevreleri ölçümlerinde yapılmıştır.

Hastalardan vücut ağırlığı üç persentilin altında olanlar düşük vücut ağırlığı olarak değerlendirilmiştir. Tüm grupta 24 hastanın 22'sinde (%92) düşük vücut ağırlığı saptanmıştır. Grup 1'de 16 hastanın 15'inde (%94), Grup 2'de 8 hastanın 7'sinde (%88) vücut ağırlığı düşüklüğü mevcuttur. Bu özellik açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=1$ ).

Toplam 24 hastanın 20'sinde (%84) boy kısalığı saptanmıştır. Grup 1'deki 16 hastanın 14'ünde (%88), Grup 2'deki 8 hastanın 6'sında (%75) boy kısalığı olduğu öğrenilmiştir. Bu parametre açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,578$ ).

Hastaların 15'inde (%63) yüz ve/veya ekstremitelerinde hemihipoplazi mevcutken, 9'unda (%37) hemihipoplazi yoktur. Grup 1'deki 16 hastanın 11'inde (%81), Grup 2'deki 8 hastanın 4'ünde (%50) hemihipoplazi mevcuttur. Grup 1'deki 16 hastanın 11'inde (%69) ekstremitelerde asimetri varken, Grup 2'deki 8 hastanın 4'ünde (%50) ekstremitelerinde asimetri bulunmuştur. Grup 1'deki 16 hastanın 6'sında (%38) asimetric yüz bulgusu varken, Grup 2'de 8 hastanın 2'sinde (%25) görülmüştür. Hemihipoplazi açısından ve hemihipoplazi bölgesi (yüz/ekstremiteler) dağılımı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (sırayla  $p=0,271$  ve  $p=0,540/0,371$ ).

#### 4.4. Kraniyofasiyal Özellikler

Çalışmamızda incelenen 24 hastanın 20'sinde rölatif makrosefali bulunmuştur. Grup 1'deki 16 hastanın 15'inde (%94), Grup 2'deki 8 hastanın 5'inde (%63) göreceli

makrosefali görülmüştür. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.091$ ).

SRS'li hastalarda görülebilen üçgen yüz, alın belirginliği, aşağı eğimli ağız kenarları, mikro/retrognati ve kulak anomalileri bulguları göz önünde bulundurularak yapılan dismorfolojik değerlendirmede 24 hastanın 24'ünde (%100) karakteristik yüz görünümü bulgularından en az biri mevcuttur.

24 hastanın 24'ünde (%100) üçgen yüz görünümü saptanmıştır. Grup 1 ve 2'deki hastaların tümünde mevcut bir bulgudur. Sabit bir değişken olması nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır.

Çalışmadaki 24 hastanın 21'inde (%87,5) alında belirginleşme varken, 3'ünde (%12,5) alın belirginliği yoktur. Grup 1'de 16 hastanın 15'inde (%93,7) ve Grup 2'de 8 hastanın 6'sında (%75) belirgin alın saptanmıştır. Alın belirginliği açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,249$ ).

Yirmidört hastanın 18'inde (%75) mikro ve/veya retrognati saptanmıştır, 6'sında (%62,5) mikro ve/veya retrognati yoktur. Grup 1'deki 16 hastanın 14'ünde (%87,5), Grup 2'deki 8 hastanın 4'ünde (%50) mevcuttur. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,129$ ).

Tüm hastaların 13'ünde (%54) aşağı eğimli ağız kenarları saptanmış, 11'inde (%46) aşağı eğimli ağız kenarı yoktur. Grup 1'deki 16 hastanın 11'inde (%69), Grup 2'deki 8 hastanın 2'sinde bu bulguya rastlanmıştır. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.082$ ).

Çalışmadaki hastaların 18'inde (%75) çeşitli kulak anomalileri saptanmıştır. Grup 1'deki 16 hastanın 14'ünde (%87) Grup 2'deki 8 hastanın ise 4'ünde (%50) kulak anomalileri mevcuttur. Kulak anomalileri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0.129$ ).

#### **4.5. Beslenme problemleri**

Toplam 24 hastanın 22'sinde (%92) beslenme problemleri olduğu öğrenilmiştir. Grup 1'deki 16 hastanın 15'inde (%94), Grup 2'deki 8 hastanın ise

7'sinde (%88) beslenme problemi saptanmıştır. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=1,00$ )

#### **4.6. Beşinci parmakta klinodaktili**

Yirmidört hastanın 18'inde (%75) beşinci parmakta klinodaktili saptanmıştır. Grup 1'deki 16 hastanın 12'sinde (%75) , Grup 2'deki 8 hastanın ise 6'sında (%75) beşinci parmakta klinodaktili görülmüştür. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=1,00$ )

#### **4.7. Fazla terleme**

Tüm gruptaki 24 hastanın 15'inde (%62,5) bebeklik döneminde fazla terleme olduğu öğrenilmiştir. Grup 1'deki 16 hastanın 8'inde (%50), Grup 2'deki 8 hastanın ise 7'sinde (%88) fazla terleme öyküsü olduğu saptanmıştır. Bu bulgu açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,074$ )

#### **4.8. Gelişim problemleri**

Toplam 24 hastanın 17'sinde (%70) global, dil veya motor alanda en az birinde gelişme geriliği saptanmıştır. Grup 1'deki 16 hastanın 14'ünde (%87,5) en az bir alanda gelişme geriliği varken Grup 2'deki 8 hastanın 3'ünde (%37,5) gelişme geriliği görülmüştür. Gelişme geriliği açısından gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,122$ ). Global gelişme geriliği 24 hastanın 5'inde (%20); Grup 1'deki 16 hastanın 3'ünde (%19), Grup 2'deki 8 hastanın ise 2'sinde görülmüştür. Bu özellik açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,722$ ). Motor alanda gelişme geriliği 24 hastanın 12'sinde (%50); Grup 1'deki 16 hastanın 10'unda (%63), Grup 2'deki 8 hastanın 2'sinde (%25) bulunmuştur. Motor gelişme geriliği açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,193$ ) Dil alanında gelişme geriliği toplam 24 hastanın 12'sinde (%50); Grup 1'deki 16 hastanın 10'unda (%63), Grup 2'deki 8 hastanın 2'sinde (%25) görülmüştür. Dil alanında gelişme geriliği açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ( $p=0,193$ ). Grup 1'deki 16 hastanın 3'ünde (%19) tekrarlayan nöbet öyküsü ve antiepileptik ilaç kullanımı mevcuttur. Hiçbir hastada davranış problemine rastlanmamıştır.

#### 4.9. Diğer konjenital anomaliler

Toplam 12 erkek hastanın 2'sinde (%17) hipospadias bulunmuştur. Bu 2 hasta da Grup 1'de yer almaktadır. Tüm 12 erkek hastanın 6'sında (%50) kriptorşidizm bulunmakla birlikte 5 hasta Grup 1'de, 1 hasta ise Grup 2'de yer almaktadır. Hasta sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel analiz yapılamamıştır. Grup 1'de yer alan 1 erkek hastada 'ambigius' genitalya saptanmıştır.

Grup 1'de yer alan hastaların birinde ventriküler septal defekt (VSD) ve pulmoner hipertansiyon (PH); diğerinde total pulmoner venöz dönüş anomalisi (TPVDA), pulmoner yetmezlik (PY), triküspid yetmezlik (TY); Grup 2'de yer alan bir hastada da sekundum atriyal septal defekt (ASD) olmak üzere toplam 24 hastanın 3'ünde (%13) konjenital kalp hastalığı (KKH) saptanmıştır.

Grup 1'de yer alan 16 hastanın 2'sinde (%13) cafe au lait lekeleri saptanmıştır.

Toplam 24 hastanın 4'ünde (%17) ayak parmaklarında sindaktili saptanmıştır. Sindaktili saptanan 4 hastanın 3'ü grup 1'deki 16 hasta arasında yer almaktayken (%19), 1 hasta Grup 2'deki 8 hasta içindedir (%13). Tüm hastalarda da ayak 2. ve 3. parmaklar arasında yer alıp 1 hastada parsiyel sindaktili mevcuttur. Grup 2'de yer alan 1 hastada da doğumsal kalça displazisi saptanmıştır. Grup 1'de yer alan 16 hastanın 2 hastanın 2'sinde (%13) simian çizgisi saptanmıştır.

Yirmidört hasta içerisinde 4 hasta (%17) hGH tedavisi almıştır. Bu hastaların 3'ü Grup 1'deki 16 hasta arasında iken (%19), 1 hasta Grup 2'deki 8 hasta içerisinde (%13).



Tablo 4.2. Hastaların klinik bulguları

	<b>Grup 1 (n=16)</b>	<b>Grup 2 (n=8)</b>	<b>Tüm Grup (n=24)</b>	<b>p</b>
<b>Düşük doğum ağırlığı</b>	12 (%75)	5 (%63)	17 (%70)	0,647
<b>Prematürite</b>	7 (%44)	2 (%25)	9 (%38)	0,371
<b>ART</b>	2 (%13)	0	2 (%8)	0,536
<b>Boy kısalığı</b>	14 (%88)	6 (%75)	20 (%84)	0,578
<b>Düşük vücut ağırlığı</b>	15 (%94)	7 (%88)	22 (%92)	1
<b>Üçgen yüz</b>	16 (%100)	8 (%100)	24 (%100)	*
<b>Belirgin alın</b>	15 (%94)	6 (%75)	21 (%88)	0,249
<b>Mikro ve/veya retrognati</b>	14 (%88)	4 (%50)	18 (%75)	0,129
<b>Kulak anomalisi</b>	14 (%88)	4 (%50)	18 (%75)	0,129
<b>Aşağı eğimli ağız kenarı</b>	11 (%69)	2 (%25)	13 (%54)	0,082
<b>Rölatif makrosefali</b>	15 (%94)	5 (%63)	20 (%83)	0,091
<b>5. parmakta klinodaktili</b>	12 (%75)	6 (%75)	18 (%75)	1
<b>Aşırı terleme</b>	8 (%50)	7 (%88)	15 (%63)	0,074
<b>Beslenme sorunları</b>	15 (%94)	7 (%88)	22 (%92)	1
<b>Asimetri-ekstremiteler</b>	11 (%69)	4 (%50)	15 (%63)	0,371
<b>Asimetri-yüz</b>	6 (%38)	2 (%25)	8 (%33)	0,540
<b>Gelişme geriliği-global</b>	3 (%19)	2 (%25)	5 (%21)	1
<b>Gelişme geriliği-dil</b>	10 (%63)	2 (%25)	12 (%50)	0,193
<b>Gelişme geriliği-motor</b>	10 (%63)	2 (%25)	12 (%50)	0,193

<b>İnmemiş testis</b>	5 (%31)	1 (%13)	6 (%25)	**
<b>Hipospadias</b>	2 (%13)	0	2 (%8)	**
<b>Konjenital kalp hastalığı</b>	2 (%13)	1 (%13)	3 (%13)	**

\*: Sabit değişken olması nedeniyle istatistiksel analiz yapılmamıştır.

\*\* : Gruplardaki hasta sayısı nedeniyle istatistiksel analiz yapılmamıştır.

## 5. TARTIŞMA

Epigenetik, birçok sendromun ve hastalığın bilmediğimiz etiyojisini açıklama konusunda yakın gelecekte çok kritik rol oynayacağı düşünölen heyecan verici bir bilim dalıdır. Kanser ile olan ilişkisi birçok çalışma ile kanıtlanmış olmakla birlikte yakın geçmişte şizofreni ve Alzheimer hastalığı gibi nöropsikiatrik hastalıkların da etiyojisinde rol oynadığını destekleyen kanıtlar vardır. Çevresel faktörlerin de daha fetal hayattan başlayarak işleyişi etkilediğı gerçeğı epigenetik olayları anlaşılması güç kılmakla birlikte her geçen gün umut verici yeni çalışmalar ortaya çıkmaktadır. Epigenetiğın, fetal büyüme ve gelişmede rol oynadığı aşıkır olmakla birlikte gen ekspresyonunu etkileyen moleküler mekanizmalar ve onların gen işleyişi üzerine olan etkileri henüz aydınlatılamamıştır. SRS gibi insan epigenetik modelleri bunun anlaşılmasına ciddi katkıları sağlayacaktır (53).

*Imprinting* hastalıklar, ekspresyonu sadece bir ebeveyne bağılı *imprinted* genleri etkileyen mutasyon ve epimutasyonlarla ilişkilidir. Tanı koymak, temel olarak iki nedenle zordur. Birincisi, fetal hayattan başlayıp postnatal dönemde devam eden büyüme geriliğı başta olmak üzere klinik özellikleri oldukça heterojen ve sıklıkla birbirleriyle çakışmaktadır. İkincisi ise moleküler etiyojisinde mutasyon, epimutasyon, kopya sayısı farklılıkları ve kromozomal hatalar gibi çok farklı mekanizmalar olup somatik mozaicism ve çok bölgeli metilasyon bozuklukları da olayı daha karmaşık bir hale getirmektedir. Klinikte görölen bu fenotipik heterojenitenin, neden olan moleküler patofizyolojiyi ne ölçüde yansıttığı hala belirsizliğini korumaktadır (1). *Imprinted* genlerin ve epigenetiğın fetal hayattan başlayan büyüme üzerindeki rolü aşıkır olmakla birlikte nasıl etkilediğı konusu henüz netlik kazanmamıştır (10,11).

Boy kısalığı, birçok genetik hastalığın temel bileşenlerinden birini oluşturmakta ve pediatristlerin çok sık karşılaştıkları bir hasta grubunu temsil etmektedir. Buna rağmen günlük pratiklerinde daha nadir karşılaştıkları, çok iyi bilmedikleri ve klinik özelliklerin tanımlayıcı olmadığı SRS gibi sendromlar pediatristler için zorlayıcı olabilmektedir.

Birçok çalışmada SRS sıklığı 1/10.000-1/100.000 olarak bildirilmesine rağmen, hastalığın çok iyi bilinmemesi ve klinik tanı kriteri yokluğu nedeniyle tanı almamış bir grubun varlığı bu oranın daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. Fenotipik özelliklerin çok geniş bir yelpazede oluşu daha hafif morfolojik bulguları olan hastaların kolaylıkla gözden kaçmasına neden olmaktadır (6,9,13). Boy kısalığı SRS'li hastalarda hekime başvurunun en sık nedeni olmakla birlikte bu hastalar boy kısalığının daha çok bilinen nedenleri açısından tetkik edilmektedir. Bu nedenle özellikle kız hastalar, Turner sendromu gibi daha iyi bilinen boy kısalığı nedenleri açısından tetkik ediliyor ve aslında SRS olan tanısı atlanıyor olabilir. Literatürde SRS'li hastalarla son yıllarda yapılan çalışmalar, genellikle çok sık kullanılan MLPA yöntemine ek olarak tüm genomun taranıp farklı bölgelerdeki metilasyon düzensizliklerinin patofizyolojideki rolünün gösterilmeye çalışıldığı özellikle idiyopatik SRS'nin aydınlatılmasına odaklanan yayınlardan oluşmaktadır. Klinik bulguların değişkenliği ve çeşitliliği, patofizyolojisi gösterilemeyen oldukça büyük grubun varlığı ve çalışmaların birçoğundaki hasta sayısı azlığı epigenotip-fenotip ilişkisinin kurulmasını engelleyen en önemli nedenlerdir.

SRS için evrensel olarak kabul edilen klinik tanı koydurucu kriterleri yoktur. Farklı araştırma grupları tarafından oluşturulmuş birçok klinik puanlama sistemi vardır. Bunlar bir araştırma laboratuvarında, o çalışma için seçilmiş hasta kohortlarında, özel ilgi alanı SRS olan klinisyenler tarafından yapılmış çalışmalara dayanmaktadır (55-58). Bu tanı kriterlerinden hangisinin kullanılacağına karar vermek bazı nedenlerle oldukça zordur. Katı bir puanlama sistemi kullanıldığı takdirde bazı hastalar gözden kaçabilmekteyken, daha esnek tanı kriterleri varlığında yanlış tanı konabilmektedir (9). Bu nedenle klinik tanının göreceli oluşu moleküler kanıtı zorunlu hale getirmektedir (6). Çalışmamızda hem mUPD7, hem de IC1'de metilasyon azlığı olan hastalarda kullanılması önerilen Bartholdi kriterleri kullanılmakla birlikte, doğum

boyu gibi bazı özelliklerin aileler tarafından bilinmemesi bu kriterlerin tam anlamıyla kullanılmasını engellemiştir. Literatürde klinik tanı kriterlerine tam uymasa da moleküler olarak bakıldığında SRS tanısı alan hastalar bildirilmesi ve özellikle mUPD7 olan hastalarda fenotipik bulguların silik olması nedeniyle tipik bulguların sadece bir kısmını gösteren bazı hastalar da çalışmamıza dahil edilmiştir.

SRS'li hastaların %50'sine varan oranda IC1'de metilasyon kaybı, yaklaşık %10'unda maternal UPD, %4'ünde maternal 11p15 duplikasyonu, %1'inden azında *H19* veya *IGF2*'de metilasyon kaybı, yaklaşık %1'inde de kromozomal aberrasyonlar saptandığı, buna karşın yaklaşık %35-40'ında altta yatan moleküler mekanizmanın henüz aydınlatılmadığı bilinmektedir (135). Literatürde SRS etiyolojisinin araştırılması için önerilen birçok yöntem olmakla birlikte MS-MLPA yöntemi tercih etmemizin nedeni hem kopya sayısı değişiklikleri, hem de metilasyon farklılıklarını tek bir kan örneğinde saptamasıdır. Bu yöntem hem IC1'de metilasyon kaybı, hem de maternal 11p15 duplikasyonu ve UPD için hassas olmasına rağmen, diğer mekanizmaların tespit edilmesinde kullanılamamaktadır. Ancak rutin tanısal yöntemlerin lenfositlere dayandığı, IC1'de metilasyon azlığı saptanan hastaların hemen hepsinin farklı oranlarda mozaik olduğu, bu yüzden tanıdan kaçan hastalar olabileceği akılda tutulmalıdır. SRS tanısal yaklaşımında literatürde önerilen öncelikle 11p15 bölgesinin değerlendirilmesi, bu bölgede herhangi bir moleküler düzensizlik olmadığı durumda mUPD7 açısından analiz yapılması, bunun da normal saptanması halinde moleküler karyotipleme yapılmasıdır (9,10). Çalışmamızda mUPD7 varlığını araştırmak için uygun moleküler tetkik yapamamakla birlikte, muhtemel kromozomal aberrasyonları saptamak amacıyla hastalarımıza kromozom analizi yapılmıştır. MS-MLPA yöntemi ile IC1'de metilasyon kaybı 16 hastada (16/24; %67) bulunmuştur. Bu oran literatürden daha yüksek bir orandır. Hastaların hiçbirinde sitogenetik değişiklikler bulunmamış, sonuç olarak 8 hasta (8/24; %33) klinik özellikleriyle SRS özelliklerini taşımakla birlikte moleküler etiyolojisi MS-MLPA yöntemi ile gösterilememiştir. %10'luk mUPD7'ye bakamamış olmamıza rağmen tanı konulamamış hasta oranımız literatürde bildirilen %35-40 oranına göre düşüktür. Tanı alamamışların arasında hala diğer mekanizmalara bağlı SRS hastalarının da olduğu düşünülürse, hasta serimizde kullanılan klinik kriterlerimizin çok isabetli ve tanısal değeri yüksek olduğu sonucuna varılabilir.

Bunun dışında şu anda araştırma aşamasında olan diğer bir konu da IC1 dışındaki bölgelerde saptanan metilasyon düzensizlikleridir (136-140). Bu durum *imprinting* hastalıklarının ayrı ayrı değil tek bir antite olarak değerlendirilmesinin daha doğru olacağını düşündürmektedir. Azzi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, IC1'de metilasyon azlığı olan hastaların %7'sinde farklı bölgelerde de hipometilasyon olduğu gösterilmiştir (78). Henüz netlik kazanmayan bu mekanizmanın da etiyojisi aydınlatılamayan gruba katkısı olabilir.

Çalışmamızın en önemli kısıtları hasta sayısının bazı karşılaştırma ve değerlendirmeleri yapmaya olanak sağlayacak kadar çok olmaması ve kullanılan MS-MLPA yöntemiyle gösterilemeyen moleküler mekanizmalar olmasıdır. Çalışmamızdaki hasta sayısı yeterli olmadığından, rutin uygulamada kullanılan klinik bulguların öncelik ve önem yönünden değerlendirmeye alınması mümkün olmamıştır. Moleküler etiyojistik inceleme yapılan daha geniş SRS gruplarında klinik bulguların değerlendirilmesi klinisyenler için, özellikle belirli riskler bakımından hastaların multidisipliner ve yüksek maliyetli izlemleri düşünüldüğünde, daha belirleyici ve yol gösterici olacaktır.

SRS kızlarda ve erkeklerde eşit sıklıkta görülür. Bizim çalışmamızda ise 24 hastanın 12'sinin kız, 12'sinin erkek olduğu ve tanı alan grupta erkeklerin istatistiksel olarak anlamlı şekilde çok bulunduğu görülmüştür ( $p=0,007$ ). Bu bulgu, kızlarda klinik bulguları nedeniyle SRS'ye benzeyen ve daha çok akla gelen Turner sendromu benzeri durumlar nedeniyle aslında SRS olan fakat diğer hastalık grubunda değerlendirdiğimiz için SRS açısından tetkik etmediğimiz birçok kız hastamız olabileceğini düşündürmüştür.

SRS'de prenatal tanı mevcut yöntemlerle teorik olarak mümkün görünse de pratik olduğu düşünülmemektedir. Ayrıntılı fetal US'de büyüme kısıtlılığı saptansa bile SRS düşündürecek özgül bir bulgu mevcut değildir. UPD için metilasyon testi yapılması durumunda plasenta/koryonik viluslardaki metilasyonun fetüsteki metilasyon durumunu ne ölçüde yansıttığı tartışmalıdır. İlaveten, büyüme geriliğinin saptanması genellikle üçüncü trimesterde mümkün olduğu için bu zamandan sonra moleküler tetkik yapmak uygun olmamaktadır (9).

Genomik *imprinting* hastalıklarının ART ile doğan çocuklarında artmış sıklığı ilgi çeken konulardan birini oluşturmaktadır. Bu durumun nedeni ile ilgili çeşitli varsayımlar mevcuttur. İşlem sırasındaki basamaklardan birinde özellikle DNA metilasyonu bozularak normal *imprinting* işleyişi etkilenmektedir. Bu etkilenmenin, ART yapılmasına neden olan infertiliteye mi, işlemin kendisine mi bağlı olduğu, ya da bilinmeyen başka genetik ya da çevresel faktörler nedeniyle mi oluştuğu henüz açık değildir. SRS ve ART arasında ilişki kurabilen az sayıda kanıt olmakla birlikte bildirilen vaka raporlarının sayısı her geçen gün artmaktadır. Diğer *imprinting* hastalıklara kıyasla SRS'de net bir ilişki kurulamamasının bir nedeni de oldukça değişken klinik bulguları nedeniyle tanı alamayan oldukça büyük bir hasta grubunun varlığı olabilir. SRS ile ART ilişkisi kurulan çalışmalarda bu vakaların çoğunda paternal allelde IC1'de metilasyon kaybı bulunduğu görülmüştür (1). Çalışmamızda ART ile doğan toplam 2 hasta bulunmuş (2/24; %8,5) ve bu hastaların IC1'de metilasyon kaybı bulunan grupta yer aldığı görülmüştür (2/16, %12.5). Bu sonucumuz SRS'li hastalarda ART ile doğum öyküsünün IC1'de metilasyon kaybıyla ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

SRS'li hastalarda yapılan çalışmalarda prematürite öyküsü genellikle sorgulanmadığı için sıklığı bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda ise hastaların %38'inde (9/24) prematüre doğum öyküsü vardır. Epigenotip-fenotip ilişkisi açısından gruplar arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ( $p=0,371$ ). Prematürite ile ilişkisi açısından yorum yapılabilmesi için bundan sonra yapılan çalışmalarda varlığının sorgulanması gerekmektedir.

SRS'de bebekler genelde fetal hayatta başlayan büyüme geriliği nedeniyle SGA olarak doğarlar. Bunun nedeninin araştırıldığı çalışmalarda birçok faktör suçlanmakla birlikte hiçbiri kanıtlanamamıştır. En muhtemel açıklamanın fetal büyüme faktörü olan IGF-II'nin azalmış ekspresyonu olduğu düşünülmekle birlikte IC1'de metilasyon kaybı olduğu olan hastaların birçoğunda serum IGF-II düzeylerinin normal olması başka nedenlerin olduğunun kanıtıdır (89). Wakeling ve arkadaşları yaptıkları çalışmada SRS'li hastaların doğum ağırlığı persentillerini karşılaştırmış ve IC1'de defekti olan hastaların doğum ağırlığı persentilleri ile mUPD bulunan hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamıştır. Çalışmamızda hastaların

doğum ağırlığı ortalaması 1952,9 g olarak hesaplanmış ve gestasyonel yaşa göre düşük doğum ağırlığı hastaların %70'inde (17/24) bulunmuştur. Ancak gruplar arasında düşük doğum ağırlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,647$ ). Wakeling ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla uyumlu olan bu durum, IGF-II dışında henüz bilinmeyen bir takım faktörlerin SRS'li hastalardaki büyüme geriliğinin esas nedeni olduğunu, bu bulgunun sadece IC1'deki epigenetik bozukluktan kaynaklanmadığını gösterebileceği gibi, hasta sayısının az olması ile ilişkilendirilebilir.

Boy kısalığı SRS'li hastalarda %65-70 oranında görülür (6). Çalışmamızda boy uzunluğu 3 persentilin altında olan hastalar kısa boylu olarak değerlendirilerek, tüm grupta 24 hastanın 20'sinde saptanmıştır. Literatüre benzer olarak boy kısalığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür ( $p=0,578$ ).

Çalışmamızda rölatif makrosefali, değerlendirme yapılan yaştaki boy uzunluğu ile oksipitofrontal çevre uzunluğu arasında en az bir SD fark olması olarak tanımlanmıştır. SRS'li vakaların %90'ına varan oranda görülür. Çalışmamızdaki hastaların %83'ünde (20/24) rölatif makrosefali görülmüş, gruplar arasında makrosefali açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ( $p=0,091$ ).

SRS'li hastalarda üçgen yüz, alın belirginliği, aşağı eğimli ağız kenarları, mikro/retrognati ve kulak anomalileri gibi karakteristik yüz bulguları görülebilmektedir. Hastalarımız bu sayılan yüz özellikleri için ayrı değerlendirilmişlerdir. Yapılan çalışmalarda IC1'de metilasyon azlığı olan hastalarda rölatif makrosefali ve alın belirginliğinin daha sık görülmesi, bu hastaların yüz bulgularını daha ayırt edici yapmakla birlikte farklı moleküler gruplar arasında yüz bulguları açısından çakışmalar sıklıkla görülmektedir. Aşağı yerleşimli, posteriora dönük kulaklar ve üçgen yüz mUPD7 grubunda daha sık görülmektedir (6). Ancak örneğin üçgen yüz mUPD olan hastalarda %90'a varan oranda görülmekle birlikte IC1'de metilasyon azlığı olan grupta da %60 oranda görülmesi bu bulgunun ayırt edici olmasını önlemektedir. Şu ana kadar yapılan çalışmalara dayanarak yüz bulguları ile farklı moleküler grupları ayırt etmek olanaklı görünmemektedir. Muhtemelen hasta

sayısının azlığına bağlı olarak bizim çalışmamızda yüz bulguları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Özellikle erken çocukluk döneminde görülen beslenme problemleri SRS’de en sık rastlanan klinik özelliklerdendir (6). Wakeling ve arkadaşlarının 65 hastalık serilerinde, %86’lık oranla en sık görülen klinik bulgudur. Bizim çalışmamızda da literatür ile uyumlu olarak 24 hastanın 22’sinde (%92) saptanan iştahsızlık en sık görülen klinik özelliklerden biri olarak değerlendirilmiştir. Literatürle uyumlu olarak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=1$ ).

Vücudun çeşitli bölgelerinde, özellikle de ekstremiteler, gövde ve/veya yüzde asimetri ile karakterize olan hemihipoplazi, SRS’li hastaların yaklaşık üçte birinde bildirilmiştir. Epigenotip-fenotip ilişkisi kurmaya yönelik daha önceden yapılan çalışmalarda hemihipoplazi en sık IC1’de metilasyon azlığı ile, daha az sıklıkta mUPD7 ile ilişkilendirilmiştir. Literatürde asimetrinin IC1’de metilasyon azlığı olan grupta daha sık görülmesi, doku düzeyinde metilasyon azlığı açısından mozaikliği yansıttığını düşündürmektedir (6,9). Çalışmamızda literatürde belirtilenden daha yüksek olarak hastalarımızın %63’ünde (15/24) hemihipoplazi saptanmıştır. Gruplar arasında hemihipoplazin (yüz ve ekstremiteler) varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmamıştır (sırayla  $p=0,540$  ve  $p=0,371$ ).

Günümüzde evrensel olarak yaygın görüş, doğum boyu ve/veya ağırlığı  $<-2$  SD olup büyüme eğrisini yakalayamayan dört yaş ve üzerinde boy kısalığı olan çocuklara hGH tedavisi verme yönündedir (6,13). SRS tanısı olan hastaların birçoğu bu kriterleri karşılamaktadır. Hatta yaygın bir görüşe göre ciddi SRS şüphesi olan hastalara tedavi daha erken başlanmalıdır. Tüm bunlara rağmen SRS tanısı olan hastalarda hGH’nin etkili olduğuna dair randomize kontrollü çalışma mevcut olmamakla birlikte etkin olduğunu gösteren çalışmalar az sayıda ve genellikle moleküler tanısı olmayan hastalara dayanmaktadır (6,13). Çalışmamıza katılan 24 hastanın 4’ü (%17) farklı zaman ve sürelerde hGH tedavisi almıştır. Tedavi alan hasta sayısının az oluşu, çalışmanın retrospektif olması ve tedavi takibi ile ilgili kayıtların yetersizliği nedeniyle hGH etkinliği konusunda yorum yapmak mümkün görünmemektedir.



Beşinci parmakta klinodaktili, SRS'li hastalarda ekstremitte asimetrisinden sonra en sık görülen iskelet bulgusudur (%45-75). Bizim çalışmamızda da literatüre benzer olarak %75 sıklıkta saptanmıştır. IC1'de metilasyon azlığı olan grup ile moleküler etiyojisi aydınlatılmayan grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (p=1)

Wakeling ve arkadaşları, SRS'de gelişme geriliğinin mUPD7 olan grupta, IC1'de metilasyon azlığı olan gruba göre belirgin olarak daha sık görüldüğünü saptamışlardır. Gelişme geriliği sıklıkla hafiftir. Global gelişme geriliği oldukça azdır ve genellikle çocukluk döneminin ilerleyen zamanlarında belirgin hale gelir. Bizim çalışmamızda gelişme geriliği; dil, motor ve global olmak üzere üç farklı alanda ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bunların herhangi biri hastaların %70'inde gözlenmekle birlikte iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır. Hasta sayısı azlığı ve mUPD7 çalışılmaması bunun muhtemel nedenleri olabilir. Literatürde davranış problemleri oldukça nadir görülmesi de bizim çalışmamızla uyumludur.

Moleküler etiyojisi gösterilemeyen Grup 2'deki hastaların bir kısmının altta yatan nedeninin mUPD7 mekanizması olduğunu düşünmekle birlikte bu hastalarda Grup 1'e benzer şekilde kromozom analizi ile herhangi bir sitogenetik anormallik saptanmamıştır. Güncel yayınlar, bu hastaların bir kısmında çoklu bölge metilasyon sorunları olduğunu akla getirmekle birlikte patofizyolojideki rolü henüz netlik kazanmamıştır (141-145).

Hastaların belirli klinik bulgulara göre seçilerek araştırmaya dahil edildiği ve sonra bulunan moleküler patolojiye göre gruplandırıldığı çalışmalarda, gruplar arasında klinik bulguların sıklığı, şiddeti bakımından fark bulabilmek, bir diğer deyişle genotip-fenotip ilişkisi kurabilmek için her gruba düşen hasta sayısının istatistiksel anlamlı karşılaştırmaya imkan verecek düzeyde çok olması gereklidir. Bizim çalışmamızda bu ilişkinin kurulamaması literatürde %10 gibi bir yüzdeye sahip olduğu bildirilen mUPD7 varlığına bakamamız olabileceği gibi, çalışmadaki hasta sayısının azlığı nedeniyle de olabilir. Bu nedenle SRS'li hastalarda bu çalışmadan sonraki planımız mUPD7 varlığının araştırılması olacaktır. Yine de çalışmamıza dahil edilen birçok hastada moleküler tanı konması tedavi ve izlem açısından yarar sağlayacaktır. Çalışmamızın bir referans merkezi olan hastanemizin deneyimlerine ve güncel

uygulamalarına katkıda bulunduğu ve bu hastaların tanı ve izleminde standart yaklaşımlar getireceği de umulmaktadır.

Çalışmamız klinik özellikleriyle SRS ile uyumlu hasta grubunda, etiyolojide büyük bir yüzdeyi oluşturan moleküler düzensizlikleri saptayan MS-MLPA yöntemi aracılığı ile öncelikle klinik tanıyı moleküler olarak doğrulamak ve sonrasında klinikte görülen fenotipik heterojenitenin, neden olan moleküler patofizyolojiyi ne ölçüde yansıttığını anlamak amacıyla yapılmıştır.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızın sonunda şu sonuçlara ulaşılmıştır:

1. SRS'nin moleküler etiyojisi 16 hastada ortaya konmuştur. MS-MLPA sonuçlarına göre 16 hastada IC1'de metilasyon kaybı (Grup 1) bulunmuştur.
2. SRS ile uyumlu olan 8 hastanın sitogenetik incelemeleri de normal bulunmuş, bu hastalarda SRS'nin diğer mekanizmalarla oluştuğu veya SRS hastası olmayabilecekleri kabul edilmiştir.
3. Moleküler etiyojisi gösterilemeyen 8 hastanın büyük bir kısmının mUPD7 mekanizması ile olduğu düşünülmüştür. Önümüzdeki dönemde bu çalışmanın yapılması planlanmıştır.
4. ART ile doğan bebek oranının 2/16 olması, literatürde üzerinde durulan SRS-ART ilişkisini destekler niteliktedir.
5. IC1'de metilasyon azlığına bağlı SRS olduğu gösterilen hasta grubunda erkek cinsiyet oranı anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Bu durum literatür bilgisine terstir.
6. Hasta sayısı azlığı ve moleküler patolojilerin bir bölümüne yönelik tanısal test yönteminin uygulanmamış olması nedeniyle belirli bir fenotip-genotip ilişkisi kurulamamıştır. Bu yönde çalışmanın devamı gereklidir.
7. Kesin tanı alan çocukların tedavi ve izlemleri düzenlenmiş, ailelere genetik danışma verme imkanı doğmuştur.


**EKLER****EK 1: Hastaların Dökümü**

Hasta	Yaş (ay)	Cinsiyet	Moleküler Etiyoloji	ART	Prematürite	Düşük Doğum Ağırlığı	Düşük Vücut Ağırlığı	Boy kısalığı	Rölatif Makrosefali	Asimetri Yüz	Asimetri Ekstremiteler	Klinodaktili
1	82	E	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
2	46	E	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
3	88	K	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
4	170	K	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
5	38	K	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
6	60	K	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+
7	112	K	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+
8	69	K	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-
9	78	E	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+
10	199	E	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+
11	85	K	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+
12	88	E	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
13	80	E	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+
14	83	E	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
15	104	E	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
16	165	E	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
17	174	E	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
18	243	K	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
19	65	E	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
20	27	K	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+
21	40	K	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+
22	14	K	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
23	64	K	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
24	43	E	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+

## EK 1 (Devam)

Hasta	İştahsızlık	Terleme	Yüz Alın belirginliği	Yüz Üçgen yüz	Yüz Mikro-retrognati	Yüz Ağız Kenarı	Yüz Kulak Anomalisi	Gelişme Geriliği Global	Gelişme Geriliği Dil	Gelişme Geriliği Motor	Akrabalık
1	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
3	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
4	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
7	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
8	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
9	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
11	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
12	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+
13	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-
14	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
15	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-
19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
20	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
22	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
23	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
24	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+

# EK 2a: SALSA MS-MLPA ME030-C1 BWS/RSS Kiti İçeriği (Normal)



**Sample report: K1(L)**

Sample type: Reference | Project: RSS-Dr\_Busa | Experiment: 20140902 | Dye: 5-FAM | Performed by: Admin  
Machine: ABI-3130 | Report date: 04.09.2014 | Run date: 02.09.2014 | Software Version: v.140429.1057 | Normal range: 0,7 - 1,3

Authorization

Date

**MLPA probe mix:** ME030-BWS/RSS    **# of test probes:** 42/42    **FRBS:** OK 100%  
**Lot number:** LOT1212    **# of ref probes:** 13/13    **FRMS:** Bad 35%  
**Sheet date:** 02.09.2014 16:39:32    **DNA concentration:** OK    **PBLP:** OK -6%  
**Control fragments:** CF-003(brown) QDX2 (LOT)    **DNA denaturation:** Bad    **RSG:** OK  
**Analyse method:** Block SSO; CN    **Expected gender:** Female    **RPG:** OK  
**Used metric:** Peak height    **Residual primer %:** OK 8%    **CAS:** Warning 50%

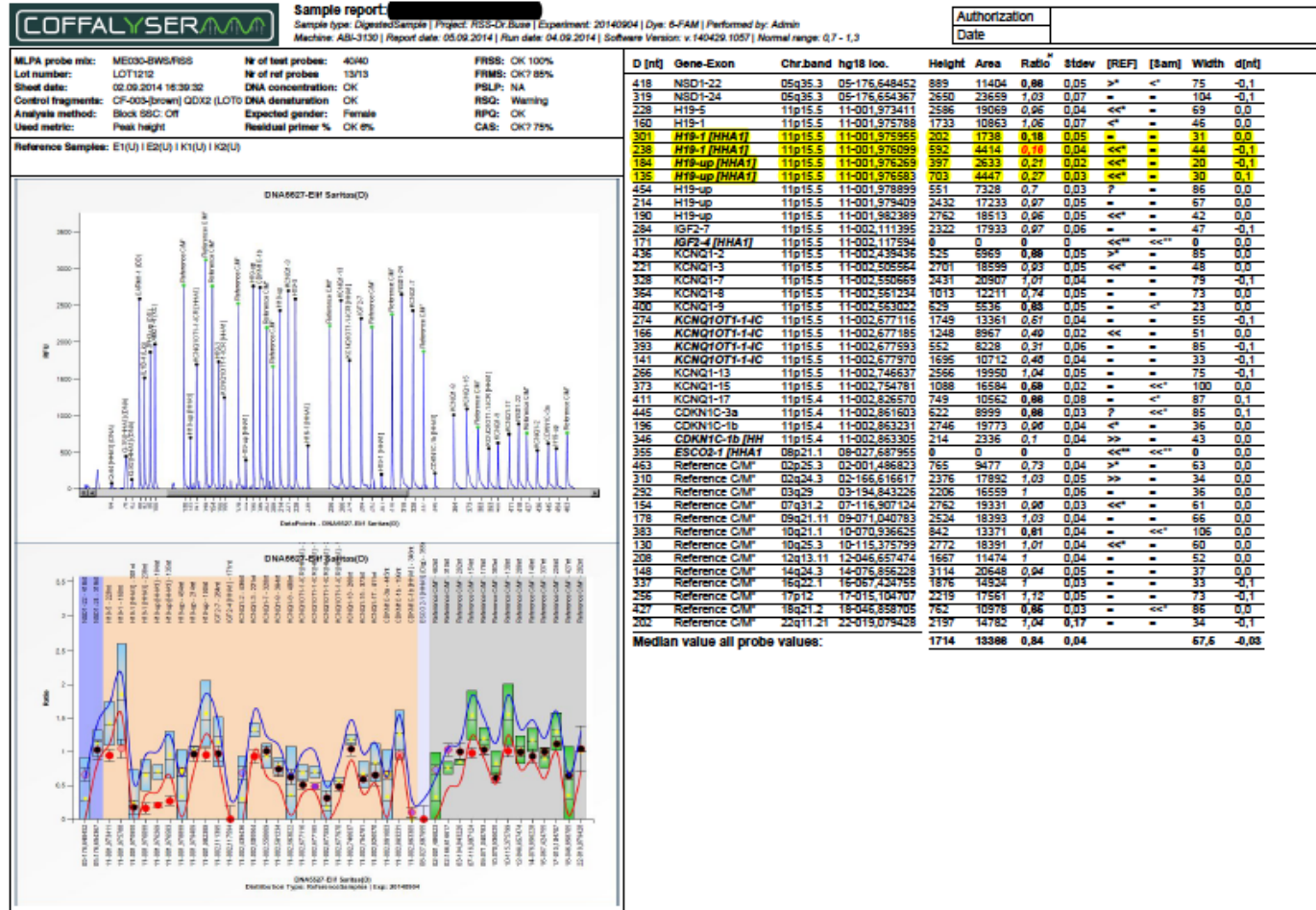
**Reference Samples:** E(1) | E(2) | K1(L) | K2(L)

[nt]	Gene-Exon	Chr.band	hg18 loc.	Height	Area	Ratio	Stdev	[REF]	[Sam]	Width	d[nt]
418	NSD1-22	05q35.3	05-176.648452	1052	10136	0,02	0,07	-	-	73	0,0
319	NSD1-24	05q35.3	05-176.654367	2017	16348	1,00	0,09	-	-	56	0,2
228	H19-5	11p15.5	11-001.973411	2125	16097	1,00	0,08	-	-	70	0,0
160	H19-1	11p15.5	11-001.975798	1392	9355	1,1	0,09	-	-	49	0,0
301	H19-1 [HHA1]	11p15.5	11-001.975955	912	7025	1,03	0,07	-	-	36	0,2
238	H19-1 [HHA1]	11p15.5	11-001.976099	2738	23640	1,00	0,08	-	-	119	0,0
184	H19-up [HHA1]	11p15.5	11-001.976269	1505	10627	1,06	0,07	-	-	41	0,1
135	H19-up [HHA1]	11p15.5	11-001.976583	2022	14262	1,00	0,09	-	-	41	-0,1
454	H19-up	11p15.5	11-001.978899	591	5867	0,97	0,07	-	-	38	-0,3
214	H19-up	11p15.5	11-001.979409	1899	13468	1,02	0,06	-	-	46	0,1
190	H19-up	11p15.5	11-001.982389	2167	14909	1,04	0,08	-	-	47	0,0
284	IGF2-7	11p15.5	11-002.111395	1893	14591	1,00	0,08	-	-	48	0,1
171	IGF2-4 [HHA1]	11p15.5	11-002.117594	2524	17280	1,12	0,1	-	-	37	-0,1
436	KCNQ1-2	11p15.5	11-002.239436	584	5537	0,97	0,08	-	-	52	-0,2
221	KCNQ1-3	11p15.5	11-002.550562	2189	15616	1,00	0,07	-	-	54	0,2
328	KCNQ1-7	11p15.5	11-002.550669	1837	15814	1,07	0,06	-	-	84	0,2
354	KCNQ1-8	11p15.5	11-002.561234	981	8768	0,97	0,06	-	-	49	-0,1
400	KCNQ1-9	11p15.5	11-002.563022	745	6073	0,97	0,07	-	-	24	-0,2
274	KCNQ1OT1-1-IC	11p15.5	11-002.677116	2514	20234	1,04	0,07	-	-	44	0,2
166	KCNQ1OT1-1-IC	11p15.5	11-002.677185	2037	14496	1,00	0,09	-	-	57	0,0
393	KCNQ1OT1-1-IC	11p15.5	11-002.677593	1338	12911	0,90	0,06	-	-	90	-0,1
141	KCNQ1OT1-1-IC	11p15.5	11-002.677570	2649	17314	1	0,07	-	-	31	-0,1
266	KCNQ1-13	11p15.5	11-002.746637	1863	13577	1	0,06	-	-	51	0,1
373	KCNQ1-15	11p15.5	11-002.754781	1377	12248	0,96	0,06	-	-	48	0,1
411	KCNQ1-17	11p15.4	11-002.826570	865	8076	0,90	0,06	-	-	63	-0,3
445	CDKN1C-3a	11p15.4	11-002.861603	702	7439	0,94	0,07	-	-	57	-0,3
196	CDKN1C-1b	11p15.4	11-002.863231	2267	16340	1,06	0,07	-	-	41	0,0
345	CDKN1C-1b [HHA]	11p15.4	11-002.863305	1579	15473	0,94	0,07	-	-	54	0,1
355	ESCO2-1 [HHA1]	09p21.1	09-027.587955	1189	10561	0,90	0,06	-	-	53	-0,1
463	Reference C/M*	02q25.3	02-001.486823	829	8403	0,94	0,06	-	-	50	-0,2
310	Reference C/M*	02q24.3	02-166.616617	1937	15501	1,07	0,06	-	-	41	0,1
282	Reference C/M*	03q29	03-194.843226	1526	12092	0,97	0,07	-	-	48	0,1
154	Reference C/M*	07q31.2	07-116.907124	2391	16784	1,17	0,09	-	-	62	-0,1
179	Reference C/M*	09q21.11	09-071.040783	1953	13256	1,00	0,07	-	-	35	0,1
383	Reference C/M*	10q21.1	10-070.936625	1038	9325	0,90	0,06	-	-	41	0,0
130	Reference C/M*	10q25.3	10-115.375799	2222	13654	1,00	0,08	-	-	33	-0,1
208	Reference C/M*	12q13.11	12-046.557474	1325	9418	1,07	0,06	-	-	42	-0,1
148	Reference C/M*	14q24.3	14-076.856228	2486	17021	1,07	0,06	-	-	38	0,1
337	Reference C/M*	15q22.1	15-067.424755	1393	11240	0,90	0,06	-	-	32	0,2
256	Reference C/M*	17p12	17-015.104707	1575	11438	1,06	0,07	-	-	40	0,0
427	Reference C/M*	18q21.2	18-046.358705	541	3218	0,90	0,06	-	-	45	-0,3
202	Reference C/M*	22q11.21	22-013.079428	1659	12592	0,9	0,18	-	-	50	0,0

**Median value all probe values:**    **1619**    **13084**    **1,01**    **0,07**    **48**    **0,01**

Normal range: 0,7 - 1,3 Essential information on the use of this product is present in the product description which is available on <http://www.mips.com>. For questions, mailto:info@mips.com.  
 The 146 nt probe 12q13.11.11406, 186 nt probe 02q25.3.02780, 171 nt probe 02q25.3.02880, 171 nt probe 02q25.3.02880, 156 nt probe 02q25.3.02880, 302 nt probe 02q25.3.02880, 356 nt probe 014q01.01401, 264 nt probe 02q27.1.02770, 346 nt probe 10q24.3.10042, 411 nt probe 03q25.3.03042, 445 nt probe 14q24.3.14042, 454 nt probe 10q26.1.11142 are located within or close to, a very strong CpG island and can give false positive deviations in DNA samples containing salt. Please check the 90 and 96 nt DNA denaturation control probes in case of a low probe signal. \*\* The 355 nt probe 09153.150311 is included as a digestion control, warning for heat. Please see the product description for all notifications.

EK 2b: SALSA MS-MLPA ME030-C1 BWS/RSS Kiti İçeriği (Hasta)



**KAYNAKLAR**

1. Poole, R., Docherty, L. E., Sayegh, A. A., Caliebe, A., Turner, C., Baple, E. ve diğeri. (2013) Targeted Methylation Testing of a Patient Cohort Broadens the Epigenetic and Clinical Description of Imprinting Disorders. *Am J Med Genet Part A* 161A:2174-82
2. Girardot, M., Feil, R., Llères, D. (2013) Epigenetic deregulation of genomic imprinting in humans: causal mechanisms and clinical implications. *Epigenomics* 5(6), 715-28
3. Abu-Amero, S., Wakeling, E. L., Preece, M., Whittaker, J., Stanier, P., Moore, G. E. (2010) Epigenetic signatures of Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 47:150-4
4. Binder, G., Liebl, M., Woelfle, J., Eggermann, T., Blumenstock, G., Schweizer, R. (2013) Adult Height and Epigenotype in Children with Silver-Russell Syndrome Treated with GH. *Horm Res Paediatr* 80:193-200
5. Rossignol, S., Netchine, I., Le Bouc, Y., Gicquel, C. (2008) Epigenetics in Silver-Russell Syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol metab* 22:403-14
6. Wakeling, E. L. (2011) Silver-Russell syndrome. *Arch Dis child*, 96:1156-61
7. Toumba, M., Albanese, A., Azcona, C., Stanhope, R. (2010) Effect of long-term growth hormone treatment on final height of children with Russell-Silver syndrome. *Horm Res Paediatr* 74:212-7
8. Ranke, M. B., Linberg, A. (2010) Height at Start, First-Year Growth Response and Cause of Shortness at Birth Are Major Determinants of Adult Height Outcomes of Short children Born Small for Gestational Age and Silver-Russell Syndrome Treated with Growth Hormone: Analysis of Data from KIGS. *Horm Res Paediatr* 74:259-266
9. Eggermann, T. (2010) Russell-Silver Syndrome *Am J Med Genet Part C* 154C:355-364
10. Eggermann, T., Spengler, S., Goqi, M., Begemann, M., Elbracht, M. (2012) Epigenetic and genetic diagnosis of Silver-Russell syndrome. *Expert Rev Mol Diagn* 12(5):459-71
11. Eggermann, T., Begemann, M., Spengler, S., Schröder, C., Kordass, U., Binder, G. (2010) Genetic and epigenetic findings in Silver-Russell syndrome. *Pediatr Endocrinol Rev* 8(2):86-93



12. Eggermann, T., Gonzalez, D., Spengler, S., Arslan-Kirchner, M., Binder, G., Schönherr, N. (2009) Broad clinical spectrum in Silver-Russell syndrome and consequences for genetic testing in growth retardation. *Clin Genet* 74:486-489
13. Wakeling, E. L., Amero, S. A., Alders, M., Blik, J., Forsythe, E., Kumar, S. ve arkadaşları. (2010) Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* ; 47:760-768
14. Hannula, K., Kere, J., Pirinen, S., Holmberg, C., Lipsanen-Nyman, M. (2001) Do patients with maternal uniparental disomy for chromosome 7 have a distinct mild Silver-Russell phenotype? *J Med Genet* 38(4):273-8
15. Kotzot, D. (2008) Maternal uniparental disomy 7 and Silver-Russell syndrome – clinical update and comparison with other subgroups. *Eur J Med Genet*; 51:444-51
16. Mendez, H. (1985) Introduction to the study of pre- and postnatal growth in humans: a review. *Am J Med Genet* 20(1):63-85
17. Spath, S.S., Andrade, A.C., Chau, M., Nilsson, O. (2011) Local regulation of growth plate cartilage. *Endocr Dev*, 21, 12-22
18. Gicquel, C., Le Bouc, Y. (2006) Hormonal regulation of Fetal Growth. *Horm Res*; 28-33
19. Fowden, A. L., Forhead, A. J. (2004) Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 127;515-526
20. Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J., Efstratiadis, A. (1993) Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell* 75:73-82
21. Galjaard, S., Devlieger, R., Van Assche, F. A. (2013) Fetal growth and developmental programming. *J Perinat Med* 41(1): 101-5
22. Sferruzzi-Perni, A. N., Vaughan, O. R., Forhead, A. J., Fowden, A. L. (2013) Hormonal and nutritional drivers of intrauterine growth. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 16(3): 298-309
23. Murray, P. G., Clayton, P. E. (2013) Endocrine control of growth. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 163(C)2:76-85
24. Cohen, P., Rogol, A. D., Deal, C. L. (2008) Consensus statement on diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society for Pediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4210-4217

25. Nilsson, O., Marino, R., De Luca, F., Phillip, M., Baron, J. (2005) Endocrine regulation of the growth plate. *Horm Res*, 64 (4), 157-165
26. Forhead, A. J., Fowden, A. L. (2014) Thyroid hormones in fetal growth and development. *J Endocrinol* 221(3):R87-R103
27. Pfäffle, R., Kiess, W., Klammt, J. (2012) Downstream insulin like growth factor. *Endocr Dev* 23:42-51
28. Rose, S. R., Vogiatzi, M. G., Copeland, K. C. A General pediatric approach to evaluating a short child. *Pediatr Rev* 26:410
29. Rogol, A. D., Hayden, G. F. (2014) Etiologies and early diagnosis of short stature and growth failure in children and adolescents. *J Pediatr* 164(5 suppl) S1-14
30. Rogol, A. D., Geffner, M., Hoppin, A. G. (2012) Diagnostic approach to short stature. <http://www.uptodate.com/contents/diagnostic-approach-to-short-stature>
31. Wit, J. M., Clayton, P.E., Rogol, A. D., Savage, M. O., Saenger, P.H., Cohen, P. (2008) Idiopathic short stature definition, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Growth Horm IGF Res* 18:89-110
32. Ismail, H., Ness, K. (2013) Evaluation of short stature in children. *Pediatr Ann* 42(11):217-22
33. Grissom, M. (2013) Disorders of childhood growth and development: failure to thrive versus short stature. *FP Essent* 410:11-9
34. Allen, D. B., Cuttler, L. (2013) Clinical practice. Short stature in childhood—challenges and choices. *N Engl J Med* 368(13):1220-8
35. Wit, J. M. (2011) Definition and subcategorization of idiopathic short stature: between consensus and controversy. *Horm Res Paediatr* 76 Suppl 3:3-6
36. Oosdijk, W., Grote, F. K., de Muinck Keizer-Schrama, S. M., Wit, J. M. (2009) Diagnostic approach in children with short stature. *Horm Res* 72:206-17
37. Cohen, P., Rogol, A. D., Deal, C. L., Saenger, P., Reiter, F. O., Ross, J. L. ve arkadaşları (2008) Consensus statement on the diagnosis and treatment of children with idiopathic short stature: a summary of the Growth Hormone Research Society, the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society, and the European Society for Paediatric Endocrinology Workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4210-7
38. Vogiatzi, M. G., Copeland, K. C. (1998) The short child. *Pediatric Rev* 19:92-9

39. Cooke, D. W., Divall, S. A., Radowick, S. (2011) Normal and aberrant growth. In: Melmed, S., Polonsky, K. S., Larsen, P. R., Kronenberg, H. M. Williams textbook of endocrinology. 12<sup>th</sup> ed. Philadelphia (PA): Saunders Elsevier;935-1053
40. Gluckman, P. D., Hanson, M. A. (2005) The fetal matrix: Evolution, development, and disease. Cambridge, UK: Cambridge University Press
41. Hall, J. G. (2009) Review and Hypothesis: Syndromes With Severe Intrauterine Growth Restriction and Very Short Stature- Are They Related to the Epigenetic Mechanism(s) of Fetal Survival Involved in the Developmental Origins of Adult Health and Disease? *Am J Med Genet Part A* 152A:512-527
42. Adalsteinsson, B. T., Ferguson-Smith, A. C. (2014) Epigenetic control of the genome-lessons from genomic imprinting. *Genes (Basel)* 5(3):635-55
43. Horsthemke, B. (2014) In brief: genomic imprinting and imprinting diseases. *J Pathol* 232(5):485-7
44. Gibney, E.R., Nolan, C.M. (2010) Epigenetics and gene expression. *Heredity (Edinb)*, 105 (1), 4-13
45. Feinberg, A.P. (2008) Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *JAMA*, 299 (11), 1345-1350
46. Strachan, T., Read, A.P. (1999). "Hum Mol Genet" (2. bs.)'de, New York
47. Butler, M. G. (2009) Genomic imprinting disorders in humans: a mini review. *J Assist Reprod Genet* 26:477-486
48. Nicholls, R.D. (1994) New insights reveal complex mechanisms involved in genomic imprinting. *Am J Hum Genet*, 54 (5), 733-740
49. Plasschaert, R. N., Bartolomei, M. S. (2014) Genomic imprinting in development, growth, behaviour and stem cells. *Development* 141(9):1805-13
50. Bachmann, N., Bergmann, C. (2012) Epigenetics and imprinting. *Arch Pediatr* 19(11):1145-7
51. Ishida, Miho., Moore, G. D. (2013) The role of imprinted genes in humans. *Molecular Aspects of Medicine* 34 826-840
52. Gardner, R.J.M., Sutherland, G.R., Shaffer, L.G. (2011). Uniparental disomy and disorders of imprinting. "Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling" (4. bs.)'de, s. 351-376

- 53.** Abu-Amero, S., Monk, D., Frost, J., Preece, M., Stanier, P., Moore, G. E. (2007) The genetic aetiology of Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 45:193-199
- 54.** Dias, P. R., Nightingale, P., Hardy, C., Kirby, G., Tee, Louise., Price, Susan., Macdonald, F. ve arkadaşları. (2013) Comparison of the clinical scoring systems in Silver-Russell syndrome and development of modified diagnostic criteria to guide molecular genetic testing. *J Med Genet* 50:635-639
- 55.** Lai, K. Y., Skuse, D., Stanhope, R., Hindmarsh, P. (1994) Cognitive abilities associated with the Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child* 71:490-6
- 56.** Price, S. M., Stanhope, R., Garrett, C., Preece, M. A., Trembath, R. C. (1999) The spectrum of Silver-Russell syndrome: a clinical and molecular genetic study and new diagnostic criteria. *J Med Genet* 36:837-42
- 57.** Netchine, I., Rossignol, S., Dufourg, M. N., Azzi, S., Rousseau, A., Perin, L. ve arkadaşları. (2007) 11p15 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russell-Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3148-54
- 58.** Bartholdi, D., Krajewska-Walasek, M., Ounap, K., Gaspar, H., Chrzanowska, K. H., Ilyana, H. ve arkadaşları. (2009) Epigenetic mutations of the imprinted IGF2-H19 domain in Silver-Russell syndrome (SRS): results from a large cohort of patients with SRS and SRS-like phenotypes. *J Med Genet* 46:192-7
- 59.** Binder, G., Begemann, M., Eggermann, T., Kannenberg, K. (2010) Silver-Russell syndrome. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* (1):153-60
- 60.** Eggermann, T. (2009) Silver-Russell syndrome and Beckwith-Wiedemann syndromes: opposite (epi)mutations in 11p15 result in opposite clinical pictures. *Horm Res* 71 Suppl 2:30-5
- 61.** Netchine, I., Rossignol, S., Azzi, S., Brioude, F., Le Bouc, Y. (2012) Imprinted anomalies in fetal and childhood growth disorders: the model of Russell-Silver and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Endocr Dev* 23:60-70
- 62.** Preece, M. A., Price, S. M., Davies, V., Clough, L., Stanier, P., Trembath, R. C. Ve arkadaşları. (1997) Maternal uniparental disomy 7 in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 34:6-9

- 63.** Kotzot, D., Schmitt, S., Bernasconi, F., Robinson, W. P., Lurie, I. W., Ilyina, H. V. ve arkadaşları. (1995) Uniparental disomy 7 in Silver-Russell syndrome and primordial growth retardation. *Hum Mol Genet* 4:583-7
- 64.** Kobayashi, S., Kohda, T., Miyoshi, N., Kuroiwa, Y., Aisaka, K., Tsutsumi, O. ve arkadaşları. (1997) Human *PEG1/MEST*, an imprinted gene on chromosome 7. *Hum Mol Genet* 6:781-6
- 65.** Kaneko-Ishino, T., Kuroiwa, Y., Miyoshi, N., Kohda, T., Suzuki, R., Yokohama, M. ve arkadaşları. (1995) *Peg 1/Mest* imprinted gene on chromosome 7 identified by cDNA subtraction hybridization. *Nat Genet* 11:52-9
- 66.** Nakabayashi, K., Bentley, L., Hitchins, M. P., Mitsuya, K., Meguro, M., Minagawa, S. ve arkadaşları. (2002) Identification and characterization of an imprinted antisense RNA (*MESTIT1*) in the human *MEST* locus on chromosome 7q32. *Hum Mol Genet* 11:1743-56
- 67.** Beechey, C. V. (2000) *Peg1/MEST* locates distal to the currently defined imprinting region on mouse proximal chromosome 6 and identifies a new imprinting region affecting growth. *Cytogenet Cell Genet* 90:309-14
- 68.** Blagitko, N., Mergenthaler, S., Schulz, U., Wollmann, H.A., Craigen, W., Eggermann, T. ve arkadaşları. (2000) Human *GRB10* is imprinted and expressed from the paternal and maternal allele in a highly tissue- and isoform- specific fashion. *Hum Mol Genet* 9:1587-95
- 69.** Charalambous, M., Smith, F. M., Bennett, W. R., Crewe, T. E., MacKenzie, F., Ward, A. (2003) Disruption of the imprinted *Grb10* gene leads to disproportionate overgrowth by an *Igf2*-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8292-7
- 70.** Arnaud, P., Monk, D., Hitchins, M., Gordon, E., Dean, W., Beechey, C. V. ve arkadaşları. (2003) Conserved methylation imprints in the human and mouse *GRB10* genes with divergent allelic expression suggests differential reading of the same mark. *Hum Mol Genet* 12:1005-19
- 71.** Yoshihashi, H., Maeyama, K., Kosaki, R. Ogata, T, Tsukahara, M., Goto, Y. ve arkadaşları (2000) Imprinting of human *GRB10* and its mutations in two patients with Russell-Silver syndrome. (2000) *Am J Hum Genet* 67:476-82

- 72.** Hark, A. T., Schoenherr, C. J., Katz, D. J., Ingram, R. S., Levorse, J. M., Tilghman, S. M. (2000) CTCF mediates methylation-sensitive enhancer-blocking activity at the *H19/Igf2* locus. *Nature* 405:486-9
- 73.** Bell, A. C., Felsenfeld, G. (2000) Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the *Igf2* gene. *Nature* 405:482-5
- 74.** Gicquel, C., Rossignol, S., Cabrol, S., Hauang, M., Steunou, V., Barbu, V. ve arkadaşları. (2005) Epimutation of the telomeric imprinting center region on chromosome 11p15 in Silver-Russell syndrome. *Nat Genet* 37:1003-7
- 75.** Pagon, R. A., Adam, M. P., Ardinger, H. H. ve arkadaşları. (1993-2014) GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA)
- 76.** Yamazawa, K., Kagami, M., Fukami, M., Matsubara, K., Ogata, T. (2008) Monozygotic female twins discordant for Silver-Russell syndrome and hypomethylation of the H19-DMR. *J Hun Genet* 53(10):950-5
- 77.** Cocchi, G., Marsico, C., Cosentino, A., Spadoni, C., Rocca, A., De Crescenzo, A. ve arkadaşları. (2013) Silver-Russell syndrome due to paternal H19/IGF2 hypomethylation in a twin girl born after in vitro fertilization. *Am J Med Genet A* 161A(10):2652-5.
- 78.** Azzi, S., Blaise, A., Steunou, V., Harbison, M. D., Salem, J., Brioude, F. ve arkadaşları. (2014) Complex Tissue-Specific Epigenotypes in Russell-Silver Syndrome Associated with 11p15 ICR1 Hypomethylation. *Hum Mutat* 35(10):1211-20
- 79.** Jacob, K. J., Robinson, W. P., Lefebvre, L. (2013) Beckwith-Wiedemann and Silver-Russell syndromes: opposite developmental imbalances in imprinted regulators of placental function and embryonic growth. *Clin Genet* 84(4):326-34
- 80.** Murphy, R., Thompson, J. M., Tost, J., Mitchell, E. A.; Auckland Birthweight Collaborative Study Group. (2014) No evidence for copy number and methylation variation in H19 and KCNQ10T1 imprinting control regions in children born small for gestational age. *BMC Med Genet* 15:67
- 81.** Abdelhedi, F., El Khattabi, L., Cuisset, L., Tsatsaris, V., Viot, G., Druart, L. ve arkadaşları. (2014) Neonatal Silver-Russell syndrome with maternal uniparental heterodisomy, trisomy 7 mosaicism, and dysplasia of the cerebellum. *Am J Clin Pathol* 142(2):248-53

- 82.** Fuke-Sato, T., Yamazawa, K., Nakabayashi, K., Matsubara, K., Matsuoka, K., Hasegawa, T. ve arkadaşları. (2012) Mosaic upd(7)mat in a patient with Silver-Russell syndrome. *Am J Med Genet A* 158A(2):465-8
- 83.** Fuke, T., Mizuno, S., Nagai, T., Hasegawa, T., Horikawa, R., Miyoshi, Y. ve arkadaşları. (2013) Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome. *PLoS One* 8(3):e60105
- 84.** Şıklar, Z., Berberoğlu, M. (2014) Syndromic disorders with short stature. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 6(1):1-8
- 85.** Wollmann, H. A., Kirchner, T., Enders, H., Preece, M. A., Ranke, M. B. (1995) Growth and symptoms in Silver-Russell syndrome: review on the basis of 386 patients. *Eur J Pediatr* 154:958–68.
- 86.** Saal, H. M., Pagon, R. A., Pepin, M. G. (1985) Reevaluation of Russell-Silver syndrome. *J Pediatr* 107:733–7.
- 87.** Silver, H. K., Kiyasu, W., George, J., Deamer, W. C. (1953) Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature, and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics* 12:368-76
- 88.** Russell, A. (1954) A syndrome of intra-uterine-dwarfism recognizable at birth with craniofacial dysostosis, disproportionate short arms, and other anomalies (5 examples). *Proc R Soc Med* 47 1040-4
- 89.** Iliev, D. I., Kannenberg, K., Weber, K., Binder, G. (2014) IGF-I sensitivity in Silver-Russell syndrome with IGF2/H19 hypomethylation. *Growth Horm IGF Res.* pii: S1096-6374(14)00063-X.
- 90.** Binder, G., Mavridou, K., Wollmann, H., Eggermann, T., Ranke, M B. (2002) Screening for insulin-like growth factor –I receptor mutations in patients with Silver-Russell syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 15:1167-71
- 91.** Montenegro, L. R., Leal, A. C., Coutinho, D. C. (2012) Post-receptor IGF1 insensitivity restricted to the MAPK pathway in a Silver-Russell syndrome patient with hypomethylation at the imprinting control region on chromosome 11. *Eur J Endocrinol* 166:543-50
- 92.** Binder, G., Liebl, M., Woelfle, J., Eggermann, T., Blumenstock, G., Schweizer, R. (2013) Adult height and epigenotype in children with Silver-Russell syndrome treated with GH. *Horm Res Paediatr* 80(3):193-200

- 93.** Binder, G., Seidel, A. K., Weber, K., Haase, M., Wollmann, H. A., Ranke, M. B. ve arkadaşları. (2006) IGF-II serum levels are normal in children with Sişver-Russell syndrome who frequently carry epimutations at the *Igf2* locus. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4709-12
- 94.** Kulkarni, M. L., Venkataramana, V., Sureshkumar, C., Shabeer, H. M. (1995) Russell-Silver syndrome: a study of 3 cases. *Ann Dent* 54:56–60.
- 95.** Orbak, Z., Orbak, R., Kara, C., Kavrut, F. (2005) Differences in dental and bone maturation in regions with or without hemihypertrophy in two patients with Russell-Silver syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18:701–10.
- 96.** Ortiz, C., Cleveland, R. H., Jaramillo, D., Blickman, J. G., Crawford, J. (1991) Urethral valves in Russell-Silver syndrome. *J Pediatr* 119:776–8
- 97.** Anderson, J., Viskochil, D., O'Gorman, M., Gonzales, C. (2002) Gastrointestinal complications of Russell-Silver syndrome: a pilot study. *Am J Med Genet* 113:15–9
- 98.** Abraham, E., Altioik, H., Lubicky, J. P. (2004) Musculoskeletal manifestations of Russell-Silver syndrome. *J Pediatr Orthop* 24:552–64
- 99.** Ounap, K., Reimand, T., Magi, M. L., Bartsch, O. (2004) Two sisters with Silver-Russell phenotype. *Am J Med Genet A* 131:301–6
- 100.** Vardi, O., Davidovitch, M., Vinkler, C., Michelson, M., Lerman-Sagie, T., Lev, D. (2012) Autistic regression in a child with Silver-Russell syndrome and maternal UPD7. *Eur J Paediatr Neurol* 16(1):95-8
- 101.** Plotts, C. A., Livermore, C. L. (2007) Russell-Silver syndrome and nonverbal learning disability:a case study. *Appl Neuropsychol* 14(2):124-34
- 102.** Lai, K. Y. C., Skuse, D., Stanhope, R., Hindmarsh, P. 1994 Cognitive abilities associated with the Silver-Russell syndrome. *Arch Neurol* 65:490-6
- 103.** Azcona, C., Stanhope, R. (2005) Hypoglycaemia and Russell-Silver syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* 18:663–70
- 104.** Sheridan, M. B., Bytyci Telegrafi, A., Stinnett, V., Umeh, C. C., Mari, Z., Dawson, T. M. ve arkadaşları. (2013) Myoclonus-dystonia and Silver-Russell syndrome resulting from maternal uniparental disomy of chromosome 7. *Clin Genet* 84(4):368-72
- 105.** Svenson, J., Björnstahl, A., Ivarsson, S. A. (2005) Increased risk of Silver-Russell syndrome after in vitro fertilation? *Acta Paediatr* 94:1163-5



- 106.** Maher, E. R. (2005) Imprinting and assisted reproductive technology. *Hum Mol Genet* 14 spec No 1:R133-8
- 107.** Le Bouc, Y., Rossignol, S., Azzi, S., Stenou, V., Netchine, I., Gicquel, C. (2010) Epigenetics, genomic imprinting and assisted reproductive technology. *Ann Endocrinol* 71(3):237-8
- 108.** Vermeiden, J. P., Bernardus, R. E. (2013) Are imprinting disorders more prevalent after human in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection? *Fertil Steril* 99(3):642-51
- 109.** Hiura, H., Okae, H., Miauchi, N., Sato, F., Sato, A., Van De Pette, M. ve arkadaşları. (2012) Characterisation of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 27(8):2541-8
- 110.** Kagami, M., Nagai, T., Fukami, M., Yamazawa, K., Ogata, T. (2007) Silver-Russell syndrome in a girl born after in vitro fertilization: partial hypermethylation at the differentially methylated region of PEG1/MEST. *J Assist Reprod Genet* 24(4):131-6
- 111.** Eroglu, A., Layman, L. C. (2012) Role of ART in imprinting disorders. *Semin Reprod Med* 30(2):92-104
- 112.** Svensson, J., Bjornstahl, A., Ivarsson, S. A. (2005) Increased risk of Silver-Russell syndrome after in vitro fertilization? *Acta Paediatr* 94:1163-5
- 113.** Schieve, L. A., Meikle, S. F., Ferre, C., Peterson, H. B., Jeng, G., Wilcox, L. S. (2002) Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Eng J Med* 346:731-6
- 114.** Doornbos, M. E., Maas, S. M., McDonnell, J., Vermeiden, J. P., Hennekam, R. C. (2007) Infertility, assisted reproductive technologies and imprinting disturbances: a Dutch study. *Hum Reprod* 22:2476-80
- 115.** Douzgou, S., Mignarelli, R., Tarani, L., De Crescenzo, A., Riccio, A. (2008) Silver-Russell syndrome following in vitro fertilization. *Pediatr Dev Pathol* 11(4):329-31
- 116.** Hannula, K., Kere, J., Pirinen, S., Holmberg, C., Lipsanen-Nyman, M. (2001) Do patients with maternal uniparental disomy for chromosome 7 have a distinct mild Silver-russell phenotype? *J Med Genet* 38:273-8

- 117.** Bruce, S., Hannula-Jouppi, K., Peltonen, J., Kere, J., Lipsanen-Nyman, M. (2008) Clinically distinct epigenetic subgroups in Silver-Russell syndrome: the degree of H19 hypomethylation associates with SRS phenotype severity and genital and skeletal anomalies. *J Clin Endocrinol Metab* 94:579-87
- 118.** Fisher, A. M., Thomas, N. S., Cockwell, A., Stecko, O., Kerr, B., Temple, I. K. (2002) Duplications of chromosome 11p15 of maternal origin result in a phenotype that includes growth retardation. *Hum Genet* 111:290-6
- 119.** Blik, J., Terhal, P., van den Bogaard, M. J., Maas, S., Hamel, B., Salieb-Beugelaar, G. ve arkadaşları. (2006) Hypomethylation of the *H19* gene causes not only Silver-Russell syndrome but also isolated asymmetry of an SRS-like phenotype. *Am J Hum Genet* 78:604-14
- 120.** Karaca, E., Tuysuz, B., Pehlivan, S., Ozkınay, F. (2012) First genetic screening for maternal uniparental disomy of chromosome 7 in Turkish silver-russell syndrome patients. *Iran J Pediatr* 22(4)445-51
- 121.** Eggermann, T., Begemann, M., Gogiel, M., Palomares, M., Vallespin, E., Fernandez, L. (2012) Heterogeneous growth patterns in carriers of chromosome 7p12.2 imbalances affecting GRB10. *Am J Med Genet A* 158(A)11:2815-9
- 122.** Moore, G. E. (2011) What is the evidence for causal epigenetic influences on the Silver-Russell syndrome phenotype?. *Epigenomics* 3(5):529-31
- 123.** Wollmann, H. A., Kirchner, T., Enders, H., Preece, M. A., Ranke, M. B. (1995) Growth and symptoms in Silver-Russell syndrome: review on the basis of 386 patients. *Eur J Paediatr* 154(12):958-68
- 124.** Bernard, L. E., Peñaherrera, M. S., Van Allen, M. I., Wang, M. S., Yong, S. L., Gareis, F. ve arkadaşları. (1999) Clinical and molecular findings in two patients with russell-silver syndrome and UPD7: comparison with non-UPD7 cases. *Am J Med Genet* 87(3):230-6
- 125.** Grether-González, P., Cámara-Polanco, V., Ulloa-Avilés, V., Salas-Labadia, C., Almanza-Márquez, R., Kogan-Frenk. ve arkadaşları. (2010) Prenatal diagnosis by amniocentesis. Clinical and cytogenetic experience in 1500 cases. *Ginecol Obstet Mex* 78(9):493-503
- 126.** Kotzot, D. (2008) Prenatal testing for uniparental disomy: indications and clinic relevance. *Ultrasound Obstet Gynecol* 31(1):100-5

- 127.** Font-Montgomery, E., Stone, K. M., Weaver, D. D., Vance, G. H., Das, S., Thurston, V. C. (2005) Clinical outcome and follow-up of the first reported case of Russell-Silver syndrome with the unique combination maternal uniparental heterodisomy 7 and mosaic trisomy 7. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 73(8):577-82.
- 128.** Falkert, A., Dittmann, K., Seelbach-Göbel, B. (2005) Silver-Russell syndrome as a cause for early intrauterine growth restriction. *Prenat Diagn* 25(6):497-501
- 129.** Fukushima, K., Komatsu, H., Matsumoto, M., Kobayashi, H., Tsukimori, K., Satoh, S. ve arkadaşları. (2002) IGF-related proteins at birth in a case of antenatally diagnosed Silver-Russell syndrome. *Pediatr Res* 51(3):323-7.
- 130.** Mascarenhas, J. V., Ayyar, V. S. (2012) Russell-Silver syndrome: a perspective on growth and the influence on growth hormone therapy. *Indian J of Endocrinol Metab* 16(5):840-2
- 131.** Schouten, J.P., McElgunn, C.J., Waaijer, R., Zwijnenburg, D., Diepvens, F., Pals, G. (2002) Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res*, 30 (12), e57.
- 132.** Nygren, A.O., Ameziane, N., Duarte, H.M., Vijzelaar, R.N., Waisfisz, Q., Hess, C.J. ve diğerleri. (2005) Methylation-specific MLPA (MS-MLPA): simultaneous detection of CpG methylation and copy number changes of up to 40 sequences. *Nucleic Acids Res*, 33 (14), e128.
- 133.** Priolo, M., Sparago, A., Mammi, C., Cerrato, F., Lagana, C., Riccio, A. (2008) MS-MLPA is a specific and sensitive technique for detecting all chromosome 11p15.5 imprinting defects of BWS and SRS in a single-tube experiment. *Eur J Hum Genet*, 16 (5), 565-571.
- 134.** Procter, M., Chou, L.S., Tang, W., Jama, M., Mao, R. (2006) Molecular diagnosis of Prader-Willi and Angelman syndromes by methylation-specific melting analysis and methylation-specific multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Chem*, 52 (7), 1276-1283.
- 135.** Eggermann, T., Heilsberg, A. K., Bens, S., Siebert, R., Beygo, J., Buiting, K., Begemann, M., Soellner, L. (2014) Additional molecular findings in 11p15-associated imprinting disorders: an urgent need for multi-locus testing. *J Mol Med (Berl)* 92(7):769-77

- 136.** Azzi, S., Rossignol, S., Steunou, V., Sas, T., Thibaud, N., Danton, F. ve arkadaşları. (2009) Multilocus methylation analysis in a large cohort of 11p15-related fetal growth disorders (Russell-Silver and Beckwith-Wiedemann syndromes) reveals simultaneous loss of methylation at paternal and maternal imprinted loci. *Hum Mol Genet* 18 (24):4724-33
- 137.** Lukowa, M., Todorava, A., Todorov, T., Mitev, V. (2013) Different methylation patterns in BWS/SRS cases clarified by MS-MLPA. *Mol Biol Rep* 40(1):263-8
- 138.** Azzi, S., Rossignol, S., Le Bouc, Y., Netchine, I. (2010) Lessons from imprinted multilocus loss of methylation in human syndromes: A step toward understanding the mechanisms underlying these complex diseases. *Epigenetics* 5(5):373-7
- 139.** Kannenberg, K., Urban, C., Binder, G. (2012) Increased incidence of aberrant DNA methylation within diverse imprinted gene loci outside of IGF2/H19 in Silver-Russell syndrome. *Clin Genet* 81(4):366-77
- 140.** Court, F., Martin-Trujillo, A., Romanelli, V., Garin, I., Iglesias-Platas, I., Salafsky, I. ve arkadaşları. (2013) Genome-wide allelic methylation reveals disease specific susceptibility to multiple methylation defects in imprinting syndromes. *Hum Mutat* 34(4):595-602
- 141.** Turner, C. I., Mackay, D. M., Callaway, J. L., Docherty, L. E., Poole, R. L., Bullman, H. ve arkadaşları. (2010) Methylation analysis of 79 patients with growth restriction reveals novel patterns of methylation change at imprinted loci. *Eur J Hum Genet* 18,648-55
- 142.** Kannenberg, K., Weber, K., Binder, C., Urban, C., Kirschner, H. J., Binder, G. (2012) IGF2/H19 hypomethylation is tissue, cell and CpG site dependent and not correlated with body asymmetry in adolescents with Silver-Russell syndrome. *Clin Epigenetics* 4:15-26
- 143.** Spengler, S., Schönherr, N., Binder, G., Wollmann, H. A., Fricke-Otto, S., Mühlenberg, R. ve arkadaşları. (2009) Submicroscopic chromosomal imbalances in idiopathic Silver-Russell syndrome (SRS): the SRS phenotype overlaps with the 12q14 microdeletion syndrome. *J Med Genet* 47(5):356-60
- 144.** Hannula-Jouppi, K., Muurinen, M., Lipsanen-Nyman, M., Reinius, L. E., Ezer, S., Greco, D. ve arkadaşları. (2014) Differentially methylated regions in maternal and paternal uniparental disomy for chromosome 7. *Epigenetics* 9(3):351-65

**145.** Dias, R. P., Bogdarina, I., Cazier, J. B., Buchanan, J., Donaldson, M. C., Johnston, L. B. ve arkadaşları. (2012) Multiple segmental uniparental disomy associated with abnormal DNA methylation of imprinted loci in silver-russell syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 97(11): E2188-93