

**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HİPOTONİK BEBEKLERDE FLORESAN IN SİTU  
HİBRİDİZASYON YÖNTEMİYLE PRADER WILLİ  
SENDROMUNUN ARAŞTIRILMASI**

**NURAY KARTAL**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. BEYHAN TÜYSÜZ**

**GENETİK ANABİLİM DALI  
GENETİK PROGRAMI**

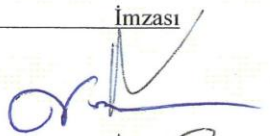
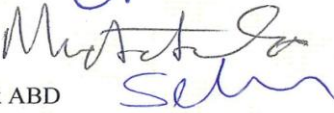
**İSTANBUL-2012**

### TEZ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programında Nuray KARTAL tarafından hazırlanan "Hipotonik Bebeklerde Floresan İn Situ Hibridizasyon Yöntemiyle Prader Willi Sendromunun Araştırılması" başlıklı Yüksek Lisans tezi, yapılan tez sınavında Jürimiz tarafından başarılı bulunarak kabul edilmiştir.

25 / 05 / 2012

#### Tez Sınav Jürisi

| Ünvanı Adı Soyadı (Üniversitesi, Fakültesi, Anabilim Dalı)    | İmzası                                                                                |
|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ İ.Ü.CTF Çocuk Genetik ABD           |    |
| 2.Prof. Dr. Nihan ÜNALTUNA İ.Ü.DETAE Genetik ABD              |   |
| 3.Doç. Dr. Mustafa ÖZEN İ.Ü, CFT Tıbbi Genetik AD             |  |
| 4.Yard. Doç. Dr. Selçuk SÖZER TOKDEMİR, İ.Ü.DETAE Genetik ABD |                                                                                       |
| 5.Prof. Dr. Kıvanç ÇEFLE İ.Ü, İTF İç Hastalıkları ABD.        |                                                                                       |

**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Nuray Kartal



**ITHAF**

İyi ya da kötü aldığım her karara destek veren,  
hayatımın her döneminde beni koşulsuz seven,  
benden asla vazgeçmeyeceklerini adım gibi bildiğim  
benim için her şeyden ve herkesten önemli olan

AİLE'ME

Anne ve Baba'ma

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda ve eğitim sürem boyunca sağladığı olanaklardan ve katkılarından dolayı danışman hocam Prof. Dr. Beyhan Tüysüz'e

Eğitim süremde mesleki bilgilerini benimle paylaşan ve tez çalışmam süresince gerek teknik gerekse bürokratik işlemlerdeki katkılarında dolayı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Genetik Laboratuvarı çalışanları; Emir A. Keresteci, N. Bülent Bağlama, İbrahim Bayrak ve Zeliha Özcan'a

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Genetik Polikliniği çalışanlarına

Ayrıca tezimin teknik kısmındaki katkılarından dolayı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı (GETAM) Moleküler Genetik ve Sitogenetik Laboratuvarı çalışanlarına

Eğitim süremde yanımda olan değerli meslektaşlarım Burcu Tahtakaya ve Ece Gül'e

hayatımın her döneminde desteklerini hep hissettiğim ve haklarını nasıl ödeyeceğimi bilmediğim aileme

Sonsuz teşekkür ederim.....

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 12133

## İÇİNDEKİLER

|                                                    |      |
|----------------------------------------------------|------|
| TEZ ONAYI.....                                     | ii   |
| BEYAN.....                                         | iii  |
| İTHAF.....                                         | iv   |
| TEŞEKKÜR.....                                      | v    |
| İÇİNDEKİLER.....                                   | vi   |
| TABLolar LİSTESİ.....                              | x    |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                              | xi   |
| RESİMLER LİSTESİ.....                              | xii  |
| SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ.....                 | xiii |
| ÖZET.....                                          | xiv  |
| ABSTRACT.....                                      | xv   |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ.....                               | 1    |
| 2.GENEL BİLGİLER.....                              | 3    |
| 2.1 Hipotonik Bebek .....                          | 3    |
| 2.2 Hipotoniye Yol Açan Hastalıklar.....           | 4    |
| 2.3 Tanı Ve Ayırıcı Tanı.....                      | 6    |
| 2.3.1 Fizik Muayene.....                           | 6    |
| 2.3.2. Laboratuvar Tanı Yöntemleri .....           | 7    |
| 2.3.3 Ayırıcı Tanı .....                           | 8    |
| 2.4 Prader- Willi Sendromu .....                   | 9    |
| 2.4.1. Tanı Kriterleri .....                       | 10   |
| 2.5 PWS Kliniğine Genel Bakış .....                | 11   |
| 2.5.1 Hipotoni ve Anormal Nörolojik Fonksiyon..... | 11   |
| 2.5.2 Hipogonadizm .....                           | 11   |
| 2.5.3 Hiperfaji ve Obezite .....                   | 12   |
| 2.5.4 Büyüme .....                                 | 12   |
| 2.5.5 Karakteristik Yüz Bulguları .....            | 13   |
| 2.5.6 Gelişimsel ve Bilişsel Gecikmeler .....      | 13   |
| 2.5.7 Davranışsal Sorunlar .....                   | 14   |
| 2.5.8 Uyku Sorunları .....                         | 14   |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 2.5.9 Nörogörüntüleme Sonuçları .....                            | 14 |
| 2.5.10 Mortalite .....                                           | 14 |
| 2.5.11 Eşlik Eden Hastalıklar .....                              | 14 |
| 2.6 PWS'nun Genetiği.....                                        | 15 |
| 2.6.1 15q11-q13 Mikrodelesyonu .....                             | 16 |
| 2.6.1.1 Kırılma Noktaları .....                                  | 16 |
| 2.6.2 Uniparental Dizomi.....                                    | 18 |
| 2.6.3 Genomik İmprinting .....                                   | 20 |
| 2.6.4 15q11-q13 Bölgesinde Eksprese Olan Aday Genler .....       | 23 |
| 2.6.4.1 SNRPN Geni .....                                         | 24 |
| 2.6.4.2 snoRNA'lar .....                                         | 25 |
| 2.7 Genotip-Fenotip Korelasyonu .....                            | 26 |
| 2.8 Genetik Danışma ve Prenatal Tanı .....                       | 26 |
| 2.9 Genetik Tanı.....                                            | 27 |
| 2.9.1 FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) Tekniği .....        | 27 |
| 2.9.1.1 Problar .....                                            | 28 |
| 2.9.1.2 Probların İşaretlenmesi .....                            | 28 |
| 2.9.1.3 Prob Çeşitleri.....                                      | 29 |
| 2.9.1.3.1 Tekrarlayan Dizi Probları .....                        | 29 |
| 2.9.1.3.2 Lokus Spesifik Problar .....                           | 30 |
| 2.9.1.3.3 Tüm Kromozom Boyayan Probları .....                    | 30 |
| 2.9.1.3.4 Arm Spesifik Problar .....                             | 30 |
| 2.9.1.3.5 Bant Spesifik Problar .....                            | 30 |
| 2.9.2 PWS'nun FISH Metodu İle Tanısında Kullanılan Problar ..... | 30 |
| 2.9.2.1 VYSİS Firmasına Ait Prob.....                            | 30 |
| 2.9.2.2. CYTOCELL Firmasına Ait Prob.....                        | 32 |
| 2.9.3 Metilasyon Spesifik PCR Yöntemi.....                       | 33 |
| 2.9.3.1 DNA İzolasyonu.....                                      | 33 |
| 2.9.3.2 DNA Metilasyonu .....                                    | 34 |
| 2.9.3.3 PCR .....                                                | 35 |
| 2.9.3.4 Elektroforez .....                                       | 35 |
| 2.9.3.5 Değerlendirme .....                                      | 35 |

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 3.GEREÇ VE YÖNTEM.....                                               | 37 |
| 3.1 Materyal.....                                                    | 37 |
| 3.2 Gereç ve Cihazlar .....                                          | 37 |
| 3.2.1 Sarf Malzeme .....                                             | 38 |
| 3.3 Kullanılan Çözeltiler.....                                       | 38 |
| 3.3.1 Periferik Kan Kültürü için Kullanılan Çözeltiler .....         | 38 |
| 3.3.2 GTG Bantlamada Kullanılan Çözeltiler .....                     | 39 |
| 3.3.3 Floresan In Situ Hibridizasyonunda Kullanılan Çözeltiler ..... | 39 |
| 3.3.3.1 Yıkama Solüsyonları .....                                    | 39 |
| 3.3.3.2 Alkol Çözeltileri .....                                      | 39 |
| 3.3.3.3 NP40 Solüsyonları .....                                      | 40 |
| 3.4 Prob .....                                                       | 40 |
| 3.4.1 CYTOCELL Firmasına Ait Prob .....                              | 40 |
| 3.5. Metod.....                                                      | 41 |
| 3.5.1 HRB Yöntemi ile Periferik Kan Kültürü .....                    | 41 |
| 3.5.2. Kromozom Eldesi .....                                         | 41 |
| 3.5.3 GTG Bantlama Yöntemi.....                                      | 41 |
| 3.5.2 FISH Yöntemi .....                                             | 42 |
| 3.5.2.1 Ön İşlem.....                                                | 42 |
| 3.5.2.2 Denatürasyon.....                                            | 42 |
| 3.5.2.3 Hibridizasyon.....                                           | 42 |
| 3.5.2.4 Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar.....                         | 42 |
| 3.5.2.5 Sinyallerin Değerlendirmesini .....                          | 42 |
| 4.BULGULAR.....                                                      | 43 |
| 4.1 Hasta Grubunun Değerlendirilmesi .....                           | 43 |
| 4.2 Delesyon Pozitif Tespit Edilen Hasta Bilgileri.....              | 48 |
| 4.2.1 Olgu I.....                                                    | 48 |
| 4.2.2 Olgu II.....                                                   | 50 |
| 4.2.3 Olgu III .....                                                 | 52 |
| 4.2.4 Olgu IV .....                                                  | 54 |
| 4.2.5 Olgu V.....                                                    | 56 |
| TARTIŞMA.....                                                        | 58 |
| KAYNAKLAR.....                                                       | 63 |



|                        |    |
|------------------------|----|
| ETİK KURUL KARARI..... | 72 |
| ÖZGEÇMİŞ.....          | 73 |

## TABLOLAR LISTESİ

|            |                                                                                                                 |    |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 2.1: | Santral Hipotoninin Bulunduğu Durumlar.....                                                                     | 4  |
| Tablo 2.2: | Periferik Hipotoninin Bulunduğu Durumlar.....                                                                   | 5  |
| Tablo 2.3: | Santral ve Periferik Hipotoninin Bir Arada Bulunduğu Durumlar.....                                              | 6  |
| Tablo 2.4: | PWS'nun Majör Tanı Kriterleri .....                                                                             | 10 |
| Tablo 2.5: | PWS'nun Minör Tanı Kriterleri .....                                                                             | 10 |
| Tablo 2.6: | FISH' in Kullanım Alanları.....                                                                                 | 27 |
| Tablo 4.1: | Hasta Grubunun Holm (16) Kriterlerine Göre Major ve<br>Minor Bulgular, Karyotip ve FISH Analizi Sonuçları ..... | 43 |
| Tablo 4.2: | Delesyon (+) ve (-) Olgularda Bulguların Dağılımı.....                                                          | 46 |
| Tablo 4.3: | Delesyon Negatif Çıkan Hastaların Kromozom Kurulumu ve Nihai<br>Tanıları .....                                  | 47 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|             |                                                               |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1:  | PWS Oluşum Şekilleri.....                                     | 15 |
| Şekil 2.2:  | Tip 1 ve Tip II Delesyon.....                                 | 17 |
| Şekil 2.3:  | Delesyonların Yaygın Kırılma Noktaları.....                   | 18 |
| Şekil 2.4:  | Uniparental Dizomi Oluşum Mekanizmaları.....                  | 19 |
| Şekil 2.5:  | Gametogenez Sırasında İmprinting Oluşumu .....                | 21 |
| Şekil 2.6:  | DNA Metilasyonu .....                                         | 22 |
| Şekil 2.7:  | Kromozom 15q11-13 Bölgesinin Genetik ve Ekspresyon Özeti..... | 23 |
| Şekil 2.8:  | 15q11-13 Kromozomu Üzerinde Prader-Willi Domaini.....         | 25 |
| Şekil 2.9:  | LSI SNRPN Probu İle Kırmızı Boyanan Bölge.....                | 31 |
| Şekil 2.10: | LSI PML Probu İle Yeşil Boyanan Bölge .....                   | 31 |
| Şekil 2.11: | CYTOCELL Firmasına Ait Prob.....                              | 32 |
| Şekil 3.1:  | CYTOCELL Firmasına Ait Prob.....                              | 40 |

## RESİMLER LİSTESİ

|              |                                                                                                                                                           |    |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Resim 2.1:   | Hipotonik Bebek Görünümü .....                                                                                                                            | 7  |
| Resim 2.2:   | Prader Willi Sendromu Olan Bir Çocuk .....                                                                                                                | 13 |
| Resim 2.3:   | Vysis Prader-Willi/Angelman Region Probe -<br>LSI SNRPN/CEP 15 (D15Z1)/LSI PML TriColor Probu ile<br>görüntülenen delesyon pozitif bir metafaz plağı..... | 31 |
| Resim 2.4:   | CYTOCELL Firmasına ait Prob ile Görüntülenen Delesyon Pozitif<br>Metafaz Plağı.....                                                                       | 33 |
| Resim 2.5:   | Metilasyon Spesifik PCR'da PWS Tespit Edilmiş Hasta Görüntüsü.....                                                                                        | 36 |
| Resim 4.1 a: | Delesyon negatif bir olgunun karyotip görüntüsü (O.B.G.) .....                                                                                            | 46 |
| Resim 4.1 b: | Delesyon negatif bir olgunun FİSH metafaz plağı görüntüsü.....                                                                                            | 46 |
| Resim 4.2:   | Olgu I'in karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi, hipogonadizm,<br>küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.....                                         | 48 |
| Resim 4.3:   | Olgu I'in Metafaz Plağı .....                                                                                                                             | 49 |
| Resim 4.4:   | Olgu I'in FISH Analizi Görüntüsü.....                                                                                                                     | 49 |
| Resim 4.5:   | Olgu II'in karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi,<br>hipogonadizm, küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.....                                        | 50 |
| Resim 4.6 :  | Olgu II'in Metafaz Plağı Görüntüsü .....                                                                                                                  | 51 |
| Resim 4.7 :  | Olgu II'in FISH Analizi Görüntüsü.....                                                                                                                    | 51 |
| Resim 4.8:   | Olgu III'ün karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi,<br>küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.....                                                     | 52 |
| Resim 4.9:   | Olgu III'ün Metafaz Plağı Görüntüsü .....                                                                                                                 | 53 |
| Resim 4.10:  | Olgu III'ün FISH Analizi Görüntüsü.....                                                                                                                   | 53 |
| Resim 4.11:  | Olgu IV'ün karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi<br>gösterilmektedir.....                                                                           | 54 |
| Resim 4.12:  | Olgu IV'ün Metafaz Plağı Görüntüsü .....                                                                                                                  | 55 |
| Resim 4.13:  | Olgu IV'ün FISH Analizi Görüntüsü.....                                                                                                                    | 55 |
| Resim 4.14:  | Olgu V'in karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi<br>gösterilmektedir.....                                                                            | 56 |
| Resim 4.15:  | Olgu V'in Metafaz Plağı Görüntüsü .....                                                                                                                   | 57 |
| Resim 4.16:  | Olgu V'in FISH Analizi Görüntüsü.....                                                                                                                     | 57 |

## SEMBOLLER / KISALTMALAR LISTESİ

|        |                                                     |
|--------|-----------------------------------------------------|
| PWS    | : Prader Willi Sendromu                             |
| SNRPN  | : Small Ribonükleoprotein N                         |
| AS     | : Angelman Sendromu                                 |
| FISH   | : Floresan İn Sitü Hibridizasyon                    |
| MSS    | : Merkezi Sinir Sistemi                             |
| EMG    | : Elektromiyografi                                  |
| KMD    | : Konjenital Muskuler Distrofi                      |
| SMA    | : Spinal Müsküler Atrofi                            |
| IGF-I  | : İnsülin-Like Growth Factor-I                      |
| NIDDM  | : Non-İnsulin-Dependent Diabetes Mellitus           |
| REM    | : Rapid Eye Movements                               |
| MRG    | : Manyetik Rezonans Görüntüleme                     |
| UPD    | : Uniparental Dizomi                                |
| IC     | : Imprinting Center                                 |
| HRBT   | : High Resolution Bantlama Tekniği                  |
| DNMT   | : DNA Metil Transferaz                              |
| SNURF  | : SNRPN Upstream Açık Okuma Çerçevesi               |
| MAGEL2 | : MAGE-like 2                                       |
| MKRN3  | : Makorin Ring Finger Protein 3                     |
| NDN    | : NECDİN Geni                                       |
| snoRNA | : Küçük Nükleolar RNA                               |
| CYFIP1 | : Cytoplasmic FMR1-interacting protein 1            |
| GCP5   | : Gama -Tubulin complex component 5                 |
| NIPA1  | : non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 1 |
| NIPA2  | : non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 2 |
| GTG    | : Giemsa Tripsin Giemsa                             |
| HİE    | : Hipoksik İskemik Ensefalopati                     |
| PCR    | : Polymerase Chain Reaction                         |

## ÖZET

Kartal N. Hipotonik Bebeklerde Floresan In Situ Hibridizasyon Yöntemiyle Prader Willi Sendromunun Araştırılması

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2012.

Yenidoğan döneminde ciddi hipotoniye yol açan genetik hastalıklar arasında ilk akla gelen sendromlardan birisi Prader-Willi sendromu (PWS)'dur. PWS neonatal hipotoni yanı sıra, beslenme güçlüğü, karakteristik kraniofasial görünüm ve hipogonadizm ile karakterize, süt çocuğu döneminde ve erken çocukluk döneminde ise motor mental gelişme geriliği ve morbid obesitenin eşlik ettiği bir sendromdur. PWS, paternal kaynaklı kromozomun 15q11.2-q13 bölgesinin ifade eksikliğinden kaynaklanır; olguların %75'inde paternal 15q11-q13 mikrolelesyonu, %22'sinde maternal uniparental dizomi, %3'ünde sporadik ya da imprinting merkezinin mikrolelesyonu saptanır.

Bu çalışmada 0-2 yaş arası hipotonik bebeklerde PWS sıklığının saptanması amacıyla 15q11-13 bölgesindeki mikrolelesyonun varlığı araştırıldı. PWS sendromuna yol açan delesyon büyüklüğü 3-4 Mb olup konvansiyonel sitogenetik yöntemle görüntülemeyecek bir mikrolelesyon olduğu için tanısında Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemi kullanılmıştır. Hasta grubu olarak seçilen 47 bebeğe önce kromozom analizi yapıldı, sonra 15q11-q13 gen bölgesinin lokus spesifik probu olan Prader Willi/Angelman (SNRPN) probu kullanılarak FISH yöntemi uygulandı. Hastaların beşinde 15q11-13 bölgesinde delesyon saptandı. Sonuç olarak 47 hipotonik bebekte yaptığımız bu çalışmada, PWS'nun yaklaşık olarak %10.6 oranında görüldüğü tespit edilmiştir. PWS'nun erken tanısı yaşamın ileri dönemlerinde oluşabilecek mental retardasyon, obezite, hipogonadizm ve davranış sorunlarının takibi ve tedavisi için önemlidir. Bu sayede ailelere erken dönemde doğru genetik danışma verilebilecek ve ilgili kliniklere yönlendirilebileceklerdir.

Anahtar Kelimeler: Prader-Willi sendromu, Hipotonik bebek, FISH, Genomik imprinting, Hipotoni

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 12133

## ABSTRACT

Kartal N. Research for Prader Willi Syndrome in hypotonic Infants by Fluorescent In Situ Hybridization

İstanbul University, Institute of Health Science, Genetics Common Programme. İstanbul. 2012.

Prader-Willi syndrome (PWS) is one of the leading causes of the severe hypotonia in the neonatal period. In addition to neonatal hypotonia, PWS is characterized by feeding difficulties, hypogonadism, typical craniofacial appearance, and is associated with mental retardation and morbid obesity during infancy and early childhood. PWS is caused by the lack of expression of paternally derived chromosome 15q11.2-q13 including paternal microdeletion 15q11-q13 in %75 of cases, maternal uniparental disomy in %22 of cases or imprinting center sporadic microdeletion in % 3 of cases.

In this study, the presence of a microdeletion in 15q11-13 was investigated in order to determine the incidence of PWS in hypotonic infants between the ages of 0-2. Since 3-4 Mb size of deletions, which cannot determine by conventional cytogenetic method, cause PWS syndrome Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) method was used for the diagnosis. After chromosome analysis of 47 infants who were selected as the study group, 15q11-q13 gene region locus-specific probe, the Prader Willi / Angelman (SNRPN) probe, was performed using FISH method. 15q11-13 deletion was detected in five patients. As a result, in this study PWS was found in %10.6 of the 47 hypotonic infants. Early diagnosis of PWS is important for management and treatment of the mental retardation, obesity, hypogonadism, and behavioral problems that may occur in later stages of life. Thus, families may be referred to related clinics and guided by appropriate genetic counseling in very early periods.

Key Words: Prader-Willi syndrome, Hypotonic infant, FISH, Genomic imprinting, Hypotonia

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 12133

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prader-Willi sendromu (PWS) neonatal dönemde santral hipotoni, beslenme güçlüğü, karakteristik kraniyofasiyal görünüm ve hipogonadizm ile karakterize, süt çocukluğu döneminde ve erken çocukluk döneminde ise büyüme, gelişme geriliği ve obezitenin eşlik ettiği, nadir görülen bir sendromdur (1,2).

Prader Willi sendromuna yol açan gen 15q11.2'de lokalize olan genlerden mRNA işlenmesinde rol oynayan bir ribonükleoprotein (small ribonucleoprotein N=SNRPN) genidir. Bu gen babadan gelen kromozom üzerinde ekprese olur, anneden gelen kromozom üzerinde ise imprintinge uğramıştır (baskılanmıştır). PWS genomik imprintingin en iyi bilinen örneğidir. Genomik imprinting, genetik materyalin anneden veya babadan kalıtılmış olmasına bağlı olarak farklı ekspresyonudur. Bir kromozomun ya da kromozom parçasının iki kopyasında bir ebeveynden alınıp diğer ebeveyne ait kopyanın bulunmaması durumuna uniparental dizomi (UPD) denir (3). PWS ya paternal kromozomun ilgili bölgesinde delesyon ya da maternal uniparental dizomi varlığında ortaya çıkar. Olguların %75'inde paternal 15q11-q13 delesyonu, %22'sinde maternal uniparental dizomi, %3'ünde sporadik ya da kalıtsal imprinting merkezi (IC) hataları, %1'inden azında ise paternal kromozomda translokasyonu saptanır (4). PWS bu bir kaç genetik mekanizma nedeniyle oluşan paternal kromozomdaki 15q11.2-q13 PWS/AS bölgesinin ifade eksikliğinden kaynaklanır (5).

Prader Willi sendromu yenidoğan döneminde görülen hipotoninin en sık nedenleri arasında yer almaktadır (6). Özellikle yenidoğan döneminde nöromusküler incelemelerin normal olmasına rağmen santral hipotonisitenin bulunması, beslenme güçlüğü ile kilo alımında yetersizlik PWS için en önemli klinik tanı kriterleridir. PWS'nun yenidoğan dönemde esas olarak hipotoni ile seyretmesi, tipik klinik bulguların yaşamın daha ileri döneminde (7-30 ay arası) ortaya çıkması nedeniyle tanısı zordur, yeterli fizik bakı yapılmazsa kolaylıkla atlanılabilir (7). İtalya'da yapılan bir çalışmada PWS'nun klinik tanısının konulduğu ortalama yaş 7,4 ay; genetik olarak tanının doğrulandığı ortalama yaş 11 ay olarak bildirilmiştir (8).

Prader Willi sendromlu olguların %70'inde paternal kalıtılan 15 nolu kromozomun q11.2 bölgesinde görülen delesyonun boyutu 3-4 Mb'dır. Bu mikrolelesyonun standart sitogenetik yöntemle yapılan kromozom analizi ile



gösterilmesi zordur. Bu nedenle klinik olarak PWS düşünölen hastaların tanısında 1-3 Mb'lik kromozomal yeniden düzenlenmelerin tanımlandığı Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) analizi ile genetik tanı konulur. FISH tekniğı genomda istenilen hedef DNA bölgesinin floresan veren DNA veya RNA problemleri ile boyanarak in situ olarak gözlenmesine imkan tanıyan moleköler sitogenetik bir yöntemdir. İnterfaz hücre çekirdeğinin ve metafaz kromozomlarının değeriendirilmesini olanak sağlar (9).

Bu çalışmanın amacı 0-2 yaş arasındaki hipotonik bebeklerde, FISH yöntemi ile 15q11.2 bölgesindeki mikrolelesyon varlığını araştırarak PWS sıklığını saptamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Hipotonik Bebek

Hipotoni, eklemlerin pasif hareketlerine karşı kasın gösterdiği dirençte azalma olup; hipotonik bebek ise süt çocuklarında değişik nedenlere bağlı gelişebilen hipotoniyi tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir. Kas tonusu, santral ve periferik sinir sistemleri tarafından kontrol edilen bir refleks aktivite ile oluşturulur. Ancak, tendon, eklem ve kasların fiziksel özellikleri ve birbirleriyle anatomik ilişkileri de tonusu belirgin ölçülerde etkilemektedir. Bu yapıların değişik nedenlere bağlı gelişen bozukluklulukları hipotoniye yol açarak hipotonik bebek başlığı altında heterojen bir grup oluştururlar (6,10-12).

Hipotoniye yol açan hastalıklar genel olarak iki ana gruba ayrılır:

- 1) Belirgin kas güçsüzlüğünün eşlik etmediği nonparalitik grup (Santral hipotoni)
- 2) Kas güçsüzlüğünün klinik tabloya hakim olduğu paralitik grup (Periferik hipotoni)

Ancak bazı multisistemik hastalıklarda hem santral sinir sistemi hem de periferik yapılar tutularak hipotoni gelişebilir.

Hipotoni ve kas güçsüzlüğü birbirinden ayırt edilmesi gereken bulgulardır. Fakat genellikle birlikte görülürler (13). Hipotoni; beyin, spinal kord, periferik sinirler ve kasların hastalığına bağlı olarak nörolojik disfonksiyon sonucu ortaya çıkan bir semptomdur (14). Hipotonide, adalenin kasılmaya başlamasında bir yavaşlık vardır. Uyarılar karşısında kasılma cevabı hem çok yavaş olur hem de normal adalenin süresinden daha kısa sürer. Düşük tonuslu adale tam kasılamadan gevşeme moduna geçer.

## 2.2 Hipotoniye Yol Açan Hastalıklar

Santral hipotoninin bulunduğu durumlar Tablo 2.1'de; periferik hipotoninin bulunduğu durumlar Tablo 2.2'de; santral ve periferik hipotoninin bir arada bulunduğu durumlar ise Tablo 2.3'de gösterilmektedir.

### **Tablo 2.1: Santral Hipotoninin Bulunduğu Durumlar:**

#### 1. Akut Ensefalopatiler

- Doğum Travması
- Hipoksik İskemik Ensefalopati
- Hipoglisemi

#### 2. Kronik Ensefalopatiler

- Serebral Malformasyonlar
- Doğumsal Metabolik Bozukluklar (Mukopolisakkaridoz, Aminoasidüri, Organik Asidüri, Lipidoz, Glikojen Depo Hastalıkları, Menkes Sendromu)
- Peroksizomal Hastalıklar (Neonatal Adrenolökodistrofi, Zellweger Sendromu)
- Kromozomal Hastalıklar (PWS, trizomi 21)
- Tek gen Hastalıkları (Familiyal Disotomi, Lowe Sendromu)
- Hipotiroidi
- Raşitizm, Renal Tübüler Asidoz

#### 3. Bağ Dokusu Hastalıkları

- Konjenital Ligament Hastalıkları
- Ehlers-Danlos Sendromu
- Osteogenesis İmperfekta
- Bening Konjenital Hipotoni

**Tablo 2.2: Periferik Hipotoninin Bulunduğu Durumlar:**

## 1. Spinal Müsküler Atrofi

## 2. Paralitik Poliomyelit

## 3. Nöropatiler

- Herediter Motor-Sensori Nöropati
- Konjenital Hipomiyelinizan Nöropati
- Akut Demiyelinizan Polinöropati

## 4. Nöromüsküler Kavşak Hastalıkları

- Botulizm
- Geçici Neonatal Miyastenia
- Otoimmün Miyastenia
- Konjenital Miyastenik Sendromlar

## 5. Kas hastalıkları:

- Konjenital Miyopatiler (Nemalin Red Miyopati, Miyotübüler Miyopati, Santral Kor Hastalığı)
- Konjenital Müsküler Distrofiler (Walker Warburg, Fukuyama, Kas-Göz-Beyin Hastalığı, Merozin Pozitif KMD)
- Konjenital Miyotonik Distrofi
- Metabolik Miyopatiler (Asit Maltaz Eksikliği, Fosforilaz Eksikliği, Mitokondriyal Miyopati)
- Endokrin Miyopatiler (Hipotiroidizm)

**Tablo 2.3: Santral ve Periferik Hipotoninin Bir Arada Bulunduğu Durumlar:**

- Familial Disotomi
- Hipoksik İskemik Ensefalopati
- İnfantil Nöroaksonel Dejenerasyon
- Lipid Depo Hastalıkları
- Lizozomal Hastalıklar
- Mitokandriyal Hastalıklar
- İkincil Prenatal Asfiksiye Bağlı Motor Hastalıklar (15).

## **2.3 Tanı Ve Ayırıcı Tanı**

### **2.3.1 Fizik Muayene**

Hipotonik bebeklerde ayrıntılı öykü alınması önerilmektedir. Öyküde öncelikle aile ağacı çıkartılmalı ve prenatal risk faktörleri (annenin ilaç alması, teratojen maddeye maruz kalma, makat gelişi, fetal hareketlerin azlığı, polihidramniyos, annenin diyabet ve epilepsi gibi kronik hastalığı) sorgulanmalıdır. Özellikle anne yaşı, akrabalık durumu, ailede nöromusküler hastalık ve kardeş hikayesi sorulmalıdır. Ayrıca doğum travması, doğum anoksisi, düşük APGAR skoru ve hipotoninin başlangıç zamanı not edilmelidir (16).

Fizik muayenede hipotonik bebeklerin çoğu bacaklarını abdüksiyon ve eksternal rotasyonda, kollarını gevşek ekstansiyon pozisyonunda tutarlar. Kollardan tutularak bebek traksiyona getirildiğinde kafa belirgin olarak arkaya düşer (Hipotonik bebek Resim 1'de gösterilmektedir). Anormal postür, pasif hareketlere karşı direncin azalması, eklemlerde artmış hareket serbestliği mevcuttur. Miyopatik yüz görünümü hipotonik bebeklerin çoğunda görülür (14,17).

Baş kontrolleri zayıf veya yoktur. Aylar ilerledikçe beklenen ince ve kaba motor gelişim özelliklerinin geri kaldığı saptanır. Hipotonik bebeklerin hareket ve postür; letarji, zayıf ligament ve eklem ve kuvvetsiz tendon refleksleri sorunları da vardır. Eklemleri destekleyen adalelerin kuvvetsizliği sonucu kalça, çene ve boyun çıkıklarına sık rastlanır. Bazı hipotonik bebeklerin beslenme güçlüğü ile uzun süre yutma ve çiğneme sorunları olabilir. Konuşma ve solunum sorunları hipotonik bebeklerde görülebilir (15).



**Resim 2.1: Hipotonik Bebek Görünümü** (Ellerin ve bacakların duruşuna dikkat).

### 2.3.2 Laboratuvar Tanı Yöntemleri

Elektromyografi (EMG), özellikle nörojenik tabloları miyopatik durumlardan ayırarak yaklaşım alanını daraltır. Bu incelemenin normal bulunması, bazı miyopatiler dışında, çoğunlukla santral hipotoniye, daha nadir olarak da metabolik, endokrin, nutrisyonel bozuklukları veya konnektif doku hastalıklarını düşündürmelidir (18). Etiyolojide nöromüsküler hastalıkların yer aldığı düşünülüyorsa, bazı hastalıklarda tanıyı doğrulamak için kas biyopsisi yapılabilir. Biyopsi ile konjenital yapısal miyopatilerin, müsküler distrofilerin, glikojen depo hastalıkları gibi bazı metabolik hastalıkların, bazı mitokondriyal hastalıkların ve spinal müsküler atrofiyi destekleyen kronik denervasyon bulgularının tanısını koymak mümkündür (19). Ayrıca nörolojik muayene, beyin görüntülemesi, kromozom analizi ve moleküler genetik testler de en yararlı tanısal girişimlerdir (20).

### 2.3.3 Ayırıcı Tanı

Ayırıcı tanıda; öncelikle hipotoninin santral ya da periferik hangi sistemlerin tutulumuna bağlı geliştiği saptanıp daha sonra hastalıklara özgü ayırt ettirici klinik belirti ve bulguların aranmasına dayanan sistematik bir yaklaşım uygulanmalıdır.

Santral hipotonide akut dönem dışında genellikle belirgin güçsüzlük gözlenmez. Hipotoni ile birlikte kas gücünün korunması ve artmış refleksler santral kaynaklı hipotoniye, yerçekimine karşı koyan kaslarda güçsüzlük, reflekslerin azalması veya alınamaması nöromusküler hastalıkları düşündürmelidir (16). Periferik kaynaklı hipotonilerde, tendon refleksleri azalmış veya kaybolmuştur, postural refleks hareketlerde yetersizlik, fasikülasyonlar ve kas atrofileri görülebilir. Diğer organlara ait anormalliklere genellikle rastlanmaz. Dismorfik görünüm, organ malformasyonları, diğer beyin fonksiyonlarında bozukluklar yanında normal veya canlı derin tendon refleksleri santral kökenli hipotoni lehinedir. Ayrıca, infantil nöronal dejenerasyon, lipid depo hastalıkları veya mitokondrial bozukluk gibi durumlarda santral ve periferik hipotoni bir arada bulunabilir. Konjenital malformasyonlar, deformiteler ve kraniofasial dismorfik bulguların varlığı genetik kökenli sendromik hastalıkları akla getirmelidir (18). Periferik nedenli hipotoniler ise genelde ön boynuz, periferik sinir, nöromiyal bağlantı ve kas hastalıkları kaynaklıdır.

Nöromusküler hastalıklarda yüksek damak, depo hastalıklarında büyük dil ve ön boynuz motor nöron hastalıklarında dilde fasikülasyon görülebilir. Göz muayenesinde pitozis ve eksternal oftalmopleji miyastenik sendromları, katarakt veya pigmenter retinopati peroksizomal bozuklukları, lens dislokasyonu ise Lowe sendromu veya molibden kofaktör eksikliğini düşündürebilir. Meme başlarının ayrıık olması lipodistrofi veya konjenital glikozilasyon defektlerini akla getirmelidir. Eklemelerde hareket kısıtlılığı veya kontraktürlerin varlığı artrogripozis olarak tanımlanmakta olup nörojenik veya miyopatik bozukluklarda birlikte görülebilmektedir. Viseral organlarda büyüme depo hastalıklarını, renal kistlerin varlığı peroksizomal bozuklukları akla getirmelidir (16).

Çocukluk çağında MSS bozukluklarında üst motor nöron hastalıkları, kas tonusunda hem artış hem de azalma şeklinde karşımıza çıkmakta iken, alt motor nöronu etkileyen hastalıklar, hipotoni ve güçsüzlükle kendilerini gösterirler. Bu nedenle nörolojik hastalıkların en sık görülen semptomlarından birisi hipotonidir. Bir yaşından küçük çocuk grubunda; hipotoni, %80 oranında MSS hastalıklarından kaynaklanmaktadır (21).

Hipotoni, minor veya major malformasyonlarla ve mental retardasyon ile birlikte olduğu zaman otozomal kromozom anormallikleri akla gelmelidir. Aralarında klinik farklılıklar bulunan değişik kromozom anormallikleri ve sendromlarda atipik yüz görünümü, el ve ayakta dismorfik bulgular veya diğer organ malformasyonları bulunabilir. Ancak bunlar arasında hipogonadizm, inmemiş testis, büyüme geriliği ve daralmış bifrontal alın çapı, badem göz, küçük el ve ayaklar gibi bulguların eşlik ettiği Prader-Willi sendromunda yenidoğan döneminde gelişen belirgin hipotoni dikkat çekicidir. Beslenme güçlüğü de hipotoniye eşlik edebilir ve zamanla kas tonusu normalleşir. Hastalığın daha ileri dönemlerinde gelişen bastırılmayan açlık hissi obeziteye yol açar. Tipik bulguların ortaya çıkışı gecikebileceği için, aydınlatılamamış santral hipotonili vakalarda Prader-Willi Sendromu'nun araştırılması önerilmektedir (17).

#### **2.4 Prader- Willi Sendromu**

Prader-Willi sendromu (PWS) görülme sıklığı 15000-25000 canlı doğumda birdir. Cins ve ırk ayrımı olmaksızın kromozom 15q11-q13 bölgesindeki delesyon nedeniyle sporadik oluşan bir multisistem hastalığıdır (8). PWS tanısının erken dönemde konulamaması nedeniyle bu sıklığın gerçekte daha da yüksek olduğu düşünülmektedir.

PWS ilk olarak 1887 yılında Langdon Down adlı bilim adamı tarafından tanımlanan kromozom bozukluğudur. 1956 yılında; Prader, Labhart ve Willi aynı bulguları (mental reterdasyon, obezite, hipogonadizm ve hipomentia) olan hastalarda bir dizi teşhisle PWS tanımlamışlardır (22). PWS adını 1956 yılında sendromu tarifleyen üç hekimden almaktadır (Prader, Labhart ve Willi).



### 2.4.1. Tanı Kriterleri

PWS' nun klasik neonatal bulguları santral hipotoni, derin tendon reflekslerinde azalma, beslenme güçlüğü, zayıf ağlama, fetal hareketlerde azalma ve karakteristik yüz bulgularından oluşur. Tanı kriterleri (Tablo 2.4 ve 2.5) 1993 yılında Holm ve ark. (1) tarafından belirlenmiştir.

#### **Tablo 2.4: PWS'nun Majör Tanı Kriterleri**

- İnfantil santral hipotoni
- Karakteristik yüz bulguları (dolikosefali, dar bifrontal çap, badem göz, aşağıya doğru dönmüş dudaklar, küçük ağız)
- Süt çocuğu döneminde beslenme güçlüğü
- Gelişme geriliği
- Hipogonadizm (erkeklerde skrotum hipoplazisi, inmemiş testis, küçük penis veya testis; kızlarda labia minör veya klitoris hipoplazisi)
- Hiperfaji
- 1-6 yaş arasında hızlı kilo alımı

#### **Tablo 2.5: PWS'nun Minör Tanı Kriterleri**

- İntrauterin dönemde azalmış fetal hareketler ve letarji
- Esotropia, miyop
- Küçük el ve ayak
- Boy kısalığı (Aile fertleri ile karşılaştırıldığında)
- Hipopigmentasyon
- Uyku bozukluğu veya apne
- Artikulasyon kusuru
- Visköz sekresyon
- Davranış problemleri

**PWS tanısı için majör kriterler 1 puan, minör kriterler 0,5 puan olarak puanlandırılmış ve yenidoğan dönemi ile 3 yaş arasında dördü major kriterlerden olmak üzere 5 puan ve üzeri; 3 yaş ile adölesan dönemi arasında ise beşi major kriterlerden olmak üzere 8 puan üzerindeki skorlar tanı koydurucu olarak kabul edilmiştir.**

Destekleyen kriterler ise; yüksek ağrı eşiği, nöromusküler çalışmaların normal olması, osteoporoz, erken adrenarş, skolyoz/kifoz gibi ortopedik anormallikler ve termoregülasyon kusurları olarak eklenmiştir (7). Augton ve Cassidy (23) neonatal PWS'da bu bulgulara ek olarak orantısız baş büyüklüğü, ılımlı mikrognatı ve gingiva anormalliklerinin de eşlik edebileceğini bildirmiştir.

PWS iki dönemli bir hastalıktır. İnfantil hipotonik dönem ve sonrasındaki obezite dönemidir. Whitman ve Accardo tarafından belirli davranışsal özelliklere sahip olan adölesan dönemi üçüncü dönem olarak tanımlanmıştır (24).

## **2.5 PWS Kliniğine Genel Bakış**

### **2.5.1 Hipotoni ve Anormal Nörolojik Fonksiyon**

Prenatal başlangıçlı hipotoni fetal hareket azlığı, anormal fetal pozisyon ve sezaryen gerektiren zor doğumlara yol açabilir. Bebeklikte spontan uyarılma azlığı ile birlikte uyusukluk, hareket azlığı, zayıf ağlama ve erken dönemde beslenme güçlüğü ile yetersiz kilo alımına neden olan emme güçlüğü görülebilir. Hipotoni santral kökenli olup; hafif-orta derecede yaşam boyunca devam etmektedir. Derin tendon refleksi genellikle korunmuştur (2,25).

### **2.5.2 Hipogonadizm**

Erkeklerde penis küçük olabilir ama en karakteristik özellik hipoplastik küçük skrotumdur. Olguların %80-90'ında tek veya çift taraflı inmemiş testis mevcuttur. Testislerde ergenliğe kadar spontan iniş gözlenmiştir. Erkeklerde kötü ses değişimi, seyrek sakal ve vücut kılları vardır. Kasık ve koltukaltı tüyleri erken ya da normal olarak gelişebilir. Pubertal gelişimin kalanı gecikir ve genellikle eksiktir.

Kadınlarda labia (majora ve minora) ve klitoris genellikle hipoplaziktir. Erken adrenarş yaklaşık hastaların %15-20'de saptanır. Meme gelişimi genellikle normal yaşta başlar ancak amenore veya oligomenore vardır.

Her iki cinsiyette, cinsel aktivite azalmıştır ve infertil oldukları tahmin edilir. Kadınlarda her ne kadar nadir olsa da birkaç üreme örneği bildirilmiştir (26). Hipogonadizm hipotalamik kökenlidir ve genellikle gonadotropinler, östrojen ve testosteron eksiktir (2). Hipotalamik disfonksiyonun PWS'nin birçok özelliğinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (27).

### 2.5.3 Hiperfaji ve Obezite

Hiperfaji hipotalamik bozukluk sonucu ortaya çıkan tokluk hissi eksikliğidir. Hiperfaji ve obezite genellikle 1-6 yaş arasında başlar. Yiyecek istifleme, yiyecek arama davranışı, çekici gıda öğelerini yeme, yenmeyecek şeyleri yeme ve yiyecek almak için para çalmak veya yiyecek çalmak yaygındır. Mide boşalması gecikir. Gıda alımı dışarıdan kontrol edilmezse, bu davranışlarla birlikte düşük metabolizma hızı ile ve aktivite azlığı santral obezite ile sonuçlanabilir. Bu nedenle toplam kalori alımı azaltılmalıdır (28).

PWS en sık görülen genetik obezite sendromlarından birisidir. Ghrelin hormonu seviyeleri, zayıf ve obez kontrol gruplarına göre 3-4 kat daha yüksek bulunmuştur (29). Vücut kompozisyonu incelendiğinde bu çocuklarda yağ oranı yüksek, kas kitlesi ise düşüktür. Kas kitlesi yaşla daha da düşer (30). Obezite santral dağılımlıdır. Aşırı kilolu olmayan olgularda bile yağ karın, kalça ve uylukta toplanmaya eğilimlidir (2).

### 2.5.4 Büyüme

İlk yıllarda büyüme 3 persantilde iken kızlarda 10 yaşına, erkeklerde 12 yaşına kadar boy 10 persantil civarındadır. Bundan sonra büyüme yavaşlar (30). PWS büyüme eğrilerinde boy 12-14 yaşlarda 5 persantilin altına inerken, tartı 95 persantil civarındadır (31). Ortalama nihai boy erkekte 155, kadında 148 santimetredir (2,25).

Farmakolojik ve fizyolojik testlerde büyüme hormonu düzeyleri ve IGF-I düzeyleri düşüktür. PWS'de görülen boy kısalığının bugün büyüme hormonu eksikliğine bağlı olduğu kabul edilmektedir (30).

### 2.5.5 Karakteristik Yüz Bulguları

Dar bifrontal çap, badem şeklinde palpebral fissür, dar burun köprüsü, aşağı dönük ağız köşeleri ile ince üst dudaktır. Doğumda belirgin olmayabilir ve yavaş yavaş zaman içinde gelişmeye başlar (2). Karakteristik yüz görünümü Resim 2.2 'de gösterilmektedir. Saç, göz ve deride tirozinaz pozitif albinizmden kaynaklanan hipopigmentasyon PWS' li bireylerin yaklaşık üçte birinde görülür. Çünkü tirozinaz veya melanin üretimi için gerekli diğer enzimlerin aktivitesini kontrol eden gen(ler) 15 q üzerinde yer almaktadır (32). Şaşılık %60-70, kalça displazisi yaklaşık %10 oranında görülmektedir (33). Skolyoz %40-80 oranında mevcut olup başlangıç yaşı ve şiddeti değişir.



**Resim 2.2: Prader Willi Sendromu Olan Bir Çocuk (34)**

### 2.5.6 Gelişimsel ve Bilişsel Gecikmeler

Gecikmiş motor gelişimi PWS' lu çocukların %90-100'ın da mevcuttur. Kaba motor ve dil kilometre taşları gecikmelidir. Entelektüel yetersizlikleri çocuk okul çağına ulaştığı zaman genellikle belirgindir.

Olguların çoğu hafif derecede mental retardedir (IQ ortalaması 60-70). Bunların yaklaşık %40'ı sınırdan mental retarde ya da düşük-normal zekaya sahiptir. %20'si ise orta derecede mental retardedir (35). Ölçülen IQ'dan bağımsız olarak PWS'li kişilerde ciddi öğrenme güçlüğü vardır ve bu kişilerin zihinsel yeteneklerine göre akademik performansları zayıftır. Ayrıca artikülasyonlarının zayıf olduğu bildirilmiştir (25).

### 2.5.7 Davranışsal Sorunlar

Karakteristik bir davranış profili olur. Erken çocukluk döneminde, öfke nöbetleri, inatçı obsesif-kompulsif özellikler, kontrol ve manipülatif davranışlar, rutinindeki değişimde zorlanma PWS'li bireylerin %70-90'ında ortaya çıkmaktadır (36). Yalan söyleme, çalma ve saldırgan davranışlar sık görülür. Davranışsal ve psikiyatrik sorunlar yaşam kalitesini en çok yetişkinlik döneminde etkiler.

### 2.5.8 Uyku Sorunları

PWS'li çocuklarda uykuda solunum bozukluğu, santral ve obstrüktif uyku apnesi, anormal uyarılma, REM uykusunda anormal sirkadiyen ritim, REM gecikme süresinde azalma, hiperkapniye anormal yanıtın yanı sıra gündüz saatlerinde aşırı uyku hali (37,38) ve uyku apnesine sık rastlanır. Solunum kaslarının yetersizliği ve farinks darlığı solunum bozukluklarının nedenidir (30).

### 2.5.9 Nörogörüntüleme Sonuçları

Bir çalışmada 3 ay-39 yaş arasında 20 PWS'li hastanın kranial görüntüleri incelenmiş; hastaların hepsinde ventrikülomegali, %50'sinde beyinin oksipital parietal lob dokusunda hacim azalması, %60'ında sylvan fissür polymicrogyria rapor edilmiştir (39). 91 PWS'li bireyin beyin MRG'leri ile yapılan bir çalışmada ise %67 oranında bazı nöroradyolojik değişimler tespit edilmiştir (40).

### 2.5.10 Mortalite

PWS'daki ölüm oranı epidemiyolojik olarak başka nedenlerden dolayı zihinsel engeli bulunan kontrol grubuna göre daha yüksektir (41). Nüfus incelemesine göre, ölüm oranı yılda %3 olarak tahmin edilmiştir (42).

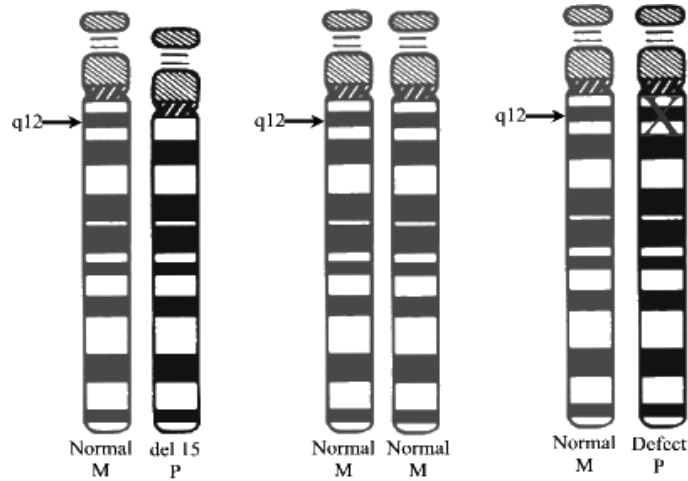
Çeşitli merkezlerde ölen PWS li bireyler iki seri olarak rapor edilmiştir (43). Çocuklarda en sık görülen ölüm nedenleri solunum yolu ve diğer ateşli hastalıklar olup; yetişkinlerde en sık obezite ile ilişkili kalp-damar sorunları, gastrik nedenler veya uyku apnesi görülmüştür.

### 2.5.11 Eşlik Eden Hastalıklar

Obezite kaynaklı morbidite ve mortalite komplikasyonları; kardiyorespiratuvar yetmezlik, obstrüktif uyku apne sendromu, tromboflebit, ve kronik bacak ödemi (25). Obez yetişkinlerin %25'inde tip II diabetes mellitus (NIDDM) (42) saptanmıştır.

## 2.6 PWS'nun Genetiği

Prader-Willi Sendromu ve Angelman Sendromu genomik imprinting ile ilk tanımlanan insan hastalıklarıdır (44). PWS babadan gelen 15q11-q13 kromozomun üzerindeki genlerin ifade eksikliğinden kaynaklanmaktadır (45). Bu bölgede PWS için aday genler imprintinge uğrar ve anneden kalıtılan kromozomda susturulur. Paternal alleller kusurlu olduğu durumda PWS ortaya çıkar. Olguların %75'inde paternal 15q11-q13 delesyonu, %22'sinde maternal uniparental dizomi, %3'ünde sporadik ya da imprinting merkezinin (IC) kalıtsal mikrolelesyonu nedeniyle imprinting hataları, %1'inden azında ise paternal kromozomda bir translokasyon vardır (4). Genel oluşum şekilleri Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.1: PWS Oluşum Şekilleri**

PWS'li olguların %70'inde paternal kalıtılan 15 nolu kromozomun q11.2 bölgesinde 3-4 Mb'lık delesyon vardır. Olguların az bir kısmında ise 20-100 Kb'lik çok küçük delesyonlara rastlanmaktadır (46).

### 2.6.1 15q11-q13 Mikrodelesyonu

Hawlkay ve Smithies (47) 1976 yılında, 15 numaralı kromozomdaki translokasyonların bazı hastalarda PWS nedeni olabileceğini ileri sürmüşlerdir. 1981 yılında ise Ledbetter ve ark. (48) paternal 15 numaralı kromozomun kısa kolunu içeren sitogenetik delesyonlar tespit ettiler. Daha sonraki yıllarda 15q11-13 gen bölgesi için spesifik DNA problemleri izole edilmiş ve fiziksel olarak ilgili alanı eşleştirmek için kullanılır olmuştur. 1992-93 yıllarında; PWS ve AS için kritik bölge ve problemleri, floresan in situ hibridizasyon kullanımı ve yapay maya kromozom klonları tanımlanmıştır (49).

PWS'ndeki delesyon için minimum bölgenin D15S13 ve D15S10 lokusları arasında yer aldığı ve lokus D15S63 içerdiği gösterilmiştir (49). Özçelik ve ark. (50) D15S13 ve D15S10 arasındaki PWS için kritik bölgesinin küçük nükleer ribonükleoprotein polipeptidini kodlayan bir genle eşlenmiş olduğunu tespit etmişlerdir.

Cassidy ve ark. (51) Prader-Willi sendromlu 81 bireyi incelemiş ve babalarının yaklaşık yarısının konsepsiyon sırasında hidrokarbonlara maruz kaldığı işlerde çalıştıklarını tespit etmişlerdir. 15q delesyon muhtemel mayoz bölünmenin bir aşamada babanın gametlerin oluşmaktadır.

Hastalık genellikle sporadik olarak oluşur ama birkaç ailesel olgu rapor edilmiştir. Bozukluğun ailesel bir temeli olması beklenen durumlarda baba çok nadirde olsa PWS için kritik alanı kapsayan dengeli bir translokasyon taşıyıcı dengersiz translokasyonu alan çocukları bu hastalığa sahiptir (52).

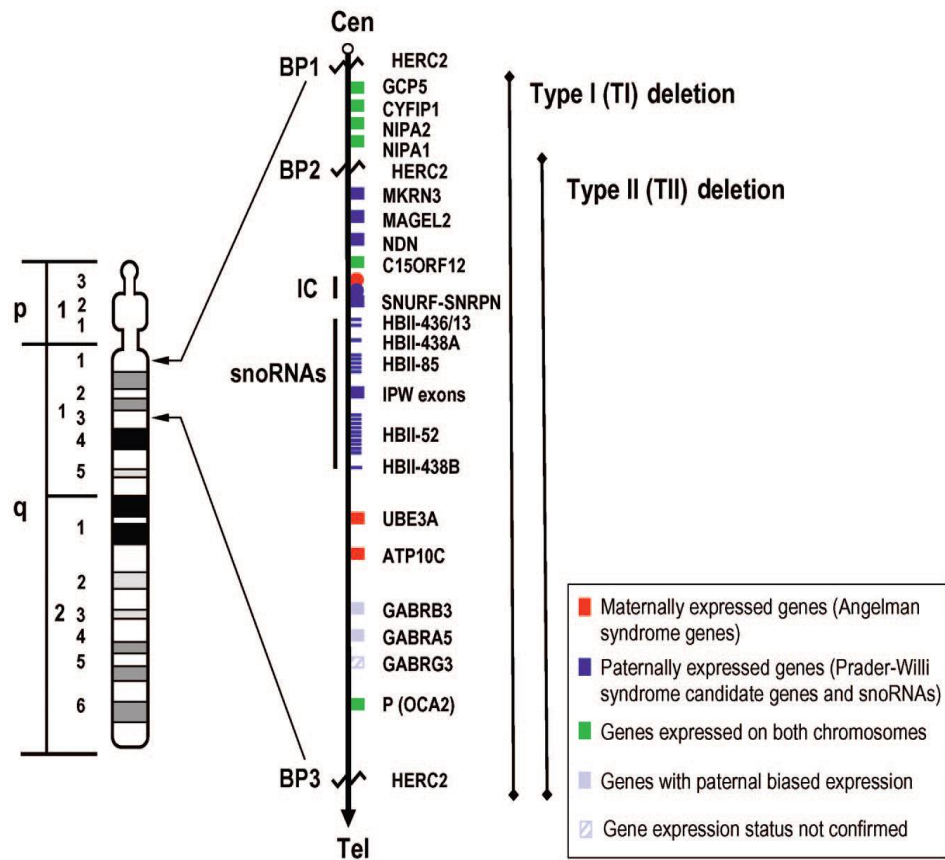
#### 2.6.1.1 Kırılma Noktaları

PWS bölgesinin karakteristik büyük paternal kaynaklı delesyonunda delesyon iki boyuttadır. İki proksimal kırılma noktası (breakpoint-BP) BP1 ve BP2 bir de distalde BP3 vardır. Klinikte FISH analizi bu iki delesyonu algılar ve onlar arasında ayırım yapamaz. İki proksimal kırılma noktası arasındaki mesafe yaklaşık 500 Kb'dir. BP2'den D15S10 kadar uzanan 2 Mb bölge öncelikle PWS aday bölge olarak tanımlanmıştır (53). BP1 ve BP2 arasındaki bölgede CYFIP1, GCP5, NIPA1, NIPA2 genleri (Şekil 2.3'de delesyonların kırılma noktaları ve eksprese olan genler gösterilmiştir.) tespit edilmiştir ve davranış farklılıkları ile ilişkili oldukları

bulunmuştur (54). Bu genlerin imprinted değildir. NIPA1 yaygın olarak merkezi sinir sistemi ifade edilir.

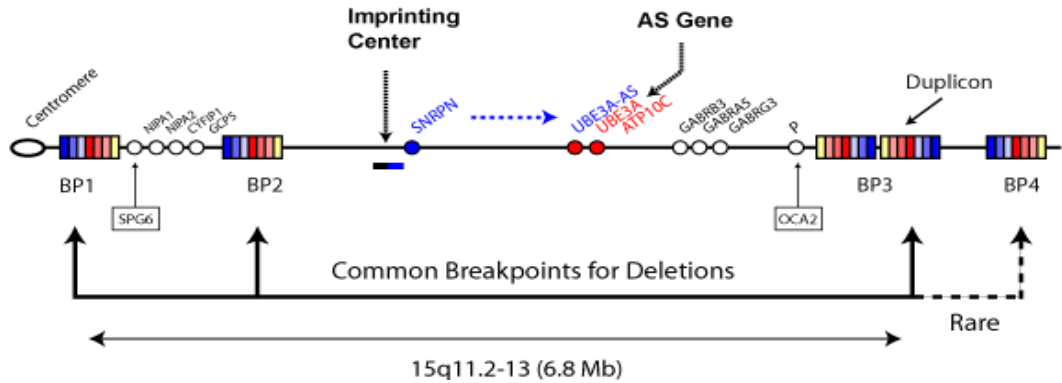
Karakteristik paternal kaynaklı delesyonun 15q11-q13 bölgesindeki proksimal delesyon kırılma noktası MKRN3 gen lokusuna sentromerik iki büyük duplikondan herhangi birinde bulunan iki bölgeden birinde meydana geldiği bildirilmiştir. Daha büyük olan tip 1 (T I) delesyon sentromere yakındır ve mikrosatellit marker D15S1035'in proksimalinde olan BP1'i içermektedir. Buna karşın daha küçük olan tip II (T II) delesyon D15S1035'e daha yakın ancak distalinde olan BP2'i içermektedir. BP3 15q11-q13 bölgesinin telomerinde bulunmaktadır ve 2 delesyon alt grubu için ortaktır (55). Tip 1 ve Tip II delesyon Şekil 2.2'de gösterilmektedir.

Delesyon boyutları ilk tahminlere göre tip 1 için 4 Mb, tip II için 3,5 Mb olarak tahmin edilmiştir. Ancak, yüksek çözünürlüklü aCGH kullanılarak yapılan bir çalışmada; tip I delesyonun boyutu 8.147-5.721 Mb arasında değişmekte ve yaygın boyutun yaklaşık 6.6 Mb olabileceğini göstermektedir. Tip II delesyon ise 4.770-6,435 Mb arasında bulunmuştur yaygın boyutu yaklaşık olarak 5,330 Mb'dir (55).



Şekil 2.2: Tip 1 ve Tip II delesyon (54)





**Şekil 2.3: Delesyonların yaygın kırılma noktalar (56)**

Maviler paternal eksprese olan genleri, kırmızılar ise maternal eksprese olan genleri göstermektedir.

### 2.6.2 Uniparental Dizomi

Uniparental dizomi (UPD), homolog kromozom çiftinin her ikisinin de bir ebeveynden gelmesi ve diğer ebeveynden gelmemesi şeklindeki anormal bir durumdur (57). UPD kavramı 1980 yılında Eric Angel tarafından tıbbi genetikte kullanılmıştır (58). 1987 yılında ilk UPD vakası kanıtlanmış moleküler genetik yöntemlerle tespit edilmiştir.

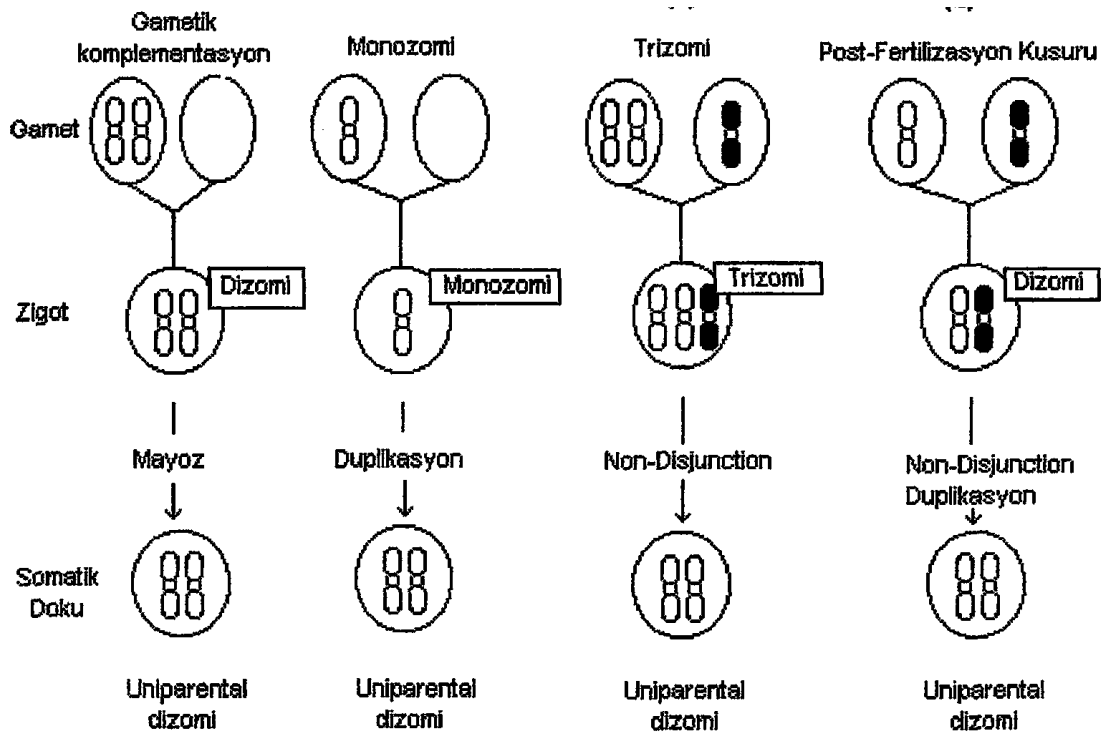
Maternal UPD 19 (ve Y) ve paternal UPD'de 4, 17, 18, 19 nolu kromozomlarda hiç bildirilmemiştir. 15, 11, 7, 14 ve 16 nolu kromozomlar UPD oluşumuna en sık dahil olan kromozomlardır. 1, 2, 6 nolu kromozomlar orta derecede sıklıkla geri kalan kromozomlar daha seyrek UPD oluşumuna dahil olur (59).

PWS'nda maternal uniparental dizomi ilk kez 1989 yılında Nicholas ve ark. (60) tarafından rapor edildi. 1989 yılında DNA problemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda bazı PWS'li deneklerde silinen kromozomun paternal orijinli olduğunu doğrulamıştır (49). Ancak karyotipik olarak normal bazı hastalarda her iki kromozomun maternal kökenli (uniparental maternal dizomi) olduğunu buldular. Bazı durumlarda görünürde her iki bozulmamış maternal kromozom (heterodizomi) mevcuttu ve diğer durumda aynı maternal kromozomun iki kopyası (isodizomi) mevcuttu.

Dizomik yumurta ve monozomik sperm birleşir bunu takiben paternal 15 nolu kromozom kaybolur. Dizomik yumurta ve nullizomik sperm birleşir, monozomik yumurta ve nullizomik sperminden oluşan monozomik zigot oluşumunu takiben maternal

15 nolu kromozom kendini duplike eder veya postfertilizasyonda ayrılamama sonucu trizomik ve monozomik hücre dizileri oluşur sonraki aşamada monozomik dizi duplike olur böylece UPD oluşur (61). Bu oluşum şekilleri Şekil 2.4'de gösterilmektedir.

UPD ile oluşan PWS olgularında genellikle 15 nolu kromozom için maternal heteredizomisi görülür ve çoğunlukla trizomik bir embriyonun postzigotik düzeltilmesinin sonucu olduğu düşünülmektedir (62).



Şekil 2.4: Uniparental Dizomi Oluşum Mekanizmaları (63)

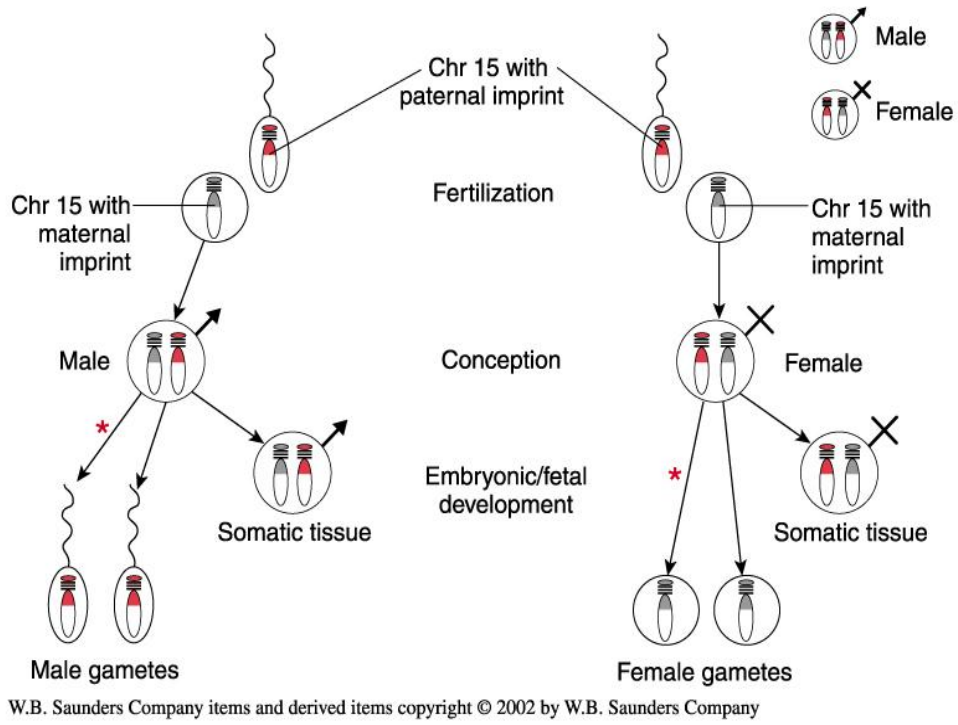
### 2.6.3. Genomik İmprinting

Genomik imprinting, belirli bir genin ifadesinin ebeveyne bağlı olarak değişmesidir. Normalde anne ve babadan gelen allellerde ifade farklılıkları bulunmakta ve sadece bir allel ifade edilmektedir (64). Genomik imprinting hem maternal hem de paternal allel varolduğunda oluşur. Bir allel ekspresse olurken diğeri inaktif kalır.

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 (56). Genom üzerinde maternal ve paternal katkının eşit olmadığı ilk kez 1984'te bağımsız iki grup tarafından nükleer transfer çalışmaları ile gösterilmiştir (65).

Genomik imprinting paternal ya da maternal kökenli bir gen lokusunu kapsayabilir. Muhtemelen partenogenezi (kendi kendini dölleyebilme) önleyen bir mekanizma olduğu düşünülmektedir (56). İmprinted genlerde, DNA metilasyonunun kaybı ya da kazanımı sonucu allele-özel gen ekspresyon profili bozularak hastalıklar meydana gelmektedir (64). İmprinte edilmiş genler ana-babasal allelerin her birine spesifik metilasyon paternleri ile karakterize edilmiştir. İmprinted genlerin büyük çoğunluğunun büyüme ve davranışlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu genler çoğunlukla beyinde ifade olmakta, bu nedenle fenotipte sıklıkla zeka geriliği görülmektedir (66).

İmprint genlerin, memeli genomunun yalnızca %0,1-1'ini oluşturdukları düşünülmektedir. Kromozom parental orjinine göre işaretlenir. Bunun iki alelin birbirinden fiziksel olarak farklı bölümlerde bulunduğu bir dönemde (gametogenez ya da zigotta çekirdek birleşmesi öncesinde) kazanılan bir özellik olduğu öngörülür. Parental orjine özgü işaret hücre bölünmelerinde ve farklılaşma sürecinde korunur ve sürdürülür. Bu işaret transkripsiyonu gerçekleştiren hücresel birimler tarafından tanınır ve böylece monoallel ekspresyon sağlanır. Germ hücrelerinde silinerek yeniden uygun şekilde düzenlenir (66). Bu mekanizma Şekil 2.5'de gösterilmektedir.



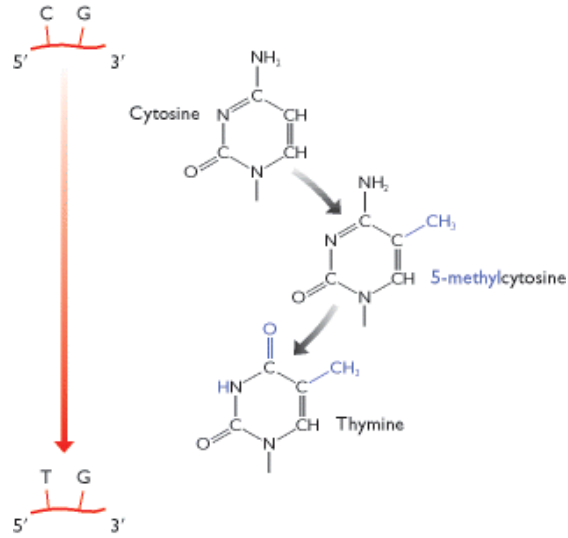
**Şekil 2.5: Gametogenez Sırasında İmprinting Oluşumu**

CpG metilasyonunun imprinting mekanizması için en güçlü aday olduğu düşünülmektedir. İmprint genler genellikle kümeler şeklinde yerleşir ve birlikte kontrol edilirler (67). Bu kontrol imprinting merkezleri ile sağlanmaktadır (68).

DNA metilasyonu en çok çalışılan epigenetik mekanizma olup, gen ifadesinin baskılanmasını sağlamakta, embriyonik gelişim, transkripsiyon, kromatin yapısı, X-kromozomun inaktivasyonu, genomik imprintingün düzenlenmesi ve kromatin kararlılığının korunmasında fonksiyon göstermektedir (69). DNA metilasyonu, DNA metil transferaz (DNMT) enzimleri tarafından katalizlenmekte ve DNA genellikle CpG bölgelerindeki sitozinden metillenmektedir. Genomda tekrar dizilerinin ve transpozonların bulunduğu heterokromatinin CpG bölgelerinde metilasyon oranının yüksek olduğu görülmekte bu sayede transkripsiyon baskılanmakta ve transpozonların genom içerisindeki hareketi engellenerek kromozomun kararlı halde kalması sağlanmaktadır (64).

Birçok ökaryotik organizmanın DNA'sı, metil gruplarının enzim (DNA metiltransferaz) aracılığıyla bazlara eklenmesiyle replikasyondan sonra değiştirilir. Metillenme, DNA'daki CG çiftleri halinde bulunan sitozinlerden ve genellikle de her iki zincirde birden olur. Metilasyon, DNA dizisindeki guaninin önünde yerleşmiş

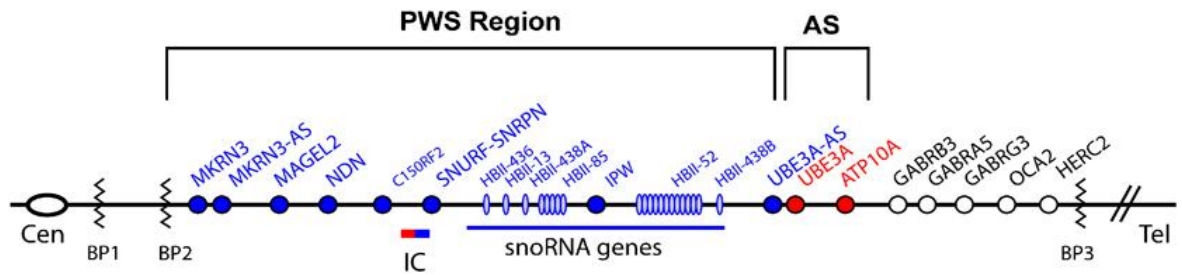
sitozinlerin (CpG) 5. konumundaki karbonuna metil grubu bağlanması ile gerçekleşmekte ve bölgesel hipermetilasyon, promotor bölgede (gen ifadesini başlatan bölge) bulunan CpG adacıklarını etkileyerek genin aktivitesini durdurmaktadır. Şekil 2.6’da DNA metilasyonu gösterilmektedir (70).



Şekil 2.6: DNA metilasyonu

### 2.6.4 15q11-q13 Bölgesinde Eksprese Olan Aday Genler

Aday bölgede lokalize çok sayıda paternal eksprese olmuş gen ve transkript tespit edilmiştir ama PWS gelişmesine katkıları anlaşılmış değildir. Tanımlanan protein ürünleri SNURF-SNRPN, NDN, MAGEL2 ve MKRN3 genlerine aittir. Genlerin lokalizasyonları Şekil 2.7'de gösterilmektedir. Bunlardan SNURF-SNRPN geni en yakın aday ve PWS'nun bazı özellikleri neden olabilir (71).



**Şekil 2.7: 15q11-13 Kromozomal Bölgesinin Genetik ve Ekspresyon Özeti (25).**

Genler ve genetik belirteçlerin (daireler) pozisyonları gösterilmektedir. PWS bölgesinde (maviyle gösterilen) paternal olarak eksprese olan 6 adet kopya gen (MKRN3, MAGEL2, NDN, C15ORF2 ve SNURF-SNRPN ve paternal olarak eksprese olan 5 snoRNA gen ailesi) bulunmaktadır. Angelman Sendromu ile ilişkili olan UBE3A ve ATP10A (kırmızıyla gösterilen) fare ve insanlarda sadece maternal eksprese olmaktadır ve imprinting ekspresyon bazı dokularda belirli bölgelerde sınırlıdır (beyin gibi). Biparite imprinting merkezi SNURF-SNRPN'nin proksimalinde bulunmaktadır ve 3 mb PWS-AS imprinted bölgesindedir. GABA reseptör gen kümesi (GABRB3, GABRA5 ve GABRG3) OCA2 (tip 2 albinizm) ve HERC2 imprinted değildir ve biparentel ekspresyonu göstermektedir (siyahla gösterilir). Zikzak dikey çizgiler ortak olup 5-7 mb AS ve PWS breakpointlerini göstermektedir. Bu bölge segmental duplikasyonlarla ilişkili BP1, BP2 ve BP3 içerisindedir. İki proksimal ve distal breakpoint vardır. BP1 ve BP2 arasında 4 adet imprinting olmayan gen GCP (TUBGCP5), CYFIP1, NIPA2 ve NIPA1 mevcuttur. Tip 1 delesyon BP1'den BP3'e ve tip 2 delesyon BP2 ile BP3 arasındadır. HBII-85 ve HBII-52 genlerinin gösterilenden daha fazla kopyası bulunmaktadır.

SNURF/SNRPN promotorunun maternal kromozomda, gelişmenin her basamağında hipermetile olduğu gösterilmiştir. Delesyon haritaları PWS-IC'nin SNURF/SNRPN promotorunu da içine alan 4.3 Kb'lık bir alan olduğunu düşündürmektedir (72). Maternal allelde promotoru da içine alan bu bölgenin metilasyonu SNRPN geninin susturulması ile sonlanır (68). PWS hastalarında SNRPN geninin promotor bölgesinde sadece metillenmiş alleller bulunur.

MKRN3 (Markorin 3, ZNF127) geni bir halka ( $C_3HC_4$ ) çinko-parmak ve çoklu  $C_3H$  çinko parmak motifine sahip olan bir proteindir ve ribonükleoprotein olarak işlevsel olduğu tahmin edilmektedir. MKRN3'ün DNA imprinting metilasyonunun tamamının sadece beyin ve germ hücreleri olduğundan MKRN3'ün fonksiyonunun bu kritik dokular olduğu ve MKRN3 geni PWS de davranış bozuklukları, şişmanlık, hipogonadizm ve infertiliteden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (73).

NECDIN (NDN) ve MAGEL2 genleri MAGE-NDN gen ailesine aittir. NDN geni sadece post-mitotik fare nöronlar ifade edilmiş olup hücre büyümesi ya da nöronal farklılaşmasının kontrolüne karışmaktadır. İnsanlarda; birçok dokuda tespit edilmiş olup ekspresyonu beyin ve plasentada en yüksek düzeydedir (74). Çalışmalara göre, insan beyinde NDN gen kaybının hipotalamik kusur ve gelişimsel gecikme PWS karakteristik özelliklerine katkıda bulunabileceği varsayılmıştır (71).

MAGEL2'de PWS etiyolojisinde olası rolü olduğunu düşündürecek şekilde insan beyinde paternal allel tarafından ifade edilir (75).

#### 2.6.4.1 SNRPN Geni

Küçük nüklear ribonükleoprotein ilişkili protein N insanlarda SNRPN geni tarafından kodlanan bir proteindir. Bu gen tarafından kodlanan küçük nüklear ribonükleoprotein kompleksi bir polipeptittir ve snRNP SMB/SMN ailesine aittir. Pre-mRNA işlenmesinde, muhtemelen doku spesifik alternatif splicingde rol alır (76). Paternal ifade edilen bu bölgede bir translokasyondan kaynaklanan delesyon veya alternatif splicingde parental imprint geçiş hatasına bağlı olarak Prader Willi sendromundan sorumludur.

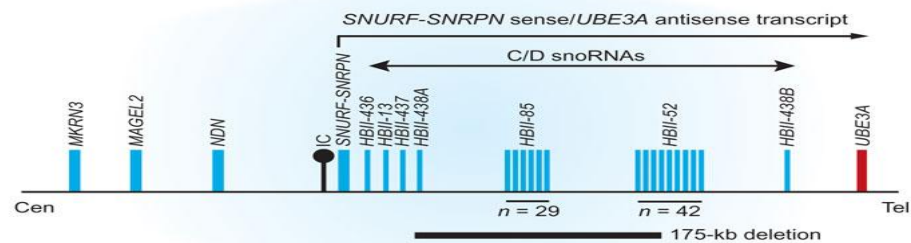
SNRPN fare ve insan çalışmalarına dayanarak, gen ekspresyonu sadece paternal kalıtsal kromozomda olduğu; beyin ve kalpte yoğunlaşmış olduğu söylenebilir.

SNURF-SNRPN gen lokusunun promotörü ve ilk ekzonu PWS kromozomal bölgesi IC'nin integral kısmını oluşturmaktadır. SNURF/SNRPN gen lokusu 465 Kb uzunluğunda tahminen 148'den fazla ekzona sahip oldukça karmaşık bir genidir. Alternatif splicinge uğramış transkriptleri bulunmaktadır (4). SNRPN aynı zamanda farklı soRNA'ları içeren alternatif splicinge uğrayan uzun bir transkript kodlamaktadır (77).

#### 2.6.4.2 snoRNA'lar

snoRNA HBII-52 Prader-Willi kritik bölgesinde lokalize ve farklı kromozom üzerinde bulunan bir geni ifade eden mRNA işlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (Şekil 2.8). Ancak Runte ve ark. (78) HBII-52 tüm kopyalarını tamamen silinmesi belirgin bir klinik fenotiple ilişkili olmadığı ancak HBII-52 snoRNA genlerinin PWS'de önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır.

Son zamanlarda snoRNA HBII-85 PWS nedeni olarak sorumlu tutulmaktadır. PWS'na snoRNA HBII-85 kümesinin neden olduğunu gösteren iki bulgu vardır. SNURF-SNRPN ekspresyonunun korunduğu dengeli translokasyonlar ve HBII-85 kümesini promotorundan ayıran sentromerik genler PWS'e neden olmaktadır. Kısa bir süre önce HBII-85 kümesinin mikrodelsyonu PWS'li bir çocukta tanımlanmıştır. Bu iki bulgu snoRNA HBII-85 eksikliğinin PWS 'deki karakteristik semptomlara yol açtığını göstermektedir. HBII-85 kümesindeki snoRNAların paternal kaynaklı delesyonu PWS fenotipinden sorumludur (79). snoRNA HBII-85'nin bir takım protein kodlayıcı genlerin içinde potansiyel bağlanma hedefleri vardır ve alternatif splicingin düzenlenmesinde bir rolü olabilir (80).



**Şekil 2.8: 15q11-13 Kromozomu Üzerinde Prader-Willi Domaini (81)**

Mavi ve kırmızı dikey çubuklar paternal ve maternal genleri temsil etmektedir. Kalın yatay siyah çubuk Sohoo ve arkadaşları tarafından yeni tanımlanan mikrodelsyon boyutudur.



## 2.7 Genotip-Fenotip Korelasyonu

PWS'de 15q delesyonu olan bireylerle maternal uniparental dizomi (UPD) olan bireyler arasında bazı klinik farklılıklar vardır. UPD olan kişiler tipik delesyonu olan kişilere göre görev-mekansal işlerde ve yap boz bulmacalarda daha başarısızdır, IQ'ları biraz daha yüksek olup, ancak otizm spektrum bozuklukları olması olasılığı daha yüksektir (82). 91 PWS hastasıyla yapılan bir çalışmada UPD olgular ile delesyonlu karşılaştırıldığında UPD'de maternal yaşın daha yüksek olduğu; delesyonlu olgularda ise özel beslenme teknikleri, uyku bozukluğu, hipopigmentasyon ve konuşma artikülasyon kusurlarının daha sık görüldüğü saptanmıştır (83).

Kırılma noktalarına göre tip 1 delesyonu olan bireylerde, tip II delesyon taşıyan bireylere göre kompulsif davranışlar ve görsel algı bozukluğu daha fazladır, akademik performans düşüktür, günlük yaşam becerisi zayıftır ve fiziksel depresyon daha fazladır (84).

## 2.8 Genetik Danışma ve Prenatal Tanı

Delesyon ve UPD biçiminde kalıtılan vakalarda tekrarlama riskinin %1'den az, ailesel imprinting mutasyonlarında ise riskin %50'nin üzerinde olduğu bildirilmiştir.

Delesyon ve UPD kaynaklı PWS'de prenatal tanı tekrarlama riskinin düşük olmasından dolayı önerilmemektedir. İmprinting kontrol elementindeki defekte bağlı oluşan PWS'de tekrarlama riski yüksek olduğundan prenatal tanı önerilmektedir. Olguda ki delesyon; 15 nolu kromozomu içeren dengeli translokasyon taşıyan ebeveynlerden kalıtıldıysa bir sonraki gebelikte tekrarlama riski %25'tir.

Riskli gebeliklerde altta yatan genetik mekanizma (delesyon, UPD, imprinting defekti) biliniyorsa prenatal tanı mümkündür. PWS'ye neden olan PWS/AS bölgesindeki moleküler genetik değişimlerin prenatal olarak tanımlanması 10-12. gebelik haftasında koryon villus örneğinden veya 15-18. gebelik haftasında amniyosentez örneğinden elde edilen genetik materyalle gerçekleştirilir.

## 2.9 Genetik Tanı

### 2.9.1 FISH (Floresan In Situ Hibridizasyon) Tekniği

Moleküler sitogenetik metodları (ISH, FISH, CGH) klasik sitogenetik yöntemlerle tanımlanamayan kromozomal mikrobelesyonlar ve yeniden düzenlenmeleri ortaya koyma olanağı sağlar. Sitogenetikte rutin GTG bantlama tekniğinde 6 Mb, HRB (850 bant düzeyinde) tekniğinde de 4Mb'ye kadar olan düzensizlikler saptanabilmektedir. Daha küçük olan yapısal düzensizlikler ancak FISH (1-3 Mb) ile saptanabilmektedir. İnterfaz nükleusunda kromozomlar daha az yoğun ve metafaza göre 10-20 kat daha uzun olduğu için rezolüsyon 100 kb kadar çıkabilir.

İn situ hibridizasyon (ISH) yöntemi 1969 yılında Gall ve Pardeu (85) tarafından tanımlandı. O zaman teknik sınırlı olup radyoaktif işaretli problemler kullanılıp daha sonra otoradyografik yöntemlerle görüntülenmiştir. Problemler genel olarak radyoizotopik olarak  $H_3$  yada  $I_{125}$  ile işaretlidir. Manning ve ark. (86) avidin biyotin reaksiyonu ve nükleik asit işaretleme sorunları için polimer küre kullanımı ile ilgili bağımsız çalışmalar yapmışlardır.

1986 yılında floresan in situ hibridizasyonda non radyoaktif işaretli problemler kullanılmaya başlanmıştır. Problemler ya direkt olarak florokrom-konjuge nükleotidlerle yada dolaylı olarak aracı moleküllerle nick translayon, rondon priming ya da çeşitli moleküler genetik tekniklerle işaretlenmektedir (87).

**Tablo 2.6: FISH' in Kullanım Alanları**

| Tanısal Amaçlı                                          | Araştırma Amaçlı                        |
|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1- Klinik sitogenetik                                   | 1- Gen haritalaması                     |
| 2- Prenatal tanı                                        | 2- Tümör biyolojisi                     |
| 3- İnterfaz sitogenetiği                                | 3- Mikrobiyoloji/Viroloji               |
| 4- Mikrobelesyon sendromlarının tanısı                  | 4- Gen ekspresyon analizi               |
| 5- Dokuda enfeksiyon ajanlarının tanısı                 | 5- Somatik hücrelerin hibrit analizleri |
| 6- Dokuda mRNA düzeyinde onkogenlerin değerlendirilmesi | 6- Mayoz/mitoz analizleri               |
|                                                         | 7- Hücre tanımlaması                    |

Sitogenetikte FISH tekniği; prenatal tanıda anöploidi taramasında, mikrodelsiyon, duplikasyon gibi klinik tanı almış sendromların tanısında, klasik sitogenetik analizler ile tanı konamayan de novo yapısal anomalilerin aydınlatılmasında, MKA/MR'lerde subtelomerik anomali araştırmada ve kırık noktalarının belirlenmesi gibi pek çok amaçla kullanılmaktadır. Araştırma ve tanısal amaçlı kullanıma alanları Tablo 2.6'da gösterilmektedir.

FISH prosedürü genel olarak şu basamaklardan oluşur:

- 1- Hedef DNA ve prob hazırlanır.
- 2- Hedef DNA ve prob birlikte ya da ayrı ayrı yüksek ısıda denatüre edilir.
- 3- Hedef DNA ve probun 37°C'de hibridizasyonu sağlanır.
- 4- Posthibridizasyon yıkamaları yapılır.
- 5- Kromozomlar kontrast oluşturan bir renkle boyanarak görünür hale getirilir.
- 6- Floresans mikroskopta incelenir.

#### **2.9.1.1 Problar**

Prob denilen işaretli DNA parçaları çeşitli tekniklerle hazırlanır. Bu yöntemler; (1) Rewers transkriptazla mRNA'ların cDNA'larının sentezi, (2) PCR veya jel elektroforezi ile belirli dizilerin izolasyonu, (3) büyük DNA fragmentlerinin bakteri veya mayaların içine plazmid, faj, cosmids, BACS veya YACS gibi klonlama vektörleriyle eklenmesi, (4) spesifik kromozom ya da tüm kromozomdan elde edilen DNA kütüphanelerinin parsiyal ya da tam olarak mikrodiseksiyonla izolasyonu ve klonlanmasıdır (88).

#### **2.9.1.2 Probların İşaretlenmesi**

İşaretleme ve sinyal tespitinde iki temel mekanizma kullanılır. Radyoizotopik işaretlemede H<sub>3</sub>, S<sub>35</sub>, I<sub>125</sub>, P<sub>32</sub> ve son zamanlarda P<sub>33</sub> kullanılır. X-ray veya emilsiyon otoradyografiyle sinyaller görüntülenmektedir. İkinci yöntem ise; biotin digoxigenin, floresan madde, alkalın fosfataz ya da BrdU'nun kullanıldığı non izotopik işaretlemedir. Bu yöntemde ise sinyaller histokimyasal veya immunohistokimyasal olarak görüntülenir (89).

Nonradyoaktif problar ise direkt ve indirekt olmak üzere iki şekilde işaretlenmektedir.

Direkt işaretleme: İşaretli molekül direkt olarak probun yapısına sokulur ve yıkama sonrası direkt görüntülenebilir. Sıklıkla FITC-12-dUTP, AMCA-6-dUTP, Rhodamine-6-dUTP, Cy3-dCTP, Texas Red-12-dUTP molekülleri kullanılır.

İndirekt işaretleme: İşaretli molekül bir haptten aracılığı ile probun yapısına sokulur ve yıkamalar sırasında uygun antibody ile güçlendirilerek görüntü elde edilir. Sıklıkla Biotin-11-dUTP, Digoxigenin-11-dUTP, Dinitrophenyl-11-dUTP molekülleri kullanılır.

### 2.9.1.3 Prob Çeşitleri

#### 2.9.1.3.1 Tekrarlayan Dizi Problemleri

Tüm kromozomların sentromerlerine, 1, 9, 6 ve Y kromozomlarının h bölgelerine ve akrosentrik kromozomların kısa kollarının ve satellitlerinin tekrar dizilerine homologturlar (88).

$\alpha$  satellitler; kromozomların sentromerlerine özgün tekrarlayan monomer dizileridir.

$\beta$  satellit problar; perisentrik heterokromatin bölgelere, akrosentrik kromozomlara ve 9. kromozoma lokalize olup kişiden kişiye farklılık gösterir

Klasik satellit problar; AATGG tekrar dizileri ile bağlantılı olarak 1, 9, 15 ve 16. kromozomların perisentrik heterokromatin bölgelerine ve Y kromozomunun uzun koluna özgün DNA dizileridir.

Subtelomerik problar; bunlar kendileri telomere bitişik olan ve her kromozom kolu için 70-300 Kb uzunluğunda özel dizileri (akrosentrik kromozomların kısa koluları hariç) olan problardır (90).

Telomerik dizilerse; özel tekrarlanan sıra (TTAGGG) n, her kromozom kolunun sonunda bulunur. Her kol için tekrarlar (n) sayısı, doku, farklılaşma, yaş ve genetik faktörlere bağlı olarak, minimal kalıcı sayısı önemli ölçüde 17 Kb 300 bp arası değişir. (91).

#### **2.9.1.3.2 Lokus Spesifik Problar**

Bir gene veya genin içindeki bir bölgeye ait özgün DNA dizileri olup bilinen mikrodelsiyon ve duplikasyon sendromlarının tanısında kullanılır. 15-500 Kb büyüklüğünde problardır. Özellikle Di-George sendromu, Miller-Dieker sendromu, PWS/Angelman sendromları gibi mikrodelsiyonların araştırılmasında ve kırık noktalarının ve gen lokalizasyonunun belirlenmesinde kullanılırlar. Ör: Resim 2.3'de sitogenetik olarak normal görülen 15q11 bölgesindeki mikrodelsiyonun FISH analizi ile gösterilmiştir.

#### **2.9.1.3.3 Tüm Kromozomu Boyayan Problemler**

Bütün kromozomdan izole edilen prob kütüphaneleridir ve genellikle non spesifik DNA dizileri çıkartılır (88). Translokasyon değerlendirmesinde marker ve ring kromozom incelemelerinde tercih edilen problardır.

#### **2.9.1.3.4 Arm Spesifik Problemler**

Painting problemlerin geliştirilmesi ile kromozomun her bir kolunu ayrı renklerde boyayabilen arm spesifik problemler üretilmiştir.

#### **2.9.1.3.5 Bant Spesifik Problemler**

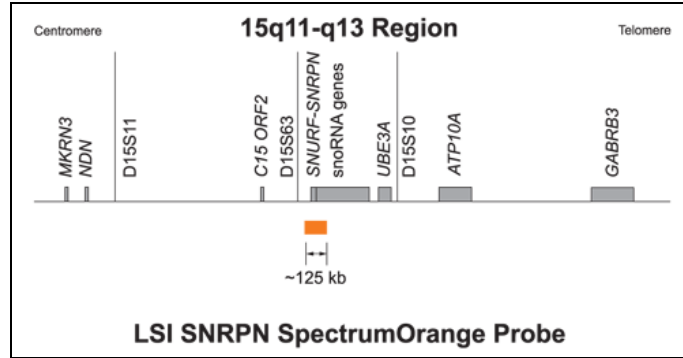
Yine painting problemlerin geliştirilmesiyle kromozomun belli bir bandını ya da her bandını ayrı ayrı boyayabilen bant spesifik problemler üretilmiştir. Bu problemler ile 1-3 Mb'lık baz çifti okunabilmektedir.

### **2.9.2 PWS 'nın FISH Metodu İle Tanısında Kullanılan Problemler**

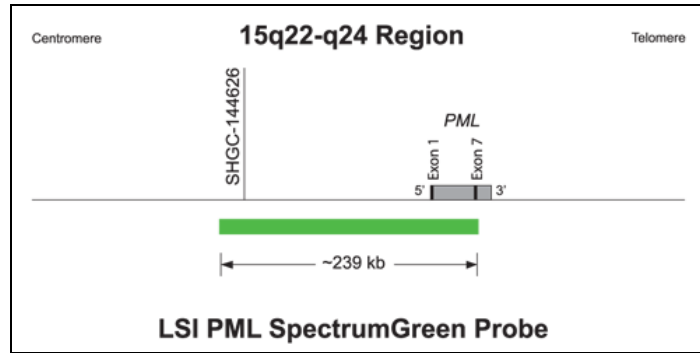
#### **2.9.2.1 VYSIS Firmasına Ait Prob**

15q11-13 bölgesinde yer alan SNRPN (LSI SNRPN) bölgesini kırmızı renkte (Şekil 2.9), 15p11.2 kontrol bölgesini yeşil renkte ve 15q22 kontrol bölgesini turuncu renkte boyamaktadır (Şekil 2.10). 15 q11-q13'deki 125 kb'lık bölgeyi içeren Prader Willi sendromu için kritik bölge SNRPN lokus spesifik probu içerir. Kontrol olarak 15q22 LSI PML probu (Vysis, Illinois, USA) ve 15 p11.2 LSI D15Z1 probu (Vysis, Illinois, USA) kullanılmaktadır.

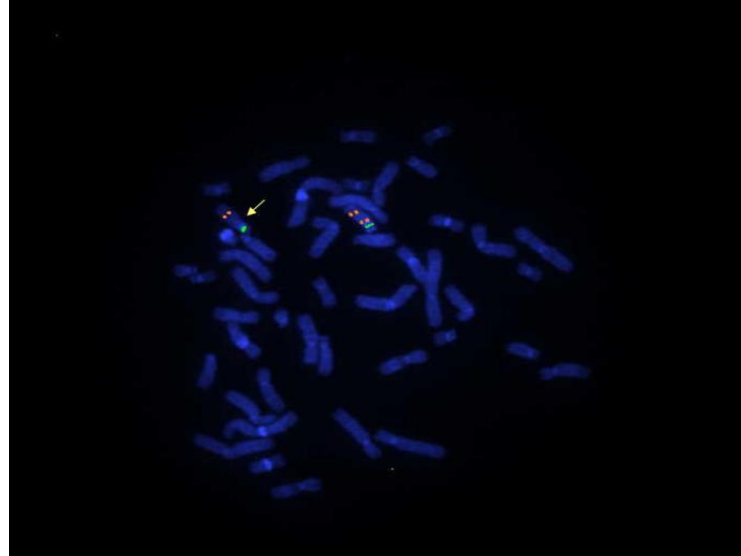
Resim 2.3'de Vysis Prader-Willi/Angelman Region Probe - LSI SNRPN/CEP 15 (D15Z1)/LSI PML Tri Color Probu ile görüntülenen delesyon pozitif bir metafaz plağı gösterilmektedir.



Şekil 2.9: LSI SNRPN probu ile kırmızı boyanan bölge



Şekil 2.10: LSI PML probu ile yeşil boyanan bölge

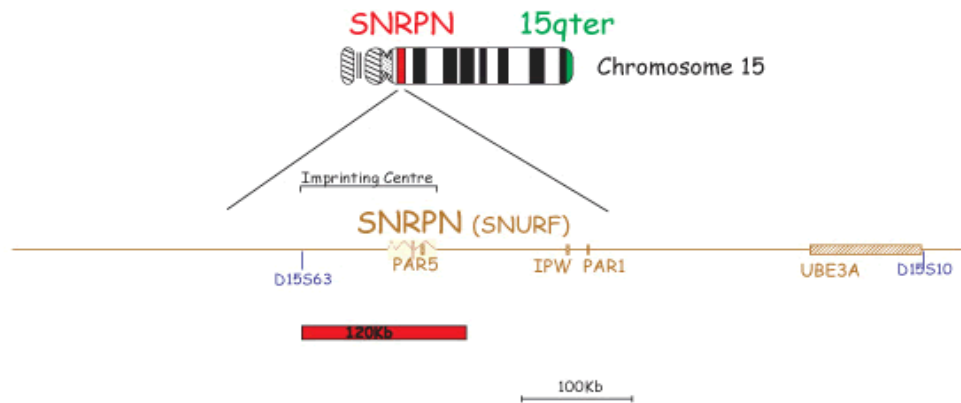


**Resim 2.3: Vysis Prader-Willi/Angelman Region Probe - LSI SNRPN/CEP 15 (D15Z1)/LSI PML TriColor Probu ile görüntülenen delesyon pozitif bir metafaz plağı (92).**

Normal olan 15. kromozomda üç bölgeye ait farklı renklerle hibridizasyon izlenmektedir. Delesyon olan 15. kromozom okla gösterilmektedir ve bu kromozom üzerinde sadece 15q22 (turuncu renk ile) ve 15p11.2 (yeşil renk ile) bölgelerine ait hibridizasyon izlenmekte, 15q11-13 bölgesinde ise delesyon görülmektedir.

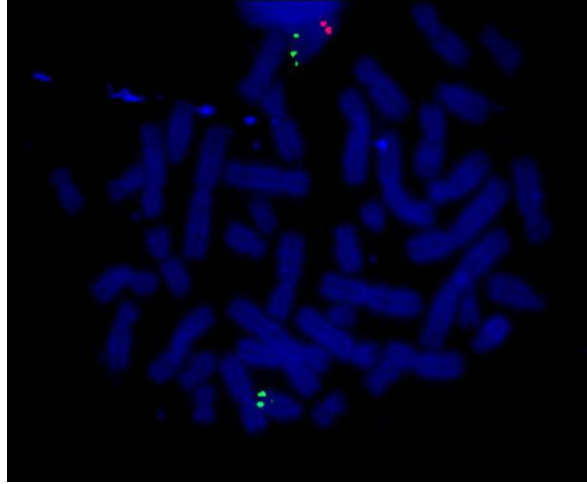
### 2.9.2.2 CYTOCELL Firmasına Ait Prob

Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu genomik DNA'nın yaklaşık 150 Kb'lik kısmına karşılık gelmekte ve SNRPN geni ve tüm imprinting merkezini kapsamaktadır. Prob ile PWS/AS'de %70 oranında görülen SNRPN genindeki 3-4 Mb delesyonlar ve yine aynı gendeki daha küçük delesyonları belirlemek için kullanılmaktadır. PWS'de SNRPN geninin 200 Kb'lik kısmı ve imprinting merkezi bulunur. Prob periferik kan hücre kültüründe interfaz hücrelerinde ve metafaz kromozomlarında FISH analizine olanak sağlar. Hedef gen bölgesi doğrudan kırmızı floresan madde (Texas Kırmızı spektrum) ile işaretlenirken 15 qter (klon 154P1) subtelomere özel yeşil floresan madde (FITC spektrum) ile işaretlenip 15 nolu kromozomun tanımlanması sağlayan kontrol probunu oluşturur (Şekil 2.11). Prob daha küçük delesyonları, AS 'de imprinting merkezi mutasyonlarını ve uniparental dizomiyei tespit etmek için kullanılamaz.



Şekil 2.11: CYTOCELL Firmasına ait prob

Resim 2.4'de CYTOCELL firmasına ait prob ile görüntülenen delesyon pozitif metafaz plağı gösterilmektedir. İki adet kontrol bölgesine ait sinyal (yeşil), 1 adet mikrolelesyon bölgesine ait sinyal (kırmızı) görülmektedir.



**Resim 2.4: CYTOCELL Firmasına ait Prob ile Görüntülenen Delesyon Pozitif Metafaz Plağı**

### 2.9.3 Metilasyon Spesifik PCR Yöntemi

Metilasyon spesifik PCR ise, sodyum bisülfidin DNA ile kimyasal tepkimesi sonucu metillenmemiş sitozinin urasile dönüşmesi reaksiyonu ve bunun ardından geleneksel PCR yapılması esasına dayalıdır. Metillenmiş sitozinler bu tepkimede urasile dönüşmezler, durumu merak edilen CpG konumu ile örtüşen primerler kullanılarak orasının metillenip metillenmediği anlaşılır.

#### 2.9.3.1 DNA İzolasyonu

Hastadan EDTA'lı tübe kan alınır. 15 cc'lik falkona hastanın kanında 3 cc konur. Üzerine 9-10 cc arası 1XLB konulup hafifçe çalkalanır. 2300 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. 6-7 cc 1XLB konulup vortekslenir. 2300 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. 3 cc WBL konulup vortekslenir. 50 µ SDS ve 30 µ proteinaz K konulup vortekslenir. 1 saat 56-65 °C arası ısıda bekletilir. Oda ısısında bekletilip 1,5 cc amonyum asetat konulup vortekslenir. 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Başka bir falkona 3 cc etanol konulup süpernatantla birleştirilir. DNA gözle görünür hale gelir. DNA eppendorfa alınıp oda ısısında kurumaya bırakılır, üzerine T.E. konulup DNA çözündürülür.



### 2.9.3.2 DNA Metilasyonu

DNA ölçülür 50 nanogram ve üzeri yoğunlukta DNA gerekmektedir. 1000 bulunan yoğunluk değerine bölünür. Sonuç olarak çıkan değer distile suyla 24 µl tamamlanır.

Methylamp DNA Modification Kiti kullanılır.

- 1- Toplam ürün 24 µl olmak üzere DNA örneği ve distile su eppendorf tüpler eklenir.
- 2- 1 µl R1 eklenip çalkalanır ve 37 °C’de inkübe edilir.
- 3- Bir tüp R2 üzerine; 1,1 ml R3 eklenerek 2 dakika vortekslenir. Üzerine 40 µl R1 eklenerek kısa süre vortekslenir.
- 4- Örneğin üzerine 125 µl R1/R2/R3 karışımı eklenerek vorteklenir. 65 °C’de 90 dakika inkübe edilir.
- 5- 300 µl R4 ilave edilerek örnek karıştırılır ve spin kolonlu tüplere taşınır. 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir. Alttaki sıvı dökülür.
- 6- Örneğe 200 µl R5 ilave edilir. 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir.
- 7- 10 µl R1’e 1.1 ml %90 etanol eklenir ve karıştırılır. 50 µl R1-etanol karışımı kolona eklenir. 8 dakika oda sıcaklığında bekletilir. 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir.
- 8- 200 µl %90 etanol kolona eklenir, 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir. Alttaki tüp atılır yenisi konur. Yeniden 200 µl %90 etanol kolona eklenerek 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir.
- 9- 1,5 ml’lik tüplere alınır 8-18 µl direkt R6 eklenir. 12.000 rpm’de 15 saniye santrifüjlenir DNA ayrıştırılır.

Modifiye DNA metilasyon amplifikasyonu için hazırdır.

### 2.9.3.3 PCR

Oiogen Hot Start Kit kullanılır. Örneğin, negatif kontrolün, pozitif kontrolün hem metilenmiş hemde normal DNA'ları için met ve unmet PCR yapılır. Toplam olarak 12 tüp üzerinden çalışılır.

Her bir tüp için: 5 µl Buffer

0,5 µl dNTP

0,5 µl Enzim

34 µl dH<sub>2</sub>O

2 µl DNA karıştırılır.

PCR cihazında alındıktan sonra 4 µl Rewers primer eklenir . 72°C'de 38 dakika bekletilir. 4 µl Forward primer eklenip 115 dakika daha 72 °C'de bekletilir.

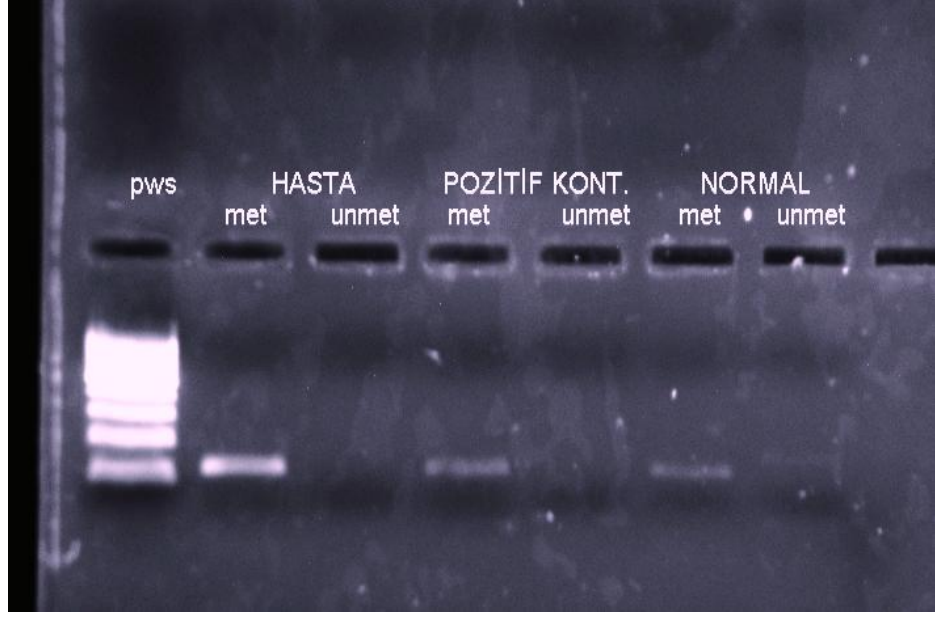
### 2.9.3.4 Elektroforez

%1'lik agaroz jel hazırlanır. 0,50-0,70 gr arası toz agaroz jel 50 cc 0,5 TBE Buffera eklenip fırında 1 dakika döndürülür. 1 µl Etidyum bromür eklenip plakaya dökülür plaka üzerinde iki sıra şeklinde kuyucuk açılarak soğuması için 15 dakika bekletilir. İlk sıraya metilenmiş DNA'lar konulur. İkinci sıraya ise normal DNA'lar konulur. Her bir kuyucuk için 1 µl Loading ve 5 µl DNA örneği temiz bir zemin üzerinde (parafilm) karıştırılıp kuyucuklara yerleştirilir. İlk kuyucuğa Generuller konulup 20 dakika elektroforezde tutulur.

### 2.9.3.5 Değerlendirme

Elektroforez işleminin ardından UV ışık altında görüntüleme sistemi ile bantların değerlendirilmesi yapılır. Genin promotor kısmının önünde bulunan CpG adacıkları metillenir. Metillediğimiz CpG adacıklarını çoğaltabiliriz ve bunu da bant olarak tespit ederiz.

Modifiye met DNA'da bantın olup; modifiye unmet DNA'da bantın olmaması PWS tanısını koydurur (Resim 2.5).



**Resim 2.5: Metilasyon Spesifik PCR'da PWS Tespit Edilmiş Hasta Görüntüsü**

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Genetik Bilim Dalı polikliniği 2009-2012 yılları arasında başvuran veya Yeni Doğan Bilim Dalı 'nda yatan 47 adet hipotonik bebek (0-24 aylık) çalışmanın kapsamını oluşturdu. Periferik kandan elde edilen metafaz kromozomları High Resolution Bantlama Tekniği (HRBT) ve GTG boyama yöntemi uygulanıp kromozom analizi yapıldı. Kromozom analizinde sayısal veya yapısal dengesiz anomali saptanan hastalar çalışma dışında bırakıldı. İkinci aşamada ise 15q11.13 bölgesinde delesyon olup olmadığına araştırmak için PWS/AS SNRPN probu ile FISH yöntemi uygulandı.

#### 3.2 Gereç ve Cihazlar

- Etüv (Heraeus)
- Zaman ayarlı santrifüj (Heraeus)
- Hassas terazi
- Vorteks
- Derin Dondurucu
- Su banyosu
- Inverted mikroskop (Nikon)
- Mikropipet (Eppendorf)
- Işık- floresan mikroskop (Nikon)
- Hychrome cihazı
- Mikrosantrifüj (Heraeus)
- Floresan mikroskop filtreleri

### 3.2.1 Sarf Malzeme

- Heparinli t p
- Enjektör
- Santrifüj tüpü
- Pastör pipeti
- Mez r
- Lam
- Lamel
-  ale

### 3.3 Kullanılan   zeltiler

#### 3.3.1 Periferik Kan Kültürü için Kullanılan   zeltiler

- **Chromosome medium B with Phytohemagglutinin (PHA) E** (Biochrom)  
(hazır medyum) (100 ml) -20  C’de saklanır.
- **Karyotyping PB** (hazır medyum) (100 ml) -20  C’de saklanır.
- **Fitohemagglutinin (PHA)** (Biochrom) (5 ml) +4  C’de saklanır.
- **RPMI 1640** (Biochrom) (500 ml) +4  C’de saklanır.
- **Kolsemid** (Biochrom) (25 ml) +4  C’de saklanır.
- **Timidin** (Applichem) (5 gr):  
%1’lik timidin çözeltisi için 0,1 gr toz timidin 10 ml distile suyla tamamlanır.
- **Hipotonik   zelti:** 0,075 M KCL(Merck)   zeltisi: 1,4 gr KCL 250 cc distile suda çözündürülür.
- **Fiksatif:** Metanol (Merck):Asetik Asit (Merck) (3:1)

### 3.3.2 GTG Bantlamada Kullanılan Çözeltiler

- **2XSSC:** 10 ml 20XSSC ve 90 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **Tripsin çözeltisi için:** 0.04 gr-0.01 gr toz Tripsin çözünür.
- **Sorenson A tampon çözeltisi:** 500 ml distile suda 4,53 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  çözünür.
- **Sorenson B tampon çözeltisi:** 500 ml distile suda 4,68 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  çözünür.
- **Leishman (Applichem) (25 gr)**  
0,225 gr toz Leishman boyası 135 cc metanolde çözünür.
- **Giemsa (Merck)**

### 3.3.3 Floresan In Situ Hibridizasyonunda Kullanılan Çözeltiler

#### 3.3.3.1 Yıkama Solüsyonları

- **20XSSC Stok Solüsyonu:** 87,66 gr. NaCl ve 44,116 gr Nasitrat 1000 ml distile su içinde çözünür.
- **0,4XSSC:** 2 ml 20XSSC ve 98 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.

#### 3.3.3.2 Alkol Çözeltileri

- **%70'lik alkol için:** 70 ml etil alkol ve 30 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **%85'lik alkol için:** 85 ml etil alkol ve 15 ml distile su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **%100'lük alkol için:** 100 ml etil alkol ile hazırlanır.

### 3.3.3.3 NP40 Solüsyonları

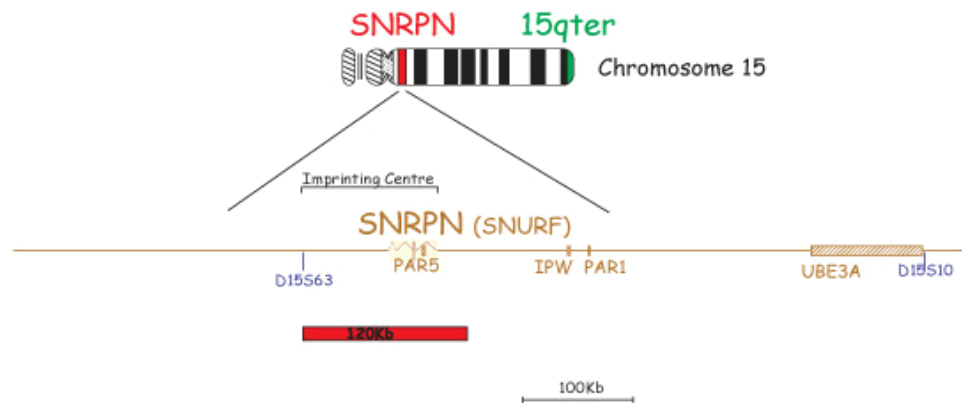
- **0,4XSSC solüsyonu + %0,3 NP40 solüsyonu:** 2 ml 20XSSC, 98 ml distile su, 300 µl NP40 ile hazırlanır.
- **2XSSC solüsyonu + %0,1 NP40 solüsyonu:** 10 ml 20XSSC, 90 ml distile su, 100 µl NP40 ile hazırlanır.

### 3.4 Prob

Çalışmada kullanılan Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu CYTOCELL firmasında işaretlenmiş olarak hazır alınmıştır.

#### 3.4.1 CYTOCELL Firmasına Ait Prob

Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu genomik DNA'nın yaklaşık 150 Kb'lik kısmına karşılık gelmekte ve SNRPN geni ve tüm imprinting merkezini kapsamaktadır. Prob ile PWS/AS'de %70 oranında görülen SNRPN genindeki 3-4 Mb delesyonlar ve yine aynı gendeki daha küçük delesyonları belirlemek için kullanılmaktadır. PWS'de SNRPN geninin 200 Kb'lik kısmı ve imprinting merkezi bulunur. Prob periferik kan hücre kültüründe interfaz hücrelerinde ve metafaz kromozomlarında FISH analizine olanak sağlar. Hedef gen bölgesi doğrudan kırmızı floresan madde (Texas Kırmızı spektrum) ile işaretlenirken 15 qter (klon 154P1) subtelomere özel yeşil floresan madde (FITC spektrum) ile işaretlenip 15 nolu kromozomun tanımlanması sağlayan kontrol probunu oluşturur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: CYTOCELL Firmasına ait prob

### 3.5. Metod

#### 3.5.1 HRB Yöntemi ile Periferik Kan Kültürü

Hazır besiyeri 15 cc'lik falconlara 5'er cc gelecek şekilde bölünür. Hastadan heparinli tübe alınan kan hastanın yaşına ve cinsiyetine göre 3-7 damla arası ekim yapılır. Falcon eğimli olarak 37 °C'lik etüvde 72 saat inkübe edilir.

Ekimin 48. saatinde iğnesiz ppd enjektörüyle 3 damla %1'lik timidin eklenip tekrar etüve konur. Ekimin 68. saatinde 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. Dip pellet hafifçe vurularak karıştırılır. Üzerine 5 cc RPMI 1640 konur. Tekrar 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. 5 cc fitosuz besiyeri konur. 3 saat 45 dakika etüvde inkübe edilir. Sonrasında 2 damla colsemid damlatılıp 15 dakika daha etüvde tutulur.

#### 3.5.2. Kromozom Eldesi

72. saatte 1200 rpm'de santrifüj edilir. Süpernatant atılır. Dip pellete damla damla 10 cc 0,075 M KCL eklenir. 30 dakika 37 °C'lik etüve konur. 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır. Soğuk fiksatifle fikse edilir. Aynı fiksatifle en az 3 kez yıkanır. Son yıkamadan sonra temizlenmiş ve yayma yapılacak yüzeyi su banyosunda 4-5 saniye tutulmuş lama 40-45 µlt dip pellet yayılır. Preparatlar su banyosunun yanında kurumaya bırakılır.

#### 3.5.3 GTG Bantlama Yöntemi

Yayma yapılan preparatlar GTG bantlama için 87°C'lik etüvde bir gece yaşlandırılır. Yaşlandırılan preparatlar 65°C'lik su banyosunda 2XSSC de 6-10 dakika arasında bekletilir. Çeşme suyuyla yıkanıp kurutulur. Preparatlar tripsin çözeltisine daldır çıkar yapılarak geçirilir. Çeşme suyuyla yıkanır. Preparatlar boyanın içinde laboratuvar koşullarına göre 2-3 dakika arası karanlık ortamda tutulur. Boyadan çıkan preparatlar çeşme suyuyla yıkanıp kurutulur.

Kuruyan preparatlar entellanla kapatılıp ışık mikroskopunun 100'lük objektifinde imversiyon yağı kullanılarak incelenir. 20 metafaz sahasının analiz edilmesi gerekmektedir.



### 3.5.4 FISH Yöntemi

#### 3.5.4.1 Ön İşlem

Periferik kan lenfosit kültürü ile elde edilen hücre pelleti, temizlenmiş lamlar üzerine tam ortaya gelecek şekilde damlatılır. Preparatların kuruma işlemi bittikten sonra kaliteli ve yeterli metafaz ve interfaz olup olmadığı kontrol edilir. Yayma yapılan preparatlar bir gece 65°C’de yaşlandırılır. Preparatlar 2XSSC solusyonunda 37 °C’de 45 dakika tutulur. Distile suyla yıkanır. %70, %85, %100’lük etil alkol serisinde 3’er dakika dehidrate edilir ve kurumaya bırakılır. 10 µl prob lamin ortasına damlatılır. Lamelle kapatılır. Üstü parafilmle kaplanır.

#### 3.5.4.2 Denatürasyon

Preparat 5 dakika 73 °C’de bekletilerek prob ve hedef DNA hibridizasyonu için denatürasyon sağlanır.

#### 3.5.4.3 Hibridizasyon

Denatürasyondan sonra preparatlar, 37 °C’de nemli ve karanlık bir kutu içinde 18 saat bekletilerek hibridize edilir.

#### 3.5.4.4 Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar

Hibridizasyon sonrasında lamin üzerinden parafilm ve lamel alınır. 74 derecelik 0,4XSSC+%3'luk NP40 çözeltisinde 3 dakika bekletilir. Sonra oda sıcaklığında 2XSSC +%0,1'lik NP40 çözeltisinde 1 dakika tutulur. Distile suyla yıkayıp karanlık ortamda dik olarak kurutulur. Kuruyan preparatlara 10 µl DAPI uygulanıp lamelle kapatılır. Alüminyum folyoya sarılıp en az 20 dakika -20 de bekletilir.

Preparatlar floresan mikroskobunda DAPI-FITC-Texas red üçlü filtresinde incelenerek otomatik görüntüleme cihazında görüntülenir.

#### 3.5.4.5 Sinyallerin Değerlendirmesi

Prob karışımındaki kontrol probu, kromozom 15 q’nun uçlarını (15 qter) yeşile boyar; kırmızı renk veren prob ise 15 q11.2 bölgesindeki SNRPN geninin varlığını göstermektedir. Tek bir kırmızı 15q11.2 sinyalinin görülmesi, diğer kromozomda 15q11.2 mikrodelsiyonun olduğunu ifade eder. Her hastada 10 tane metafaz alanı ve 100 tane interfaz alanında sinyaller sayılarak mikrodelsiyon tanısı konulmuştur.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Hasta Grubunun Değerlendirilmesi

Yaş ortalaması 9,15 ay (3 gün-24 ay) olan 47 tane hipotonik bebek çalışma kapsamına alındı. Hastaların 8'i yenidoğan döneminde, 29'u 1-12 aylık, 10'u ise 12-24 aylık idi. 23 tanesi erkek, 24 tanesi kızdı. Hastalara önce kromozom analizi yapıldı, kromozom anomalisi saptananlar çalışma kapsamından çıkarıldı. Hastalar Holm ve ark. (1) tarafından belirlenen kriterlere göre puanlandırılmış olup 1 puan ile 6 puan arasında skorlandırılmıştır. 47 hastanın 5 (%10,6)'inde 15q11-13 bölgesinde mikrolelesyon saptanmıştır. Tablo 4.1'de hasta grubunun Holm ve ark. (1) kriterlerine göre major ve minor bulgular, karyotip ve FISH analizi sonuçları görülmektedir. Tablo 4.2'de ise delesyon (+) ve (-) olan olgulardaki bulguların dağılımı gösterilmiştir.

**Tablo 4.1 : Hasta grubunun Major ve Minor Bulgular,Karyotip ve FISH Analizi Sonuçları**

|    |        | Yaş/Cins. | Major Bulgular*                                                             | Minör Bulgular**                      | Kromozom Sonucu | FISH Sonucu |
|----|--------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|-------------|
| 1. | O.K.   | 6 ay, E   | Mikropenis<br>İnmemiş testis<br>Hipotoni<br>Motor gerilik<br>Küçük ağız     |                                       | 46,XY           | del (+)     |
| 2. | O.B.G  | 11 ay, E  | Hipotoni<br>MMR<br>Hipogonadizm<br>Obez<br>Ağız köşeleri<br>aşağı bakıyor   | El-ayak küçük                         | 46,XY           | del (-)     |
| 3  | Y.E.S. | 10 ay, E  | Mikropenis,<br>Testisler skrotumda<br>Emme zayıf<br>Hipotoni<br>Morbid obez | El-ayaklar küçük<br>Saç renkleri açık | 46,XY           | del(-)      |
| 4  | A.H.S. | 3 gün, K  | Zayıf emme<br>Hipotoni                                                      |                                       | 46,XX           | del (+)     |
| 5  | B.Y.   | 12 ay, E  | MMR<br>Hipotoni                                                             | Açık renk saç                         | 46,XY           | del (-)     |
| 6  | K.A.   | 27 gün, E | Dolikosefali<br>Hipotoni                                                    |                                       | 46,XY           | del (-)     |
| 7  | İ.S.   | 24 ay, K  | Hipotoni                                                                    |                                       | 46,XX           | del(-)      |
| 8. | R.Ç.   | 6 ay, K   | Emememe<br>Hipotoni<br><br>Gelişme geriliği                                 |                                       | 46,XX           | del (-)     |

|    |        |           |                                                                                                                           |                                                                |              |                |
|----|--------|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------|----------------|
| 9. | A.S.   | 8 ay, E   | <b>Hipotoni</b><br><b>Gelişme geriliği</b><br><b>Sol testis inmemiş</b><br><b>Emme refleksi zayıf</b><br><b>Badem göz</b> | <b>El –ayak küçük</b><br><b>Fetal hareket</b><br><b>azlığı</b> | <b>46,XY</b> | <b>del (+)</b> |
| 10 | A.D.   | 24 ay, E  | Obezite<br>Hipotoni<br>İnmemiş testis<br>Emme refleksi az                                                                 | El ayak küçük                                                  | 46,XY        | del (-)        |
| 11 | N.N.Ş. | 11 gün, K | Hipotoni                                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del(-)         |
| 12 | E.Y.   | 8 ay, E   | Hipotoni<br>Obezite<br>İnmemiş Testis -/-                                                                                 |                                                                | 46,XY        | del (-)        |
| 13 | C.D.   | 5 ay, K   | Hipotoni<br>Badem gözler                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 14 | B.E.K. | 2,5 ay, E | <b>Hipotoni</b><br><b>İnmemiş testis</b>                                                                                  |                                                                | <b>46,XY</b> | <b>del (+)</b> |
| 15 | R.O.   | 45 gün,K  | <b>Hipotoni</b><br><b>Badem göz</b><br><b>Emme zayıflığı</b>                                                              |                                                                | <b>46,XX</b> | <b>del (+)</b> |
| 16 | Z.G.   | 8 ay, K   | Hipotoni<br>Dokilosefali                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del(-)         |
| 17 | Y.S.   | 11 ay, K  | Hipotoni                                                                                                                  | Göz ezotopik<br>El –ayak küçük                                 | 46,XX        | del (-)        |
| 18 | B.M.   | 9 ay, K   | Hipotoni                                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 19 | M.H.P. | 15 ay, E  | Obezite<br>Mikropenis<br>Hipotoni<br>Hipogonadizm                                                                         |                                                                | 46,XY        | del (-)        |
| 20 | A.A.   | 34 gün, K | Hipotoni<br>Beslenme problemi                                                                                             | El küçük                                                       | 46,XX        | del (-)        |
| 21 | M.Ç.   | 35 gün, K | Hipotoni                                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del(-)         |
| 22 | Z.G.   | 6 gün, K  | Hipotoni<br>Emmede ve<br>hareketlerde azalma                                                                              |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 23 | İ.Ş.   | 10ay, K   | Hipotoni                                                                                                                  |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 24 | M.Ş.   | 7 ay, K   | Hipotoni<br>Zayıf emme<br>Gelişme geriliği                                                                                |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 25 | Z.D.K. | 23 gün, K | Hipotoni                                                                                                                  | Fetal hareket azlığı                                           | 46,XX        | del (-)        |
| 26 | A.E.Ç. | 18 ay, E  | Obezite<br>Hipotoni<br>MMR                                                                                                |                                                                | 46,XY        | del(-)         |
| 27 | M.E.B. | 8 ay, E   | Hipotoni<br>Penis gömülü                                                                                                  |                                                                | 46,XY        | del (-)        |
| 28 | D.K.   | 4,5 ay, K | Hipotoni<br><br>MKA/MR                                                                                                    |                                                                | 46,XX        | del (-)        |
| 29 | K.Ç.   | 11ay, E   | Hipotoni<br>Aşırı obez                                                                                                    |                                                                | 46,XY        | del (-)        |
| 30 | M.Y.   | 19 ay, E  | Hipotoni<br>Obezite                                                                                                       |                                                                | 46,XY        | del (-)        |

|    |        |           |                                                                         |                      |                       |         |
|----|--------|-----------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|---------|
| 31 | C.S.   | 18 ay, E  | Hipotoni<br>Gelişme geriliği                                            |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 32 | Y.K.T. | 7 ay, E   | Hipotoni                                                                | Hipopigmentasyon     | 46,XY                 | del (-) |
| 33 | A.E.S. | 5 ay, E   | Hipotoni                                                                |                      | 46,XY                 | del (-) |
| 34 | B.Ö.   | 12 gün, K | Hipotoni<br>Dolikosefali                                                | Fetal hareket azlığı | 46,XX                 | del(-)  |
| 35 | H.S.Ş. | 24 ay, K  | MMR<br>Hipotoni                                                         |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 36 | A.Y.T. | 24 ay, E  | MMR<br>Hipotoni                                                         |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 37 | M.A.   | 5,5 ay, K | Hipotoni<br>Motor gerilik                                               |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 38 | M.K.   | 7 ay, K   | Hipotoni<br>Myotonik yüz<br>Emememe                                     |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 39 | A.E.   | 4 ay, E   | Hipotoni<br>Sağ testis inmemiş<br>Gelişme geriliği                      |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 40 | K.K.   | 7 ay, E   | Hipotoni<br>MR                                                          | Hipopigmentasyon     | 46,XY                 | del (-) |
| 41 | M.M.Ç. | 10 ay, E  | Hipotoni<br>MMR                                                         |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 42 | E.E.Ş. | 7 ay, K   | Hipotoni<br>Motor gelişim geriliği<br>Yutma disfonksiyonu<br>Balık ağız |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 43 | K.K.   | 10 ay, E  | Hipotoni<br>Emme güçlüğü<br>Hipospadias                                 |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 44 | Ş.T.   | 17 ay, K  | Hipotoni                                                                |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 45 | G.G.   | 11 ay, K  | Hipotoni<br>Gelişim geriliği                                            |                      | 46,XX                 | del(-)  |
| 46 | Y.M.K. | 9 ay,E    | Hipotoni                                                                |                      | 46,XY                 | del(-)  |
| 47 | M.Y.   | 21 ay,K   | Hipotoni<br>Emememe                                                     |                      | 46,XX,inv(9)(p12;q13) | del(-)  |

Delesyon pozitif hastalar koyu puntolanmıştır.

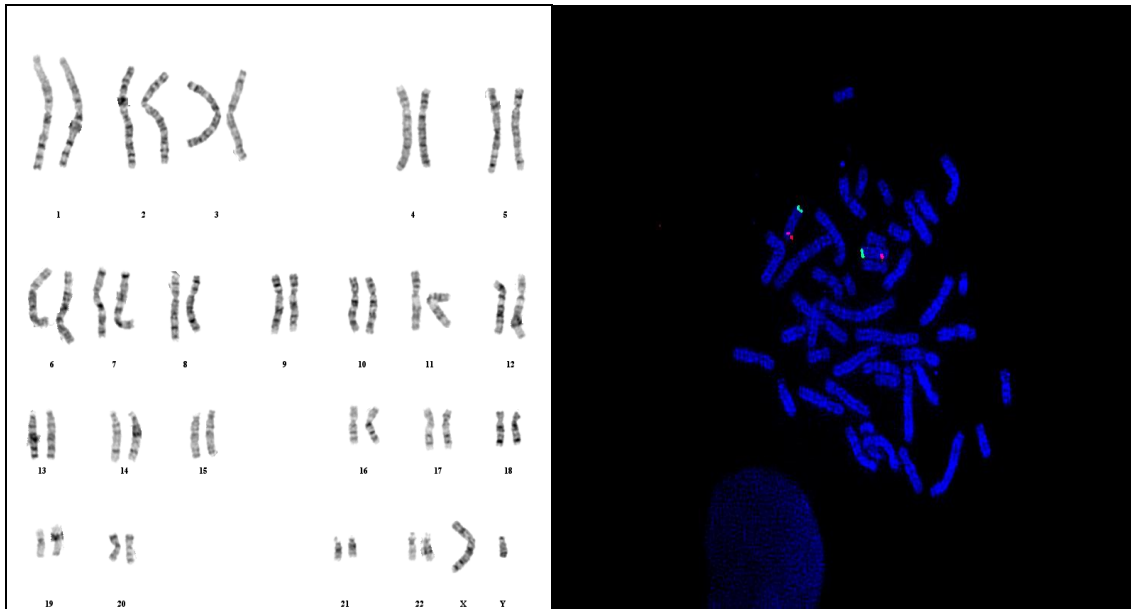
\*Her major bulgu 1 puandır.

\*\*Her minör bulgu 0,5 puandır.

**Tablo 4.2. Delesyon (+) ve (-) Olgularda Bulguların Dağılımı**

| BULGULAR             | Delesyon (+) | Delesyon (-) |
|----------------------|--------------|--------------|
| Hipotoni             | 5 /5         | 42/42        |
| Hipogonadizm         | 4 /5         | 9 /42        |
| Badem göz            | 2 /5         | 1/42         |
| Balık ağız           | 0 /5         | 2/42         |
| Küçük ağız           | 1/5          | 0/42         |
| Gelişim geriliği     | 2/5          | 1/42         |
| Zayıf emme           | 3 /5         | 10/42        |
| Dolikosefali         | 0/5          | 3/42         |
| Obezite              | 0/5          | 7/42         |
| Fetal hareket azlığı | 1 /5         | 2/42         |
| El ayak küçüklüğü    | 1/5          | 3/42         |
| Hipopigmentasyon     | 0/5          | 3/42         |
| Şaşılık              | 0/5          | 1/42         |

Delesyon negatif bulunan hastaların kromozom analiz sonuçları ve bilinen nihai tanıları Tablo 4.3'de, hastalardan birine ait metafaz plağındaki kromozom analizi ve FISH görüntüsü ise Resim 4.1a ve 4.1b'de görülmektedir.

**4.1 a****4.1 b**

**Resim 4.1 a: Delesyon negatif bir olgunun karyotip görüntüsü (O.B.G.) b: Delesyon negatif bir olgunun FISH metafaz plağı görüntüsü. 2 adet kontrol sinyal (yeşil), 2 adet mikrodelesyon bölgesine ait sinyal (kırmızı) görülmektedir.**

**Tablo 4.3 : Delesyon Negatif Çıkan Hastaların Kromozom Kurulumu ve Nihai Tanıları**

|    | Hasta  | Kromozom Sonucu       | FİSH Sonucu | Klinik olası tanılar              |
|----|--------|-----------------------|-------------|-----------------------------------|
| 1  | O.B.G  | 46,XY                 | del (-)     |                                   |
| 2  | Y.E.S. | 46,XY                 | del(-)      |                                   |
| 3  | B.Y.   | 46,XY                 | del (-)     | Gricelli Sendromu Tip 2           |
| 4  | K.A.   | 46,XY                 | del (-)     |                                   |
| 5  | İ.S.   | 46,XX                 | del(-)      |                                   |
| 6  | R.Ç.   | 46,XX                 | del (-)     |                                   |
| 7  | A.D.   | 46,XY                 | del (-)     |                                   |
| 8  | N.N.Ş. | 46,XX                 | del(-)      |                                   |
| 9  | E.Y.   | 46,XY                 | del (-)     | SMA Tip 1                         |
| 10 | C.D.   | 46,XX                 | del (-)     | Müsküler distrofi, Kas hastalığı? |
| 11 | Z.G.   | 46,XX                 | del(-)      | Epilepsi, Hipermobilité           |
| 12 | Y.S.   | 46,XX                 | del (-)     |                                   |
| 13 | B.M.   | 46,XX                 | del (-)     | HİE Sekeli                        |
| 14 | M.H.P. | 46,XY                 | del (-)     | Epilepsi, Hidrosefali             |
| 15 | A.A.   | 46,XX                 | del (-)     | Mobius Sendromu                   |
| 16 | M.Ç.   | 46,XX                 | del(-)      | Müsküler Distrofi ?               |
| 17 | Z.G.   | 46,XX                 | del (-)     | Zelweger Sendromu?                |
| 18 | İ.Ş.   | 46,XX                 | del (-)     |                                   |
| 19 | M.Ş.   | 46,XX                 | del (-)     |                                   |
| 20 | Z.D.K. | 46,XX                 | del (-)     |                                   |
| 21 | A.E.Ç. | 46,XY                 | del(-)      | HİE Sekeli                        |
| 22 | M.E.B. | 46,XY                 | del (-)     | HİE Sekeli                        |
| 23 | D.K.   | 46,XX                 | del (-)     | Zelweger Sendromu                 |
| 24 | K.Ç.   | 46,XY                 | del (-)     | Distal Tübüler Asidoz             |
| 25 | M.Y.   | 46,XY                 | del (-)     | Hafif HİE Sekeli                  |
| 26 | C.S.   | 46,XY                 | del(-)      |                                   |
| 27 | Y.K.T. | 46,XY                 | del (-)     |                                   |
| 28 | A.E.S. | 46,XY                 | del (-)     |                                   |
| 29 | B.Ö.   | 46,XX                 | del(-)      |                                   |
| 30 | H.S.Ş. | 46,XX                 | del(-)      |                                   |
| 31 | A.Y.T. | 46,XY                 | del(-)      |                                   |
| 32 | M.A.   | 46,XX                 | del(-)      | İşitme kaybı, Makrozomi           |
| 33 | M.K.   | 46,XX                 | del(-)      | HİE Sekeli?                       |
| 34 | A.E.   | 46,XY                 | del(-)      | SMA?                              |
| 35 | K.K.   | 46,XY                 | del (-)     | Makrozomi                         |
| 36 | M.M.Ç. | 46,XY                 | del(-)      |                                   |
| 37 | E.E.Ş. | 46,XX                 | del(-)      |                                   |
| 38 | K.K.   | 46,XY                 | del(-)      | Dandy Walker Varyantı             |
| 39 | Ş.T.   | 46,XX                 | del(-)      | Kabuki Sendromu?                  |
| 40 | G.G.   | 46,XX                 | del(-)      | SMA?                              |
| 41 | Y.M.K  | 46,XY                 | del(-)      |                                   |
| 42 | M.Y.   | 46,XX,inv(9)(p12;q13) | del(-)      |                                   |

## 4.2 Delesyon Pozitif Tespit Edilen Hasta Bilgileri

### 4.2.1 Olgu I

Aralarında akrabalık olmayan anne babanın ilk çocuğudur. 42. gebelik haftasında 3200 gr ağırlığında, 53 cm boyunda doğmuştur. Hipotoni nedeniyle gönderilen 6 aylık erkek bebekte inmemiş testis, motor gerilik ve küçük ağız bulguları mevcuttu (Resim 4.2).

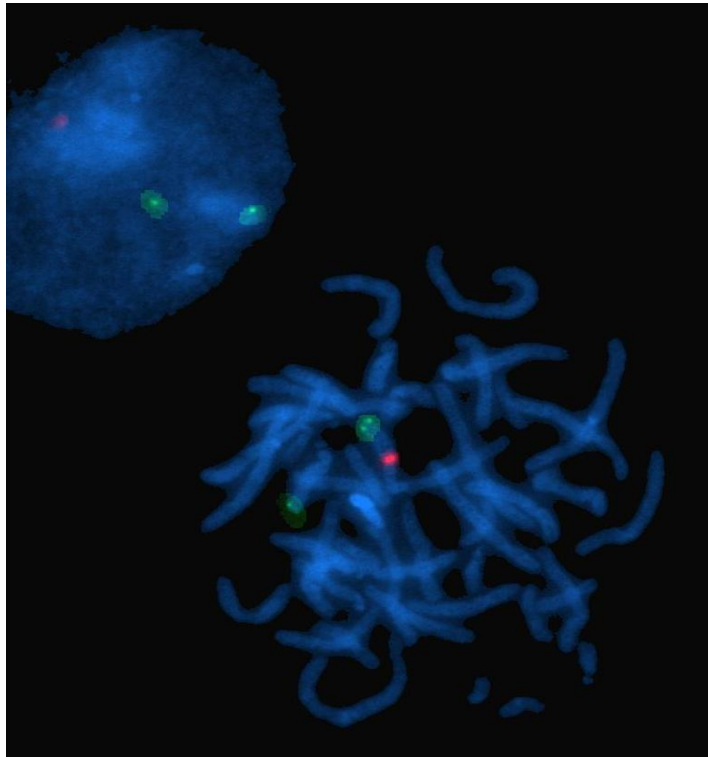


**Resim 4.2: Olgu I'nin karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi, hipogonadizm, küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.**

Kromozom analizi sonucunda 46,XY tespit edilmiş olan hastaya 15q gen bölgesine ait Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu uygulandığında delesyon tespit edilmiştir (Resim 4.3 ve 4.4).



**Resim 4.3: Olgu I'in Metafaz Plağı:** Normal 46,XY kromozom kurulumu.



**Resim 4.4: Olgu I'in FISH Analizi Görüntüsü:** 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülmektedir.



#### 4.2.2 Olgu II

Aralarında akrabalık olmayan anne babanın çocuğudur. 2810 gr ağırlığında, 49 cm boyunda, 34.5 cm baş çevresiyle doğmuş kız bebektir. 3 günlükken hipotoni ve zayıf emme nedeniyle PWS düşünülen bebeğin 4,5 aylık muayenesinde, hipotonisite, yüksek damak, balık ağız, mikrognatia bulguları mevcuttu (Resim 4.5).

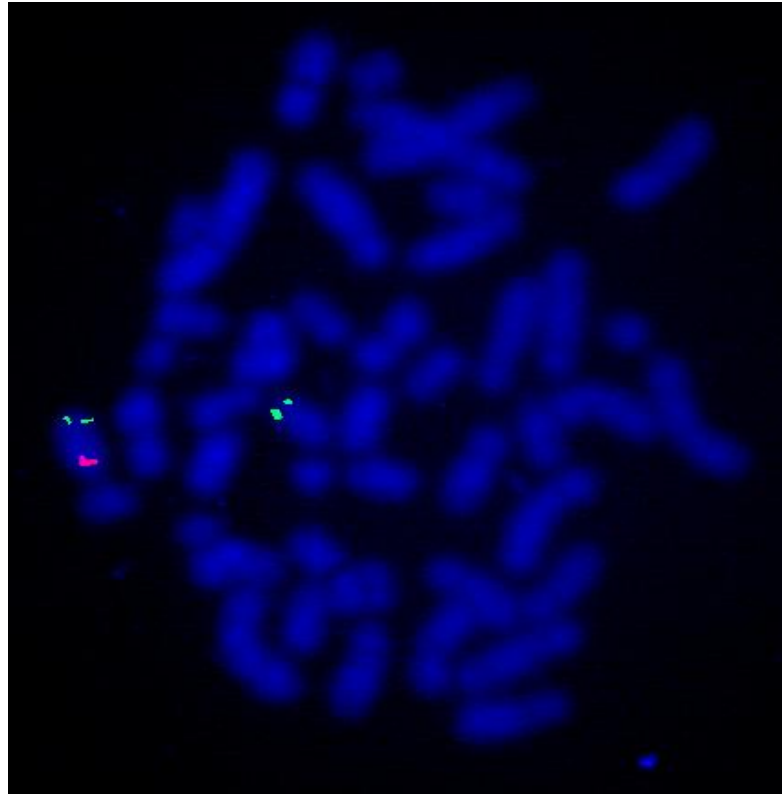


**Resim 4.5: Olgu II'nin karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi, hipogonadizm, küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.**

Kromozom analizi sonucunda 46,XX tespit edilmiş hastaya 15 q gen bölgesine ait Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu uygulandığında delesyon tespit edilmiştir (Resim 4.6 ve 4.7). Hasta şu anda özel eğitim ve fizyoterapi almaktadır.



**Resim 4.6 : Olgu II'in Metafaz Plağı Görüntüsü:** Normal 46,XX kromozom kurulumu.



**Resim 4.7: Olgu II'in FISH Analizi Görüntüsü:** 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülmektedir.

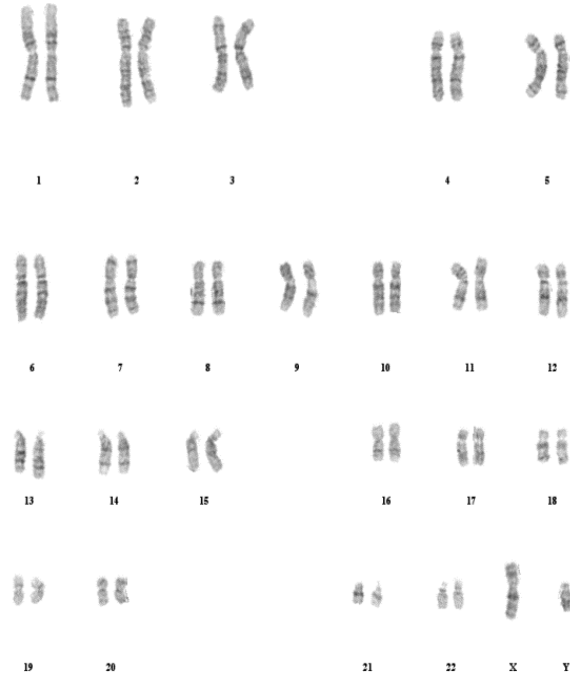
### 4.2.3 Olgu III

Aralarında akrabalık olan anne babanın dördüncü çocuğudur. 3200 gr ağırlığında, 55 cm boyunda doğmuş erkek bebektir. 8 aylıkken hipotoni ve gelişme geriliği nedeniyle polikliniğimize sevk edilen bebekte ayrıca el-ayak küçüklüğü, inmemiş testis ve badem göz saptanmıştır (Resim 4.8).

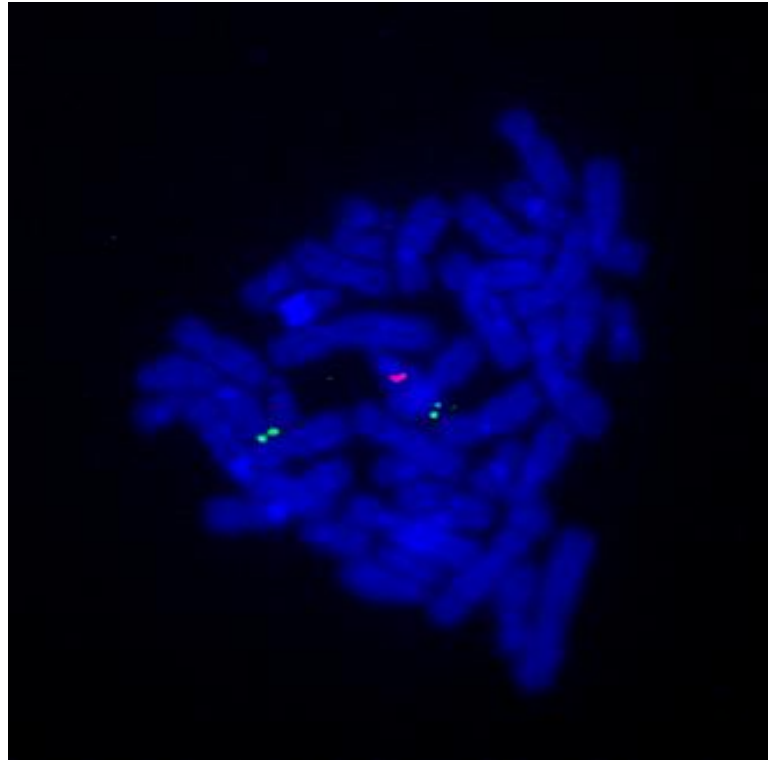


**Resim 4.8: Olgu III'ün karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi, küçük el ve ayaklar gösterilmektedir.**

Kromozom analizi sonucunda 46,XY tespit edilmiş olan hastaya 15q gen bölgesine ait Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu uygulandığında delesyon tespit edilmiştir (Resim 4.9 ve 4.10). 2 yaşındayken IQ'su 49 olan hasta 4 yaş 10 aylıkken konuşabiliyor ve ana sınıfına gidiyordu.



**4.9: Olgu III'ün Metafaz Plağı Görüntüsü:** Normal 46,XY kromozom kurulumu.



**Resim 4.10: Olgu III'ün FISH Analizi Görüntüsü:** 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülmektedir.

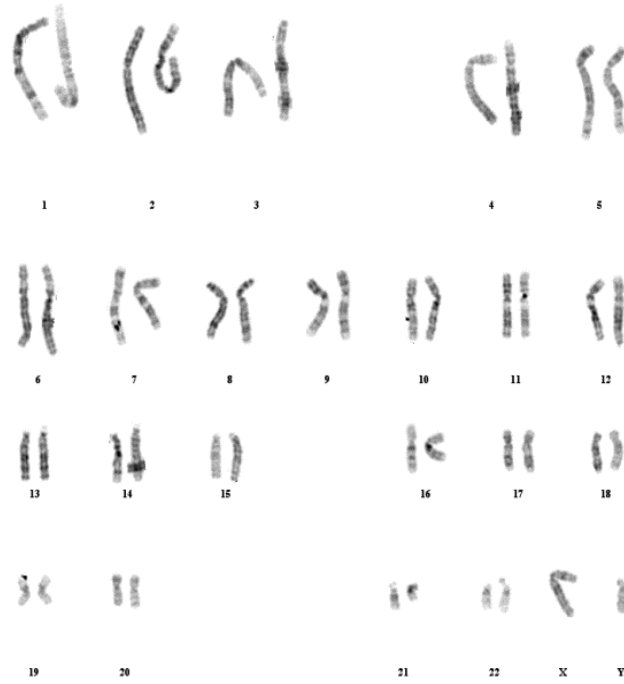
#### 4.2.4 Olgu IV

Aralarında akrabalık olmayan anne babanın çocuğudur. Miadında 2890 gr ağırlığında, 47 cm boyunda doğmuş erkek bebektir. 2,5 aylıkken; hipotoni, dar yüksek damak, mikroretrognati, inmemiş testis, az ağlama şikayetleriyle polikliniğimize sevk edilmişti (Resim 4.11).

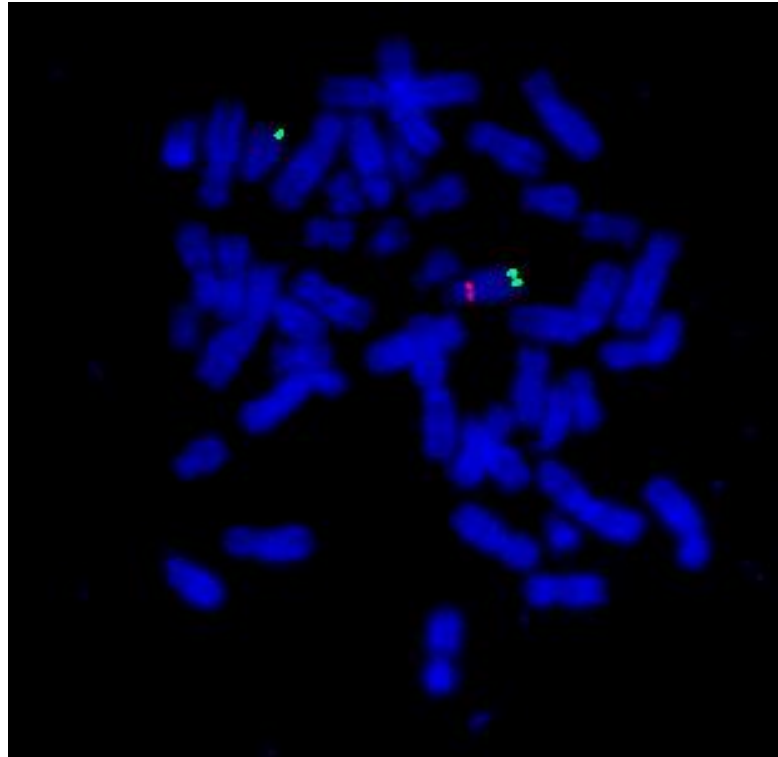


**Resim 4.11: Olgu IV'ün karakteristik yüz bulguları ve hipotonisitesi gösterilmektedir.**

Kromozom analizi sonucunda 46,XY tespit edilmiş olan hastaya 15q gen bölgesine ait Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu uygulandığında delesyon tespit edilmiştir (Resim 4.12 ve 4.13). Hasta 1,5 yaşında exitus olmuştur.



**4.12: Olgu IV'ün Metafaz Plağı Görüntüsü:** Normal 46,XY kromozom kurulumu.



**Resim 4.13: Olgu IV'ün FISH Analizi Görüntüsü:** 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülmektedir.

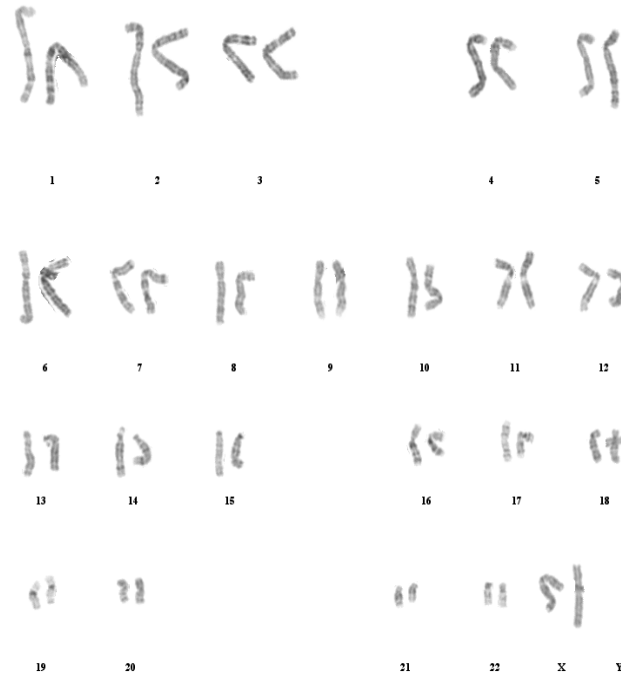
#### 4.2.5 Olgu V

Ailenin ilk çocuğu olup 2400 gr ağırlığında, 48 cm boyunda doğmuş kız bebektir. 45 günlükken yapılan muayenesinde hipotoni, yüksek damak, emememe, retrognati, simian çizgisi, badem göz bulguları mevcuttu (Resim 4.14).

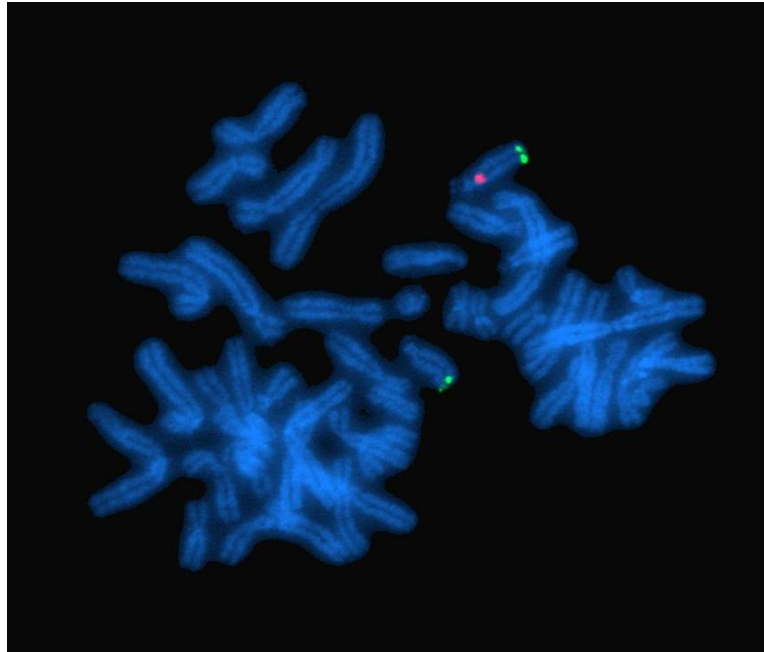


**Resim 4.14: Olgu V'in karakteristik yüz bulguları, hipotonisitesi gösterilmektedir.**

Kromozom analizi sonucunda 46,XX tespit edilmiş hastaya 15 q gen bölgesine ait Prader-Willi/Angelman Bölgesi probu uygulandığında delesyon tespit edilmiştir (Resim 4.15 ve 4.16). 2 yaş 8 aylıkken yürümeye yeni başlamış olup iki kelimelik cümleler kurabilen hastanın ailesi tarafından sinirli olduğu söylenmiştir.



**Resim 4.15: Olgu V'in Metafaz Plağı Görüntüsü:** Normal 46,XX kromozom kurulumu.



**Resim 4.16: Olgu V'in FISH Analizi Görüntüsü:** 2 yeşil 1 kırmızı sinyal görülmektedir.



## TARTIŞMA

Prader Willi sendromunda klinik bulgular yaşla ilişkili olarak çok değişkendir; ciddi hipotoni ve emme zayıflığı yenidoğan döneminin en tipik bulgusu iken, infantil dönemde dolikosefali, dar alın, yuvarlak yüz, badem gözler ve ince dudaklardan oluşan karakteristik yüz şekli, küçük el ve ayaklar ve motor gelişme geriliği ortaya çıkar. Önemli tanı kriterlerinden olan aşırı yemek yeme, obesite ve mental gerilik ise geç çocukluk döneminde ortaya çıkan bulgulardır. Klinik bulgular tipik olmadığı için özellikle yenidoğan ve infantil dönemde tanısı oldukça zordur. Dikkatli fizik muayene yapılmazsa ve akla getirilmezse kolaylıkla atlanabilir.

Trifirio ve ark. (8) yenidoğan döneminde ciddi hipotonisi olan ve PWS tanısı konulmuş 21 çocuğu klinik olarak sendromun erken tanı bulgularını belirlemek amacıyla ayrıntılı olarak incelenmişlerdir. Dikkatli fizik muayene ile kraniofasiyal 3 adet minor anomaliyi 12 yenidoğanda, 2 minor anomaliyi 6 yenidoğanda, 1 minor anomaliyi ise 3 yenidoğanda tanımlanmışlardır. Kriptoorşidizm unilateral olarak 6, bilateral 7 hastada, mikropenis 1 hastada, labium minor hipoplazisi 7 kızdan ikisinde rapor edilmiştir. Hipotoni hastaların %100'nde, emme zorluğu ve beslenme bozukluğu %95'nde kriptoorşidizm erkeklerin %93'nde, azalmış fetal hareket %81'nde, dolikosefali ve dar bifrontal çap %62'sinde, badem gözler, ince dudaklar ve aşağı dönük dudak köşeleri %48'nde saptanmıştır. Klinik tanı yaşı ortalama 7,4 ay, genetik olarak tanının doğrulandığı ortalama yaş ise 11 ay olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak dismorfolojik değerlendirme ile yenidoğan döneminde tanının çok zor olduğunu bu nedenle ciddi hipotoni varlığında erken tanı için PWS genetik testinin yapılması gerektiğini önermişlerdir.

Prader Willi sendromu, yenidoğan döneminde görülen hipotoninin en sık nedenleri arasında yer almaktadır (6). Gerek hastalığın sık görülmesi gerekse yenidoğan döneminde hipotoniye neden olan hastalıklarının çeşitliliği ve klinik bulgularının spesifik olmaması nedeniyle, yenidoğan bebekler ve infantlarda (0-2 yaş grubu) PWS sıklığını araştırmak için planlanan bu çalışmada, değerlendirdiğimiz hasta grubunda hipotoninin varlığı temel kriter olarak kabul edildi.

Prader Willi sendromlu olguların %70'inde paternal kalıtılan 15'nci kromozomun q11-13 bölgesinde 3-4 Mb'lık bir mikrolelesyon vardır ve FISH analizi ile hastaların %70'ine kesin tanı konulabilmektedir. FISH analizinden önce hastaya kromozom analizi uygulanır ve ilgili gen bölgesiyle alakalı parental geçişli kromozomal bir anomalinin olup olmadığı incelenir. FISH analizi ile delesyon negative bulunmuş bir hastada PWS'nin klinik bulguları güçlüyse hasta moleküler analizle değerlendirilir. Klinik olarak PWS tanısı düşünülen vakalarda metilasyon analizi ile mikrolelesyon, UPD ve imprinting mutasyonları saptanarak hastaların %99'una kesin tanı konulması sağlanır (93). Metilasyon testi hastaların %99'una tanı koyar ancak hastalığın delesyon mu veya maternal UPD nedeniyle mi ortaya çıktığını göstermez.

Çalışma grubumuzu oluşturan hipotonik 47 yenidoğan ve süt çocuğuna PWS tanısı için FISH yöntemi uygulandı ve **delesyon sıklığı (5/47) %10.6 olarak saptandı.**

Holm ve ark. (1) tarafından 1993 yılında PWS'nun majör tanı kriterleri olarak; infantil santral hipotoni, karakteristik yüz bulguları (dolikosefali, dar alın, badem göz, aşağıya doğru dönmüş dudaklar, küçük ağız), emme ve beslenme güçlüğü, gelişme geriliği, hipogonadizm (erkeklerde skrotum hipoplazisi, inmemiş testis, küçük penis veya testis; kızlarda labia minör veya klitoris hipoplazisi), hiperfaji ve 1-6 yaş arasında hızlı kilo alımı, minör tanı kriterleri olarak; intrauterin dönemde azalmış fetal hareketler ve letarji, esotropia, miyop, küçük el ve ayak, boy kısalığı, hipopigmentasyon, uyku bozukluğu veya apne, artikülasyon kusuru ve davranış problemleri belirlenmiştir.

PWS tanısı için majör kriterler 1 puan, minör kriterler 0,5 puan olarak puanlandırılmış ve yenidoğan dönemi ile 3 yaş arasında dördü major kriterlerden olmak üzere 5 puan ve üzeri; 3 yaş ile adölesan dönemi arasında ise beşi major kriterlerden olmak üzere 8 puan üzerindeki skorlar tanı koydurucu olarak kabul edilmiştir.

Destekleyen kriterler ise; yüksek ağırlık eşiği, nöromusküler çalışmaların normal olması, osteoporoz, erken adrenarş, skolyoz/kifoz gibi ortopedik anormallikler ve termoregülasyon kusurları olarak eklenmiştir (7). Augton ve Cassidy (23) neonatal PWS'da bu bulgulara ek olarak orantısız baş büyüklüğü, ılımlı mikrognati ve gingiva anormalliklerinin de eşlik edebileceğini bildirmiştir. Whitman ve Accardo (24) tarafından belirli davranışsal özelliklere sahip olan adölesan dönemi üçüncü dönem olarak tanımlanmıştır.

Holm'un tanı kriterlerine baktığımızda hastaların PWS tanısı alabilmesi için 3 yaşın altında dördü majör olmak üzere 5 puan alabilmesi gerekmektedir. Oysa yenidoğan ve infantil dönemde bu kriterlerden sadece hipotoni, hastaların %100'nde, beslenme bozukluğu ise %95'nde bulunmaktadır. Karakteristik yüz bulguları, hipogonadizm ve gelişme geriliği hastaların yarısında bulunmakta, hiperfaji ve aşırı kilo alımı ise daha sonraki yıllarda belirginleşmektedir (1). Bu durumda yenidoğan ve infantil dönemde PWS tanı kriterlerine göre hastalarımızı değerlendirdiğimizde önemli bir grubunu atlayabiliriz.

Günay-Aygün (94) tarafından PWS tanısı almış 5 ay ile 60 yaş arasındaki 90 hasta retrospektif olarak değerlendirilmiştir. Hastaların 68'nde delesyon, 21 maternal UPD, birinde imprinting defekti saptanmışlardı. Bu hastalar klinik olarak değerlendirildiğinde major bulgu olarak hipotoni ve gelişim geriliği hastaların %98'nde, karakteristik yüz bulguları ise hastaların %49'nda mevcuttu. İnfant dönemde beslenme problemleri, 1 yaşından sonra obesite, hipogonadizm ve hiperfaji hastaların %93'nden mevcuttu. Bu sonuçlarla PWS de tanı kriterlerinin değiştirilmesini; özellikle hipogonadizm ve yüz bulgularının değerlendirilmesinin uzman muayenesi gerektirdiğini bu nedenle hipotoni ve emme bozukluğu olan yenidoğan bebeklerin hepsinde genetik testin yapılmasını önermişlerdir.

PWS tanısı konmuş hastalarımızda tanı konduğu tarihteki bulgularını incelediğimizde; 3 günlük olan kız bebekte henüz dismorfik bulgular belirmemişti, hipotoni ve emme problemi vardı, 45 günlük olan diğer kız bebekte hipotoni ve emme probleminin yanı sıra badem şeklinde gözler mevcuttu. Diğer 3 hasta 2.5 ay, 6 ay ve 8 aylık erkek bebeklerdi. Hipotoninin yanı sıra inmemiş testisleri (unilateral 1/3;bilateral 2/3) mevcuttu, birinde mikropenis vardı.İki hastada badem gözler, bir hastada küçük ağız varken diğer iki hastada dismorfik yüz bulgusu yoktu. İki hastada motor gerilik, bir hastada el ve ayak küçüklüğü ve intrauterin hareket azlığı vardı. Hastalarımıza tanı konulduğunda henüz hiperfaji ve obesite mevcut değildi ancak takip süresi içinde hepsinde bu bulgular ve yanı sıra karateristik yüz bulguları ortaya çıktı.

Bugüne dek yayınlanmış olan hipotonik bebeklerde PWS sıklığını araştıran kapsamlı bir çalışma yoktur. Gillesen Kausbek 1995 yılında sebebi bilinmeyen hipotonisi olan PWS'den şüphelenilen 65 infanta metilasyon testi uygulamış, 29'nda (%45) metilasyon azlığı tespit ederek PWS tanısı koymuşlardır (95). Tanı yüzdesinin

bu kadar yüksek olmasının nedenini hasta grubunun klinik olarak PWS kriterlerine uyanlardan seçilmesine bağlamışlardır.

Trifirio ve ark. (8) yaptıkları çalışmada hipotoni oranı 21/21 (%100)'dir. Fridman ve ark. (44) çalışmasında ise yenidoğan dönemi ve erken çocukluk sırasında hipotoni oranı %94'dür. Hipotoninin progresif olmayıp ortalama 8-11 ay arasında gerilemeye başladığı tespit edilmiştir.

Son yıllarda yenidoğan ve infant döneminde hipotonisi olan bebeklerde daha sık oranda PWS akla gelmekte ve tanı konmaktadır. Ülkemizde yapılan 2 çalışmadan ilkinde Tansuğ ve ark. (7) emme zorluğu ve hipotonisi olan bir yenidoğandan FISH analizi ile delesyon saptayarak PWS tanısı koymuş, Karaer ve ark. (92) ise 9 aylık hafif dismorfik yüzü, beslenme problemi, kriptoorşidizm ve hipotonisi olan bebekte kromozom analizinin normal bulunmasından sonra FISH ile PWS bölgesinde delesyon saptamışlardır.

Türkiye'de mikrodelesyon sendromlarının sıklığını FISH yöntemiyle araştırmak için yapılan bir Yüksek Lisans tez çalışmasında yaşları belirtilmeyen PWS ön tanılı 11 hastanın 7 tanesinde (% 64) neonatal hipotonisite bulunmakta olup bu hastalarda 15q gen bölgesinde mikrodelesyon saptanmamıştır (63).

Fridman ve ark. (44) Brezilya'da yaptıkları çalışmada ise 3 yaşın altında klinik olarak PWS düşündükleri 6 hipotonik bebeğin 4'nde delesyon, 2'sinde ise maternal UPD tespit edilmiştir.

Neonatal hipotonisi ve beslenme problemi geçmişi olan ve klinik olarak PWS tanısı almış 40 tane yetişkin hasta ile yapılan bir çalışmada hastaların 30 (%75)'una genetik test yapılmış olup; FISH analiziyle 23 (%57) hastada, moleküler analizlerle 3 (%8) hastada 15q11.13 gen bölgesinde delesyon tespit edilmiştir . 4 (%10) hastada maternal UPD saptanmıştır (96).

Yenidoğan ve infantil dönemde hipotoniye nedenleri arasında yer alan tablolar, genetik sendromlar, kas hastalıkları, kranial malformasyonlar, metabolik hastalıklar özellikle peroksizomal ve mitokondriyal hastalıklardır. Bu grup hastalıklar arasında ayırıcı tanısı yapabilmek için EMG, Kranial MR ve kas biopsisi gibi invazif testler uygulanır. Yenidoğan ve çocuk uzmanı dismorfik yüz bulguları gördüğünde kromozom

analizi ister ancak PWS’da kromozom analizi normal bulunur, genetik tanısı ancak hastalık düşünöldüğünde yapılan FISH veya metilasyon analizi ile yapılabilir.

Sonuç olarak, yenidoğan ve infantil döneminde ciddi hipotoni varlığında PWS akla getirilmesi ve tanımlanması, sebebi bilinmeyen hipotoninin nedenini oluşturan pek çok hastalığın tanısı için yapılacak gereksiz invazif testlerin yükünden hastayı kurtarmış olacaktır. Erken tanı, ayrıca, hastalığa özgü ortaya çıkabilecek problemlerden korunma ve erken tedavisi açısından da bir o kadar önemlidir. Bu çalışma ile PWS'nun yenidoğanda hipotonisite tablosunun etyolojisinin ne kadarından sorumlu olduğunu göstermek ve bunun için moleküler genetik incelemenin yapılması gerektiği vurgulanmak istenmiştir. Hastalığın erken dönemde tanısını koymak motor ve mental rehabilitasyona daha erken başlama imkanı sağlayacağından önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1- Holm VA, Cassidy SB, Butler MG. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria. *Pediatrics* 1993; **91**: 398-402.
- 2- Cassidy SB. Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 1997; **34**: 917-923.
- 3- Robinson WP. Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences. *Bioessays* 2000 ;**22 (5)**: 452-9.
- 4- Goldstone PA. Prader-Willi syndrome: advances in genetics, pathophysiology and treatment. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 2004; 15 (**1**): 12-20.
- 5- Hamzi K, Itto AB, Nassereddine S, Nadifi S. Prader-Willi syndrome: methylation study or fluorescence in situ hybridization first? *Indian J Hum Genet.* 2010; **16 (3)**: 172–174.
- 6- Richer LP, Shevell MI, Miller SP. Diagnostic profile of neonatal hypotonia: an 11-year study. *Pediatr Neurol* 2001; **25(1)**: 32-7.
- 7- Tansuğ N, Hakan N, Çiftdoğan DY, Şimşek A, Ersoy B, Bal F. Prader Willi syndrome as a cause of hypotonia in neonatal period. *Türkiye Klinikleri J Pediatr* 2006; **15**: 177-180.
- 8- Trifirò G, Livieri C, Bosio L et al. Neonatal hypotonia: don't forget the Prader-Willi syndrome. *Acta Paediatrica* 2003; **92**: 1085-9.
- 9- Zamani AG. Genetik tanı yöntemleri. İç Toraks Derneği 10.Yıllık Kongresi, Kurs kitabı, Antalya 2007: 143-61.
- 10- Harris SR. Conjenital hypotonia: clinical and developmental assessment. *Developmental Medicine and Child Neurology* 2008; **50**: 889-892.
- 11- Bodensteiner JB. The evaluation of the hypotonic infant. *Semin Pediatr Neurol* 2008; **15**: 10-20.
- 12- Johnston HM. The floppy weak infant revisited. *Brain Dev* 2003; **25 (3)**: 155-8.

- 13- Tansuğ N. Hipotonik infant. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Özel* 2004; **2**: 763-772.
- 14- Kumandaş S. Hipotonik infantta etyoloji ve klinik bulgular. *Güncel Pediatri* 2007; **5(1)**: 85-87.
- 15- Gowda V, Parr J, Jayawant S. Evaluation of the floppy infant. *Symposium: Neurology Paediatrics and Child Health* 2007; **18**: 17-21.
- 16- Prasad AN, Prasad C. The floppy infant: contribution of genetic and metabolic disorders. *Brain & Development* 2003; **27**: 457-476.
- 17- Topaloğlu H. Hipotonik Bebek. *Güncel Pediatri* 2007; **5 (1)**: 80-84.
- 18- Karaali Savrun F, Uzun N, Kızıltan M. Hipotonik bebeklerin elektrofizyolojik değerlendirilmesi. *Yeni Symposium* 2001; **39 (2)**: 70-73.
- 19- Talim B. Hipotonik Hastada Kas Biyopsisi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2009; **5 (2)**: 44-50.
- 20- Aydın K. Hipotonik yenidoğanın değerlendirilmesi. *Sendrom Dergisi: Yenidoğan Özel Sayısı* 2007; **19 (11)**: 139-142.
- 21- Jones HR. EMG evaluation of the floppy infant:differential diagnosis and technical aspects. *Muscle and Nerve* 1990; **13**: 338-347.
- 22- Mahgoub NA. Prader-Willi Syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci Spring* 2007; **19**: 2.
- 23- Aughton DJ, Cassidy SB. Physical features of Prader- Willi syndrome in neonates. *Am J Dis Child* 1990; **144**: 1251-4.
- 24- Whitman B, Accordo P. Emotional symptoms of Prader-Willi adolescents. *Am J Med Genet* 1987; **28**: 897-905.
- 25- Cassidy SB, Driscoll DJ. Prader Willi syndrome. *European Journal of Human Genetics* 2009; **17**: 3-13.

- 26- Crino A, Schiaffini R, Ciampalini P et al. Hypogonadism and pubertal development in Prader-Willi syndrome. *Eur J Pediatr* 2003; **162**: 327-333.
- 27- Swaab DF. Prader-Willi syndrome and the hypothalamus. *Acta Paediatr Suppl.* 1997; **423**: 50-4.
- 28- Butler MG, Theodoro MF, Bittel DC, Donnelly JE. Energy expenditure and physical activity in Prader Willi syndrome: comparison with obese subjects. *Am J Med Genet* 2007; **143**: 449-59.
- 29- Bilgin HM. Ghrelin: gündemdeki hormon. *Dicle Tıp Dergisi* 2006; **33(4)**: 268-272.
- 30- Darendeliler F. Büyüme hormonunun tedavisinde kanıta dayalı uygulamalar. *Çocuk Dergisi* 2009; **9 (4)**: 158-166.
- 31- Butler MG, Meaney FJ. Standards for selected anthropometric measurements in Prader Willi syndrome. *Pediatr* 1991; **88**: 853-860.
- 32- Butler MG. Hypopigmentation: a common feature of Prader-Labhart-Willi Syndrome. *Am J Hum Genet* 1989; **45**: 140-146.
- 33- West LA, Ballock RT. High incidence of hip dysplasia but not slipped capital femoral epiphysis in patients with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Orthop* 2004; **24**: 565-7.
- 34- Wattendorf DJ, Muenke M. Prader-Willi Syndrome. *Am Fam Physician* 2005; **72**: 827-30.
- 35- Malich S, Largo RH, Schinzel A, Molinari L, Eiholzer U: Phenotypic heterogeneity of growth and psychometric intelligence in Prader Willi syndrome: variable expression of a contiguous gene syndrome or parent-child resemblance? *Am J Med Genet* 2000; **91**: 298-304.
- 36- Clarke DJ, Boer H, Whittington J, Holland A, Butler J, Webb T. Prader Willi syndrome compulsive and ritualistic behaviours: the first population-based survey. *Br J Psychiatry* 2002; **180**: 358-362.



- 37- Nixon GM, Brouillette RT. Sleep and breathing in Prader Willi syndrome. *Pediatric Pulmonology* 2002; **34**: 209–217.
- 38- Yee BJ; Buchanan PR; Mahadev S; Banerjee D; Liu PY; Phillips C; Loughnan G; Steinbeck K; Grunstein RR. Assessment of sleep and breathing in adults with Prader-Willi syndrome: a case control series. *J Clin Sleep Med* 2007; **3 (7)**: 713-718.
- 39- Miller JL, Couch JA, Schmalfuss I, He G, Liu Y, Driscoll DJ. Intracranial abnormalities detected by three-dimensional magnetic resonance imaging in Prader Willi syndrome. *Am J Med Genet* 2007; **143 (5)**: 476-83.
- 40- Iughetti L, Bosio L, Corrias A, Gargantini L, Ragusa L, Livieri C, Predieri B, Bruzzi P, Caselli G, Grugni G. Pituitary height and neuroradiological alterations in patients with Prader Labhart Willi syndrome. *Eur J Pediatr* 2008; **167 (6)**: 701-2.
- 41- Einfeld SL, Kavanagh SJ, Smith A, Evans EJ, Tonge BJ, Taffe J. Mortality in Prader-Willi syndrome. *Am J Ment Retard* 2006; **111**: 193-8.
- 42- Butler JV, Whittington JE, Holland AJ, Boer H, Clarke D, Webb T. Prevalence of and risk factors for physical ill-health in people with Prader-Willi syndrome: a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 2002; **44**: 248-255.
- 43- Schrandt-Stumpel CT, Curfs LM, Sastrowijoto P, Cassidy SB, Schrandt JJ, Fryns JP. Prader Willi syndrome: causes of death in an international series of 27 cases. *Am J Med Genet* 2004; **124A (4)**: 333-8.
- 44- Fridman C, Kok F, Koiffmann CP. Hypotonic infants and the Prader Willi Syndrome. *J Pediatr* 2000; **76 (3)**: 246-50.
- 45- Nicholls RD, Knepper JL. Genome organization, function and imprinting in Prader Willi and Angelman syndromes. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2001; **2**: 153-75.
- 46- Kuslich CD, Kobori JA, Mohapatra G, Gregorio-King C, Donlon TA. Prader Willi syndrome is caused by disruption of the SNRPN gene. *Am J Hum Genet* 1999; **64**: 70-76.

- 47- Hawkley CJ, Smithies A. The Prader-Willi syndrome with a 15-15 translocation: case report and review of the literature. *Med Genet* 1976; **13**: 152-7.
- 48- Ledbetter DH, Mascarello JT, Riccardi VM, Harper VD, Airhart SD, Strobel RJ. Chromosome 15 abnormalities and the Prader Willi syndrome: a follow-up report of 40 cases. *Am J Hum Genet* 1982; **34**: 278-285.
- 49- Donaldson MDC, Chu CE, Cooke A, Wilson A, Greene SA, Stephenson JBP. The Prader Willi syndrome. *Archives of Disease in Childhood* 1994; **70**: 58-63.
- 50- Ozcelik T, Leff S, Robinson W et al. Small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N (SNRPN) an expressed gene in the Prader Willi syndrome critical region. *Nature Genetics* 1992; **2**: 265-9.
- 51- Cassidy SB, Gainey AJ, Butler MG. Occupational hydrocarbon exposure among fathers of Prader Willi syndrome patients with and without deletions of 15q. *Am J Hum Genet* 1989; **44**: 806-10.
- 52- Fernandez F, Berry C, Mutton D. Prader Willi syndrome in siblings due to unbalanced translocation between chromosomes 15 and 22. High Wycombe General Hospital and South East Thames Regional Genetics Centre, Guy's Hospital, London 1986; 841-843.
- 53- Jiang Y, Wauki K, Liu Q, Bressler J, Pan Y, Kashork CD, Shaffer LG, Beaudet AL. Genomic analysis of the chromosome 15q11-q13 Prader Willi syndrome region and characterization of transcripts for GOLGA8E and WHCD1L1 from the proximal breakpoint region. *BMC Genomics* 2008; 9:50.
- 54- Bittel DC, Kibiryeva N, Butler MG. Expression of 4 genes between chromosome 15 breakpoints 1 and 2 and behavioral outcomes in Prader Willi syndrome. *Pediatrics* 2006; **118**: E1276-83.
- 55- Butler MG, Fischer W, Kibiryeva N, Bittel DC. Array comparative genomic hybridization (aCGH) analysis in Prader–Willi syndrome. *Am J Med Genet* 2008; **146A**: 854-860.

56- [www.peds.ufl.edu/divisions/genetics/programs/angelman\\_syndrome/ube3a\\_gene.html](http://www.peds.ufl.edu/divisions/genetics/programs/angelman_syndrome/ube3a_gene.html)

57- Akın H, Özkınay F. Genomik imprinting; uniparental dizomi, mikrolelesyon sendromları. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2005; **1 (2)**: 61-67.

58- Engel E. A new genetic concept: uniparental disomy and its potential effect isodisomy. *Am J of Med Genet* 1980; **6**:137–143.

59- Liehr T. Cytogenetic contribution to uniparental disomy. *Liehr Molecular Cytogenetics* 2010; **3**: 8.

60- Nicholls RD, Knoll JH, Butler MG, Karam S, Lalande M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader Willi syndrome. *Nature* 1989; **16; 342 (6247)**: 281-5.

61- Cassidy SB, Lai L, Erickson RP, Magnuson L, Thomas E, Gendron R, Herrmann J. Trisomy 15 with Loss of the Paternal 15 as a cause of Prader Willi syndrome due to maternal disomy. *Am J Hum Genet* 1992; **51**: 701-708.

62- Robinson WP, Dutly F, Nicholls RD, Bernasconi F, Pefiaherrera M, Michaelis R C, Abeliovich D, Schinzel AA. The mechanisms involved in formation of deletions and duplications of 15q 11 -q 13. *J Med Genet* 1998; **35**: 130-136.

63- Örenay S. Prader Willi, Angelman ve Miller Dieker olgularında FİSH metodu ile mikrolelesyon araştırılması.Yüksek Lisans. 2002

64- Bora G, Yurter HE. Epigenetik hastalıklar ve tedavi yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2007; **38**: 48-54.

65- Tükün A. İmprinting merkezleri. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2001; **54 (3)**: 371-356.

66- Walter J, Paulsen M. Imprinting and disease. *Semin Cell Dev Biol* 2003; **14**: 101-10.

67- Sleutels F, Barlovv DP, Lyle R: The uniqueness of the imprinting mechanism. *Curr Opin Çenet Dev* 2000; **10**: 229-33.

- 68- Ben Porath I, Cedar H. Imprinting: focusing on the center. *Curr Opin Genet Dev* 2000; **10**: 550-554.
- 69- Robertson KD. DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet* 2005; **6** (8): 597-610
- 70- Çelik-Özenci Ç. DNA metilasyonu ve erkek infertilitesi. *Türk Androloji Bülteni* 2006; **25**: 121-124.
- 71- Kokkonen H. Genetic changes of chromosome region 15q11-q13 in Prader Willi and Angelman syndromes in finland. 2003
- 72- Pfeifer K. Mechanisms of genomic imprinting. *Am J Hum Genet* 2000; **67**: 777-87.
- 73- Jong MTC, Gray TA, Ji Y, Glenn CC, Saitoh S, Driscoll DJ, Nicholls RD. A novel imprinted gene encoding a RING zing-finger protein and overlapping antisense transcript in the Prader Willi syndrome critical region. *Hum Mol Genet* 1999; **8**: 783-793.
- 74- MacDonald H, Wevrick R. The necdin gene is deleted in Prader Willi syndrome and its imprinted in human and mouse. *Hum Mol Genet* 1997; **6**: 1873-1878.
- 75- Boccaccio I, Glatt-Deeley H, Watrin F, Roëckel N, Lalande M, Muscatelli F. The human MAGEL2 gene and its mouse homologue are paternally expressed and mapped to the Prader Willi region. *Hum Mol Genet* 1999; **8**: 2497-2505.
- 76- Schmauss C, Brines ML, Lerner MR. The gene encoding the small nuclear ribonucleoprotein-associated protein N is expressed at high levels in neurons. *J Biol Chem* 1992; **267** (12): 8521–8529.
- 77- Rodriguez-Jato S, Nicholls RD, Driscoll DJ, Yang TP. Characterization of cis- and trans-acting elements in the imprinted human SNURF-SNRPN locus. *Nucleic Acids Res* 2005; **33**: 4740-4753.
- 78- Runte M, Varon R, Horn D, Horsthemke B, Buiting K. Exclusion of the C/D box snoRNA gene cluster HBII-52 from a major role in Prader Willi syndrome. *Hum Genet* 2005; **116**: 228–30.

- 79- Sahoo T, del Gaudio D, German JR, Shinawi M, Peters SU, Person RE, Garnica A, Cheung SW, Beaudet AL. Prader Willi phenotype caused by paternal deficiency for the HBII-85 C/D box small nucleolar RNA cluster. *Nat Genet* 2008; **40**: 719–21.
- 80- Bazeley PS, Shepelev V, Talebizadeh Z, Butler MG, Fedorova L, Filatov V, Fedorov A. snoTARGET shows that human orphan snoRNA targets locate close to alternative splice junctions. *Gene* 2008; **408 (1-2)**: 172–9.
- 81-Peters J. Prader-Willi and snoRNAs. *Nature* 2008; **40 (6)**: 688-689.
- 82- Dykens EM. Are jigsaw puzzle skills spared in persons with Prader Willi syndrome? *J Child Psychol Psychiatry* 2002; **43**: 343–52.
- 83- Torrado M, Araoz V, Baialardo E, Abraldes K, Mazza C, Krochik G, Ozuna B, Leske V, Caino S, Fano V, Chertkoff L. Clinical etiologic correlation in children with Prader Willi syndrome: an interdisciplinary study. *Am J Med Genet* 2007; **143**: 460-8.
- 84- Hartley SL, Maclean WE, Butler MG, Zarcone J, Thompson T. Maladaptive behaviors and risk factors among the genetic subtypes of Prader Willi syndrome. *Am J Med Genet* 2005; **136**: 140–5.
- 85- Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *Genetics* 1969; 378-383.
- 86- Manning JE, Hershey ND, Broker TR, Pellegrini M, Mitchell HK, Davidson N. A new method of in situ hybridization. *Chromosoma (Berl.)* 1975; **53**: 107-117.
- 87- Tönnes H. Modern molecular cytogenetic techniques in genetic diagnostics. *TRENDS in Molecular Medicine* 2002; **8 (6)**: 246-250.
- 88- Wyandt HE, Tonk V S. Human Chromosome Variation: Heteromorphism and Polymorphism *Springer Science Business Media B.V.* 2011; 7-32.
- 89- Jin L, Lloyd RV. In Situ Hybridization: Methods and Applications. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 1997; **11**: 2–9.

- 90- Knight SJL , Flint J.Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. *J Med Genet* 2000; **37**: 401–409.
- 91- Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, Dani M, Deaven LL, Jones MD, Meyne J, Ratliff RL, Wu J-L. A highly conserved repetitive sequence (TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; **85**: 6622–6626.
- 92- Karaer K, Kozan S, Torun D, Kaya H, Rosti RÖ, Güran Ş, Bahçe M. Early diagnosis Prader Willi syndrome in a case with dysmorphic facial appearance, neonatal hypotonia and feeding difficulty. *Cumhuriyet Tıp Derg* 2011; **33**: 101-105.
- 93- Varela MC, Fridman C, Koiffmann CP. Diagnosis of patients with Prader Willi and Angelman Syndromes: the importance of an overall investigation. *Genetics and Molecular Biology* 2002; **25 (1)**: 7-12.
- 94- Gunay-Aygun M, Schwartz S, Heeger S, O'Riordan MA, Cassidy SB. The changing purpose of Prader-Willi syndrome clinical diagnostic criteria and proposed revised criteria. *Pediatrics* 2001; **108**: E92
- 95- Gillessen-Kaesbach G, Gross S, Kaya-Westerloh S, Passarge E, Horsthemke B. DNA methylation based testing of 450 patients suspected of having Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 1995; **32**: 88-92.
- 96- Webb T, Clarke D, Hardy CA, Kilpatrick MV, Corbett J, Dahlitz M A.clinical, cytogenetic, and molecular study of 40 adults with the Prader-Willi syndrome. *J Med Genet* 1995; **32**: 181-185.

## ETİK KURUL KARARI



**T.C.**  
**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ**  
**İstanbul Tıp Fakültesi Dekanlığı**



Sayı : B.30.2.İST.0.02.82.01-/ Yıl. 137  
Konu: Tez çalışması hk.

15.03.2011\*007559

**Prof. Dr. Beyhan TÜYSÜZ**  
**Cerrahpaşa Tıp Fakültesi**  
**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi**

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Yük. Lis. Öğr. Nuray KARTAL'ın yürüteceği 2011/178-447 dosya numaralı "Hipotonik Bebeklerde Floresans İnsitu Hibridizasyon Yöntemiyle Prader Willi Sendromunun Araştırılması" başlıklı tez çalışma ile ilgili, Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 10.02.2011 tarih ve 310 sayılı yazısı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. İlgün ÖZDEN  
Dekan Yardımcısı

EK: Tutanak

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|                 |                         |                  |             |
|-----------------|-------------------------|------------------|-------------|
| <b>Adı</b>      | Nuray                   | <b>Soyadı</b>    | Kartal      |
| <b>Doğ.Yeri</b> | Bakırköy/İstanbul       | <b>Doğ.Tar.</b>  | 18.03.1986  |
| <b>Uyruğu</b>   | T.C.                    | <b>TC Kim No</b> | 32335895952 |
| <b>Email</b>    | kartalnuray@hotmail.com | <b>Tel</b>       | 5383298197  |

### Eğitim Düzeyi

|                 | Mezun Olduğu Kurumun Adı     | Mez. Yılı |
|-----------------|------------------------------|-----------|
| <b>Doktora</b>  |                              |           |
| <b>Yük.Lis.</b> |                              |           |
| <b>Lisans</b>   | İ.Ü. Fen Fak.Biyoloji Bölümü | 2007      |
| <b>Lise</b>     | Plevne Lisesi                | 2003      |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|    | Görevi  | Kurum                                          | Süre (Yıl - Yıl) |
|----|---------|------------------------------------------------|------------------|
| 1. | Stayjer | İ.Ü. İst. Tıp Fak. Histoloji ve Embroloji ABD. | 08.2006-09.2006  |
| 2. | Stayjer | GOP Kızılay Ali Külünk Tıp Merkezi             | 06.2006-07.2006  |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* | KPDS/ÜDS Puanı | (Diğer) Puanı |
|-----------------|-------------------|----------|--------|----------------|---------------|
| İngilizce       | Orta              | Orta     | Orta   |                |               |
|                 |                   |          |        |                |               |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

|                      | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|----------------------|---------|--------------|-------|
| <b>LES Puanı</b>     |         |              |       |
| <b>(Diğer) Puanı</b> |         |              |       |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program          | Kullanma becerisi |
|------------------|-------------------|
| Microsoft Office | İyi               |



**Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri**

Yale University School of Medicine Departments of Neurosurgery and Neurobiology  
Anlyan C enter for Human Genetics and Genomics ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk  
Sağlığı ve Hastalıkları ABD Çocuk Genetik BD ile "Nedeni Bilinmeyen Zeka Geriliği  
ve Yapısal Beyin Anomalisi Olan Hastalarda Yeni Genlerin Araştırılması" projesinde  
yardımcı araştırmacı

1. Nörometabolik Dismorfoloji Sempozyumu katılımcı



