

T. C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

**SPONDİLOEPİ (META) FİZYEL DİSPLAZİ ÖN TANILI
HASTALARDAKİ GENETİK DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ
DR. HAMİDE BETÜL GERİK ÇELEBİ

DANIŞMAN
PROF. DR. F. SIRRI ÇAM

MANİSA-2018

T. C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

**SPONDİLOEPİ (META) FİZYEL DİSPLAZİ ÖN TANILI
HASTALARDAKİ GENETİK DEĞİŞİMİN ARAŞTIRILMASI**



UZMANLIK TEZİ
DR. HAMİDE BETÜL GERİK ÇELEBİ

DANIŞMAN
PROF. DR.F. SIRRI ÇAM

MANİSA-2018

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim boyunca tüm hayatımı yönlendirecek değerli bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, her konuda benden yardım ve desteklerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan onur duyduğum tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanı'mız Sayın Prof. Dr. F. Sırrı Çam' a,

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan değerli mesai arkadaşlarıma,

Deneylerimin yapılmasında ve değerlendirilmesinde yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Serdar Ceylaner, Doç. Dr. Gülay Ceylaner ve İntergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi ailesinin değerli çalışanlarına,

Tez konumu oluşturan, güleryüzleri ve içtenlikleri ile tüm sorularımı sabırla cevaplayan hastalarım Sayın Çelen ailesine,

Eğitim ve öğretim hayatım boyunca desteklerini hiç esirgemeyen, değerli anneannem ve dedeme,

Tıp eğitimimiz ile başlayan birlikteliğimizi hayatı paylaşarak devam ettirdiğim değerli eşim Dr. İbrahim Çelebi' ye,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, hayattaki en büyük servetim, canımdan çok sevdiğim çok değerli annem, babam ve kardeşlerim Bilal ve Büşra' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İskelet Sistemi Embriyolojisi	4
2.1.1. Kıkırdak ve Kemik.....	10
2.1.1.1. Kıkırdağa Genel Bakış ve Kondrogenez	10
2.1.1.2. Kemiğe Genel Bakış ve Osteogenez.....	11
2.1.1.3. Kemik Oluşumu- Ossifikasyon	12
2.1.1.3.1. İntramembranöz Kemikleşme	12
2.1.1.3.2. Enkondral Kemikleşme:	13
2.1.1.4. Embriyolojik Gelişim Patolojileri.....	17
2.2. İskelet Displazileri	18
2.2.1. İskelet Displazili Hastaya Yaklaşım	45
2.2.1.1. İskelet Sistemi Terminolojisi	45
2.2.1.2. İskelet Sistemi Dismorfolojisi	46
2.2.1.3. Aile Öyküsü ve Klinik Yaklaşım	48
2.2.1.4. İleri Moleküler Analiz Yöntemleri	50
2.2.1.4.1. Genetik Terminoloji.....	50
3. GEREÇ ve YÖNTEM	52
3.1. Çalışma Grubunun Seçimi.....	52
3.2. Yöntem	52
3.2.1. Yeni Nesil Dizileme.....	52

3.2.1.1. DNA İzolasyonu Yapılması.....	52
3.2.1.2. Ekzom Zenginleştirme ve Sekanslama	52
3.2.1.3. NGS Ham Verinin İşlenmesi.....	53
3.2.2. Sanger Yöntemi ile WISP3 geni Dizi Analizi	54
3.2.2.1. DNA İzolasyonu Yapılması.....	54
3.2.2.2. PCR.....	55
3.2.2.3. Sanger Dizileme	56
4.BULGULAR.....	58
4.1. Hastaların Klinik Bulguları.....	58
4.2. Tüm Ekzom Dizileme Bulguları.....	66
5. TARTIŞMA.....	90
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	100
7. ÖZET	102
8. ABSTRACT.....	104
9. KAYNAKLAR	106

KISALTMALAR

OMIM	Çevrimiçi İnsanlardaki Mendelyen Kalıtım
FGF-8	Fibroblast Büyüme Faktörü-8
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β
BMP	Kemik Morfogenik Protein
WNT	Wingless-Tip
SHH	Sonic Hedgehog
PAX	Paired Box
MYF5	Myogenik Faktör 5
MYOD	Myojenik Farklılaşma
HOXA	Homeobox A
PTH	Parathormon
VEGF	Damar Endoteli Büyüme Faktörü
MRI	Magnetik Rezonans Görüntüleme
BT	Bilgisayarlı Görüntüleme
DNA	Deoksiribonükleik Asit
GATK	Genom Analiz Toolkit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
IN-DEL	İnsersiyon-Delesyon
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
OD	Otozomal Dominat
OR	Otozomal Resesif
WES	Tüm Genom Dizileme

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1	Prenetal gelişim dönemleri	4
Şekil 2	Embriyonik gelişimin 2. Haftasının sonunda embriyonik diskin görünümü	5
Şekil 3	Üçüncü haftadaki embriyonik diskin kranial yarısının transvers görünümü	6
Şekil 4	Somit gelişiminin evreleri	8
Şekil 5	Somit diferansiyasyonunu gösteren genlerin ekspresyonu	9
Şekil 6	İnsan embriyolarındaki ekstremite tomurcuklarının gelişimi	10
Şekil 7	Gelişmekte olan uzun kemiğin şematik diyagramı	16
Şekil 8	Kemik etkilenme bölgeleri	45
Şekil 9	Ekstremitelerde kısalığın spesifik alanlarda gösterimi	47
Şekil 10	Üst ve alt ekstremite konjenital eksiklikleri	47
Şekil 11	Boy kısalığına yaklaşım	49
Şekil 12	GATK Best Practices Önerilen Çalışma Akışı	53
Şekil 13	Aile ağacı	64
Şekil14	Ekzom analizinden elde edilen ham verinin excel formatında dökümantasyonundan bir örnek	66
Şekil 15	119 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri	68
Şekil 16	120 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri	69
Şekil 17	121 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri	69
Şekil 18	122 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri	69

Şekil 19	119 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği	72
Şekil 20	119 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği	73
Şekil 21	120 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği	74
Şekil 22	120 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği	75
Şekil 23	121 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği	76
Şekil 24	121 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği	77
Şekil 25	122 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği	78
Şekil 26	122 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği	79
Şekil 27	123 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü	80
Şekil 28	123 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü	81
Şekil 29	Aile ağacına göre III 4. No'lu bireye ait NM_198239.1: c.210C>A değişimi Sanger Dizileme görüntüsü	82

Şekil 30	Aile ağacına göre III 4. No'lu bireye ait NM_198239.1: c.302G>A değişimi Sanger Dizileme görüntüsü	83
Şekil 31	Aile ağacına göre IV.15 No'lu bireye ait NM_198239.1: c.210C>A değişimi Sanger Dizileme görüntüsü	84
Şekil 32	Aile ağacına göre IV.15. No'lu bireye ait NM_198239: c.302G>A; NP_937882.1:p.G101E heterozigot değişimi Sanger Dizileme	85
Şekil 33	Aile ağacına göre IV.18. No'lu bireye ait Sanger Dizileme görüntüsü	86
Şekil 34	Aile ağacına göre IV.18. No'lu bireye ait Sanger Dizileme görüntüsü	87
Şekil 35	Aile ağacına göre V.17. No'lu bireye ait Sanger Dizileme görüntüsü	88
Şekil 36	Aile ağacına göre V.17. No'lu bireye ait Sanger Dizileme görüntüsü	89
Şekil 37	Bu çalışmada saptanan patolojik mutasyonların SMART diyagramı kullanılarak WISP3 geninin insülin benzeri büyüme faktör-bağlayan domaininde şematizasyonu	92
Şekil 38	WISP3 proteini ile fonksiyonel etkileşimde olduğu tahmin edilen diğer proteinler	93
Şekil 39	Normal protein yapısı ve NP_937882: p.Cys70Ter mutasyonundan sonraki protein konfigürasyonu	94
Şekil 40	Normal protein yapısı ve NP_937882: p.Gly101Glu mutasyonundan sonraki protein konfigürasyonu	95

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1	İki aylık bir infantın metatarsal kemiğinin distal ucundan geçen longitudinal kesit	15
Resim 2	119 no'lu (IV.22) hastanın el bulgusu	60
Resim 3	120 no'lu (IV.21) hastanın el bulgusu	60
Resim 4	122 no'lu (IV.19) hastanın el bulgusu	61
Resim 5	123 no'lu (IV.13) hastanın el bulgusu	61
Resim 6	119 no'lu hastanın grafi bulguları	62
Resim 7	120 no'lu hastanın grafi bulguları	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.	Nozoloji 2015'e göre iskelet displazileri ve etyolojilerinde rol oynayan genler	19
Tablo 2	PCR için kullanılan forward ve reverse primerler	55
Tablo 3	PCR bileşenleri	55
Tablo 4	PCR termal döngü protokolü	56
Tablo 5	PCR ürününün bant uzunluğu	56
Tablo 6	PCR ürünlerinin Sanger Sekanslama protokolü	57
Tablo 7	PCR ürünleri termal döngü protokolü	57
Tablo 8	Hastaların klinik bulguları	58
Tablo 9	Progresif Psödotromatoid Displazinin Ayırıcı Tanısında Düşülmesi Gereken Hastalılar	65
Tablo 10	Sırasıyla filtreleme sonucu gözlenen değişimlerin sayısı	67
Tablo 11	WISP3 genindeki aday değişimlerin VarSome veritabanı değerlendirmeleri	71
Tablo 12	WISP3 geninde bildirilen patolojik mutasyonlar	97

1.GİRİŞ ve AMAÇ

İskelet displazileri moleküler ve klinik heterojenite gösteren kompleks bir hastalık grubudur. 2015 nosolojiye göre 42 gruba ayrılmıştır. İlk 8 grup hastalığın moleküler patolojisine göre, diğer 34 grup ise klinik ve radyolojik bulgularına göre sınıflandırılmıştır (1). İskelet displazilerinde etkilenen bölgeyi ortak bir dille tariflemek için çeşitli ön ekler kullanılmaktadır. Acro- eller ve ayaklar, meso- ekstremitelerin orta kısmı olan radius/ulna ve tibia/fibula, rhizo- ekstremitelerin proksimal kısmı olan humerus ve femur, spondylo- omurga, epi- epifiz, meta- metafiz için kullanılır. Spondiloepi(meta)fizyel displazi omurga ve epifizin etkilendiği, metafiz etkileniminin eşlik edebileceği iskelet displazileri subgrubunu tanımlamak için kullanılır (2).

Spondiloepi(meta)fizyel displazi subgrubu eşlik eden klinik ve radyolojik bulgulara göre kendi içinde de alt sınıflara ayrılır. Bu alt sınıflardan biri olan Spondiloefizyel Displazi Tarda (OMIM*300202) orantısız boy kısalığı, kısa gövde, yaklaşık 6 yaşından sonra büyümenin gecikmesi, ilerleyici eklem ve sırt ağrılarıyla karakterizedir. Multipl epifizyal anomaliler, platispondili, skolyoz, coxa vara, hipoplastik odontoid proses de eşlik eden radyolojik bulguları arasındadır. X'e bağlı kalıtım paternine sahiptir. Bu sendromdan Xp22.2 kromozomal bölgesinde lokalize SEDL genindeki değişimler sorumlu tutulmaktadır (3, 4, 5, 6). Spondiloefizyel Displazi Tarda ve Psödoartropati diğer bir deyişle Çocukluk Çağının Progresif Psöдорomatoid Artropatisi (OMIM*208230) ilerleyici eklem ağrısı ve eklemlerde şişme, genişleme ile karakterize otozomal resesif kalıtmımlı bir spondiloepifizyel displazidir (7,8). Hastalık yaklaşık olarak 3-8 yaş arasında elin küçük eklemlerinin artrit benzeri tutulumuyla başlar ergenlik döneminde omur ve kalça eklemlerinin de

etkilenimiyle kifoskolyoz ve yürüyüş bozukluğuyla seyreder (9). 6q21 bölgesinde lokalize WNT1 indüklenabilir sinyal yolu proteini 3 (WISP3) (OMIM*603400) genindeki patolojik mutasyonlar bu hastalığa neden olur. Bu gen bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ailesine ait, iskelet büyümesi ve kıkırdak gelişimi için önemli bir faktör olan WISP proteinini kodlar (10).

Dggyve Melchior Clausen Sendromu da spondiloepi(meta)fizyel displazinin alt sınıflarındandır (1). Orantısız boy kısalığı ve zihinsel yetersizlik ile karakterizedir. Otozomal resesif ve X'e bağlı olmak üzere iki kalıtım paternine sahip olduğu düşünülmektedir (11, 12). Otozomal resesif kalıtım paternine sahip yaklaşık 100 olgu ve X'e bağlı resesif kalıtım paternine sahip yaklaşık 10 vaka bildirilmiştir (11,13). Otozomal resesif formdan farklı olarak X'e bağlı kalıtım gösteren olgularda zihinsel yetmezlik görülmemektedir (14). Otozomal resesif Dggyve Melchior Clausen Sendromu (OMIM*223800)'ndan 18q21.1 kromozomal bölgede lokalize 17 ekzona sahip dymeclin geni sorumlu tutulmaktadır (OMIM*607461). Bu gen dymeclin adı verilen golgi aygıtında bulunan proteinin sentezlenmesinde görev alır (Dimitrov et at. 2009). X'e bağlı kalıtım gösteren Dggyve Melchior Clausen Sendromu (OMIM*304950)'na sebep olabilecek bir gen ise henüz bilinmemektedir. 1980 yılında Yunis ve arkadaşlarının bildikleri on vaka ile bu hastalık ilk kez tanımlanmıştır. Ancak 1981 yılında Sprenger, Yunis ve arkadaşlarının 1980 yılında bildirdikleri X'e bağlı Dggyve Melchior Clausen Sendromu olgularının aslında X bağlı spondiloepi(meta)fizyel displazi tarda olduğunu iddia etmişlerdir (15). Bu konu hala netlik kazanmamıştır

Bizim spondiloepi(meta)fizyel displazili hasta grubumuz ise bu alt sınıflarla her ne kadar benzer bulgulara sahip olsa da farklı klinik bulgular da içermektedir. Omurga ve epizyel etkilenim, ortalama 5 yaşlarında el eklemlerinin tutulumuyla başlama, adolesan dönemde progresyon sonrasında yavaşlamaya ek olarak miyopi ve astigmat gibi göz bulguları eşlik etmektedir. Ailede sadece erkeklerde hastalık görülmektedir. Bu durum bize öncelikli olarak X'e bağlı kalıtım paternine benzer kalıtım sergileyen Spondiloepi(meta)fizyel displazi ön tanısını düşündürse de sadece erkek

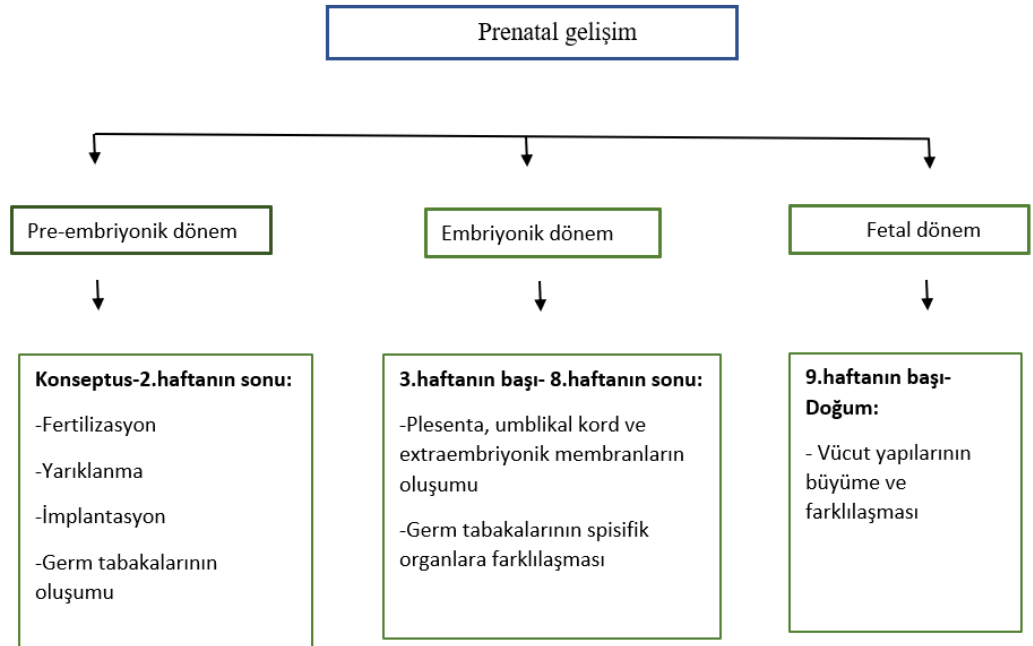
bireylerin etkilendiği otozomal resesif bir kalıtımın da olma ihtimali dışlanamamaktadır.

Tezin amacı iskelet displazileri gibi birçok alt tipe sahip genetik olarak heterojen grup oluşturan hastalıklarda kesin tanının konulması ve sonraki kuşaklarda mevcut hastalığın ortaya çıkmasının engellenmesidir. Bu ailenin klinik bulgularının çok sayıda konsültasyonlar neticesinde X'e bağlı kalıtım gösteren bir Dygve Melchior Clausen sendromu görünümünde olması, bu hastalıkta sıkça gözlenen mental retardasyonun aksine, bu aile bireylerinin mental ve sosyokültürel olarak yüksek konumda olması, bu klinik tablonun yeni bir hastalık türü olması kuşkusunu oluşturmuştur. Bu nedenle ailedeki durum, bilinen bir hastalık ise tanının ortaya konulması, tanı konulamazsa ekzom verisinden bağlantı analizi ve mutasyon analizi tekniklerini birleştirerek yeni bir hastalık ya da hastalık gen ilişkisinin tanımlanması amacıyla bu çalışma başlatılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İskelet Sistemi Embriyolojisi

Embriyoloji uterus içindeki büyüme ve gelişmeyi inceleyen bilim dalıdır. Fertilizasyon olarak adlandırılan spermin dişi üreme kanallarında ovumun içine penetre olması ile 3.hafta arasındaki süreç preembriyonik dönem, 3. hafta ile 8. hafta arası organogenezis ya da embriyonik dönem olarak adlandırılırken, 9.hafta ile doğum arasında geçen süreç ise fetal dönem olarak adlandırılır (16) (Şekil 1).

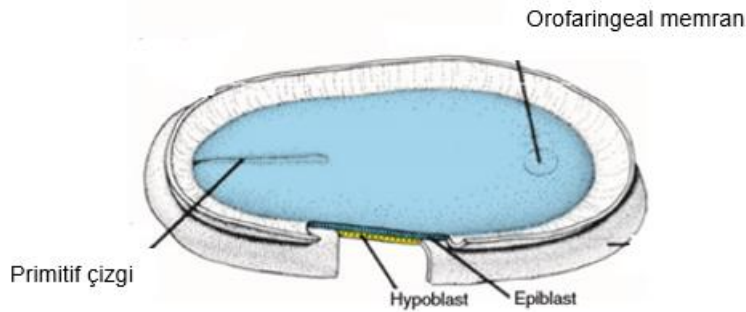


Şekil 1: Prenatal gelişim dönemleri (17).

Doğumdan 25 yaşına kadar geçen postnatal dönem ise başlıca 5 kısma ayrılır:

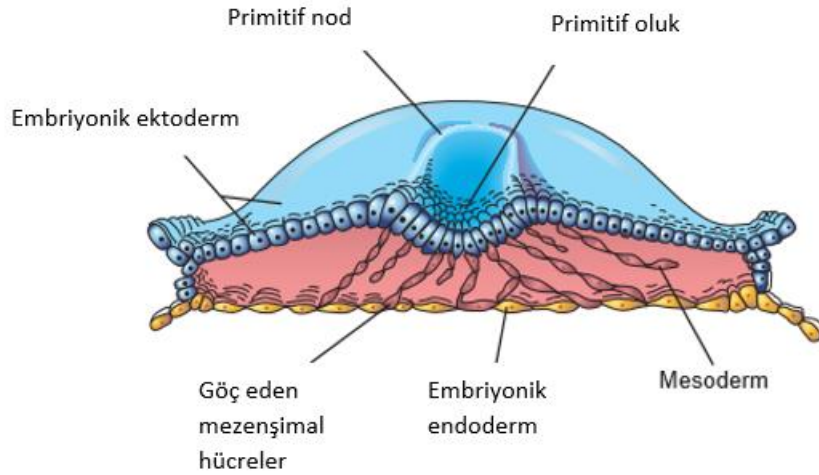
1. İnfant: Doğum-1 yaş
2. Çocukluk: 2 yaş- 12 yaş
3. Puberte: 13 yaş- 16 yaş
4. Adolesan: 17 yaş- 18 yaş
5. Erişkin: 19 yaş- 25yaş (8)

İskelet sistemi gelişimi pre-embriyonik dönemin son haftası diğer bir deyişle gebeliğin 3.haftası olan gastrulasyon adı verilen üç germ yaprağının oluşumunu içeren süreçle başlar. Gastrulasyon epiblastların yüzeyinde primitif çizginin oluşmasıyla başlayan bilaminer embriyonik diskin trilaminer embriyonik diske dönüşme sürecidir (Şekil 2). Bu dönemde genler, sinyal molekülleri, reseptörler ve diğer moleküler faktörler önemli rol oynar (18).



Şekil 2: Embriyonik gelişimin 2. Haftasının sonunda embriyonik diskin görünümü (19)

Gastrulasyon bilaminer embriyonik diskin orta hattında kaudalden dorsale doğru uzanan primitif çizginin oluşmasıyla başlar. Epiblastik hücrelerin farklılaşmasıyla primitif çizgi primitif yarık haline gelir ve kranial kısmı primitif nod ya da Henson nodu olarak adlandırılır. Fibroblast büyüme faktörü-8 (FGF-8) kontrolünde epiblast hücreleri primitif yarık boyunca göç etmeye başlar. Primitif yarık boyunca göç eden hücreler üçüncü germ yaprağı olan mesodermi oluşturur. Bu oluşum ekspresyonu FGF-8 tarafından düzenlenen Brachyury (T) molekülünün kontrolü altında gerçekleşir. Göç eden epiblast hücrelerinin bazıları hipoblast tabakasındaki hücreler arasına yerleşir. Vitellus kesesinin tavanında hipoblast ve göç eden epiblast hücreleri embriyonik endodermi oluşturur. Ektoderm ise epiblast tabakasında kalan hücreler tarafından oluşturulur. Böylece ektoderm, mezoderm, endoderm adı verilen üç germ yaprağı meydana gelir (Şekil 3).

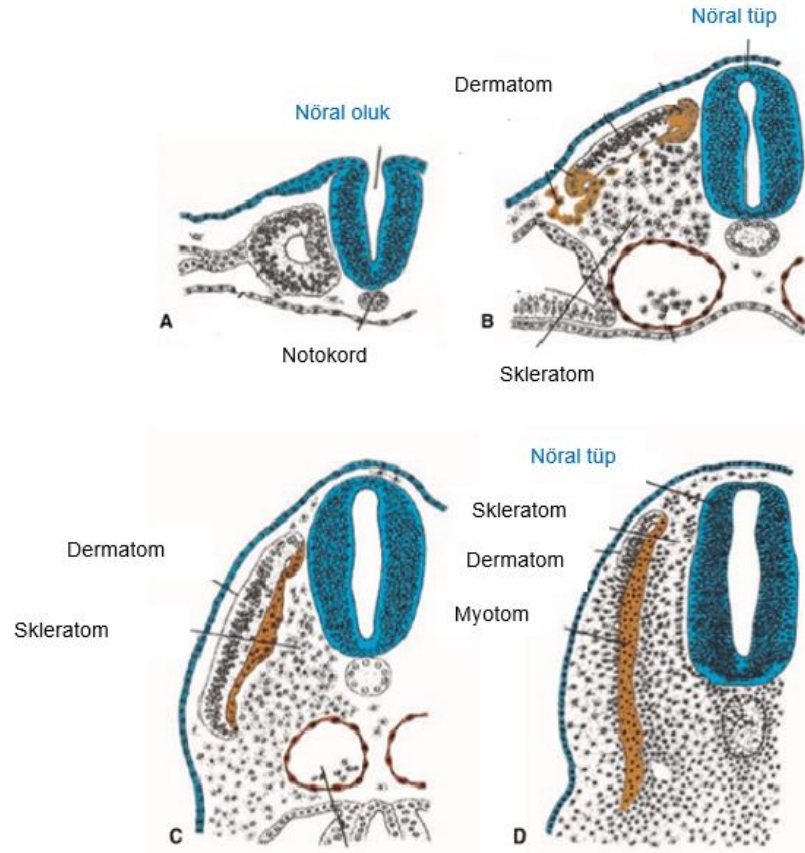


Şekil 3: Üçüncü haftadaki embriyonik diskin kranial yarısının transvers görünümü (20).

Primitif yarık boyunca prekordal plağa kadar göç eden mezodermal hücreler orta hatta notokordu oluşturur. Embriyonun aksiyel iskeletini oluşturan notokord, vertebra gövdelerini oluşturduktan sonra intervertebral aralıkta nucleus pulposus olarak varlığını sürdürür.

Embriyonik ektodermin, altında bulunan notokord tarafından indüklenmesiyle santral sinir sisteminin öncüsü olan nöral plağın oluşumu başlatılır. Nöral plağın oluşumuna katılan ektodermal hücreler nöroektoderm olarak adlandırılır. Yaklaşık 18. günde aksiyel eksen boyunca nöral plaktan invajine olan hücreler nöral oluğu oluşturur. Nöral kıvrımların da yaklaşık 22. gün de orta hatta birleşmesiyle nöral tüp oluşur. Nöral tüpün kranial açıklığı olan anterior nöropor 25. günde, kaudal açıklığı olan posterior nöropor 27.günde kapanır. Nöral plak oluşumu ile başlayıp nöroporların kapanmasına kadar geçen bu periyot nörolasyon olarak adlandırılır. Bu aşamada TGF- β , kemik morfogenetik proteinleri (BMP), FGF, WNT gibi çeşitli sinyal molekülleri rol alır. Artık santral sinir sistemi spinal kord ve beyin keseciklerinden oluşur.

İntraembriyonik mezoderm nöral tüpün her iki tarafında medialden laterale doğru paraksiyel mezoderm, intermediate (ara) mezoderm ve ekstraembriyonik mezoderm ile devam eden lateral mezoderm olmak üzere başlıca üç kısma ayrılır. Paraksiyel mezoderm ilk çifti 20. günde servikal bölgede görülen, kranio-kaudal yönde oluşan somit adı verilen mezenkimal kübik hücre topluluklarını oluşturur. 5.haftanın sonuna kadar embriyonun yaşının belirlenmesinde de kullanılan 42-44 somit çifti oluşur. Kaybolan ilk oksipital ve son 5-7 koksigeal somit hariç diğer somitler embriyonun aksiyel iskeletini, kendine ait segmentin skleretomu ile kemik ve kıkırdak yapılarını, dermatomyotomu ile ilişkili kas dokusunu ve komşuluğundaki derinin dermis tabakasını oluşturur (Şekil 4).



Şekil 4: Somit gelişiminin evreleri (21)

A. Küçük bir boşluğun etrafında dizilen epitelizasyon sürecinden geçen mezoderm hücreleri

B. Somitin epitelyal düzenini kaybetmiş ventral ve medial duvarlarındaki hücrelerin skleratom ve dermatomu oluşturmak üzere nöral tüp ve notokordun etrafına göç edeşi

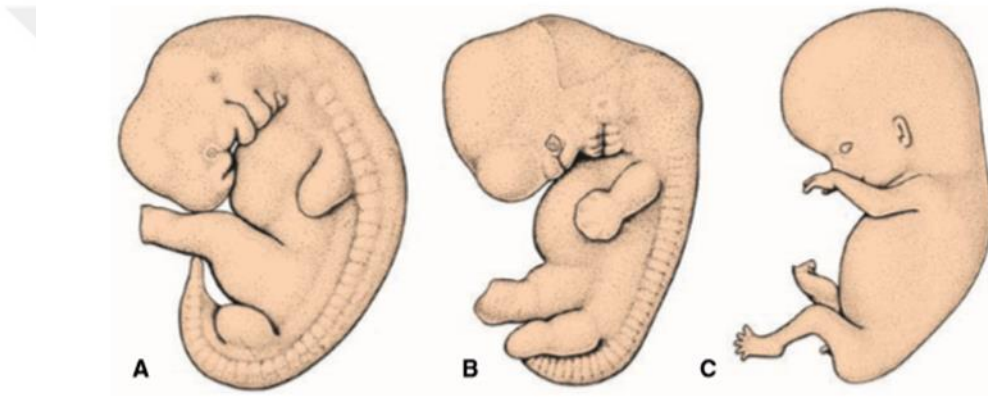
C. Dermatoma altına geçen kas hücreleri, dermatomyotom oluşumu

D. Sırtın dermisini oluşturmak için ektoderm altına göç eden mezenşimal hücre özelliğine dönüşen dermatom hücreleri

Böylece iskelet sistemi gelişiminde paraksiyel mezoderm, lateral plak mezoderminin pariyetal tabakası ve nöral krest hücreleri rol alır. Embriyonik gelişimin 26-27. günlerinde vücudun venterolateralinde üst extremité tomurcuğu, dördüncü haftanın sonuna doğru da alt extremité tomurcuğu küçük birer tümsek şeklinde belirir. Yaklaşık 6 haftalık embriyoda, ekstremité tomurcuklarının distal kısımları palet şeklinde yassılaşıarak el ve ayak plaklarını meydana getirir, proksimal kısımları da iki farklı dairesel boğumla ayrılarak ekstremitelerin başlıca segmentlerini oluşturur. Mezenşim dokusunun yoğunlaşarak distale doğru büyümesi ve apoptoz sayesinde 7. haftada parmaklar ayırt edilir durumdadır. Aynı zamanda ekstremité tomurcuklarını oluşturan ve değişik hücre tiplerine dönüşebilme yeteneğine

sahip olan mezenşim dokusu da yoğunlaşarak kondroblast, osteoblast ve fibroblast hücrelerine farklılaşır. Ekstremitelerin gelişimi başlıca HOX genlerinin ekspresyonu olmak üzere SHH, FGFs, WNT7a, HOXA, HOXD, BMP ve retinoik asit gibi molekülerin denetimi altında gerçekleşir (22)

Sırasıyla 7. hafta ve 8. haftalarda ise üst ve alt ekstremitelerin ossifikasyon süreci başlamıştır. İskelet sisteminin başlıca komponenti olan kemik oluşumu, intramembranöz kemikleşme ve bir kıkırdak modelin kemik oluşumuna öncülük ettiği encondral kemikleşme ile gerçekleşmektedir.



Şekil 6: İnsan embriyolarındaki ekstremiter tomurcuklarının gelişimi. A. 5. Haftada. B. 6. haftada. C. 8 haftada (23).

2.1.1. Kıkırdak ve Kemik

2.1.1.1. Kıkırdağa Genel Bakış ve Kondrogenez

Kıkırdak, kondrositlerden ve başlıca glikozaminoglikanlar, tip 2 kollojen lif içeriği yüksek ekstrasellüler matriksden oluşan avasküler bir dokudur. Ekstrasellüler matriks içeriklerine göre üç sınıfa ayrılır:

1. Hyalin kıkırdak: Homojen ve intersellüler su oranı yüksek camı görünümde bir matriksten oluşur. Agrekan – hyalüronan kümeleri ile yüksek miktarda intersellüler su içeriği arasındaki sıkı bağlantılar nedeni ile basınca karşı dayanıklıdır. Enkondral kemikleşme sürecinde model oluşturur.
2. Elastik kıkırdak: Direnç ve esneyebilme özelliği veren elastinden zengin matriksten oluşur. Hyalin kıkırdağın aksine yaşlanmayla birlikte matriks kalsifiye olmaz.
3. Fibröz kıkırdak: Fibroblastlar tarafından üretilen versikandan zengin matriksten oluşur. Diğer kıkırdak tiplerinden farklı olarak tip II kollajene tip I kollojen lifleri eşlik eder.

Mezenkimal hücrelerin kıkırdak dokusunun gelişeceği merkezlerde yoğunlaşarak kümelenmeleri kondrogenez sürecini başlatır. Yoğunlaşan mezenkimal hücreler SOX-9 gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin ve çeşitli moleküllerin etkisiyle kondroblastlara farklılaşmaktadır. Kondroblastlar salgıladıkları ekstrasellüler matriks ile çevrelendiklerinde ise kondrosit adını alır. Kondrositler laküna adı verilen kendilerini çevreleyen boşlukların içinde bulunur (24,25,26).

2.1.1.2. Kemiğe Genel Bakış ve Osteogenez

Kemik, hücrelerden ve mineralize ekstrasellüler matriksten oluşan bir bağ dokudur. Kemik matriksi başlıca tip I kollajen ve tip V kollajen olmak üzere kollajen moleküllerinden oluşur. Glikozaminoglikanlar, osteonektin, osteopontin gibi glikoproteinler, osteokalsin, büyüme faktörleri ve sitokinler de kemik ekstrasellüler matriksinin komponentlerindendir.

Kemik dokusu beş farklı hücre tipinden oluşur:

1. Osteoprogenitör hücre: Mezenşimal kök hücrelerden oluşur. Başlıca merkezi bağlayıcı faktör alfa-1 (CBFA1) adlı transkripsiyon faktörünün etkisiyle osteoblastlara dönüşür.
2. Osteoblast: Mineralize olmamış kemik ekstrasellüler matriksi olan osteoidi sentezler.
3. Osteosit: Osteoblastlar üretilip salgıladıkları ekstrasellüler matriks ile tamamen çevrelendiklerinde osteosit adını alırlar. Osteositler de kondrositler gibi laküna adı verilen boşlukların içinde bulunur.
4. Periosteal ve endosteal hücreler: Osteoblastlardan oluşan remodeling evresinde olmayan kemiğin dış yüzeyini döşeyen hücreler periosteal hücreler, iç yüzeyini döşeyen hücreler ise endosteal hücreler olarak adlandırılmaktadır. Endosteal hücreler uzun kemiklerde bulunan kemik iliği kavitesini, matür kemik dokusunun vasküler ve sinir desteğini içeren osteon kanallarını da döşer.
5. Osteoklast: Kemik dokusunun fagositik fonksiyonundan sorumlu, howship lakünasında bulunan özelleşmiş makrofaj hücreleridir. PTH, kalsitonin, katepsin K gibi moleküller osteoklastların rezorptif fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alır (27, 28, 29, 30, 31, 32).

2.1.1.3. Kemik Oluşumu- Ossifikasyon

Kıkırdak ve mezenşimden kemik oluşum süreci ossifikasyon olarak adlandırılır. Enkondral ve intramembranöz ossifikasyon olarak sınıflandırılır:

2.1.1.3.1. İntramembranöz Kemikleşme

Kemik mezenşimal hücreleri kondensasyonu ve yüksek vaskülarizasyonu ile osteoblastlara farklılaşır. Osteoid adı verilen mineralize olmamış kemik matriksini sentezler ve osteosit haline dönüşür. Osteoid kalsiyum tuzları ile

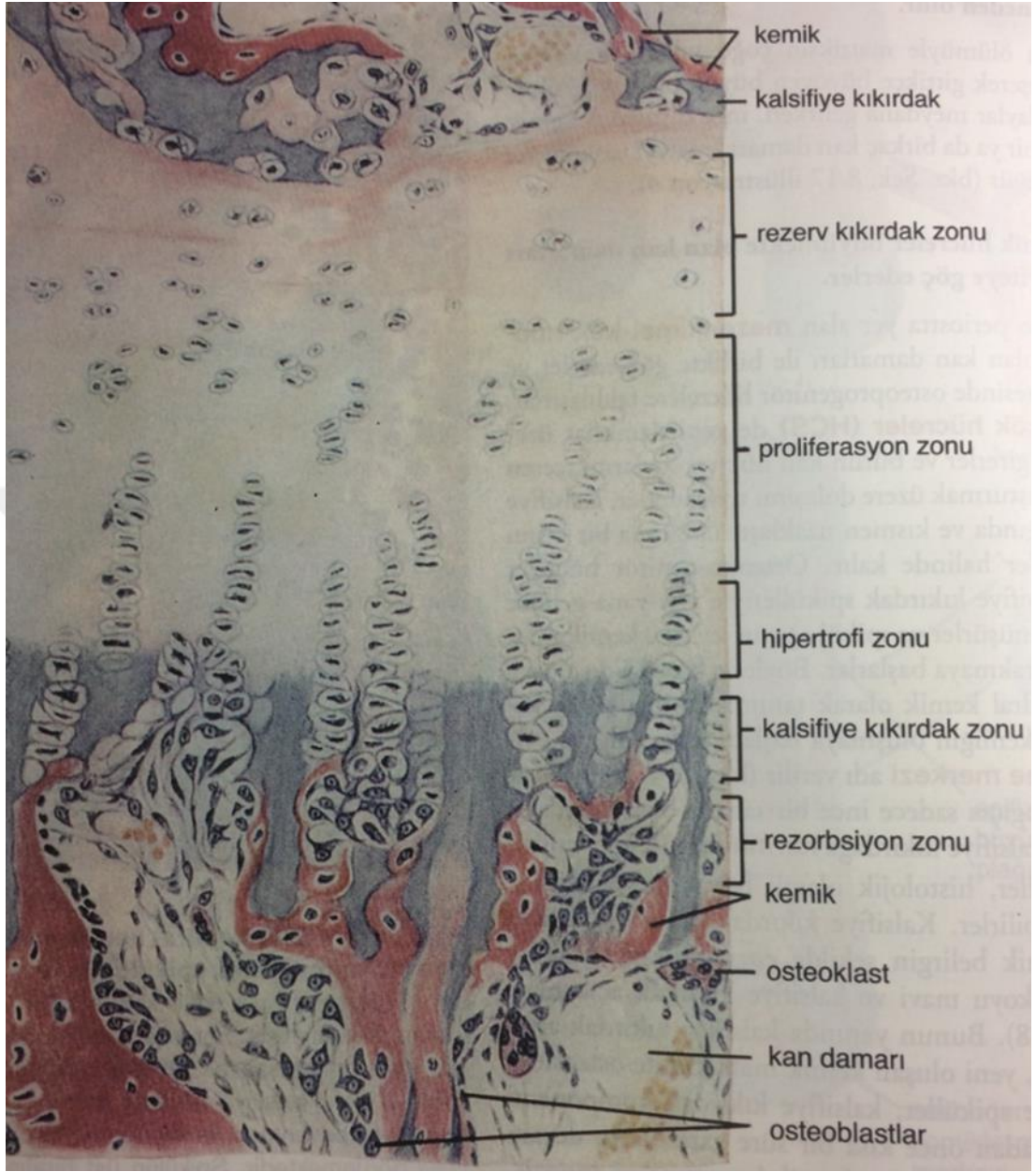
mineralize olmaya başlar. Yeni oluşan bu kemik organize olmayan küçük, şekilsiz trabeküller ve spiküller şeklinde bir yapıya sahiptir. Osteoklastların da fonksiyonu ile süngerimsi kemik halini alır. Bu yapıya intramembranöz kemik denir. Bu kemikleşme modeli kranial kemikler gibi yassı kemiklerde görülür.

2.1.1.3.2. Enkondral Kemikleşme:

Kemik oluşacak bölgede yoğunlaşan ve yüksek vaskülarizasyona sahip mezenşimal hücreler tip II kollojen üretir ve kondroblastlara farklılaşarak öncü bir hyalin kıkırdak model oluşturur. Kıkırdak modelin orta bölgesinde diğer bir değişle uzun kemiklerin diyafizinde kemikleşmenin ilk işareti olan ossifikasyon merkezi belirir. Buradaki perikondrium hücreleri kondrositlere proliferasyon yeteneğini kaybeder, kondrosit yerine osteoblastlar üretilir ve perikondrium periost adını alır. Kıkırdak modelin çevresinde kemik tabaka oluşumu ile merkezindeki kondrositler hipertrofik hale gelir. Kıkırdak hücrelerinden salgılanan alkalen fosfataz etkisiyle kıkırdak matriksi kalsifiye olur. Kalsifiye matriks besin maddelerinin kondrositlere difüzyonunu engeller ve hücrelerde apoptoz olur. Apoptoz sonucu komşu lakünaların birleşerek oluşturdukları büyük boşluğu kanlandırmak için birkaç kan damarı periostal kısımdan bu bölgeye doğru büyür. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) kontrolünde avasküler kıkırdak dokusunun yerini vaskülarize kemik dokusu almaya başlar. Vasküler bağ dokusu ile birlikte hematopoetik kök hücreler, mezenşimal kök hücrelerde bu boşluğa istila eder. Mezenşimal kök hücreler osteoprogenitör hücrelere farklılaşır, bu hücrelerde kalsifiye kıkırdak matriksi ile karşılaştığında osteoid sentezleyen osteoblastlara farklılaşır. Kemik matriksinin üretilerek kemikleşmenin gerçekleştiği bu yere primer kemikleşme merkezi adı verilir. Kıkırdak matriks kalsifikasyonu ile kemik matriks mineralizasyonun farklı iki olay olduğu akılda tutulmalıdır. Bu aşamalar sonucu oluşan kemik enkondral kemik olarak adlandırılır.

Enkondral ossifikasyon diyafiz bölgesinden başlayarak uçlara doğru ilerler. İkinci trimesterden doğuma kadar geçen sürede diafizin enkondral ossifikasyonunu tamamlanır ancak enkondral kemik büyümesi adolesan döneme kadar sürer. Doğumda uzun kemiklerin her iki ucunda bulunan epifiz olarak adlandırılan bölge hala kıkırdak yapısındadır ve uzun kemiklerin boyca uzamasında anahtar bir role sahiptir. Bebek doğduktan kısa süre sonra epifiz plağında sekonder kemikleşme merkezleri ortaya çıkar. Enkondral kemik büyümesi sırasında epifiz bölgesindeki değişimler şekilde 5 farklı zon olarak resmedilmiştir (Resim 1). Bu zonlar diyafizden epifize doğru sırasıyla:

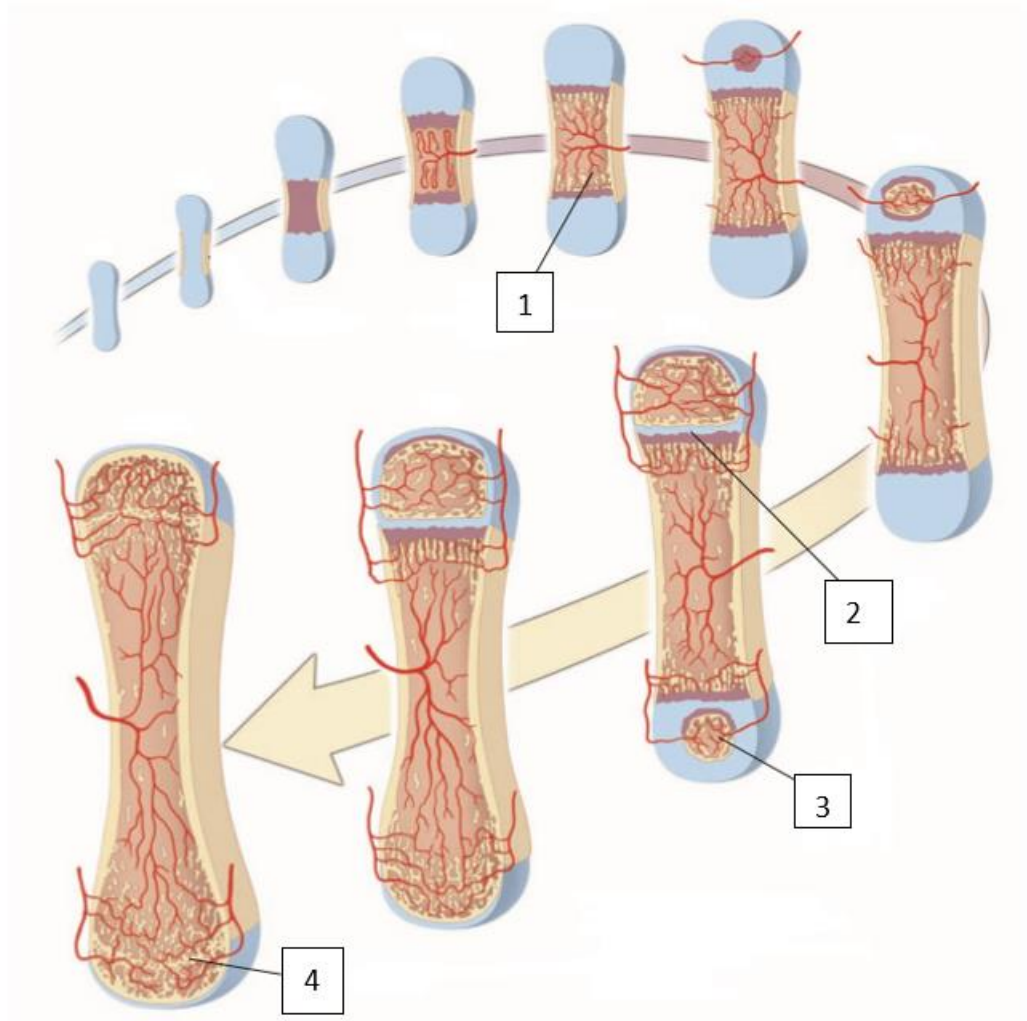
1. Rezorbsiyon zonu
2. Kalsifiye kıkırdak zonu
3. Hipertrofi zonu
4. Proliferasyon zonu
5. Rezerv kıkırdak zonu



Resim1: 2 aylık bir infantın metatarsal kemiğinin distal ucundan geçen longitudinal kesit (33).

Kemiklerin büyüme sürecinin devam ettiğinin göstergesi olan epifiz plakları kemik nihai uzunluğuna eriştiğinde diyafiz ile kaynaşır ve epifiz kapanması gerçekleşir. Epifiz kırıkdağının kemik gövdesiyle birleştiği bu nokta epifiz hattı olarak adlandırılır (Şekil 7). Birçok kemikte bu birleşme adolosan dönemin sonuna yakın ya da erişkin dönemde görülür (33, 34).

Enkondral kemikleşme ekstremite kemiklerinde, kafatasının taban kemiklerinde, kaburga, sternum ve vertebralarda görülür.



Şekil 7: Gelişmekte olan uzun kemiğin şematik diyagramı 1.Primer kemikleşme merkezi 2.Epizyal büyüme plağı 3. Sekonder kemikleşme merkezi 4.Epifiz hattı (33)

2.1.1.4. Embriyolojik Gelişim Patolojileri

Konjenital anomaliler doğumda varolan ya da herhangi bir maruziyet sonrasında ortaya çıkan patolojileri tanımlamak için kullanılır. Gelişimsel anomaliler başlıca dört başlık altında incelenir:

Malformasyon:

Belli bir etyoloji olmaksızın, erken embriyonik süreçte önemli gelişimsel genlerin disregülasyonu ve inaktivasyonu ile belirli bir dokunun ya da organ sisteminin gelişimindeki yetersizlik ya da bozukluk sonucu ortaya çıkan anomalileri tanımlamak için malformasyon terimi kullanılmaktadır. Malformasyonların çevresel ve poligenik etkileşimler sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Deformasyon:

Malformasyonların aksine deformasyonlar sıklıkla gebeliğin geç dönemlerinde ortaya çıkan, normal gelişen dokulardaki mekanik bir maruziyet sonucu ortaya çıkan anomalileri tanımlamak için kullanılır. Gebeliğin geç dönemlerinde meydana gelmelerine rağmen fetal gelişimde ciddi etkilenimler görülebilir ancak mekanik stres maruziyeti ortadan kaldırıldığında ise geri dönüşümlü olabilir.

Disrupsiyon:

Mekanik bir güç dışında vasküler, teratojenik ve infeksiyon gibi olayların, aralarında embriyonik benzerlik ve ilişki gözetmeksizin normal gelişen dokuları yıkıma uğratmasına disrupsiyon denir. Malformasyondan farklı olarak disrupsiyon ve deformasyon normal gelişen bir dokunun ektrinsik bir uyarı sonucu gelişiminin bozulması ya da tamamen durmasıdır.

Displazi:

Genetik değişimler sonucu spesifik bir dokunun büyüme ve gelişmesinin etkilenmesi displazi olarak tanımlanır. Displazi diğer gelişimsel patolojilerin aksine genetik değişimin doğumdan sonra da aktif olması nedeniyle hayat boyu dismorfik değişikliklere sebep olmaya devam eder. (35,36)

2.2. İskelet Displazileri

İskelet displazileri yaklaşık olarak 1/5000 canlı doğumda görülen, iskelet sistemini oluşturan tüm elemanların büyüme, gelişme ve onarımındaki anomalileridir (37). Klinik bulgular ve genetik açıdan heterojen olan iskelet displazileri osteodisplazi, kondrodizplazi ve dizostoz olarak 3 ana grup altında incelenebilir (38). Osteodisplazi osteoporoz, osteoskleroz ve osteopeni gibi kemik dansite ve mineralizasyon bozukluğuyla karakterize primer kemik anomalilerini tanımlamak için kullanılır. Kondrodizplazi primer olarak kıkırdak dokusunun anomalilerini tanımlar. Dizostoz ise belli bir kemik ya da kemik gruplarını etkileyen malformasyonlar olarak tanımlanır (38, 39, 40). İskelet displazilerini anlamak için bu şekilde sınıflama yapılmış olsa da bir gendeki değişim kıkırdak, kemik ve iskelet sisteminin diğer yapısal komponentlerini aynı anda etkileyebilir.

İskelet displazileri "Nosology and Classification of Genetic Skeletal Disorders: 2015 Revision" göre klinik, radyolojik ve moleküler değişimleri göz önünde bulundurularak 42 grup altında toplanmış 436 farklı hastalıktan oluşmaktadır. 364 hastalığın ise klinik ve radyolojik fenotipini destekleyen genotipi tanımlanmıştır. İlk 8 grubun sınıflaması kliniğe sebep olan moleküler değişime göre yapılmış, diğer gruplar ise klinik ve radyolojik bulgulara göre oluşturulmuştur (Tablo1).

Tablo1: 2015 Nozolojiye göre iskelet displazileri ve etyolojilerinde rol oynayan genler (1)			
Hastalık/Grup adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/ Lokus
1. FGFR3 ilişkili kondrodisplazi			
Tanatorik displazi tip 1 (TD1)	OD	187600	FGFR3
Tanatorik displazi tip 2 (TD2)	OD	187601	FGFR3
Akantozis nigrikans ve gelişme geriliğini eşlik ettiği şiddetli akondroplazi (SADDAN)	OD	187600	FGFR3
Akondroplazi	OD	100800	FGFR3
Hipokondroplazi	OD	146000	FGFR3
Kamptodaktili, uzun boy ve işitme kaybı sendromu (CATSHL)	OD	610474	FGFR3
Hipokondroplazi-benzeri displazi(ler)	OD, SP		
2.Tip 2 kollojen grup			
Akondrojenesis tip 2 (ACG2; Langer-Saldino)	OD	200610	COL2A1
Platispondilik displazi, Torrance tip	OD	151210	COL2A1
Hipokondrojenesis	OD	200610	COL2A1
Konjenital spondiloeipfizyal displazi (SEDC)	OD	183900	COL2A1
Spondiloeipmetafizyal displazi (SEMD) Strudwick tip	OD	184250	COL2A1
Kniest displazi	OD	156550	COL2A1
Spondiloperiferel displazi	OD	271700	COL2A1
İlimli SED prematür başlangıçlı artrosis ile	OD		COL2A1
SED metatarsal kısalık ile (eski Czech displazi)	OD	609162	COL2A1
Stickler Sendromu tip 1	OD	108300	COL2A1

Hastalık/ Grup adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/ Lokus
3. Tip11 kollojen grup			
Stickler sendromu tip 2	OD	604841	COL11A1
Marshall sendromu	OD	154780	COL11A1
Stickler sendromu tip 3 (oküler olmayan)	OD	184840	COL11A2
Fibrokondrojenesis	OR	228520	COL11A1
	OR, OD	614524	COL11A2
Oto-spondilo-mega-epifizyel displazi (OSMED), resesif tip	OR	215150	COL11A2
Oto-spondilo-mega-epifizyel displazi (OSMED), dominant tip (Weissenbacher-Zweymüller sendromu, Stickler sendromu tip 3)	OD	277610	COL11A2
4. Sülfatasyon bozuklukları grup			
Akondrojenesis tip 1B (ACG1B)	OR	600972	DTDST
Atelosteogenezis tip 2 (AO2)	OR	256050	DTDST
Diastrofik displazi (DTD)	OR	222600	DTDST
MED, otozomal resesif tip (RMED; EDM4)	OR	226900	DTDST
SEMD, PAPSS2 tip	OR	612847	PAPSS2
Brakiolmi, resesif tip	OR	612847	PAPSS2
Kondrodisplazi gPAPP tip (Catel-Manzke benzeri sendrom dahil)	OR	614078	IMPAD1
Kondrodisplazi konjenital eklem dislokasyonu ile, CHST3 tip (resesif Larsen sendromu)	OR	608637	CHST3
Ehlers-Danlos sendromu, CHST14 tip (kas- iskelet varyantı)	OR	601776	CHST14

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/ Lokus
5. Perlekan grup			
Dissegmental displazi, Silverman-Handmaker tip	OR	224410	PLC (HSPG2)
Dissegmental displazi, Rolland-Desbuquois tip	OR	224400	PLC (HSPG2)
Schwartz- Jampel sendromu (miyotonik kondrodistrofi)	OR	255800	PLC (HSPG2)
6. Agrekan grup			
SED, Kimberley tip	OD	608361	AGC1
SEMD, Agrekan tip	OR	612813	AGC1
Ailesel osteokondritis dissekans	OD	165800	AGC1
7. Filamin grup ve ilişkili hastalıklar			
Frontometafizyel displazi	XLD	305620	FLNA
Osteodisplazi Melnick- Needles	XLD	309350	FLNA
Osteodisplazi Melnick- Needles	XLD	309350	FLNA
Osteodisplazi Melnick- Needles	XLD	309350	FLNA
Terminal osseöz displazi ve pigmenter defekt (TODPD)	XLD	300244	FLNA
Atelosteogenezis tip 1 (AO1)	OD	108720	FLNB
Atelosteogenezis tip 3 (AO3)	OD	108721	FLNB
Larsen sendromu (dominant)	OD	150250	FLNB
Spondilo-karpal-tarsal displazi	OR	272460	FLNB
Frank-ter Haar sendromu	OR	249420	SH3PXD2B
8. TRPV4 grup			
Metatropik displazi	OD	256530	TRPV4
Spondiloepimetafizyel displazi, Kozlowski tip	OD	184252	TRPV4
Brakiolmi, otozomal dominant tip	OD	113500	TRPV4
Ailesel dijital artropati ve brakidaktili	OD	606835	TRPV4

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/ Lokus
9. Siliopatiler ve majör iskelet bulguları			
Kondroektodermal displazi (Ellis-van Creveld)	OR	225500	EVC1 EVC2
Kısa kosta polidaktili sendromu(SRPS) tip 1/3 (Saldino-Noonan/Verma Naumoff)	OR	208500 613091	DYNC2H1 IFT80 WDR34
Asfiktik torasik displazi (ATD, Jeune)	OR	263510	DYNC2H1 IFT80 WDR34 TTC21B WDR19 IFT172 IFT140
SRPS tip 2 (Majewski)	OR	263520	DYNC2H1 NEK1
SRPS tip 4 (Beemer)	OR	269860	
SRPS tip 5	OR	614091	WDR35
Oral-fasiyal-dijital sendrom tip 4 (Mohr-Majewski)	OR	258860	TCTN3
Kraniyoektodermal displazi (Levin Sensenbrenner) tip1,2	OR	218330 613610 614099	IFT122 WDR35 WDR19 IFT43
Torakolaringopelvik displazi (Barnes)	OD	187760	
10. Multipl epifizyal displazi ve psödoakondroplazi grup			
Psödoakondroplazi (PSACH)	OD	177170	COMP
Multipl epifizyel displazi (MED) tip 1(EDM1)	OD	132400	COMP
Multipl epifizyel displazi (MED) tip 2 (EDM2)	OD	600204	COL9A2

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/ Lokus
Multipl epifizyel displazi (MED) tip 3 (EDM3)	OD	600969	COL9A3
Multipl epifizyel displazi (MED) tip 5 (EDM5)	OD	607078	MATN3
Multipl epifizyel displazi (MED) tip 6 (EDM6)	OD	120210	COL9A1
Multipl epifizyel displazi diğer tipler			
Stickler sendromu, resesif tip	OR	120210	COL9A1
Ailesel kalça displazisi (Beukes)	OD	142669	4q35
Multipl epifizyel displazi mikrosefali ve nistagmus (Lowry-Wood)	OR	226960	
11. Metafizyel displaziler			
Metafizyel displazi, Schmid tip (MCS)	OD	156500	COL10A1
Kıkırdak-saç hipoplazisi (CHH; metafizyel displazi, McKusick tip)	OR	250250	RMRP
Metafizyel displazi, CHH-benzeri, PDP1 tip	OR		POP1
Metafizyel displazi, Jansen tip	OD	156400	PTHR1
Eiken displazi	OR	600002	PTHR1
Metafizyel displazi ve pankreatik yetmezlik ve siklik Nötropeni (Shwachman-Bodian-Diamond Sendromu, SBDS)	OR	260400	SBDS
Metafizyel ana displazi tip 1	OD, OR	602111	MMP13
Metafizyel ana displazi tip 2	OR	613073	MMP9
Metafizyel displazi, Spahr tip	OR	250400	MMP13
Metafizyel displazi ve maksiller hipoplazi	OD	156510	RUNX2

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
12. Spondilometafizyel displazi (SMD)			
Spondiloenkondrodisplazi (SPENCD)	OR	271550	ACP5
Odontokondrodisplazi (ODCD)	OR	184260	
SMD, Sutcliffe tip ya da corner fraktürler tipi	OD	184255	
SMD ve rod-koni distrofisi	OR	608940	PCYT1A
SMD ve retinal dejenerasyon, aksiyel tip	OR	602271	
13. Spondilo-epi-(meta)-fizyel displaziler (SE(M)D)			
Dyggve-Melchior-Clausen Displazi (DMC)	OR	223800 615222	DYM RAB33B
İmmuno-osseöz displazi (Schimke)	OR	242900	SMARCAL1
SED, Wolcott-Rallison tip	OR	226980	EIF2AK3
SEMD, Matrilin tip	OR	608728	MTN3
SEMD, Kısa ekstremiter-anormal kalsifikasyon tip	OR	271665	DDR2
SED tarda, X'e bağlı (SED-XL)	XLR	313400	SEDL
Spondilodisplastik Ehles-Danlos Sendromu	OR	612350	SLC39A13
SPONASTRIME displazi	OR	271510	
Platispondili (bracholmia) ve amelogenenezis imperfecta	OR	601216	
CODAS sendromu	OR	600373	LONP1
14.Şiddetli spondilodisplastik displazi			
Akondrojenenezis tip 1A (ACG1A)	OR	200600	TRIP11
Schneckenbecken displazi	OR	269250	SLC35D1
Spondilometafizyel displazi, Sedaghatian tip	OR	250220	GPX4
Şiddetli spondilometafizyel displazi, Sedaghatian Tip-benzeri)	OR		SBDS
Opsismodisplazi	OR	258480	INPPL1

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
MAGMAS ilişkili iskelet displazisi	OR		MAGMAS
15. Akromelik displaziler			
Trikorinofalangeal displazi tipler 1/3	OD	190350	TRPS1
Trikorinofalangeal displazi tip 2 (Langer-Giedion)	OD	150230	TRPS1 EXT1
Akrokapitofemoral displazi	OR	607778	IHH
Geleofizik displazi	OR OD	231050 614185	ADAMTSL2 FBN1
Akromikrik displazi	OD	102370	FBN1
Weill- Marchesani	OD OR OR		FBN1 ADAMTS10 ADAMTS17 LTBP2
Myhre displazi	OD	139210	SMAD4
Akondrodisostozis	OD	101800	PDE40 PRKAR1A
Angel-shaped falango-epifizyal displazi (ASPED)	OD	105835	
Albright hereditör osteodistrofi	OD	103580	GNAS
16. Akromesomelik displazi			
Akromesomelik displazi tip Maroteux (AMDM)	OR	602875	NPR2
Grebe displazi	OR	200700	GDF5
Fibular hipoplazi ve kompleks brakidaktili (Du Pan)	OR	228900	GDF5
Akromesomelik displazi ve genital anomaliler	OR	609441	BMPR1B
Akromesomelik displazi, Osebold- Remondini tip	OD	112910	

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
17. Mezomelik ve rizo-mezomelik displaziler			
Dikondrosteosis (Leri-Weill)	Psödo-OD	127300	SHOX
Langer tip (homozigot diskondrosteosis)	Psödo-OR	249700	SHOX
Omodislazi	OR	258315	GPC6
Omodislazi, dominant	OD	164745	FZD2
Robinow sendromu, resesif tip	OR	268310	RDR2
Robinow sendromu, dominant tip	OD	180700 601365	WNT5A DVL1
Mezomelik displazi, Kantaputra tip	OD	153232	
Mezomelik displazi, Nievergelt tip	OD	163400	
Mezomelik displazi, Kozlowski-Reardon tip	OR	249710	
Mezomelik displazi ve akral sinostozis (Verloes- David-Pfeiffer tip)	OD	600383	SULF1 ve SLCO5A1
Mezomelik displazi, Savarirayan tip (Triangular tibia-fibular aplazi)	SP	605274	6p22.3 delesyonu
18. Kampomelik displazilerle giden bozukluklar			
Kampomelik displazi (CD)	OD	114290	SOX9
Stüve-Wiedeman displazi	OR	601659	LIFR
Şiddetli kifomelik displazi		211350	
19. Silindir kemik displazi grup			
3-M sendromu	OR	273750 612921 641250	CUL7 OBSL1 CCDC8
Kenny-Caffey displazi	OR	244460	TBCE
Kenny-Caffey displazi	OD	127000	FAM111A
Osteokraniosinostozis	OD	602361	FAM111A

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
Mikrosefalik osteodisplastik primordiyal dwarfizm tip 1/3 (MOPD1)	OR	210710	RNU4ATAC
Mikrosefalik osteodisplastik primordiyal dwarfizm tip2 (MOPD2; Majewski tip)	OR	210720	PCNT2
IMAGE sendromu (intrauterin gelişme geriliği metafizyel displazi, adrenal hipoplazi ve genital anomaliler)			
Hallerman-Streiff sendromu	OR	234100	
20. Displaziler ve multipl eklem dislokasyonları			
Desbuquois displazi (ve ilave 2 parmakta sekonder kemikleşme merkezi)	OR	251450	CANT1
Desbuquois displazi ve kısa metakarpaller ve uzun falanks (Kim tip)	OR	251450	CANT1
Desbuquois displazi tip 2	OR	615777	XYLT1
Psödodistrofik displazi	OR	264180	
SEMD ve eklem esnekliği (SEMD-JL) leptodaktilik ya da Hall tip	OD	603546	KIF22
SEMD ve eklem esnekliği (SEMD-JL) Beighton tip	OR	271640	B3GALT6
21. Kondrodisplazi punktata (CDP) grup			
CDP, X'e bağlı dominant, Conradi-Hünemann tip (CDPX2)	XLD	302960	EBP
CDP, X'e bağlı resesif, brakitelefalanjik tip (CDPX1)	XLR	302950	ARSE
CHILD (Konjenital hemidisplazi, iktiyozis, ekstremité defekti)	XLD	308050	NSDHL
Keutel sendromu	OR	245150	MGP
Greenberg displazi	OR	215140	LBR
Rizomelik CDP tip 1	OR	215100	PEX7
Rizomelik CDP tip 2	OR	222765	DHPAT

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
Rizomelik CDP tip 3	OR	600121	AGPS
CDP tibia-metakarpal tip	OD/OR	118651	
Astley- Kendall displazi	OR?		
22. Neonatal osteosklerotik displazi			
Blomstrand displazi	OR	215045	PTHR1
Desmosterolozis	OR	602398	DHCR24
Caffey hastalığı (prenatal ve kazanılmış form)	OD	114000	COL1A1
Caffey displazi (şiddetli form, prenatal başlangıçlı)	OR	114000	
Raine displazi (letal ve nonletal form)	OR	259775	FAM2DC
23. Osteopetrozis ile ilişkili hastalıklar			
Osteopetrozis, şiddetli neonatal ya da infantil tip (OPTB1)	OR	259700	TCIRG1
Osteopetrozis, şiddetli neonatal ya da infantil tip (OPTB4)	OR	611490	CLCN7
Osteopetrozis, şiddetli neonatal ya da infantil tip (OPTB8)	OR	615085	SNX10
Osteopetrozis, infantil form ve sinir sistemi tutulumu (OPTB5)	OR	259720	OSTM1
Osteopetrozis, osteoklasttan fakir ara form (OPTB 2)	OR	259710	RANKL (TNFSF11)
Osteopetrozis, infantil form, osteoklast fakir ve immun yetmezlik (OPTB7)	OR	612302	RANKL (TNFSF11A)
Osteopetrozis, ara form (OPTB6)	OR	611497	PLEKHM1
Osteopetrozis, ara form (OPTA2)	OR	259710	CLCN7
Osteopetrozis ve renal tübüler asidozis (OPTB3)	OR	259730	CA2
Osteopetrozis geç başlangıçlı form tip 1 (OPTA1)	OD	607634	LRP5

Grup/Hastalığın adı	Kalıtım	OMIM no	Gen/Lokus
Osteopetrozis geç başlangıçlı form tip 2 (OPTA2)	OD	166600	CLCN7
Osteopetrozis ve ektodermal displazi, immun yetmezlik (OLEDAID)	XL	300301	IKBKG (NEMO)
Osteopetrozis, ılımlı form ve lökosit adezyon defekti (LAD3)	OR	612840	FERMT3 (KIND3)
Osteopetrozis, ılımlı form ve lökosit adezyon defekti	OR	612840	RASGRP2 (CaIDAG-GEF1)
Piknodizostosis	OR	265800	CTSK
Osteopoikilozis	OD	155950	LEMD3
Melorheosteosis ve osteopoikilozis	OD	155950	LEMD3
Osteopati striata ve kranial sklerozis (OSCS)	XLD	300373	WTX
Melorheosteosis	SP		
Dizostosklerozis	OR	224300	SLC29A3
24. Diğer sklerotik kemik hastalıkları			
Kraniometafizyel displazi, otozomal dominant tip	OD	123000	ANKH
Diyafizyel displazi Camurati-engelmann	OD	131300	TGFB1
Hematodiyafizyel displazi Ghosal	OR	231095	TBXAS1
Hipertrofik osreoartropati	OR	259100	HPGD
Pakidermoperiostosis (Hipertrofik osteoartropati, primer, otozomal dominant)	OD	167100	
Oculo-dento-osseous displazi (ODOD) ılımlı tip	OD	164200	GJA1
Oculo-dento-osseous displazi (ODOD) şiddetli tip	OR	257850	GJA1
Osteoektazi ve hiperfosfotazya(juvenil Paget hastalığı)	OR	239000	OPG

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Sklerostozis	OR, OD	269500	SOST
		614305	LRP4
Endosteal hiperostozis, van Buchem tip	OR	239100	SOST
Trikodontoosseous displazi	OD	190320	DLX3
Kraniometafizyel displazi, otozomal resesif tip	OR	218400	GJA1
Diafizyel medullar sitenozis ve malign fibroz histiositoma	OD	112250	
Kraniodiafizyel dispilazi	OD	122860	SOST
Kraniometadiafizyel displazi, Wormian kemik tip	OR	615118	
Endositeal sklerozis ve serebellar hipoplazi	OR	213002	
Lenz Majewski hiperostotik displazi	SP	151050	PTDSS1
Metafizyel displazi, Braun-Tinschert tip	OD	605946	
Pyle hastalığı	OR	265900	
25. Osteogenesis imperfecta ve azalmış kemik dansitesi grubu			
Osteogenesis imperfecta non-deforming form (OI tip1)	OD		COL1A1 COL1A2
Osteogenesis imperfecta, ölümcül perinatal form (OI tip2)	OD, OR		COL1A1 COL1A2 CRTAP, LEPRE1, PPIP
Osteogenesis imperfecta, ilerleyici deformize tip (OI tip 3)	OD, OR		COL1A1 COL1A2 CRTAP LEPRE1 PPIB SERPINH1 BMP1 FKBP10 PLOD2 SERPINF1 SP7 WNT1 TMEM38B CREB3L1 SEC24D

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Osteogenezis imperfekta, ılımlı form (OI tip 4)	OD, OR		COL1A1 COL1A2 CRTAP PPIB FKBP10 SERPINF1 WNT1 SP7
Osteogenezis imperfekta ve interosseos membran kalsifikasyonu ve/ve ya hipertrofik kallus (OI tip 5)	OD	610967	IFIDM5
X'e bağlı osteoporozis	XL	300910	PLS3
Bruck sendromu tip 1(BS1)	OR	259450	FKBP10
Bruck sendromu tip 2 (BS2)	OR	609220	PLOD2
Osteoporozis psödoglioma sendrom	OR	609220	LRP5
LRP5 primer osteoporozis	OR		LRP5
Kalvaryal doughnut lezyon ve fragil kemik	OD	126550	
İdiyopatik juvenil osteoporozis	SP	259750	
Cole-Carpenter Displazi (fragil kemik ve kraniyosinosis)	OD	112240	P4HB
Spondilo-oküler displazi	OR	605822	XYLT2
Osteopenia ve radiolucent lezyonlu mandibula	OD	166260	
Ehlers-Danlos sendromu, progeroid form	OR	130070	B4GALT7
Geroderma osteodysplasticum	OR	231070	GORAB
Cutis laxa, otozomal resesif form, tip2B (ARCL2B)	OR	612940	PYCR1
Cutis laxa, otozomal resesif form, tip2A (ARCL2A) (Buruşuk deri sendromu)	OR	278250 219200	ATP6 VOA2

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Singleton-Merten displazi	OD	182250	
26. Anormal mineralizasyon grubu			
Hipofosfotazya, perinatal lethal, infantil ve juvenil form	OR	241500	ALPL
Hipofosfotazya, juvenil ve erişkin form	OD	146300	ALPL
Hipofosfotemik rikets, X'e bağlı dominant	XLD	307800	PHEX
Hipofosfotemik rikets, otozomal dominant	OD	193100	FGF23
Hipofosfotemik rikets, otozomal resesif, tip1 (ARHR1)	OR	241520	DMP1
Hipofosfotemik rikets, otozomal resesif, tip2 (ARHR2)	OR	613312	ENPP1
Hipofosfotemik rikets ve hiperkalsiüri X'e bağlı resesif	XLR	300554	CICN5
Hipofosfatemik rikets ve hiperkalsiüri otozomal resesif (HHRH)	OR	241530	SLC34A3
Neonatal hiperparatiroidizm, şiddetli form	OR	239200	CASR
Ailesel hipokalsiürik hiperkalsemi ve transient neonatal hiperparatiroidizm	OD	145980	CASR
Kalsiyum fosfat depozisyon hastalık (ailesel kondrokalsinosis) tip 2	OD	118600	ANKH
27. İskelet ile ilişkili lizozomal depo hastalıkları			
Mukopolisakkaridozis tip1H/1S (Hurler, Hurler-Scheie, Scheie)	OR	607014	IDA
Mukopolisakkaridozis tip 2 (Hunter)	XLR	309900	IDS
Mukopolisakkaridozis tip 3A (Sanfilippo A)	OR	252900	HSS

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Mukopolisakkaridozis tip 3B (Sanfilippo B)	OR	252920	NAGLU
Mukopolisakkaridozis tip 3C (Sanfilippo C)	OR	252930	HSGNAT
Mukopolisakkaridozis tip 3D (Sanfilippo D)	OR	252940	GNS
Mukopolisakkaridozis tip 4A (Morquio A)	OR	253000	GALNS
Mukopolisakkaridozis tip 4B (Morquio B)	OR	253010	GLBI
Mukopolisakkaridozis tip 6 (Maroteaux- Lamy)	OR	253200	ARSB
Mukopolisakkaridozis tip 7 (Sly)	OR	253220	GUSB
Fukosidozis	OR	230000	FUCA
Alfa-Mannosidozis	OR	248500	MANA
Beta-Mannosidozis	OR	248510	MANB
Aspartylglucosaminuria	OR	208400	AGA
GMI Gangliosidozis, şiddetli form	OR	230500	GLB1
Sialidozis, şiddetli form	OR	256550	NEU1
Sialik asit depo hastalığı (SIASD)	OR	269920	SLC17A5
Galactosialidozis, şiddetli form	OR	256540	PPGB
Multiple sulfataz eksikliği	OR	272200	SUMF1
Mukolipidozis II (I-cell), alfa/beta tip	OR	252500	GNPTAB
Mukolipidozis III (Psödo-Hurler polidistropi), alfa/ beta tip	OR	252600	GNPTAB
Mukolipidozis III (Psödo-Hurler polidistropi), gama tip	OR	252605	GNPTG
28.Osteolizis grubu			
Ailevi expansile osteolizis	OD	174810	RANK (TNFRSF11A)

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Mandibuloacral displazi tip A	OD	248370	LMNA
Mandibuloacral displazi tip B	OR	608612	ZMPSTE24
Progeria, Hutchinson-Gilford tip	OD	176670	LMNA
Torg-Winchester sendromu	OR	259600	MMP2
Hadju-Cheney sendromu	OD	102500	NOTCH2
Multicentric carpal-tarsal osteolizis ve/veya nefropati	OD	166300	MAFB
29.İskelet komponentlerinin disorganize gelişim grubu			
Multiple kartilajinoz eksostozis 1	OD	133700	EXT1
Multiple kartilajinoz eksostozis 2	OD	133701	EXT2
Multiple kartilajinoz eksostozis 3	OD	600209	
Cherubism	OD	118400	SH3BP2
Fibröz displazi, poliostotik form (McCune Albright)	SP	174800	GNAS
İlerleyici osseos heteroplazi	OD	166350	GNAS
Gnathodiafiziyal displazi	OD	166260	TMEM16E
Metakondromatozis	OD	156250	PTPN11
Osteoglofonik displazi	OD	166250	FGFR1
İlerleyici fibrodisplazi ossifikans (FOP)	OD, SP	135100	ACVR1
Nörofibromatozis tip 1 (NF1)	OD	162200	NF1
Karpotarsal osteokondromatozis	OD	127820	
Çerubizm ve gingival fibromatozis (Ramon sendromu)	OR	266270	
Displazi epifizialis hemimelica (Trevor)	SP	127800	
Lipomembranöz osteoditrofi ve lökoensefalopati (yaşlılık öncesi demans ve kistik kemik Nasu- Hakola)	OR	221770	TREM2

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Enkondromatozis (Olier) ve enkondromatozis Hemanjiyom (Maffucci)	SP	166000	IDH1 IDH2
Metafizyel kondromatozis ve D-2-hidroksi glutarik asidüri	SP	614875	IDH1 IDH2
Genokondromatozis	SP/OD	137360	
Gorham-Stout			
30. Aşırı büyüme (uzun boy) ve iskelet ilişkili			
Weaver sendromu	SP/OD	277590	EZH2
Sotos sendromu	OD	117550	NSD1
Sotos benzeri sendrom	OD		SETD2
Marshall-smith sendromu	SP	602535	NFIX
Proteus sendromu	SP	176920	AKT1
CLOVES	SP	612918	PIK3CA
Marfan sendromu	OD	154700	FBN1
Konjenital kontraktural araknodaktili	OD	121050	FBN2
Loeys-Dietz sendromu tip1A, 1B, 2A, 2B, 3, 4	OD	609192 610168 608967 610380 613795 614816	TGFBR1 TGFBR2 SMAD3 TGFB2
Aşırı büyüme sendromu ve 2q37 translokasyon	SP		NPPC
Aşırı büyüme ve makrodaktili ve NPR2 fonksiyon kazanımı	OD		NPR2
Aşırı büyüme sendromu ve iskelet displazisi (Nishimura-Schmidt, enkondral gigantizm)	SP?		
31. Genetik inflamatuvar/römatoid benzeri osteoartropatiler			

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
İlerleyici psöдорömatoid displazi (PPRD; SED ve ilerleyici artropati)	OD	208230	WISP3
Kronik infantil nörolojik kutanöz artiküler sendromu (CINCA)/ neonatal onset multisistem inflamatuvar hastalık (NOMID)	OD	607115	CIAS1
Steril multifokal osteomyelit, periostit ve pustulozis (CINCA/NOMID-like)	OR	147679	IL1RN
Kronik recurrent multifokal osteomyelit ve konjenital diseritropoetik anemi (CRMO ve CDA; Majeed sendromu)	OR	609628	LPIN2
Hiporostozis/hiperfosfatemi sendromu	OR	610233	GALNT3
Hiyalin fibromatozis sendromu	OR	236490	ANTXR2
32.Kleidokraniyal displazi ve ilişkili hastalıklar			
Kleidokraniyal displazi	OD	119600	RUNX2
CDAGS sendromu (kraniosinostozis, gecikmiş fontanel kapanması, parietal foramina, imperforate anus, genital anomaliler, deri erupsiyonu)	OR	603116	
Yunis-Varon displazi	OR	216340	FIG4
Parietal foramina (isole)	OD	168500	ALX4 MSX2
33.Kraniosinostozis sendromları			
Pfeiffer sendromu (FGFR1-related)	OD	101600	FGFR1, FGFR2
Apert sendromu	OD	101200	FGFR2
Kraniosinostozis ve cutis gyrata (Beare-Stevenson)	OD	123790	FGFR2
Cruzon sendromu	OD	123500	FGFR2
Bükülmüş kemik displazi	OD	614592	FGFR2

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Crouzon benzeri kraniosinostozis ve Acanthosis nigricans	OD	612247	FGFR3
Kraniosinostozis, Muenke tip	OD	602849	FGFR3
Antley-Bixler sendromu	OR	201750	POR
Kraniosinostozis Boston tip	OD	604757	MSX2
Saethre-Chotzen sendromu	OD	101400	TWIST1
Shprintzen-Goldberg sendromu	OD	182212	SKI
Baller-Gerold sendromu	OD	218600	RECOL4
Carpenter sendromu	OR	201000	RAB23
		614976	MEGFB
Coronal kraniosinostozis	OD	615314	TCF12
Kompleks kraniosinostozis	OD	600775	ERF
34.Disostozis ve predominant kraniofasiyal tutulum			
Mandibulo-fasiyal disostozis (Treacher Collins, Franceschetti-Klein)	OD, OD, OR	154500	TCOF1, POLR1D, POLR1C
Oral-fasiyal-dijital sendrom tip I (OFD1)	XLR	311200	CXORF5
Weyer akrofasiyal (akrodental) disostozis	OD	193530	EVC1 EVC2
Endocrine-cerebro-osteodysplasia (ECO)	OR	612651	ICK
Kraniofrontonasal sendrom	XLD	304110	EFNB1
Frontonasal displazi, tip 1	OR	136760	ALX3
Frontonasal displazi, tip 2	OR	613451	ALX4
Frontonasal displazi, tip 3	OR	613456	ALX1
Hemifasiyal mikrosomia	SP/OD	164210	
Miller sendromu (postaksial akrofasiyal disostozis)	OR	263750	DHDDH
Akrofasiyal disostozis, Nager tip	OD/OR	154400	SF3B4
Akrofasiyal disostozis, Rodriguez tip	OR	201170	

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Mandibulofasiyal disostozis ve mikrosefali	OD	610536	EFTUD2
35.Vertebraal disostozis ve predominant ve/veya kostal			
Curarino triad	OD	176450	HLXB9
Spondilocostal disostozis tip 1 (SCDO1), tip 2 (SCDO2), tip 3 (SCDO3) tip 4 (SCDO4)	OR	277300 608681 609813 613686	DLL3 MESP2 LFNG HES7
Tip 5 (SCDO5)	OD	122600	TBX6
Spondilotorasik disostozis (STD)	OR		MESP2
Vertebraal bölünme defekti (konjenital skolyoz) ve penetrans farklılıkları	OD		MESP2 HES7
Klippel-Feil anomali ve laringeal malformasyon	OD OR	148900 613702 214300	GDF6 GDF3 MEOX1
Cerebro-costo-mandibular sendrom (rib gab sendromu)	OD	117650	SNRPB
Cerebro-costa-mandibular-benzeri sendromu ve vertebraal defekt	OR	611209	COG1
Diafanospondilodizostozis	OR	608022	BMPER
Spondilo-megaepifizyel-metafizyel displazi (SMMD)	OR	613330	NKX3-2
36.Patellar disostozis			
Ischiopatellar displazi (small patella sendromu)	OD	147891	TBX4
Nail-patella sendromu	OD	161200	LMX1B
Genitopatellar sendrom	OR?	600670	KAT6B

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Kulak-patella-kısa boy sendromu (Meier-Gorlin)	OR	224690 613800 613803 613804 613805	KAT6B ORC1 ORC4 ORC6 CDT1 CDC6
37.Brakidaktिलiler (ve/veya iskelet dışı bulgular)			
Brakidaktिलiler tip A1	OD	112500	IHH
Brakidaktिलiler tip A1	OD		
Brakidaktिलiler tip A2	OD	112600	BMPR1B
Brakidaktिलiler tip A2	OD	112600	BMP2
Brakidaktिलiler tip A2	OD	112600	GDF5
Brakidaktिलiler tip B	OD	113000	ROR2
Brakidaktिलiler tip B2	OD	611377	NOG
Brakidaktिलiler tip C	OD, OR	113100	GDF5
Brakidaktिलiler tip D	OD	113200	HOXD13
Brakidaktिलiler tip E	OD	113300	PTHLH
Brakidaktिलiler tip E	OD	113300	HOXD13
Brakidaktिलiler ve anonychia (Cooks sendromu)	OD	106995	SOX9
38.Brakidaktिलiler (ve iskelet dışı bulgular)			
Brakidaktili- zeka geriliği sendromu	OD	600430	HDAC4
Hiperfosfotazya ve zeka geriliği, brakitelensefali ve farklı yüz	OR		PIGV
Brakidaktili-hipertansiyon sendromu (Bilgin Turan)	OD	112410	PDE3A
Mikrosefali-oculo-dijito-özafageal-duedonal sendrom (Feingold sendromu)	OD	164280	MYCN
El-ayak-genital sendrom	OD	140000	HOXA13

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Rubinstein-Taybi sendromu	OD	180849	CREBBP
Rubinstein-Taybi sendromu	OD	180849	EP300
Brakidaktili, Temtamy sendromu	OR	605282	CHSY1
Christian tip bradaktili	OD	112450	
Coffin-Siris sendromu 1	OR	135900	
Adams-Oliver	OD	100300	ARHGAP31
	OR	614219	DOCK6
	OD	614814	RBPJ
Catel-Manzke sendromu	OR	616145	TGDS
39. Limb hipoplazi-redüksiyon defektleri grubu			
Ulnar mammary sendromu de Lange sendromu	OD	181450	TBX3 NIPBL
	OD	122470	SMC1A
	XL	300590	SMC3
	OD	619759	RAD21
	OD	614701	HDAC8
	XL	300882	
Fanconi anemi	OR	227650	(birkaç)
Thrombocytopenia-absent radius (TAR)	OR	274000	RBM8A
Trombositemi ve distal ekstremitte defekti	OD		THPO
Holt-Oram Sendromu	OD	142900	TBX5
Okihiro Sendromu (Duane-radial ray anomali)	OD	607323	SALL4
Cousin Sendromu	OR	260660	TBX15
Roberts Sendromu	OR	268300	ESCO2
Split-el-ayak malformasyonu ve uzun kemik eksikliği (SHFLD3)	OD	612576	BHLHA9
Tibial hemimelia	?	275220	

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Tibial hemimeli-polisindaktili-trifalangial baş parmak	OD	188740	SHH-ZRS
Acheiropodia	OR	200500	LMBR1
Tetra-ameli	OR	273395	WNT3
Terminal yatay defekt	?	102650	
Al-awadi Raas-Rothschild ekstremité-pelvis hipoplazi-aplazi	OR	276820	WNT7A
Fuhrmann sendromu	OR	228930	WNT7A
RAPADILINO sendromu	OR	266280	RECOL4
Poland			
Femoral hipoplazi-farklı yüz sendromu(FHUFs)	SP/OD?	134780	
Femur-fibula-ulna sendromu (FFU)	SP?	228200	
Hanhard sendromu (Hypoglossia- hipodaktili)	OD	103300	
Gollop-Wolfgang	OD	228250	BHLHA9
Scapulo- iliak displazi (Kosenow)	OD	169550	
40. Ektrodaktili ve/ veya diğer bulgular			
Ankyleoblepharon-ektodermal displazi- yarık damak/dudak (AEC)	OD	106260	P63 (TP63)
Ektrodaktili-ektodermal displazi yarık damak sendromu tip 3 (EEC3)	OD	604292	P63(TP63)
Ektrodaktili-ektodermal displazi yarık damak sendromu tip 1 (EEC1)	OD	129900	
Ektrodaktili-ektodermal displazi- makuler distrofi sendromu (EEM)	OR	225280	CDH3
Limb-mammary sendromu (ADULT sendromu dahil)	OD	603273	P63(TP63)

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Yarık el-ayak malformasyonu, izole form, tip 4(SHFM4)	OD	605289	P63(TP63)
Yarık el-ayak malformasyonu, izole form, tip 1(SHFM1)	OD	183600	DLX5 DLX6
Yarık el-ayak malformasyonu, izole form, tip 3(SHFM3)	OD	246560	10q
Yarık el-ayak malformasyonu, izole form, tip 5(SHFM5)	OD OR	606708	WNT10B
Hartsfield sendromu	OD	615465	FGFR1
41.Polidaktili-Sindaktili-Trifalangizm grup			
Preaksiyel polidaktili tip 1 (PPDA)	OD	174400	SHH-ZRS
Postaksiyel polidaktili tip A	OD	174200	GLI3
Postaksiyel polidaktili tip B	Complex		
Trifalangial baş parmak (TPT)- polidaktili sendrom	OD	174500	SHH-ZRS
Preaksiyel polidaktili tip 3 (PPD3)	OD	174600	
Preaksiyel polidaktili tip 4 (PPD4)	OD	174700	GLI3
Greig sefalopolisindaktili sendromu	OD	175700	GLI3
Pallister-Hall sendromu	OD	146510	GLI3
Sinpolidaktili (kompleks, fibulin1 ilişkili)	OD	608180	FBLN1
Sinpolidaktili	OD	186000	HOXD13
Townes-Brocks sendromu (renal-ear-anal-radial sendromu)	OD	107480	SALL1
Lacrimo-auriculo-dento-digital sendrom(LADD)	OD	149730	FGFR2
Lacrimo-auriculo-dento-digital sendrom(LADD)	OD	149730	FGFR3

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
Lacrimo-auriculo-dento-digital sendrom (LADD)	OD	149730	FGF10
Akrokallosal sendrom	OR	200990	KIF7
Akropektoral sendrom	OD	605967	
Akro-pektoro-vertebral displazi (F-sendromu)	OD	102510	WNT6
Mirror-image polidaktili of hands and feet (Laurin-Sandrow sendromu)	OD	135750	SHH-ZRS
Cenani-Lenz sindaktili	OR	212780	LRP4
Cenani-Lenz benzeri sindaktili	SP (OD?)		GREM1, FMN1
Sindaktili, Malik-Percin tip	OD	609432	BHLHA9
STAR sendrom (ayakta sindaktili, telekantus, ano- ve renal malformasyonlar	XL	300707	FAM58A
Sindaktili tip Lueken	OD	185900	IHH
Oculodentodigital displazi, sindaktili tip 3 (IV-V)	OD	185900	GJA1
Sindaktili Haas tip	OD	186200	SHH-ZRS
Sindaktili ve metacarpal ve metatarsal füzyon	OD	186300	HOXD13
Metacarpal 4-5 füzyon sendromu	XL	309630	FGF16
Sindaktili ve kraniosinostozis (Philadelphia tip)	OD	185900	IHH
Sindaktili ve mikrosefali ve zeka geriliği (Filippi sendromu)	OR	272440	CKAP2L
Meckel sendromu tip 1,2,3,4,5,6	OR	249000 603194 607361 611134 611561 612284	MKS1 TMEM216 TMEM67 CEP290 RPGRIP1L CC2D2A

Grup/ Hastalığın Adı	Kalıtımı	OMIM No	Gen/ Lokus
42.Eklem oluşumunda defekt ve sinositozis			
Multiple sinositoz sendromu tip 3	OD	612961	FGF9
Proksimal simfalangizm tip 1	OD	185800	NOG
Proksimal simfalangizm tip 2	OD	185800	GDF5
Radio-ulnar sinostozis ve amegakaryositik trombositopeni	OD	605432	HOXA11
Liebenberg sendromu	OD	186550	PITX1
Konjenital club foot	OD	119800	PITX1

2.2.1. İskelet Displazili Hastaya Yaklaşım

2.2.1.1. İskelet Sistemi Terminolojisi

Epifiz: Uzun kemiklerin her iki tarafında yer alan, üzerinde sekonder kemikleşme merkezlerini bulunduran alandır.

Metafiz: Diyafiz ile epifiz arasında bulunan uzun kemiklerin büyüme alanıdır.

Diyafiz: Kemik shaftı ya da gövdesi olarak da adlandırılan, periost ile kaplı kemiğin enine büyümesinde rol alan merkezi kısımdır.

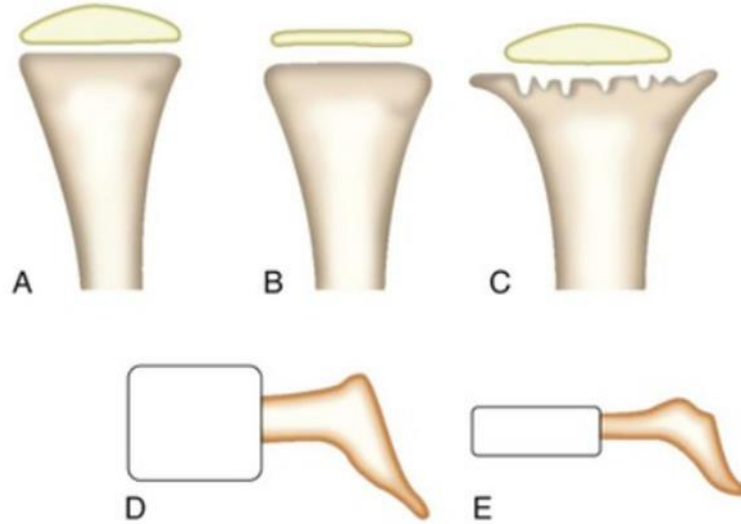
Spondilo: Spinal kolon ya da vertebra ile ilgili bir terimdir.

Radius-ulna: Ön kol kemikleridir.

Humerus: Kol kemiğidir.

Tibia- fibula: Alt ekstremitenin distalinde yer alan uzun kemiklerdir.

Femur: Alt ekstremitate proksimalinde yer alan uzun kemiktir (41, 42).



Şekil 8: Kemik etkilenme bölgeleri A: Normal B: Epifiz anomalisi C: Metafiz Anomalisi D: Normal vertebra E: Vertebra anomalisi (43)

2.2.1.2. İskelet Sistemi Dismorfolojisi

İlk kez 1960 yılında Dr. David Smith tarafından dış görünüşteki yapısal anomalileri ve konjenital defektleri ortak bir dille tanımlamak anlamına gelen dismorfoloji terimi kullanılmıştır. İskelet sistemindeki anomalileri tanımlamak için kullanılan başlıca dismorfik terimler:

Amelia: Bir ya da birden çok ekstremitenin tamamının konjenital yokluğu anlamına gelir.

Kamptomelia: Bükülmüş, kıvrık ekstremiteler.

Meromelia: Ekstremitelerin kısmi yokluğu.

Mezomeli: Ekstremitelerin orta segmentlerini tanımlamak için kullanılan bir terimdir.

Klinodaktili: 5.parmaklarda kıvrılma, kavislenme

Kifoz: Vertebral kolon eğrisinin anteroposterior ekseninde dorsale doğru kavislenme göstermesi

Kifoskolyoz: Vertebral kolonun hem anteroposterior hem de lateral eğriliği

Lordoz: Vertebral kolonun eğrisinin ventrale doğru kavislenme göstermesi

Rizomeli: Ekstremitelerin proksimal segmentlerini tanımlamak için kullanılır (Şekil8).

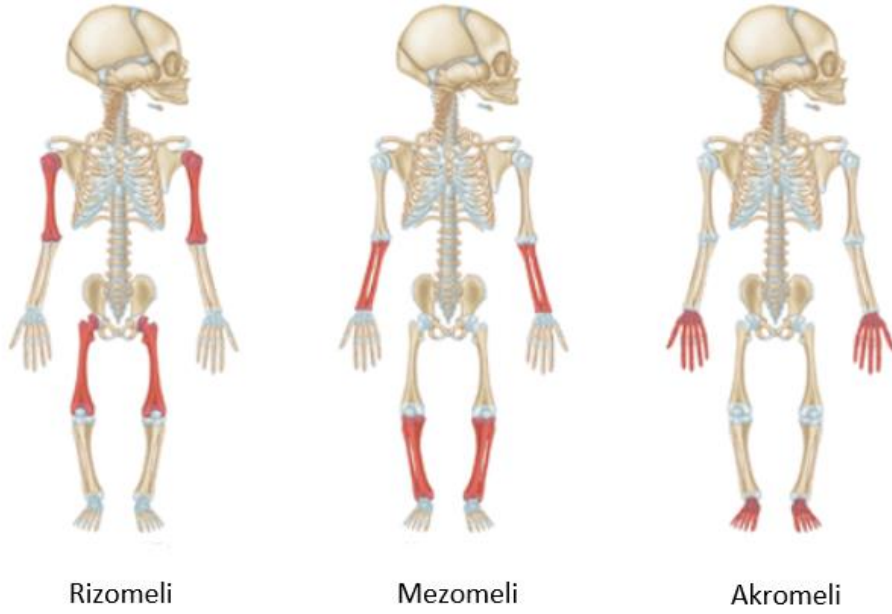
Skolyoz: Vertebral kolonun lateral eğriliği

Tanatoforik: Ölümle sonuçlanan

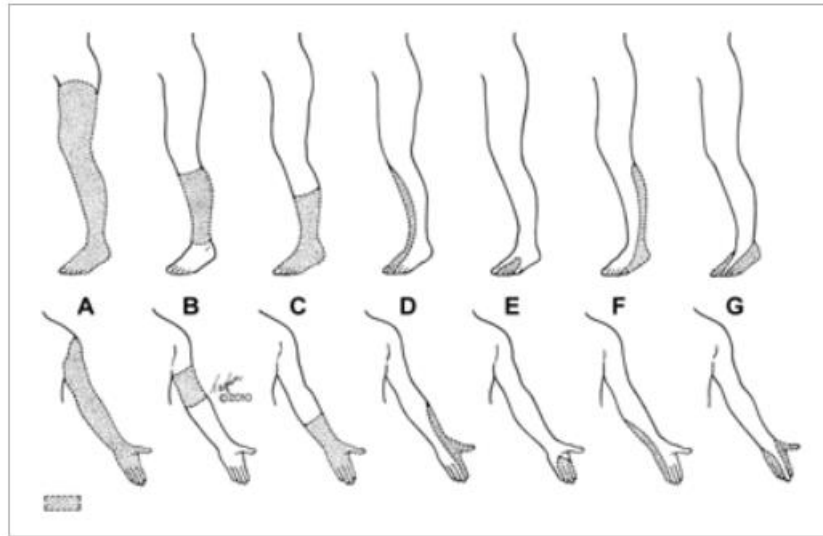
Brakidaktili: Kısa ve küçük el

Sindaktili: Kemik yapının ya da yumuşak dokunun birbirine yapışık olması

Polidaktili: Fazla sayıda parmak olması durumu (42, 44, 45)



Şekil 9: Ekstremitelerde kısalığın spesifik alanlarda gösterimi (46)



Şekil 10: Üst ve alt ekstremitelerde konjenital eksiklikleri (A) Amelia; (B) İnterkalar eksiklik; (C) Terminal yatay defekt; (D) Longitudinal defekt, preaksiyel; (E) Longitudinal defekt merkezi; (F) Longitudinal defekt, postaksiyel; (G) Longitudinal defekt, pre ve postaksiyel (47).

2.2.1.3. Aile Öyküsü ve Klinik Yaklaşım

İskelet displazili hastaların değerlendirilmesinde öncelikli basamak aile öyküsünün sorgulanmasıdır. İskelet displazisinin kalıtım paterninin belirlenebilmesi için aile ağacı çizilmeli ve akraba evlilikleri, etkilenmiş bireyler, gebelik kayıpları gösterilmelidir. Genetik hastalıklarda sıkça gözleendiği gibi eksik penetrans nedeniyle bazı kişilerde hastalığın ortaya çıkmama olasılığı, ekspresivite farkı nedeniyle klinik bulguların farklı olabileceği de akılda tutulmalıdır. Etkilenmiş bireylerin oligo/polihidroamniyos, fetal hareketlerde azalma gibi prenatal dönem bulguları ve doğum bilgileri, annenin gebelik süresince herhangi bir X-ray, teratojen maruziyeti, warfarin, fenitoin gibi iskelet sistemi gelişimi üzerine olumsuz etkileri olan herhangi bir ilaç kullanıp kullanmadığı dikkatle sorgulanmalıdır. Fizik muayene esnasında dikkat çeken ilk bulgu boy kısalığıdır. Büyüme hormonu eksikliği/ duyarsızlığı, hipotroidi, glukokortikoid fazlalılığı, malnütrisyon ve kronik sistemik hastalıklar gibi orantılı boy kısalığına sebep olan durumların aksine; iskelet displazileri orantısız boy kısalığına sebep olur. Boy kısalığını değerlendirirken ağırlık/ boy, kulaç uzunluğu, üst segment/alt segment oranı ölçülmelidir. Üst segment/ alt segment oranı 10 yaşın altındaki bireylerde >1 iken, 10 yaşın üzerindeki bireylerde <1 'dir. Yapılan ölçümleri değerlendirirken yaş, cinsiyet ve etnik grup farklılıkları göz önünde bulundurulmalıdır. Eşlik edebilecek kraniyal patolojileri değerlendirmek için baş çevresi ölçümü ve göz, kulak ve ağız yapılarını içerecek şekilde dismorfik değerlendirme yapılmalıdır. Göğüs kafesi çevresi ölçümleri yapılmalı, şekil bozuklukları varsa mutlaka not edilmelidir. Skolyoz, lordoz, kifoz gibi anormallikler açısından vertebral kolon değerlendirilmelidir. Detaylı bir fizik muayeneden sonra yapılan radyolojik incelemede sırasıyla aşağıdaki tüm grafiğin incelenmesi, gerek görülmesi halinde ise Magnetik Rezonans Görüntüleme (MRI) ve Bilgisayarlı tomografi (BT) değerlendirmesi gereklidir:

Anteroposterior ve lateral direk kafa grafisi

Anteroposterior ve lateral vertebra grafisi

Anteroposterior akciğer grafisi

Anteroposterior kalça ve pelvis grafisi

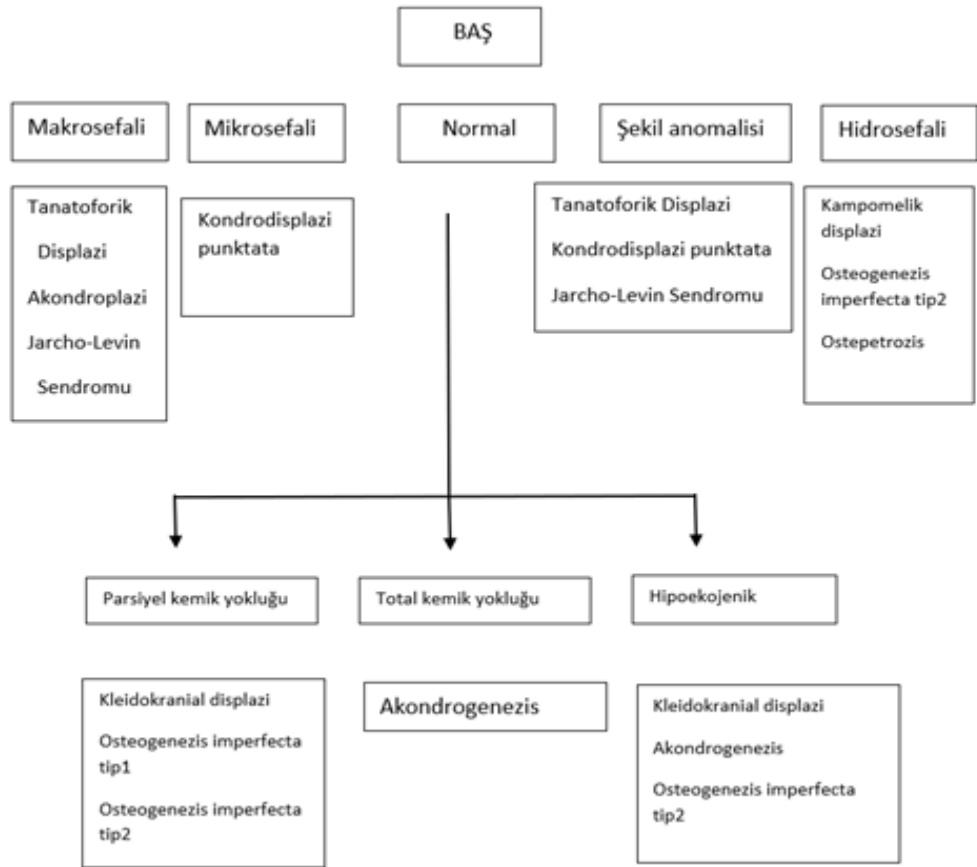
Üst ekstremité uzun kemik grafisi (humerus-radius-ulna)

El bilek ve el parmak kemikleri

Alt ekstremité uzun kemik grafisi (femur-tibia-fibula)

Ayak bilek ve ayak parmak kemikleri.

Tanı için ipucu olabilecek iskelet sistemi dışında nadir görülen bulguları saptamak ve mukopolisakkaridoz, peroksizomal bozukluklar gibi hastalıklardan ayırıcı tanı yapabilmek için metabolik testler, uzun zincirli yağ asidi ve kolesterol seviyesi gibi biyokimyasal parametrelerde incelenmelidir (48, 49, 50, 51, 52, 53).



Şekil 11: Boy kısalığına yaklaşım (54)

Aile öyküsü, fizik muayene ve radyolojik bulgular ile örtüşme gösteren iskelet displazilerine yönelik moleküler araştırma yapılarak hem tanı doğrulanmalı hem de ailelere ilerleyen gebeliklerine yönelik preimplantasyon genetik test imkanı sunulmalıdır.

2.2.1.4. İleri Moleküler Analiz Yöntemleri

DNA dizileme teknolojisindeki gelişmeler insan genomundaki tüm genlerin tanımlanması ve dizilenmesi ile birlikte birçok hastalığın genotipinin belirlenmesinde, kanser gelişimi ve progresyonunda önem arz etmektedir (55, 56) Aynı zamanda bu teknolojik gelişmeler sayesinde genom dizileme maliyeti 10000 dolardan neredeyse 1000 dolara düşmüştür (57). Ancak az sayıda vaka ve aileye ulaşılabilirlik, azalmış penetrans, lokus heterojenitesi, üreme çağına erişilebilirliğin azalması gibi bazı faktörler geleneksel gen keşfi stratejilerinin gücünü sınırlamaktadır. Ekzom sekanslama geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı mendelyen bozuklukların altında yatan genetik değişimin saptanmasında kullanılan bir yöntemdir. Klasik yöntemlerle bulunabilecek değişimlerde ise kısa zamanda sonuca ulaşmayı sağlamaktadır.

2.2.1.4.1. Genetik Terminoloji

DNA dizilemeyi anlamayı kolaylaştırmak ve Mendelyen hastalıklara sebep olan genlerdeki değişimleri açıklamak için kullanılan temel genetik terminoloji:

Varyant: Nükleotid dizisinde meydana gelen kalıcı değişimlerdir.

Patojenik: Daha önce etkilenmiş bireylerde ya da hücre/hayvan modellerinde proteinin fonksiyonunu negatif olarak etkilediği gösterilmiş değişimlerdir.

Olası Patojenik: İn siliko varyant analiz programlarına göre protein fonksiyonunu etkileme olasılığı yüksek ancak daha önce hasta/sağlam insanlarda gösterilmemiş ve hayvan modellerinde fonksiyon analizi yapılmamış değişimlerdir.

Klinik Önemi Belirsiz Değişiklik: İnsan genomunda oldukça yaygın olan kopya sayısı bakımından değişkenlik gösteren ve genetik dengesizliklere yol açtığı düşünülen büyük DNA segmentlerinde meydana gelen değişimlerdir. Bu değişimler kopya sayısı değişimleri (CNV) olarak adlandırılmaktadır.

Olası Benign: İn siliko varyant analiz programlarına göre protein fonksiyonunu etkileme olasılığı düşük ancak daha önce hasta/sağlam insanlarda gösterilmemiş ve hayvan/hücre modellerinde fonksiyon analizi yapılmamış değişimlerdir.

Benign: Sağlıklı popülasyonun büyük çoğunluğunda görülen polimorfizm olarak bilinen değişimlerdir.

Missense mutasyon: DNA dizisi üzerinde tek nükleotid değişimine sebep olarak farklı aminoasit kodlanmasına sebep olan değişimlerdir.

Nonsense mutasyon: Stop kodon oluşumuna sebep olarak transkripsiyon üzerinde hiçbir etkiye sahip olmayan, anlamsız mutasyon olarak da adlandırılan değişimlerdir.

Homozigot mutasyon: Bir genin iki aynı mutant allelinin bulunduğu genotip

Heterozigot mutasyon: Bir genin normal ve mutant allellerinin bir arada bulunduğu genotip (58, 59, 60, 61).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi

Bu çalışmaya Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilimdalı'na başvuran olgu ve benzer fenotipik bulgulara sahip akraba evliliği sonucu dünyaya gelen 4 erkek kardeşi alınmıştır. Hastalar öykü, fizik muayene, biyokimyasal ve radyolojik değerlendirmeleri sonucu moleküler nedeni bilinmeyen, X'e bağlı resesif ya da otozomal resesif kalıtım paternine sahip iskelet displazisi düşünülerek çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Yeni Nesil Dizileme

3.2.1.1. DNA İzolasyonu Yapılması

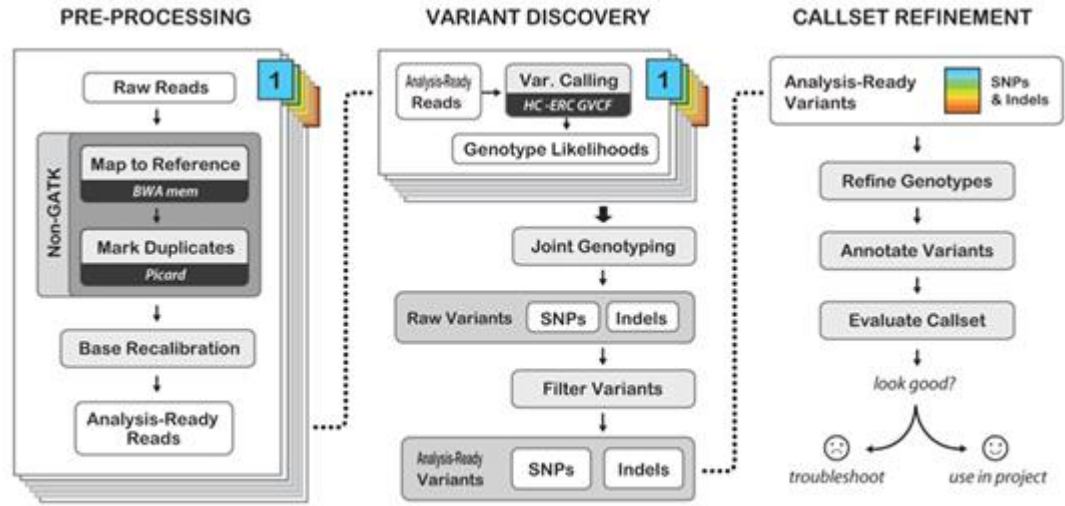
DNA izolasyonları, çalışılacak bireylerden alınan periferik venöz kan örneklerinden magnetik bead yöntemi ile Anatolia Magrev Whole Blood Genomic DNA Extraction Kit prosedürüne göre yapıldı.

3.2.1.2. Ekzom Zenginleştirme ve Sekanslama

Elde edilen genomik DNA'lar Trusight Enrichment kiti (Illumina, San Diego, CA) kiti ile ekzonlarca zenginleştirildikten sonra TruSeq Rapid Exome Library Prep kiti ile sekanslamaya hazır kütüphane haline getirildi. Sonrasında HiSeq 4000 cihazına yüklendikten sonra rapid sequencing mode ayarlarında sekanslama yapıldıktan sonra Illumina bcl2fastq yazılımı ile adaptör diziler temizlenerek son FASTQ dosyaları elde edildi. Bu işlemler İntergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nin koordinasyonunda Fulgent Genetics laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Elde edilen FASTQ verilerinin işlenmesi İntergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi'nde yapılmıştır.

3.2.1.3. NGS Ham Verinin İşlenmesi

Sekanslama cihazından elde edilen FASTQ formatındaki veriler GATK Best Practices önerilerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir (62) (Şekil 12).



Best Practices for Germline SNPs and Indels in Whole Genomes and Exomes - June 2016

Şekil12: GATK Best Practices Önerilen Çalışma Akışı

İlk aşamada cihazdan elde edilen FASTQ dosyaları (ILLUMINA CASAVA ve BCL2FASTQ ile adaptör dizilerden temizlenmiş) BWA 0.7.15 (63) ile hg19 üzerine haritalandı. Elde edilen SAM dosyası ayrıca PICARD ile elde edilen haritalanmamış ve okuma grupları eklenmiş BAM dosyası ile birleştirilerek readler üzerine metaveriler eklendi ve hardclip bazlar softclip olarak düzeltildi (62). PICARD ile PCR ve optik okuma çiftleri işaretlendikten ve koordinat sıralama yapıldıktan sonra GATK 3.8 ile Base Quality Score Recalibration uygulanarak varyant bulmaya hazır BAM dosyası elde edildi (62). Son BAM dosyasından varyantlar GATK3.8 HaplotypeCaller ile standart parametreler kullanılarak ve –ERC GVCF modunda elde edildi. Bu sayede referans bölgelerin de tamamının tespiti sağlandı (62). Elde edilen g.vcf formatındaki dosyalar sonradan GATK 3.8 GenotypeGVCFs komutuyla birlikte genotipleme yapılarak varyantlar elde edildi. Sonrasında GATK3.8 ile FilterVariants komutu ile SNP ve INDELler MQ, QD ve MQRanksum değerlerine göre filtrelendi. Filtreye takılmayan varyantlar PASS takılanlar FAIL olarak işaretlendikten sonra elde edilen VCF dosyası Intergen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezinde daha önceden elde edilmiş olan ekzom varyant veritabanı ile karşılaştırılarak sadece hedeflenen örneklerde görülen nadir varyantlar tespit edildi. Nadir varyantlar tespit edildikten sonra ANNOVAR ile anotasyona tabi tutuldu ve analize alındı (64).

3.2.2. Sanger Yöntemi ile WISP3 geni Dizi Analizi

3.2.2.1. DNA İzolasyonu Yapılması

DNA izolasyonları, çalışılacak bireylerden alınan 200 µl periferik kan örneklerinden, QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen Inc.) kullanılarak yapılmış ve PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) aşamasına kadar -20°C’ de saklanmıştır.

WISP3 geni 2. ekzon bölgesi için PCR primerleri tasarlanmıştır. Primer dizileri tabloda gösterilmektedir:

Tablo 2: PCR için kullanılan forward ve reverse primerler		
Gen	Oryantasyon	Sekans (5'->3')
WISP3_2F	İleri	TTGGAGGCTGAGTGAAGAATAGTTTAAGG
WISP3_2R	Geri	CAGTGCAATGAAAATAATGGGCTTCTG

3.2.2.2. PCR

Tabloda gösterilen protokole uygun olarak her bir örnek için PCR hazırlanmıştır:

Tablo 3: PCR bileşenleri	
İçerik	Reaksiyon başına miktar (µl)
dH2O	17,8 µl
10x Tampon (Complete, Bioron Inc.)	2,5 µl
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5 µl
İleri Primer (5 µM)	1 µl
Geri Primer (5 µM)	1 µl
SuperHotTaq DNA Polimeraz (Bioron Inc.)	0,2 µl
Kalıp DNA (20-50 ng/µl)	2 µl
Toplam	25 µl

Polimeraz zincir reaksiyonu için termal döngü protokolü tabloda gösterilmektedir.

Tablo 4: PCR termal döngü protokolü		
Sıcaklık (0C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	10:00	1
95	00:45	35
60	00:45	
72	00:45	
72	10:00	1
4	∞	1

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda ürün elde edilip edilemediği %2'lik agaroz jel elektroforezi kullanılarak kontrol edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu ürününün bant uzunluğu tabloda gösterilmektedir.

Tablo 5: PCR ürününün bant uzunluğu		
Gen	Ekzon	Bant uzunluğu (bç)
WISP3	2	692 bç

Sekanslama reaksiyonundan önce PCR ürünlerinin pürifikasyonu yapılmıştır. Bu aşamada NucleoFast® 96 PCR kiti (MACHEREY-NAGEL GmbH) kullanılmıştır.

3.2.2.3. Sanger Dizileme

Pürifikasyon aşamasından sonra PCR ürünlerinin sekanslaması, tabloda gösterilen protokole bağlı kalınarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 6: PCR ürünlerinin Sanger Sekanslama protokolü	
Bileşen	Reaksiyon başına miktar (µl)
dH ₂ O	10,8 µl
5x Reaksiyon Tamponu (Applied Biosystems Inc.)	4 µl
BigDye 3.1 Reaksiyon Karışımı (Applied Biosystems Inc.)	2 µl
Primer (İleri veya Geri) (5 µM)	1,2 µl
PCR ürünü (pürifiye edilmiş)	2 µl
Toplam	20 µl

Sekans reaksiyonları hem ileri hem de geri primerler ayrı ayrı kullanılarak, çift yönlü olarak hazırlanmıştır.

PCR ürünleri için termal döngü protokolü tabloda gösterildiği gibidir:

Tablo 7: PCR ürünleri termal döngü protokolü		
Sıcaklık (°C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	00:20	50
50	00:25	
72	02:00	

Termal döngü aşaması tamamlandıktan sonra sekans reaksiyonları, ZR-96 DNA Sequencing Clean-up Kit (Zymo Research Corp.) kullanılarak ve üretici firmanın protokolüne uyularak pürifiye edilmiştir. Pürifiye sekans ürünlerinin kapiller elektroforez işlemi ise, ABI 3130 (Applied Biosystems Inc.) kapiller elektroforez cihazı kullanılarak ve aynı şekilde üretici firma protokolüne uygun olarak gerçekleştirilmiştir. İki genin ekzonları ve ekzon-intron bağlantıları, elde edilen elektroforegramların SeqScape 2.5.0 (Applied Biosystems Inc.) yazılımı kullanılarak analizi ile incelenmiş ve sekans varyasyonları tespit edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Hastaların Klinik Bulguları

Çalışmaya Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilimdalı'na başvuran erkek hasta ve benzer klinik bulgulara sahip olan dört erkek kardeş alınmıştır. Kontrol grubu olarak aynı aileden cinsiyet gözetmeksizin iskelet displazi klinik bulguları olmayan 4 sağlam birey alınmıştır. Hastalık yaklaşık 6-7 yaşlarında distal interfalangial eklemlerde ağrılı nodüllerin çıkmasıyla başlayıp, ergenlik döneminde özellikle vertebra ve kalça tutulumuyla giden şiddetli bir progresyon göstermiştir. 20'li yaşlardan sonra ilerleme hızı azalmış ancak artmış vertebra, kalça eklemi ve alt ekstremitte büyük eklem tutulumlarından dolayı hastalar yardımcı yürüme araçlarına ihtiyaç duymuştur. Hasta bireylere ait klinik bulgular aşağıda ki tabloda gösterilmiştir.

Tablo 8: Hastaların klinik bulguları					
Hasta no	119	120	121	122	123
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Erkek	Erkek	Erkek
Akrabalık	+	+	+	+	+
Yaş	43 yaş	45 yaş	61 yaş	47 yaş	55 yaş
Boy	150 cm	145 cm	142 cm	155 cm	145 cm
Kilo	50 kg	45 kg	48 kg	55 kg	52 kg
Mikro/makrosefali	-	-	-	-	-
Öğrenme güçlüğü	-	-	-	-	-
Kaba yüz görünümü	-	-	-	-	-

Hasta no	119	120	121	122	123
Kısa boyun	+	+	+	+	+
Göğüs deformitesi	+	-	+	-	-
Kifoskolyoz	+	+	+	+	+
Vertebralarda yassılaşma ve interkostal mesafede artış	+	+	+	+	+
Rizomelik kısalık	-	-	+	-	-
El interfalangial eklemlerde genişleme	+	+	+	+	+
El interfalangial eklemlerde ağrı	+	+	+	+	+
Ellerde deformasyon	+	+	+	+	+
Eklemlerde kısıtlı ekstansiyon	+	+	+	+	+
Eritrosit Sedimentasyon hızı (ESR)	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Serum C-reaktif protein (CRP) seviyesi	Normal	Normal	Normal	Normal	Normal
Romatoid faktör (RF)	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Kalça çıkığı	Travma sonrası	14-15 yaşlarında	?	?	?
Osteopeni/ osteoporoz	+	+	+	+	+
Göz bulgusu	Astigmat miyop	Astigmat miyop	Astigmat miyop	Glokom sağ göz görme kaybı	Astigmat miyop



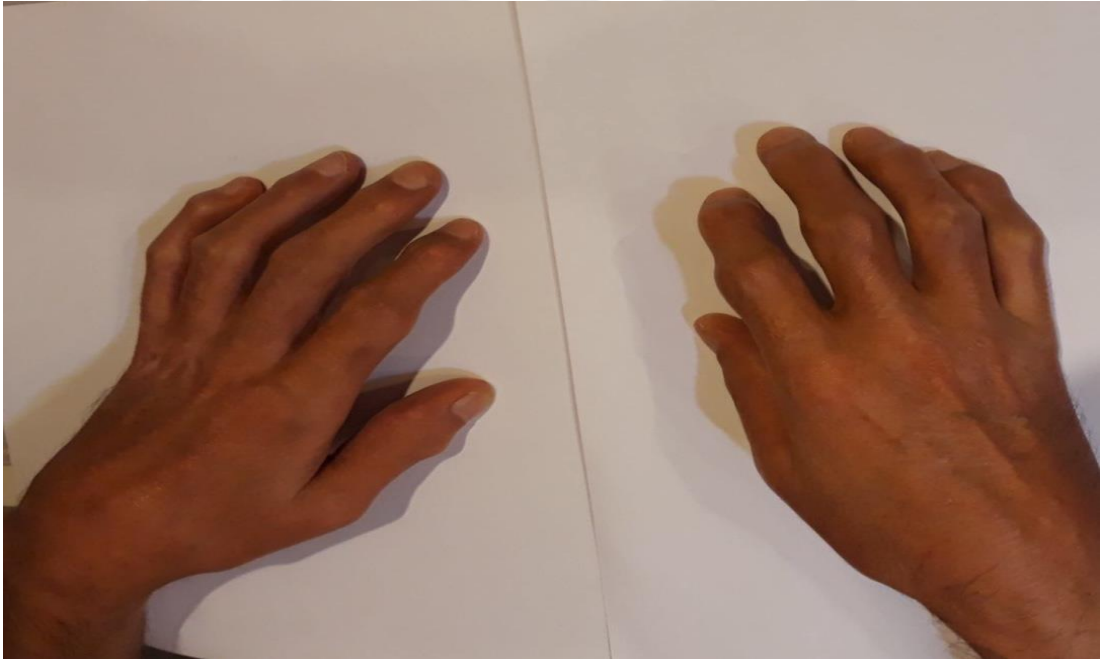
Resim 2: 119 no'lu (IV.22) hastanın el bulgusu



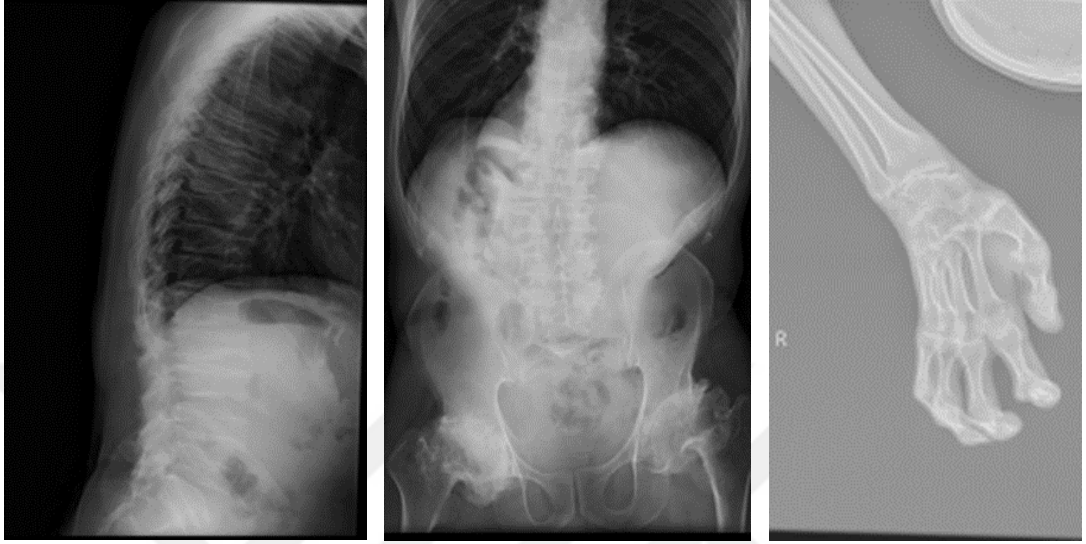
Resim 3: 120 no'lu (IV.21) hastanın el bulgusu



Resim 4: 122 no'lu (IV.19) hastanın el bulgusu



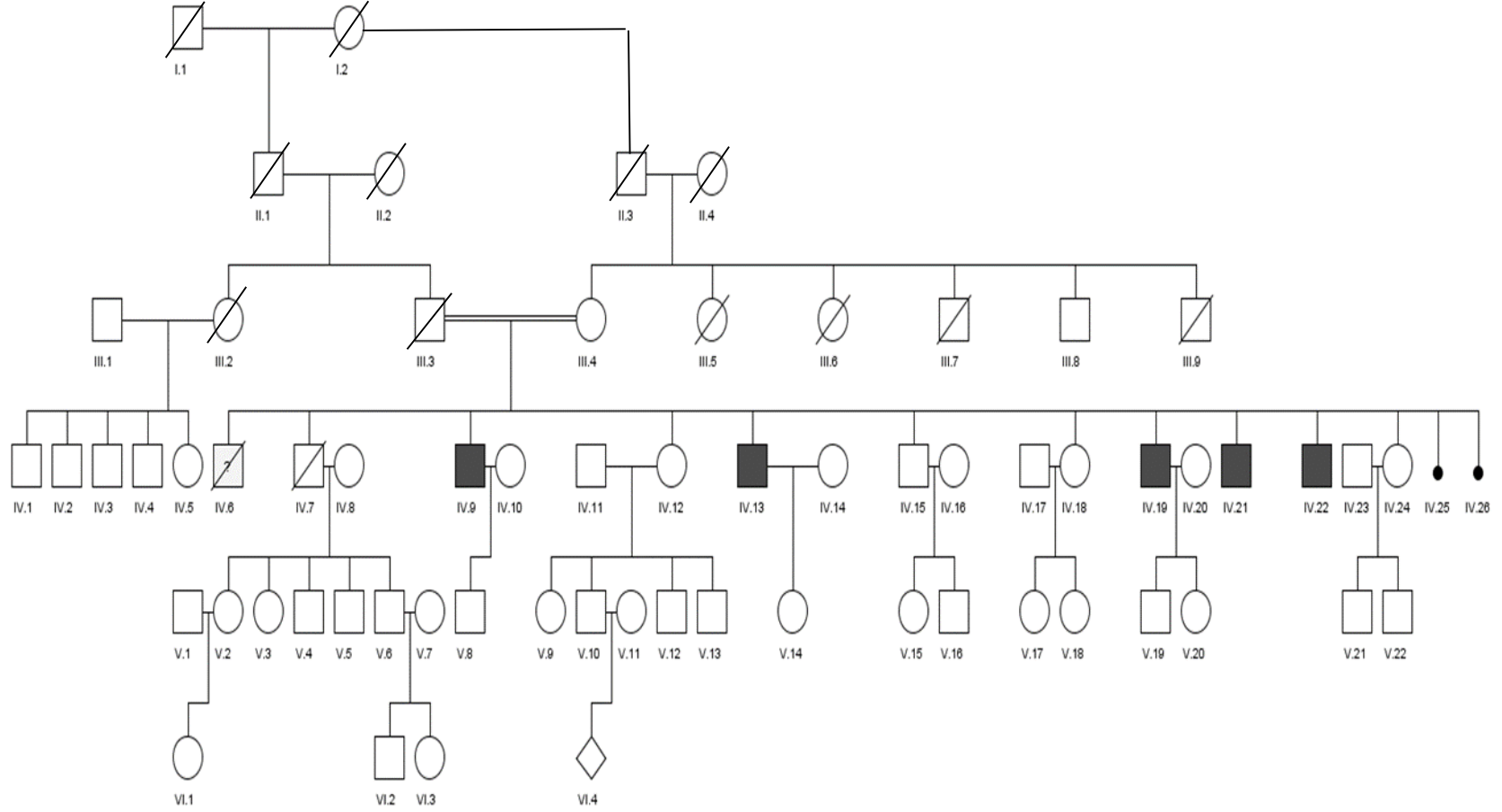
Resim 5: 123 no'lu (IV.13) hastanın el bulgusu



Resim 6: 119 no'lu hasta, lateral ve anteroposterior X-ray grafilerinde platispondili, intervertebral disk aralarında darlık, torakal vertebralarda kifotik açılanmada artış, sağ el X-Ray grafide metakarpofalangial ve interfalangial eklemlerde daralma, epifiz ve metafizde genişleme



Resim 7: 120 no'lu hasta, lateral ve anteroposterior X-Ray grafilerinde platisspondili, torakal intervertebral disk aralarında azalma, torakal vertebralarda kifotik açılanmada artış, skolyoz sol el-sağ el X-Ray grafide metakarpofalangial ve interfalangial eklemlerde daralma, epifiz ve metafizde genişleme, pençe el



Şekil 13: Aile ağacı

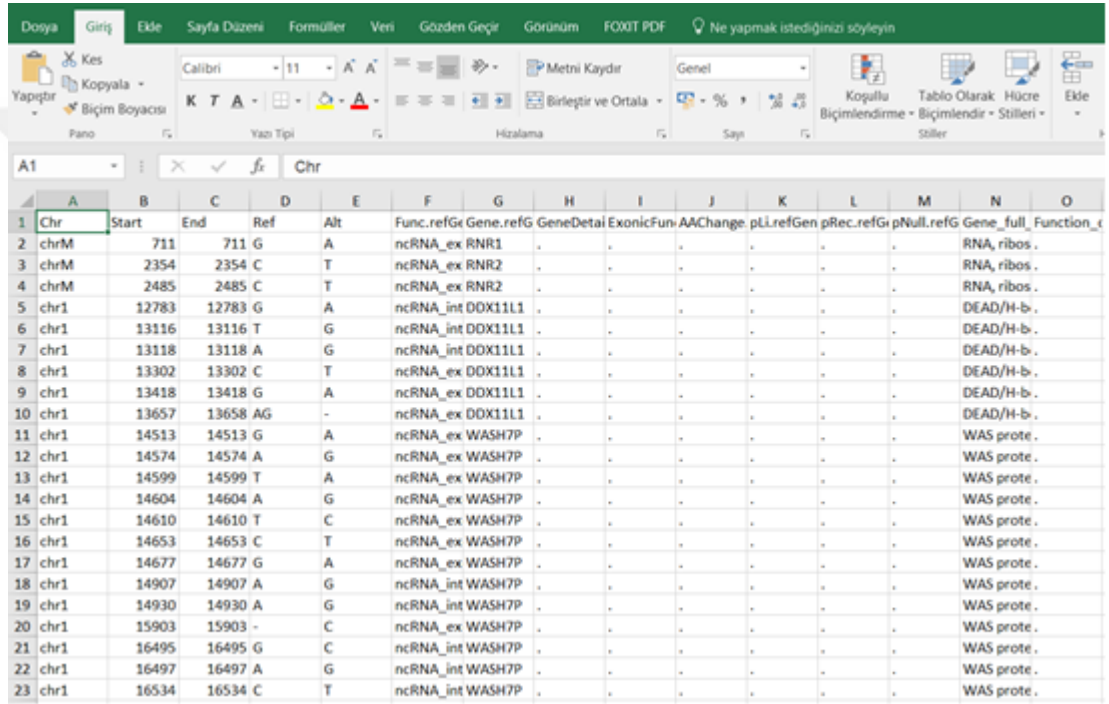
Tablo 9: Progresif Psödomatoid Displazinin Ayırıcı Tanısında Düşülmesi Gereken Hastalılar

Hastalık Adı	X'e bağlı spondiloeipfizyel displazi Tarda	Juvenil idiopatik artrit	Mukopolisakkaridozlar	Czech displazi	Spondiloeipmetafizyal displazi, Strudwick tip	Spondilometafizyel displazi corner fracture tip	Progresif psödomatoid displazi
OMIM no	313400	604302	PS6070 14	609162	184250	184255	208230
Genotip	SEDL	IL6, MIF	Multipl	COL2A1	COL2A1	?	WISP3
Kalıtımı	XLR		OR, XLR	OD	OD	OD	OR
Mental retardasyon	-	-	+/-	-	-		-
Kaba yüz görünümü	-	-	+	-	-		-
Göz bulgusu	Korneal opasite	üveit	Korneal opasite	-	Miyopi		-
Göğüs deformitesi	geniş göğüs	-	+	-	Güverci n göğsü		-
Kifoz/skolyoz	+	-	+	+	+		+
Vertebralarda anomali	+	-	+	+	+	+	+
Spondiloeipfiz yel displazi	+	-	+/-	+/-	+	Spondilo metafiz yel displazi	+
Eklemlerde kısıtlı hareket	+		+	+			+
Eklemler inflamasyonu	-	+		-	-	-	-
ESR, CRP seviyesi	normal	artış	normal	normal	normal	normal	normal
El bulgusu	-	-	Claw hand	Kısa metakar pal	Braki daktili		kampto daktili
Artrit	+	+	-	+	+/-	-	+
Boy kısalığı	+	-	+/-	-	+	+	+

Tabloda kullanılan kısaltmalar: PS: Fenotip serisi, +: var, -: yok

4.2. Tüm Ekzom Dizileme Bulguları

Ekzom analizinden elde edilen ham veri BWA, GATK ve ANNOVAR gibi çeşitli biyoinformatik yazılımlarla ile anotasyona tabi tutulup her hasta birey için ayrı ayrı olmak üzere excel formatında analiz edilebilecek bir çıktı alındı (Şekil14)



Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.refGene	Gene.refGene	GeneDetail	ExonicFunc	AAChange	pLI.refGene	pRec.refGene	pNull.refGene	Gene_full_Function
chrM	711	711	G	A	ncRNA_ex RNR1								RNA, ribos.
chrM	2354	2354	C	T	ncRNA_ex RNR2								RNA, ribos.
chrM	2485	2485	C	T	ncRNA_ex RNR2								RNA, ribos.
chr1	12783	12783	G	A	ncRNA_int DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	13116	13116	T	G	ncRNA_int DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	13118	13118	A	G	ncRNA_int DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	13302	13302	C	T	ncRNA_ex DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	13418	13418	G	A	ncRNA_ex DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	13657	13658	AG	-	ncRNA_ex DDX11L1								DEAD/H-b.
chr1	14513	14513	G	A	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14574	14574	A	G	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14599	14599	T	A	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14604	14604	A	G	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14610	14610	T	C	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14653	14653	C	T	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14677	14677	G	A	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	14907	14907	A	G	ncRNA_int WASH7P								WAS prote.
chr1	14930	14930	A	G	ncRNA_int WASH7P								WAS prote.
chr1	15903	15903	-	C	ncRNA_ex WASH7P								WAS prote.
chr1	16495	16495	G	C	ncRNA_int WASH7P								WAS prote.
chr1	16497	16497	A	G	ncRNA_int WASH7P								WAS prote.
chr1	16534	16534	C	T	ncRNA_int WASH7P								WAS prote.

Şekil 14: Ekzom analizinden elde edilen ham verinin excel formatında dokümantasyonundan bir örnektir

Elde edilen veriler sırasıyla aşağıdaki filtreler kullanılarak filtrelendi:

Minör allel frekansı (MAF) Skoru 0.01'den küçük olan değişiklikler

Okuma derinliği 10 üzeri olan değişimler

Homozigot olan tüm değişiklikler

Ekzonik fonksiyonuna göre: Stop kodon oluşturan değişimler, çerçeve kaymasına sebep olan insersiyon ve delesyonlar, sinonim olmayan değişimler

İnsiliko varyant tahmin programları (Mutation Taster, SHIFT, PolyPhen-2) skorlarına göre patolojik olan değişimler

Bu kriterlere uyarak yapılan filtreleme sonucu tespit edilen değişimler aşağıdaki tabloda sunulmuştur:

Tablo 10: Sırasıyla filtreleme sonucu gözlenen değişimlerin sayısı				
Hasta numarası	119	120	121	122
Ekzom analizi sonucu saptanan tüm değişimler	129288	123266	125578	124168
Minör allel frekansı (MAF) Skoru 0.01'den küçük olan değişiklikler	16253	16770	15800	17568
Okuma derinliği 10 üzeri olan değişimler	4278	3887	3874	3853
Homozigot olan tüm değişiklikler	180	116	145	111
Ekzonik fonksiyonuna göre	31	16	17	15
İnsiliko varyant tahmin programları skoruna göre	10	6	7	7
Hastanın klinik bulgularını açıklayan değişim sayısı	2	2	2	2

Yukarıdaki tabloda da görüldüğü gibi ekzom çalışması sonucu çok sayıda varyant tespit edilmiştir ancak tüm genom analizinin yaklaşık 30 da birini içeren ortalama 125000 varyantın son derece süzülmüş bir rakam olduğu görülmektedir. Her ne kadar ekzom analizi yapmış olsak da saptadığımız bu değişimlerin çoğu intervening sequence bölgeleri olarak adlandırılan kodlanmayan bölgelerdedir. Bu değişimler birçok bireyin genomunda ortak olarak bulunan benzerliklerdir ve herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmez. Toplumdaki bireylerin yüzde birinden fazlasında görülen bu değişimleri filtrelediğimiz zaman 16000 varyanta düştüğü görülmüştür. Pedigri analizi daha çok X'e bağlı kalıtım kalıbını düşündürsede hastaların akraba evliliği sonucu dünyaya gelmiş olmaları ve klinik bulguları göz önüne alındığında öncelikle otozomal resesif kalıtım kalıbına uygun olarak homozigot değişimler filtrelenmiştir. Bu değişimlerin önemini belirlemek için öncelikle stop kodon oluşturan varyantlar, çerçeve kaymasına sebep olan insersiyon ve delesyonlar, sinonim olmayan varyantlar filtrelenerek değişimin fonksiyonuna yönelik anotasyon yapılmıştır. Fonksiyona yönelik anotasyon yaparken başlıca Mutation Taster (<http://www.mutationtaster.org/>), SIFT Human Coding SNPs (http://sift.jcvi.org/www/SIFT_chr_coords_submit.html) ve PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/dbsearch.shtml>) gibi insiliko varyant tahmin programları skorlarına göre patolojik olanlar seçilmiştir. Bu aşamalardan sonra saptanan tüm değişimler her hasta bireyinki ayrı ayrı olmak üzere excel formatında aşağıda sırasıyla görselleştirilmiştir (Şekil 15, 16, 17, 18).

Dosya	Giriş	Ekle	Sayfa Düzeni	Formüller	Veri	Gözden Geçir	Görünüm	FOXIT PDF	Ne yapmak istediğinizi söyleyin						
Yapıştır	Kes	Kopyala	Biçim Boyacı	Pano	Yazı Tipi	Hizalama	Sayı	Koşullu Biçimlendirme	Tablo Olarak Biçimlendir	Hücre Stilleri	Ekle	Sil			
W129290															
1	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.re	Gene.re	ExonicF	AAChar	pLi.refC	pRec.re	pNull.re	Gene_fi	Funcio	Disease
5371	chr1	78098555	78098555	C	T	exonic	ZZZ3	nonsynon	ZZZ3:NM_	0,99973	0,00027	1,79E-11	zinc finger	.	.
42487	chr6	1,12E+08	1,12E+08	C	A	exonic	WISP3	stopgain	WISP3:NM_	0,008091	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION.	.
42488	chr6	1,12E+08	1,12E+08	G	A	exonic	WISP3	nonsynon	WISP3:NM_	0,008091	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION.	.
113590	chr19	36036001	36036001	T	C	exonic	GAPDH5	nonsynon	GAPDH5:N_	0,135772	0,863333	0,000894	glyceralde	FUNCTION.	.
113822	chr19	38985093	38985093	C	T	exonic	RYR1	nonsynon	RYR1:NM_	1,61E-07	1	2,45E-26	ryanodine	FUNCTION DISEASE: N	.
126749	chrX	19555842	19555842	C	T	exonic	SH3KBP1	nonsynon	SH3KBP1:N_	0,998643	0,001357	2,23E-08	SH3-doma	FUNCTION.	.
126865	chrX	37029450	37029450	G	C	exonic	FAM47C	nonsynon	FAM47C:N_	0,057797	0,866977	0,075226	family witt	.	.
127047	chrX	49028363	49028363	C	T	exonic	PLP2	nonsynon	PLP2:NM_	0,112369	0,777772	0,109859	proteolipic	FUNCTION.	.
127545	chrX	1,01E+08	1,01E+08	G	A	exonic	ARMCX4	nonsynon	ARMCX4:N_	.	.	.	armadillo t.	.	.
127572	chrX	1,02E+08	1,02E+08	G	A	exonic	BEX1	nonsynon	BEX1:NM_	0,572648	0,381641	0,045711	brain expri	FUNCTION.	.

Şekil 15: 119 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri

Dosya Giriş Ekle Sayfa Düzeni Formüller Veri Gözden Geçir Görünüm FOXIT PDF Ne yapmak istediğinizi söyleyin																
Kes Kopyala Yapıştır Biçim Boyacısı Calibri 11 K T A Metni Kaydır Birleştir ve Ortala Genel Koşullu Biçimlendirme Tablo Olarak Biçimlendir Hücre Stilleri																
J40199 WISP3:NM_198239:exon2:c.C210A:p.C70X,WISP3:NM_003880:exon3:c.C156A:p.C52X																
1	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.re	Gene.re	GeneDe	ExonicF	AAChar	pLi.refC	pRec.re	pNull.re	Gene_fi	Funcio	
40199	chr6	1,12E+08	1,12E+08	C	A	exonic	WISP3	.	stopgain	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
40200	chr6	1,12E+08	1,12E+08	G	A	exonic	WISP3	.	nonsynony	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
98958	chr17	66981048	66981048	G	T	exonic	ABCA9	.	nonsynony	ABCA9:NM_1,28E-26	0,089816	0,089816	0,910184	ATP bindin	FUNCTION	
121120	chrX	37029450	37029450	G	C	exonic	FAM47C	.	nonsynony	FAM47C:N_0,057797	0,866977	0,866977	0,075226	family wit		
121336	chrX	52842168	52842168	C	A	exonic	XAGE5	.	nonsynony	XAGE5:NM_0,000119	0,384359	0,384359	0,615521	X antigen f		
121757	chrX	1,01E+08	1,01E+08	G	A	exonic	ARMCX4	.	nonsynony	ARMCX4:N.	.	.	.	armadillo i		

Şekil16: 120 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri

Dosya Giriş Ekle Sayfa Düzeni Formüller Veri Gözden Geçir Görünüm FOXIT PDF Ne yapmak istediğinizi söyleyin																
Kes Kopyala Yapıştır Biçim Boyacısı Calibri 11 K T A Metni Kaydır Birleştir ve Ortala Genel Koşullu Biçimlendirme Tablo Olarak Biçimlendir Hücre Stilleri																
J41027 WISP3:NM_198239:exon2:c.G302A:p.G101E,WISP3:NM_003880:exon3:c.G248A:p.G83E																
1	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.re	Gene.re	GeneDe	ExonicF	AAChar	pLi.refC	pRec.re	pNull.re	Gene_fi	Funcio	
41026	chr6	1,12E+08	1,12E+08	C	A	exonic	WISP3	.	stopgain	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
41027	chr6	1,12E+08	1,12E+08	G	A	exonic	WISP3	.	nonsynony	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
101169	chr17	66981048	66981048	G	T	exonic	ABCA9	.	nonsynony	ABCA9:NM_1,28E-26	0,089816	0,089816	0,910184	ATP bindin	FUNCTION	
123407	chrX	37029450	37029450	G	C	exonic	FAM47C	.	nonsynony	FAM47C:N_0,057797	0,866977	0,866977	0,075226	family wit		
124015	chrX	99925943	99925943	G	A	exonic	SRPX2	.	nonsynony	SRPX2:NM_0,962529	0,037467	0,037467	3,11E-06	sushi repe	FUNCTION	
124564	chrX	1,52E+08	1,52E+08	C	T	exonic	MAGEA3	.	nonsynony	MAGEA3:N_0,37334	0,579395	0,579395	0,047264	MAGE fam	FUNCTION	
125070	chr19_glc	27459	27459	C	T	exonic	KIR2DL2	.	nonsynony	KIR2DL2:N.	.	.	.	killer cell ir	FUNCTION	

Şekil 17: 121 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri

Dosya Giriş Ekle Sayfa Düzeni Formüller Veri Gözden Geçir Görünüm FOXIT PDF Ne yapmak istediğinizi söyleyin																
Kes Kopyala Yapıştır Biçim Boyacısı Calibri 11 K T A Metni Kaydır Birleştir ve Ortala Genel Koşullu Biçimlendirme Tablo Olarak Biçimlendir Hücre Stilleri																
J40298 WISP3:NM_198239:exon2:c.G302A:p.G101E,WISP3:NM_003880:exon3:c.G248A:p.G83E																
1	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func.re	Gene.re	GeneDe	ExonicF	AAChar	pLi.refC	pRec.re	pNull.re	Gene_fi	Funcio	
40297	chr6	1,12E+08	1,12E+08	C	A	exonic	WISP3	.	stopgain	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
40298	chr6	1,12E+08	1,12E+08	G	A	exonic	WISP3	.	nonsynony	WISP3:NM_0008091	0,930355	0,930355	0,061554	WNT1 ind	FUNCTION	
54017	chr9	65506658	65506658	T	G	exonic	SPATA31A	.	nonsynony	SPATA31A.	.	.	.	.	.	
122223	chrX	49028363	49028363	C	T	exonic	PLP2	.	nonsynony	PLP2:NM_0,112369	0,777772	0,777772	0,109859	proteolipic	FUNCTION	
122690	chrX	99925943	99925943	G	A	exonic	SRPX2	.	nonsynony	SRPX2:NM_0,962529	0,037467	0,037467	3,11E-06	sushi repe	FUNCTION	
123389	chrX	1,54E+08	1,54E+08	C	T	exonic	FLNA	.	nonsynony	FLNA:NM_1	1,24E-08	1,24E-08	2,39E-21	filamin A	FUNCTION	
123725	chr19_glc	27459	27459	C	T	exonic	KIR2DL2	.	nonsynony	KIR2DL2:N.	.	.	.	killer cell ir	FUNCTION	

Şekil 18: 122 no'lu hasta bireyin ilk 5 filtreleme sonucu değişimleri

Hastalığa sebep olan patolojik varyantı bulmak için insan genomik varyant arama motoru olan VarSome (<https://varsome.com/>) kombine veri tabanı kullanıldı. Fitreleme işlemi sonucu 10'un altına düşen değişimler VarSome veritabanında aşağıdaki özellikleri göz önünde bulundurularak eleme işlemine tabi tutuldu:

Belirli bir değişimin türler arasında evrimsel korunmuşluğunu gösteren GERP skoru (genomic evolutionary rate profiling score) 2'nin üzerinde olanlar

Evrimsel olarak oluşmuş olası benign varyantları dışlayan, hem kodlayan hem de kodlamaya katılmayan bölgelerdeki değişimleri de değerlendirmeye yönelik oluşturulmuş nöral network ağı kullanarak yapılan skorlamayı gösteren DANN skoru 1'e yakın değişimler (65)

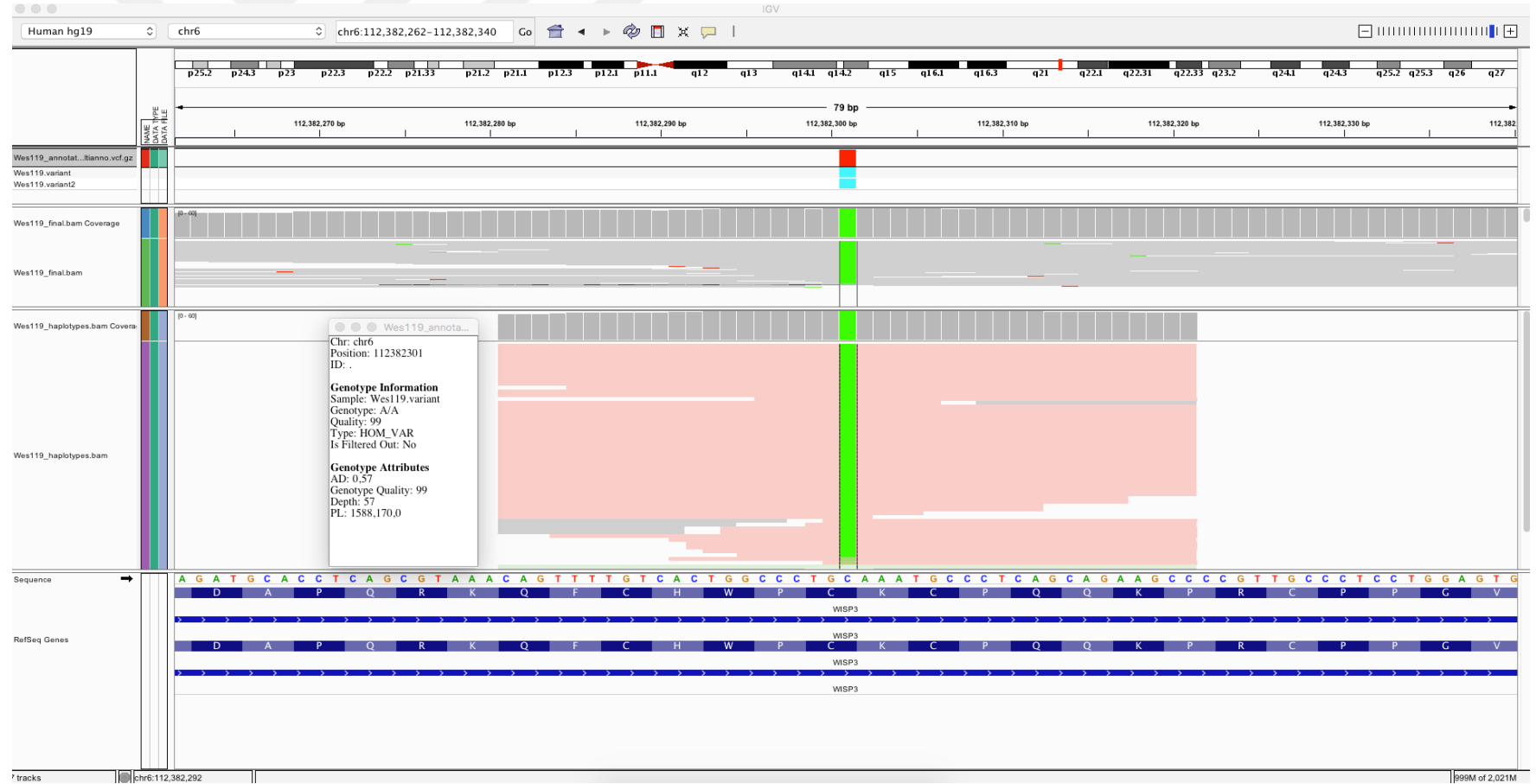
Tüm ekzom verilerinde allel saptanma sıklığı 0,01'in altında olan değişimler
İnsiliko varyant analiz programlarına göre hastalık sebebi olanlar

Hastaların klinik bulgularını içeren herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmiş olanlar

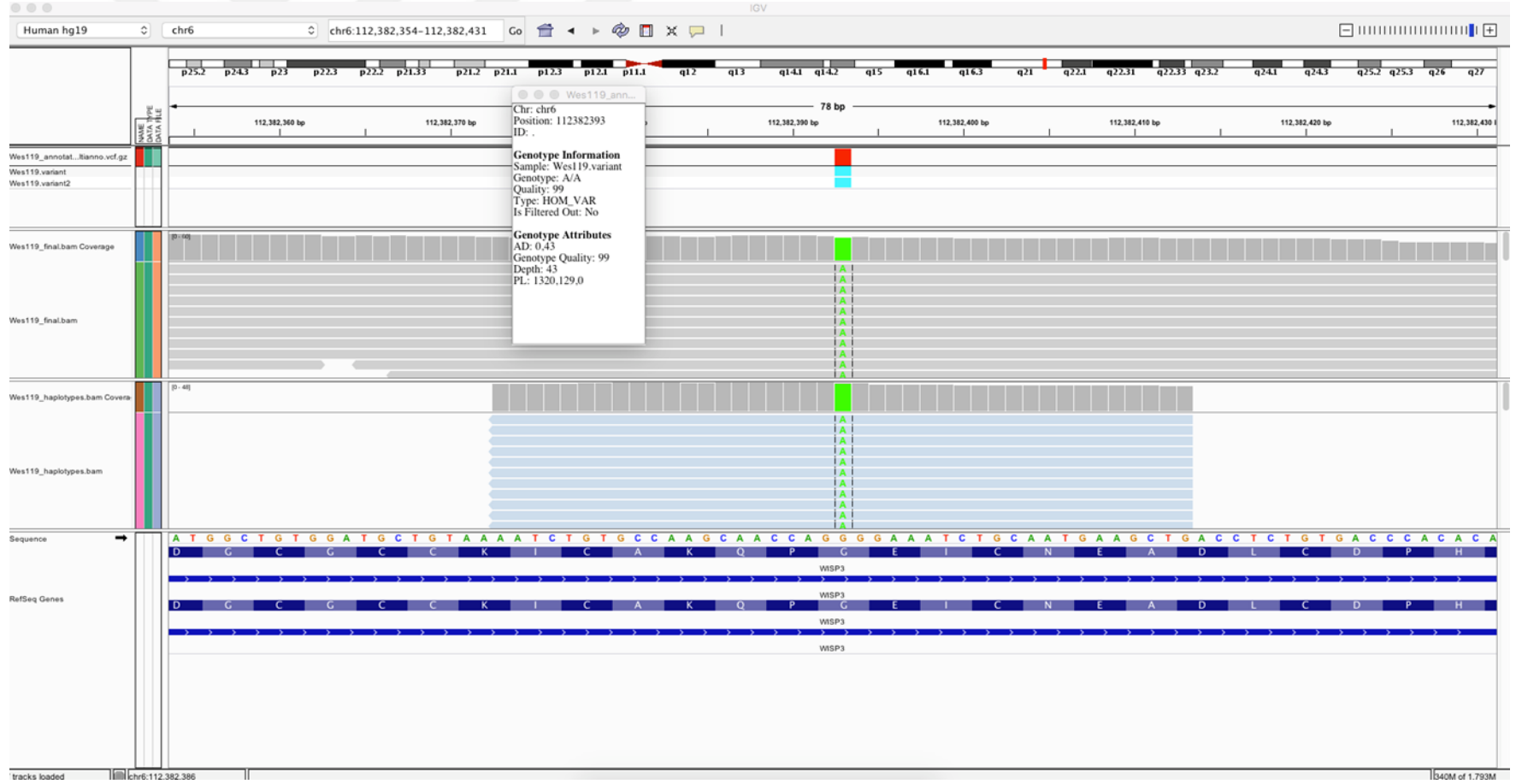
Tüm bu anotasyon işlemleri sonucu hastaların klinik bulguları ve kalıtım kalıbı ile tam olarak uyumlu olan iki tane değişim tespit edildi (Tablo 5). Bu değişimlerden WISP3 geni NM_198239.1 transkriptinin 2.ekzonunda yer alan c.210C>A; (p.Cys70Ter) nonsense homozigot varyantın ve c.302G>A; (p.Gly101Glu) missense homozigot varyantın hastalığa sebep olan patolojik mutasyonlar olduğu görüldü. (rs121908901, rs147337485) (Şekil 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26). Tüm ekzom analizi sonucu tespit edilen yaklaşık 125000 varyant doğru filtreleme ile tek varyanta kadar süzölmüş ve hastalara otozomal resesif kalıtmalı Progresif Psödomatoid Displazi tanısı konulmuştur.

Kontrol olgularına yapılan Sanger Dizileme sonrasında anne ve diğer erkek kardeşin taşıyıcı olduğu, diğer iki bireyin ise her iki mutasyonu da taşımadığı görülmüştür .

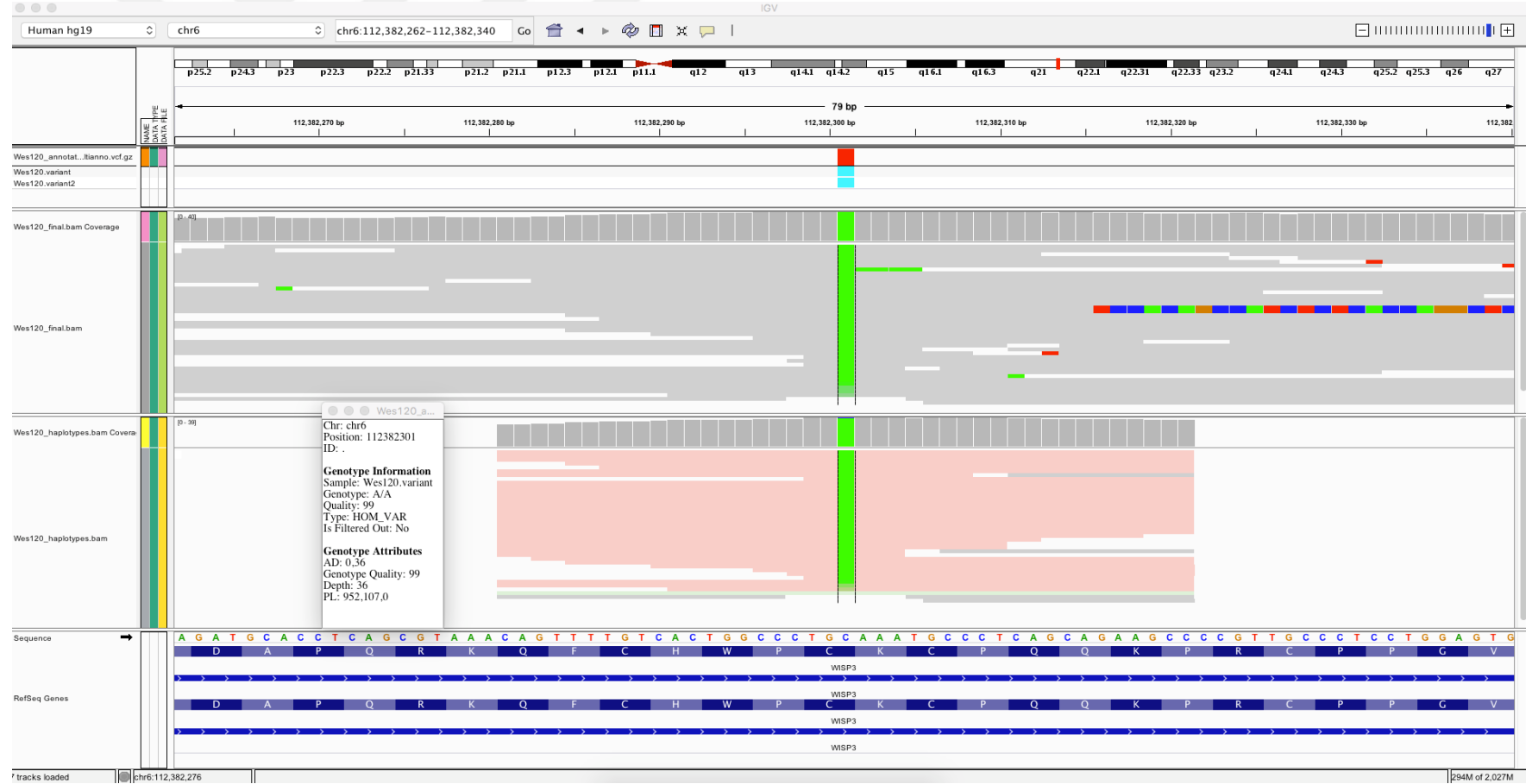
Tablo 11: WISP3 genindeki aday değişimlerin VarSome veritabanı değerlendirmeleri		
Kromozomal pozisyonu	chr6: 112382301	chr6: 112382393
HGVS DNA referansı	NM_198239.1: c.210C>A	NM_198239.1: c.302G>A
HGVS protein referansı	NP_937882: p.Cys70Ter	NP_937882: p.Gly101Glu
Varyant tipi	Anlamsız, stop kodon oluşturan	Yanlış anlamlı
dbSNP ID	rs121908901	rs147337485
Genotipi	Homozigot	Homozigot
GERP RS skoru	2.24	4.6199
DANN skoru	0.9937	0.9978
Ekzom verilerindeki popölasyon sıklığı	0.00004064	0.002467
İn siliko varyant analiz değerlendirmeleri	Hastalık sebebi	Hastalık sebebi
İlişkilendirildiği hastalık	Çocukluk Çağının İlerleyici Psödoromatoid Artropatisi	
İnsan geni mutasyon veri tabanı numarası (The Human Gene Mutation Database, HGMD no)	CM991252	CM129541



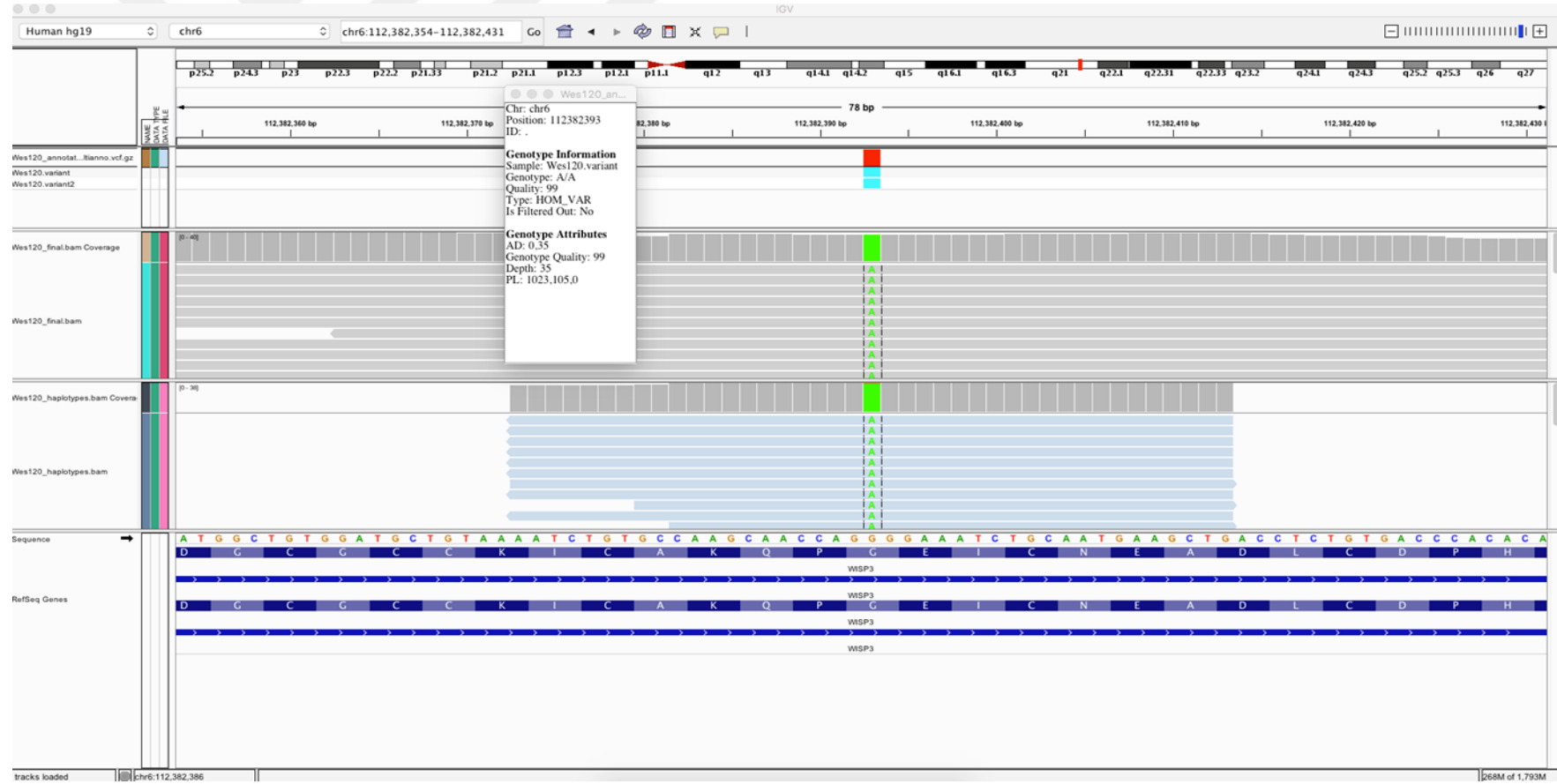
Şekil 19: 119 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği



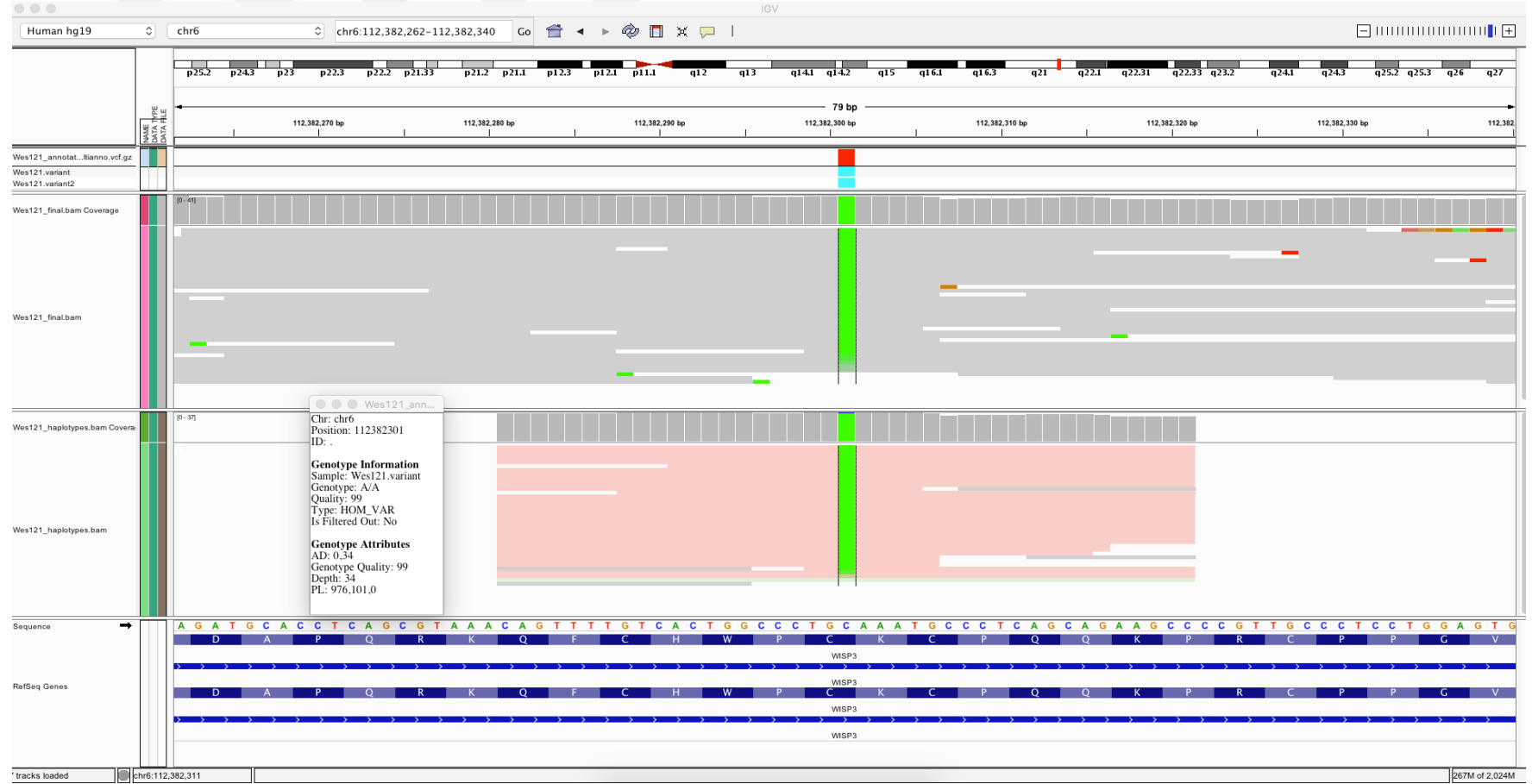
Şekil 20: 119 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği



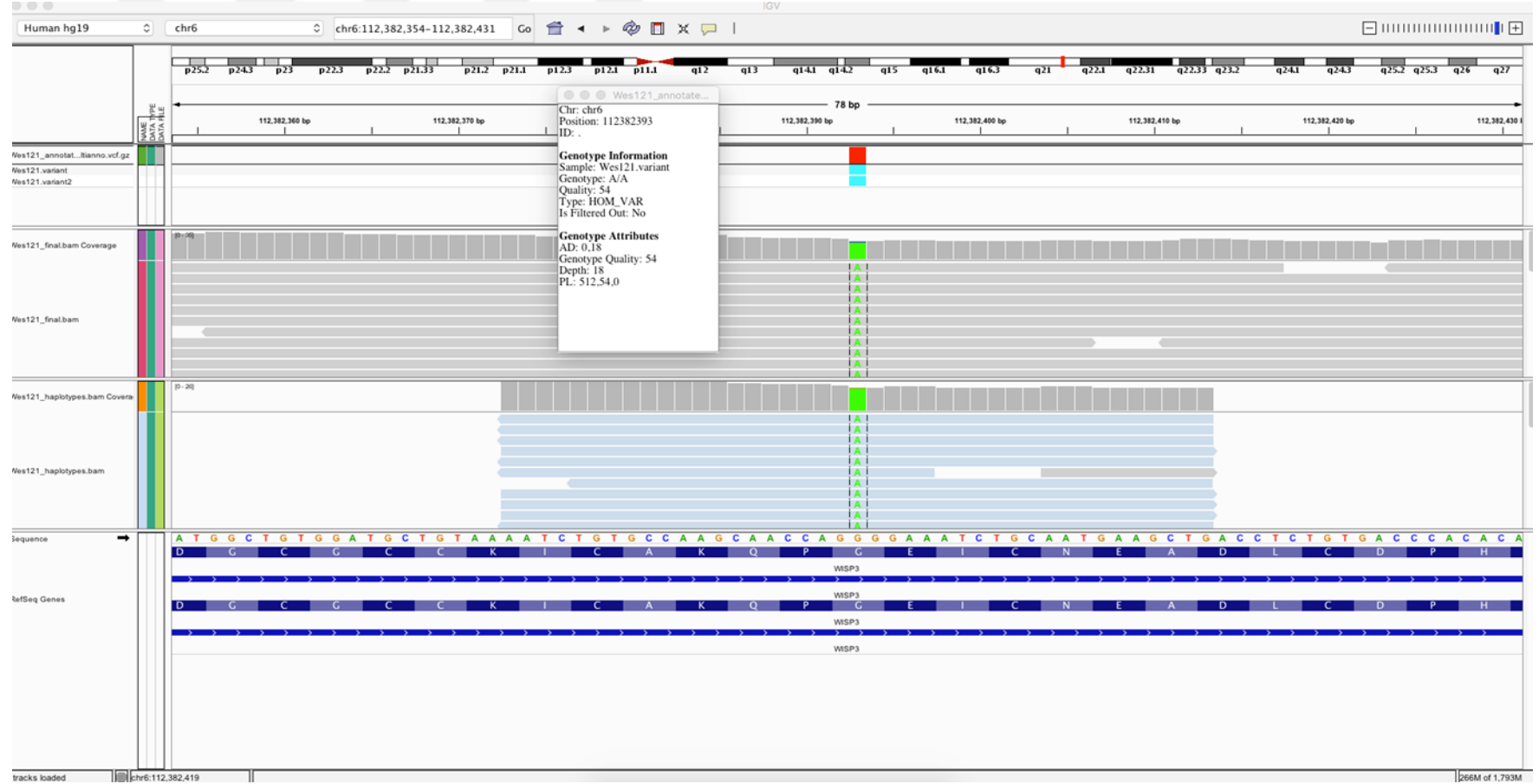
Şekil 21: 120 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği



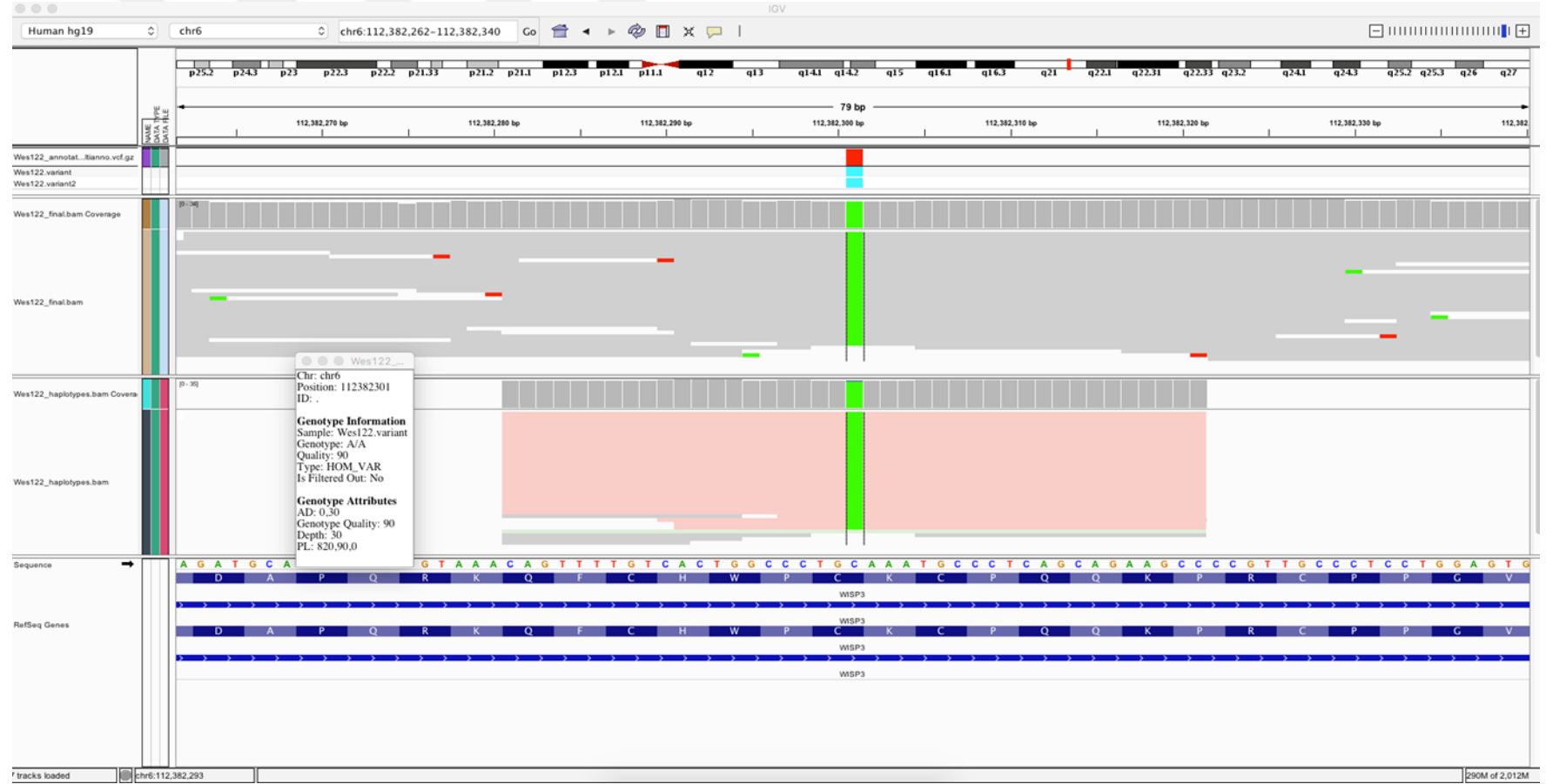
Şekil 22: 120 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği



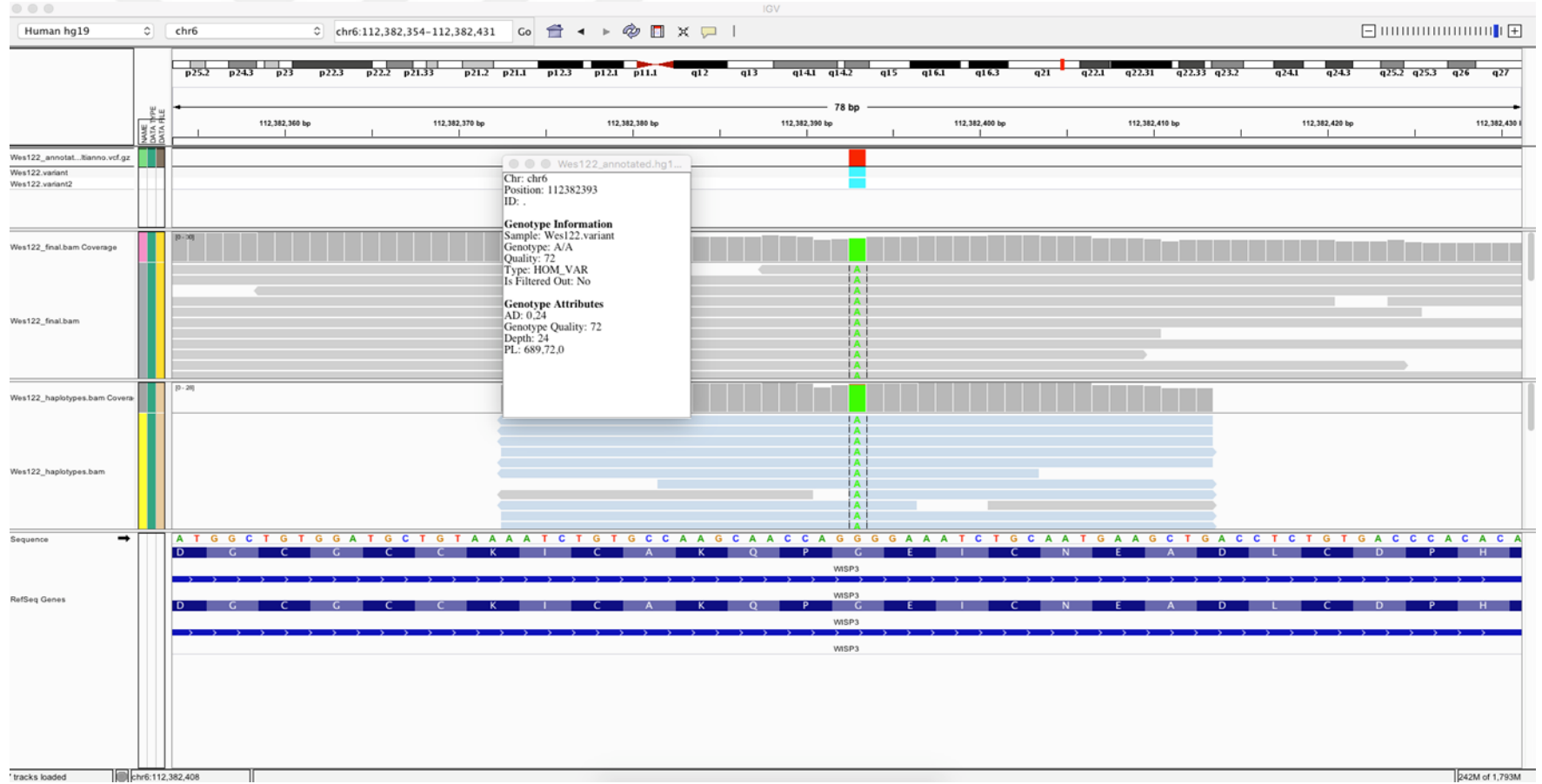
Şekil 23: 121 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği



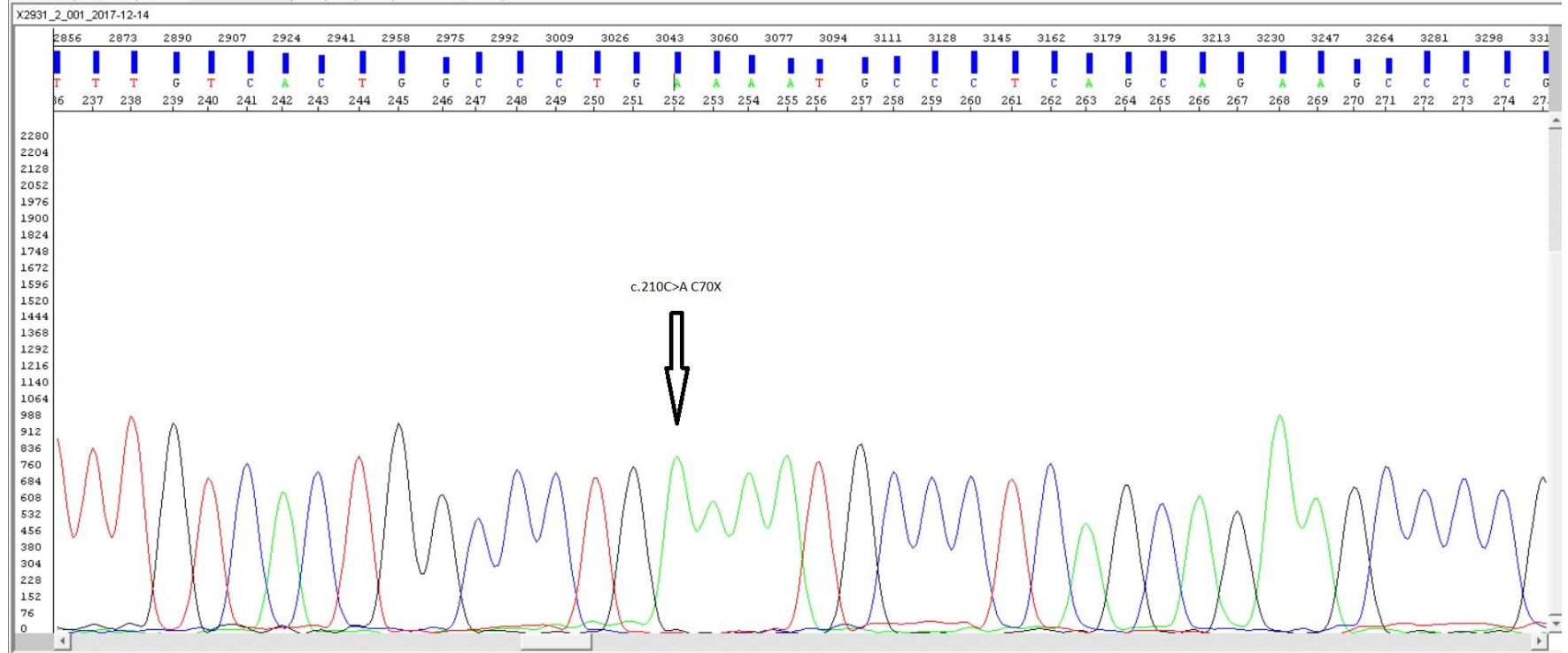
Şekil 24: 121 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği



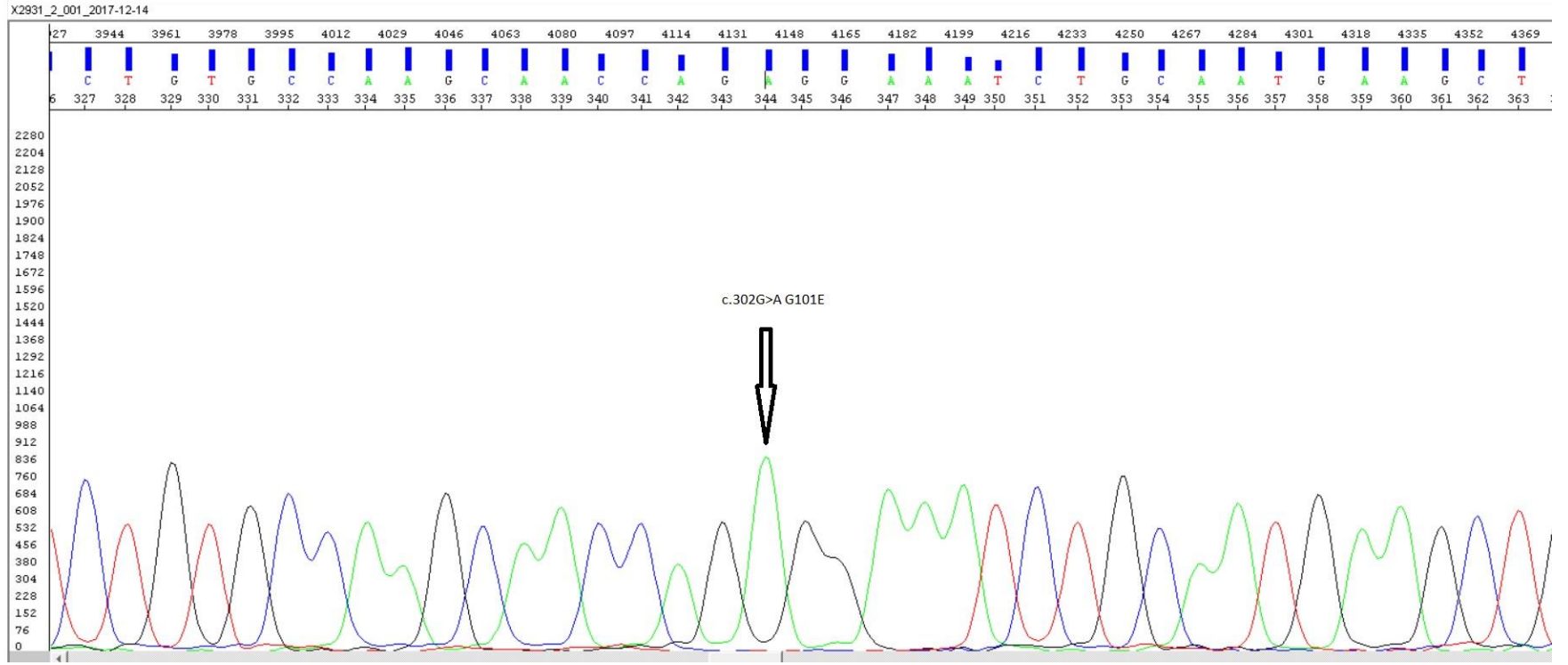
Şekil 25: 122 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişikliği



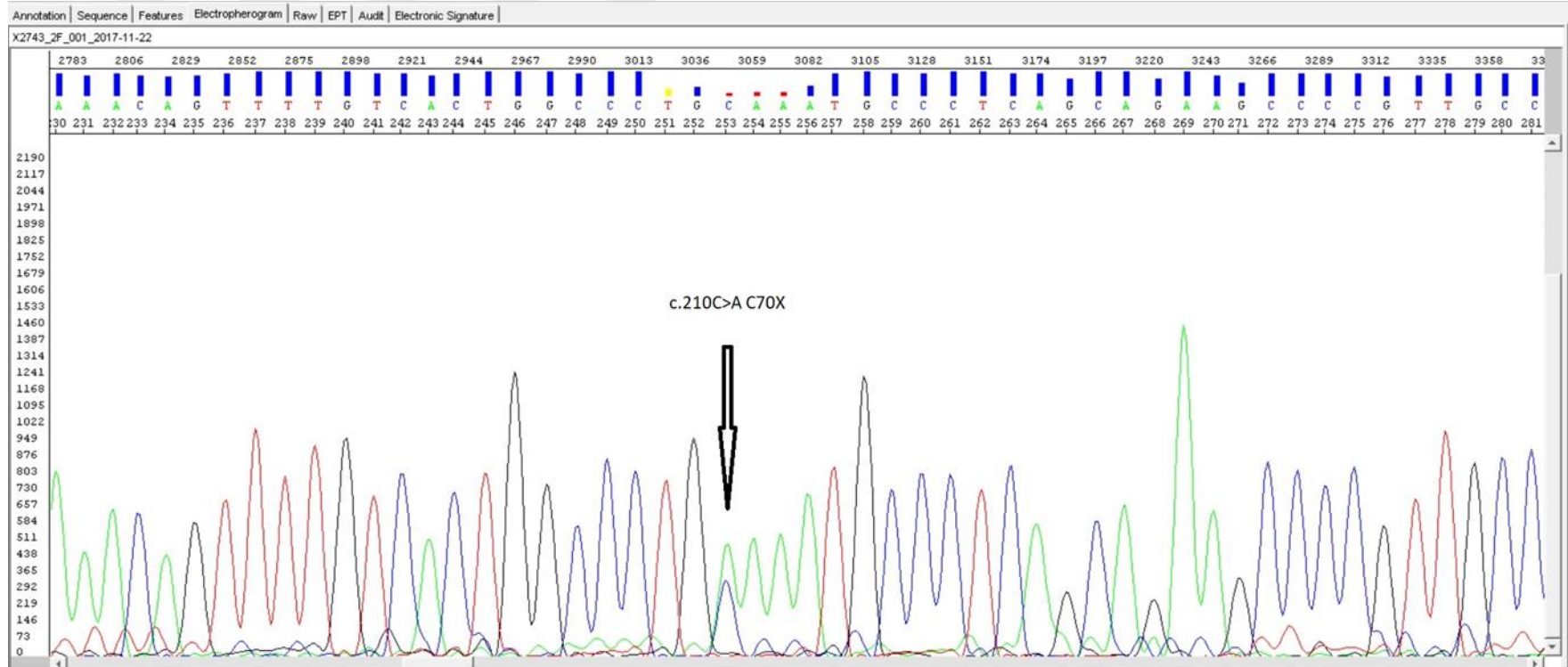
Şekil 26: 122 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişikliği



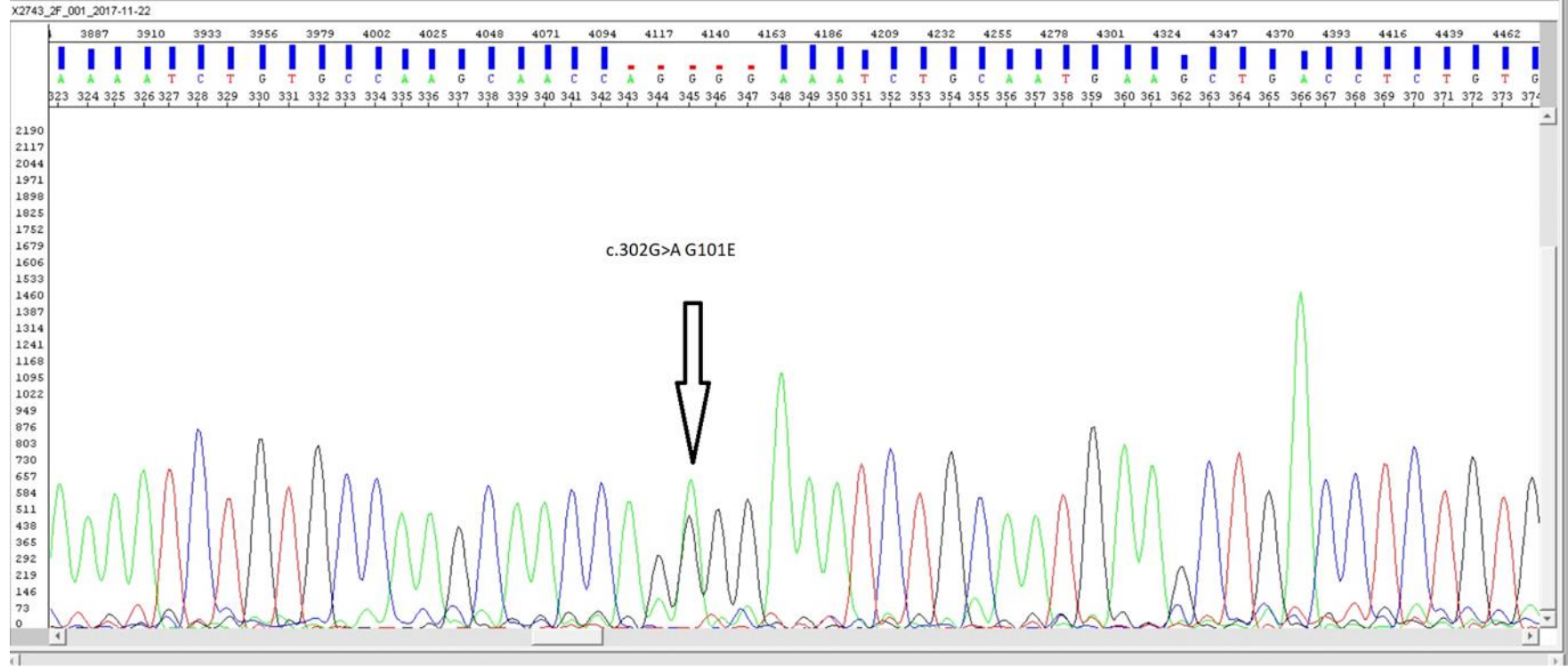
Şekil 27: 123 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.210C>A homozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



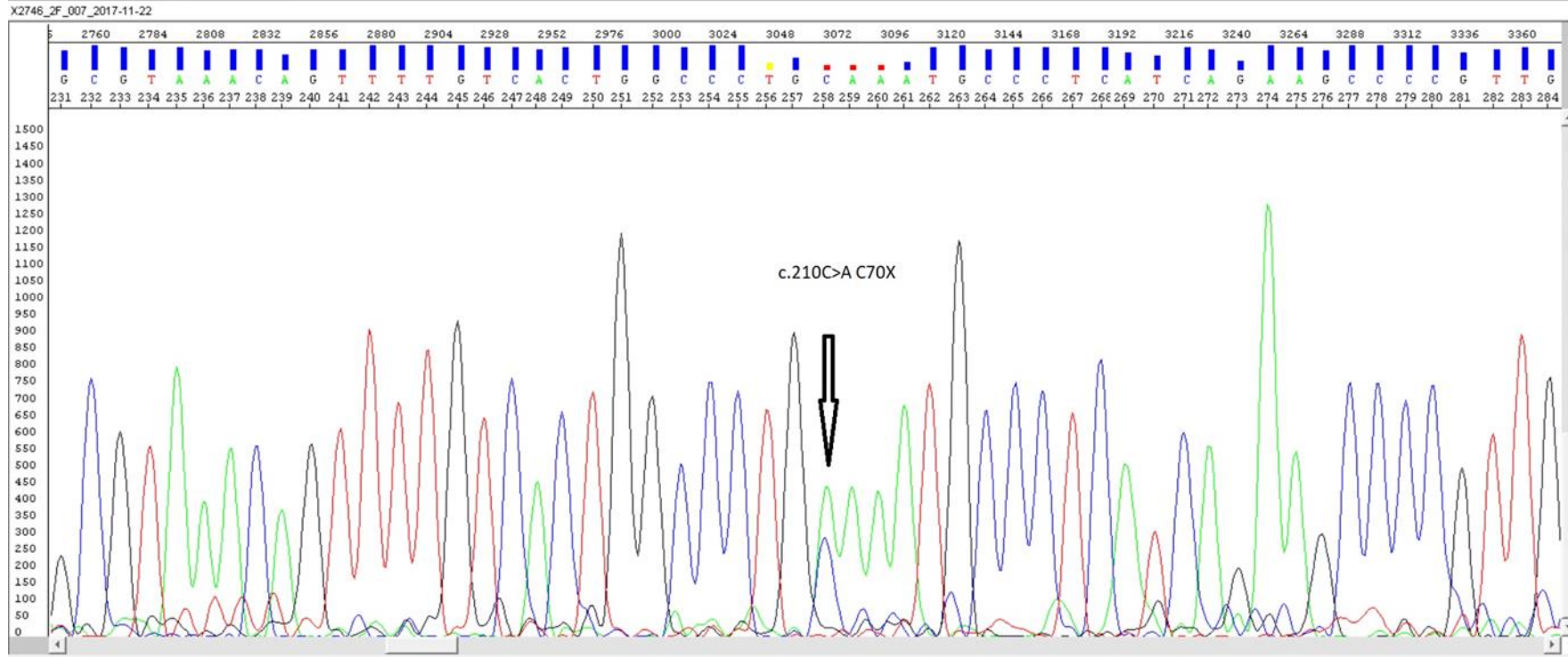
Şekil 28: 123 numaralı hasta bireyin NM_198239.1: c.302G>A homozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



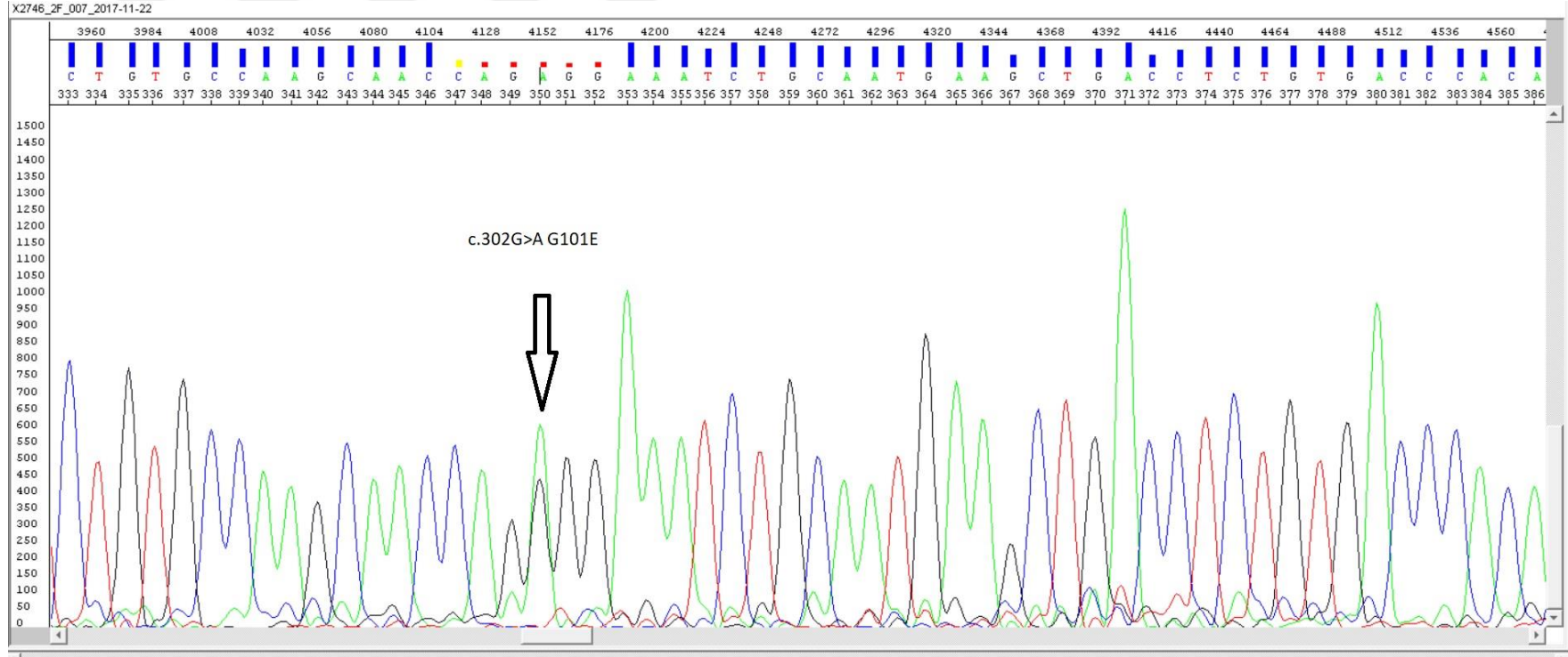
Şekil 29: Aile ağacına göre III 4. No'lu bireye ait NM_198239: c.210C>A; NP_937882.1:p.Cys70Ter heterozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



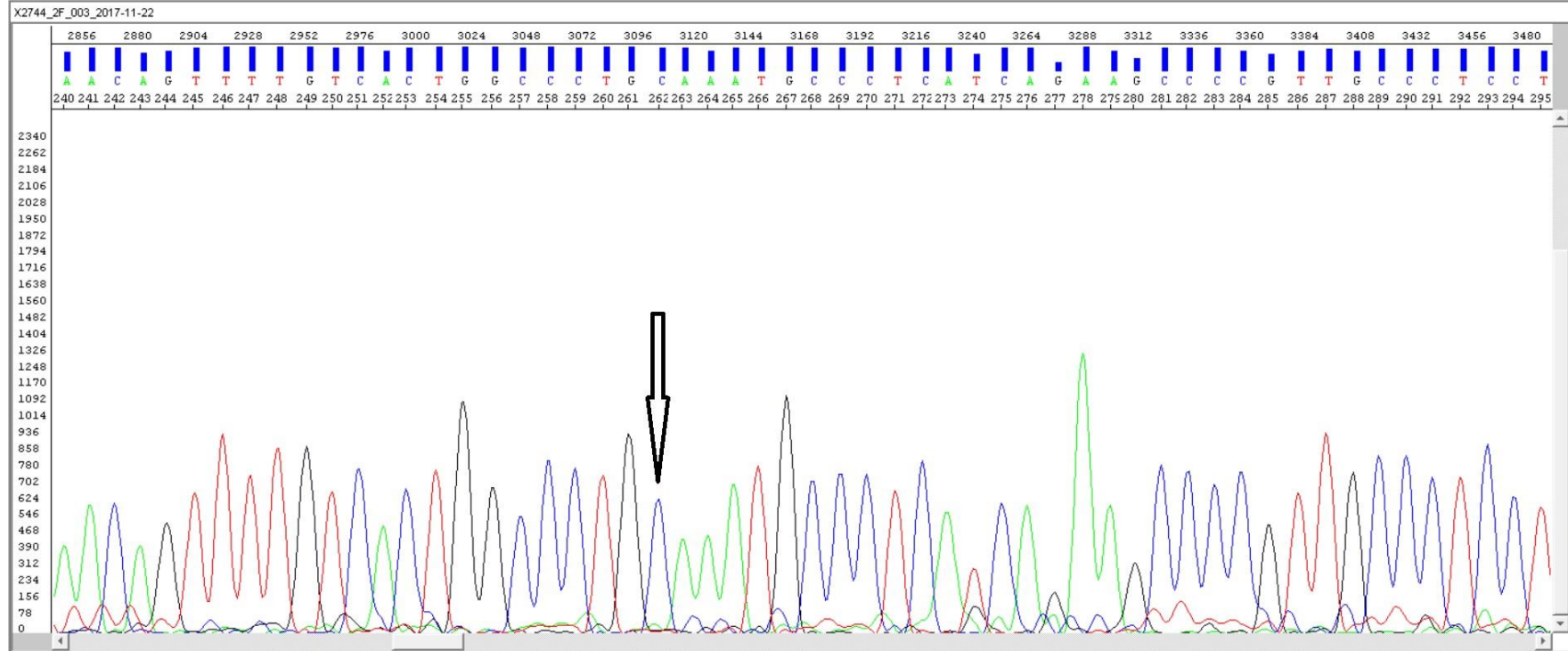
Şekil 30: Aile ağacına göre III 4. No'lu bireye ait NM_198239: c.302G>A; NP_937882.1:p.G101E heterozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



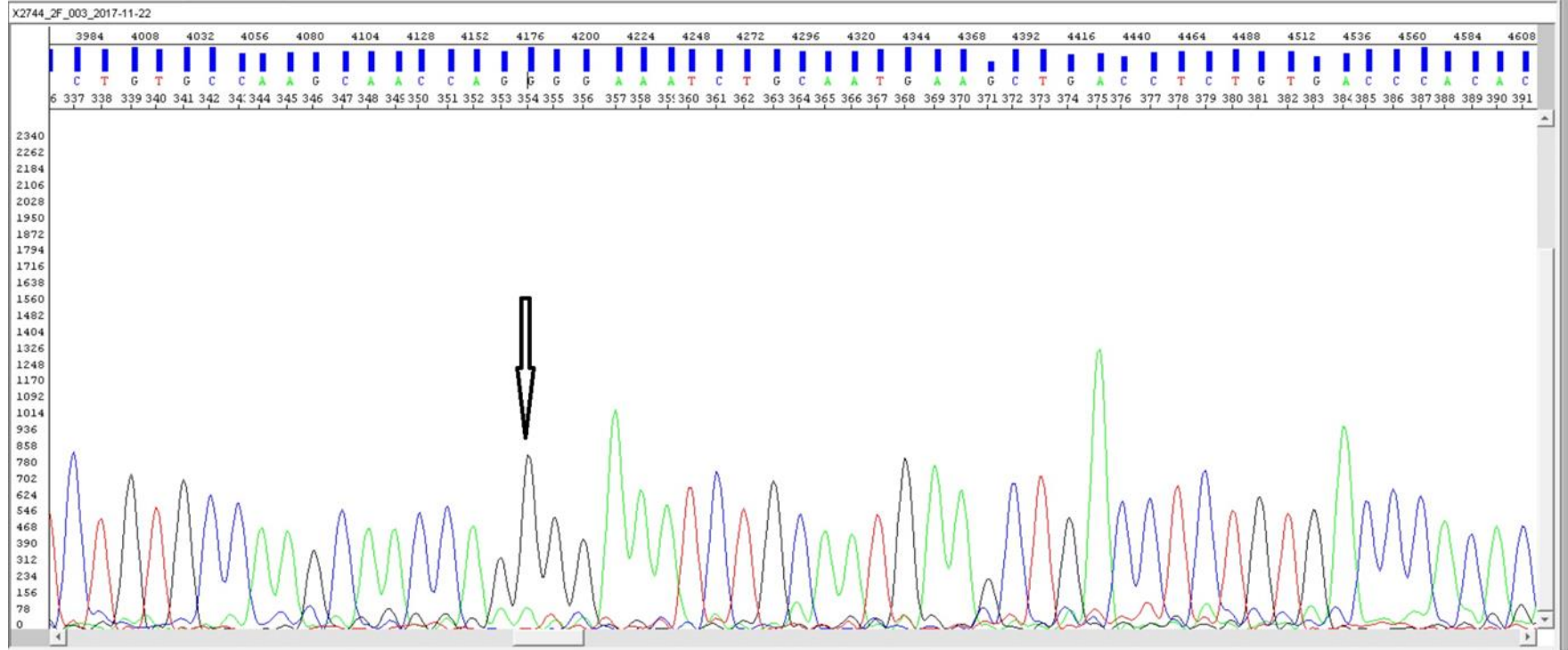
Şekil 31: Aile ağacına göre IV.15 No'lu bireye ait NM_198239.1: c.210C>A; NP_937882.1:p.Cys70Ter heterozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



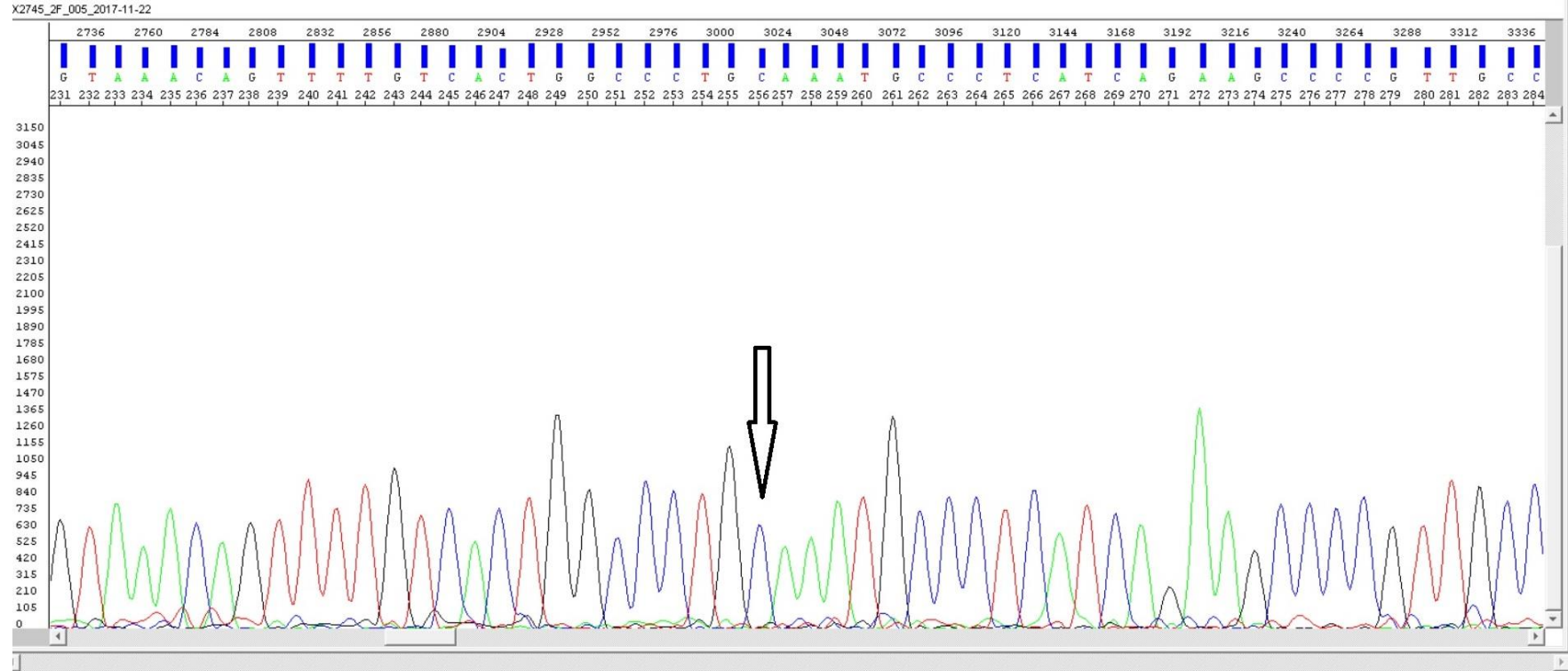
Şekil 32: Aile ağacına göre IV.15. No'lu bireye ait NM_198239: c.302G>A; NP_937882.1:p.G101E heterozigot değişimi Sanger Dizileme görüntüsü



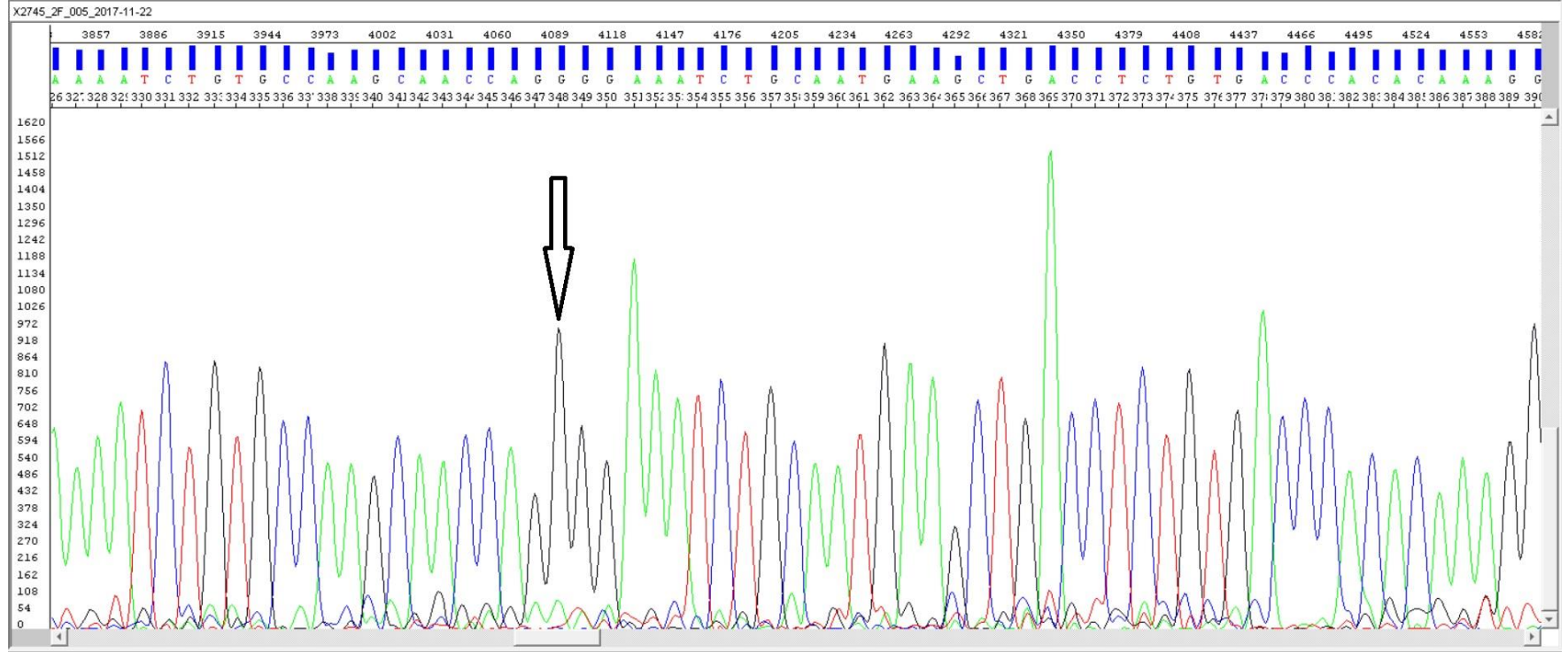
Şekil 33: Aile ağacına göre IV.18. No'lu bireye ait normal Sanger Dizileme görüntüsü



Şekil 34: Aile ağacına göre IV.18. No'lu bireye ait normal Sanger Dizileme görüntüsü



Şekil 35: Aile ağacına göre V.17. No'lu bireye ait normal Sanger Dizileme görüntüsü



Şekil 36: Aile ağacına göre V.17. No'lu bireye ait normal Sanger Dizileme görüntüsü

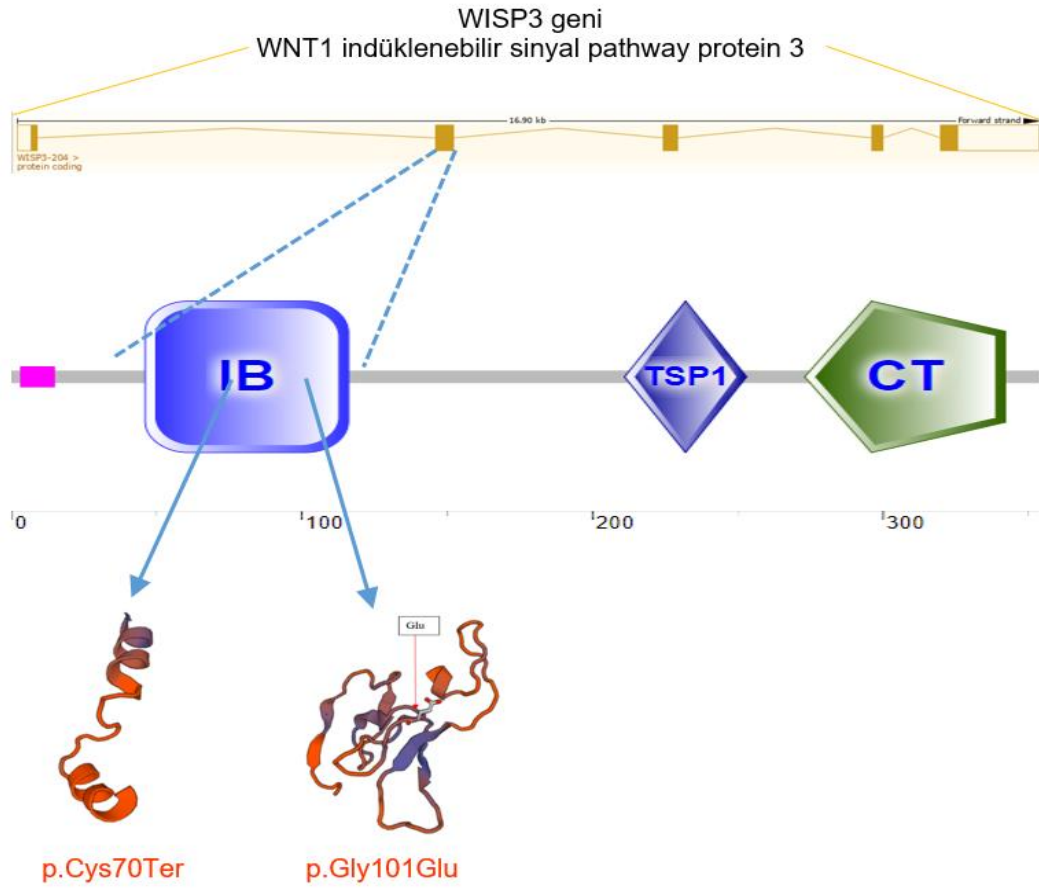
5. TARTIŞMA

İskelet sistemini oluşturan başlıca elemanlar olan kemik ve kıkırdığın büyüme ve farklılaşmasındaki anormallikler iskelet displazileri ana başlığı altında incelenmektedir. İskelet displazileri klinik ve genetik açıdan oldukça heterojen bir gruptur (40, 66). Hastalara yaklaşımı ve anlamayı kolaylaştırmak için ilk kez 1969 yılında klinik bulguları, radyolojik bulguları ve bilinen moleküler değişimleri temel alınarak gruplandırılmıştır (67). En son 2015 yılında güncellenmiş olup 436 farklı subgrup ve 42 gruptan oluşmaktadır. Dyggve-Melchior-Clausen Sendromu ve X'e bağlı Spondiloepimetafizyel Displazi Tarda Grup 13 içerisinde yer alan spondiloepi(meta)fizyel displazilerdendir. Progresif Psödoromatid Displazi ise grup 31'de yer alan inflamatuvar/römatoid benzeri osteoartropatilerdendir (1). Dyggve-Melchior-Clausen Sendromu mikrosefali, öğrenme güçlüğü'nün eşlik ettiği, otozomal resesif kalıtmı ile ilerleyici bir spondiloepimetafizyel displazidir (68, 69, 70, 71). X'e bağlı Spondiloepimetafizyel Displazi Tarda orantısız boy kısalığına sebep olan sıklıkla diz, kalça ve omuz ekleminde osteoartrit ile birlikte ilerleyici sırt ve omuz ağrılarıyla karakterize X'e bağlı bir osteokondrodisplazidir (72, 73, 74). Progresif spondiloepimetafizyel displazi ise destrüktif ve inflamatuvar bulgular olmaksızın özellikle elin küçük eklemlerinde ağrı, şişlik ile başlayan, daha sonra sırasıyla diz, kalça eklemleri ve omurga tutulumu ile seyreden orantısız boy kısalığına sebep olan otozomal resesif kalıtmı ile nadir bir spondiloepimetafizyel displazidir. Bu hastalıktan 6q22 kromozomal bölgesinde lokalize 5 ekzondan oluşan WISP3 geninde meydana gelen patolojik değişimler sorumlu tutulmaktadır (75).

İnsan genomu yaklaşık olarak 19000 protein kodlayan gen içermektedir bu da tüm genomun %1,1'den daha azını oluşturmaktadır. Protein kodlanmasıyla ilişkili DNA dizileri ekzon olarak adlandırılmaktadır. Tüm ekzonların birleşimine ise ekzom denmektedir ve hastalıklarla ilişkisi olduğu bilinen değişimlerin yaklaşık %85'ini içermektedir. Genomun kodlayan bölgelerinde ortaya çıkan bu varyantların neredeyse tamamının tespiti masif paralel sekanslama özelliğine sahip ekzom dizileme ile mümkün olmaktadır. Ekzom sekanslama geleneksel yöntemlerin yetersiz kaldığı mendelyen bozuklukların genotipinin belirlenmesine olanak sağlamaktadır. Klasik yöntemlerle bulunabilecek değişimlerde ise kısa zamanda kesin sonuca ulaşmaktadır. Aynı genotipin birçok farklı fenotipe sebep olması, hala genotipi tanımlanmamış birçok farklı hastalığın olması, nadir görülmesi, üreme çağına erişebilirliğin azalması, azalmış penetrans gibi faktörler iskelet displazileri gibi kompleks vakalarda moleküler çalışma yapmaksızın kesin tanıya ulaşmayı güçleştirmektedir. Ön tanıda düşünülen hastalıklara yönelik tek tek çalışma yapmak zaman kaybının yanında maliyetin artmasına yol açmaktadır (76, 77).

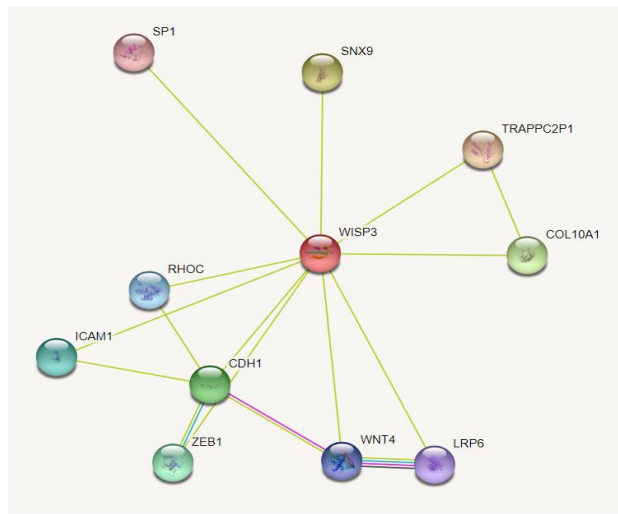
Bu çalışma, el bulgularının ön planda olmasıyla fenotipik olarak daha çok Progresif Psödomatoid Displazi'yi düşündürmekle birlikte hastalığın başlangıç yaşı, progresyonu ve ailede erkek bireyler arasında segrege olmasıyla da X'e bağlı Spondiloepi(meta)fizyel Displazi Tarda ve Dyggve Melchior Clausen Sendromu dışlanamayan akraba evliği sonucu dünyaya gelmiş 5 erkek kardeşin hastalığından sorumlu olan genetik etyolojinin aydınlatılması için yapılmıştır. Tüm ekzom dizileme analizi sonrası klinik, radyolojik bulgular, biyokimyasal parametreler ve kalıtım kalıbı ile tam uyum gösteren iki değişim saptanmıştır. Bu değişimlerden WISP3 geni NM_198239.1 transkriptinin 2.ekzonunda yer alan c.210C>A; (p.Cys70Ter) patolojik varyantın hastalıktan sorumlu olduğu görüldü (rs121908901). Yapılan çalışmada tespit edilen bu homozigot mutasyon daha önce tanımlanmış ve Progresif Psödomatoid Displazi ile ilişkilendirilmiştir (HGMD

CM991252). Otozomal resesif kalıtım kalıbı ile uyumlu olan, stop kodon oluşturan bu mutasyon Türk popülasyonunda en sık görülen değişim olmakla birlikte Progresif Psödoromatoid Displazi ile ilişkilendirilmiş patolojik varyantların %28'ini oluşturmaktadır (Tablo 12). Şaşırtıcı bir şekilde tüm hastalarda WISP3 geni NM_198239.1 transkriptinin 2.ekzonunda tespit edilen diğer mutasyon ile aynı kodlayıcı bölge üzerinde c.302G>A; (p.Gly101Glu) missense mutasyonu olduğu görülmüştür (rs147337485). Bu homozigot mutasyonda daha önce Progresif Psödoromatoid Displazi ilişkilendirilmiş patolojik bir mutasyondur (HGMD CM129541).

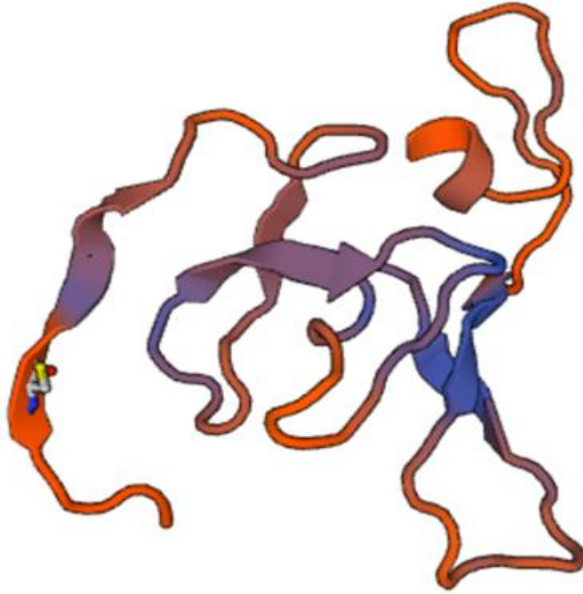


Şekil 37: Bu çalışmada saptanan patolojik mutasyonların SMART diyagramı kullanılarak WISP3 geninin insülin benzeri büyüme faktör-bağlayan domaininde şematizasyonu (78)

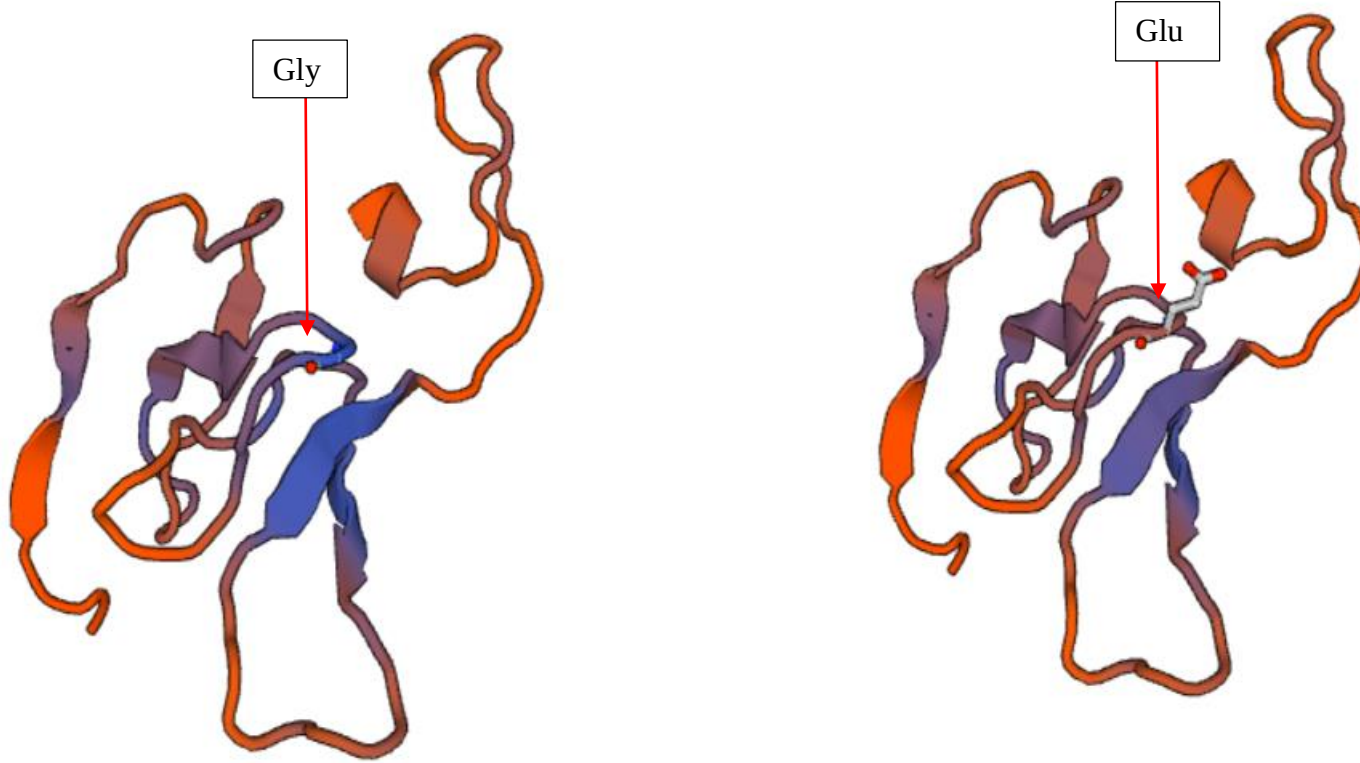
WISP3 proteini hücre büyüme ve farklılaşmasında görev alan bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) ailesine ait WNT1 indüklenebilir sinyal yolağı protein ailesinin bir alt üyesini kodlar. Sistein açısından zengindir. Bu genin postnatal süreçte kemik ve kıkırdak organizasyonu açısından iskelet sistemi için önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir. WISP3 proteini; hücre büyümesi regülasyonunda görev alan insülin benzeri büyüme faktörlerinin yüksek affinite ile bağlandığı, İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlanma alanı domaini (IB), Trombospondin tip 1 tekrarları domaini (TSP1) ve C-terminal sistin düğüm benzeri domaini (CT) olmak üzere 3 farklı kısımdan oluşur (Şekil 37). Hücre-hücre etkileşimi, anjiogenez ve apoptozisin inhibisyonunda görev alan trombospondinler, hücre yüzeylerinde ve hücre dışı matris ortamında işlev gören multimerik multidomain glikoproteinlerdir (79, 80, 81). Hastalarda tespit edilen her iki değişimde WISP3 proteinin IB domaininde yer almaktadır (Şekil 37). WISP3 proteinini kodlayan bölgedeki her iki mutasyon anormal protein oluşmasına sebep olmuştur (Şekil 39, 40). Bu mutasyonlar iskelet sistemi için önemli olan WISP3 proteininin fonksiyonunu kaybetmesine, yetersiz epitel mezenşim etkileşimine sebep olur. Aynı zamanda normal kıkırdak bileşenlerinin ve ayrıca kıkırdakta destekleyici role sahip diğer bileşenlerin fonksiyonunda etkilenebilir (Şekil 38). Etkilenmenin şiddetine göre hastalarda klinik bulgular ortaya çıkabilir.



Şekil 38: WISP3 proteini ile fonksiyonel etkileşimde olduğu tahmin edilen diğer proteinler (82)



Şekil 39: Normal protein yapısı ve NP_937882: p.Cys70Ter mutasyonundan sonraki protein konfigürasyonu (83, 84)



Şekil 40: Normal protein yapısı ve NP_937882: p.Gly101Glu mutasyonundan sonraki protein konfigürasyonu (83, 85)

Mevcut literatüre göre hastalarımızın fenotipik bulgularının tespit edilen genotipik değişim ile uyumlu olduğu görüldü. Ancak 121 no'lu hastada daha önce bildirilen bu mutasyonu taşıyan hastalardan farklı olarak üst ekstremitelerde rizomelik kısalık mevcuttu. Ayrıca hastalara astigmat ve myopi göz bulguları eşlik etmeydi.

Tüm ekzom analizi sonucu tespit edilen yaklaşık 125000 varyant doğru filtreleme ile tek varyanta kadar süzülmüş ve hastalara otozomal resesif kalıtlı Progresif Psödoromatoid Displazi tanısı konulmuştur.



Tablo 12: WISP3 geninde bildirilen patolojik mutasyonlar (86)						
Variant	HGMD no	dbSNP ID	Protein değişimi	Durum	Popülasyon	Aile sayısı
c.43_44delGC	CD991937	-	p.Ala15Thrfs*17	Hurvitz 1999	ABD	1
c.48+2dupT	CI994276	rs797044439	splicing: 2IVS+2	Hurvitz 1999, Garcia Segarra 2012	Ürdün, Fas	2
c.49-763G>T	CS126440	-	splicing: IVS2 - 763	Garcia Segarra 2012	Belçika	1
c.49-1G>A	CS159581	rs781864926	splicing: IVS2 -1	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.105dupT	CI151711	-	p.Gly36fs*10	Liu 2015	Çin	1
c.136C>T	CM091536	-	p.Gln46*	Yue 2009, Ye 2012, Yu 2015	Çin	3
c.156C>A	CM991252	rs121908901	p.Cys52*	Hurvitz 1999, Delague 2005, Garcia Segarra 2012, Rai 2016, Temiz 2011, Bhavani 2015, Madhuri 2016	İtalya, Fransa, Lübnan, Suriye, Türkiye, Almanya, Hindistan	33
c.182G>T	CM126432	-	p.Cys61Phe	Garcia Segarra 2012	Polanya	1
c.185delC	CD126426	-	p.Pro62Leufs*4	Garcia Segarra 2012	Türkiye	2
c.190G>A	CM166919	-	p.Gly64Arg	Montané 2016	Ekvador	1
c.197G>A	CM126433	rs782172825	p.Ser66Asn	Garcia Segarra 2012, Montané 2016	ABD, İtalya, Ekvador	3
c.232T>C	CM991253	rs121908902	p.Cys78Arg	Hurvitz 1999	Fransa	1
c.233G>A	CM129533	-	p.Cys78Tyr	Dalal 2012, Ekbote 2013, Bhavani 2015, Madhuri 2016	Hindistan	9
c.236_237CC>AA	CX126439	-	p.Ala79Glu	Garcia Segarra 2012	İtalya	1
c.246delA	CD991938	rs797044438	p.Glu84Lysfs*21	Hurvitz1999	Suudi Arabistan, Ürdün	3
c.248G>A	CM129541	rs147337485	p.Gly83Glu	Delague 2005, Dalal 2012, Ekbote 2013, Rai 2016, Temiz 2011	Lübnan, Suriye, Hindistan	10
c.296A>T	CM159583		p.Tyr99Phe	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.298T>A	CM159594		p.Cys100Ser	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.327C>A	CM126423		p.Tyr109*	Garcia Segarra 2012	Türkiye	3
c.340T>C	CM129534		p.Cys114Arg	Dalal 2012	Hindistan	1

c.341G>A			p.Cys114Tyr	Yue 2009	Çin	2
c.342_343delTG	CD126427		p.Ala115Ilefs*16	Garcia Segarra 2012	Türkiye	1
c.341G>A	CM091537		p.Cys114Tyr	Yue 2009	Çin	1
c.342T>G	CM118811		p.Cys114Trp	Sun 2012, Ye 2012, Liu 2015, Yan 2016, Yu 2015	Çin	5
c.346+1G>T	-	-	p.Tyr109_Met195del ins9	Garcia Segarra 2012	Türkiye	1
c.347-2A>G	CS159640	-	splicing: IVS3 -2	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.347-3_347-1delCAG	CD159582	-	-	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.346+1G>T	CS126438	-	splicing: IVS3 +1	Garcia Segarra 2012	Türkiye	1
c.348C>A	CM129535	-	p.Tyr116*	Dalal 2012, Madhuri 2016	Hindistan	2
c.433T>C	CM129536	-	p.Cys145Arg	Dalal 2012	Hindistan	2
c.434G>A	CM991254	rs121908899	p.Cys145Tyr	Hurvitz 1999, Garcia Segarra 2012	İtalya	2
c.530C>A	CM159598	-	p.Ser177*	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.536_537delGT	CD053623	-	p.Cys179*	Delague 2005	Suriye	1
c.589G>C	CS053500	-	Splicing: IVS4 ds -1	Delague 2005	Suriye	1
c.589+1G>A	CS1610143	rs879255273	Splicing: IVS4 ds +1	Rai 2016	Hindistan	1
c.589+27C>G	CS126441	-	Splicing: IVS4 ds+27	Garcia Segarra 2012	İtalya	1
c.594_598delTAGAA	CD1610848	-	p.Tyr198*	Madhuri 2016	Hindistan	1
c.621_622delAAinsT	CX126431	-	p.Lys207Asnfs025	Garcia Segarra 2012	ABD	1
c.624_625insA	-	-	p.Cys209Metfs*21	Ye 2010, Ye 2012	Çin	3
c.624delA	CD151709	-	p.Lys208fs*24	Liu 2015	Çin	1
c.624dupA	CI105183	-	p.Cys209Metfs	Ye 2010, Ye 2012	Çin	1
c.625dupT	CI1615597	-	p.Cys209Leufs*21	Yan 2016	Çin	1
c.667T>G	CM118812	-	p.Cys223Gly	Ye 2012, Luo 2015, Yan2016, Yu 2015	Çin	4
c.670G>A	CM126437	-	p.Gly224Arg	Garcia Segarra 2012	İtalya	1
c.677G>T	CM126434	-	p.Gly226Val	Garcia Segarra 2012, Madhuri 2016	İngiltere, Hindistan	2
c.682T>C	CM129537	-	p.Ser228Pro	Dalal 2012, Ekbote 2013	Hindistan	2

c.682_686dupT CTAA	CI159616	-	p.Arg230Leufs*4	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.684dupT	CI159608	-	p.Asn229*	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.708dupC	CI126430	-	p.Asn237Glnfs*3	Garcia Segarra 2012	Türkiye	2
c.716_722del	CD124723	-	p.Glu239fs*16	Sun 2012	Çin	1
c.719_725delT GAGAAA	CD124723	-	-	Sun 2012		
c.725_726delA A	CD126429	-	p.Lys242Argfs*36	Garcia Segarra 2012	İtalya	2
c.727_731delG AGAA	CD126428	-	p.Glu243Lysfs*34	Garcia Segarra 2012	Türkiye	3
c.729_735delG AAAAGA	CD105182	-	p.Glu243Aspfs*13	Ye 2010, Ye 2012	Çin	5
c.740_741delG T	CD044991	-	p.Cys247Leufs*31	Ehl 2004, Dalal 2012, Garcia Segarra 2012, Bhavani 2015	Kafkas, Hindistan, Almanya	4
c.756C>A	CM153375	-	p.Cys252*	Luo 2015	Çin	1
c.783+1_783+6 delGTAAAG	CD159627	-	p.Ile260Asnfs*17	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.802T>G	CM129538	-	p.Cys268Gly	Dalal 2012	Hindistan	1
c.805delC	CD159638	-	p.Q269Nfs*44	Bhavani 2015	Hindistan	1
c.840delT	HD040019	rs797044440	p.Phe280Leufs*33	Liao 2004, Peng 2004, Yang 2013	Çin	3
c.850G>T	CM126424	-	p.Gly284*	Garcia Segarra 2012	Türkiye	1
c.857C>G	CM126425	-	p.Ser286*	Garcia Segarra 2012, Yu 2015	Türkiye, Çin	2
c.862_863dupA C	CI992094	rs863223286	p.Gln289Leufs*25	Hurvitz 1999	ABD	1
c.866_867insA	-	-	p.Gln289fs*31	Sun 2012, Ye 2012	Çin	2
c.866dupA	CI105184	-	p.Ser290Glnfs*13	Ye 2010, Sun 2012, Ye 2012, Yu 2015	Çin, İtalya	9
c.868_869delA G	CD991939	-	p.Ser290Leufs*12	Hurvitz 1999, Garcia Segarra 2012	İran, Türkiye	2
c.947_951delA ATTT	CD129539	-	p.Gln316Argfs*5	Dalal 2012	Hindistan	1
c.993G>A	CM991255	rs121908900	p.Trp331*	Hurvitz 1999	Italy	1

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Orta doğuda daha sık görülmekle birlikte yaklaşık 1/1000000 prevelansı olduğu tahmin edilen Progresif Psödoromatoid Displazi kliniğine sahip dünyadaki ilk büyük Türk aile saptanmıştır.

Sadece etkilenen erkek bireylerin olması X'e bağlı kalıtım kalıbına benzer bir pedigree ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Juvenil İdiopatik Artrit ve X'e bağlı kalıtım gösteren bir Dygve Melchior Clausen sendromu ile bazı klinik bulguların örtüşmesi ve aile ağacının otozomal resesif kalıttan önce X'e bağlı kalıtım paternini düşündürmesi nedeniyle tanı alma yaşı gecikmiş olan hastalara Progresif Psödoromatoid Displazi tanısı konulmuş ve genetik değişimleri gösterilmiştir.

Günümüze dek tanımlanan hastalıktan sorumlu olan yaklaşık 160 varyantın büyük çoğunluğunun 2.ekzonda olduğu görülmüştür. Bu sonuç bu bölgenin mutasyonlara oldukça yatkın olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda da tespit edilen WISP3 geninin 2. ekzonunda birbirine yakın yer alan her iki mutasyon daha önceki çalışmalarda da önerildiği gibi (75, 87) büyük olasılıkla bir kurucu etkinin (founder effect) sonucudur.

Ailedeki heterozigot taşıyıcı bireylere Progresif Psödoromatoid Displazi açısından riskli grupta oldukları anlatılarak preimplantasyon genetik tanı ve prenatal tanı önerilmiştir.

Bizim sonuçlarımızda da literatürle uyumlu olarak, dünyada ve Türk toplumunda en sık rastlanan c.210C>A (p.Cys70Ter) patolojik değişim saptanmıştır.

Erken yaşlarda elin küçük eklemlerinin tutulumuyla başlayan ancak inflamatuvar parametreler ve romatoid faktör negatif olan romatoid artrit ön tanılı hastalarda Progresif Psöдорomatoid Displazi kliniği akılda tutulmalı, yanlış tanı ve tedavinin önüne geçilmelidir.

İleri Nesil Dizileme yöntemlerinin iskelet dispazileri gibi nadir görülen, genetik heterojenite ve birbiriyle örtüşen klinik bulgular gösteren hastalıklara tanı koymada önemi bir kez daha gösterilmiştir.

7. ÖZET

İskelet displazileri orantısız boy kısalığı ve çeşitli ortopedik komplikasyonlarla karakterize 436 farklı türden oluşan kompleks bir hastalık grubudur. Klinik, radyolojik ve moleküler farklılıklarına göre alt tiplere bölünmüştür.

Bu alt tiplerden biri olan Spondiloepifizyel Displazi Tarda Sendromu ilerleyici spondiloepifizyel displaziye sıklıkla prematür osteoartrit bulgularının eşlik ettiği X'e bağlı resesif kalıtmımlı bir iskelet displazisidir. Xp22.2 kromozomal bölgesinde lokalize, golgi aygıtından endoplazmik retikuluma vezikül transportunda rol oynayan sedlin proteininin sentezinde görevli SEDL (sedlin; OMIM*300202) genindeki mutasyonlar bu sendromdan sorumlu tutulmaktadır. İlerleyici Psödoromatoid Displazi (PPRD; Spondiloepifizyel Displazi Tarda ve ilerleyici artropati) ise elin küçük eklemlerinde genişleme ve artrit benzeri bulgularla karakterizedir. 6q21 kromozomal bölgesinde lokalize WISP3 (WNT1-İndüklenebilir Sinyal Yolağı Protein 3; OMIM*603400) genindeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif kalıtmımlı bir iskelet displazisi alt grubudur.

Tüm Ekzom Dizileme genotipi bilinmeyen hastalıkların genotipini belirleme, iskelet displazileri gibi nadir görülen alt tiplerden oluşan ve aynı fenotipe sebep olan farklı genotiplerin görüldüğü genetik heterojenite gösteren kompleks multifaktöriyel hastalıklara tanı olanağı sağlayan bir teknolojidir.

Bu çalışmada ailede sadece erkek bireylerin etkilendiği, aile ağacı X' e bağlı kalıtımı ya da otozomal resesif kalıtımı düşündüren, akraba evliliği sonucu dünyaya gelmiş iskelet displazili 4 erkek kardeş tüm ekzom dizileme yöntemiyle taranmış ve WISP3 geninde NM_198239.1:c.210C>A; (p.Cys70Ter) nonsense değişimi ve NM_198239.1:c.302G>A (p.Gly101Glu) missense değişimi homozigot olarak saptanmıştır.

Sonuç olarak X'e bağlı resesif kalıtım paternine benzer kalıtım sergileyen hastalara; otozomal resesif kalıtlı İlerleyici Psödomatoid Displazi tanısı konuldu ve genetik değişimi belirlendi. Saptanan p.Cys70Ter değişimi Türk hastalarda en sık saptanan patojenik varyant olup mevcut literatürle uyumlu olduğu görüldü. Aile öyküsü, klinik ve moleküler bulguların genetik heterojenite gösteren kompleks hastalık gruplarında yol gösterebileceği ancak kesin tanı ve ailelere preimplantasyon genetik tanı imkanı sunabilmek için moleküler çalışmalarla desteklenmesi gerektiği akılda tutulması gereken önemli bir noktadır.

Anahtar kelimeler: İlerleyici Psödomatoid Displazi, artrit, X'e bağlı resesif, tüm ekzom dizileme

8. ABSTRACT

GERİK ÇELEBİ HB., Investigation of genetic mutation in patients with pre-diagnosed spondyloepi(meta)physeal dysplasia. Manisa Celal Bayar University, Medical Faculty, Department of Medical Genetics. Manisa. Thesis for Specialist Exam. 2018

Skeletal dysplasia is a complex disease group consisting of approximately 436 different species characterized by disproportionate short stature and various orthopedic complications. It is subdivided according to clinical, radiological and molecular differences.

X-Linked Spondyloepiphyseal Dysplasia Tarda -one of these subtypes- is a X-linked inherited skeletal dysplasia accompanied by progressive spondyloepi(meta)physical dysplasia and premature osteoarthritis. The related gene of disorder, sedlin (SEDL, OMIM*300202) is mapped on the Xp22.2 chromosomal location that encodes sedlin protein play a vesicle role transport from the endoplasmic reticulum to the golgi apparatus. Progressive Pseudoromatoid Dysplasia (PPRD) is characterized by enlargement of the elbow joints and arthritis-like findings. It is an autosomal recessive subtype of skeletal dysplasia caused by mutations in WISP3 gene (WNT1-Induced Signal Transduction Protein 3; OMIM * 603400) and localization in the 6q21 chromosomal region.

The Whole Exom Sequencing is a technology that enable to determinate the genotypes of unknown disorders, the diagnosis of complex multifactorial diseases that are composed of rare subtypes such as skeletal dysplasia and show genetic heterogeneity of different genotypes causing the same phenotype.

In this study, four siblings with skeletal dysplasia who were thought to have hereditary inheritance X-linked or autosomal recessive pattern, screened with whole exom sequencing were determined NM_198239.1: c.210C>A; (p.Cys70Ter) and NM_198239.1:c.302G>A (p.Gly101Glu) homozygous mutations.

As a result, on the patients with inherited pattern similar to X-linked recessive; autosomal recessive progressive pseudoromatoid dysplasia was diagnosed and determined their genotype. The detected p.Cys70Ter alteration was o to be the most frequent pathogenic variant in Turkish patients and consistent with the current literature. It is important to keep in mind that family narratives, clinical and molecular findings may lead to complex disease groups showing genetic heterogeneity but must be supported by molecular studies to provide definitive diagnosis and preimplantation genetic diagnosis for families.

Key words: Progressive Pseudoromatoid Dysplasia, arthritis, X-linked recessive, Whole Exom Sequencing

9. KAYNAKLAR

1. Bonafe L, Cormier-Daire V, Hall C, et al. Nosology and classification of genetic skeletal disorders: 2015 revision. American journal of medical genetics Part A, 2015; 167(12): 2869-2892.
2. De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, et al. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc. 2000. Skeletal dysplasias, Last Update: September 3, 2013.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279130>.
3. Gedeon A. K, Tiller G. E, Le Merrer M, et al. The molecular basis of X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda. American Journal of Human Genetics 2001;68(6):1386-1397.
4. Shaw, M. A, Brunetti-Pierri N, Kadasi L, et al. Identification of three novel SEDL mutations, including mutation in the rare, non-canonical splice site of exon 4. Clinical genetics 2003; 64(3): 235-242.
5. Fiedler J, Merrer M. L, Mortier G, et al. X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda: Novel and recurrent mutations in 13 European families. Human mutation 2004; 24(1): 103-103.
6. Jones K. L, Jones M. C, Del Campo M. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation E-Book. Elsevier Health Sciences 2013.

7. El-Shanti H. E, Omari H. Z, Qubain H. I. Progressive pseudorheumatoid dysplasia: report of a family and review. *Journal of medical genetics* 1997; 34(7): 559-563.
8. Rai E, Mahajan A, Kumar P, et al. Whole Exome Screening Identifies Novel and Recurrent WISP3 Mutations Causing Progressive Pseudorheumatoid Dysplasia in Jammu and Kashmir-India. *Scientific reports* 2016; 6,srep27684.
9. Temiz F, Nuri Ozbek M, Kotan D, et al. A homozygous recurring mutation in WISP3 causing progressive pseudorheumatoid arthropathy. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 2011; 24(1-2): 105-108.
10. Pennica D, Swanson T. A, Welsh J. W, et al. WISP genes are members of the connective tissue growth factor family that are up-regulated in wnt-1-transformed cells and aberrantly expressed in human colon tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998; 95(25): 14717-14722.
11. Yunis E, Fontalvos J, Quintero L. X-linked Dyggve-Melchior-Clausen syndrome. *Clinical genetics* 1980; 18(4): 284-290.

12. Spranger J, Maroteaux P, Kaloustian V. D. The Dyggve-Melchior-Clausen syndrome. Radiology, (1975); 114(2): 415-421.
13. <https://www.omim.org/entry/223800>
14. <https://omim.org/entry/304950>
15. Spranger J. X-linked Dyggve-Melchior-Clausen Syndrome. Clinical Genetics 1981; 19(4): 304-304.
16. Barishak Y. R. Embryology of the eye and its adnexae. Developments in ophthalmology 1992; 24: 1-142.
17. Singh V. Textbook of Clinical Embryology. New Delhi: Elsevier Health Sciences 2014: 2.
18. Sadler T. W. Embryology of neural tube development. American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics. Vol. 135. No. 1. Wiley Subscription Services Inc. A Wiley Company 2005: 2-8.
19. Sadler T. W. Langman's Medical Embryology. In: Third Week of Development: Trilaminar Germ Disc, 12th ed. Baltimore: Williams&Wilkins, 2012: 52.
20. Moore K. L, Persaud T. V. N, Torchia M. G. Before We Are Born: Essentials of Embryology and Birth Defects With Student Consult. 9th ed. USA: Elsevier Health Sciences 2015: 38.
21. Sadler T. W. Langman's Medical Embryology. In: The Embryonic Period, 12th ed. Baltimore: Williams&Wilkins 2012: 74-75.

22. Hall B.K and Miyake T. All for one and one for all: condensations and the initiation of skeletal development. *Bioessays* 2000; 22(2): 138-147.
23. Sadler T. W. *Langman's Medical Embryology*. In: *Limbs*. 12th ed. Baltimore: Williams&Wilkins 2012: 152.
24. Bi W, Deng J. M, Zhang Z, et al. Sox9 is required for cartilage formation. *Nature genetics* 1999; 22(1): 85-89.
25. Sekiya I, Tsuji K, Koopman P, et al. SOX9 enhances aggrecan gene promoter/enhancer activity and is up-regulated by retinoic acid in a cartilage-derived cell line, TC6. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275(15): 10738-10744.
26. Bhosale A. M, and Richardson J. B. Articular cartilage: structure, injuries and review of management. *British medical bulletin* 2008; 87(1): 77-95.
27. Calvi L. M, Sims N. A, Hunzelman J, et al. Activated parathyroid hormone/parathyroid hormone–related protein receptor in osteoblastic cells differentially affects cortical and trabecular bone. *Journal of Clinical Investigation* 2001; 107(3): 277.
28. Downey P. A. and Michael I. Siegel. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Physical therapy* 2006; 86(1): 77-91.
29. Florencio-Silva R, Sasso G. R. D. S, Sasso-Cerri, E, Simões, et al. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *BioMed research international* 2015.
30. Dallas, S. L, Prideaux, M, Bonewald L. F. The osteocyte: an endocrine cell... and more. *Endocrine reviews* 2013; 34(5): 658-690.

31. Franz-Odenaal, T. A, Hall B. K, Witten P. E. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics* 2006; 235(1): 176-190.
32. Bilezikian J. P, Raisz L. G, Martin T. J. Principles of bone biology. In: *The Osteocyte, Osteoclast Generation, Osteoclast Function*. 3th ed. USA: Academic Press 2008: 153-193.
33. Ross M. H. and Pawlina W. Histology: Interactive Atlas to Accompany Histology: a Text and Atlas; with Correlated Cell and Molecular Biology. In: *Bone*. 6th ed. China: Lippincott, Williams & Wilkins 2011: 236-238.
34. Anderson H. C. Vesicles associated with calcification in the matrix of epiphyseal cartilage. *The Journal of cell biology* 1969; 41(1): 59-72.
35. Aase J.M. Diagnostic Dysmorphology. In: *Principles of Normal and Abnormal Embryogenesis* USA: Springer 1990: 9.
36. Speicher M, Antonarakis, S. E, Motulsky A. G. Vogel and Motulsky's Human Genetics. 4th ed. Heidelberg: Springer-Verlag 2010.
37. Alanay Y, Lachman R. S. A review of the principles of radiological assessment of skeletal dysplasias. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology* 2011; 3(4): 163.
38. Kurt-Şükür E. D, Simsek-Kiper P. O, Utine, G. E, et al. Experience of a skeletal dysplasia registry in Turkey: A five-years retrospective analysis. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2015; 167(9): 2065-2074.
39. Şükür E. D. İskelet Displazileri: Beş Yıllık Hacettepe Tecrübesi [Tez]. Ankara; Hacettepe Üniversitesi, 2011. 10 s.

40. Rimoin D. L, Cohn D, Krakow D, et al. The skeletal dysplasias. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2007; 1117(1): 302-309.
41. Hurst J. A, Firth H. V, Smithson S. Skeletal dysplasias. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 2005: 10: 233-241.
42. Castriota-Scanderbeg A. And Dallapiccola B. Abnormal skeletal phenotypes: from simple signs to complex diagnoses. *Springer Science & Business Media*, 2006.
43. Alanay Y. and Rimoin D. L. Chondrodysplasias. In: Rosen CJ ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 7th ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research, 2008: 428-429.
44. Kaitila I. I, Leisti J. T, Rimoin, D. L. Mesomelic skeletal dysplasias. *Clinical orthopaedics and related research* 1976; 114: 94-107.
45. Biesecker L. G, Aase J. M, Clericuzio C, et al. Elements of morphology: standard terminology for the hands and feet. *American Journal of Medical Genetics Part A* 2009; 149(1): 93-127.
46. Demir K, Böber E, Çocuk Endokrinolojisi ve Diyabet Derneği Kemik Sağlığı Çalışma Grubu. Endokrin açıdan iskelet displazileri. *Çocuk Dergisi* 2014; 14(1): 1-14.
47. Gold N. B, Westgate M. N, Holmes L. B. Anatomic and etiological classification of congenital limb deficiencies. *American Journal of Medical Genetics Part (A)* 2011; 155(6): 1225-1235.

48. Moore K. L, Agur A. M. R, Dalley A. F. Essential Clinical Anatomy. In: Upper Limb. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2011: 397-482.
49. Panda A, Gamanagatti S, Jana M, et al. Skeletal dysplasias: a radiographic approach and review of common non-lethal skeletal dysplasias. World journal of radiology 2014; 6(10): 808.
50. Krakow D, Rimoin D. L. The skeletal dysplasias. Genetics in Medicine 2010; 12(6): 327-341.
51. Firth H. V, Hurst J. A, Hall J. G. Oxford desk reference: clinical genetics. USA; New York, 2005.
52. Mortier G. R. The diagnosis of skeletal dysplasias: a multidisciplinary approach. European journal of radiology 2001; 40(3): 161-167.
53. Oostdijk W, Grote F. K, de Muinck Keizer-Schrama S. M. et al. Diagnostic approach in children with short stature. Hormone Research in Paediatrics 2009; 72(4): 206-217.
54. Dighe M, Fligner C, Cheng E. et al. Fetal skeletal dysplasia: an approach to diagnosis with illustrative cases. Radiographics 2008; 28(4): 1061-1077.
55. Liu L, Li Y, Li S. et al. Comparison of next-generation sequencing systems. BioMed Research International 2012.
56. Tobias E. S, Connor M, Ferguson Smith M. Çeviri editörü: Uğur Özbek. Tıbbi Genetiğin Esasları. 6. Baskı. İstanbul: tıp kitap evi
57. Hayden E. C. The \$1,000 genome. Nature, 2014; 507(7492): 294.

58. Moorcraft S. Y, Gonzalez D, Walker, B. A. Understanding next generation sequencing in oncology: a guide for oncologists. *Critical reviews in oncology/hematology* 2015; 96(3): 463-474.
59. Jamuar S. S. and Tan E. C. Clinical application of next-generation sequencing for Mendelian diseases. *Human genomics* 2015; 9(1): 10.
60. Hegde M, Santani A, Mao R. et al. Development and Validation of Clinical Whole-Exome and Whole-Genome Sequencing for Detection of Germline Variants in Inherited Disease. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2017; 141(6): 798-805.
61. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine* 2015; 17(5): 405-423.
62. Van der Auwera G. A, Carneiro M. O, Hartl C, et al. From FastQ data to high-confidence variant calls: the genome analysis toolkit best practices pipeline. *Current protocols in bioinformatics* 2013; 11-10.
63. Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics* 2010; 26(5): 589-595.
64. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic acids research* 2010; 38(16): 164.

65. Quang D, Chen Y, Xie X. DANN: a deep learning approach for annotating the pathogenicity of genetic variants. *Bioinformatics* 2014; 31(5): 761-763.
66. Wynne-Davies R. U. T. H, Gormley J. E. S. S. The prevalence of skeletal dysplasias. An estimate of their minimum frequency and the number of patients requiring orthopaedic care. *Bone & Joint Journal* 1985; 67(1): 133-137.
67. Ikegawa S. Genetic analysis of skeletal dysplasia: recent advances and perspectives in the post-genome-sequence era. *Journal of human genetics* 2006; 51(7): 581-586.
68. Spranger J, Bierbaum B, Herrmann, J. Heterogeneity of Dyggve-Melchior-Clausen dwarfism. *Human genetics* 1976; 33(3): 279-287.
69. Rastogi S. C, Clausen J, Melchior J. C. et al. Lysosomal (Leucocyte) Proteinase And Sulfatase Levels In Dyggve-Melchior-Clausen (Dmc) Syndrome. *Acta Neurologica Scandinavica* 1977; 56(5): 389-396.
70. Paupe V, Gilbert T, Le Merrer M, et al. Recent advances in Dyggve–Melchior–Clausen syndrome. *Molecular genetics and metabolism* 2004; 83(1): 51-59.
71. Jones K. L, Jones M. C, Del Campo M. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation E-Book. In: osteochondrodysplasias. Elsevier Health Sciences 2013: 478.
72. Gao C, Wang H, Kong X. et al. Early prenatal diagnosis for a family affected with X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda family. *Chinese journal of medical genetics* 2014; 31(2): 144-147.

73. Fiedler J, Merrer M. L, Mortier G. et al. X-linked spondyloepiphyseal dysplasia tarda: Novel and recurrent mutations in 13 European families. Human mutation 2004; 24(1): 103-103.
74. Gécz J, Hillman M. A, Gedeon A. K. et al. Gene structure and expression study of the SEDL gene for spondyloepiphyseal dysplasia tarda. Genomics 2000; 69(2): 242-251.
75. Delague V, Chouery E, Corbani S. et al. Molecular study of WISP3 in nine families originating from the Middle-East and presenting with progressive pseudorheumatoid dysplasia: Identification of two novel mutations, and description of a founder effect. American Journal of Medical Genetics Part A 2005; 138(2): 118-126.
76. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431(7011): 931-945.
77. Ezkurdia I, Juan D, Rodriguez J. M. et al. Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19 000 human protein-coding genes. Human molecular genetics 2014; 23(22): 5866-5878.
78. https://smart.embl.de/smart/show_motifs.pl?ID=WISP3_HUMAN
79. <https://swissmodel.expasy.org/interactive/wscHYN/models>
80. <https://swissmodel.expasy.org/interactive/cTLJKt/models>
81. <https://swissmodel.expasy.org/interactive/y4BsJ3/models/>

82. <https://string-db.org/cgi/network.pl?taskId=rd2vghbTWsfq>
83. Sailani M. R, Chappell J, Inlora J. et al. WISP3 mutation associated with Pseudorheumatoid Dysplasia. Molecular Case Studies 2017; mcs-a001990.
84. Zeng J., Liao Y., Zhou J., et al. Role of WISP3 siRNA in proliferation, apoptosis and invasion of bladder cancer cells. International journal of clinical and experimental medicine, 2015, 8(8), 12792.
85. Huang W., Gonzalez M. E., Toy K. A., et al. Blockade of CCN6 (WISP3) activates growth factor-independent survival and resistance to anoikis in human mammary epithelial cells. Cancer research, 2010, 70(8), 3340-3350.
86. Pennica D., Swanson T. A., Welsh J. W., et al. WISP genes are members of the connective tissue growth factor family that are up-regulated in wnt-1-transformed cells and aberrantly expressed in human colon tumors. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998, 95(25), 14717-14722.
87. Garcia Segarra N., Mittaz L., Campos-Xavier A. B., et al. The diagnostic challenge of progressive pseudorheumatoid dysplasia (PPRD): a review of clinical features, radiographic features, and WISP3 mutations in 63 affected individuals. In American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics, 2012, August, (Vol. 160, No. 3, pp. 217-229). Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company.