

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**NÖRONAL MİGRASYON ANOMALİLERİNDE GENOTİP-
FENOTİP İLİŞKİSİ**

**DR. AYÇA DİL RUBA ASLANGER
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. HÜLYA KAYSERİLİ**

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

İSTANBUL-2010

BEYAN

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

Ayça Dilruba ASLANGER

İTHAF

Bu çalışmamı eşim ve aileme ithaf ediyorum;

Bana genetik branşını sevdiren ve yeni ufuklar açan sevgili hocam sayın Prof. Dr. Hülya Kayserili'ye,

Moleküler alanında tezimde yardımlarını esirgemeyen ve çalışma disiplini örnek aldığım sayın Doç. Dr. Oya Uyguner'e,

Sitogenetik alanındaki bilgilerinden faydalandığım sayın Prof. Dr. Seher Başaran'a ve Doç. Dr. Birsen Karaman'a,

Uzmanlık eğitimimde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın Prof. Dr. Şükrü Palandüz, Prof. Dr. Şükrü Öztürk ve Prof. Dr. Kıvanç Çefle'ye,

Tezimdeki olguların kraniyal MR görüntülemelerini yorumlayan sayın Dr. Joseph Gleeson ve Dr. Gökhan Uyanık'a,

Asistanlık eğitimime başladığım günden itibaren akademik desteğini hissettiğim sayın Doç. Dr. Bülent Kara'ya,

Olgularını bölümümüze ileri incelemeler ve tez kapsamında değerlendirilmesi için gönderen Prof. Dr. Meral Özmen, Prof. Dr. Mine Çalışkan, Prof. Dr. Nur Aydınli, Prof. Dr. Yüksel Yılmaz, Prof. Dr. Adnan Yüksel, Doç. Dr. Burak Tatlı'ya ve diğer Çocuk Nörolojisi uzmanlarına,

Berber çalışma fırsatı yakaladığım sayın Doç. Dr. Duran Üstek ve Uzm. Bio. Güven Toksoy'a,

Bana kendi laboratuvarında migrasyon anomalileri ile ilgili fare model çalışmalarına katılma şansı tanıdığı için Dr. Dan Goldowitz'e,

Asistanlık eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen ve bana destek olan tüm asistan ve biyolog arkadaşlarıma ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı çalışanlarına,

Gelecekte de mesleki adımlarımda yanımda olmasını istediğim Dr. Umut Altunoğlu'na;

Tezime katılmayı kabul eden tüm ailelere,

Tezimin her aşamasında yanımda olan ve bana destek veren sevgili eşime,

Beni bugünlere getiren, karamsarlığa düştüğüm her an yanımda olan sevgili annem ve ablama teşekkür ederim...

[Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3574]

İÇİNDEKİLER

BEYAN	İİ
İTHAF	İİİ
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ	X
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	XIV
ÖZET	XVII
ABSTRACT.....	XVIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İNSAN EMBRİYOLOJİSİ	3
2.2. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ EMBRİYOLOJİSİ	5
2.3. SEREBRAL KORTEKSİN OLUŞUMU.....	8
2.4. NÖRONAL MİGRASYON ANOMALİLERİNDE ROL OYNADIĞI DÜŞÜNÜLEN SİNYAL YOLAKLARI	11
2.5. KORTİKAL ANOMALİLERİN TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI.....	17
2.6. LİZENSEFALİ MALFORMASYONU SPEKTRUMU	20
2.6.1. AGİRİ-PAKİGİRİ-SUBKORTİKAL BAND SPEKTRUMU	20
2.7. LİZENSEFALİ İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR	22
2.7.1. MILLER-DIEKER SENDROMU (MDS)	22
2.7.2. İZOLE LİZENSEFALİ SEKANSI (ILS).....	25
2.7.3. SUBKORTİKAL BAND HETEROTOPİSİ	28
2.7.4. SEREBELLAR HİPOPLAZİ İLE BİRLİKTE LİZENSEFALİ.....	31
2.7.5. : KUŞKULU GENİTALYA İLE BİRLİKTE LİZENSEFALİ	35
2.8. LİZENSEFALİ İLE İLİŞKİLİ GENLER	36
2.8.1. <i>LIS1</i> geni.....	38
2.8.1.1. <i>LIS1</i> geni ile ilişkili hastalıklar	41
2.8.2. <i>LIS1</i> genine komşu olan genler.....	43
2.8.2.1. <i>LIS1</i> genine komşu genler ile ilişkili hastalıklar.....	43
2.8.3. <i>DCX</i> geni	45

2.8.3.1. <i>DCX</i> geni ile ilişkili hastalıklar	47
2.8.4. <i>TUBA1A</i> geni	49
2.8.4.1. <i>TUBA1A</i> geni ile ilişkili hastalıklar	50
2.8.5. <i>RELN</i> geni	52
2.8.5.1. <i>RELN</i> geni ile ilişkili hastalıklar	53
2.8.6. <i>ARX</i> geni	54
2.8.6.1. <i>ARX</i> geni ile ilişkili hastalıklar	55
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1. ÇALIŞMA GRUBU	57
3.2. YÖNTEMLER	57
3.2.1. KLİNİK DEĞERLENDİRMELER	57
3.2.2. SİTOGENETİK ve MOLEKÜLER SİTOGENETİK YÖNTEMLERİ	60
3.2.2.1. HRBT tekniği ile kromozom analizi	60
3.2.2.2. FISH analizi	60
3.2.2.3. MLPA analizi	60
3.2.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER	62
3.2.3.1. DNA eldesi	62
3.2.3.2. <i>RELN</i> geni için homozigosite haritalanmasında kullanılan polimorfik markörlerin seçimi	62
3.2.3.3. Homozigosite haritalanmasında kullanılan polimorfik markörlerin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması	63
3.2.3.4. Poliakrilamid jel elektroforezi ve gümüş boyama ile haplotipleme	63
3.2.3.5. Primerlerin tasarlanması	64
3.2.3.6. Dizileme öncesi genlerin ekzon bölgelerinin genomik DNA'da ve komplementer DNA'da PCR yöntemi ile çoğaltılması	64
3.2.3.7. Saflaştırma	65
3.2.3.8. DNA dizi analizi	65
4. BULGULAR	66
4.1. Aile L01	67
4.1.1. Aile L01'de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	67
4.1.2. Aile L01'in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları	69
4.1.3. Aile L01'in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	70
4.1.4. Aile L01'in tanısı ve genetik danışma	70

4.2. Aile L02	71
4.2.1. Aile L02’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	71
4.2.2. Aile L02’nin genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	73
4.2.3. Aile L02’nin klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	74
4.2.4. Aile L02’nin tanısı ve genetik danışma.....	74
4.3. Aile L03	75
4.3.1. Aile L03’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	75
4.3.2. Aile L03’ün genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	77
4.3.3. Aile L03’ün klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	79
4.3.4. Aile L03’ün tanısı ve genetik danışma.....	80
4.4. Aile L04	81
4.4.1. Aile L04’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	81
4.4.2. Aile L04’ün genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	83
4.4.3. Aile L04’ün klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	83
4.4.4. Aile L04’ün tanısı ve genetik danışma.....	84
4.5. Aile L05	85
4.5.1. Aile L05’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	85
4.5.2. Aile L05’in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları	87
4.5.3. Aile L05’in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	88
4.5.4. Aile L05’in tanısı ve genetik danışma	88
4.6. Aile L06	89
4.6.1. Aile L06’da etkilenmiş olgunun klinik bulguları	89
4.6.2. Aile L06’nın genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	91
4.6.3. Aile L06’nın klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	91
4.6.4. Aile L06’nın tanısı ve genetik danışma.....	91
4.7. Aile L07	92
4.7.1. Aile L07’de etkilenmiş bireyin klinik bulguları	92
4.7.2. Aile L07’nin genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	94
4.7.3. Aile L07’nin klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	95
4.7.4. Aile L07’nin tanısı ve genetik danışma.....	95
4.8. Aile L08	96
4.8.1. Aile L08’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları	96
4.8.2. Aile L08’in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları	98

4.8.3. Aile L08'in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	98
4.8.4. Aile L08'in tanısı ve genetik danışma	99
4.9. Aile L09	100
4.9.1. Aile L09'da etkilenmiş olgunun klinik bulguları	100
4.9.2. Aile L09'un genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	102
4.9.3. Aile L09'un klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	103
4.9.4. Aile L09'un tanısı ve genetik danışma.....	103
4.10. Aile L10	104
4.10.1. Aile L10'da etkilenmiş olguların klinik bulguları	104
4.10.2. Aile L10'un genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları.....	106
4.10.3. Aile L10'un klinik ve laboratuvar bulgularının özeti	108
4.10.4. Aile L10'un tanısı ve genetik danışma.....	109
5. TARTIŞMA	110
6. KAYNAKLAR	125
7. MOLEKÜLER İNCELEMELER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU..	137
8. EKLER	140
8.1. <i>LIS1</i> geninin genomik DNA primerleri	140
8.2. <i>DCX</i> geninin genomik DNA primerleri.....	141
8.3. <i>TUBA1A</i> geninin genomik DNA primerleri.....	142
8.4. <i>ARX</i> geninin genomik DNA primerleri.....	143
8.5. <i>RELN</i> geninin genomik ve komplementer DNA primerleri	144
8.5.1. <i>RELN</i> geninin komplementer DNA primerleri.....	144
8.5.2. <i>RELN</i> geninin genomik DNA primerleri.....	145
9. ÖZGEÇMİŞ	146

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Kortikal gelişim malformasyonlarının klinik bulguları ve ilgili genleri.....	19
Tablo 3-1 Nöronal migrasyon anomalileri muayene formu	58
Tablo 8-1 <i>LIS1</i> geninin genomik DNA primerleri.....	140
Tablo 8-2 <i>DCX</i> geninin genomik DNA primerleri	141
Tablo 8-3 <i>TUBA1A</i> geninin genomik DNA primerleri	142
Tablo 8-4 <i>ARX</i> geninin genomik DNA primerleri	143
Tablo 8-5 <i>RELN</i> geninin komplementer DNA primerleri.....	144
Tablo 8-6 <i>RELN</i> geninin genomik DNA primerleri.....	145

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1 Zigottan blastomere	3
Şekil 2-2 Embriyogenez	4
Şekil 2-3 Primer beyin vezikülleri	5
Şekil 2-4 Sulkusların oluşumu	6
Şekil 2-5 Rombik dudakların oluşumu.....	7
Şekil 2-6 Kortikal tabakaların oluşumu.....	9
Şekil 2-7 Kortikal nöronların ışınsal ve teğetsel migrasyonu.....	10
Şekil 2-8 Klasik lizensefali ve normal kortikal yapının karşılaştırılması.....	11
Şekil 2-9 Nöronal migrasyonda hücre iskeletinin oluşumunda rol oynayan lizensefali ile ilişkili genlerin fonksiyonu	13
Şekil 2-10 Nöronal migrasyonda <i>LIS1</i> ve <i>RELN</i> genlerinin sinyal yolları.....	15
Şekil 2-11 Lizensefalinin derecelendirilmesi	21
Şekil 2-12 Miller-Dieker Sendromu tanılı olgularda yüz dismorfizmi	24
Şekil 2-13 Subkortikal band heterotopisi	30
Şekil 2-14 Lizensefalide akış şeması.....	37
Şekil 2-15 <i>LIS1</i> geninin domainleri	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 2-16 <i>USCS Genome Browser</i> veri bankasında 17p13.3 lokalizasyonu.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 2-17 <i>DCX</i> geninin domainleri	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Şekil 3-1 Moleküler tanıyı yönlendirici akış şeması.....	59
Şekil 4-1 Aile L01'in aile ağacı	68
Şekil 4-2 Aile L01'de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	68
Şekil 4-3 Aile L01'deki etkilenmiş olgu	68
Şekil 4-4 Aile L01'deki etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	69
Şekil 4-5 Aile L01'deki etkilenmiş olgunun MLPA analiz sonuçları.....	69
Şekil 4-6 Aile L02'nin aile ağacı	72
Şekil 4-7 Aile L02'deki etkilenmiş fetusun 32.GH'daki kraniyal MR görüntüsü.....	72
Şekil 4-8 Aile L02'deki etkilenmiş fetus.....	72
Şekil 4-9 Aile L02'de etkilenmiş fetüsün karyotipi.....	73
Şekil 4-10 Aile L02'de etkilenmiş fetüsün MDS FISH analiz sonucu	73
Şekil 4-11 Aile L03'ün aile ağacı	76

Şekil 4-12 Aile L03’de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	76
Şekil 4-13 Aile L03’deki etkilenmiş olgu	76
Şekil 4-14 Aile L03’de etkilenmiş olgunun SNP-array analiz sonuçları (I)	77
Şekil 4-15 Aile L03’de etkilenmiş olgunun SNP-array analiz sonuçları (II)	77
Şekil 4-16 Aile L03’de etkilenmiş olgunun FISH analizi	78
Şekil 4-17 Aile L03’de etkilenmiş olgunun annesinin FISH analiz sonucu.....	78
Şekil 4-18 Aile L03’de etkilenmiş olgunun babasının FISH analiz sonucu.....	78
Şekil 4-19 Aile L04’ün aile ağacı	82
Şekil 4-20 Aile L04’de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	82
Şekil 4-21 Aile L04’de etkilenmiş olgu	82
Şekil 4-22 Aile L05’in aile ağacı	86
Şekil 4-23 Aile L05’de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	86
Şekil 4-24 Aile L05’de etkilenmiş olgu	86
Şekil 4-25 Aile L06’un aile ağacı	90
Şekil 4-26 Aile L06’da etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	90
Şekil 4-27 Aile L06’da etkilenmiş olgu	90
Şekil 4-28 Aile L06’da etkilenmiş olgunun <i>LIS1</i> geni dizi analizi sonucu	91
Şekil 4-29 Aile L07’nin aile ağacı	93
Şekil 4-30 Aile L07’de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	93
Şekil 4-31 Aile L07’de etkilenmiş olgu	93
Şekil 4-32 Aile L07’de etkilenmiş olgunun <i>LIS1</i> geni dizi sonucu	94
Şekil 4-33 Aile L08’ün aile ağacı	97
Şekil 4-34 Aile L08’de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	97
Şekil 4-35 Aile L08’deki etkilenmiş olgu	97
Şekil 4-36 Aile L09’un aile ağacı	101
Şekil 4-37 Aile L09’daki etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü.....	101
Şekil 4-38 Aile L09’daki etkilenmiş olgu	101
Şekil 4-39 Aile L09’daki etkilenmiş olgunun <i>DCX</i> geni dizi sonucu.....	102
Şekil 4-40 Aile L10’un aile ağacı.....	105
Şekil 4-41 Aile L10’da etkilenmiş olgu (V,1) ve kraniyal MR görüntüleri.....	105
Şekil 4-42 Aile L10’da etkilenmiş olgu (V,2) ve kraniyal MR görüntüleri.....	105
Şekil 4-43 Aile L10’da etkilenmiş (V-1) olgunun <i>RELN</i> geni mutasyonu	106
Şekil 4-44 Aile L10’da etkilenmiş olgunun annesinin (IV-18) <i>RELN</i> geni mutasyonu.....	106

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

aa: aminoasit

ApoER2 proteini: Apolipoprotein E reseptör 2 proteini

ARX geni: X'e bağlı "Aristaless-Related homeobox" geni

ATP: Adenozin trifosfat

bç: baz çifti

BSA: "Bovine" serum albümin

c-abl: c- Abelson mürin lösemi viral onkogen homolog 1

CCA: Korpus kallozum agenezisi

Cdk5: "Cyclin-dependent" kinaz 5

cDNA: komplementer deoksiribonükleik asit

CGH: "Comparative Genomic Hybridisation"

CNR: Kaderin ilişkili nöronal reseptör

CP: Kortikal plak

Dab1: "Disabled" homolog 1

DCLKN1 proteini: "Doublecortin-like" kinaz 1 proteini

DCLKN2 proteini: "Doublecortin-like" kinaz 2 proteini

DCX geni: "Double Cortex" geni

Dcx proteini: "Doublecortin" proteini

Dl1 proteini: "Drosophila" lizensefali 1 proteini

DMSO: Dimetil sülfoksit

DNA: Deoksiribonükleik asit

dNTP: Deoksiribonükleozit trifosfat

EDTA: Etilendiamin tetraasetik asit

EEG: Elektroensefalografi

FISH: Floresan in situ hibridizasyon

gDNA: genomik deoksiribonükleik asit

GDB: "Genome Database"

GH: Gebelik haftası

HRBT: "High resolution banding technique"

ILS: İzole Lizensefali Sekansı

ILSX: X'e bağlı izole lizensefali sekansı

IQ: “Intelligence Quotient”

IUGG: İntrauterin gelişme geriliği

IZ: İntermediate tabaka

Jnk: “c-Jun N-terminal” protein kinaz

KB: Kilobaz

KKH: Konjenital kalp hastalıkları

LCH: “Lissencephaly with cerebellar hypoplasia”

Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali

***LIS1* geni:** Lizensefali 1 geni

Lis1 proteini: Lizensefali 1 proteini

LV: Lateral ventrikül

Mark: “Microtubule affinity regulatory” kinaz

MDab1: “Mouse Disabled” homolog 1

MDS: Miller-Dieker Sendromu

MGE: Mediyen gangliyonik eminens

MKA/MR: Multipl konjenital anomali / mental retardasyon

MLPA: “Multiplex ligation-dependent probe amplification”

MR: Manyetik rezonans

MSG: Basitleşmiş giral yapı ile oluşan mikrosefali

MSS: Merkezi sinir sistemi

MTOC: “MicroTubule-Organizing Center”

MV: Mikrosefali vera

MZ: Marjinal tabaka

Ndel1 proteini: “Nuclear distribution element-like” proteini

NudF proteini: “Nuclear distribution” protein

Pac1 proteini: “Procaspase activating compound” 1

***PAFAH1B1* geni:** “Platelet” aktive edici faktör asetilhidrolaz izoform 1B alfa subüniti

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

PFO: Patent foramen ovale

Pp1: Protein-fosfotaz 1

PVDF: Polyvinylidene fluoride

***RELN* geni:** Reelin geni

RGC: Radial glial hücre

SBH: Subkortikal Band Heterotopisi

SD: Standart deviyasyon

SDS: Sodyum Dodesil-Sülfat

SFK: Src kinaz ailesi

shRNA: “Small/short hairpin” ribonükleik asit

SNP: “Single nucleotide polymorphism”

Src: “Sarcoma”

Spn: Spinofilin

SVZ: Subventriküler tabaka

TBE: “Tris-borate”EDTA

TBS: “Tris-buffered saline”

Tm: “Melting temperature” (bağlanma ısısı)

TUBA1A geni: Tubulin alfa 1A geni

UCSC: “University of California, Santa Cruz”

VLDLR: “Very low density” lipoprotein reseptör

VSA: Ventriküler septal anevrizma

VSD: Ventriküler septal defekt

VZ: Ventriküler tabaka

XLAG: “X linked lissencephaly with ambiguous genitalia”

X’e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizensefali

XLIS: X’e bağlı Lizensefali

YWHA ϵ (14-3-3 ϵ) geni: 14-3-3 epsilon (Tirozin 3-monooksijenaz/Triptofan 5-monooksijenaz aktivasyon protein, epsilon isoform) geni

ÖZET

NÖRONAL MİGRASYON ANOMALİLERİNDE GENOTİP-FENOTİP İLİŞKİSİ

Kortikal gelişim malformasyonları; mikrosefali, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, epilepsi ve diğer birçok nörolojik bulgunun etiyopatogenezinde yer almaktadır. Bu malformasyonlar; nöronal proliferasyon anomalileri, nöronal migrasyon anomalileri ve nöronal organizasyon anomalileri olmak üzere 3 grupta incelenmektedir.

Nöronal migrasyon anomalileri; *agiri* (girus yokluğu), *pakigiri* (girusların sayısında azalma/girusların kabalaşması) ve subkortikal band heterotopisini (SBH) içeren “Lizensefali Spektrumu” içinde değerlendirilmektedir. Lizensefali ile ilişkili hastalıklar; Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizensefali Sekansı (ILS), SBH, serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH; *Lissencephaly with cerebellar hypoplasia*) ve X’e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizensefali (XLAG; *X linked lissencephaly with ambiguous genitalia*)’dır. Günümüzde insanlarda Lizensefali Spektrumu’na yol açtığı bilinen 5 farklı gen bilinmektedir. Bunlar; *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *ARX* ve *TUBA1A*’dır. **MDS**’de 17p13.3’de *LIS1* genini de içeren büyük delesyonlar saptanmaktayken, **ILS**’de *DCX*, *LIS1* ve *TUBA1A*; **SBH**’de *DCX* ve *LIS1*; **XLAG**’de *ARX*; **LCH**’de *LIS1*, *DCX* ve *RELN* genlerindeki mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır.

Bu çalışmada Lizensefali Spektrumu tanısı kesinleşen 10 aile (11 etkilenmiş olgu) yer almaktadır. **MDS** tanılı iki olguda (L01-L02), lizensefaliye eşlik eden ek konjenital anomalileri olan bir olguda (L03), **ILS**’li dört olguda (L04-L05-L06-L07), **SBH**’li iki olguda (L08-L09) ve **LCH**’li iki olguda (L10) genotip-fenotip ilişkisi dikkate alınarak laboratuvar çalışmaları planlanmıştır. 10 ailenin 7’sinde (L01-L02-L03-L06-L07-L09-L10) sitogenetik ve moleküler veriler ile etiyopatogenez aydınlatılmıştır.

Aslanger, Ayça Dilruba (2010). Nöronal migrasyon anomalilerinde genotip-fenotip ilişkisi İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD Uzmanlık Tezi

Anahtar Kelimeler: lizensefali, migrasyon, mikrosefali, serebrum, mutasyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 3574

ABSTRACT

GENOTYPE/PHENOTYPE CORRELATION IN NEURONAL MIGRATION DISORDERS

Malformations of cortical development are recognized as an important cause of microcephaly, developmental delay, epilepsy and other neurological disorders. These cortical malformations are abnormal proliferation of neurons, abnormal migration of neurons and abnormal organization of neurons.

Malformations of neuronal migration encompass a spectrum of cortical malformations from complete *agyria* (absent gyri) to regional *pachygyria* (broad gyri) and merges with subcortical band heterotopia (SBH). The disorders of neuronal migration anomalies are; Miller-Dieker Syndrome (MDS), Isolated lissencephaly sequence (ILS), Subcortical Band Heterotopia (SBH), Lissencephaly with cerebellar hypoplasia (LCH) and X linked lissencephaly with ambiguous genitalia (XLAG). To date, six genes have been identified that cause malformations of neuronal migration in humans; *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *VLDLR*, *ARX* and *TUBA1A*. Gros deletion including *LIS1* could result in Miller-Dieker Syndrome.

This study includes ten families (11 affecteds) with confirmed diagnosis of the lissencephaly spectrum. Further laboratory studies were planned in two families with MDS (L01-L02), in one subject with additional congenital abnormalities (L03), in four subjects with ILS (L04-L05-L06-L07), in two subjects with SBH (L08-L09), and in two subjects with LCH (L01) in view of the clinical and radiological findings. Phenotype-genotype correlation has been discussed in view of the literature and four families with established phenotype-genotype data will give further insight to the mechanisms. The clinical and radiological diagnosis has been confirmed in seven out of ten families by cytogenetic and molecular testing. The laboratory data will lead to genetic counselling and prenatal diagnosis.

Aslanger, Ayça Dilruba (2010). Genotype/phenotype correlation in neuronal migration disorders Istanbul University, Istanbul Medical Faculty Medical Genetics Department. Istanbul. 2010.

Key words: Lissencephaly, migration, microcephaly, cerebrum, mutation

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.

Project No. 3574

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kortikal malformasyonların sınıflandırması, beyin görüntülemeleri ile birlikte ilgili genleri de içerecek şekilde yapılmaktadır. Bu sınıflandırmada, kortikal yapının oluşumundaki üç önemli aşama dikkate alınmıştır. Bunlar; (1) nöronların proliferasyonu, (2) nöronların migrasyonu ve (3) nöronların kortikal organizasyonudur.

Nöronal migrasyon anomalileri; *agiri* (girus yokluğu), *pakigiri* (girusların sayısında azalma/girusların kabalaşması) ve subkortikal band heterotopisini (SBH) içeren “Lizensefali Spektrumu” içinde değerlendirilmektedir. Lizensefali ile ilişkili hastalıklar; Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizensefali Sekansı (ILS), SBH, serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH; *Lissencephaly with cerebellar hypoplasia*) ve X’e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizensefali (XLAG; *X linked lissencephaly with ambiguous genitalia*)’dır. Günümüzde insanlarda Lizensefali Spektrumu’na yol açtığı bilinen 5 farklı gen bilinmektedir. Bunlar; *LIS1*, *DCX*, *RELN*, *ARX* ve *TUBA1A*’dır. **MDS**’de 17p13.3’de *LIS1* genini de içeren büyük delesyonlar saptanmaktayken, **ILS**’de *DCX*, *LIS1* ve *TUBA1A*; **SBH**’de *DCX* ve *LIS1*; **XLAG**’de *ARX*; **LCH**’de *LIS1*, *DCX* ve *RELN* genlerindeki mutasyonlar sorumlu tutulmaktadır.

Lizensefali ile ilişkili hastalıklarda laboratuvar testleri planlanırken genotip-fenotip ilişkisi göz önüne alınmalıdır. Genotip-fenotip ilişkisi kurulurken klinik ve radyolojik bulgulardan yararlanılır. Radyolojik bulgular klinik bulgulardan daha belirleyicidir. Radyolojik değerlendirmede kullanılan önemli radyolojik bulgular *Grade* ve *Gradient* özelliğidir. *Grade*; Lizensefali Spektrumu’nun kraniyal MR görüntülerine göre 6 derecede sınıflandırılmasıdır (Şekil 2-11). **Grade 1**; diffüz *agiri*, **Grade 2**; anterior veya posteriyorda az sayıda kıvrım dışında diffüz *agiri*, **Grade 3**; anterior *pakigiri* ve posteriyor *agiri*, **Grade 4**; diffüz *pakigiri*, **Grade 5**; *pakigiri* ve SBH ve **Grade 6**; SBH’dir. *Gradient*; giral malformasyonun ağırlığının beynin farklı bölgelerine değişkenlik göstermesidir. Ön-anterior (A) ve arka-posterior (P) etkilenmenin ağırlığına göre, genotip-fenotip ilişkisi kurulabilir. *DCX* ve *RELN* genleri ile ilişkili mutasyonlarda korteksin anterior bölümü posteriyora (a>p) göre, *LIS1* ve *ARX* geni ile ilişkili mutasyonlarda korteksin posterior bölümü anteriora göre (p>a) daha fazla etkilenmiştir.

Bu çalışma kortikal gelişim malformasyonu ön tanısı ile kliniğimizde değerlendirilen olgulardan Lizenfali Spektrumu tanısı alanları kapsamaktadır. Çalışmaya katılmayı kabul eden ailelerin genetik testler için izinleri alınarak onam formları imzalatılmıştır. Lizenfali Spektrumu tanısı kesinleşen ve genotip-fenotip ilişkisi kurulan 10 ailede (11 etkilenmiş olgu) laboratuvar testleri planlanmıştır. **MDS** tanılı iki olguda (L01-L02), lizenfaliye eşlik eden ek konjenital anomalileri olan bir olguda (L03), **ILS**'li dört olguda (L04-L05-L06-L07), **SBH**'li iki olguda (L08-L09) ve **LCH**'li iki olguda (L10) genotip-fenotip ilişkisi dikkate alınarak sitogenetik ve moleküler yöntemler ile laboratuvar testleri yapılmıştır. Çalışmamızda kullanılan laboratuvar testleri; HRBT ile kromozom analizi, FISH analizi, MLPA analizi, haplotip analizi ve dizi analizidir. Ayrıca bir dış merkezde yapılan SNP-array analiz verileri kullanılmıştır. 10 ailenin 7'sinde (L01-L02-L03-L06-L07-L09-L10) sitogenetik ve moleküler veriler ile etiyopatogenez aydınlatılmıştır ve bu ailelere özgün genetik danışma verilmiştir. 7 ailenin 2'sinde (L01, L07) oluşan yeni gebeliklerde özgün prenatal tanı yapılmış ve her iki gebeliğin de sağlıklı olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışma Türk toplumunda ilk kez yapılan Lizenfali Spektrumu ile ilişkili klinik/radyolojik/moleküler verilerin irdelendiği bir çalışmadır. Farklı klinik/radyolojik alt gruplarda ileri moleküler incelemeler için akış şeması önerilmiştir.

İTF Tıbbi Genetik AD Moleküler Laboratuvarı'nda Lizenfali ile ilişkili hastalıklar için "moleküler inceleme paneli" oluşturulmuş ve rutin olarak Moleküler Laboratuvarı'mızda kullanılmaya başlanmıştır.

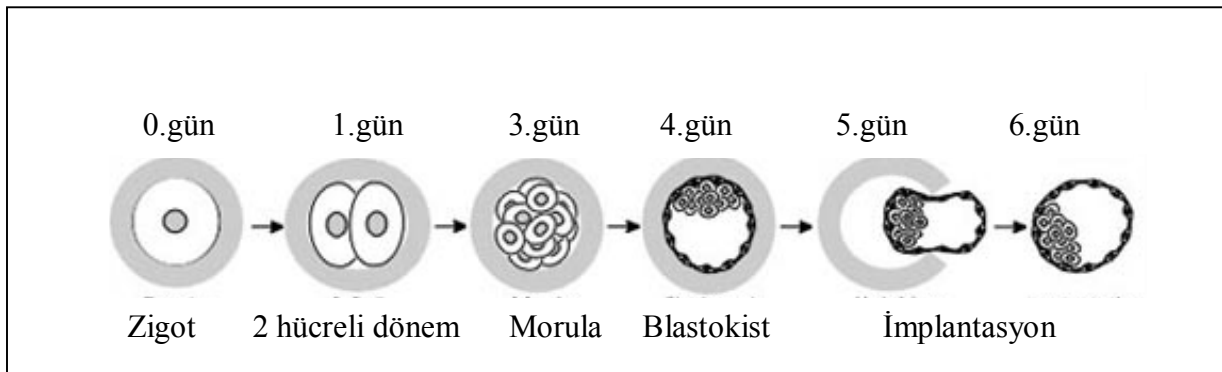
2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNSAN EMBRİYOLOJİSİ

İnsan dişi ve erkek gametlerinin birleştiği fertilizasyon aşaması sonrasında, her iki gametin pronükleusu kendi DNA'sını replike eder. DNA sentezlendikten sonra mitotik bölünmeye hazırlanan anneden ve babadan gelen 23 kromozom çifti, sentromerde uzunlamasına dizilirler ve zigotun her hücresinde normal diploid sayıda kromozom olacak şekilde karşı kutuplara ayrılırlar (1).

Yavru kromatidlerin bu hareketi sırasında hücrenin yüzeyinde sitoplazmayı ikiye ayıran derin bir yarık (*cleavage*) oluşur. Zigotun iki hücreli evresi olarak isimlendirilen bu dönemde zigot bir seri mitotik bölünmeye girer. İkinci yarıklanmanın ardından, zigot *blastomer* denilen sekiz hücreli gevşek bir hücre kümesi halindedir. Üçüncü yarıklanmanın ardından ise blastomerler birbirine daha sağlam bağlarla tutunan kompakt hücreler halindedir. Zigotun 16 hücreli hali olan *morula* uterusu ulaştığında uterus boşluğundaki sıvı iç hücre kitlesinin hücrelerarası boşluğuna sızıp toplanmaya başlayarak *blastosel* denen tek bir boşluğu oluşturur. Bu dönemde embriyo *blastosist* olarak adlandırılır. Blastosistin iç hücre kitlesi *embriyoblast* dış hücre kitlesi de *trofoblast* olarak adlandırılır.

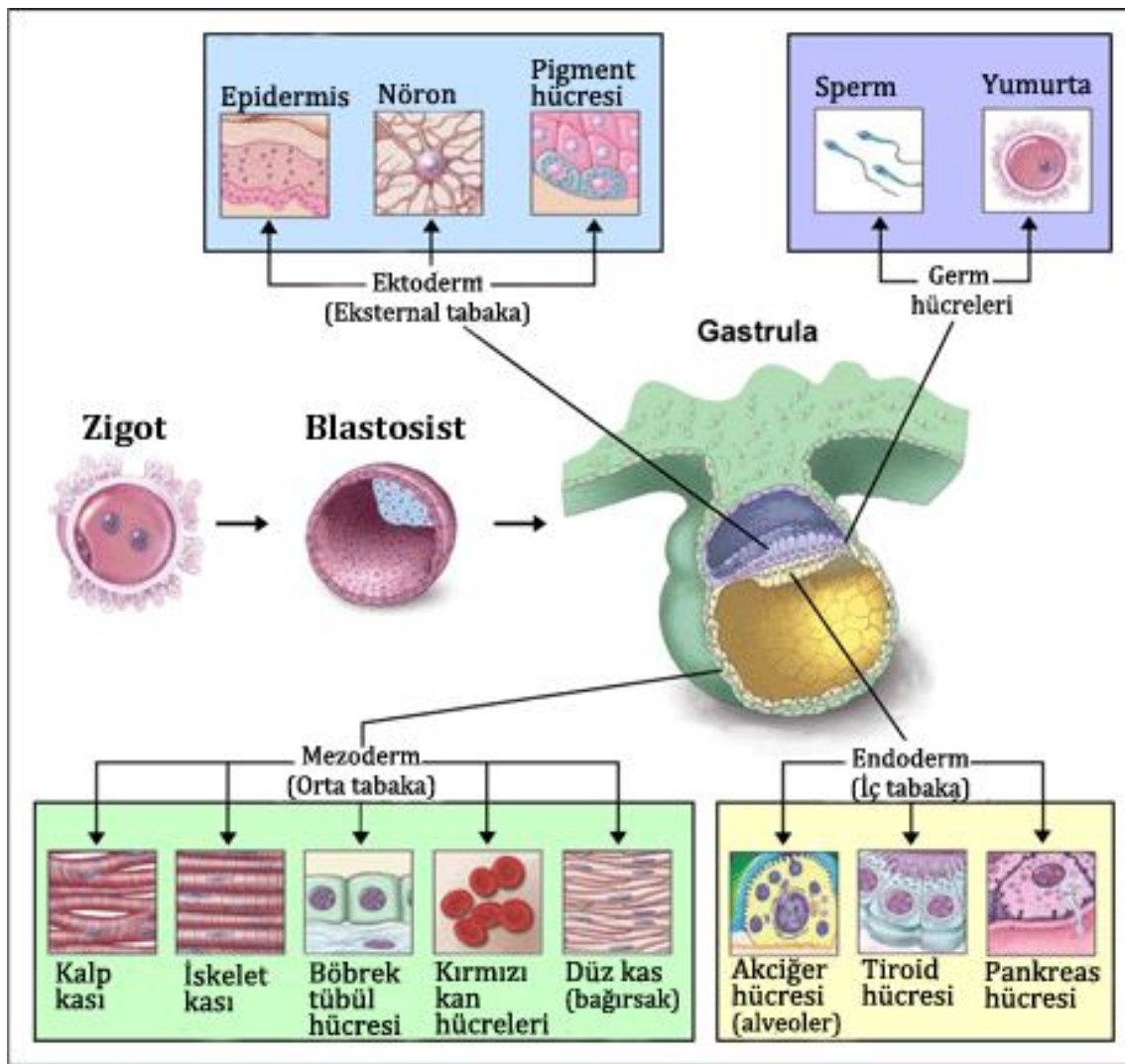
İnsan gelişiminin birinci haftasında zigot, morula ve blastosist evrelerini tamamlamış ve uterus mukozasına implante olmuştur. İmplantasyondan sonra embriyoblast tabakasından *epiblast* ve *hipoblast* olmak üzere iki tabaka oluşur. Epiblast tabakasından *embriyonik epiblast*, hipoblast tabakasından ise yolk kesesi gelişir. Embriyonik epiblasttan endoderm, mezoderm ve ektoderm olmak üzere 3 germ yaprağı gelişir, implantasyondan 15. gün sonra primitif çizginin oluşmasıyla başlayan bu döneme *gastrulasyon dönemi* denir (1).



Şekil 2-1 Zigottan blastomere

(6)'dan

Gastrulasyon döneminden sonra embriyonik dönem veya organogenez dönemi olarak bilinen 3. ve 8. haftalarda, her üç germ yaprağından bazı özel doku ve organlar gelişir. Gastrointestinal kanal, solunum sistemi, tiroid, paratiroid, karaciğer, pankreas **endodermal germ yaprağından**; vücutta tüm destek dokusunu oluşturacak miyotom (kas dokusu), skleretom (kıkırdak ve kemik) ile dermatom (dermis), vasküler sistem, ürogenital sistem, dalak ve böbrek üstü bezleri **mezodermal germ yaprağından**; santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi, kulak, burun ve gözün duyu epiteli, deri, saç ve tırnaklar, hipofiz, meme, ter bezleri ve diş minesini ise **ektodermal germ yaprağından** oluşur (1).

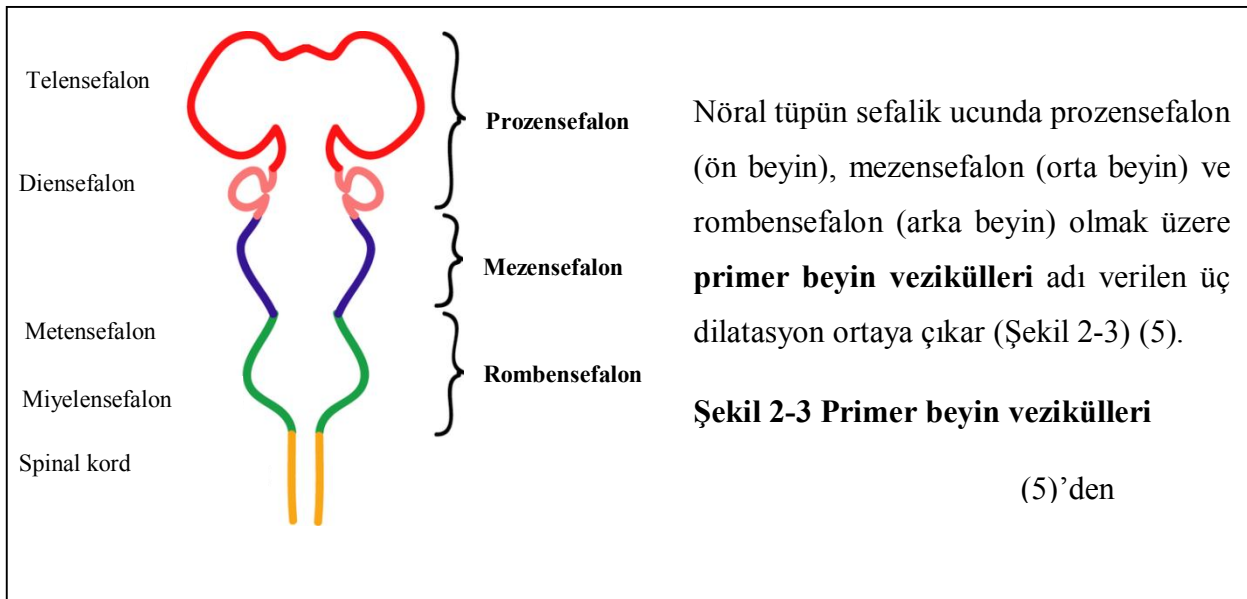


Şekil 2-2 Embriyogenez (7)'den

2.2. SANTRAL SİNİR SİSTEMİ EMBRİYOLOJİSİ

İnsan gelişiminin yaklaşık 15. gününde embriyonun yüzeyindeki ektodermal hücrelerin çoğalması ile *primitif çizgi* denilen bir doku plağı oluşur. Primitif çizgi *primitif çukur* ile sonlanır. Primitif çukurdan invajine olan hücreler *notokordiyal plak* halinde endoderme karışırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde notokordiyal plak endodermden ayrılır ve solid bir kordon görünümünde orta hatta aksiyal iskeletin ana çatısını oluşturan *notokordu*, notokordun üzerinde bulunan ektoderm kalınlaşıp *nöral plağı* oluşturur (1).

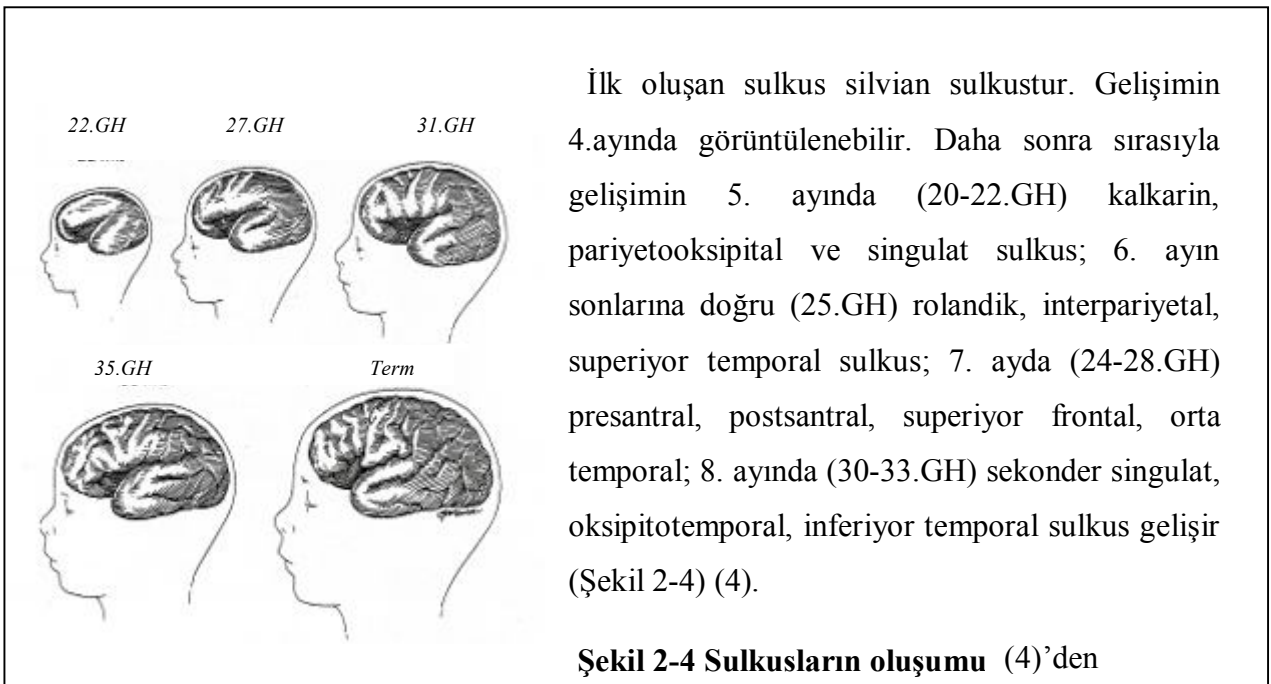
İnsan sinir sistemi nöral plaktan kökenini alır (2). Gelişimin 3. haftasında nöral plağın lateral katlantıları kalınlaşmaya başlar ve kaynaşırlar. Nöral tüpün olduğu bu sürece *nörülasyon* denir. Kaynaşma servikal bölgeden başlar; kaudal ve sefalik yönler doğru ilerler. Kraniyal nöroporlar 25. günde, kaudal nöroporlar ise 27. günde kapanırlar. Kapanan nöral tüpün duvarlarında çoğalan nöroepitelyal hücreler kalın bir psödostrafiye (yalancı çok katlı) epiteli oluştururlar, bu hücre topluluğuna *nöroepitelyum* veya *nöroepitelyal tabaka* denir (1,2).



Gelişimin 4. ila 8. haftaları arasında bir tüp şeklinde olan beyin dokusu üç bölgede fleksür adı verilen ventral bükülmeler gösterir (1). Bunlar orta beyin bölgesinde *sefalik*, arka beyin ve spinal kordun birleşim yerinde *servikal* ve metensefalon ve miyelensefalon arasında olan *pontin* bükülmedir.

Prozensefalon gelişimin 5. haftasında primitif serebral hemisferlerin oluşturduğu telensefalon ve optik veziküllerin dışa bükülmesi ile oluşan diensefalon olmak üzere iki sekonder beyin vezikülünden oluşur. Diensefalonun yan duvarlarını oluşturan alar tabakadan talamus, hipotalamus ve epitalamus meydana gelir. Diensefalon tavan plağının en kaudal kısmı olan epitalamusun divertikül oluşturacak şekilde invajinasyonu ile pineal bez (epifiz) gelişir. Pineal bezin endokrin ve davranış ritmi ile ilgili pek çok görevi vardır. Diensefalonun tavan plağının üzerinde bulunan pia tabakası ile tavan plağının bir araya gelmesi ile 3.ventrikülün koroid pleksusu oluşur. Hipofiz bezi ise diensefalonun taban plağının aşağı doğru uzantısı olan infundibulum ile stomodeumun bukkofaringeal membranın hemen önünde meydana getirdiği Rathke poşu olarak bilinen ektodermal çıkıntının birleşmesinden oluşur (1, 3).

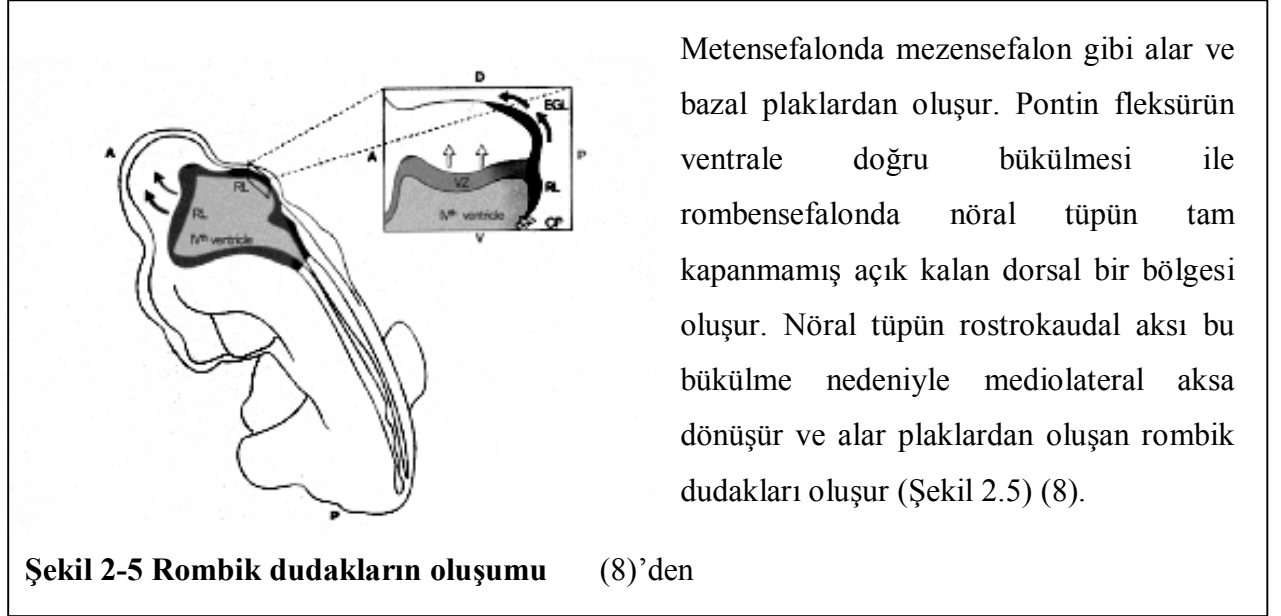
Serebral hemisferler; gelişimin 35. gününde foramen Monrodan telensefalona doğru uzanan bilateral çıkıntılar şeklinde oluşur (1). Serebral hemisferler, gelişimin erken haftalarında düz görünürler. Sulkuslar kronolojik olarak filogenetik bir sıra ile oluşmaya başlarlar (Şekil 2- 4).



Gelişimin geç haftalarına kadar süren bu durum 34. GH'da sekonder oksipital ve insular sulkusun oluşumu ile devam eder. Kortikal sulkusları değerlendirirken, özellikle preterm yenidoğanlarda, gebelik haftasının doğru bilinmesi ileri gebelik haftasına kadar devam eden sulkusların gelişimleri nedeniyle çok önemlidir, aksi halde yanlışlıkla lizensefali tanısı konabilir (4).

Mezensefalon beyin veziküllerinin en ilkel olanıdır. Mezensefalonun alar plakları birbirinden orta hat çöküklüğü ile ayrılan iki yükselti şeklinde belirirler. Her yükselti transvers bir oluk ile anterior (superior) ve posterior (inferior) kollikulus olmak üzere ayrılırlar ve böylece toplam dört büyük nöron grubu oluşur. Posterior kollikuluslar işitme, anterior kollikuluslar görme refleksleri ile ilişkilidir (2).

Rombensefalon en kaudaldeki beyin vezikülüdür. Miyelensefalon ve metensefalon olmak üzere iki bölümden oluşur. Miyelensefalon omurilik ve korteks arasında iletim merkezi olarak görev yapan medulla oblongata bulunur. Metensefalonda ise denge ve hareket koordinasyon merkezi sayılan serebellum ile spinal kord ile serebral ve serebellar korteksler arasında uzanan bilgi alışverişini sağlayan sinir liflerinin bulunduğu pons bulunur (2,3).



Rombik dudakların oluşturduğu serebellar primordiyumların, 4.ventrikül üzerinde birleşmesi ile orta hatta serebellar vermis ve her iki tarafta lateralde serebellar hemisferler oluşur. Kısa bir süre sonra ortaya çıkan transvers fissür, serebellumu pons ve medulla oblongatadan ayıran vermisin nodülünü ve serebellumun filogenetik olarak en eski parçası olan hemisferlerin flokkonodüler lobunu oluşturur (1,3). Rombik dudaklardan köken alan hücreler serebellar plağın üstünden teğetsel olarak göç ederek dış granüler tabakayı oluşturur. Ventrikül komşuluğundaki ventriküler zondan köken alan hücreler ise, purkinje hücreleri oluşturur ve burada çoğaldıktan sonra dış granüler tabakaya doğru serebellar taslağın yukarısına ışınal olarak göç ederler.

2.3. SEREBRAL KORTEKSİN OLUŞUMU

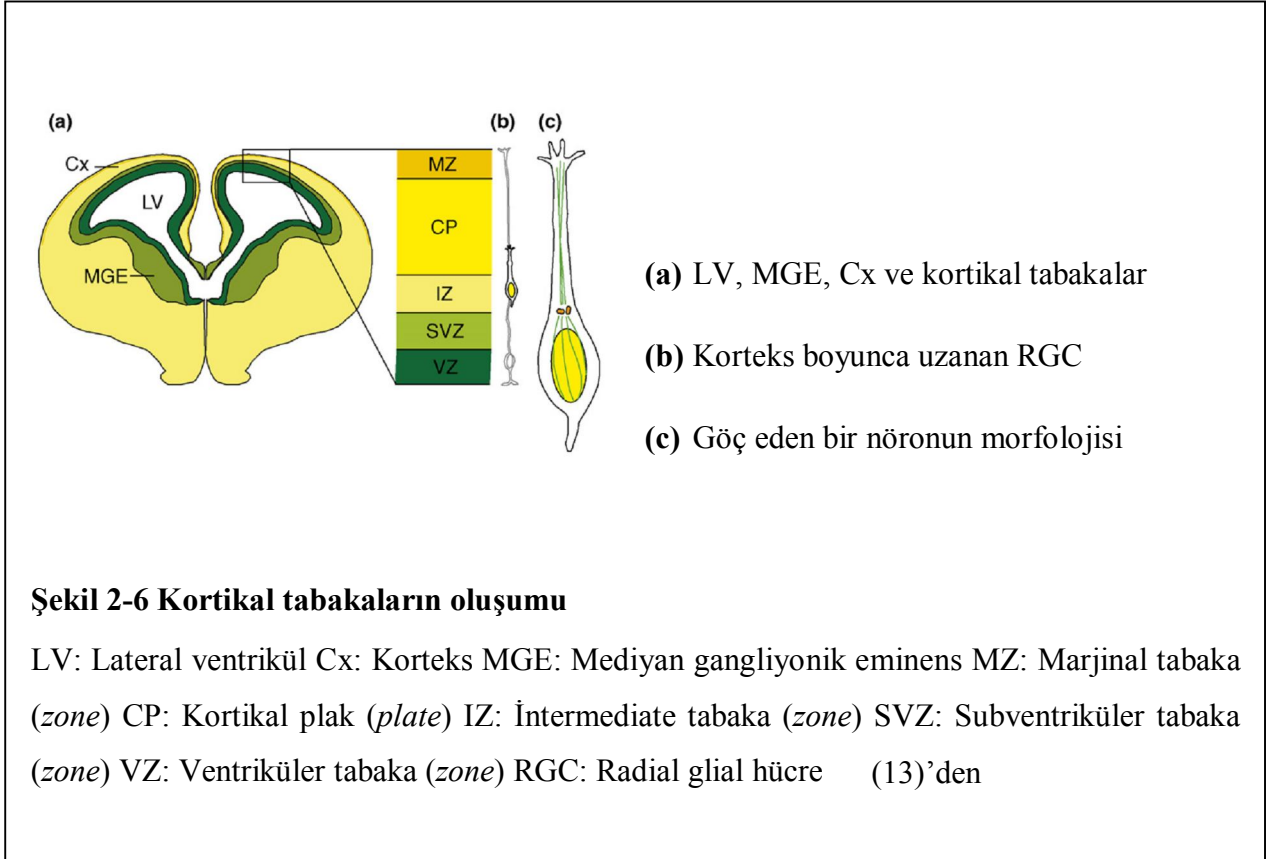
İnsan serebral korteksinin kompleks yapısının oluşumu için, hücrelerin farklı zamanlarda farklı yerlerde çoğalması, uygun kortikal tabakaya göç etmesi ve diğer hücreler ile bağlantılarının oluşması gerekir. **Kortikal nöronların migrasyon** süreci, serebral korteksin altı tabakalı yapısının oluşumunda nöronların proliferere oldukları yerden nihai yerlerine göç etmelerini tanımlayan önemli bir süreçtir. Evrimsel olarak insan beyni ile diğer memeliler karşılaştırıldığında; alt grup memelilerde sulkus, girus ve serebral korteks katlantılarının daha az olması, insan korteksinin oluşumunda özgün genetik mekanizmaların varlığına işaret eder.

Nöral tüp kapandıktan sonra sefalik ucunda prozensefalon, mezensefalon ve rombensefalon olmak üzere primer beyin vezikülleri bulunur. Beyin vezikül lümenleri her iki hemisfer içindeki lateral ventrikül; diensefalon boşluğu olan 3. Ventrikül ve rombensefalon boşluğu olan 4. Ventrikül'dür. Beyin vezikül lümenleri nöral tüpün kaudal ucunda spinal kanal olarak devam eder. Nöral tüpü çevreleyen nöroepitelyal tabakadaki hücreler çoğalarak ventriküler tabakayı oluşturur. Nöral tüpün nöroepitelyal tabakası serebral hemisferin nöroepitelyal tabakası ile aynı karakterde olmasına rağmen, serebral korteksin gelişimi daha farklı süreçler içerir.

İnsan gelişiminin 7. haftasında, lateral ventrikülün subependimal tabakasında nöroblast proliferasyonu oluşur. Germinal tabaka da denilen bu ventriküler tabaka, insan beyninin nöron ve glial hücrelerinin çoğunun köken aldığı **proliferatif tabaka**dır. Mitoz bölünme sonrası, hücrelerin bir kısmı ventriküler tabakada kalarak bölünmeye devam ederken, bir kısmı ventriküler tabakadan nihai yerlerine göç edecektir.

Aslında insan serebral korteksini oluşturan **iki proliferatif tabaka** vardır (Şekil 2-6). Birinci proliferatif tabaka, korteksin pek çok hücresinin köken aldığı **ventriküler tabaka** ve bu tabakanın hemen üstündeki **subventriküler tabaka**dır. Burada oluşan nöronlar, eksitator glutamaterjik projeksiyon nöronlardır. Somal translokasyon veya serebral kortekste uzanan radial glial hücreler aracılığıyla, kortikal tabakaya doğru ışımsal olarak göç ederler. Bu olaya nöronal migrasyonun **ışımsal (radial) migrasyonu** denir (9, 10) .

İkinci proliferatif tabaka, mediyen gangliyonik eminensir ve buradan inhibitör GABAerjik internöronlar oluşur. Bu nöronlar, ventriküler tabakadan köken alan hücrelere dik olarak göç eden subkortikal nöronlardır. Bu olaya nöronal migrasyonun *teğetsel (tangential) migrasyonu* denir (Şekil 2-5)(11-14).



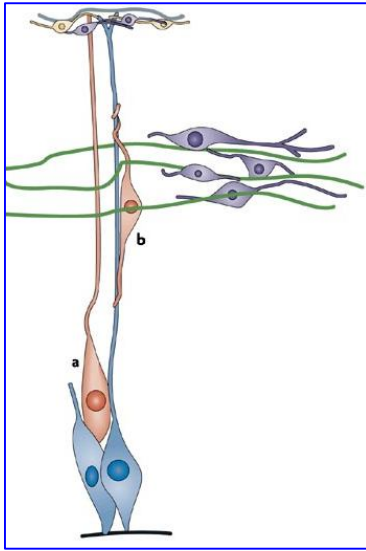
Kortikal nöronal migrasyonda; ilk oluşan nöronlar korteksin alt tabakalarında, daha sonra oluşan nöronlar korteksin üst tabakalarında bulunur. Bu nedenle kortikal tabakalar içten dışa doğru oluşmuş olur.

Işınsal nöron migrasyonunun somal translokasyon ve radial glial hücre aracılı migrasyon olmak üzere iki aşaması vardır. Nöronal migrasyonun erken aşamalarında, nöronlar somal translokasyon yoluyla göç eder. Somal translokasyon, nöronlar uzadıkça hücrenin ventriküler zondan en uzak yerine nükleusun mikrotübül aracılığıyla hareket etmesi ve hücrenin geri kalan kısmının nükleusu izlemesi ile olur.

Serebral hemisferler büyüdükçe hücrelerin göç edeceği uzaklıklar artar ve nöron migrasyonunda daha kompleks mekanizmalar kullanılır. Nöronal migrasyonun ileri aşamalarında ventriküler tabakadan pia tabakasına kadar uzanan özelleşmiş radial glial hücrelere tutunan nöronlar ışınsal olarak göç ederler. Radial glial hücrelerden salınan “reelin” adı verilen bir glikoprotein, nöronların göçlerini tamamlamasında önemli rol oynarlar (Şekil 2-7) (15).

Şekil 2-7 Kortikal nöronların ışınsal ve teğetsel migrasyonu

(15)’den



İşınsal olarak göç eden nöronlar (kırmızı) ya somal translokasyon ya da radial glial hücre (mavi) aracılığıyla göç ederler.

Teğetsel migrasyonu kullanan nöronlar radial glial hücreden bağımsız hareket ederler.

2.4. NÖRONAL MİGRASYON ANOMALİLERİNDE ROL OYNADIĞI DÜŞÜNÜLEN SİNYAL YOLAKLARI

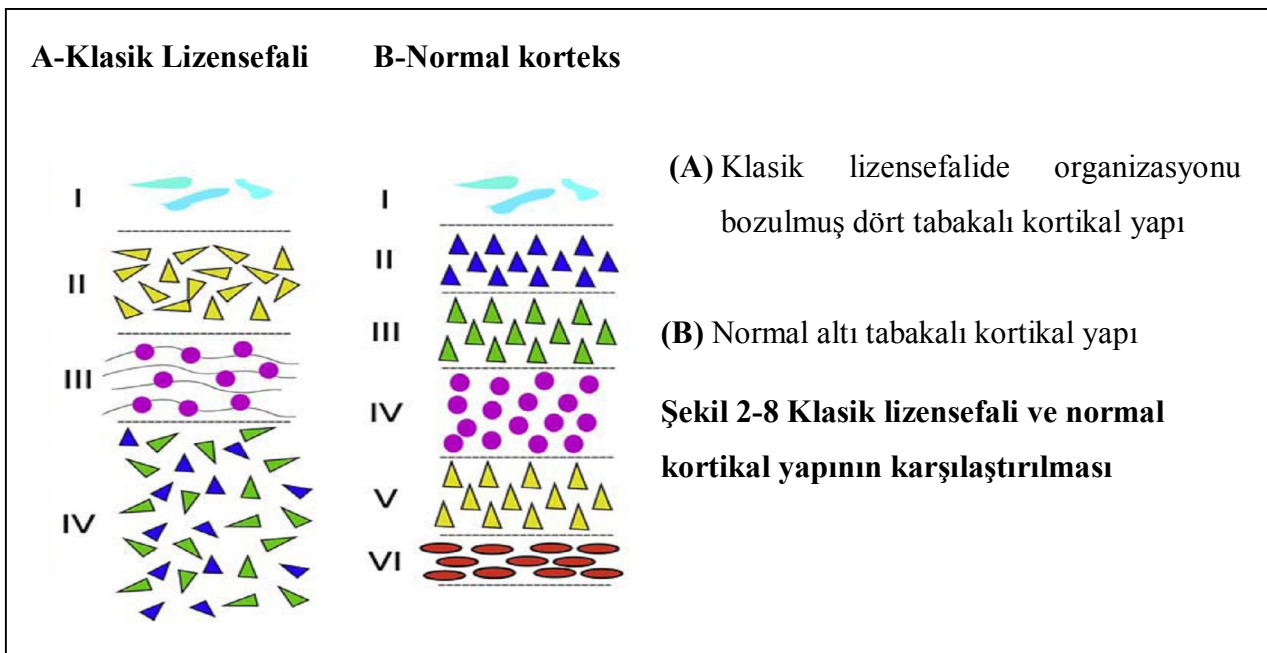
Nöronal migrasyon anomalileri; kortikal nöron migrasyonunun kesintiye uğraması sonucu oluşur. Nöronal migrasyon anomalisi olan lizensefali Yunanca düz anlamına gelen “*lissos*” ve beyin anlamına gelen “*encephalos*” kelimelerinin birleşmesinden oluşur. Lizensefalide beyin kıvrımlarının sayısında azalma ile birlikte kortikal kalınlık artmıştır.

Normalde beyin kıvrımları denen giruslar ortalama 1,5 cm aralıklarla oluşur. Ancak lizensefalili olgularda giruslar ya tamamen yok olmuştur ya da aralarındaki mesafe normale göre artmıştır. Girusların yokluğuna *agiri*, giruslar arası mesafenin arttığı, kıvrımların sayısının azaldığı ve kabalaşmış beyin yüzeyinin görüldüğü duruma ise *pakigiri* denir. Agiride giruslar 3cm’den daha büyük aralıklarla, pakigiride ise giruslar 1,5 ila 3 cm aralıklarla oluşur.

Normalde korteks kalınlığı yaklaşık 2,5 ila 4 mm’dir. Lizensefalide kortikal kalınlık 5 mm’den 20 ila 40 mm arasında değişir. Nöropatolojik çalışmalarda lizensefalide altı tabakalı normal kortikal yapının yerini alışılmadık multipolar ve farklı şekillerde görülen nöronların oluşturduğu dört tabakalı düzensiz bir yapının aldığı gösterilmiştir (16).

Klasik lizensefali; *agiri* ve *pakigiri*nin birlikte olduğu çok ağır bir konjenital beyin malformasyonudur. Bu bölümde klasik lizensefali, serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH) ve X’e bağlı kuşku genitalya ile birlikte lizensefali (XLAG) ile ilişkili genlerin yer aldığı yolaklar anlatılmaya çalışılacaktır.

Şekil 2-8’de organizasyonu bozulmuş dört tabakalı kortikal yapının gösterildiği klasik lizensefali ile altı tabakalı normal kortikal yapının karşılaştırılması gösterilmiştir.



Günümüze kadar klasik lizensefali fenotipinden sorumlu üç farklı gen tanımlanmıştır. Mikrotübül ile ilişkili proteinleri kodlayan; ***PAFAH1B1 (LIS1)***, ***DCX*** ve ***TUBA1A*** genlerinin fonksiyon kaybına yol açan mutasyonları klasik lizensefali ile ilişkilendirilmektedir.

17p13.3'e lokalize ***LIS1*** genini içeren küçük delesyonlar izole klasik lizensefaliye neden olurken bu gene komşu genleri (örneğin *YWHAE* genini) de içeren daha büyük delesyonlar daha ağır lizensefali ve yüz dismorfizminin de gözlemlendiği Miller-Dieker Sendromu'na (MDS) neden olmaktadır. Bu nedenle MDS ardışık gen sendromları (*contiguous gene syndrome*) arasında yer almaktadır (17). *LIS1* geninde haplo-yetersizliğin (*haploinsufficiency*) klasik lizensefaliyi oluşturmak için yeterli olduğu, ancak komşusundaki genlerin, fenotipi modifiye edici etkisinin olduğu düşünülmektedir (18).

LIS1 geni, primer olarak göç eden nöronların sentrozomunda lokalize mikrotübül ile ilişkili LIS1 proteinini kodlamaktadır. Bu protein evrimsel olarak korunmuştur. LIS1 ortologlarına *Aspegillus nidulans*'ta NudF, *Saccharomyces cerevisiae*'de Pac1 ve *Drosophila melanogaster*'de Dlis1 örnek olarak verilebilir. LIS1 ortologlarının sitoplazmik mikrotübülün negatif uç proteini olan "Dinein" ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (19, 20, 21). Dinein proteini, ATP'nin içindeki kimyasal enerjiyi hareket enerjisine çeviren hücre içindeki bir motor proteindir. LIS1 proteininin, nükleer migrasyon kontrolünde görevli olduğu ve bu proteinin kaybının Dinein fonksiyonunda azalmaya yol açtığı düşünülmektedir.

Lizensefali ile ilişkili olarak tanımlanmış ikinci gen, erkeklerde klasik lizensefaliye, kızlarda subkortikal band heterotopisi (SBH) olarak bilinen çift kortekse neden olan X q22.3'e lokalize ***DCX*** genidir. Çift korteks (*double cortex*) görünümünde, dış kortikal tabaka normal gözükmekteyken, subkortikal ak madde içinde nöronlardan oluşan heterotopik bir band dikkati çekmektedir. Bu bantların bilişsel fonksiyonlar ile ilişkisi net olarak açıklanamamıştır. Ancak fonksiyonel MR çalışmalarında bu nöron gruplarının fonksiyonel olarak aktif olması, bilişsel fonksiyonlarda etkili olabileceğini göstermiştir (22, 23).

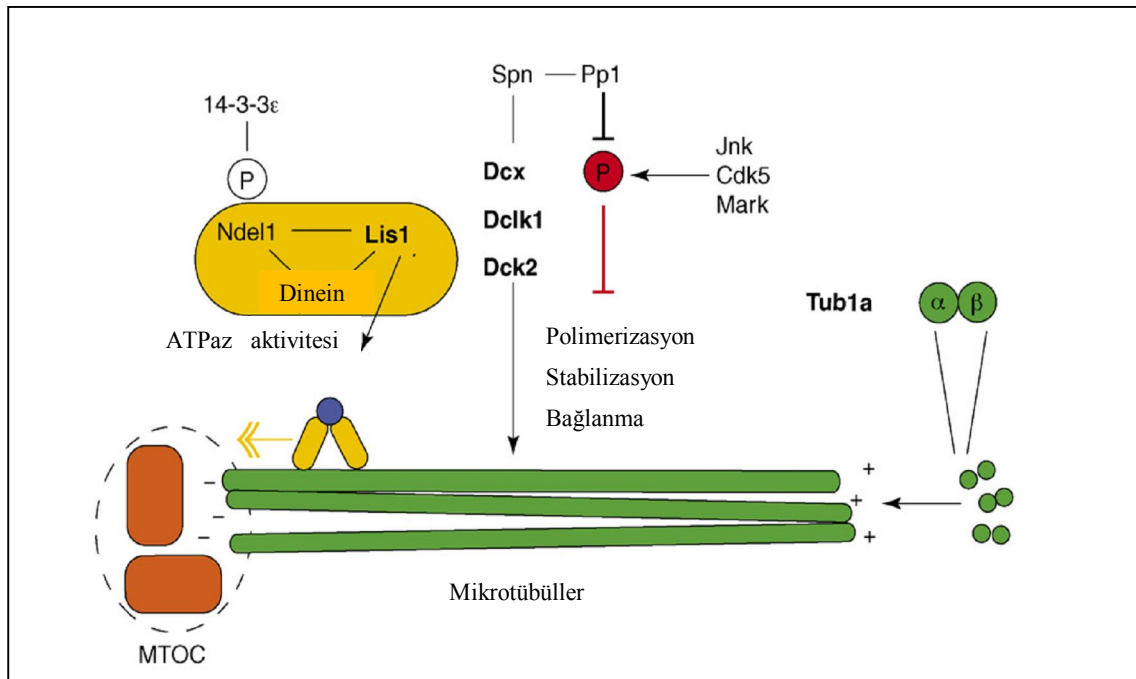
DCX proteini, LIS1 proteini gibi mikrotübül ile ilişkili bir proteindir. İn vitro çalışmalar, mikrotübüllerin paketlenmesi ve stabilizasyonunda, LIS1'den daha aktif bir rol oynadığını göstermiştir. *DCX* geninde şimdiye kadar tanımlanan mutasyonların büyük bir kısmı, DCX proteininin mikrotübül üzerindeki etkisini inaktive eden tekrarlayan tubulin bağlayıcı domaininde bulunmuştur (24, 25).

DCX benzeri iki protein olan DCLK1 ve DCLK2'in (*doublecortin-like kinase 1 ve 2*) N-terminal domainleri DCX proteinine benzer, C-terminal domainlerinde ise ek olarak serin-

treonin kinaz domaini bulunur. Bu iki proteininde mikrotübül aktivasyonunda görevli olduğu gösterilmiştir, ancak şu ana kadar lizensefalili olgularda bu genlerde mutasyon bildirilmemiştir (26).

Farelerdeki ortoloğunun lizensefaliye yol açığının gösterilmesi üzerine lizensefalili olguların taranması ile α -tubulin genlerinden *TUBA1A* geninde mutasyonlar saptanmıştır (27). Alfa ve beta tubulin heterodimerleri nöronal migrasyon, nörit uzanımı ve nükleokinezis için çok önemli olan mikrotübülleri oluşturmak için bir araya gelirler. *TUBA1A*'nın ekspresyon paterni beyin gelişiminde erken oluşan postmitotik göç eden nöronlarda gösterilmiştir (28).

Nöronal migrasyonda bu genlerin etkilerinin anlaşılması için yapılan hayvan ve shRNA çalışmaları ile öne sürülen genetik mekanizmalar Şekil 2-9'de özetlenmiştir (13).



Şekil 2-9 Nöronal migrasyonda hücre iskeletinin oluşumunda rol oynayan lizensefali ile ilişkili genlerin fonksiyonu (13)'den

Lis1 ve Ndel1, Dinein motor kompleksinin (sarı oval) bileşenleridir. Dinein motor kompleksi mikrotübülün negatif ucunda bulunur. Bu kompleks ile birleşmiş olan taşınan yük (mavi yuvarlak) Dinein-aracılı ATP hidrolizini kullanarak mikrotübülün pozitif ucundan

negatif ucuna [MTOC (*MicroTubule-Organizing Center*) hareket eder. LIS1 proteininin Dinein'in ATPaz aktivitesini doğrudan etkileyebildiği (okla gösterilmiş) ve taşınan yükün hareket hızını kontrol edebileceği öne sürülmüştür. YWHAE, Ndel1'in fosforilasyon bölgesini korur, ancak henüz bu işlemdeki diğer görevleri tam olarak belirlenmemiştir (13, 14).

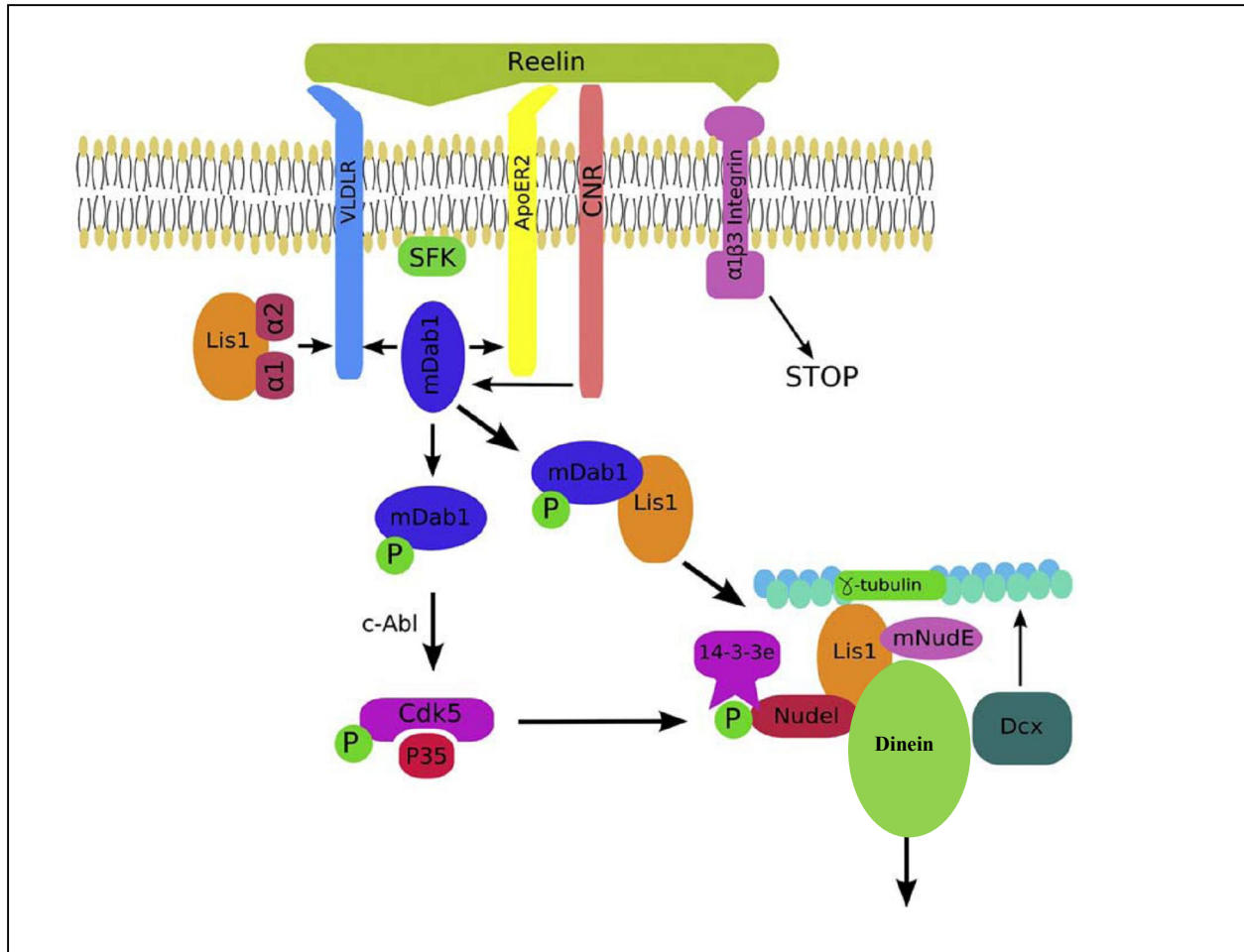
Dcx, Dclk1 ve Dclk2 proteinleri mikrotübül polimerizasyonu ve paketlemede görevlidir. Dcx proteininin mikrotübül paketlemedeki bu görevi Dcx'in fosforilasyonu ile inaktive olurken, defosforilasyonunu (kırmızı ile gösterilmiş) ile aktive olur. Proteinleri fosforilleyen Jnk, Cdk5 ve Mark gibi protein kinazlar ile Dcx, Dclk1 ve Dclk2 proteinleri fosforillenir. Böylece Dcx, Dclk1 ve Dclk2 proteinlerinin fonksiyonları inhibe olur. Spinoofilin Dcx'in defosforilasyonunu sağlayan Pp1 için adaptör görevini üstlenir. Dcx'in defosforilasyonu ile Dcx proteininin tekrar aktivasyonu sağlanır.

Tubulin dimerleri α ve β alt ünitelerinden oluşur. Mikrotübülün pozitif ucuna eklenir. Tuba1a tubulin α alt ünitelerinden biridir (13).

Serebellar hipoplazi ile birlikte gözlenen Lizenfali *RELN* ve *VLDLR* genlerindeki mutasyonlarıyla ilişkilendirilmesinden sonra altta yatan mekanizmalar aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Otozomal resesif serebellar hipoplazi ile birlikte lizenfali (LCH) *RELN* genindeki mutasyonlar ile ilişkilendirilmiştir (29, 30). *RELN* 388 kDa ağırlığında "Reelin" adı verilen büyük bir hücre dışı matriks proteinini kodlamaktadır. Bu proteinin üç reseptörü vardır. Bunlar; düşük molekül ağırlıklı lipoprotein [*very low density lipoprotein receptor* (VLDLR)], $\alpha1\beta3$ integrin ve kaderin ile ilişkili reseptördür [*cadherins-related receptor* (CNR)]. Bu reseptörlere bağlanarak kortikal nöronların migrasyonunda görev alır (31). Farelerde Reln mutasyonu serebellar hipoplazi, anormal serebral kortikal migrasyon ve anormal aksonal bağlantıya neden olmaktadır (32). Bu nedenle Reln'in hücre yerleşiminde hücre-hücre ilişkisini kontrol ettiği düşünülmektedir. Reln'in $\alpha3\beta1$ integrine bağlanmasının nöronal migrasyonu durdurucu etkisi olduğuna inanılmaktadır. Ancak hücre içinde migrasyonu durdurucu diğer sinyal elemanları henüz bilinmemektedir (33).

Nöronal migrasyonda rol oynayan *LIS1* ve *RELN* genlerinin sinyal yollarında birbiri ile ilişkisi ayrıntılı olarak Şekil 2-10'de özetlenmiştir (16).



Şekil 2-10 Nöronal migrasyonda *LIS1* ve *RELN* genlerinin sinyal yolları (16)'dan

Hücre dışında bulunan Reln; Cnr, Vldlr/ApoER2 ve $\alpha 1\beta 3$ integrin olmak üzere üç reseptör ile kompleks oluşturur. Reln bunlardan birine bağlanır. Bu bağlanma Cdk5/p35'i aktive edebilen mDab1'i aktive eder. Cdk5, Nudel gibi hücre içi pek çok hedefi fosforilasyona uğratabilir. Fosforile olan Nudel; Lis1, mNudE, Dynein ve mikrotübüller ile bir kompleks oluşturur. Bu kompleks hücre göçünde ve nükleer yerleşimde önemlidir. Dcx'in Lis1 ile ilişkili olduğu ve mikrotübül fonksiyonunda görev aldığı düşünülmektedir. Reln'in Vldlr ve ApoER2'e bağlanması, src-kinaz ailesinin (SFK) aktivasyonuna ve Dab1 fosforilasyonuna neden olur (16).

Reelin stimülasyonu ile fosforile olan Dab1, Lis1 ile ilişki kurar. Lis1 sitoplazmik Dynein komplekslerinden biri olan Pafah1b kompleksinin alt ünitelerine ($\alpha 1$ ve $\alpha 2$) bağlanır. $\alpha 1$ ve $\alpha 2$

alt üniteleri Vldlr'e de bağlanır ve Dab1 ile reseptöre bağlanmak için yarışır. Katalitik Pafah1b alt ünitesinin VLDLR'e bağlanması P-Dab1'i görevinden uzaklaştırır ve Lis1 ile ilişkisini artırmasına neden olur (16).

X'e bağlı CCA ve kuşkulu genitalya ile birlikte lizensefali (XLAG) şimdiye kadar sadece erkeklerde gözlenmiş olan bir fenotiptir (34). Kortikal kalınlık orta derecede artmıştır (6-7 mm) ve beyin arka yüzleri daha fazla etkilenmiştir. Postnatal mikrosefali, yenidoğan başlangıçlı nöbetler, hipotalamik fonksiyon bozukluğu, erken çocukluk döneminde ölümler gözlenebilir (35). *ARX* genindeki mutasyonlar erkek olgularda tanımlanmıştır. Dişi taşıyıcılarda ise korpus kallozum hipoplazisi veya agenezisine normal veya hafif zeka geriliğinin eşlik ettiği gösterilmiştir (36).

Fare *Arx* ve insan *ARX* geni, ventriküler tabaka ve mediyen gangliyonik eminens dahil hem dorsal hem de ventral telensefalonda eksprese olmaktadır. Mürin *Arx* geninin gelişim sırasında ve erişkin beyinde özellikle GABAerjik nöron serisinde eksprese olduğu gösterilmiştir. *ARX* proteininin mediyen gangliyonik eminens ve neokortekste GABAerjik internöronların teğetsel migrasyonunu ve farklılaşmasını kontrol ettiği, ayrıca neokortikal ventriküler tabakadan ışınsal migrasyonu tetiklediği düşünülmektedir (37,38). Farklı *ARX* mutasyonları GABAerjik sistemin tüm fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. XLAG ile ilişkilendirilmiş *ARX* mutasyonlarının çoğu erken terminasyon kodonuna neden olan mutasyonlardır. Homeodomain içindeki konservatif olmayan yanlış anlamlı mutasyonları daha hafif XLAG olgularında gözlenirken, homeodomaindeki konservatif değişiklikler Proud sendromu (kuşkulu genitalya ile birlikte CCA) ile ilişkilendirilmiştir. Homeobox dışında ve Poli-A artışına neden olan yanlış anlamlı mutasyonlar, malformasyona neden olmayan fenotipler ile ilişkilendirilmiştir (39, 40).

2.5. KORTİKAL ANOMALİLERİN TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI

Kortikal gelişim malformasyonları; mikrosefali, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, epilepsi ve diğer birçok nörolojik bulgunun etiyopatogenezinde yer almaktadır (42). Kortikal malformasyonları, görüntüleme yöntemleri ve otopsi ile elde edilen histopatolojik inceleme sonuçlarına göre üç ana grupta sınıflandırılmışlardır (Tablo 2-1) (43).

İlk grup **glial ve nöronal proliferasyon anomalilerini** ilgilendiren gelişimin nörogenezis basamağında görülen anomalileri içermektedir. Bu grup içinde gerçek mikrosefali [*Microcephaly Vera* (MV)], hemimegalensefali ve fokal kortikal displaziler bulunmaktadır. Basit giral paternli mikrosefali [*Microcephaly with Simplified Gyrar pattern* (MSG)] de bu grup içinde değerlendirilmektedir (41). MV’da ve MSG’ de korteksin normal 6 tabakalı yapısı korunmuştur.

MV’da, nöronların sayısında azalma nedeniyle beyin çok küçüktür, giral patern ve korteks kalınlığı korunmuştur ve gros bir patolojik anomali gözlenmez. Olgularda mental retardasyon orta derecede olup, çoğu olgunun nörolojik problemleri ve nöbetleri yoktur. MV ile ilişkili olduğu belirlenen otozomal resesif 7 lokusta (MCPH1-7), henüz 5 gen tanımlanabilmiştir. Bunlar 8p23’de *MCPH1* geni (MCPH1; **MIM*607117**), 9q33.3’de *CDK5RAP2* geni (MCPH3; **MIM*608201**), 1q31’de *ASPM* geni (MCPH5; **MIM*605481**), 13q12.2’de *CENPJ* geni (MCPH6; **MIM*609279**) ve 1p32’de *STIL* geni (MCPH7; **MIM*181590**)’dır (44, 45, 46, 47). 19q13.1-19q13.2’deki MCPH2 (**MIM%604317**) ve 15q15-q21’deki MCPH4 (**MIM%604321**) lokuslarında henüz ilişkili gen tanımlanmamıştır (48,49).

MSG’de ise giral patern anormaldir, girus sayı ve derinliğinde azalma mevcuttur ve normal-ince korteks tabakası (2,5-4 mm) ile karakterizedir. Klinik olarak 5 tipe ayrılır. Tip 1 hafif-orta mental retardasyonu olan olguları içerir. Diğer tipler ise ağır mental retardasyon, erken başlangıçlı nöbetler ve ağır prognoz ile ilişkilidir. Henüz MSG ile ilişkili gen veya lokus bulunamamıştır. Kalıtımının OR ile uyumlu olduğu düşünülmektedir (41).

İkinci grup **nöronal migrasyon anomalileridir**. Bu grup içinde “ Tip 1 Klasik lizensefali, SBH ve Tip 2 Kaldırım taşı lizensefalisi (*cobblestone*) yer alır.

Tip I klasik lizensefali agiri ve pakigirinin birlikte görüldüğü durumdur. “Lizensefali Spektrumu”; agiri, pakigiri ve subkortikal band heterotopisini (SBH) içeren bir terim olarak kullanılmaktadır. Agiri; girusların yokluğu, pakigiri; girusların sayısının azalması ve SBH; korteks ile lateral ventrikül yüzeyi arasındaki ak maddenin içinde gri maddenin bilateral ve simetrik bir band oluşturmastır. SBH; “Agiri-Pakigiri-SBH Spektrumu’nun” en hafif şeklidir. OMIM veritabanında lizensefalinin otozomal formları LIS1 (**MIM#607432**), LIS2 (**MIM#257320**), LIS3 (**MIM#61160**), X’e bağlı formları ise LISX1 (**MIM#300067**) ve LISX2 (**MIM #300215**) olarak adlandırılmıştır. Bu hastalıklarla ilişkili genler; 17p13.3’de *LIS1* geni (**MIM*601545**), Xq22.3’de *DCX* geni (**MIM*300121**), 12q12’de *TUBA1A* geni (**MIM*602529**), serebellar hipoplazi ve lizensefali ile ilişkili 7q22.1’de *RELN* geni (**MIM*600515**) ve X’e bağlı kuşku genitalya ile birlikte lizensefali fenotipine neden olan *ARX* geni (**MIM*300215**)’dir.

Tip 2 Lizensefali, aşırı nöronal migrasyonun yol açtığı kortekste kaldırım taşı görünümüne yol açan bir lizensefali grubudur. Fukuyama Konjenital Musküler Distrofi (**MIM #253800**), *Muscle-Eye-Brain* hastalığı (**MIM #253280**) ve Walker-Warburg Sendromu (**MIM#236670**) bu grupta yer alır. Bu hastalıklar ile 9q31’de *FKTN* geni (**MIM *607440**), 9q34’de *POMT1* geni (**MIM *607423**), 14q24’de *POMT2* geni (**MIM *607439**), 19q13’de *FKRP* geni (**MIM*606596**), 22q12’de *LARGE* geni (**MIM*603590**), 13p34’de *POMGNT1* geni (**MIM*606822**) ilişkilendirilmiştir.

Son güncel sınıflandırmaya göre, nöronal migrasyonun ventriküler tabakadan başladığı ilk aşamasındaki bozukluğun yol açtığı “Periventriküler Heterotopi” de nöronal migrasyon anomalileri içinde değerlendirmeye alınmıştır (42, 43). Otozomal resesif formu (**MIM#608097**) 20q13’de *ARFGEF2* geni (**MIM*605371**) ve X’e bağlı formu (**MIM#300049**) Xq28’de *FLNA* geni (**MIM*300017**) ile ilişkilendirilmiştir.

Üçüncü grup **nöronal organizasyon anomalileridir**. Bilateral frontopariyetal polimikrogiri (**MIM#606854**) ve Şizensefali (**MIM#269160**) bu grupta yer alır. Bilateral frontopariyetal polimikrogiri ile 16q13’de *GPR56* geni (**MIM*604110**) ve Şizensefali ile *EMX2* geni (**MIM*600035**) ilişkilendirilmiştir.

Tablo 2-1: Kortikal gelişim malformasyonlarının klinik bulguları ve ilgili genleri

<i>Gelişim evresi</i>	<i>Kortikal Malformasyon</i>	<i>Sorumlu Gen</i>	<i>Kalıtım</i>	<i>Klinik bulgular</i>
Anormal nöroenez	Mikrosefali	<i>ASPM;</i> <i>MCPH1;</i> <i>CDK5RAP2;</i> <i>CENPJ</i>	OR	MR, epilepsi +/-
	Hemimegalensefali	<i>bilinmiyor</i>	?	MR,erken başlangıçlı dirençli epilepsi, nörokutanöz sendromlar +/-
	Fokal kortikal displazi	<i>Bilinmiyor</i>	?	Fokal ve generalize epilepsi
Anormal nöronal migrasyon	Periventriküler heterotopiler	<i>FLNA</i>	X'e bağlı	Normal zeka gelişimi, adolesan başlangıçlı nöbetler, erkek letal,
		<i>ARFGEF2</i>	OR	MR, mikrosefali,
	SBH	<i>DCX</i>	X'e bağlı	Kızlarda SBH, MR, epilepsi,
	Lizensefali	<i>LIS1</i>	OD	Miller Dieker Sendromu (MDS)
		<i>DCX</i>	X'e bağlı	Erkeklerde X'e bağlı lizensefali
		<i>TUBA1A</i>	OD	Lizensefali
		<i>ARX</i>	X'e bağlı	Kuşkulu genitalya, hipotalamik disfonksiyon, neonatal epilepsi
		<i>RELN</i>	OR	Serebellar hipoplazi ile birlikte epilepsi
Aberan nöronal migrasyon	Kaldırım taşı, lizensefalisi	<i>Fukutin</i>	OR	Fukuyama konjenital musküler distrofi
		<i>POMGnT1</i>	OR	<i>Muscle-eye-brain</i> hastalığı
		<i>POMT1</i>	OR	Walker-Warburg sendromu
Anormal nöronal organizasyon	Polimikrogiri	<i>GPR56</i>	OR	Bilateral frontoparietal polimikrogiri, epilepsi
	Şizensefali	<i>EMX2</i>	OD	Tip II (açık)

Tablo 2-1 Kortikal gelişim malformasyonlarının klinik bulguları ve ilgili genleri

(42)'den değiştirilerek

2.6. LİZENSEFALİ MALFORMASYONU SPEKTRUMU

2.6.1. AGİRİ-PAKİGİRİ-SUBKORTİKAL BAND SPEKTRUMU

Lizensefali çok ağır bir nöronal migrasyon anomalisidir. İnsidansı 100.000’de 1’dir (50). Kortikal nöronların normal ulaşmaları gereken yerlerinden daha yakına göç etmesi nedeniyle oluşan bu kortikal anomali belirgin mental retardasyon ve nöbetlere neden olmaktadır.

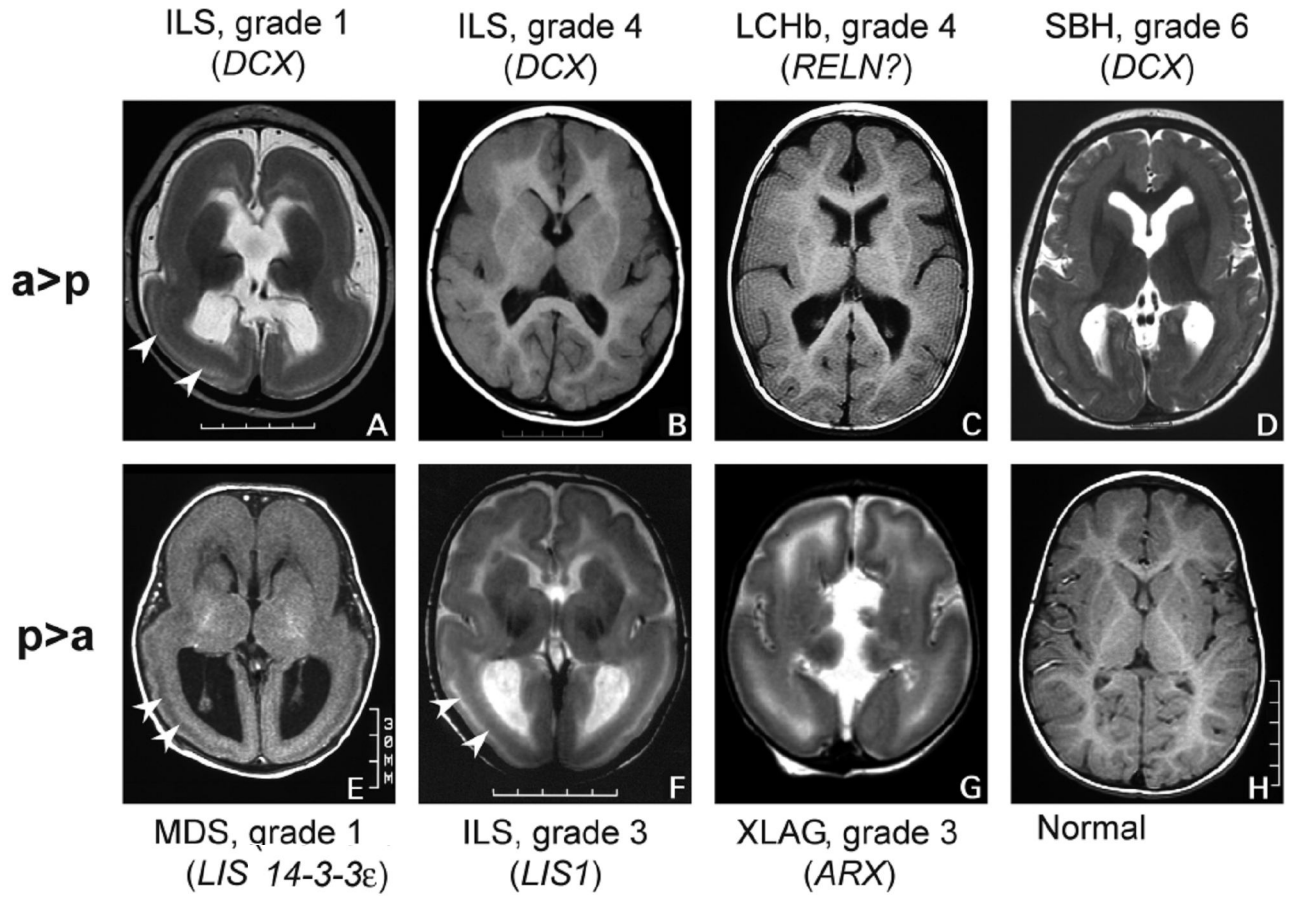
Lizensefali, agiri (girusların yokluğu), pakigiri (girusların sayısında azalma) ve subkortikal band heterotopisini (SBH) içeren “Lizensefali Spektrumu” olarak adlandırılmaktadır. Lizensefalinin Agiri-Pakigiri-SBH derecesi olgulardaki mental retardasyon ve epilepsinin ağırlığı ile genelde korelasyon göstermektedir (51).

Bu spektrum, kraniyal MR görüntülerine göre 6 derecede sınıflandırılmıştır (Şekil 2-11) (52).

Lizensefalinin derecelendirilmesi (*Grade*)

- I. ***Grade 1***; diffüz agiri
- II. ***Grade 2***; anterior veya posteriyorda az sayıda kıvrım dışında diffüz agiri
- III. ***Grade 3***; anterior pakigiri ve posteriyor agiri
- IV. ***Grade 4***; diffüz pakigiri
- V. ***Grade 5***; pakigiri ve SBH
- VI. ***Grade 6***; SBH

Şekil 2-11: Lizenşefalinin derecelendirilmesi (52)'den



Şekil 2-11 Lizenşefalinin derecelendirilmesi (52,100)'den

2.7. LİZENSEFALİ İLE İLİŞKİLİ HASTALIKLAR

Lizensefali ile ilişkili hastalıklar; Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizensefali Sekansı (ILS), Subkortikal Band Heterotopisi (SBH), Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH) ve X'e bağlı kuşku genitalya ile birlikte lizensefali (XLAG)'dir.

2.7.1. MILLER-DIEKER SENDROMU (MDS)

Miller-Dieker Sendromu (MDS); karakteristik yüz bulgularının eşlik ettiği klasik lizensefali sendromudur. 17. kromozomun kısa kolunun terminal bölgesinde *LIS 1* ve komşu genlerini içeren mikrodelesyonu ile ortaya çıkar.

1963 yılında Miller ve 1969 yılında Dieker tarafından dismorfik yüz bulguları ve ağır nöromotor gelişme geriliği olan olgular bildirilmiştir (53, 54). Dobyns ve arkadaşları tarafından 1983 yılında MDS'li olguların BT (Bilgisayarlı Tomografi) incelemelerinde frontal ve temporal lobların operküzizasyon yokluğu ve 1984 yılında kortikal incelemelerinde 4 tabakalı kalın korteks yapısının olduğu gösterilmiştir (55, 56). Dobyns ve arkadaşlarının (1983), bir olguda 17p13 parsiyel monozomisine neden olan ring 17 anomalisi saptaması üzerine 17p monozomisinin MDS'ye neden olduğu belirlenmiştir (55). 1993 yılında haritalama çalışmaları sonucunda, Reiner ve arkadaşları tarafından *PAFAH1B1* veya *LIS1* olarak adlandırılan 17p13.3 bölgesine lokalize gen klonlanmış ve MDS'ye bu gendeki delesyonların sebep olduğu gösterilmiştir (57).

MDS'li olguların belirgin alın, bitemporal çöküklük, dışa dönük burun deliklerinin olduğu küçük bir burun, ince vermilion sınırının olduğu yukarı kalkık bir üst dudak ve küçük çenenin olduğu tipik bir yüz görünimleri vardır (58) (Şekil 2-12). Olguların bir kısmında konjenital kalp hastalıkları (KKH), duodenal atrezi ve böbrek anomalileri görülebilmektedir.

Olguların antenatal döneminde amniyos sıvıları artmış olabilir. Etkilenmiş olgularda yenidoğan döneminde apne, hipotoni ve emme güçlüğü görülebilir. Tonusları normal veya hafif/orta azalmıştır. Beslenme güçlüğüne bağlı geçici bilirubin yüksekliği görülebilir (59). Doğum baş çevreleri genelde normaldir (ortalama ile -2SD arasında). Postnatal baş çevresi gelişimi yavaştır. Çoğu olguda 1 yaşında ağır mikrosefali belirginleşir.

Olgularda infantil spazmı içeren dirençli nöbetler görülür. Olguların %90'ından fazlasında nöbetler 6 aydan önce başlar. Infantil spazmların başlaması nöromotor fonksiyonlarda ani geriliğe neden olur (60, 61).

Nöromotor gelişim geridir. Uygun nöbet kontrolünde dahi olguların nöromotor gelişimi 3 ila 5 aylık çocuğun gelişim basamağından ileri değildir. İlk bir yıl içinde nörolojik muayenede kısıtlı göz kontağı ve sese tepki, aksiyal hipotoni ve hafif distal spastisite görülür. Opistotonus postürüne rastlanabilir. İlerleyen yıllarda olgularda halen hipotoni olmasına rağmen, distal spastisite daha belirgin hale gelir. Nadiren olgularda spastik kuadripleji ve skolyoz gelişir. Beslenmede yaşanan güçlükler nöbetlerle birlikte artar. Zayıf havayolu kontrolü aspirasyon pnömonisine yol açar. MDS'li çocukların çoğu ilk iki yıl içinde kaybedilirler. Az sayıda olgu 10'lu yaşlara ulaşır (52).

Klinik izlemde büyüme-gelişme, beslenme, solunum, nöromotor gelişim ve nöbetlerin izlemi gereklidir. Nöbet tariflenmese bile EEG yapılmalıdır. Beslenme güçlüğü nedeniyle yenidoğan döneminde nazogastrik tüp ileri yaşlarda gastrostomi tüpü gerekebilir. Yaşam kalitesinin ve nöromotor gelişimin daha fazla etkilenmemesi için nöbet kontrolünün acil ve agresif yapılması gerekmektedir (60, 61).

Kraniyal MR bulguları anormal derecede kalınlaşmış korteksin olduğu diffüz agiri ve pakigiridir (*Grade 1 ve 2*) Korpus kallozum agenezisi/hipogenezisi eşlik edebilir (58).

Olguların yaklaşık üçte ikisinde HRBT (*High Resolution Banding Technique*) ile kromozom analizinde 17. kromozomdaki delesyon görülebilir. Geri kalanında FISH yöntemi ile delesyon gösterilir (58, 63, 18). MDS'li olguların yaklaşık %80'inde, 17p13.3'ü içeren *de novo* delesyonlar bulunurken; %20'si parental translokasyonların dengesiz ürünüdür (52).

Miller-Dieker Sendromu'nun klinik tanısı, dismorfik yüz bulgularına eşlik eden kranial MR görüntülemelerinin değerlendirilmesi ile konur. Kesin tanı için >500 band düzeyinde kromozom analizi ve MDS'ye özgün problemlerle FISH analizi yapılmalıdır.

Delesyonun saptanması halinde; anne ve babaya kromozom analizi ve MDS'ye özgün FISH testi planlanmalıdır. Ebeveynlerde dengeli translokasyon saptanması halinde ailede taşıyıcılık riski olanların ileri genetik testleri planlanmalı ve prenatal tanı seçenekleri sunulmalıdır. *De novo* delesyonu olan olguların ailelerine gonadal mozaikizm riski nedeniyle sonraki gebeliklerinde fetal kromozom ve/veya MDS'ye özgün prob ile FISH analizi önerilmelidir.

Lizensefali için riskli gebeliklerin izleminde II. düzey ultrasonografi, intrauterin geç haftalara kadar beyin yüzeyi gelişimini tamamlayamadığı için önerilen bir yöntem değildir.



Şekil 2-12 Miller-Dieker Sendromu tanılı olgularda yüz dismorfizmi (52, 109, 110)'dan

2.7.2. İZOLE LİZENSEFALİ SEKANSI (ILS)

İzole lizensefali sekansı (ILS), klasik lizensefalinin izole olarak görüldüğü ve belirgin bir dismorfizmin eşlik etmediği durumdur. Klasik lizensefali; agiri ve/veya pakigirinin olduğu çok ağır bir konjenital beyin malformasyonudur. Tip 1 lizensefali olarak da bilinir.

Miller-Dieker Sendromu'nun tanımlanmasının ardından, belirgin dismorfizmi olmayan ve klasik lizensefalisi olan olgular izole lizensefali sekansı (ILS) olarak tanımlanmışlardır (59).

Olguların antenatal dönemde MDS'li olgularda görüldüğü gibi amniyos sıvıları artmış olabilir. Yenidoğan döneminde tonus normal veya hafif/orta azalmıştır. Doğum baş çevreleri genelde normal sınırlardadır (ortalama ile -2SD arasında). Postnatal baş çevresi gelişimi yavaştır. Çoğu olguda 1 yaşında ağır mikrosefali belirginleşir.

MDS'li olgulardaki gibi karakteristik yüz dismorfizimleri olmamasına rağmen, hafif dismorfik yüz bulguları olabilir. MSS anomalilerine eşlik eden konjenital anomaliler (konjenital kalp hastalıkları) nadiren gözlenir.

Klasik lizensefalili çocukların apne, hipotoni, emme güçlüğü gibi bulguları vardır. %80'inde hayatın ilk yıllarında başlayan infantil spazmlar mevcuttur (60). EEG'de hipsaritmi görülebilir. Tipik olarak nöbetler miyoklonik, tonik ve tonik-klonik karakterdedir, çoğu Lennaux-Gastaut Sendromu kriterlerini içerir.

Belirgin mental retardasyon, hipotoni ve spastisite görülebilir. Klinik izlemde büyüme-gelişme, beslenme, solunum, nöromotor gelişim ve nöbetlerin izlemi gereklidir. Epileptik nöbetler için antiepileptik ilaçlar, emme güçlüğü olan yenidoğanlarda özel beslenme stratejileri, kontraktürlerin önlenmesi ve hareketin sağlanması için fizik tedavi, ince motor ve oramotor kontrol için özel eğitim önerilir.

Düzenli nörolojik muayene, nöbetlerin izlenmesi için EEG, boy, kilo, baş çevresi ölçümleri ve skolyoz, ayak deformiteleri gibi ortopedik komplikasyonlar için izlem gerekir (52).

ILS'li olgularda kraniyal MR'da beyin yüzeyi düzleşmiştir ve genelde *Grade 2-4* lizensefali ile uyumludur. Anormal 4 tabakanın olduğu 20-40 mm'lik çok kalın bir korteks vardır (59). Korteksin kalın olması ile basitleşmiş giral yapı ile oluşan mikrosefaliden (MSG) ayrılır. Genişlemiş lateral ventriküller (özellikle posteriyorda), korpus kallozumda hafif hipoplazi (ön bölümü sıklıkla yassılaşmış) bazı olgularda hafif vermis hipoplazisi dışında normal beyin sapı ve serebellum görülür.

Grade 4 lizensefalisi olan olguların nöromotor gelişmeleri *Grade 2* lizensefalisi olanlara göre daha iyidir (63). Lizensefali derecesi ağırlaştıkça olguların daha ağır nöromotor retardasyonu olduğu gözlenmiştir. Genelde ILS'li olguların yarısı 10'lu yaşlara, çok azı ise 20'li yaşlara ulaşır. Leventer ve arkadaşları tarafından (2001) *LIS1* geninde mutasyonu olan *Grade 4* Lizensefalili bir ILS olgusunun normal IQ'ya sahip olduğu bildirilmiştir. Bu olgu, çok ağır bir beyin anomalisi olarak bilinen bu sendromda şimdiye kadar bildirilen en hafif fenotipi gösteren olgudur (63).

Şimdiye kadar klasik lizensefali ile ilişkili bildirilen genler; *LIS1*, *DCX* ve *TUBA1A*'dır. İzole Lizensefali Sekansı (ILS) olan olguların %75'inden, *LIS1* ve *DCX* genleri sorumludur (62, 65, 66). *LIS1* genindeki mutasyonların, *DCX* ve *TUBA1A* genlerindeki mutasyonlara oranla daha çok klasik lizensefaliye neden olduğu belirlenmiştir. *LIS1* ve *DCX* ile ilişkili ILS'li olgulardaki giral patern farklılık gösterir (62,64). *LIS1* ile ilişkili lizensefali (Bakınız 2.8.1.1) olgularında beynin posteriyorunun (parietookspital bölge) anteriora (frontotemporal bölge) göre daha fazla etkilendiği belirlenmiştir. *DCX* ile ilişkili lizensefalide (Bakınız 2.8.3.1) ise beynin anterior korteksinin posteriyora göre daha fazla etkilendiği saptanmıştır (64).

Haverfield ve arkadaşları (2009), *LIS1* ve *DCX* genlerinin dizi ve MLPA yöntemi ile birlikte incelendiğinde ILS'lilerin %85'ne tanı konabileceğini göstermişlerdir (67, 68).

ILS'li olgularda beynin posteriyoru daha belirgin etkilenirse *LIS1* ile ilişkili ILS, beynin anterioru daha belirgin etkilenirse *DCX* ile ilişkili ILS olarak değerlendirilip moleküler çalışmaların öncelikle ilişkili gen ile başlatılması önerilmektedir (52).

Eğer ILS'de beyin posteriyoru daha belirgin etkilenirse, *LIS1* geni incelenmesi öncelikle yapılmalıdır. Bu olguların %54'ünde 17p13.3'e özgü FISH analizi ile tanı konabilmektedir. Test akış şeması 17p13.3'e özgün FISH analizi ve/veya MLPA yöntemi ile delesyonların saptanması ve *LIS1* geninin dizilenmesi ile mutasyonların belirlenmesidir.

ILS'de beyin anteriyorunun veya posteriyorunun belirgin etkilenip etkilenmediğine bakılmaksızın moleküler testler planlanacak ise; öncelikle MLPA testi ardından *LIS1*, *DCX* ve *TUBA1A* genlerinin dizilenmesi önerilmektedir (52). MLPA testi FISH yöntemi ile saptanamayacak delesyon ve duplikasyonları gösterebilir.

LIS1 mutasyonuna sahip ILS'li olgularda mutasyon tipi ve yer aldığı domain göz önüne alınarak genotip-fenotip korelasyon kurulmaya çalışılmaktadır. *Grade* 1-2 lizensefalili 17p13.3'de büyük delesyonu olan Miller-Dieker Sendromu'ndan etkilenen olgular, *Grade* 2-4 lizensefalili *LIS1* geninde küçük gen içi delesyon ve duplikasyonu olan ILS'li olgulara göre daha ağırdır. Yanlış anlamalı mutasyonların daha ağır lizensefali derecelerine neden olduğu öne sürülmesine rağmen (63), güncel çalışmalarda bununla uyumlu olmayan olgular bildirilmiştir (69) (Bakınız "*LIS1* ve *DCX* ile ilişkili hastalıklar").

Eğer ILS'de beyin anteriyoru daha belirgin etkilenirse, *DCX* geni incelenmesi öncelikle başlatılmalıdır. ILS'li erkek olguların yaklaşık %38'inde *DCX* geninde mutasyonlar saptanırken, ILS'li dişi olguların çok azında *DCX* mutasyonu gösterilmiştir (52, 59, 62, 65, 68, 70, 71).

LIS1 veya *DCX* geninde mutasyon bulunması halinde, her iki ebeveynde mutasyonun araştırılması önerilmektedir. *De novo* mutasyon varlığında, gonadal mozaizm riski nedeniyle fetal sitogenetik, moleküler sitogenetik veya moleküler testler sonraki gebeliklerde önerilebilir. 22-23.GH'da pariyetooksipital ve kalkarin fissür, 26-27.GH'da santral sulkus ve 28-29.GH'da singulat sulkusun antenatal ultrasonografide kesinlikle görülmesi gerekir. Bu kıvrımların oluşmaması, lizensefali için uyarıcı olabilir, ancak riskli gebelik izlemi için II. düzey ultrasonografi izlemi önerilen bir yöntem değildir (83).

2.7.3. SUBKORTİKAL BAND HETEROTOPİSİ

Subkortikal band heterotopisi (SBH), korteks ile lateral ventrikül yüzeyi arasındaki ak maddenin içinde gri maddenin bilateral ve simetrik bir band oluşturmalarıdır. Kortikal nöronların migrasyonundaki bir bozukluktan kaynaklanan “Agiri-Pakigiri-SBH Spektrumu’nun” en hafif şeklidir (51, 72, 73). Ak madde içinde görülen band şeklinde gri madde, tamamen gerçek bir kortekse benzememesine rağmen SBH’si *double cortex sendromu* olarak da adlandırılır (74). Bu bantların bilişsel fonksiyonlar ile ilişkisi net olarak aydınlatılamamıştır. Ancak fonksiyonel MR çalışmalarında bu nöron gruplarının fonksiyonel olarak aktif olması, bilişsel fonksiyonlarda etkili olabileceğini göstermiştir (22, 23).

SBH’li olguların önemli bir kısmının dişi olgulardan oluşması, SBH’nin X kromozomunda lokalize bir gen ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür. Dobyns ve arkadaşları tarafından (1992) diffüz agirisi ve CCA’si olan bir kızda Xp22 ve 2p25 kırık noktalarını içeren *de novo* translokasyonun bildirmesinin ardından, Srivastava 1996’da ilişkili geni Xq22.3-q23’e haritalamıştır. LISX1 olarak da adlandırılan *DCX* geni 1998 yılında eş zamanlı olarak des Portes ve Gleeson tarafından klonlanmıştır (59, 70, 74, 75).

Nöronal heterotopiler erişkin ve çocukluk çağı epilepsilerinin yaklaşık %25’inde altta yatan neden olarak gösterilebilir (61). Etkilenen dişi olguların yaklaşık %50’sinde fokal nöbetler, geri kalan %50’sinde ise generalize nöbetler vardır. Olguların %65’inde dirençli epilepsi gözlenir. Nöbetlerin başlangıç yaşı değişkendir (76).

Bilişsel performans, normalden hafif öğrenme güçlüğüne ve ağır mental retardasyona kadar değişir. Aynı ailede bile, etkilenenler arasında geniş bir fenotipik değişkenlik olduğu bildirilmiştir (77,78). Davranış problemleri görülebilir. SBH’de epilepsi ve mental retardasyonun ağırlığı subkortikal bantların kalınlığı ve uzanımına göre değişir. Fokal SBH’li olgularda mental retardasyon veya epilepsinin olmadığı normale yakın fenotip görülebilir (79).

Klinik izlemde büyüme-gelişme, beslenme, solunum, nöromotor gelişim ve nöbetlerin izlemi gereklidir. Nörolojik muayene, EEG ve kraniyal MR yapılmalıdır. Fizik tedavi,

bireysel eğitim ve konuşma terapisine ihtiyaç duyulabilir. Oftalmolojik muayene önerilmelidir.

DCX ile ilişkili SBH daha çok frontopariyetal korteksi tutar. Günümüzde bu paternde tutuluma neden olduğu bilinen tek gen X kromozomuna lokalize *DCX* geni'dir.

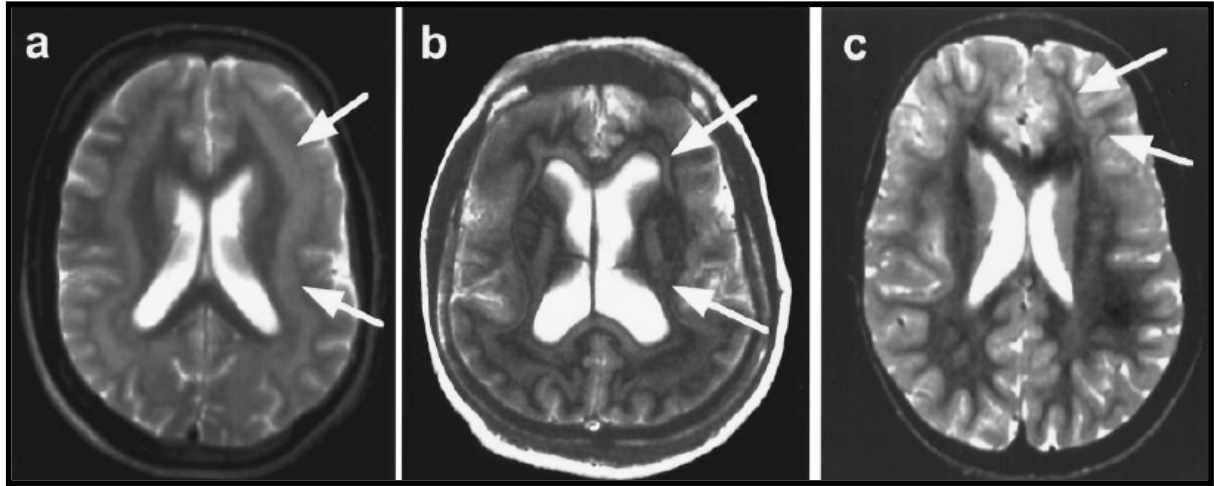
DCX ile ilişkili SBH'de kraniyal MR'da frontopariyetal bölgenin daha çok etkilendiği *Grade 6* (komplet subkortikal band heterotopisi) ve frontotemporalde pakigiri parietookspital pakigirinin görüldüğü *Grade 5* lizensefali gözlenir. *DCX* ile ilişkili mutasyonlar erkeklerde klasik lizensefali (lizensefali tip 1), dişilerde SBH/*double korteks* sendromu gibi nöronal migrasyon anomalilerini oluşturur (Bakınız "*DCX* ile ilişkili hastalıklar").

Etkilenmiş dişilerde SBH ve etkilenmiş erkeklerde klasik lizensefali bildirilen X'e bağlı kalıtım ile uyumlu ailevi olguların hepsinde *DCX* geninde mutasyon gösterilmiştir (70, 80). Bu ailevi olgular *Lyonizasyon Hipotezi* ile açıklanmaktadır. Bu hipoteze göre dişi bireylerde normal alleli taşıyan X aktive olursa hücrelerin kortekse kadar olan migrasyon süreçlerini tamamlayabildikleri, mutant alleli taşıyan X aktif olduğunda ise, hücrelerin migrasyonunu tamamlayamadıkları ve ak maddede subkortikal bandın oluşmasına neden oldukları düşünülmektedir. Fokal SBH'li fenotipi normale yakın olan dişi etkilenmişlerde ve klasik lizensefali yerine SBH'si olan erkek etkilenmişlerde mozaik *DCX* mutasyonu bildirilmesi bu hipotezi desteklemektedir (52, 64). SBH'li dişilerin %85'inde, erkeklerin ise %29'unda *DCX* geninde nokta mutasyonları gösterilmiştir (59, 62, 68, 71, 79). Haverfield ve arkadaşları (2009) SBH'si olan dişilerde *DCX* geninin dizileme ve MLPA yöntemi ile araştırılması halinde %90'ına tanı konulacağını bildirmişlerdir (68).

X'e bağlı kalıtılan *DCX* ile ilişkili hastalıklarda *de novo* mutasyon sıklığı bilinmemektedir. *DCX* mutasyonlu çocukları olan etkilenmemiş annelerin somatik veya *germline* mozaizmi olma olasılığı %15'tir (81). Bir dişi bireyde *DCX* mutasyonu saptanmışsa, olası her gebelikte *DCX* mutasyonunu çocuklarına aktarma riski %50'dir. Mutasyon taşıyan erkekler *DCX* ile ilişkili klasik lizensefali göstereceklerdir. Mutasyonu taşıyan dişiler ise taşıyıcı olabilir veya SBH ile ilişkili değişken fenotipe sahip olabilirler. Mutasyon saptanan ailelerde prenatal tanı önerilmelidir ve riskli aile bireylerinde taşıyıcılık testleri planlanmalıdır.

LIS1 ile ilişkili SBH nadiren görülür. Beynin oksipitotemporalinde SBH'si belirgin olan olgularda *LIS1* geninde mutasyonlar tanımlanmıştır. SBH'de *LIS1* geninde mutasyon şimdiye kadar üçü mozaik olmak üzere dört olguda bildirilmiştir. *LIS1* geninde somatik mozaizmin SBH'nin hafif fenotipine yol açtığı düşünülmektedir (69, 71, 79, 82).

Lizensefali ve/veya SBH için riskli gebeliklerin izleminde II. düzey ultrasonografi, intrauterin geç haftalara kadar beyin yüzeyi gelişimini tamamlayamadığı için önerilen bir yöntem değildir.



(80)'den

Şekil 2-13 Subkortikal band heterotopisi

(a) diffüz kalın SBH (b) diffüz ince SBH (c) frontalde belirgin ince SBH

2.7.4. SEREBELLAR HIPOPLAZİ İLE BİRLİKTE LİZENSEFALİ

Miller-Dieker Sendromu ile uyumlu olmayan dismorfik bulguları ve lizensefalisi olan otozomal resesif kalıtım özelliğine uyan olguların bildirilmesinin ardından lizensefalinin heterojen bir hastalık olduğu düşünülmüştür (56, 84).

İlk kez Hourihane ve arkadaşları tarafından (1993) İngiliz kökenli 1,5.° kuzen evliliği yapmış bir ailenin 3 erkek çocuğunda lizensefaliye belirgin serebellar hipoplazinin eşlik ettiği bildirilmiştir (85). Sonraki yıllarda serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefalili olguların sayısı artmıştır (86, 87, 88).

Hong ve arkadaşları (2001) Hourihane'nin yayınındaki etkilenmiş bireyleri ile Arap kökenli 1.° kuzen evliliği yapmış bir ailenin etkilenmiş (1 kız, 2 erkek) ve etkilenmemiş bireylerini dahil ettiği bağlantı çalışması sonucunda bu fenotipin 7. kromozomun q22 bölgesine lokalize *RELN* geni ile ilişkili olduğunu göstermiştir (29).

Ross ve arkadaşları (2001), Lizensefali Araştırma Projesi (*Lissencephaly Research Project*) işbirliği ile serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefalili 34 olgunun klinik ve radyolojik değerlendirilmeleri ile bu hastalığı 6 grupta (LCHa/LCHb/LCHc/LCHd/LCHe/LCHf/LCHg) sınıflandırdılar (30).

Günümüzde geçerliliğini koruyan “**Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (*Lissencephaly with cerebellar hypoplasia*) LCH**” sınıflandırması aşağıda klinik ve/veya radyolojik bulgularının özelliklerine göre özetlenmiştir.

- **LCH (a);** 10-20 mm kalınlığında korteksi olan, belli bir lizensefali derecesi öngörülemeyen (agiri veya pakigiri) gruptur. Beynin frontotemporalı etkilenmiş ise *DCX*, parietookspital etkilendiye *LIS1* genindeki mutasyonlarla ilişkilendirilmiştir. Doğum baş çevreleri genelde ortalamanın altında (-1;-2SD) olmasına rağmen postnatal baş çevreleri (≈-2SD) küçüktür. Ancak ağır mikrosefali gözlenmez. Bu gruptaki hastaların serebellar hipoplazileri özellikle serebellar vermiste belirgindir. Bazen serebellar hemisferlerde de hipoplazi gözlenebilir. LCH (a) orta hat serebellar hipoplazinin birlikte görüldüğü izole lizensefali sekansı olarak kabul edilmektedir. *LIS1* ve *DCX* genleri ile ilişkilendirilen olgular vardır.

- **LCH (b);** orta derecede (4-10 mm) kortikal kalınlığın görüldüğü, pakigiri ile birlikte tüm serebellumun ağır etkilendiği ve serebellar folyaların seçilemediği *RELN* geni ile ilişkilendirilen gruptur.
- **LCH (c);** kraniyal MR incelemelerine göre değil klinik bulgulara göre belirlenmiştir. Kerner ve arkadaşlarının (1999) yayınladığı ağır mikrosefali, yarık damak, ağır serebellar ve beyin sapı atrofinin olduğu olgu bu grupta değerlendirilmiştir.
- **LCH (d);** en sık rastlanılan gruptur. 34 olgunun 15'i bu grupta toplanmıştır. Ağırden pakigiriye kadar değişen derecelerde lizensefalisi olan olguların kortikal kalınlığı 10-20 mm olarak ölçülmüştür. Serebellar hipoplazi ağır veya orta derecededir. LCH (a)'dan serebellumun vermis ve hemisferleri ile birlikte ağır derecede etkilenmesi, belirgin mikrosefalileri olması ($>-3SD$) ve orta derecede beyin sapının etkilenmesi ile ayrılır. İlişkili gen henüz tanımlanmamıştır.
- **LCH (e);** frontalde kortikal kalınlığın 10-20 mm olduğu ağırinin ve temporookspitalde kortikal kalınlığın normal olduğu basitleşmiş giral paternin bir arada izlendiği gruptur. Bu grup olgular otoriteler tarafından beyin ön bölgesi ile arka bölgesinin farklı derecelerde etkilenmesi nedeniyle, ilgi çekici olarak değerlendirilmiştir. Serebellar hipoplazi özellikle vermis orta hatta gözlenir. Beyin sapı volümü normaldir.
- **LCH (f);** kalın korteksli ağır lizensefaliye CCA'nın eşlik ettiği gruptur.

LCH'nin klinik ve radyolojik sınıflandırılması, her grup için etiyopatogeneizde rol oynayan ***LCH ile ilişkili aday genlerin belirlenmesi*** için çok önemlidir. Bölüm 2.4'de de özetlendiği gibi lizensefali etiyopatogeneizindeki genler birbirleri ile yakından ilişkilidir.

• **LCH (a);** grubunda şimdiye kadar değerlendirilen dört olgunun birinde *LIS1* ve birinde *DCX* genlerinde mutasyonlar gösterilmiştir. LCH (a)'ya neden olan başka genlerin olduğu düşünülmektedir. Bu grup içinde değerlendirilen olgularda aday gen çalışmaları *LIS1* ve *DCX* ile ilişkili genler (NUDE, NUDEL gibi) üzerine yoğunlaştırılmıştır.

• **LCH (b);** grubunda değerlendirilen şimdiye kadar Hong'un bildirdiği biri İngiliz diğeri Suudi Arabistan'lı toplam iki aile, *RELN* genindeki nokta mutasyonları ile ilişkilendirilmiş örneklerdir. *RELN*, 7q22.1'e lokalize 65 ekzonlu bir gendir. Beyin gelişimi ve nöronal migrasyonda hücre-hücre iletişimde rol oynayan büyük bir hücre dışı matriks proteinini kodlamaktadır (29, 30). Genin büyük olması nedeniyle öncesinde *RELN* genine özgün markörlerle bağlantı çalışmaları yapılması, bağlantı varlığında, Western Blot analizi

gerekmektedir. Dizileme yöntemi genin çok büyük olması nedeniyle yaygın kullanılan bir yöntem değildir.

Literatürde kromozomal yeniden düzenlenmeler nedeniyle RELN proteininin saptanamadığı nöromotor retardasyonu ve epilepsisi olan ve kraniyal MR'ların LCH (b) grubunda değerlendirildiği olgular bildirilmiştir. Bu olgulardan biri Chang ve arkadaşları tarafından 2007 yılında bildirilen akraba evliliği yapmış bir Türk ailenin çocuğudur. Kromozom analizinde 7. kromozomda homozigot perisentrik inversiyon 46,XX,inv(7)(p11.2q22) saptanmıştır (89).

Bildirilen diğer olgular ise; Zaki ve arkadaşları tarafından (2007) bildirilen akraba evliliği yapmış olan Mısır'lı bir ailenin iki çocuğudur. Kromozom analizinde homozigot dengeli resiprokal translokasyon t(7;12)(q22;p13) saptanmıştır. Bu olgularda kromozomal değişikliği nedeniyle RELN geninin fonksiyon kaybına uğradığı ve RELN proteinin eksprese olmadığı gösterilmiştir (90).

RELN geni dışında bu grup için aday gen çalışmaları fare modellerinde Reln mutant fareler ile benzer özellik gösteren Dab1 geni ve Reelin proteininin reseptörleri (VLDLR, ApoER2 ve $\alpha 3\beta 1$ -integrin subüniti) üzerine yoğunlaştırılmıştır.

Boycott ve arkadaşları (2005), serebral hipoplazi, basitleşmiş giral yapı, serebral ataksi ve mental retardasyonu olan “*Dysequilibrium*” Sendromu tanılı *Hutterit* ailelerinin etkilenmiş çocuklarında RELN'in reseptörü VLDLR geninde homozigot mutasyon göstermişlerdir. Bu olguların kraniyal MR'ları LCH (b) ile tam olarak uyumlu bulunmamıştır. Giral kalınlık artışı belirgin değildir, basitleşmiş giral patern ön plandadır. Ancak serebellar etkilenmenin olması nedeniyle, LCH spektrumunda değerlendirilmesi ve VLDLR ile ilişkili serebellar hipoplazi (VLDLR-CH) olarak adlandırılması önerilmiştir (91).

VLDLR ile ilişkili bir hastalık olan “*Dysequilibrium*” Sendromu (MIM #224050), kuadripedal yürüyüş ile birlikte olan veya olmayan mental retardasyon ve serebellar ataksi ile karakterize otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır. İlk kez 1972 yılında Hagberg ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (92). Tan tarafından (2008), belirgin mental retardasyonu olan ve 4 ekstremitte üzerinde yürüyen Türk ailelerin bildirilmesinin ardından, “*Dysequilibrium* Sendromu” ile ilişkili genin haritalama çalışmaları başlamıştır. 2008 yılında Özçelik ve Türkmen, 4 ekstremitte üzerinde (kuadripedal) yürüyen farklı Türk ailelerinde bu gende homozigot mutasyonlar göstermiştir. 2010 yılında ise kuadripedal yürüyüş yerine bipedal yürüyen konjenital ataksili serebellar hipoplazisi olan Türkiye'den olgular bildirilmiştir. VLDLR ile ilgili hem bipedal hem de kuadripedal yürüyüşü olan

olguların bildirilmesi ile Tan ve arkadaşları tarafından daha önceden savunulan bu genin evrimsel süreçte kuadripedal yürüyüşten bipedal yürüyüşe geçişte önemli olabileceği teorisinden uzaklaşmıştır. Bu olguların kraniyal MR'nda düzleşmiş serebral korteks ve serebellar hipoplazi olması, *VLDLR* genin hem serebral hem de serebellar gelişimde rol oynadığını ve migrasyonda görev aldığını göstermektedir (93, 94, 95, 96).

- **LCH (c);** Kerner ve arkadaşları (1999) tarafından bildirilen lizensefali, serebellar hipoplazi ve yarı damak gibi kraniyofasiyal bulguları olan yenidoğan döneminde kaybedilen olgu bu grup içinde değerlendirilmiştir. Nöroektodermal ve mezenkimal yapıları etkileyen genlerin etiyopatogeneizde yer aldığı düşünülmektedir. BMP (*Bone Morphogenetic Factor*) ailesine ait genlerin uygun aday genler olabileceği öne sürülmüştür (87).

- **LCH (d);** serebellum ve serebral korteks etkilenmesinin ağır olduğu bir gruptur. Genelde bu grup olgularda diffüz agiri gözüktür, kortikal etkilenme beynin belirli bir bölgesinde gradient göstermez. Bu gruptaki olguların etiyopatogeneizinde yer alan aday genlerin hem serebral korteks, hem de serebrumdaki nöronların migrasyonunda görevli olduğu düşünülmüştür (97). Bu grup için aday genlerden biri olan Cdk5, hem LIS1 ile ilişki kuran hem de Dcx proteinini fosforilleyen NUDE homologlarını fosforiller bu nedenle kortikal etkilenmede belirgin bir gradient oluşturmayacağı düşünülmüştür.

- **LCH (e);** frontoparietal bölgede agiri, oksipitotemporal bölgede basitleşmiş giral patern ile karakterize en ilgi çekici beyin görüntülemeleri olan gruptur. Kortikal yapıda böylesine farklı etkilenmeye neden olacak genler henüz tespit edilmemiştir.

- **LCH (f);** CCA, ağır serebellar hipoplazi ve lizensefalinin birlikte görüldüğü gruptur. Bu fenotipe neden olan genlerin, nöronal migrasyonda, nörit büyümesinde ve akson uzanımında görevli olduğu düşünülmektedir.

2.7.5. : KUŞKULU GENİTALYA İLE BİRLİKTE LİZENSEFALİ

X'e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte Lizenfali (XLAG) Sendromu *ARX* geni ile ilişkilendirilmiştir. Korteks orta derecede (4-10 mm) kalındır. CCA, kuşkulu genitalya ve neonatal başlangıçlı nöbetler görülür (34).

İlk kez 1999 yılında, Dobyns ve arkadaşları tarafından ebeveynleri arasında akrabalık ilişkisi olmayan dört ailede benzer bulguları olan beş olgu bildirilmiştir (34). Bu olgularda lizenfali beynin parietookspital bölgesinde frontotemporal bölgeye göre daha belirgin, korteks orta derecede kalın ve CCA mevcuttu. Olguların yenidoğan döneminde başlayan epilepsisi, hipotalamik fonksiyon bozukluğu ve kuşkulu genitalyası vardı. Dobyns bu olguların, kraniyal MR'larının posteriyorda belli bir gradient göstermesi ve olguların hepsinin erkek olması nedeniyle bu hastalığın anteriyorda gradient gösteren *DCX* geninin neden olduğu LISX1'den farklı olduğunu, izole lizenfali sekansının X'e bağlı kalıtılan yeni bir formu olduğunu öne sürmüştü ve XLAG (X'e bağlı kuşkulu genitalya) olarak adlandırılmıştır. İzleyen yıllarda benzer olgular farklı yazarlar tarafından bildirilmiştir (35, 98)

Kitamura ve arkadaşları (2002) XLAG sendromunun klinik bulgularını özetlemiştir. Olgularda ağır konjenital veya postnatal mikrosefali, lizenfali, CCA, yenidoğan döneminde başlayan dirençli epilepsi, ısı kontrol bozukluğu, kronik diyare, kuşkulu veya gelişmemiş genital yapı mevcuttu (99). Kato ve arkadaşları (2004), beyin ve genital anomalisi olan 20 olgunun 15'inde *ARX* geninde mutasyonlar saptamıştır. Olguların büyük bir kısmı XLAG fenotipindeyken, iki olguda hidransefali ve kuşkulu genitalya tanımlanmıştır (36).

ARX geni, *DCX* geninden sonra lizenfali ile ilişkilendirilen ve X kromozomuna lokalize olan ikinci gen olup *LISX2* olarak adlandırılmaktadır.

2.8. LİZENSEFALİ İLE İLİŞKİLİ GENLER

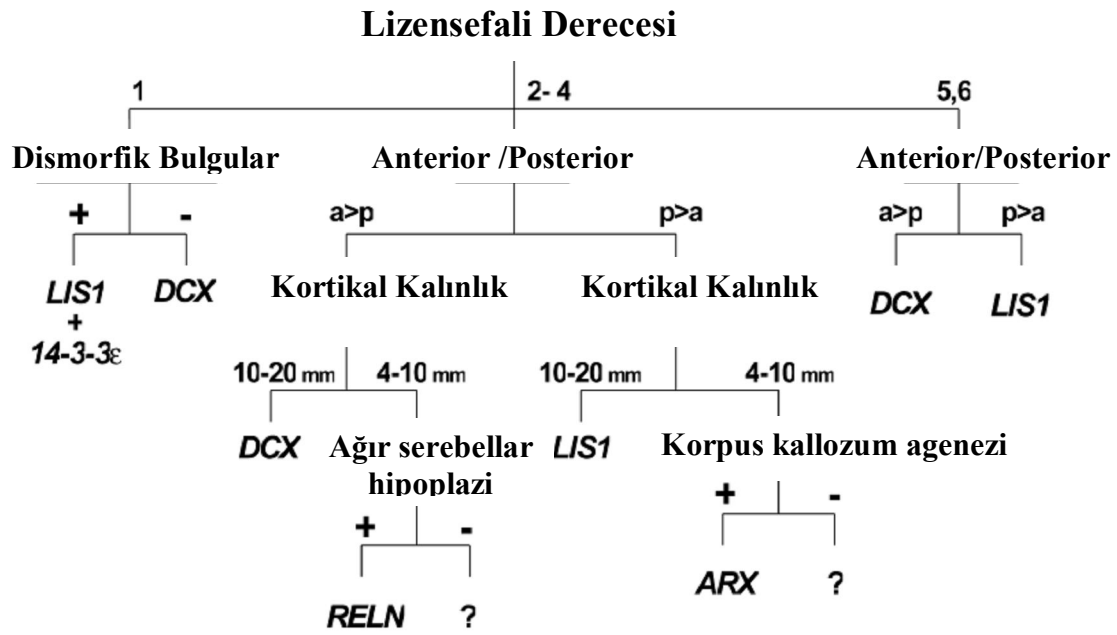
Lizensefali ile ilişkili hastalıklar; Bölüm 2.7’de anlatılan Miller-Dieker Sendromu (MDS); İzole LIS sekansı (ILS); Subkortikal Band Heterotopisi (SBH), Serebellar Hipoplazi ile birlikte Lizensefali (LCH) ve X’e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte Lizensefali (XLAG)’dir.

Lizensefali ile ilişkili bugüne kadar tanımlanmış genler ise; *LIS1*, *DCX*, *TUBA1A*, *RELN*, ve *ARX*’tir. Bu genler *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) veritabanında *LIS1(PAFAH1B1)*, *LIS2 (RELN)*, *LIS3 (TUBA1A)*, X’e bağlı formları ise *LISX1(DCX)* ve *LISX2(ARX)* olarak da adlandırılmıştır.

Klinik bulgular ile kraniyal MR görüntülemeleri birlikte değerlendirilerek, genotip-fenotip ilişkisi kurulmaya çalışılmıştır. Lizensefali sendromlarında klinikte uygulanabilecek akış şeması Şekil 2-14’de gösterilmiştir (100).

Giral malformasyonun ağırlığı beynin farklı bölgelerinde değişebilir. Ön-anteriyor (A) ve arka-posteriyor (P) etkilenmenin ağırlığına göre genotip ve fenotip ilişkisi kurulabilir. *DCX* ve *RELN* ile ilişkili mutasyonlarda serebral korteksin anteriyor bölümü posteriyora (a>p) göre daha çok etkilenmiş, *LIS1*, *14-3-3ε* ve *ARX* *geni* ile ilişkili mutasyonlarda serebral korteksin posteriyor bölümü anteriyora göre (p>a) etkilenmiş olduğu gösterilmiştir.

Miller-Dieker Sendromu’ndan 17p13.3’de *LIS1* genini de içeren büyük delesyonlar, İzole Lizensefali Sekansı’ndan *DCX*, *LIS1*, *14-3-3ε*, *TUBA1A* genleri; SBH’den *DCX* ve *LIS1* genleri; X’e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizensefali Sendromu’ndan (XLAG) *ARX* geni; Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH) *LIS 1*, *DCX* ve *RELN* geni mutasyonlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir.



Şekil 2-14: Lizensefalide akış şeması (100)’den

2.8.1. *LIS1* geni

LIS1 geni (*Lissencephaly-1*), 17. kromozomun kısa kolunun 13.3 bölgesine lokalize 11 ekzonlu bir gendir. Bu genin diğer bir adı Platelet aktive edici faktör asetilhidrolaz izoform 1B alfa subüniti (*PAFAH1B1*)'dir. 11 ekzonlu bir gendir ve 92 kilobaz uzunluğundadır. Ekzon 2'de yer alan AUG başlangıç kodonu ile birlikte en uzun transkriptin kodladığı bölge 1230 baz çiftidir (NM_000430,2). *UniProtKB/Swiss-Prot* veritabanına göre 2 isoformu ve *Ensembl* veritabanına göre 4 farklı transkripti mevcuttur (102,103). *PAFAH1B1*; heterotimerik *platelet* aktive edici faktör asetilhidrolaz (*PAFAH*) enziminin katalitik olmayan komponentini oluşturur. *PAFAH*; beyinde platelet aktive edici faktörün (*PAF*) seviyesini düzenler. *PAF* seviyeleri nöroblastların glial hücre veya nöritler aracılığıyla migrasyonunu etkiler (104).

LIS1 geni türler arasında bir hayli korunmuş olan 45kD'lık bir proteini kodlar. İnsan *LIS1* proteini ile fare *Lis1* proteini arasında bir aminoasitlik, sığır ortoloğu ile üç aminoasitlik fark vardır. *Drosophila melanogaster*'de ortolog protein insan *LIS1* proteini ile %70 benzerlik gösterir. *Aspegillus nidulans*'ta, nükleer migrasyon proteini *NudF* ile %42 homoloji gösterir (104, 105, 106, 107).

LIS1 proteininin N terminalinde, *LisH* ve *coiled-coil* domaini, C terminalinde ise WD-40 domaininin 7 adet tekrarı bulunur. WD-40 domaini türler arasında pek çok proteinde bulunan bir motiftir. N-terminalinde glisin/histidin ile başlar; C-terminalinde triptofan/aspartat ile sonlanır. *LIS1* proteininde bulunan bu yedi WD-40 domaini proteinin katlanmasını ve 3 boyutlu yapısının doğru olmasını sağlar (110). Ayrıca 7. WD-40 tekrarının *DCX* proteini ile 4.ve 5. WD-40 tekrarlarının sitoskelet proteinleri dinamin ve β -selektin ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (13).

İlk kodlayan ekzon olan ekzon 2 *LisH* domaini, ekzon 4'ün tamamı ve ekzon 5'in bir kısmı *coiled-coil* domaini ve genin ekzon 5'ten sonrası ise ard arda gelen yedi WD-40 domaini kodlar. Bu üç domain proteinin ana fonksiyonel domainleridir. *LisH* domaini; *coiled-coil* domaini ve WD-40 tekrarları dimerizasyon için önemli bölgelerdir ve protein/protein etkileşiminde ve *LIS1*'in fonksiyonu için gereklidir (Şekil 2-15)(52).

LIS1 proteininin (*PAFAH1B1*) iki ana fonksiyonları vardır.

- (1) *PAFAH1B2* ve *PAFAH1B3* proteinleri ile beyinde platelet aktive edici faktör düzeyini kontrol eden trimerik kompleksi oluşturur.
- (2) Tubulin, sentrozom ile ilişkili proteinler ve mikrotübül dinamiklerini (sitoplazmik Dinein, Dinaktin, NUDE ve NUDEL) içeren proteinler ile ilgili sitoskeletin

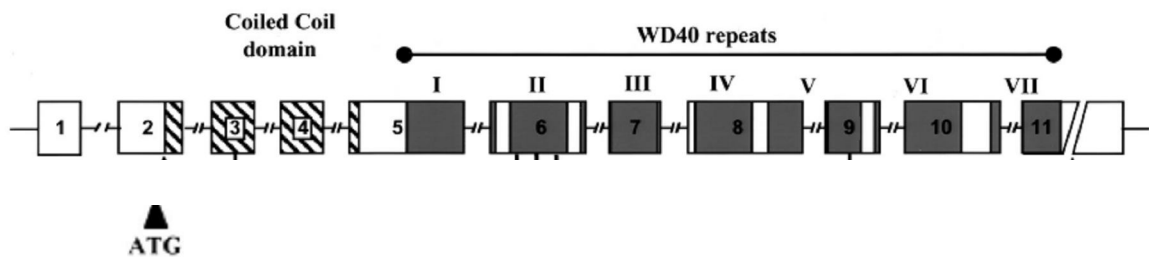
organizasyonunda ve sırasıyla nöronal proliferasyon ve nöronal migrasyonda merkezi rol üstlenir.

LIS1 proteininin Reelin sinyal yolağının internal bir komponenti olduğu düşünülmektedir (Şekil 2-10).

LIS1 genindeki mutasyonlar, düzgün katlanmış LIS1 proteinin miktarının azalmasına neden olur. *LIS1* geninin mutasyonlarının model çalışmalarında protein partnerleri - PAFAH1B2, PAFAH1B3, NUDE veya NUDEL- ile LIS1'in bağlanması azalma olduğu gösterilmiştir. Bu durum nöronal proliferasyon ve migrasyon gibi fonksiyonlara zarar verir. *LIS1 RNA interference* çalışmaları, anormal LIS1 ürününün gelişen beyinde nöronal üretimin ve aynı zamanda migrasyonun kesintiye uğrattığını göstermiştir. Hem teğetsel hücre göçünün (inhibitör internöron) hem de ışınal hücre göçünün (eksitator projeksiyon nöronları) etkilenmiş olduğu gösterilmiştir.

Human mutation database veritabanından *LIS1* geninde belirlenen anlamsız ve yanlış anlamlı [33], kırılma [9], küçük delesyon [11], küçük insersiyon [7], küçük indel [1], büyük delesyon [42], büyük insersiyon tipi mutasyon [7] ve kompleks yeniden düzenlenmelere [6] ait yayınlara ulaşılabilir (101).

LIS1 (*PAFAH1B1*) geni



ekzon 2 LisH domaini kodlar.

ekzon 4'ün tamamı ve ekzon 5'in bir kısmı *coiled-coil* domaini kodlar.

ekzon 5'ten sonrası ise ard arda gelen yedi WD-40 domaini kodlar.

Şekil 2-15 *LIS1* geninin domainleri (68) den

2.8.1.1. *LIS1* geni ile ilişkili hastalıklar

LIS1 geni ile ilişkili hastalıklar, bu gendeki mutasyonların neden olduğu Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizensefali Sekansı (ILS) ve Subkortikal Band Heterotopisidir.

Miller-Dieker Sendromu (MDS); sitogenetik olarak gözüken veya FISH ile saptanabilen 17p13.3'de *LIS1* genini ve komşu telomerik genleri kapsayan mikrolelesyonlar sonucu oluşur. Olguların %70'inde HRBT ile 450-500 band düzeyinde sitogenetik olarak görülen delesyon veya 17p13.3'de yeniden düzenlenmeler gözlenir. Olguların geri kalanına FISH yöntemi ile tanı konabilir (18, 52, 58, 63).

İzole Lizensefali Sekansı (ILS); *LIS1* geninin küçük submikroskopik delesyonları, gen içi delesyon/duplikasyonları veya nokta mutasyonları nedeniyle olur. Beynin posteriyoru (parietooksipital bölge) anteriora (frontotemporal bölge) göre daha fazla etkilenmiştir (p>a).

LIS1 geni ile ilişkili ILS'lerin %68'inde küçük submikroskopik delesyonlar veya gen içi delesyon/duplikasyonlar, %32'sinde *LIS1* geninin nokta mutasyonları bulunur. Delesyonların %54'ü FISH tekniği ile gösterilebilen küçük submikroskopik delesyonlardır. %14'ü ise MLPA yöntemi ile saptanabilen gen içi bir ve/veya birden fazla ekzon delesyon veya duplikasyonlardır. *LIS1* geninin dizilenmesi ile olguların %32'sinde nokta mutasyonları saptanabilir. HRBT ile yapılan kromozom analizinde delesyon görülmez, ancak bazı olgularda *LIS1* geninde bozukluğa yol açan dengeli translokasyonlar gösterilebilir (52) Nadiren mozaik mutasyonlar bildirilmiştir.

Grade 2-4 lizensefalili *LIS1* geninde küçük gen içi delesyon ve duplikasyonu olan ILS'li olgular; *Grade 1-2* lizensefalili 17p13.3'de büyük delesyonu olan MDS'li olgulara göre daha hafif kliniğe sahiptir.

Haverfield ve arkadaşları tarafından, *LIS1* geninin gen içi delesyon veya duplikasyonlarına sahip olguların çoğunda *Grade 3* lizensefali gösterilmiştir (68).

LIS1 geninin 5' ucunun telomerik delesyonuna sahip olgularda *Grade 2-3* lizensefali, 3' ucunun delesyonlarında ise *Grade 3-4* lizensefali bildirilmiştir (113). *LIS1* proteininde erken sonlanmaya neden olan gen içi mutasyonlar, *LIS1* geninin yanlış anlamlı mutasyonlarından daha ağır lizensefaliye neden olur (66, 63, 114). *LIS1* geninin

başlangıcındaki *coiled-coil* domainine yakın mutasyonlar, genin diğer *downstream* bölgesinde oluşan mutasyonlardan daha ağır bir lizensefaliye neden olur (66, 114).

Güncel yayınların çoğunda *LIS1* geni ve lizensefalinin derecelendirilmesi ile ilgili genotip-fenotip korelasyonu konusunda tam bir fikir birliğine varılamadığı gözlenmektedir. Benzer mutasyon tipi ve lokalizasyonu olan olgularda lizensefalinin farklı dereceleri bildirilmiştir. Daha önce bildirilen olgular ile uyumlu olmayan olgular bildirilmiştir. Daha hafif dereceli lizensefaliye yol açtığı düşünülen yanlış anlamlı mutasyonlara sahip ağır lizensefali olgular veya tam tersine hafif dereceli lizensefaliye neden olduğu düşünülen *LIS1* geninin 3' ucundaki *coiled coil* domaininde erken sonlanım veya delesyon tipi mutasyonu olan ağır lizensefali olgular bildirilmiştir (113). Bu durum, *LIS1* geni ile ilişkili hastalıklarda daha fazla olgunun katıldığı genotip-fenotip korelasyon çalışmalarının yapılmasına halen ihtiyaç olduğunu göstermektedir (69).

Subkortikal band heterotopisi (SBH): SBH; frontal loblara sınırlı ise tipik olarak *DCX* genindeki mutasyonlar ile ilişkilidir. Nadiren posteriyor loblara sınırlı SBH'de *LIS1* genindeki mutasyonlar gösterilmiştir. SBH'li dışı olguların yaklaşık %85'inde, *DCX* geninde nokta mutasyonları saptanmıştır. *DCX* geninin dizilenmesi ve MLPA yönteminin beraber kullanılması halinde SBH'si olan dışıların %90'ına moleküler tanı konulacağı bildirilmiştir. SBH olan olgularda, nadiren sitogenetik olarak mozaik 17p13.3 delesyonları bildirilmiştir. Beynin oksipitotemporalinde, SBH'si belirgin olan olgularda *LIS1* geninde mutasyonlar tanımlanmıştır. SBH'de *LIS1* geninde mutasyon şimdiye kadar üçü mozaik olmak üzere dört olguda bildirilmiştir. *LIS1* genindeki somatik mozaisizmlerin SBH'nin hafif fenotipine yol açtığı düşünülmektedir (69, 71, 79, 82).

LIS1 geni mutasyonları MDS'den ILS'ye (çok nadiren SBH'ye) kadar uzanan geniş bir yelpazeye neden olan ekspresivite değişkenliği göstermektedir.

2.8.2. *LIS1* genine komşu olan genler

17. kromozomun kısa kolunun 13.3 bölgesinde *LIS1* (*PAFAH1B*) genini de içeren büyük delesyonlar Miller-Dieker Sendromu olarak adlandırılan mikrodelesyon sendromuna neden olmaktadır. *LIS1* geninde haplo-yetersizliğin (*haploinsufficiency*) klasik lizensefaliyi oluşturmak için yeterli olduğu ancak komşusundaki genlerin, fenotipi modifiye edici etkisi bulunduğu düşünülmektedir (126). MLPA (*Multiple Ligation Probe Amplification*) yöntemi ile bu gene komşu genlerdeki delesyon veya duplikasyonlar (MLPA P-061 *Lissencephaly* kiti) incelenebilir.

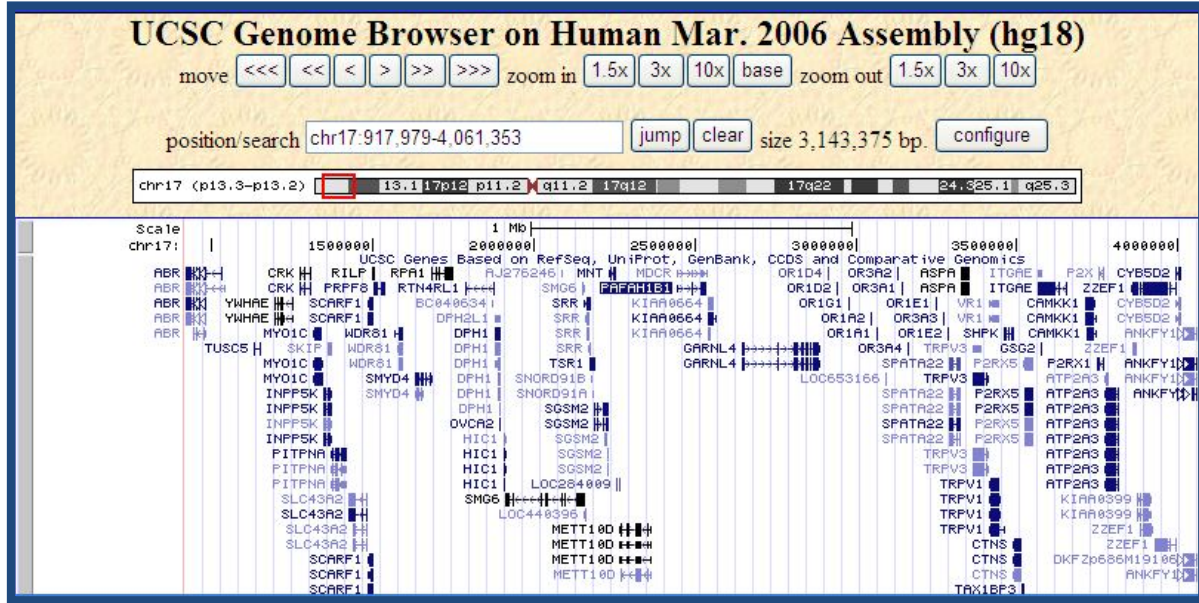
Lizensefaliye özgün olarak tasarlanmış MLPA P-061 problemleri *LIS1* geninin 5' ucuna komşu; *MGC3329* (*METT10*), *HIC1* ve *YWHAE* (14-3-3epsilon) genlerini ve 3' ucuna komşu; *KIAA0664* ve *KIAA1039* (*GARNL4*) genlerini içermektedir (Şekil 2-6) (118).

2.8.2.1. *LIS1* genine komşu genler ile ilişkili hastalıklar

Mei 2008'de, *LIS1* geninde dizi analizi ile herhangi bir mutasyon saptanmayan 25 ILS olgusunun 18'inde *LIS1* ve/veya komşu genleri içeren bölgede delesyon ve bir olguda duplikasyon saptamıştır (67). Bu çalışma, 17p13.3'e özgün FISH problemleri ile herhangi bir delesyon ve duplikasyon saptanamayan ILS'li olgularda, (*LIS1*)/komşu gen içinde küçük delesyon veya duplikasyon varlığının araştırılmasının önemli olduğunu göstermiştir.

Haverfield ve arkadaşları tarafından 2009 yılında MLPA P-061 kiti ile yapılan bir çalışmada da, *LIS1* geninde dizi analizi ile mutasyon saptanmayan 52 ILS olgusunun 12'sinde *LIS1* genini içeren delesyon ve altısında duplikasyon saptanmıştır. *LIS1*'in kodlayan ve kodlamayan bölgesinin dışında duplikasyonların ILS'ye neden olduğunun belirlenmesi *LIS1* geninin hem 5' hem de 3' ucundaki genlerin *LIS1* geninin ekspresyonu için önemli regülatör bölgeler içerdiğini düşündürmüştür (67, 68).

Şekil 2-16 *USCS Genome Browser* veri bankasında 17p13.3 lokalizasyonu (67, 126) ‘dan



2.8.3. *DCX* geni

DCX geni, X kromozomu üzerinde ~118kb büyüklüğünde 7 ekzonu olan bir gendir. Transkripti 9405 bp uzunluğunda (NM_178153.1) olup 441 aa uzunluğunda *doublecortin* proteinini kodlamaktadır. *DCX* geninin olağandışı bir yapısı vardır. Gen dizisinin sadece %16'sı kodlamakta ve 7. ekzonun içinde olan 3' UTR 7,9 kb uzunluğundadır (MIM *300121). *Protein Knowledgebase* (116) veri bankasına göre beş farklı isoformu bulunmaktadır. Farklı transkriptlerinin ekzon numaralandırılmasından kaynaklanacak karışıklıkları önlemek için bildirilen mutasyonlar *doublecortin* proteininin domainlerindeki yerleşimlerine göre sunulacaktır.

Doublecortin proteini; fosforilasyon ve protein etkileşimi ile kontrol edilen önemli bölgeler içeren sitozolik bir proteindir. Yaklaşık 80 aminoasitlik tekrarlayan bölge içeren iki önemli “doublecortin” DC domaini vardır. C-DC (171-275 aa) ve Abl fosforilasyon bölgesini (66-73 aa) içeren N-DC (42-150 aa) olmak üzere iki önemli domaini vardır (Şekil 2-17). C-terminal ucunun serin ve prolin rezidülerinden zengin olması serin fosforilasyonunun *doublecortin* fonksiyonu için önemli olduğunu ve prolin rezidülerinin proteinin tersiyer yapısıyla ve fonksiyonel özellikleri ile ilişkili olduğunu düşündürmüştür (65).

DCX proteini, mikrotübül bağlayıcı bir proteindir. Daha önce mikrotübül bağlayan proteinlerde tanımlanmamış iki mikrotübül bağlayıcı domain içerir. Mikrotübüller hücre bölünmesi, hücre migrasyonu ve hücre morfoloji için çok önemli olan sitoskeleti oluştururlar. İn vitro çalışmalarda *DCX* proteininin mikrotübül polimerizasyonunu ve mikrotübül stabilizasyonunu desteklediği gösterilmiştir. Bu nedenle *DCX* proteininin göç eden nöroblastın mikrotübül ağına stabilizasyonunu ve uzamasını sağladığı düşünülmektedir (13). Ayrıca nöroblast proliferasyonunda ve nöroblast migrasyonunda somal translokasyonda görevli olabileceği sanılmaktadır. *DCX* bir fosfoproteindir. Proteinleri fosforilleyen JNK, PKA, MARK, Cdk5 gibi protein kinazlar için substrattır. *DCX* proteininin protein kinazlar ile fosforillenmesi sonucunda, *DCX*'in mikrotübüller ile olan direkt polimerizasyon ve paketleme görevi inhibe olur. *DCX* genindeki mutasyonların, *DCX* proteinin anormal ürünlerinin mikrotübül formasyonunun düzgün olmamasına neden olduğu düşünülmektedir (13). Ancak henüz *DCX* genindeki mutasyonların protein fonksiyonunu nasıl bozduğu anlaşılamamıştır. *Human mutation database* veritabanından *DCX* geninde belirlenen anlamsız ve yanlış anlamlı [64], kırılma [6], küçük delesyon [9], küçük insersiyon [1], küçük indel [1], büyük delesyon [6] tipi mutasyon ve kompleks yeniden düzenlenmelere [1] ait yayınlara ulaşılabilir (117).

Şekil 2-17 *DCX* geninin domainleri (65, 115)'den



DCX geninin iki önemli domaini

- N-DC (42-150 aa) [Abl fosforilasyon bölgesini (66-73 aa) içerir]
- C-DC (171-275 aa)

2.8.3.1. *DCX* geni ile ilişkili hastalıklar

DCX ile ilişkili lizensefali, erkek olgularda klasik lizensefaliye, dişi olgularda SBH/çift korteks sendromuna neden olan bir nöronal migrasyon anomalisidir.

•***İzole lizensefali Sekansı (ILS);*** *DCX* ile ilişkili ILS'li erkek olgularda ağır psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, erken başlangıçlı nöbetler ve ağır zeka geriliği görülür. Kraniyal MR'da agiri ve pakigiri ile birlikte kalınlaşmış bir korteks tabakası gözlenir. *Grade* 2-5 lizensefali görülür.

•***Subkortikal band heterotopisi;*** *DCX* ile ilişkili SBH/çift korteks sendromunda normal veya hafif öğrenme güçlüğü veya ağır mental retardasyon gözlenebilir. Olguların %50'sinde fokal, %50'sinde generalize nöbetler vardır. Nöbeti olan olguların %65'i, antiepileptik tedaviye dirençlidir. Davranış problemlerine rastlanır. Semptomların ağırlığı altta yatan beyin malformasyonu ile ilişkilidir. Kraniyal MR'da baskın olarak frontopariyetal loblarda etkilenme görülür. *Grade* 5-6 lizensefali görülür.

SBH; frontal loblara sınırlı ise tipik olarak *DCX* genindeki mutasyonlar ile ilişkilidir. SBH'li dişi olguların yaklaşık %85'inde *DCX* geninde nokta mutasyonları gösterilmiştir. *DCX* geninin dizilenmesi ve MLPA yönteminin beraber kullanılması halinde SBH'si olan dişilerin %90'ına tanı konulacağı bildirilmektedir (68).

SBH; nadiren posteriyor loblara sınırlı olgular *LIS1* genindeki mutasyonlar ile ilişkilendirilmiştir. SBH olan olgularda, nadiren sitogenetik olarak mozaik 17p13.3 delesyonları bildirilmiştir. *LIS1* ile ilişkili SBH nadiren görülür. Beynin oksipitotemporalinde, SBH'si belirgin olan olgularda *LIS1* geninde mutasyonlar tanımlanmıştır. SBH'de *LIS1* geninde mutasyon şimdiye kadar üçü mozaik olmak üzere dört olguda bildirilmiştir. *LIS1* geninde somatik mozaizizm SBH'nin hafif fenotipine yol açtığı düşünülmektedir (69, 71, 79, 82).

Matsumoto; *DCX* mutasyonu ve SBH olan birbiri ile akraba olmayan 39 olgu/ailenin yer aldığı çalışmada *DCX* mutasyon lokalizasyonu ile fenotip arasında zayıf bir ilişki kurulabildiğini bildirmiştir. Bu makalede yanlış anlamlı mutasyonlar generalize subkortikal bantlar ile ilişkilendirilirken, anlamsız ve erken sonlanım mutasyonları frontal band heterotopisi ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca anlamsız/ erken sonlanım mutasyonların yalnızca izole olgularda varlığı gösterilmiştir. Bu bulgu ailevi olgularda yalnızca yanlış anlamlı mutasyon bulan Gleeson ve arkadaşlarını desteklemiştir (70). Bunun aksine Aigner ve arkadaşları bazı ailelerde somatik mozaizmin olduğu ailevi olgularda anlamsız mutasyonlar bildirmiştir (77). Tüm X'e bağlı hastalıklarda olduğu gibi, dişilerde X inaktivasyonu fenotip-genotip korelasyonunu zorlaştırmaktadır. Penetransı %90'dan fazladır. Ancak anlamsız ve yanlış anlamlı mutasyonu olan heterozigot kadınların nöbetler veya belirgin beyin malformasyonları olmayabilir.

Leger 2008 yılında *DCX* genindeki mutasyonların genotip-fenotip korelasyonunu tanımlamak için yaptığı çalışmada 180 erkek XLIS olgusunun 33'ünde (17 ailedeki 24 aile bireyinde ve 9 *de novo* olgu) *DCX* geninde mutasyon saptamıştır (115). 17 ailedeki 24 aile bireyinin 10'unda sadece SBH'si, 7'sinde Agiri-Pakigiri-SBH olduğu bildirilmiştir. Bu mutasyonların 19'u daha önce tanımlanmamış yeni mutasyonlardır. Mutasyonların %79,2'sinin *DCX* geninin evrimsel olarak korunmuş iki önemli domaininde; N-DC ve C-DC'de; oluşan yanlış anlamlı mutasyonlar olduğuna dikkat çekmiştir. En sık gözükten nöroradyolojik bulgunun %54,5 ile korteksin anterior bölgesindeki etkilenmenin baskın olduğu pakigiri ve agirinin olduğunu belirtmiştir. Pakigiri-Agiri derecesi olguların klinik olarak psiko-sosyal-motor gelişim geriliğinin ağırlığı ile uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışmada *DCX* geninde yanlış anlamlı mutasyonlu olgular C-DC ve N-DC domaininde mutasyonu olanlar olarak iki gruba ayrıldığında; C-DC domaininde mutasyonu olanların %58,3'ünün, N-DC domaininde mutasyonu olanların %36,3'ünün *Grade* 4-5 lizensefalisi olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına karşın (P=0,12) çalışma grubunda, C-DC domaininde mutasyonları olanların daha hafif dereceli lizensefalileri olması N-DC ve C-DC domainleri ile ilgili genotip ve fenotip yaklaşımlarının kliniği etkileyebileceğine dikkat çekmiştir. Ayrıca 33 erkek olgunun 12'sinde (%36,4) *Grade* 4 ve 6'sında (%18,2) *Grade* 3 lizensefali belirlenmiştir.

2.8.4. *TUBA1A* geni

TUBA1A geni, mikrotübülleri kodlayan alfa tubulin gen ailesinin kodladığı klasik lizensefali ile ilişkilendirilen bir gendir.

Mikrotübüller 20-25 nm çapında silindirik yapıdadırlar. Alfa ve beta tubulin polimerlerinin olduğu protofilamentlerden oluşmaktadır. Her mikrotübül alfa alt ünitesinin ucu (-), beta alt ünitesinin ucu (+) yüklü olacak şekilde kutuplanmıştır. Mikrotübüller hücre iskeletini oluşturan yapılardır. Mitozda, hücre hareketinde ve diğer biyolojik süreçlerde rol oynarlar ve hücre organelleri için adeta bir omurga oluştururlar. Motor proteinlerin hareketi için gereklidir. Majör mikrotübül motor proteinleri mikrotübülün (+) ucuna doğru ilerleyen “Kinesin” ve mikrotübülün (-) ucuna doğru ilerleyen “Dinein” ‘dir.

Mikrotübülleri kodlayan genler, tubulin gen ailesinin üyeleridir. Alfa, beta, gama, epsilon ve delta gibi tubulin gen aileleri vardır. Alfa veya beta tubulin gen aileleri başlıca tubulin gen aileleridir. Alfa ve beta tubulin gen aileleri türler arası korunmuştur. İnsan *TUBA1A* geni, alfa tubulin gen ailesinin kodladığı bir gendir. Fare *Tubal* geni ile belirgin homoloji gösterir.

TUBA1A geni, 20’ye yakın farklı genden oluşan alfa tubulin gen ailesinin bir üyesidir. *TUBA1A* geni 12.kromozomun uzun kolunun 13.1 bölgesine lokalize 4 ekzonlu bir gendir (NM_006009.2). Yaklaşık 4 kilobaz uzunluğundadır. *LIS3* geni olarak da adlandırılır. *Ensembl* veritabanına göre 451 ve 182 aminoasitlik 2 farklı transkripti vardır (118)

Fetal hayatta insan beyinde yüksek oranda eksprese edilir. Farelerdeki homologunun lizensefaliye yol açması üzerine, lizensefalili olgularda *TUBA1A* geni taranmış ve mutasyonlar saptanmıştır (27). *TUBA1A*’nın ekspresyon paterni beyin gelişiminde erken oluşan postmitotik göç eden nöronlarda gösterilmiştir (28).

2.8.4.1. *TUBA1A* geni ile ilişkili hastalıklar

TUBA1A geninin insanda lizensefali ile ilişkilendirilmesi, lizensefali ile ilişkili diğer genlerin klonlanmasından çok farklı olmuştur. *LIS1* ve *DCX* genleri kromozomal yeniden düzenlenmeler sayesinde bulunmuştur. *TUBA1A* geni ise çok merkezli fare modeli çalışmaları sonucunda tanımlanmıştır.

İnsan genom projesinin 2001 yılında tamamlanmasının ardından, insandaki hastalıklara benzer hastalıkların fare modellerinin yapılmasına başlanmıştır. Mutajen ajanların kullanılması ile mutant fare modelleri yaratıldıktan sonra, mutant fareler davranışsal, fizyolojik ve dismorfik özellikleri açısından değerlendirilip gruplandırılmıştır. Özgün bir fenotipi olan farelerde haritalama çalışmaları ile aday genlere ulaşılmış ve bu fenotipe yol açan aday genlerin insanlardaki homologlarının hastalıklarla ilişkisi araştırılmıştır.

TUBA1A geni, ilk kez Keays ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan fare modeli çalışmalarının ardından insanlarda lizensefali ile ilişkilendirilmiştir (28). Fare modellerinde uluslararası bir merkez olan MRC Harwell Merkezi'nden elde edilen güçlü bir mutajen olan ENU (*N-ethyl-N-nitrosourea*) ile indüklenmiş 9216 fare fenotiplerine göre değerlendirilmiştir. Lokomotor aktivitelerine göre özgün fenotipteki fareler seçilmiştir. Bu fareler kendi aralarında çiftleştirildikten sonra haritalama çalışmaları ile fare *Tubala* geninde S140G değişikliği saptanmıştır. İmmunohistokimyasal çalışmalar ile *Tubala* geninin nöronal migrasyona yol açabileceği anlaşıldıktan sonra *DCX* ve *LIS1* geni için daha önceden taranmış, kortikal anomalili 40 hastada *TUBA1A* geni dizilenmiştir. Klasik lizensefalisi olan 2 olguda, bu genin dördüncü ekzonunda p.R264C ve p.R402H mutasyonu saptanmıştır.

Poirier ve arkadaşları (2007) ilk bildirilen bu iki olgu ile birlikte 8 olguyu kraniyal MR'ları ve klinik bulguları tartışmıştır. Kraniyal MR bulgularının agiriden laminar heterotopiye kadar geniş bir yelpazede olduğunu ve serebellum, hipokampus, korpus kallozum ve beyin sapının etkilenebileceğini belirtmiştir (27). Olguların hepsinde diğer klasik lizensefalili olgulardaki gibi, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği ve epilepsi mevcuttur, ancak klasik lizensefalide rastlanmayan konjenital mikrosefalinin de olguların hepsinde olduğuna dikkat çekilmiştir.

Bahi-Buisson 2008 yılında, 100 olguyu *TUBA1A* mutasyonu için incelenmiş, 6 olguda *TUBA1A* geninde mutasyon saptanmıştır. Olguların kraniyal görüntüleri gradiente göre değerlendirildiğinde posteriyor bölgenin daha ağır etkilendiği gözlenmiş ve klinik ortak özelliklerinin konjenital mikrosefali, psiko-sosyal-motor gerilik, konuşma geriliği, dipleji/tetrapleji olduğu gözlenmiştir (119).

Morris-Rosendahl 2008 yılında, 6 olguda *TUBA1A* mutasyonu saptamıştır. *TUBA1A* ile ilişkili lizensefalide pakigiri, komplet veya parsiyel CCA, inferior vermisin daha belirgin etkilendiği serebellar hipoplazi, beyin sapı hipoplazisi ve hipokampusun organizasyon bozukluğunun görülebileceğini belirtmiştir. İnternal kapsülün anterior bacağının hipoplazisi ve yokluğunun kaudat nükleusun putamenden tam ayrılamamasına yol açtığına dikkat çekmiştir. Ayrıca *TUBA1A* mutasyonu taşıyan erkek ve kadın olgularda SBH'si bildirilmiştir. Klasik lizensefaliden sorumlu *LIS1* ve *DCX* genleri dışında *TUBA1A*'nın klasik lizensefalili olguların yaklaşık % 4'ünden sorumlu olabileceğini, ancak *TUBA1A* mutasyonları ile ilişkili fenotiplerin belirlenmesinin gerekli olduğu belirtilmiştir (120)

2.8.5. *RELN* geni

Motor koordinasyon bozukluğu, tremor ve ataksisi olduğu için ‘*reeler mouse*’ (sarsak fare) olarak adlandırılan fenotipe neden olan bu gen D’Arcangelo ve arkadaşları tarafından 1998 yılında ilk kez klonlanmış ve mutant fare fenotipi nedeniyle *RELN* (*reelin*) olarak adlandırılmıştır.

RELN geni, 7. kromozomun uzun kolunun 7q22 bölgesine lokalizedir. En uzun transkripti 11565 bp uzunluğunda olup, 65 ekzon içerir (NM_005045.2). Ensembl veri tabanına göre 10 farklı transkripti vardır (121). Serin proteaz aktivitesi içeren bir hücre dışı matriks proteini olan Reelin’i kodlamaktadır. Reelin proteini 3461 aminoasit içerir ve yaklaşık 388kDa ağırlığındadır. Serebrum ve serebellumda nöronların migrasyonunda rol oynamaktadır. Reelin proteini; Cajal-Retzius hücreleri, kortikal ve hipokampal GABAerjik hücreler ve serebellumun eksternal granül tabakasındaki granül hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Fetal dönemde belirgin yüksek oranda serebellumda olmak üzere, fetal ve postnatal dönemde insan beyin ve karaciğer dokusunda eksprese olmaktadır.

RELN geni serebellar hipoplazi ile birlikte olan lizensefali (LIS2) ile ilişkilendirilmiştir. Beyin sapı ve hipokampus da etkilenmiştir. Etkilenen olgularda ağır ataksi, mental retardasyon ve epilepsi görülür.

Reelin proteinin N-terminal ucunda 27 aminoasit uzunluğunda bir sinyal peptidi bulunur. Bu sinyal peptidinin ardından, kısa hücre dışı matriks proteinlerinde bulunan BNR (*Bacterial neuraminidase repeat*) tekrarları gelir. Daha sonra proteinin 3 boyutlu yapısı için önemli olan, proteinin reseptörlerini ve diğer molekülleri tanımasında yardımcı 8 adet *reelin* tekrarı denen EGF-benzeri (*Epidermal Growth Factor-like*) tekrar yer alır. Proteinin C-terminal ucunda ise, homopolimer yapının oluşmasında görevli Reelin-Reelin iletişimi için önemli CR-50 epitobu bulunur.

Reelin proteininin ApoER2, VLDL-R ve $\alpha\beta 1$ integrin proteini gibi reseptörleri vardır. Reelin’in bu proteinler ile etkileşime girmesiyle hücre içi Dab1 adaptör proteini aktive olur. Böylece Lis1, mNudE, Cdk5, Nudel gibi hücre içi pek çok protein fosforile olur. Fosforile olan proteinler, Dinein ve mikrotübüller ile bir kompleks oluşturur. Reelin’in görev aldığı bu yolağın hücre migrasyonu ve sinaptik plastisite için önemli olduğu düşünülmektedir.

2.8.5.1. *RELN* geni ile ilişkili hastalıklar

RELN, 7q22.1'e lokalize 65 ekzonlu bir gendir. Beyin gelişimi ve nöronal migrasyonda hücre-hücre iletişimde rol oynayan büyük bir hücre dışı matriks proteinini kodlamaktadır (29, 30)

Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH); belirgin serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefalidir. LCH, klinik ve radyolojik değerlendirilmeleri ile bu hastalığı 6 grupta (LCHa/LCH b/LCHc/LCHd/LCHe/LCHf/LCHg) toplamıştır. **LCH (b);** orta derecede (4-10 mm) kortikal kalınlığın görüldüğü, pakigiri ile birlikte tüm serebellumun ağır etkilendiği ve serebellar folyaların seçilemediği *RELN* geni ile ilişkilendirilen gruptur.

Hong ve arkadaşlarının İngiliz diğeri Suudi Arabistan'lı toplam iki aile, *RELN* geninde gösterdikleri nokta mutasyonları şimdiye kadar bildirilmiş örneklerdir. Literatürde kromozomal yeniden düzenlenmeler nedeniyle *RELN* proteininin saptanamadığı nöromotor retardasyonu ve epilepsisi olan ve kraniyal MR'ların LCH (b) grubunda değerlendirildiği olgular bildirilmiştir. Bu olgulardan biri Chang ve arkadaşları tarafından 2007 yılında bildirilen akraba evliliği yapan bir Türk ailenin çocuğudur. Kromozom analizinde 7. kromozomda homozigot perisentrik inversiyon 46,XX,inv(7)(p11.2q22) saptanmıştır (89).

Diğer bildirilen olgular ise; Zaki ve arkadaşları tarafından 2007 yılında bildirilen akraba evliliği yapan Mısır'lı bir ailenin iki çocuğudur. Kromozom analizinde homozigot dengeli resiprokal translokasyon t(7;12)(q22;p13) saptanmıştır. Bu olgularda kromozomal değişikliği nedeniyle *RELN* geninin fonksiyon kaybına uğradığı ve *RELN* proteinin eksprese olmadığı gösterilmiştir (90).

Nöropsikiyatrik bozukluklar; şizofreni, bipolar bozukluk ve otizmdir. Postmortem insan beyin dokusunda ve heterozigot mutant farelerin davranışsal çalışmalarında reelinin çeşitli nöropsikiyatrik bozukluklar ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (122, 123) Ancak halen reelinin bu hastalıklar ile ilişkisi net olarak anlaşılamamıştır.

2.8.6. *ARX* geni

Aristaless Related Homeobox (ARX) geni Xp22.13 bölgesinde, yaklaşık 12.5 kb büyüklüğünde, 5 ekzonlu bir gendir. Transkriptin kodladığı bölge 1686 baz çiftidir (NM_139058.2). *UniProtKB/Swiss-Prot* veritabanına ve *Ensembl* (124) veritabanına göre bir transkripti mevcuttur (www.uniprot.org) (125) *ARX* geni 562 aa olan ARX proteinini kodlar. ARX proteinin *Homeobox* (328-387.aa) ve *Aristaless* (530-543.aa) domaini olmak üzere iki önemli domaini bulunmaktadır. *ARX* geni fetal ve erişkin beyin hücrelerinde eksprese olmaktadır.

Fetal beyinde eksprese olmaya, nöral plate döneminde başlar. Özellikle germinal matriks nöral prekürsörlerinde ve ventriküler zonda (subventriküler zon, kortikal plak, kaudat nükleus, putamen, substantia nigra, singulat ve hipokampus) eksprese olmaktadır. Ayrıca fetal testis, erişkin kalp, çizgili kas hücresi ve karaciğerde de eksprese olmaktadır. Merkezi ve periferik sinir sisteminin gelişmesi için önemli olduğu, aksonal migrasyonda ve GABAerjik nöron değişiminde rolü olduğu tanımlanmıştır.

ARX geni, *DCX* geninden sonra lizensefali ile ilişkilendirilen ikinci X kromozomuna lokalize gendir, bu nedenle LISX2 olarak da adlandırılır.

2.8.6.1. *ARX* geni ile ilişkili hastalıklar

ARX genindeki mutasyonlar farklı fenotiplere yol açabilmektedir. Bunlar, MRX, West Sendromu, Partington Hastalığı, kuşkulu genitalyaya eşlik eden X e bağlı lizensefali (XLAG), hidranensefali ve otizmdir. *ARX* mutasyonlarının fenotipe etkisi, mutasyonun tipine ve gen içindeki pozisyonuna göre değişmektedir (Tablo 2-6).

Homeobox bölgesinin korunmuş rezidülerindeki yanlış anlamlı ve erken dur kodonu mutasyonlar genelde XLAG ile ilişkilendirilirken, genin diğer bölgelerindeki yanlış anlamlı mutasyonlar ve ekzon 2’de bulunan -GCG- tekrarlarındaki artışlar genellikle, West sendromu, Partington Sendromu ve MRX ile ilişkili bulunmaktadır. *ARX* genindeki -GCG- tekrarlarındaki artışın proteinin agregasyonuna neden olduğu ve lokalizasyonunun değişmesine yol açtığı belirtilmektedir. En sık gözlenen mutasyon ekzon 2’deki 24 bç’lik duplikasyondur.

X’e bağlı lizensefali ile birlikte kuşkulu genitalya ve hidranensefali (XLAG; MIM # 300215) XLAG, *ARX*’in fonksiyon kaybettiren mutasyonları ile oluşmaktadır. Bu mutasyonlar ilk 4 ekzonda gözlenen büyük delesyonlar, çerçeve kayması mutasyonları ve transkripsiyonun erken sonlanmaya neden olan mutasyonlarıdır. *Homeobox* ve *Aristaless* domainindeki korunmamış yanlış anlamlı mutasyonların da XLAG’a neden olabileceği bildirilmiştir. Kato ve arkadaşları bir ailede *ARX* geni çerçeve kayması mutasyonu gözlenen 4 ekilenmiş erkek olguda fenotipik değişkenlik saptamışlardır. İki olguda XLAG ve birinde hidranensefali bulunmuştur. Anlamsız mutasyonu olan bir erkek olguda ise makrosefali, kuşkulu genitalya ve hidranensefali bildirilmiştir. XLAG, hidranensefali ve kuşkulu genitalya *ARX* mutasyonları ile ilişkili olup, bu bulgular birlikte görülebileceği gibi aile içi değişikliklerle de görülebilmektedir.

Proud Sendromu: (MIM # 300004) Proud sendromu X’e bağlı dominant geçişli mental retardasyon, CCA ve kuşkulu genitalyayı içermektedir. Dört kuşaklık bir ailede etkilenmiş altı erkek ve üç kız olgu tanımlanmıştır. Üç erkek olgu infantil dönemde kaybedilmiş, yaşayan 3 erkekte mikrosefali, kontraktürler, skolyoz, dismorfizm, optik atrofi, geniş alveolar kemer, epilepsi, renal displazi, kriptorşidizm ve hipospadiyas saptanmıştır. Fenotip etkilenmiş kızlarda değişken olmakla beraber, etkilenmiş erkeklere benzer olduğu belirtilmiştir.

Partington sendromu: (MIM # 309510) Partington sendromu, X'e bağı resesif kalıtım gösteren mental retardasyon sendromudur. İlk kez 1988'de geniş bir Avustralyalı ailede tanımlanmıştır. Bu dört kuşaklık ailede, on etkilenmiş erkek ve altı taşıyıcı dişi bulunmaktadır. Etkilenmiş erkeklerde hafif-orta MR, distonik el hareketleri, dizatri ve koordinasyonsuz yürüme bulguları varken, taşıyıcı dişilerde bu bulgular yoktur. Distonik el hareketleri 3-4 yaşlarında belirgin duruma gelir ve yavaş ilerler (55). Bu fokal distoni "*Partington sign*" olarak bilinir. Distoni yüz ve konuşma kaslarını etkileyerek dizatriye neden olabilir. Ekzon 2'de, 24 bç duplikasyon (c.428-451dup24) sonucu ARX proteininde 2. polialanin sıralamasında artış gösterilmiştir. Aynı mutasyonu taşıyan farklı aileler bildirilmiş ve taşıyıcı dişiler etkilenmemiştir.

İnfantil spazm: (West sendromu) (MIM # 308350) İnfantil spazm; ani ve genellikle bilateral olan boyun, gövde ve ekstremiteler kaslarında tonik kontraksiyonlarla karakterize bir epilepsi türüdür. EEG'de hipsaritmi görülür. West sendromuna neden olan tek gen hastalıkları içinde Tuberoskleroz yer alır. Bildirilen ailevi olgularda ARX geninin ikinci ekzonunda 24 bç duplikasyon saptanmıştır. Bu mutasyon 1. polialanin dizisinde ekspansiyona neden olmaktadır.

XMESID: X'e bağı miyoklonik epilepsi/spastisite/bilişsel bozukluk (MIM #308350) Scheffer ve arkadaşları iki kuşak Avustralyalı bir ailede altı etkilenmiş erkek olguda miyoklonik epilepsi, ağır gelişim geriliği ve spastisite bildirmişlerdir. Etkilenmiş erkeklerin antiepileptik tedaviye dirençli epilepsileri 2 ila 18 aylıkken başlamıştır. İnfantil spazm, tonik epilepsi ile başlar ve miyoklonik tonik-klonik nöbetler ile devam etmektedir. Bu ailenin üç taşıyıcı dişi bireyinde hiperrefleksi ve birinde ilerleyici spastik ataksi olduğu belirtilmiştir. Bu ailede, ARX geninin homeobox bölgesinde yanlış anlamli mutasyon saptanmıştır.

MRX: ARX mutasyonu, MRX ailelerinin % 10 undan fazlasında saptanmaktadır. En sık görülen mutasyon, ekzon 2 de 24 bç duplikasyon mutasyonudur ve bu mutasyon tüm ARX gen mutasyonlarının yaklaşık % 40'ını oluşturmaktadır. ARX geni mutasyon sıklığı, XLMR ailelerinde yaklaşık % 7,5 yalnızca etkilenmiş iki erkek kardeşin bulunduğu ailelerde ise % 2,2 olarak bildirilmektedir. Bu veriler XLMR de, ARX in FMRI geni mutasyonlarından sonra ikinci sırayı aldığını vurgulamaktadır

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışma grubumuzu, 1996–2009 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda, mikrosefali, psiko-sosyal-motor gerilik ve kortikal anomali nedeniyle incelenen; metabolik hastalık lehine laboratuvar ve klinik bulgusu olmayan, MSS görüntülemeleri ile Lizensefali Spektrumu içerisinde değerlendirilen 10 aile (11 etkilenmiş olgu) oluşturmaktadır. . Çalışmamızda kullanılan moleküler tanıyı yönlendirici akış şeması Şekil 2-14 ve 3-1'de yer almaktadır.

Çalışmanın etik açıdan uygunluğu, İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Dosya no: 2008/2075). Çalışmaya katılan ailelerden bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

3.2. YÖNTEMLER

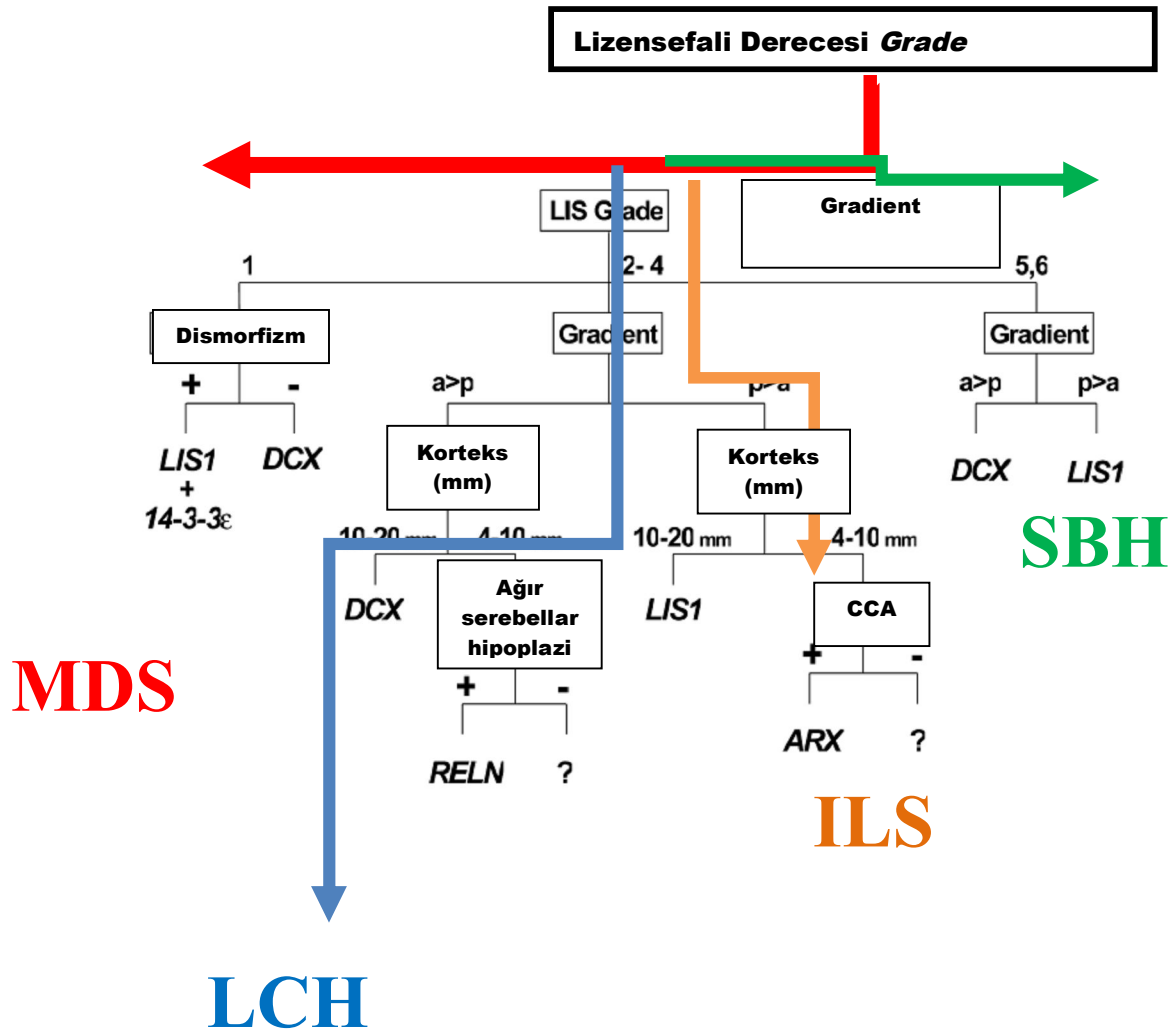
3.2.1. KLİNİK DEĞERLENDİRMELER

Olguların fizik muayenesi Tablo 3-1'de verilen muayene formu esas alınarak kaydedildi. Aile öykülerine göre aile ağaçları hazırlandı. Etkilenmiş bireylerin fotoğrafları ve kraniyal MR görüntüleri arşivlendi.

Tablo 3-1Nöronal migrasyon anomalileri muayene formu

Aile No:		G.T:	
Adı-Soyadı:		Protokol No:	
D.T/ yaşı:		DNA No:	
Adres bilgileri:		Tel:	
Akrabalık:	Özgeçmiş:	Soygeçmiş:	
Antenatal/Natal/Postnatal:			
Psiko-sosyal-motor gelişme:			
Aile ağacı			
Fizik muayene:			
Tartı: cm Boy: cm Baş çevresi: cm(SD)			
Dismorfik bulgular:			
Sistem bulguları:			
Kraniyal görüntüleme:			
Ek tetkikler (DMH, İOA, Göz ve KBB konsültasyonu, Denver II Gelişim Testi)			
ÖN TANI			
Miller-Dieker Sendromu (MDS)			
İzole LIS sekansı (ILS)			
Subkortikal Band Heterotopisi (SBH)			
Serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH)			
X'e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte Lizensefali (XLAG)			
Sitogenetik /moleküler sitogenetik incelemeler			
Karyotip:			
MDS FISH:			
MLPA (P061- Lissencephaly) analizi:			
Moleküler analizler (dizi analizi)			
LIS1:	YWHAE:	DCX:	RELN: ARX: TUBA1A:

Şekil 3-1 Moleküler tanıyı yönlendirici akış şeması



Şekil 3-1 Moleküler tanıyı yönlendirici akış şeması (100)'den değiştirilerek

3.2.2. SİTOGENETİK ve MOLEKÜLER SİTOGENETİK YÖNTEMLERİ

3.2.2.1. HRBT tekniği ile kromozom analizi

Hücrelerden kromozom eldesi ile elde edilen kromozomlar metafaz ve/veya prometafaz evresinde >550 band düzeyinde HRBT (*High Resolution Banding Technique*) ile incelendi.

3.2.2.2. FISH analizi

MDS klinik tanıli olgular kromozomların belli bölgelerine özgün DNA dizilerinin problarla (enzimatik yolla florasan veren madde) işaretlenerek DNA ile hibrid oluşturması ve mikroskopta görüntülenmesi esasına dayanan FISH tekniği (Floresan in Situ Hibridizasyon) ile incelendi. Bu olgularda FISH analizi ile tanı koymak için *LIS1* geninin 80kb'lık kısmını içeren 17p13.3 bölgesine bağlanıp 110kb uzunluğundaki DNA dizisini kırmızı renkli florasan ile işaretleyen SMS/MDS/ILS prob kombinasyonu kullanıldı (Cytocell/Aquarius Smith Magenis/Miller-Dieker/ILS probe combination).

3.2.2.3. MLPA analizi

MLPA (*Multiple ligation-dependent probe*) yöntemi gen içi delesyon veya duplikasyonların analizleri için tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntemle, analiz edilecek bölgeye spesifik tasarlanmış ticari problar ile tek ekzon gibi küçük DNA parçalarının delesyon veya duplikasyonları saptanır.

Lizensefali ile ilişkili hastalıkları incelediğimiz çalışmamız için *MRC-Holland SALSA MLPA P061-B1-Lissencephaly* kiti kullanıldı. Bu kitin içerdiği problar şunlardır: İzole lizensefali sekansı ve Miller-Dieker Sendromu ile ilişkili *LIS1* geninin başlangıç ve dur kodonları, ekzonları (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) ve intronları (2, 4); Miller-Dieker Sendromu'nda delesyona uğradığı gösterilen fenotipi modifiye edici etkisi olan *LIS1* geninin 5' ucuna komşu *MGC3329* geni, *HIC1*'in 1 ve 2 ekzonları, *YWHAE*'nin 1 ve 4 ekzonları ile *LIS1* geninin 3' ucuna komşu olan *KIAA0664* geni ve *GARNL4* geni; *DCX* geninin başlangıç ve dur kodonları, ekzonları (1-7); periventriküler nodüler heterotopi ile ilişkilendirilen *FLNA*

geninin başlangıç ve kodonları, bazı ekzonları (3, 10, 21, 24, 28, 37, 44); konjenital musküler distrofiler ile ilişkili *POMGnT1* geninin başlangıç ve dur kodonları, ekzonları (2, 6, 17, 20); *POMT1* geninin başlangıç ve dur kodonları, ekzonları (2, 5, 17, 19).

Her bir DNA örneği 0,2 ml'lik PCR tüplerinde MLPA reaksiyonu için 5µl hacminde 50-200 ng gDNA olacak şekilde TE ile dilüe edildi. 98°C'de 5 dakika termal döngü cihazında (MJ Research PTC-200) denatüre edildi. Prob hibridizasyonu için her MLPA örnek tüpüne 1,5µl *SALSA probemix* ve 1,5µl *MLPA buffer* eklendi ve 95°C'de 1 dakika inkübasyon sonrası 16 saat 60°C'de prob-DNA hibridizasyonu sağlandı. Ligasyon reaksiyonu için; hibridizasyon aşamasından sonra 0,2 ml'lik tüpler termal döngü cihazında 54 °C'de bekletilirken 32 µl *ligase-65 mix* her bir örnek tüpüne eklendi. 15 dakika 54 °C'de inkübe edildikten sonra, 98°C'de 5 dakika bekletildi [*Ligase-65 mix*: 3 µl *Ligase-65 buffer A* + 3 µl *Ligase-65 buffer B* + 25 µl bidistile su (H₂O) + 1µl *Ligase-65*]. Ligasyon reaksiyonu sonrası yeni bir 0,2 ml'lik tüplere aktarılan 10 µl ligasyon reaksiyonu örneğine 26 µl bidistile su (H₂O) ve 4 µl *SALSA PCR buffer* ve 10 µl *Polymerase mix* termal döngü cihazı 60°C'de bekletilirken eklendi ve PCR reaksiyonu başlatıldı [*Polymerase mix*: 2 µl *SALSA PCR-primer* + 2 µl *SALSA Enzyme Dilution buffer* + 5,5 µl bidistile su (H₂O) + 0,5 µl *SALSA Polymerase*]. PCR reaksiyonu, 95°C'de 30 sn denatürasyon, 60°C'den 30sn'lik bağlanma ısılarında ve 72°C'de 60 sn uzama basamaklarından oluşan toplam 35 döngü ve son olarak 72°C'de 20 dk inkübasyon periyodu termal döngü cihazı (MJ Research PTC-200) kullanılarak gerçekleştirildi.

Amplifikasyon ürünlerinin elektroforez ile separasyonu için firma protokolüne uygun olarak *Beckman-Coulter* kapiller elektroforez cihazı kullanıldı. Elde edilen veriler *MRC-Holland*'ın (*Microbiology Research Centre*; www.mlpa.com/www.mlpa.com/coffalyser/support.html) önerdiği *Coffalyser* yazılımı ile değerlendirildi.

3.2.3. MOLEKÜLER YÖNTEMLER

3.2.3.1. DNA eldesi

DNA izolasyonları 5ml K₃ EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan, kit kullanılarak, firma protokolüne uygun olarak elde edildi (DNA Isolation Kit for Mammalian Blood, Roche Diagnostics/Elips-Istanbul).

3.2.3.2. *RELN* geni için homozigosite haritalanmasında kullanılan polimorfik markörlerin seçimi

Polimorfik markörlerin toplumumuzdaki heterozigotluk oranı bilinmediğinden ikisi gen içi ikisi ve gen dışında kalmak üzere en az 4 polimorfik markör seçilmesi amaçlandı. Bu sayı, non informatik durumunu azaltma konusunda olduğu kadar, olası kompleks gen yapıları nedeniyle çalışmayan PCR reaksiyonlarına karşı da bir tedbir olarak görüldü.

RELN genine ait polimorfik markör seçimi için ilk aşamada UCSC (*University of California, Santa Cruz*) *Genome Browser*'daki veri bankası tarandı. Genin 3'ucunda (D7S2509), 2. intronda (D7S796), 3. intronda (D7S2504) ve 5'ucunda (D7S658) bulunan polimorfik markörler seçildi.

Homozigosite haritalamasında informatiflik durumu haplotiplerin ayırt edici özellikte bulunup bulunmamasına göre tanımlandı; anne ve babanın sahip olduğu alellerin birbirinden farklı haplotipler göstermesi durumu "*tam informatif*", bir ortak haplotip bulunması durumu "*yarı informatif*" ve birden fazla ortak haplotip bulunması durumu ise "*non-informatif*" olarak değerlendirildi.

3.2.3.3. Homozigosite haritalanmasında kullanılan polimorfik markörlerin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması

Polimorfik markörler, kullanılan enzimin uygulama talimatları modifiye edilerek PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Her bir PCR reaksiyonu için 200-400 ng gDNA, 1 x tampon solüsyonu [$10\times(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$], 1,5 mM MgCl_2 , %4-10 DMSO (Sigma), 200 μM dNTP, 0.3-0.8 μM ileri ve geri primerler ve 0,5 U Taq polimeraz enzimi (MBI Fermentas, Elips-İstanbul) kullanıldı. Reaksiyon karışımı, bidistile su (H_2O) ile 50 μl 'ye tamamlandı. PCR, 94°C'de 5 dakika süren ilk denatürasyon ısısını takiben, 94°C'de 30 sn denatürasyon, 62°C- 52°C'ye kadar kademeli olarak düşürülen 30sn'lik bağlanma ısılarında ve 70°C'de 70 sn uzama basamaklarından oluşan toplam 40 döngü ve son olarak 70°C'de 10 dk'lık uzama basamağı olacak şekilde, *touch-down* PCR yöntemi kullanılarak, termal döngü cihazında (MJ Research PTC-200) gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonrası PCR örneklerinden 5 μl alınarak, 123 bç'lik merdiven markörü (Sigma) paralelinde 10 $\mu\text{g/ml}$ etidyum bromür içeren %1,2'lik agaroz (Sigma) jelde, 1xTBE solüsyonunda 80 V'da 20-25 dk yürütülerek boyutlarına göre ayrıldı. Elde edilen bantlar ultraviyole (Omes, Fotodyne, ABD) ışık altında görüntülenerek fotoğrafları kayıt edildi.

3.2.3.4. Poliakrilamid jel elektroforezi ve gümüş boyama ile haplotipleme

Çoğaltılan markörler ayarlanabilir vertikal elektroforez cihazında (24x16 cm boyutundaki camlarda OWL ayarlanabilir # ADJ-1 vertikal elektroforez Cihazı ve 42x33cm boyutundaki camlarda (C.B.S. SCIENTIFIC CO. #SG-400-33 Elektroforez cihazı), ürün boyutlarına göre (265 bç/178 bç/197bç/270-290 bç) %10'luk (19:1) denatüran poliakrilamid jel karışımı kullanılarak, ön yürütme süresinden hemen sonra (OWL'da 400 Voltta 30 dakika, C.B.S.'de 1000 Voltta 1 saat) yürütüldü. PCR ürünleri akrilamid jelin kuyucuklarına yüklenmeden önce, ön yürütme yapılan akrilamid jelin sıcaklığının, denatüran etkisini göstermesi için 50-55 °C'ye ulaşması sağlandı. 20 μl 'lik PCR ürünlerinin üzerine 2:3 oranında olacak şekilde formamid eklendi. 98°C'de 30 dk denatüre edilen PCR ürünü-formamid karışımlarından 8'er μl alınarak jelin kuyucuklarına yüklendi. PCR ürünleri boyutlarına göre kendi aralarında gruplandırıldı ve her bir grup için yürütme süresi ve voltaj düzeyi değişmekle birlikte C.B.S'de 700-1000Voltta 12-17 saat OWL'da, 400 Voltta 14-19

saat yürütüldü. Jel yürütüldükten sonra 10dk fiksasyon solüsyonunda (%10 etanol, %0,5 asetik asit) fikse edildi. Daha sonra 30 dk %0,1 AgNo₃ (Sigma) çözeltisi ile boyandı. Son olarak %1,5 NaOH (Sigma), %0,4 formaldehit (Sigma), %0,01 NaBH₄ (Sigma) solüsyonunda bantlar jel üzerinde belirene kadar bekletildi (108). Jel üzerindeki bantlar değerlendirilerek genotiplendi.

3.2.3.5. Primerlerin tasarlanması

Genomik DNA ve/veya komplementer DNA için primer tasarlanırken seçilen oligonükleotidlerin herhangi bir SNP (*Single nucleotide polymorphism*) üzerine gelmemesine, tekrarlayan diziler üzerinde bulunmamasına, ileri geri nükleotidlerin bağlanma ısılarının (T_m ; *melting temperature*) birbiri ile aynı ya da en fazla ± 2 °C farklı olmasına, içerdiği AT ve CG nükleotidlerinin olduğunca eşit dağılımlı olmasına, 18-22 nükleotid içermesine ve gen bölgesi için özgün olmasına özen gösterildi (112). Özgünlük, *UCSD Genome Browser*'dan "*in silico* PCR" interaktif sistemi ile test edildi.

RELN lokusuna özgün mikrosatellit markörlerin primerleri standart olup, GDB.org'da (*Genome Database*) tasarlanmış olarak sunulduğundan, diziler bu siteden elde edildi (Ekler 8.1 bölümünde sunulmuştur). *DCX*, *LIS1*, *TUBA1A*, *YWHAE* ve *ARX* genlerinin tüm ekzonlarını dizileyebilecek ve genomik DNA'nın intron-ekzon bağlantı bölgelerinden en az 100 baz çifti introna girecek şekilde ve *RELN* geninin komplementer DNA'sında ise tüm kodlanan ekzonları dizileyecek şekilde birbiri ile örtüşen primerler tasarlandı. *DCX*, *LIS1*, *TUBA1A*, ekzonik ve *RELN* geninin hem ekzonik hem de intronik primerleri Ekler 8.1 bölümünde sunulmaktadır.

3.2.3.6. Dizileme öncesi genlerin ekzon bölgelerinin genomik DNA'da ve komplementer DNA'da PCR yöntemi ile çoğaltılması

RELN genine ait polimorfik markörler için homozigot olan bireylerin ekzon bölgelerinin dizilenebilmesi için 3.2.25 bölümünde belirtilen PCR reaksiyonu koşullarında, uygun bağlanma ısıları T_m ve bu ısıların ± 2 °C'leri kullanılarak, ikili veya üç aşamalı ısı döngülerinde çoğaltıldı.

3.2.3.7. Saflaştırma

PCR ürünleri ticari kit kullanılarak, firma protokolüne uygun olarak saflaştırıldı (Genemark PCR Clean–Up Kit, Genomed–İstanbul)

3.2.3.8. DNA dizi analizi

PCR yöntemi ile çoğaltılan ekzon bölgeleri ABI 3730 XL otomatik kapiller DNA dizileyicisinde (Applied Biosystems, Macrogen Inc., Seul, Kore) hizmet alımı olarak bir dış laboratuvarıda gerçekleştirildi. Dizileme sonuçları Chromas 2.32 (www.technelysium.com.au/chromas.html) ve NCBI BLAST (Basic Local Asligment Search Tool; www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) programları kullanılarak bilgisayar ortamında analiz edildi. Dizi analizi sonucunda saptanan değişimlerin tanımlanmış SNP olup olmadıkları “NCBI Entrez SNP” (www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP) ve “ENSEMBL, GeneSNPView” (www.ensembl.org/genesnpview) veri tabanları kullanılarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Klinik ve radyolojik bulgular ile Lizeensefali Spektrumu içinde değerdendirilen 10 aile (11 etkilenmiş olgu) çalışma grubuna katıldı.

Bulgular başlığı altında; klinik bulgular, genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları ve bulguların yönlendirdiği genetik danışmanlık verileri yer almaktadır.

- **Etkilenmiş olgunun klinik bulguları**

Fizik muayene bulguları

Aile ağacı

Kraniyal MR görüntüleri

Fotoğraf

.

- **Genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları**

HRBT tekniği ile kromozom analizi sonuçları

FISH analizi sonuçları

MLPA analizi sonuçları

SNP array analizi sonuçları

Haplotip analizi sonuçları

Dizi analizi sonuçları

- **Klinik ve laboratuvar bulgularının özeti**

- **Genetik danışma**

4.1. Aile L01

4.1.1. Aile L01’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ile sağlıklı babanın ilk gebeliğinden olan kız çocukları 4 yaşında psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, mikrosefali, nöbet öyküsü (generalize tonik-klonik) ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1 P1).

Aile öyküsünde olgunun amcasının hafif mental retardasyonu olduğu ifade edildi (Şekil 4.1).

Antenatal, natal, postnatal öyküsünde özellik yoktu. Gebelik zamanında, normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 3100 g ve boyu 52 cm, doğum baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde (4 yaş) boyu 97,5 cm (25-50p), kilosu 11700 g (3p) ve baş çevresi: 45 cm (<3p; -4; -5SD) idi. Mikrosefali, bitemporal darlık, dolgun yanakların olduğu armut şeklinde dismorfik yüz görünümü mevcuttu (Şekil 4-3). Dar damak yapısı ve retrognatisi, gömük dişleri vardı. Parmakları uca doğru incelmekteydi ve fetal parmak yastıkçıkları bulunmaktaydı. Genital muayenesinde labiyum majör ve minuslar hipoplastik olarak gözlemlendi. Nörolojik muayenesinde hipotonisitesi mevcuttu ve göz kontağı kurulamadı. Derin tendon refleksleri azalmış. Klonus yok. Babinski (-) Diğer sistem muayenelerinde özellik yok.

Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş:7 yaş 6 aylık); kaba devinsel 6 ay, ince devinsel 3 ay, kişisel sosyal 3 ay ve dil 5 ay ile uyumluydu.

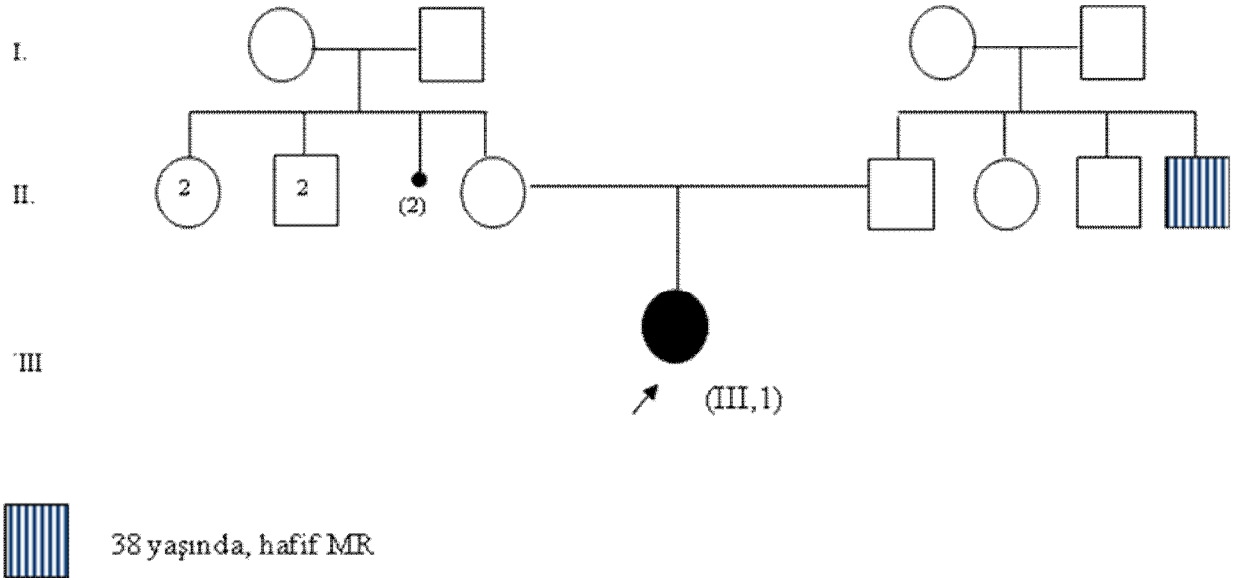
Kraniyal MR değerlendirmesinde sulkus yapılarında silinme ve giruslarda düzleşme izlenmekteydi (Şekil4-2). EEG incelemesinde bilateral frontotemporal bölgede keskin-yavaş dalga aktivitesinin generalize olduğu gözlemlendi.

Kraniyal MR görüntüleri beynin posteriyor bölgesinin daha ağır etkilendiği klasik lizensefali (Grade 2) ile uyumlu bulundu (Dr. J. Gleeson). Ağır psiko-sosyal- motor gerilik, mikrosefali, nöbet öyküsü, dismorfizm ve Grade 2 klasik lizensefali nedeniyle MDS ön tanıda düşünüldü ve çalışma grubuna dahil edildi.

MDS ön tanısıyla kromozom analizi, MDS’ye özgün prob ile FISH analizi (Şekil 4-4) ve P061 kiti ile MLPA analizi (Şekil 4-5) planlandı.

Aile L01

Şekil 4-1 Aile L01'in aile ağacı



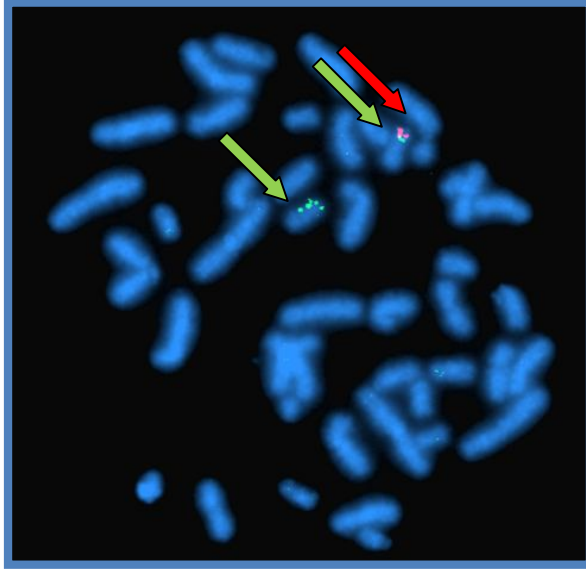
Şekil 4-2: Aile L01'de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü

Beynin posteriyör bölgesinin daha ağır etkilendiği klasik lizensefali (Grade 2) ile uyumlu bulundu.



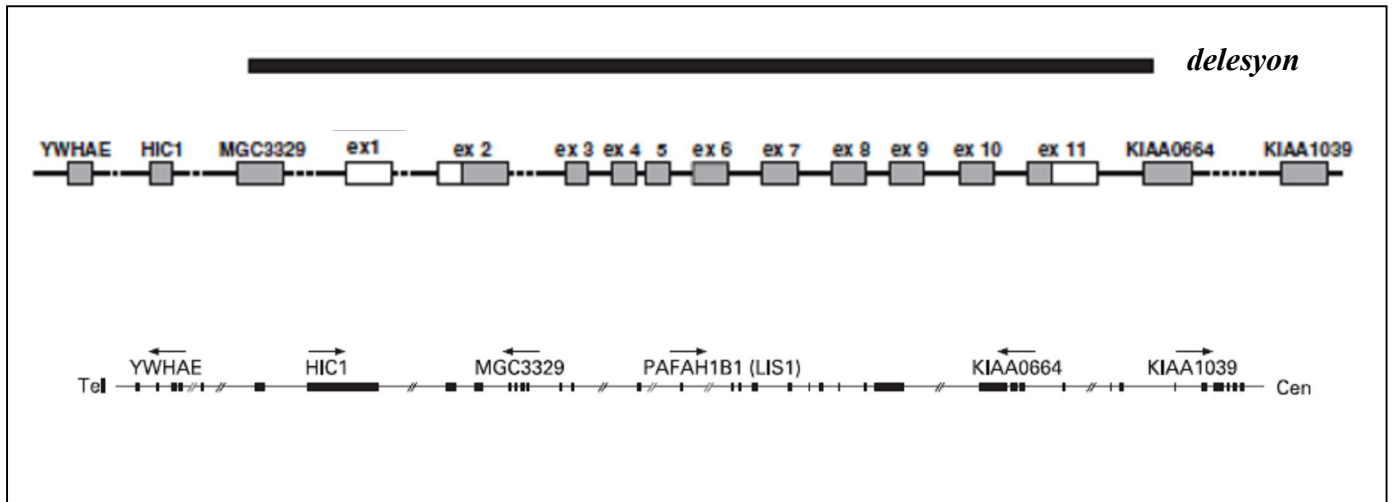
Şekil 4-3 Aile L01'deki etkilenmiş olgu (4 yaş)
(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.1.2. Aile L01'in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-4 Aile L01'deki etkilenmiş olgunun FISH analizi

SMS/MDS/ILS özgün prob (Aquarius-Cytocell) ile yapılan FISH çalışmasında 17. kromozomlardan birisinde MDS bölgesinde sinyal alınmadı.



Şekil 4-5 Aile L01'deki etkilenmiş olgunun MLPA P061 (*Lissencephaly*) kit analiz sonuçları

PAFAH1B1 (*LIS1*) genine komşu genler [telomerik tarafta *METT10D* (*MGC3329*) sentromerik tarafta *KIAA0664*] arası yaklaşık 183,423 bp'lik bir delesyon olduğu saptandı.

4.1.3. Aile L01'in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Ağır psiko-sosyal-motor gerilik, mikrosefali, nöbet öyküsü, dismorfizm ve klasik lizensefali (Grade 2) nedeniyle MDS ön tanıda düşünüldü. Olgumuzun HRBT ile yapılan kromozom analizi normal sonuçlandı. MDS'ye özgün prob ile yapılan FISH analizinde 17p13.3'de delesyon saptandı. Klinik ve radyolojik olarak ön tanıda düşünülen Miller-Dieker Sendromu tanısı kesinleşti.
- ✓ MLPA sonuçları ile *MET10D* geninin ("-" zincirde) 1inci ekzonundan yukarıya doğru 5'promoter bölgesinde ilerleyen, *PAFAH1B1* ("+" zincirde) geninin tamamını ve 25 ekzonlu *KIAA0664* ("-" zincirde) geninin 15-25 ekzonları arasını kapsayan bir delesyonun varlığını ortaya koyarak olguda "*Contiguous gene syndrome*"(ardışık gen sendromu) tanısını kesinlik kazandı.
- ✓ Anne ve babanın kromozom analizi ve MDS'ye özgün prob ile yapılan FISH analizi normal sonuçlandı ve olgumuzun *de novo* ardışık gen sendromu olduğu belirlendi.

MDS tanılı Aile L01'deki olgunun laboratuvar sonuçları	
Karyotip	46,XX
FISH analizi sonucu (Şekil 4-4)	46,XX.ish del(17)(p13.3)(LIS1-)
MLPA analizi sonucu (Şekil 4-5)	46,XX.mlpa 17p13.3(P061)x1

4.1.4. Aile L01'in tanısı ve genetik danışma

- ❖ Olgumuzun *de novo* ardışık gen sendromu olduğunun belirlenmesi nedeniyle aileye gonadal mozaizizm nedeniyle sonraki gebeliklerinde prenatal tanıda fetal kromozom analizi ve MDS'ye özgün prob ile FISH analizi önerildi.
- ❖ Aile olgumuza tanı konulduktan sonra gebelik ile tarafımıza başvurdu. Fetal kromozom ve MDS'ye özgün prob ile FISH analizinde herhangi bir sayısal veya yapısal gros bir anomaliye rastlanmadı ve her iki 17.kromozomun p13.3 bölgesinde normal sinyal alındı. Prenatal tanıda MDS'nin dışlanması ardından gebeliğe devam eden ailenin sağlıklı bir erkek çocuğu olduğu öğrenildi.

4.2. Aile L02

4.2.1. Aile L02’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ve baba, ilk gebeliğinde antenatal dönemde kortikal anomali ve kromozom anomalisi* saptanması üzerine tarafımıza gönderildi.

Laboratuvarımızda tekrarlanan fetal kromozom analizinde 17p13 delesyonu saptanan gebelik, ailenin isteği üzerine 32.GH’da termine edildi. Gebeliğin terminasyonu sonrası etkilenmiş fetus postnatal dönemde polikliniğimizde değerlendirildi (G1 Tıbbi Tahliye 1).

Aile öyküsünde benzer öykü yoktu (Şekil 4-6). Antenatal dönemde ilk kez 28.GH’da MSS anomalisi saptanmış ve 32.GH’da II. düzey ultrasonografide Ventrikülomegali, 3.Ventrikül’de dilatasyon ve korpus kallozum agenezisi (CCA) saptanmıştı. Singular girus, parietookspital ve kalkarin fissürler izlenmemiş ve insular operkulinizasyon yokluğu gözlenmişti. İleri değerlendirme için yapılan fetal Kraniyal MR’da (Şekil 4-7) lizensefali ve CCA tanısı doğrulanmıştı.

32.GH’daki fetüsün postmortem fizik muayenesinde boyu 37,5 cm, kilosu 1220g ve baş çevresi 26 cm (<3p; -2SD ile -3SD) idi. Mikrosefali, bitemporal darlık, hipertelorizm, basık burun ucu, düz filtrum ve dar damağın olduğu dismorfik yüz görünümü mevcuttu (Şekil 4-8). Bilateral klinodaktili ve hokey çizgisi vardı. Haricen erkek görünümündeydi.

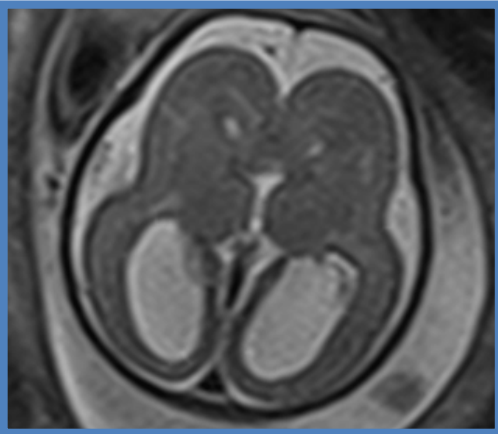
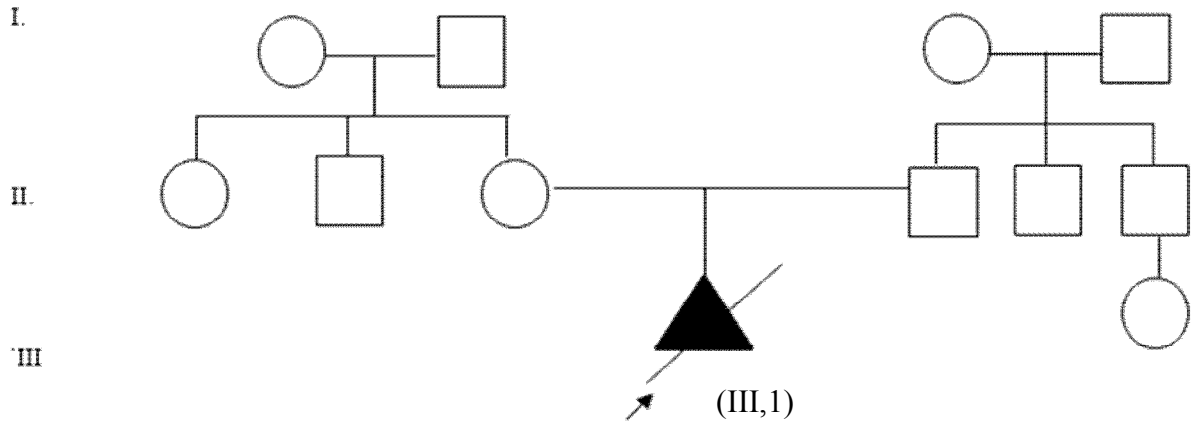
Antenatal fetal karyotip analizi (Şekil 4-9) ve MDS’ye özgün prob ile FISH analizi (Şekil 4-10) ile yapısal kromozom anomalisi (17p13 delesyonu) saptandı.

Mikrosefali, diffüz agiri, CCA, dismorfik yüz görünümü ve 17p13 delesyonu saptanması üzerine MDS tanısı kondu ve çalışma grubuna dahil edildi.

*19 Mayıs Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD laboratuvarı

Aile L02

Şekil 4-6 Aile L02'nin aile ağacı



Şekil 4-7 Aile L02'deki etkilenmiş fetusun

32.GH'daki kraniyal MR görüntüsü

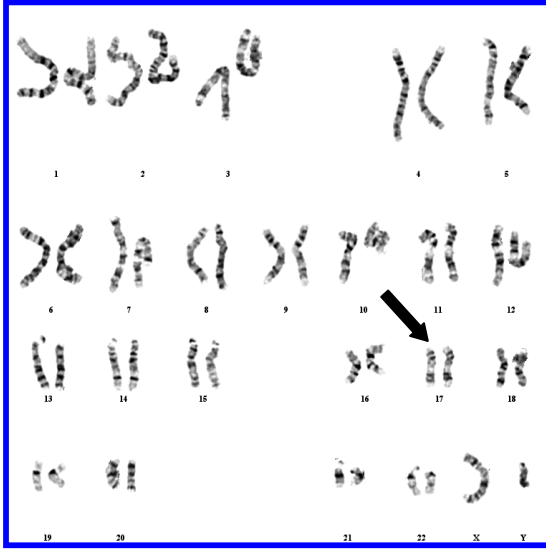
Diffüz agiri ve CCA ile uyumlu bulundu.



Şekil 4-8 Aile L02'deki etkilenmiş fetus (32.GH)

(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.2.2. Aile L02'nin genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



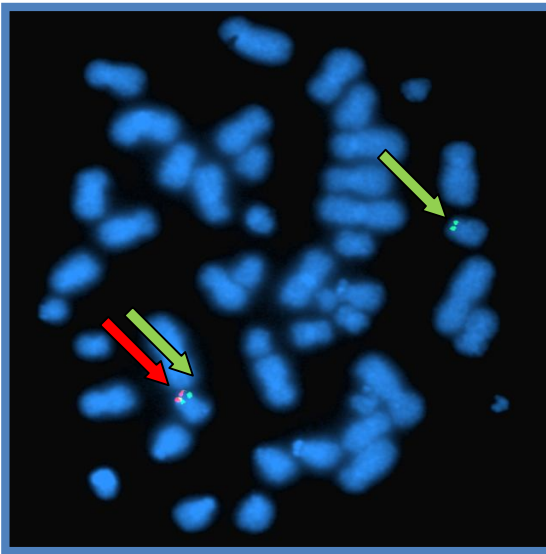
Şekil 4-9 Aile L02'de etkilenmiş fetüsün

karyotip analizi

Kordosentez ile elde edilen fetal kanda yapılan

kromozom analizinde 450-550 band düzeyinde

17. kromozomda delesyon saptandı.



Şekil 4-10 Aile L02'de etkilenmiş fetüsün

MDS FISH analizi

SMS/MDS/ILS özgün prob (Aquarius-

Cytocell) ile yapılan FISH çalışmasında 17.

kromozomlardan birinde MDS bölgesinde

sinyal alınmadı.

4.2.3. Aile L02'nin klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Olgumuz antenatal dönemde kortikal anomali ve kromozom anomalisi saptanması üzerine tarafımıza gönderilmişti.
- ✓ Laboratuvarımızda tekrarlanan karyotip analizi (Şekil 4-9) ve MDS'ye özgün FISH analizi (Şekil 4-10) ile 17p13 delesyonu belirlendi. Diffüz agiri, CCA, dismorfik yüz görünümü ve 17p13 delesyonu saptanması üzerine MDS tanısı kondu ve çalışma grubuna dahil edildi.

Miller-Dieker Sendromu tanılı Aile L02'deki olgunun sonuçları	
Karyotip (Şekil 4-9)	46,XY,del(17)(p13.3p13.3?)
MDS'ye özgün prob ile	46,XY,del(17)(p13.3p13.3?).ish
FISH analizi (Şekil 4-10)	del(17)(p13.3p13.3)(LIS1-)

4.2.4. Aile L02'nin tanısı ve genetik danışma

- ❖ Olgumuzda 17p13 delesyonu saptanmıştı. Anne ve babada olası translokasyonu dışlamak için parental kromozom analizi önerildi. Aile karyotip analizi için tarafımıza başvurmadi.
- ❖ Sonraki gebeliklerinde prenatal tanıda fetal kromozom ve MDS'ye özgün prob ile FISH analizi önerildi.

4.3. Aile L03

4.3.1. Aile L03’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

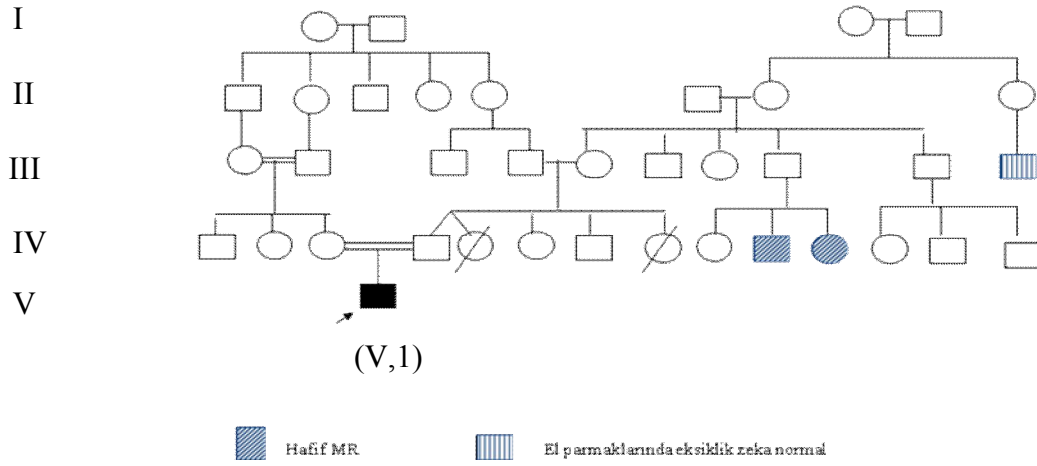
Aralarında 2 ° kuzen evliliği bulan sağlıklı anne ve babanın ilk gebeliğinden olan erkek çocukları 20 aylıkken psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, mikrosefali, kortikal anomali, bilateral yarık el anomali, KKH, renal anomali ve dismorfik yüz görünümü nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1). Ailede baba tarafında ekstremite anomali ve mental retardasyonu olan bireylerin olduğu belirtildi (Şekil 4-11). Antenatal, natal, postnatal öyküsünde özellik yoktu. Gebelik zamanında sezaryen (prezantasyon anomali) ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 3000 g ve boyu 47 cm, doğum baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde (20 aylık) boyu 78 cm (3-10p), kilosu 8580 g (<3 p; 9 ay ile uyumlu) ve baş çevresi 43,5 cm (<3 p; -3;-4SD) idi. Bitemporal darlık, glabella hizasında kapiller hemanjiyom, düz kaş yapısı, sağda minimal epikantus, hipertelorizm, mavi sklera, küçük burun yapısı, basık burun ucu, kısa kolumella, düz filtrum, küçük bir ağız yapısı, yüksek ve dar damak, küçük ve sık yerleşimli dişler, 1. ve 2. dişlerinin üstünde ilave diş yapısı (meziodens), sol yüz yarısında hipertrofi, dolgun yanaklar, sivri çene, düşük belirgin/arkaya dönük kulakların olduğu dismorfik yüz görünümü (Şekil 4-13) vardı. Bilateral yarık el deformitesi, kriptorşidizm ve bilateral inguinal hernisi mevcuttu. Nörolojik muayenesinde hipotonisitesi vardı. Baş kontrolü yoktu. Stereotipik olarak ellerini, kollarını ve bacaklarını sallama hareketleri gözlemlendi. Diğer sistem muayenelerinde özellik yoktu.

Kraniyal MR değerlendirmesinde frontal agiri/pakigiri saptanmıştı (Şekil 4-12). BAEP’te bilateral bulbopontin ileti yavaşlaması ve VEP’te ön görsel yollarda ileti yavaşlaması, ekokardiyografi değerlendirmesinde sol ventrikülde *non-compaction*, sol ventrikül arka duvarında ve apekte trabekülasyon artış saptanmıştı. Renal USG’da sağ böbrek iri ve sol böbrekte rotasyon anomali izlenmişti ve kortikomedüller diferansiyasyon azalmış olarak değerlendirilmişti. Kraniyal MR görüntülemeleri frontal pakigiri ile uyumlu bulundu. Lizenefali derecelendirilmesi yapılamadı (Dr. J. Gleeson). Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş: 5 yaş 6 aylık); kaba devinsel 5 ay, ince devinsel 3 ay, kişisel sosyal 3 ay ve dil 6 ay ile uyumluydu. Ağır psiko-sosyal motor gelişme geriliği, mikrosefali ve frontal pakigiriye dismorfizm, KKH, renal anomali ve bilateral yarık el anomali eşlik etmesi nedeniyle çalışma grubuna dahil edildi ve MKA/MR grubunda değerlendirildi. Öncelikle submikroskopik yeniden düzenlenmelerin moleküler sitogenetik yöntemler [SNP-array (Şekil 4-14, 4-15) ve FISH analizi (Şekil 4-16, 4-17,4-18)] ile dışlanması planlandı.

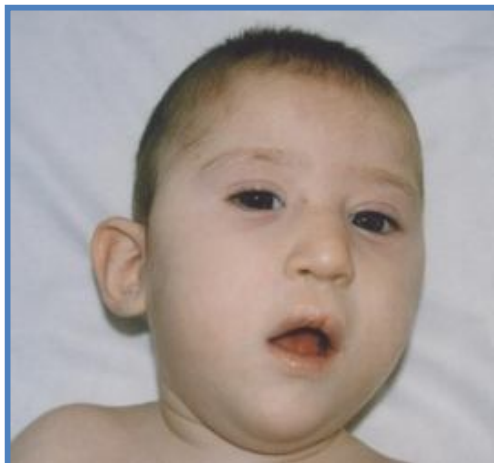
Aile L03

Şekil 4-11 Aile L03'ün aile ağacı



Şekil 4-12 Aile L03'de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü

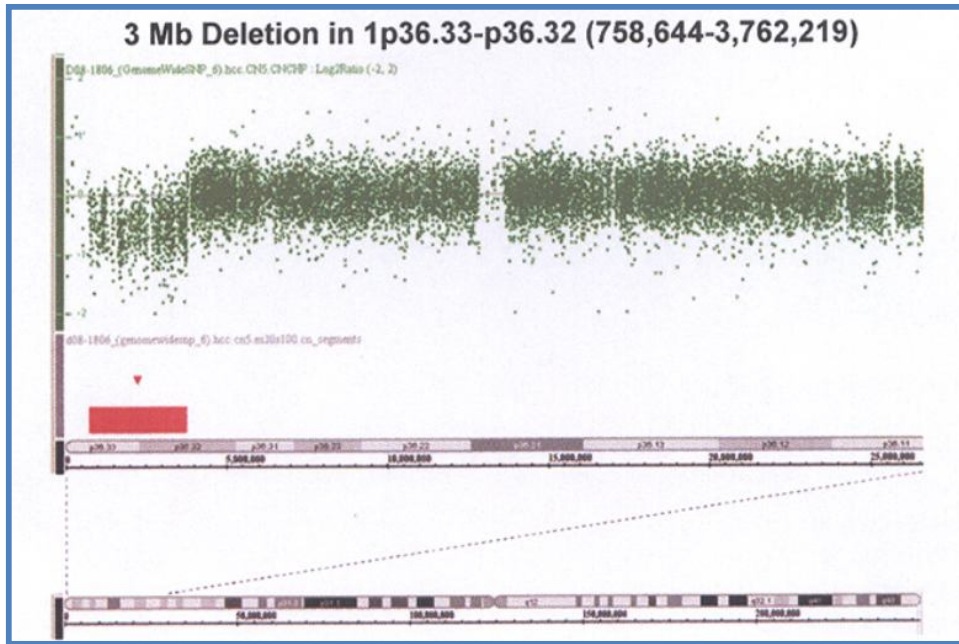
Frontal pakigiri ile uyumlu bulundu.



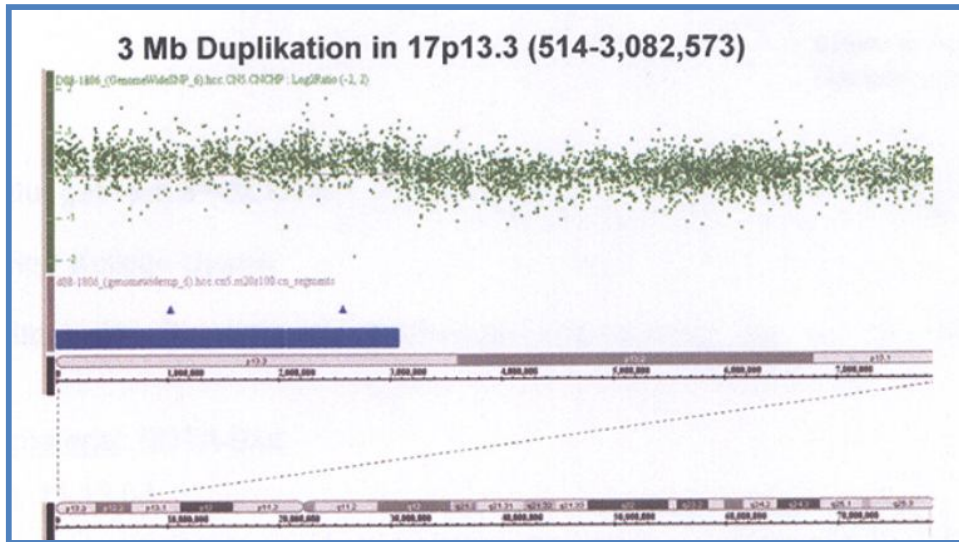
Şekil 4-13 Aile L03'deki etkilenmiş olgu (20 aylık)

(İTF Tıbbi Genetik Anabilim Dalı arşivi)

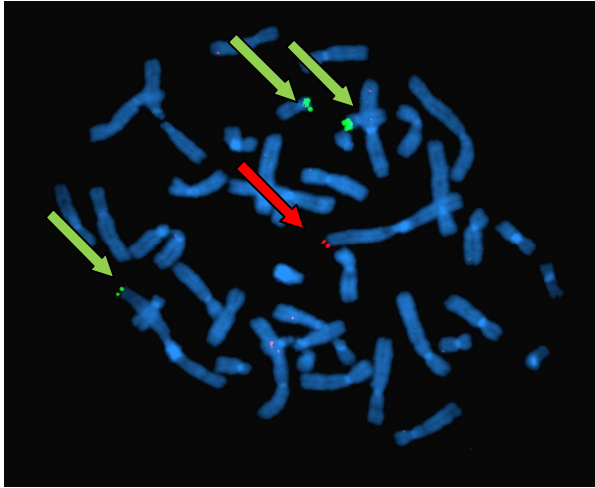
4.3.2. Aile L03'ün genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-14 Aile L03'de etkilenmiş olgunun SNP-array analiz sonuçları (I)
1p36.33-p36.32'de 3 Mb delesyon

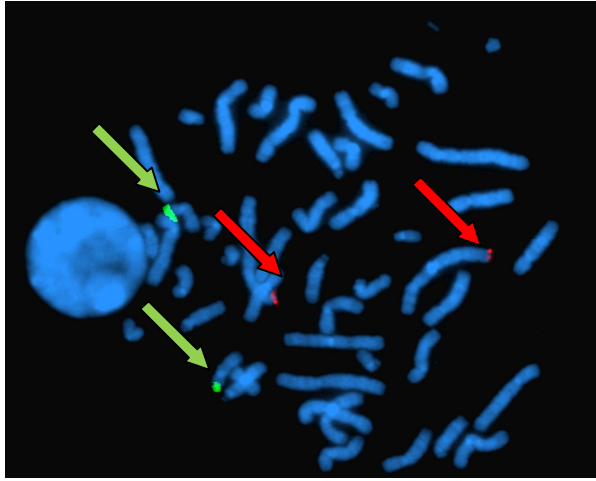


Şekil 4-15 Aile L03'de etkilenmiş olgunun SNP-array analiz sonuçları (II)
17p13.3'de 3 Mb duplikasyon



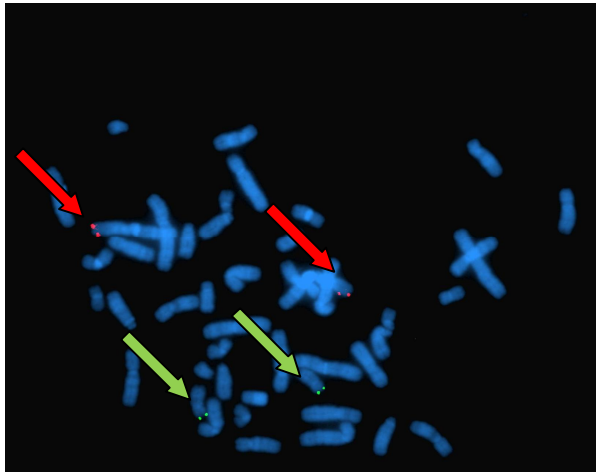
Şekil 4-16 Aile L03’de etkilenmiş olgunun FISH analizi

1.ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün probler ile yapılan FISH çalışmasında **1.kromozomun subtelomer bölgesi için parsiyel monozomi** ve **17.kromozomun p subtelomer bölgesi için parsiyel trizomi** saptandı.



Şekil 4-17 Aile L03’de etkilenmiş olgunun annesinin FISH analizi

1.ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün probler ile yapılan FISH çalışmasında her iki kromozomun subtelomer bölgesinde normal sinyal alındı.



Şekil 4-18 Aile L03’de etkilenmiş olgunun babasının FISH analizi

1.ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün probler ile yapılan FISH çalışmasında her iki kromozomun subtelomer bölgesinde normal sinyal alındı.

4.3.3. Aile L03'ün klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Ağır psiko-sosyal motor gelişme geriliği, mikrosefali, frontal pakigiri, dismorfizm, KKH, renal anomali ve bilateral yarı el anomali olması nedeniyle MKA/MR grubunda değerlendirildi ve öncelikle submikroskopik yeniden düzenlenmelerin moleküler sitogenetik yöntemler dışlanması planlandı.
- ✓ Olgunun HRBT tekniği ile yapılan kromozom analizinde herhangi bir sayısal veya yapısal gros bir anomaliye rastlanmadı.
- ✓ MKA/MR grubunda değerlendirilen olguya Universitätsklinikum Schleswig Holstein'de Affymetrix 6.0 Chip kullanılarak yapılan SNP-array çalışmasında Aile L03'de etkilenmiş olgunun 1.kromozomunun p subtelomer bölgesi için 3 Mb büyüklüğünde delesyon (Şekil 4-14) , 17.kromozomunun p subtelomer bölgesi için ise 3 Mb büyüklüğünde bir duplikasyon (Şekil 4-15) saptandı.
- ✓ SNP-array'de elde edilen bu sonucu konfirme etmek amacıyla 1. ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün probler kullanıldı. FISH çalışmasında 1.kromozomun p subtelomer bölgesi için parsiyel monozomi, 17.kromozomun p subtelomer bölgesi için parsiyel trizomi saptandı (Şekil 4-16).
- ✓ SNP-array'de ve subtelomer FISH çalışmaları ile olgumuzda 1p36.3 delesyon sendromu ve *LIS1* genini içeren 17p13.3 duplikasyonu kesinleşti.
- ✓ Anne ve babanın subtelomerik FISH ve HRBT tekniği ile yapılan kromozom analizleri (Şekil 4-17) normal sonuçlanarak olgumuzun *de novo* kromozom anomali olduğu belirlendi.

Pakigiri tanılı Aile L03'deki olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XY
SNP-array analizi (Şekil 4-14 ve 4-15)	46,X/Y.ish der(1) t(1;17)(p36.3-,p13.3+)(CEB108-,D17S2199+)dn.arr1p36.33-p36.32(758.644-3.762.219)x1,17p13.3(514-3.082.573)x3
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi (Şekil 4-16,4-17 ve 4-18)	46,XY.ish der(1) t(1;17)(p36.3-,p13.3+)(CEB108-,D17S2199+)dn

4.3.4. Aile L03'ün tanısı ve genetik danışma

- ✓ Olgumuzdaki yüz dismorfizmi (bitemporal darlık, düz kaş yapısı, küçük burun yapısı, basık burun ucu, kısa kolumella, düz filtrum, küçük bir ağız yapısı, yüksek ve dar damak, dolgun yanaklar, sivri çene), KKH (sol ventrikülde *non-compaction*) ve renal anomali (rotasyon anomalisi) 1p36 delesyon sendromu ile frontal pakigiri 17p13 duplikasyonu ile ilişkilendirildi.
- ✓ Olgumuzdaki yarık el anomalisi 1p36 delesyonu ve 17p duplikasyonu ile ilişkilendirilememiştir. 17p13 bölgesi otozomal dominant kalıtılan Yarık El/Ayak sendromu ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen etiyopatogeneze sorumlu gen henüz tanımlanmamıştır. Bu nedenle olgumuzdaki Yarık el anomalisinin etiyolojisi aydınlatılamamıştır.
- ✓ Aileye olgunun *de novo* kromozom anomalisi olduğu anlatıldı. Olası gebeliklerinde gonadal mozaizm riski nedeniyle fetal kromozom analizi ve subtelomerik FISH önerildi. Aile 2. gebeliğinde prenatal tanıyı reddettiği için tarafımıza başvurmadı.

4.4. Aile L04

4.4.1. Aile L04’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ve babanın ilk gebeliğinden olan erkek çocukları 2 yaş 2 aylıkken psiko-sosyal-motor gerilik ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1).

Ailede benzer öykü yoktu (Şekil 4-19).

Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik yoktu. Gebelik zamanında, normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 2900 g, doğum boyu ve baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde boyu 93 cm (90p), kilosu 13200 g (50-75p) ve baş çevresi 50,2 cm (50-75p) idi. Düz alın yapısı, düz oksiput düzleşme, minimal epikantus mevcuttu (Şekil 4-21). Nörolojik sistem muayenesinde göz kontağı ve yabancı yadırgaması vardı. Piramidal ve ekstrapiramidal sistem muayenesinde özellik yoktu. Diğer sistem muayeneleri normaldi.

Nöromotor gelişiminde başını 9 aylıkken tutmuş, 11 aylıkken desteksiz oturmuş, 1,5 yaşında sıralamaya başlamış, 2 yaşında yürümüş. 2 yaşında hecelemeye başlamıştı. Nöbet öyküsü yoktu. Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş 2 yaş 2 aylık); kaba devinsel 12 ay, ince devinsel 16 ay, dil 14 ay ve kişisel sosyal 14 ay ile uyumlu bulundu.

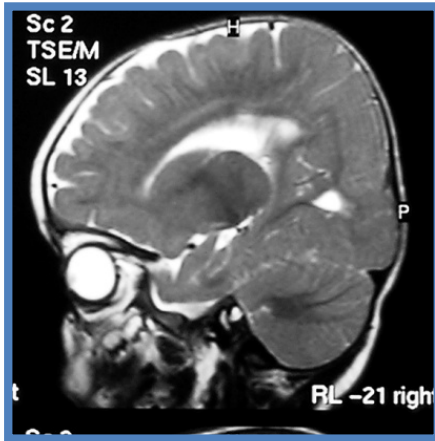
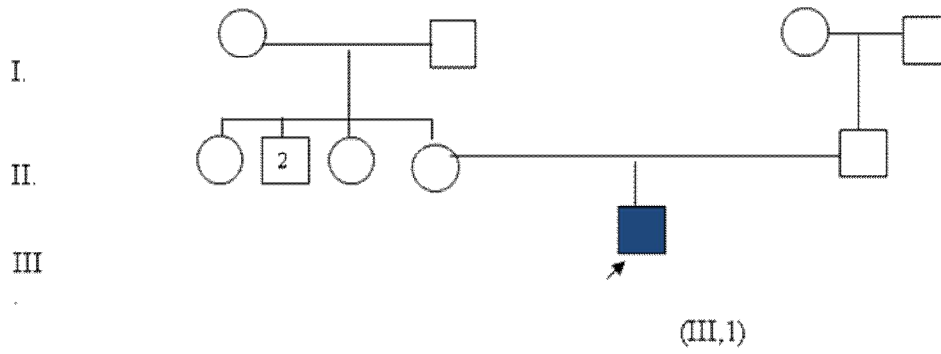
Kraniyal MR’nda korpus kallozum hipoplazisi ve posteriyor pakigiri saptandı (Şekil 4-20) .

Psiko-sosyal-motor gerilik, korpus kallozum hipoplazisi ve posteriyor pakigiri nedeniyle ILS grubuna dahil edildi.

İzole Lizenfali Sekansı (ILS) ve korpus kallozum hipoplazisi tanısıyla sırasıyla kromozom analizi, MDS’ye özgün prob ile FISH analizi, sırasıyla *TUBA1A*, *ARX*, *LIS1*, *YWHAE* ve *DCX* genlerinin incelenmesi planlandı.

Aile L04

Şekil 4-19 Aile L04'ün aile ağacı



Şekil 4-20 Aile L04'de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü

Korpus kallozum hipoplazisi ve posteriyor pakigiri (Grade 4) ile uyumlu bulundu.



Şekil 4-21 Aile L04'de etkilenmiş olgu (2 yaş 2 aylık)
(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.4.2. Aile L04'ün genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları

ILS tanı Aile L04'deki etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XY
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	46,XX ish 17p13.3(LIS1x2)
MLPA analizi MRC-Holland SALSA İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı MLPA P061-B1- <i>Lissencephaly</i> kiti	
<i>TUBA1A</i> geni dizi analizi	Değişiklik saptanmadı.
<i>ARX</i> geni dizi analizi	Değişiklik saptanmadı.
<i>DCX</i> geni dizi analizi	3'ucunda homozigot polimorfizm (rs5943149)
<i>LIS1</i> geni dizi analizi	intron 6'da homozigot polimorfizm (rs3213696).
<i>YWHAE</i> geni dizi analizi	intron 3' de heterozigot polimorfizm (rs55734488)

4.4.3. Aile L04'ün klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Psiko-sosyal-motor gerilik, korpus kallozum hipoplazisi ve posteriyor pakigiri nedeniyle ILS grubuna dahil edildi.
- ✓ Olgumuzun kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Kraniyal MR bulgularında posteriyor pakigiriye eşlik eden korpus kallozum agenezisi (CCA) olması nedeniyle öncelikle *TUBA1A* geninin kodlayan bölgeleri dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ CCA olması nedeniyle *ARX* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.

- ✓ Daha sonra posteriyor bölgenin daha belirgin etkilenmesi göz önüne alınarak *LIS1* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ Erkek olgularda lizensefaliye neden olduğu için *DCX* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ MDS’de *LIS1* geni ile birlikte delesyona uğrayan fenotip üzerinde modifiye edici etkisi olan aday gen yaklaşımı ile *YWHAE* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ MLPA yöntemi ile *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genleri, *DCX* geni delesyon ve duplikasyon amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon ve duplikasyon saptanmadı.

4.4.4. Aile L04’ün tanısı ve genetik danışma

- ❖ Olgumuzda lizensefaliye neden olan etiyopatogenez aydınlatılamadı. Aileye antenatal dönemde ultrasonografi izlemi ile lizensefalinin geç gebelik haftalarında (28-32.GH) ve kraniyal MR konfirmasyonu sonrası tespit edilebileceği anlatıldı.

4.5. Aile L05

4.5.1. Aile L05’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ve babanın ilk gebeliğinden olan erkek çocukları 19 aylıkken psiko-sosyal-motor gerilik, mikrosefali, EEG anomalisi ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1). Ailede benzer öykü yoktu (Şekil 4-22).

Antenatal 28. GH’da II. düzey ultrasonografide arka fossa anomalisi saptanarak ileri test önerilmiş. Ancak aile gebelik izlemine devam etmemiş. Gebelik zamanında, normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 2900 g, doğum boyu ve baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde (19 aylık) boyu 81 cm (25-50p), kilosu 9760 g (10-25p) ve baş çevresi 44 cm ($<3p;-2;-3SD$) idi. Plagiobrakisefali dışında belirgin bir dismorfizm yoktu (Şekil 4-24). Hipoplastik skrotum dışında sistem muayenelerinde özellik yoktu. Nörolojik sistem muayenesinde hipotonisite saptandı. Göz kontağı mevcut idi. Baş kontrolü yok. Derin tendon refleksleri alt ve üst ekstremitelerde canlı, klonus yoktu ve babinski negatifti. Diğer sistem muayenelerinde özellik yoktu.

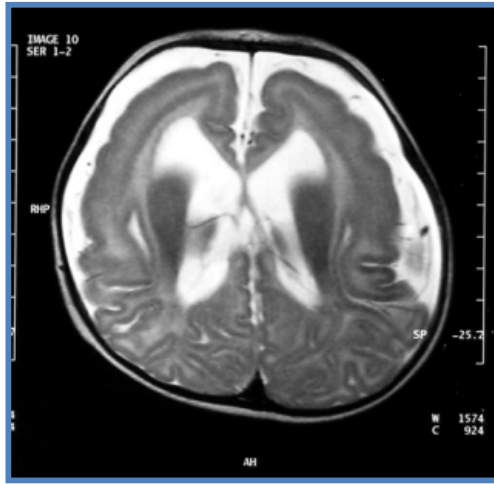
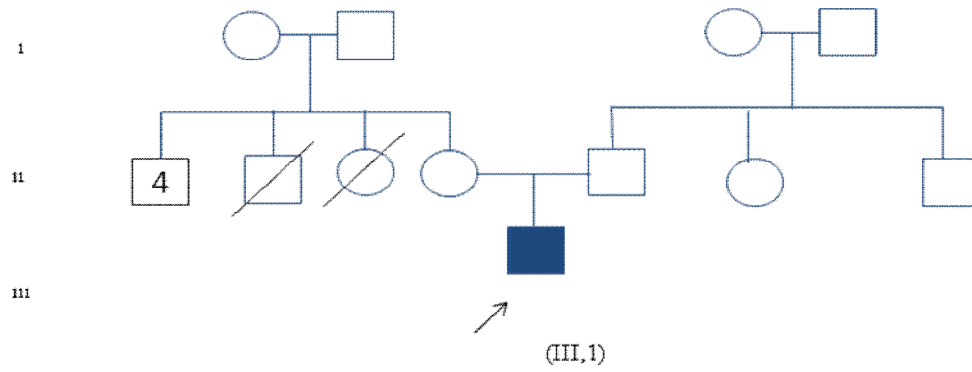
Nöromotor gelişiminde 19 aylıkken başını halen tutamadığı gözlemlendi. Anlamlı ses ve heceleme yoktu. 1 yaşında orşiopeksi operasyonu öyküsü mevcuttu. Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş 11 ay); kaba devinsel 1 ay, ince devinsel 1 ay, dil 3 ay ve kişisel sosyal 3 ay ile uyumluydu.

Kraniyal MR’nda korpus kallozum agenezisi ve anterior pakigiri saptandı (Şekil 4-23). Psiko-sosyal-motor gerilik, mikrosefali, kriptorşidizm, korpus kallozum agenezisi ve anterior pakigiri nedeniyle ILS grubuna dahil edildi.

İzole Lizenfali Sekansı korpus kallozum agenezisi ve kriptorşidizm olması nedeniyle sırasıyla kromozom analizi, 17p13 MDS’ye özgün prob ile FISH analizi *ARX*, *DCX*, *LIS1*, *YWHAE* *TUBA1A* genlerinin dizilenmesi planlandı.

Aile L05

Şekil 4-22 Aile L05'in aile ağacı



Şekil 4-23 Aile L05'de etkilenmiş olgunun
kraniyal MR görüntüsü

Korpus kallozum agenezisi ve anterior
pakigiri (Grade 4) ile uyumlu bulundu.



Şekil 4-24 Aile L05'de etkilenmiş olgu (19 aylık)

(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.5.2. Aile L05'in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları

ILS tanılı Aile L05'de etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XY
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	46,XX ish 17p13.3(LIS1x2)
MLPA analizi MRC-Holland SALSA MLPA P061-B1- <i>Lissencephaly</i> kiti	İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı
ARX geni dizi analizi	Değişiklik saptanmadı
LIS1 geni dizi analizi	intron 6'da homozigot polimorfizm (rs3213696).
DCX geni dizi analizi	3'ucunda homozigot polimorfizm (rs5943149).
TUBA1A geni dizi analizi	ekzon 1'de heterozigot polimorfizm (rs1039225); ekzon 3'de heterozigot polimorfizm (rs1056875A>G), ekzon 2'de heterozigot polimorfizm (rs697624).
YWHAE geni dizi analizi	intron 3'de heterozigot polimorfizm (rs55734488).

4.5.3. Aile L05'in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Psiko-sosyal-motor gerilik, mikrosefali, kriptorşidizm, korpus kallozum agenezisi ve anterior pakigiri nedeniyle ILS grubuna dahil edildi.
- ✓ Olgumuzun kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Kraniyal MR bulgularında anterior pakigiriye eşlik eden korpus kallozum agenezisi (CCA) ve genital bulguları (kriptorşidizm) olması nedeniyle öncelikle *ARX* geninin kodlayan bölgeleri dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ Daha sonra anterior bölgenin daha belirgin etkilenmesi olması ve olgunun erkek olması nedeniyle *DCX* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ Lizenfali ile ilişkilendirilen diğer genler -*LIS1* ve *TUBA1A*- dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ *LIS1* geni ile birlikte delesyona uğrayan fenotip üzerinde modifiye edici etkisi olan *YWHAE* geni aday gen yaklaşımı ile dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ MLPA P061 kiti kullanılarak *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genleri, *DCX* geni delesyon ve duplikasyon amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon ve duplikasyon saptanmadı.

4.5.4. Aile L05'in tanısı ve genetik danışma

- ❖ Olgumuzda lizenfaliye neden olan etiyopatogenez aydınlatılamamıştır. Aileye antenatal dönemde ultrasonografi izlemi ile lizenfalinin ve CCA!'nın geç gebelik haftalarında (28-32.GH) ve kraniyal MR konfirmasyonu sonrası tespit edilebileceği anlatıldı.

4.6. Aile L06

4.6.1. Aile L06’da etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ve babanın ikinci gebeliğinden olan kız çocukları, 2 yaşındayken psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, mikrosefali, nöbet öyküsü (generalize tonik-klonik)ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirilmişti (G4P4) .

Ailede benzer öykü yoktu (Şekil 4-25).

Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik olmayan gebelik, zamanında normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 2720g idi, doğum boyu ve baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde (2 yaş) boyu 83 cm (3-10p), kilosu 10800g (3-10p) ve baş çevresi: 43 cm (<3p; -4;-5SD) idi. Belirgin alın, midfasial hipoplazi, hipertelorizm, ince üst dudak ve yüksek damağın olduğu dismorfik yüz görünümü mevcuttu (Şekil 4-27). Sistem muayenelerinde özellik saptanmadı. Nörolojik sistem muayenesinde hipotonisitesi mevcuttu. Desteksiz oturamıyordu. Göz kontağı, anlamlı ses çıkarma ve heceleme yoktu.

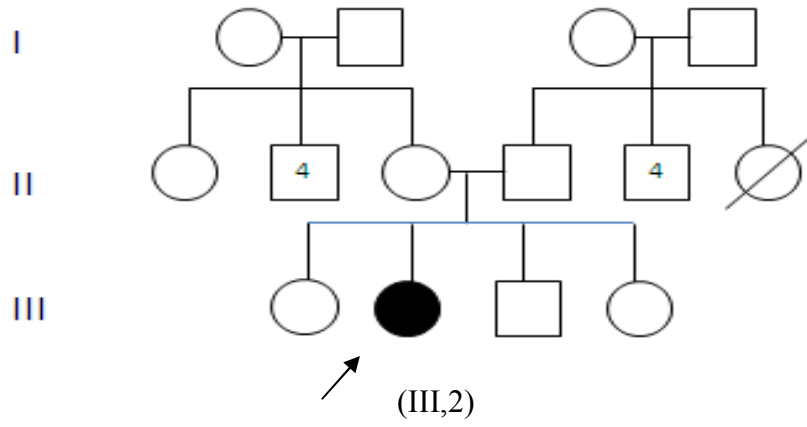
Nöromotor gelişiminde başını 1 yaşında tuttuğu, desteksiz oturmaya 5 yaşında başladığı öğrenildi. Anlamlı kelime söylemiyor. Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş: 16 yaş); kaba devinsel 8 ay, ince devinsel 5 ay, dil 6 ay ve kişisel sosyal 5 ay ile uyumlu bulundu.

Kraniyal MR değerlendirmesinde posteriyor bölgenin belirgin etkilendiği anterior pakigiri/ posterior agiri (Grade 3) ile uyumlu bulundu (Dr.J.Gleeson) ve ILS grubuna dahil edildi (Şekil 4-26).

Posteriyor tutulumun daha belirgin olması üzerine *LIS1* geninin dizilenmesi planlandı (Şekil 4-28). Kromozom analizi ve MDS’ye özgün prob ile FISH analizi yapıldı.

Aile L06

Şekil 4-25 Aile L06'un aile ağacı



Şekil 4-26 Aile L06'da etkilenmiş olgunun

kraniyal MR görüntüsü

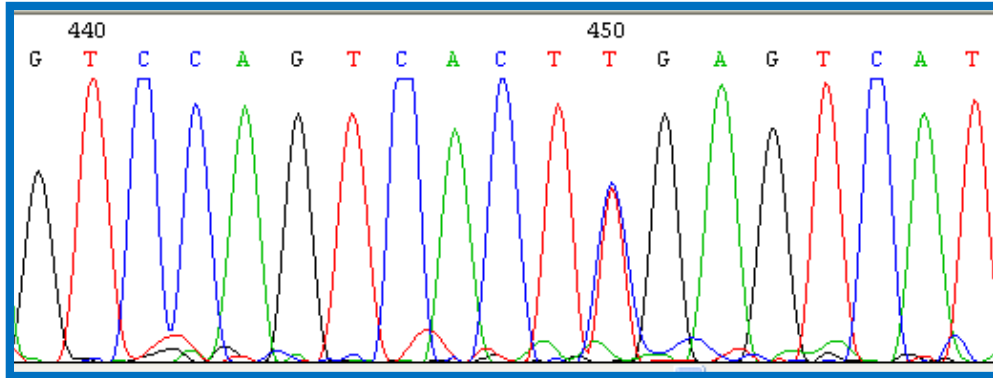
Anteriyor pakigiri/posteriyor agiri (Grade 3) ile uyumlu bulundu.



Şekil 4-27Aile L06'da etkilenmiş olgu (2 yaş)

(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.6.2. Aile L06'nın genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-28 Aile L06'da etkilenmiş olgunun *LIS1* geni dizi analizi sonucu

LIS1 geninin 5.ekzonunda heterozigot p.R113X mutasyonu saptandı.

ILS tanı Aile L06'daki etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XX
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	46,XX ish 17p13.3(<i>LIS1</i> x2)
<i>LIS1</i> geni dizi analizi (Şekil 4-28)	ekzon 5'de heterozigot c.C337T (p.R113X; CGA>TGA) mutasyonu

4.6.3. Aile L06'nın klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Olgumuzda kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Olgumuzun posteriyorda daha belirgin olan lizensefali olması nedeniyle öncelikle *LIS1* geni dizilendi.
- ✓ *LIS1* geninde 5.ekzonda heterozigot p.R113X mutasyonu saptandı (Şekil 4-28).

4.6.4. Aile L06'nın tanısı ve genetik danışma

- ❖ *LIS1* geninde heterozigot p.R113X mutasyonu saptanarak lizensefaliye neden olan etiyopatogenezi aydınlatıldı.
- ❖ Anne ve babanın da *LIS1* geninde olgumuzda saptanan mutasyon için dizilenmesi planlandı.

4.7. Aile L07

4.7.1. Aile L07’de etkilenmiş bireyin klinik bulguları

Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ve babanın ilk gebeliğinden olan erkek çocukları 1 yaşındayken sınır psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1) .

Ailede benzer öykü yoktu (Şekil 4-29).

Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik olmayan gebelik zamanında isteğe bağlı sezaryen ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 3850 g, doğum boyu 51cm ve doğum baş çevresi 36,5 cm.

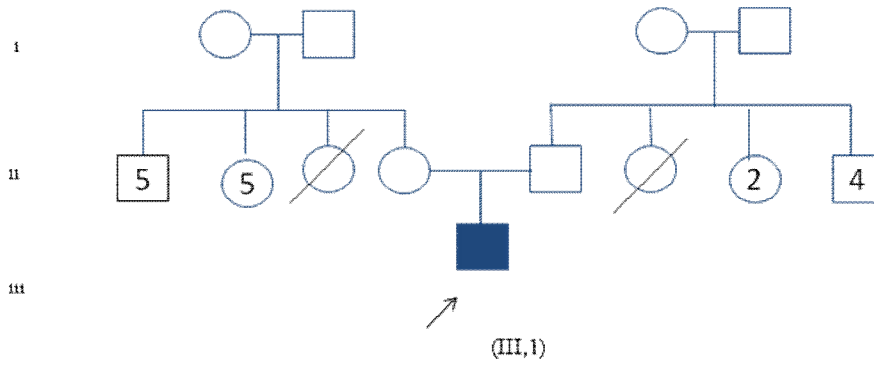
Fizik muayenesinde boyu 80 cm (90-97p), kilosu 11170g (75-90p) ve baş çevresi: 46,2 cm (25-50p) idi. Yüzde belirgin dismorfizmi yoktu (Şekil 4-31). Sistem muayenelerinde özellik izlenmedi. Nörolojik sistem muayenesinde tonus normaldi. Göz kontağı ve izlemi mevcuttu. Sol gözde nistagmusu vardı. Kraniyal sinirler intakttı. Piramidal ve ekstrapiramidal sistem muayenesinde özellik yoktu.

Nöromotor gelişiminde başını 3 aylıkken tuttuğu, desteksiz oturmaya 9 aylıkken başladığı, 11 aylıkken tutunarak ayakta durduğu ve hecelelemeye 12 aylıkken başladığı öğrenildi. Denver II Gelişim Testi’nde (kronolojik yaş: 22ay); kaba devinsel 10 ay, ince devinsel 11 ay, kişisel sosyal 12 ay ve dil 12 ay ile uyumluydu.

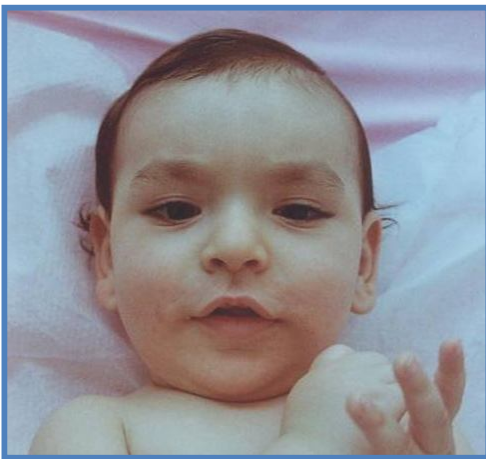
EKO incelemesinde VSD (ventriküler septal defekti, perimembranöz küçük), VSA (Ventriküler septal anevrizma) ve PFO (patent foramen ovale) saptandığı öğrenildi.

Kraniyal MR değerlendirmesinde beynin posteriyor bölgesinin daha belirgin olarak etkilendiği pakigiri izlendi (Dr.J.Gleeson) ve lizensefali çalışma grubuna dahil edildi (Şekil 4-30).

Posteriyor tutulumun daha belirgin olması üzerine *LIS1* geninin öncelikle dizilenmesi planlandı (Şekil 4-32). Kromozom analizi ve MDS’ye özgün prob ile FISH analizi yapıldı.

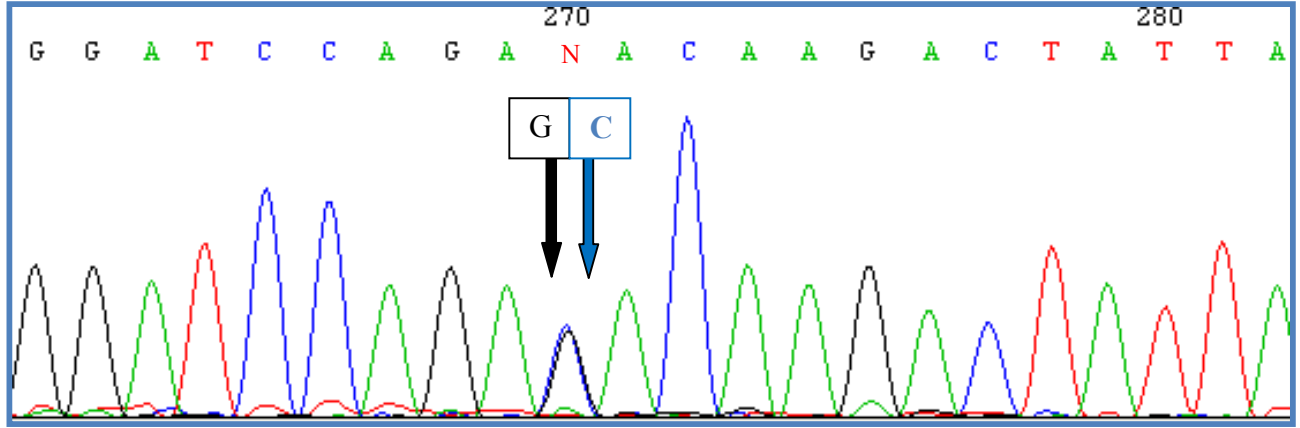
Aile L07**Şekil 4-29 Aile L07'nin aile ağacı****Şekil 4-30 Aile L07'de etkilenmiş olgunun****kraniyal MR görüntüsü**

Posterioriyorda daha belirgin pakigiri (Grade 4) ile uyumlu bulundu.

**Şekil 4-31 Aile L07'de etkilenmiş olgu (1 yaş)**

(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.7.2. Aile L07'nin genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-32 Aile L07’de etkilenmiş olgunun *LIS1* gen dizi sonucu

LIS1 geninin 6.intronunda homozigot polimorfizm (rs3213696) ve 3’ UTR bölgesinde heterozigot polimorfizm (rs6628), ayrıca 9.ekzonda heterozigot yanlış anlamli tipine neden olan bir nokta mutasyonu, c.G1517C (p.asp317his) saptandı.

ILS tanı Aile L07’deki etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XY
MDS’ye özgün prob ile FISH analizi	46,XY ish 17p13.3(LIS1x2)
<i>LIS1</i> geni dizi analizi (Şekil 4-39)	intron 6’da homozigot polimorfizm (rs3213696). ekzon 9’da heterozigot c.G1517C (p.asp317his) mutasyonu

4.7.3. Aile L07'nin klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Olgumuzda kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Olgumuzun posteriyorda daha belirgin olan lizensefalisi olması nedeniyle öncelikle *LIS1* geni dizilendi.
- ✓ *LIS1* geninde 9.ekzonda heterozigot c.G1517C (p.asp317his) mutasyonu saptandı (Şekil 4-32).
- ✓ Anne ve babanın aynı mutasyonu taşımadığı belirlenerek, olgumuzun *de novo* olduğu belirlendi.

4.7.4. Aile L07'nin tanısı ve genetik danışma

- ❖ *LIS1* geninde heterozigot c.G1517C (p.asp317his) mutasyonu saptanarak lizensefaliye neden olan etiyopatogenez aydınlatıldı.
- ❖ Aile gebelik ile tarafımıza başvurdu ve gonadal mozaizizm riski nedeniyle fetal DNA'da *LIS1* genine özgün mutasyon analizi moleküler analiz önerildi. Fetüsün olgumuzla aynı mutasyonu taşımadığı belirlendi ve gebeliğin devamı önerildi.

4.8. Aile L08

4.8.1. Aile L08’de etkilenmiş olgunun klinik bulguları

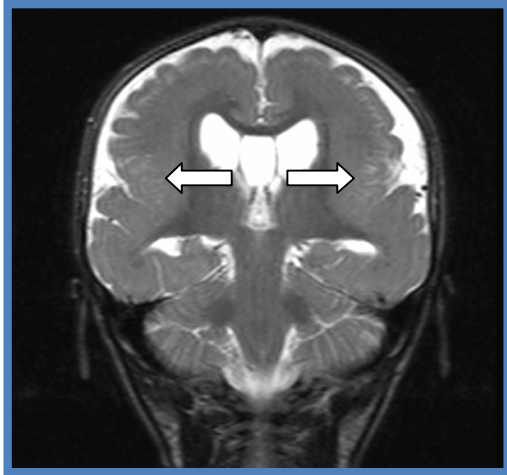
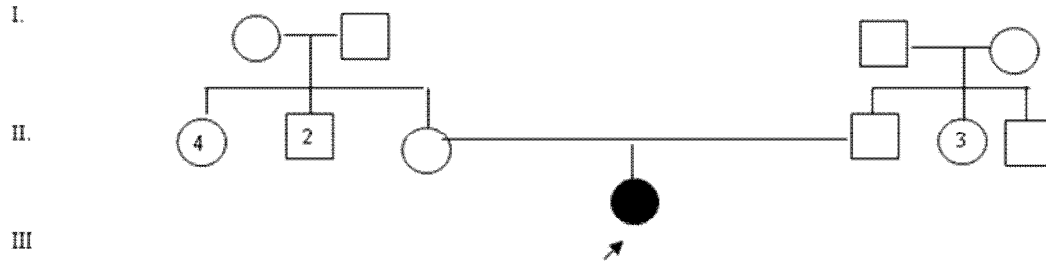
Aralarında akrabalık olmayan sağlıklı anne ile sağlıklı babanın ilk gebeliğinden olan kız çocukları 18 aylıkken sağ gözde nistagmus, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1).

Ailede benzer öykü yoktu (Şekil 4-33). Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik olmayan gebelik zamanında isteğe bağlı sezaryen ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 4020 g, doğum boyu 54cm ve doğum baş çevresi 35 cm (25-50p).

Fizik muayenesinde (18 aylık) boyu 82 cm (75p), kilosu 8900 g (3-10p) ve baş çevresi 46 cm (50p) idi. Yüzde belirgin bir dismorfizm yoktu (Şekil 4-35). Sağ göz sola göre küçük olarak izlendi. Nörolojik sistem muayenesinde göz kontağı kurabiliyordu. Sağ gözde 1-2 atımlık horizontal nistagmusu vardı. Piramidal ve ekstrapiramidal sistem muayenesinde özellik yoktu.

Nöromotor gelişiminde 10 aylıkken desteksiz oturduğu ve 18 aylıkken anlamlı kelime söylediği öğrenildi. Kraniyal MR değerlendirmesinde supratentoriyal alanda sulkusların sayısı ve derinliği azalmış olup, her iki serebellar hemisferde subkortikal beyaz cevherde en kalın yerinde yaklaşık 2 cm’ye ulaşan lineer bant heterotopisi izlendi (Şekil 4-34). EEG incelemesinde her iki hemisferin anterior bölgelerinde hafif derecede, subkortikal bölgelerden köken alan paroksizmal bir düzensizlik belirlenmişti. Kraniyal MR görüntüleri kalın SBH (Grade 6) ile uyumlu bulundu (Dr. J. Gleeson).

Psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, EEG anomalisi ve SBH’si nedeniyle SBH grubuna dahil edildi. SBH tanısıyla kromozom analizi, MDS’ye özgün prob ile FISH analizi, öncelikle *DCX* genin, mutasyon bulunamaması halinde *LIS1*, *TUBA1A* ve *YWHAE* genlerinin dizilenmesi ve ticari lizensefali kiti ile MLPA analizi planlandı.

Aile L08**Şekil 4-33 Aile L08'ün aile ağacı****Şekil 4-34 Aile L08'de etkilenmiş olgunun kraniyal MR görüntüsü**

Kalın SBH (Grade 6) ile uyumlu bulundu.

**Şekil 4-35 Aile L08'deki etkilenmiş olgu (18 aylık)**

(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.8.2. Aile L08'in genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları

SBH'li tanılı Aile L08' deki etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XX
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	46,XX ish 17p13.3(LIS1x2)
MLPA analizi (MRC-Holland SALSA MLPA P061-B1- <i>Lissencephaly</i> kiti)	İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı
DCX geni dizi analizi	3'ucunda homozigot polimorfizm (rs5943149)
LIS1 geni dizi analizi	intron 6'da homozigot polimorfizm (rs3213696)
TUBA1A geni dizi analizi	ekzon 1'de heterozigot g.-1G>A (NG_008966.1) , ekzon 3'de heterozigot rs1056875 ve ekzon 4 de heterozigot rs697624 polimorfizmleri
YWHAE geni dizi analizi	intron 3'de heterozigot polimorfizm (rs55734488)

4.8.3. Aile L08'in klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Olgumuzun hafif psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, EEG anomali ve SBH'si olması nedeniyle SBH'nin etiolojisine yönelik testler planlandı.
- ✓ HRBT ile kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Kız olan olgumuzun SBH olduğu için öncelikle *DCX* geni dizilendi. *DCX* geninde mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ Literatürde SBH'si olan az sayıda olguda *LIS1* geninde mutasyon gösterilmesi nedeniyle *LIS1* geninin kodlayan bölgeleri dizilendi. *LIS1* geninde mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ MLPA yöntemi ile *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genleri, *DCX* geni gen içi delesyon ve duplikasyonları saptamak amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı.

- ✓ Lizenefali ile ilişkilendirilen bir gen olan *TUBA1A* geni ve Miller-Dieker Sendromu'nda delesyona uğradığı gösterilen ve fenotipi modifiye edici etkisi bulunan *LIS1* genine komşu olan *YWHAE* geni SBH ile ilişkilendirilmemesine rağmen aday gen çalışması amacıyla dizilendi, mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ İlgili genlerde hastalıkla ilişkili olmayan polimorfizmler tabloda belirtildi.

4.8.4. Aile L08'in tanısı ve genetik danışma

- ❖ SBH'si olan olguların %90'ına *DCX* geninin dizilenmesi ve MLPA yöntemi ile tanı konulabileceği belirtilmiştir. SBH'si olan olgumuzda laboratuvar çalışmaları ile *DCX* genindeki gen içi delesyon ve duplikasyonlar ve *DCX* geninin kodlayan bölgesindeki mutasyonlar dışlanmıştır.
- ❖ Olgumuzda SBH'ye neden olan etiyopatogenez aydınlatılamamıştır. Bu çalışmalar ile SBH'ye neden olan *DCX* mutasyonlarının somatik mozaizmi dışlanamamıştır. Aileye antenatal dönemde ultrasonografi izleminin SBH'nin tespit edemeyeceği anlatıldı.

4.9. Aile L09

4.9.1. Aile L09’da etkilenmiş olgunun klinik bulguları

Aralarında 1. derece kuzen evliliği olan sağlıklı anne ile sağlıklı babanın ilk gebeliğinden olan 6 yaşındaki kız çocukları psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü (generalize tonik-klonik) ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1).

Aile öyküsünde anneannenin erkek kardeşinin 30 yaşındaki oğlunun mental retardasyonu olduğu belirtildi (Şekil 4-36). Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik olmayan gebelik zamanında normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 3450 g, doğum boyu ve doğum baş çevresi bilinmiyordu.

Fizik muayenesinde (6 yaş) boyu 110 cm (50p), kilosu 21 kg (50-75p) ve baş çevresi 49,5 cm (10p) idi. Yüzde belirgin bir dismorfizmi yoktu (Şekil 4-38). Sistem muayenelerinde özellik yoktu. Nörolojik sistem muayenesinde göz kontağı mevcuttu. Sol gözde içe bakan şaşılığı vardı. Sorulara yanıt vermiyor, ancak basit emirleri yerine getiriyordu.

Nöromotor gelişimde 3 yaşında yürüdüğü, 2 yaşında hecelemeye başladığı ve 4 yaşında ilk kelimesini söylediği öğrenildi. Halen 3 kelimeli cümle kuramıyordu. Denver II Gelişim Testi’nde (8 yaş); kaba devinsel 24 ay, ince devinsel 22 ay, dil 22 ay ve kişisel sosyal 22 ay ile uyumlu bulundu.

Kraniyal MR değerlendirmesinde supratentoriyal alanda serebral korteksler ile lateral ventriküller arasında konveksiteye dek tüm uzunluğu boyunca gri madde ile aynı intensitede homojen bir bant gözlenmekte idi (Şekil 4-37). Korteks kalınlıkları normal ancak sulkuslar sığlaşmıştı. Her iki lateral ventrikül korusları arasında kavum vergae anomalisi görülmekteydi. EEG incelemesinde sol temporoooksipital hiperekstabilite izlenmişti.

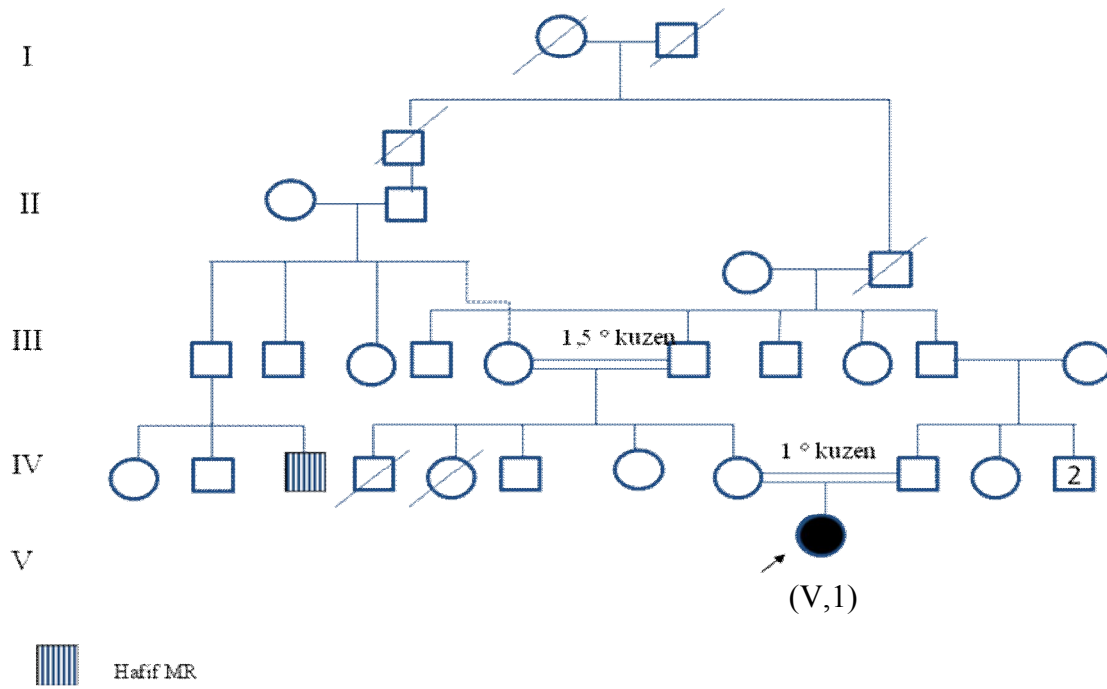
Kraniyal MR görüntüleri kalın SBH (Grade 6) ile uyumlu bulundu (Dr.J.Gleeson).

Psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, sağ gözde dış yana bakış kısıtlılığı, nöbet öyküsü, EEG anomalisi, SBH’si nedeniyle SBH grubuna dahil edildi.

SBH tanısıyla kromozom analizi, MDS’ye özgün prob ile FISH analizi, öncelikle *DCX* geninin incelenmesi (Şekil 4-39), mutasyon bulunamaması halinde *LIS1*, *TUBA1A* ve *YWHAE* genlerinin dizilenmesi ve MRC-Holland SALSA MLPA P061-B1-*Lissencephaly* kiti ile MLPA analizi planlandı.

Aile L09

Şekil 4-36 Aile L09'un aile ağacı



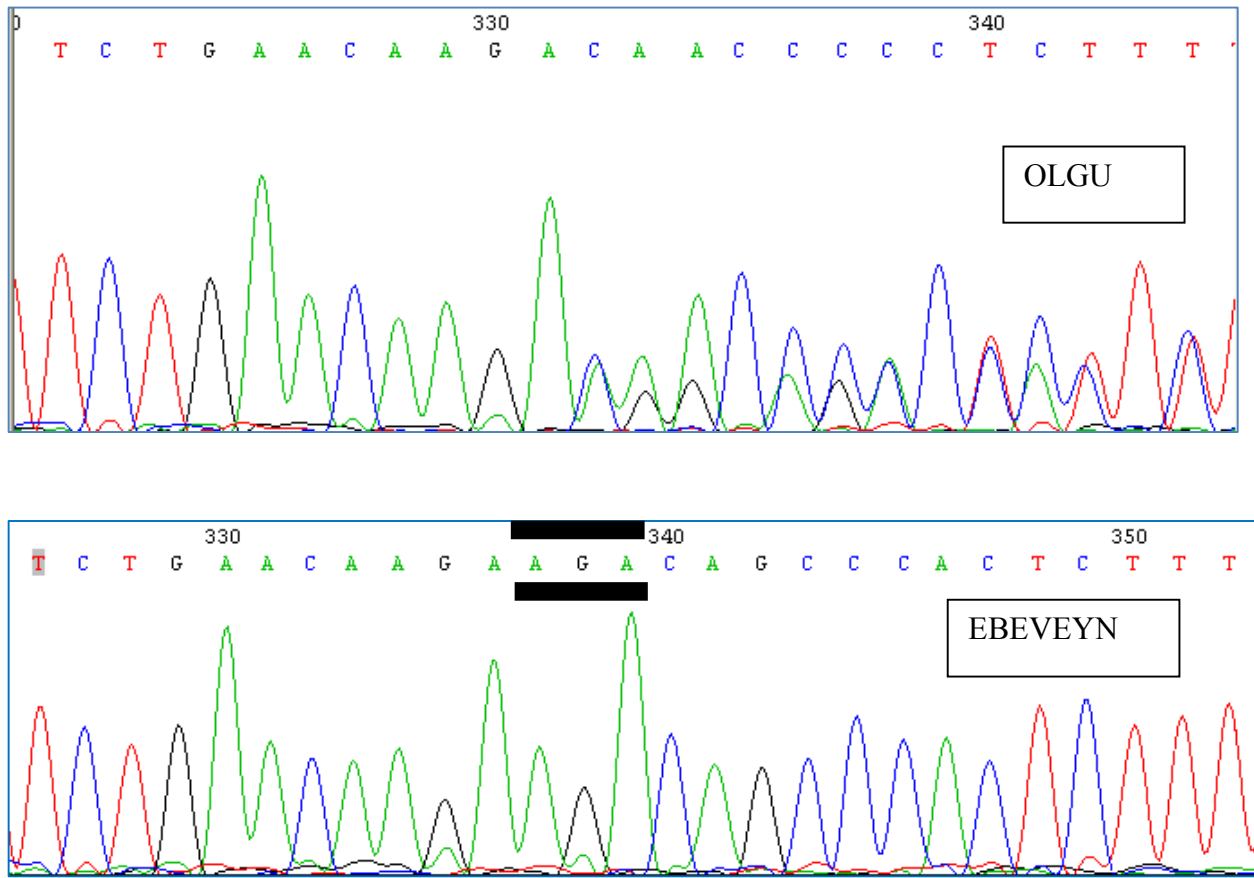
Şekil 4-37 Aile L09'daki etkilenmiş olgunun
kraniyal MR görüntüsü

Kalın SBH (Grade 6) ile uyumlu bulundu.



Şekil 4-38 Aile L09'daki etkilenmiş olgu (6 yaş)
(İTF Tıbbi Genetik AD arşivi)

4.9.2. Aile L09'un genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-39 Aile L09'da etkilenmiş olgunun DCX dizi analizi sonucu

Heterozigot c.605_607 delAGA değişikliği

SBH'li tanı Aile L09'daki etkilenmiş olgunun sonuçları	
Karyotip	46,XX
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	46,XX ish 17p13.3(LIS1x2)
DCX geni dizi analizi (Şekil 4-25)	3'ucunda homozigot polimorfizmi (rs5943149). Ekzon 3'de heterozigot c.605_607 delAGA mutasyonu

4.9.3. Aile L09'un klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, sağ gözde dış yana bakış kısıtlılığı, nöbet öyküsü, EEG anomalisi ve SBH olması nedeniyle SBH'nin etiyolojisine yönelik testler planlandı.
- ✓ HRBT ile kromozom analizi ve MDS'na özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Kız olan olgumuzun SBH olduğu için öncelikle *DCX* geni dizilendi.
- ✓ *DCX* geninin 3.ekzonunda heterozigot c.605_607 delAGA değişikliği saptandı (Şekil 4-39). Protein yapısını bozduğu için bu değişiklik mutasyon olarak kabul edildi.
- ✓ Anne ve babanın aynı mutasyonu taşımadığı belirlenerek olgumuzun *de novo DCX* gen mutasyonunu heterozigot taşıdığı kesinleşti.
- ✓ İlgili gende hastalıkla ilişkili olmayan polimorfizm tabloda belirtilmiştir.

4.9.4. Aile L09'un tanısı ve genetik danışma

- ❖ Olgumuzun *de novo DCX* gen mutasyonunu heterozigot taşıdığı kesinleşti.
- ❖ Aileye olası gebeliklerinde gonadal mozaizizm riski nedeniyle fetal DNA'da *DCX* genine özgün mutasyon analizi önerildi.

4.10. Aile L10

4.10.1. Aile L10'da etkilenmiş olguların klinik bulguları

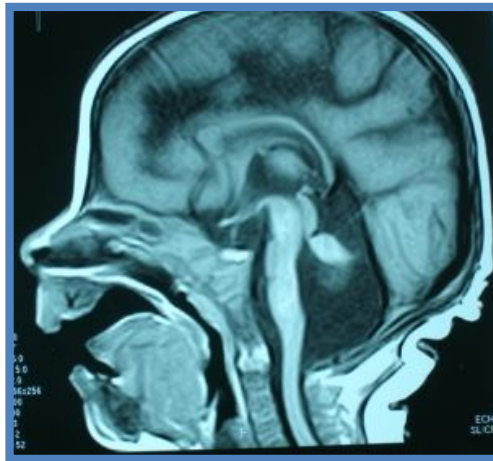
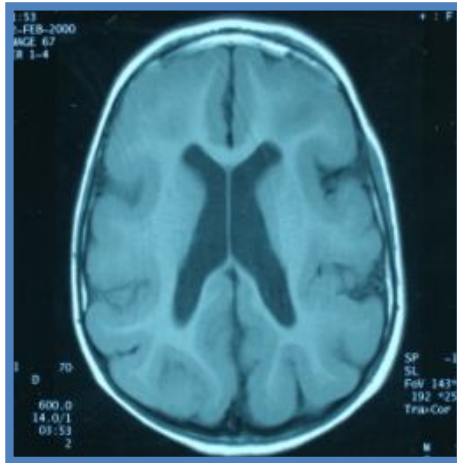
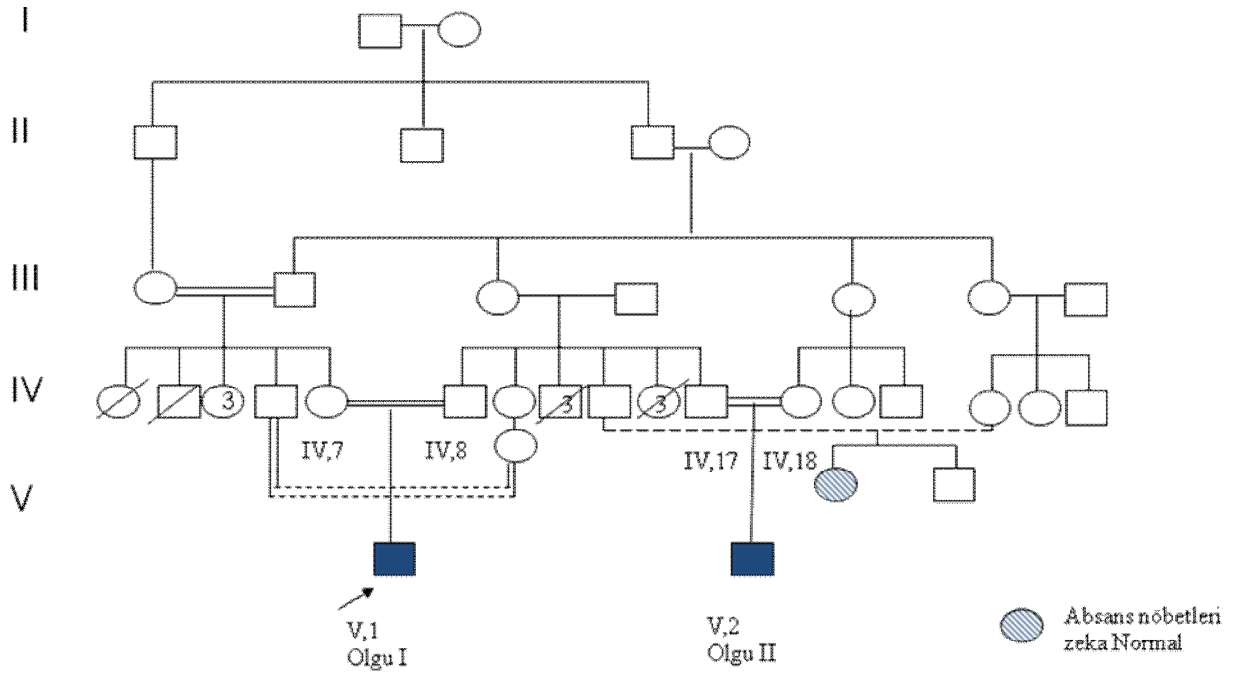
Olgu 1: (indeks, V-I) Aralarında 1 ° kuzen evliliği bulan sağlıklı anne ve babanın (Şekil 4-40) ilk gebeliğinden olan erkek çocukları 2 yaş 4 aylıkken psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü, arka fossa ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G2P1A1). Antenatal, natal ve postnatal öyküsünde özellik olmayan gebelik zamanında, normal spontan doğum ile sonlanmıştı. Doğum tartısı 3000g, doğum boy ve baş çevresi bilinmiyordu. Fizik muayenesinde (2 yaş 4 aylık); tartı 11600 g (10p), boy 89 cm (25-50p) ve baş çevresi 46 cm (<3p ; -2;-3SD) idi. Yüzde periorbital dolgunluk dışında özellik yoktu. Nörolojik muayenesinde santral hipotonisite, ekstremitelerde hipertonisite saptandı. Kraniyal MR görüntülemesinde lizensefali ve Dandy-Walker Varyantı belirlendi. Denver II Gelişim Testi'nde (16 yaş); kaba devinsel 5 ay, ince devinsel 5 ay, kişisel sosyal 5 ay ile dil 9 ay ile uyumlu bulundu.

Olgu 2: (benzer etkilenmiş kuzen V-2) Aralarında 1 ° kuzen evliliği bulan sağlıklı anne ve babanın (Şekil 4-40) ilk gebeliğinden olan ilk çocukları 7 aylıkken psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, arka fossa ve kortikal anomali nedeniyle polikliniğimizde değerlendirildi (G1P1). Antenatal dönemde benzer etkilenmiş kuzeni olması nedeniyle izlenen ancak gebeliğin geç haftalarında (35.GH) lizensefali saptandığı için sonlandırılmayan gebelik zamanında normal spontan doğum ile dünyaya gelmişti. Doğum tartısı 3700g, doğum boyu 46 cm, doğum baş çevresi bilinmiyordu. Fizik muayenesinde (7 aylık); tartı 1000 g (97p), boy 70 cm (75p) ve baş çevresi 46 cm (90-97p) idi. Konjenital glokomu mevcuttu. Yüzde dismorfik bulgusu yoktu. Nörolojik muayenesinde hipotonisitesi mevcuttu. Kraniyal MR görüntülemesinde lizensefali ve Dandy-Walker Varyantı belirlendi. Denver II Gelişim Testi'nde (10 yaş); kaba devinsel 5 ay, ince devinsel 5 ay, kişisel sosyal 5 ay ve dil 11 ay ile uyumlu bulundu. Olguların kraniyal MR'da orta derecede kalınlaşmış kortikal tabakanın olduğu frontal pakigiri, hafif posteriyor pakigiri, incelmış korpus kallozum, hafif derecede beyin sapı hipoplazisi ve ağır derecede panserebellar hipoplazi saptandı [LCHb (Şekil 4-41 ve 4-42) (Dr. J. Gleeson / Dr. Dobyns). Psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü (generalize tonik-klonik) ve benzer patolojik kraniyal MR görüntüleri ile olgular serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali grubunda değerlendirildi.

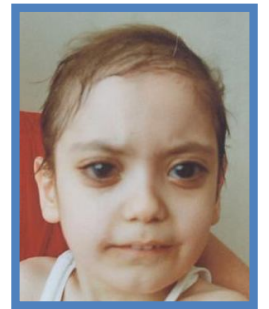
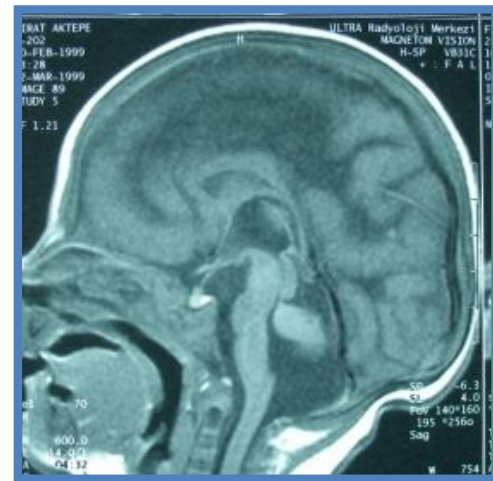
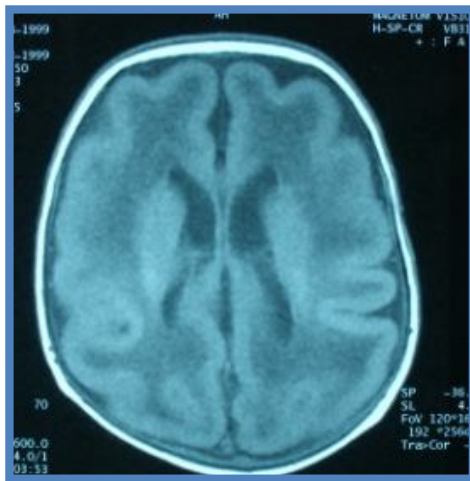
LCH ön tanısıyla kromozom analizi, MDS'ye özgün prob ile FISH analizi, indeks olguda *RELN*, *DCX*, *LIS1*, *YWHAE* genlerinin dizilenmesi planlandı (Şekil 4-45 ve 4-46)

Aile L10

Şekil 4-40 Aile L10'un aile ağacı

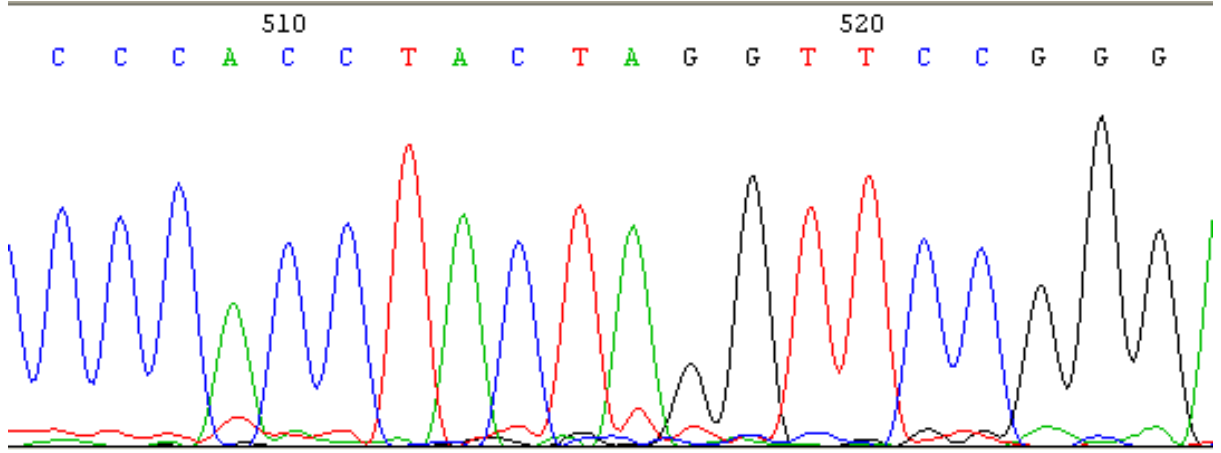


Şekil 4-41 Aile L10'da etkilenmiş olgu (14 yaş) (V,1) ve kraniyal MR görüntüleri



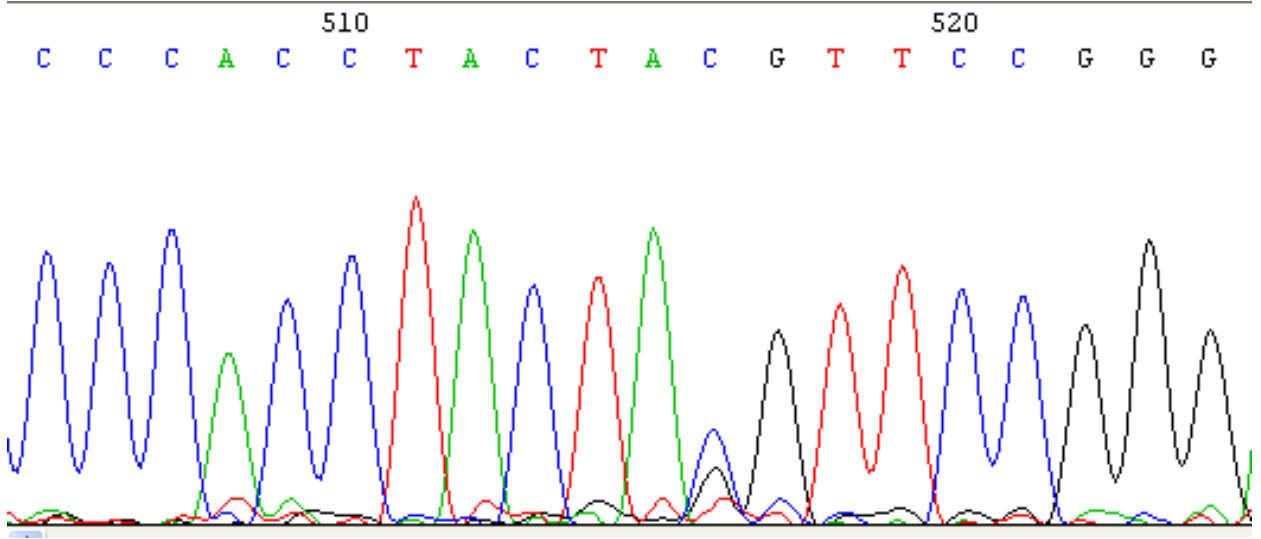
Şekil 4-42 Aile L10'da etkilenmiş olgu (8 yaş)(V,2) ve kraniyal MR görüntüleri

4.10.2. Aile L10'un genetik laboratuvar uygulamalarının sonuçları



Şekil 4-43 Aile L10'da etkilenmiş (V-1) olgunun *RELN* geni mutasyonu

Ekzon 1 de homozigot “dur” kodon mutasyonu. c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG)



Şekil 4-44 Aile L10'da etkilenmiş olgunun annesinde (IV-18) *RELN* geni mutasyonu

Ekzon 1 de heterozigot “dur” kodon mutasyonu. c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG)

LCH tanılı Aile L10'da etkilenmiş olguların sonuçları	
Karyotip	(V-1) 46,XY (V-2) 46,XY
MDS'ye özgün prob ile FISH analizi	(V-1) 46,XY ish 17p13.3(LIS1x2) (V-2) 46,XY ish 17p13.3(LIS1x2)
MLPA analizi	(V-1 ve V-2)
MRC-Holland SALSA MLPA P061-B1- <i>Lissencephaly</i> kiti	İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı
LIS1 geni dizi analizi (V-1)*	intron 6 da homozigot polimorfizm (rs3213696)
DCX geni dizi analizi (V-1)*	3' gen yakınında polimorfizm (rs 5943149)
TUBA1A geni dizi analizi (V-1)*	Herhangi bir dizi değişimi saptanmadı
YWHAE geni dizi analizi (V-1)*	intron 3 de heterozigot polimorfizm (rs55734488)
RELN geni için bağlantı analizi ile homozigotluk araştırması	Analiz informatif çıktı ve bölgenin etkilenmişlerde homozigot olduğu saptandı.
RELN cDNA dizilenmesi (NM_005045.2) (IV-18'den alınan deri biyosisinden üretilen fibroblastlardan elde edilen total RNA dan sentezlenen cDNA)*	Ekzon 2-18, 20-38, 54-64 (toplam 43 ekzon) dizilendi ve herhangi bir mutasyon saptanmadı
RELN genomik DNA dizilemesi (V-1)* (Şekil 4-43) ve (Şekil 4-44)	Ekzon 1 de homozigot “dur” kodon mutasyonu. c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG)

4.10.3. Aile L10'un klinik ve laboratuvar bulgularının özeti

- ✓ Psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü ve benzer patolojik kraniyal MR görüntüleri ile olgular serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH) grubunda değerlendirildi.
- ✓ LCHb ön tanısıyla kromozom analizi, MDS'ye özgün prob ile FISH analizi, indeks olguda *RELN*, *DCX*, *LISI*, *YWHAE* genlerinin dizilenmesi planlandı.
- ✓ Olguların kromozom analizi ve MDS'ye özgün FISH çalışması normal sonuçlandı.
- ✓ Aile L06'da *RELN* geni ile ilişkilendirilen LCH hastalığının otozomal resesif kalıtılması nedeniyle Aile L10'da etkilenmiş olgular (V-1) ve (V-2) ve olguların ebeveynlerinde (IV-7), (IV-8), (IV-17) ve (IV-18) *RELN* geni için bağlantı analizi ile homozigotluk araştırması yapıldı ve *RELN* lokusuna bağlantı gösterildi.
- ✓ *RELN* proteinin ve *RELN* geninin incelenmesi planlandı.
- ✓ *RELN* geni 64 ekzonlu bir gen olduğu için cDNA düzeyinde incelenmesi planlandı. Fibroblastlarda yüksek düzeyde eksprese olması nedeniyle fibroblast kültürü planlandı. Olgulardan deri biyopsisine izin alınamadığı için anneden (IV-18) fibroblast kültürü yapılarak *RELN* geni cDNA düzeyinde dizilendi. cDNA düzeyinde dizilenemeyen bölgelerin genomik boyutta dizilenmesi planlandı.
- ✓ IV-18 no'lu bireyden elde edilen cDNA materyalinde *RELN* geni dizilendi Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.
- ✓ cDNA düzeyinde dizilenemeyen ekzon 1 gDNA düzeyinde incelendi.
- ✓ IV-18 no'lu bireyden elde edilen gDNA materyalinde *RELN* geninin 1.ekzonu dizilendi.
- ✓ IV- 18 no'lu bireyde ekzon 1'de heterozigot “dur” kodon mutasyonu c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG) saptandı.
- ✓ Etkilenmiş olgularda [V-1 ve V-2] ekzon 1 de homozigot “dur” kodon mutasyonu c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG) saptandı (Şekil 4-43).
- ✓ Her iki olgunun anne ve babasının aynı mutasyon için heterozigot olduğu belirlendi (Şekil 4-44).

4.10.4. Aile L10'un tanısı ve genetik danışma

- ❖ Aile L10'daki serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali tanılı etkilenmiş iki olgunun hastalığına RELN genindeki homozigot c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG) mutasyonun neden olduğu belirlenmiştir.
- ❖ Moleküler tanının kesinleşmesi bu aileye özgün genetik danışma verilmesini sağlamıştır.
- ❖ Otozomal resesif kalıtılan ***Reelin*** ile ilişkili serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali için tekrarlama riski %25 olması nedeniyle aileye taşıyıcılık ve prenatal tanı seçenekleri sunulmuştur.

5. TARTIŞMA

Tartışma

Kortikal gelişim malformasyonları; mikrosefali, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, epilepsi ve diğer birçok nörolojik bulgunun etiopatogenezinde yer almaktadır (42).

Kortikal gelişim malformasyonları korteks oluşumundaki süreçler **-nöronların proliferasyonu, nöronların göçü (migrasyon) ve nöronların organizasyonu-** göz önüne alınarak üç ana grupta toplanmaktadır (Tablo 2-1) (43). Proliferasyon, migrasyon ve organizasyon süreçleri farklı biyolojik yolları kullanır ve bu yollarla görev alan genler farklıdır.

Nöronal proliferasyon anomalileri grubu; nörogenezis basamağında görülen anomalileri içermektedir. Korteksin pek çok hücresinin köken aldığı ventriküler tabakadaki hücrelerin proliferasyonu majör olarak etkilenmiştir. Normalden daha az sayıda oluşan hücreler, proliferasyon aşamasından sonraki migrasyon ve organizasyon basamaklarını tamamlayabildikleri için korteksin altı tabakalı yapısı bozulmamıştır. Bu grup içinde konjenital mikrosefalili olguların önemli bir kısmını oluşturan ve lizensefali ayırıcı tanısında ilk sırada yer alan “Mikrosefali vera” ve “Basitleşmiş giral paternli mikrosefali” bulunmaktadır. Her ikisinde de kortikal tabakanın yapısı bozulmadığı için kortikal kalınlık artmamıştır. Mikrosefali vera’da giral yapı korunmuşken, basit giral paternli mikrosefalide korteks lizensefalili olgulardaki gibi düz görünmektedir.

Nöronal migrasyon anomalileri grubu; proliferasyondan sonra kortikal tabakayı oluşturmak için göç eden nöronların migrasyon sürecindeki anomalilerini içerir. Eğer nöronlar, normalde ulaşmaları gereken yerlerine göç edemezlerse altı tabakalı kortikal yapı bozulur, kortikal tabaka kalınlaşabilir, periventriküler/subkortikal heterotopiler oluşabilir yada pakigiri ve polimikrogirinin birlikte görüldüğü kaldırımtaş görünümü oluşabilir. Ventriküler tabakada proliferasyon olduktan hemen sonra, nöronların migrasyonu kesintiye uğrarsa, radyolojik olarak Kraniyal MR’da **periventriküler heterotopiler** izlenir. Migrasyonun sonraki aşamalarında sorun olursa, kortikal kalınlık artar ve **agiri/pakigiri** gözlenir. Bazı hücreler migrasyonunu tamamlayıp, bazıları tamamlayamazlarsa **subkortikal band heterotopileri** oluşur. Eğer aberan migrasyon olursa, pakigiri ve polimikrogirinin birlikte görüldüğü Tip 2 Lizensefali denilen **kaldırımtaş lizensefalisi** görülür.

Bu nedenle; Lizenfali terim olarak düz beyin anlamına gelmesine rağmen, tanı için beyin kıvrımlarının düzleşmesi yeterli değildir, kortikal kalınlığın artması, korteks yapısının bozulması ve/veya periventriküler/subkortikal heterotopilerin gözlenmesi gerekmektedir. Agiri, pakigiri ve subkortikal band heterotopileri Lizenfali spektrumu içerisinde değerlendirilir. Lizenfali Spektrumu ile ilişkili hastalıklar; Miller-Dieker Sendromu (MDS), İzole Lizenfali Sekansı (ILS), SBH, serebellar hipoplazi ile birlikte lizenfali (LCH) ve X'e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizenfali (XLAG)'dir.

Kortikal anomalili olguların çoğunda ağır mikrosefali (<-3SD), psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, epilepsi ve ek nörolojik bulgular gözlenir. Ayırıcı tanıda **klirik** (konjenital mikrosefali, dismorfizm ve ekstraserebellar anomaliler) ve **radyalolirik** bulgulardan (*Grade*, yararlanır).

Ayırıcı tanıda kullanılan klinik bulgular;

- *Konjenital ağır mikrosefali*; nöronal proliferasyon ve nöronal migrasyon anomalilerini klinik olarak ayırt etmede yardımcı olabilir. MDS ve ILS'de olguların doğum baş çevresi genelde normal veya hafif küçüktür (>-3SD), ancak olguların postnatal baş çevresi gelişimi yavaştır. Çoğu olguda 1 yaşında mikrosefali -3SD altına düşerek belirginleşir (52). Konjenital ağır mikrosefalinin olmaması bu olguların antenatal dönemde tanı konulmasını zorlaştırmaktadır. Nöronal migrasyon anomalilerinde genellikle mikrosefalinin doğum sonrası hızla geliştiği; nöronal proliferasyon anomalilerinde (MV ve MSG gibi) ise ağır mikrosefalinin (<-3SD) doğumda var olduğu dikkate alınmalıdır. Bu farklılık migrasyonun postnatal dönemde devam etmesi ile açıklanabilir. Lizenfali Spektrumu'nun en hafif şekli olan SBH'de mikrosefali hiç gözlenmeyebilir. Lizenfali ile ilişkili diğer bir hastalık olan LCH; serebrum, serebellum ve beyin sapının etkilendiği ağır bir hastalıktır, olguların doğum baş çevresi normal veya hafif küçük olabilir.

- *Dismorfizm*; sendromik lizenfali ile ilişkili hastalıklarda ve kromozom anomalilerinin neden olduğu lizenfalilerde gözlenebilir. MDS; dismorfizmi en iyi bilinen lizenfali sendromudur. Olgularda belirgin alın, bitemporal çöküklük, dışa dönük burun deliklerinin olduğu küçük bir burun, ince vermilyon sınırının olduğu yukarı kalkık bir üst dudak ve küçük çenenin olduğu tipik yüz görünümü vardır (58) (Şekil 2-12). ILS ve SBH'de belirgin dismorfizm gözlenmez. Kromozomal yeniden düzenlenmeler sonucu oluşan lizenfalilerde ise farklı dismorfik bulgular görülebilir.

•*Konjenital ekstraserebral anomaliler*; Lizenfali Spektrumu'nun ayırıcı tanısında yer alan hastalıklarda sıklıkla bulunur. Özellikle Tip 2 Kaldırımtaş lizenfalisinde göz problemleri (ön kamara anomalileri, katarakt, kolobom, retinal ayrışma, primer persistan hiperplastik vitreus) görülür. MDS gibi kromozomal delesyonların olduğu durumlarda KKH, omfalosel, duodenal atrezi ve böbrek anomalileri görülebilir. *LIS1* geni ile ilişkili lizenfali ise ekstraserebral anomalilere (KKH) nadiren de olsa rastlanabilir.

Kraniyal MR'ların uzman Pediyatrik Radyolog ve/veya Pediyatrik Nörolog tarafından etiopatogeneze sorumlu genler ile ilişkilendirilmesi laboratuvar testlerini yönlendirmektedir. Kortikal anomalilerin radyolojik bulguları (*Grade* ve *Gradient*), Lizenfali ile ilişkili hastalıkların ayırıcı tanısı için klinik bulgulardan daha belirleyicidir.

Ayırıcı tanıda kullanılan radyolojik bulgular;

Grade; Lizenfali Spektrumu, Kraniyal MR görüntülerine göre 6 derecede sınıflandırılmıştır (Şekil 2-11) (52). ***Grade 1***; diffüz agiri, ***Grade 2***; anterior veya posteriyorda az sayıda kıvrım dışında diffüz agiri, ***Grade 3***; anterior pakigiri ve posteriyor agiri, ***Grade 4***; diffüz pakigiri, ***Grade 5***; pakigiri ve SBH ve ***Grade 6***; SBH'dir. Bu spektrumunun derecesi; olgulardaki mental retardasyon ve epilepsinin ağırlığı ile genelde korelasyon göstermektedir (51). Lizenfali ile ilişkili genler *LIS1*, *DCX*, *TUBA1A*, *RELN* ve *ARX*'tir. Bu genler ile radyolojik bulgular arasında güçlü bir ilişki vardır. 17p13.3'de *LIS1* geni (MIM*601545), Xq22.3'de *DCX* geni (MIM*300121), 12q12'de *TUBA1A* geni (MIM*602529), serebellar hipoplazi ve lizenfali ile ilişkili 7q22.1'de *RELN* geni (MIM*600515) ve X'e bağlı kuşkulu genitalya ile birlikte lizenfali fenotipine neden olan *ARX* geni (MIM*300215)'dir.

Gradient; giral malformasyonun ağırlığının beyin farklı bölgelerine değişkenlik göstermesidir. Ön-anterior (A) ve arka-posterior (P) etkilenmenin ağırlığına göre, genotip ve fenotip ilişkisi kurulabilir. *DCX* ve *RELN* ile ilişkili mutasyonlarda serebral korteksin anterior bölümü posteriyora (a>p) göre, *LIS1*, *14-3-3ε* ve *ARX* geni ile ilişkili mutasyonlarda serebral korteksin posteriyor bölümünün anteriora göre (p>a) daha fazla etkilenmiş olduğu gösterilmiştir. MDS'den 17p13.3'de *LIS1* genini de içeren büyük delesyonlar, ILS'den *DCX*, *LIS1*, *14-3-3ε*, *TUBA1A* genleri; SBH'den *DCX* ve *LIS1* genleri; XLAG'dan *ARX* geni; LCH'dan *LIS1*, *DCX* ve *RELN* geni mutasyonlarının sorumlu olduğu gösterilmiştir.

Bu çalışmada kortikal gelişim malformasyonu ön tanısı ile kliniğimize gönderilen olguların klinik ve Kraniyal MR bulguları genotip-fenotip ilişkisi kurulması amacıyla detaylı olarak tekrar değerlendirilmiş ve Pediyatrik Radyoloji/Pediyatrik Nöroloji uzmanları ile tartışılmıştır. Lizenfali Spektrumu tanısı kesinleşen 10 ailede etiopatogeneizde yer alan tanımlanmış genler incelenmiştir. Lizenfali Spektrumu içinde değerlendirilen **MDS** tanılı iki olguda (L01-L02), lizenfaliye eşlik eden ek konjenital anomalileri olan bir olguda (L03), **ILS**'li dört olguda (L04-L05-L06-L07), **SBH**'li iki olguda (L08-L09) ve **LCH**'li iki olguda (L10) genotip-fenotip ilişkisi dikkate alınarak laboratuvar çalışmaları planlanmıştır. Çalışmamızda kullanılan moleküler tanıyı yönlendirici akış şeması Şekil 3-1'de yer almaktadır.

Miller-Dieker Sendromu (MDS); karakteristik yüz bulgularının olduğu klasik lizenfali sendromudur. 17. kromozomun kısa kolunun *LIS 1* ve komşu genlerini içeren delesyonu ile ilişkilidir. Bu delesyonların %60'ı HRBT ile sitogenetik olarak görülebilir, geri kalanında FISH ile tanı konur. MDS'li olguların yaklaşık %80'inde, 17p13.3'ü içeren *de novo* delesyonlar bulunurken; %20'sinde ebeveynlerden birinde dengeli translokasyonların sonucu oluşan delesyonlar görülür (52). Aile L01 ve Aile L02'deki etkilenmiş olguların MDS tanısı klinik ve radyolojik bulgular ile akış şeması kullanılarak konmuş, sitogenetik ve moleküler sitogenetik analizler ile kesinleşmiştir. Aile L03'deki etkilenmiş olguda pakigiriye dismorfizm, KKH, renal anomali ve bilateral yarık el anomalisi eşlik etmesi nedeniyle MKA/MR grubunda değerlendirilmiş ve öncelikle submikroskopik yeniden düzenlenmelerin dışlanması planlanmıştır.

Aile L01'de etkilenmiş kız olgu mikrosefali, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR görüntülerinde posteriyor tutulumun (Grade 2) ön planda olduğu "Klasik Lizenfali" (agiri/pakigiri) saptandı ve ***LIS1* geni ile ilişkili lizenfali** ile uyumlu bulundu. Eşlik eden yüz dismorfizmi (bitemporal darlık, dolgun yanakların olduğu armut şeklinde yüz) nedeniyle MDS ön tanıda düşünüldü. HRBT ile kromozom analizi normal saptanırken MDS'ye özgün FISH analizi ile 17p13.3 delesyonu belirlendi. P061 (*Lissencephaly*) MLPA kiti ile *PAFAH1B1* (*LIS1*) genine komşu genler (telomerik tarafta *METT10D* sentromerik tarafta *KIAA0664*) arasında yaklaşık 183,423 bp'lik bir delesyon olduğu belirlenerek olgunun "ardışık gen sendromu" tanısı kesinleşti. Anne ve babada karyotip analizi ve MDS'ye özgün FISH analizi normal sonuçlandı ve olgumuzun *de novo* olduğu belirlendi.

Aile L02'de etkilenmiş erkek fetüs antenatal MR değerlendirmesi kortikal anomali ile uyumlu bulunduğu için tıbbi tahliye ile sonlandırıldıktan sonra değerlendirilmiştir. Fetusa ait 30.GH'daki Kraniyal MR görüntülemeleri diffüz pakigiri ile uyumlu bulunmuştu. *Gradient* ayrımı yapılamadığı için, karyotip ve MDS'ye özgün prob ile FISH analizi önerildi. Kordosentez ile elde edilen fetal kanda kromozom analizinde 450-550 band düzeyinde 17. kromozomda delesyon saptandı. MDS'ye özgün FISH çalışmasında 17. kromozomlardan birinde MDS bölgesinde sinyal alınmadı. Anne ve babaya karyotip analizi önerildi. Aile kromozom analizi için onay vermedi. Olgumuzda saptanan lizensefali 17p13 bölgesini içeren delesyon ile uyumlu bulundu.

Literatürde antenatal ultrasonografi ile saptanan az sayıda MDS'li olgu mevcuttur. Bu olguların çoğunda ileri gebelik haftalarında lizensefaliye ventrikülomegali, IUGG (intrauterin gelişme geriliği) ve konjenital kalp hastalıklarının eşlik ettiği gözlenmiştir. Taniya yönelik incelemelerde 22q11 delesyon sendromunun dışlanması ardından MDS'nin de yer alması gerektiği vurgulanmıştır. Ventrikülomegali ve IUGG birlikteliği, MDS için ultrasonografide belirteç olarak değerlendirilmesi önerilmiştir (127,128)

Antenatal dönemde lizensefalinin saptanmasındaki zorluk fetal hayatta beynin gebeliğin geç haftalarına kadar düz görünmesinden kaynaklanmaktadır. Evrimsel olarak insan beyni ile diğer memeliler karşılaştırıldığında; alt grup memelilerde sulkus, girus ve serebral korteks katlantılarının daha az olması, insan korteksinin oluşumunda özgün genetik mekanizmaların varlığına işaret etmektedir.

Antenatal dönemin 5. ayında (20-22.GH) kalkarin, parietookspital ve singulat sulkus; 6. ayın sonlarına doğru (25.GH) rolandik, interpariyetal, superiyor temporal sulkus; 7. ayda (24-28.GH) presantral, postsantral, superiyor frontal, orta temporal; 8. ayında (30-33.GH) sekonder singulat, oksipitotemporal, inferiyor temporal sulkus gelişir (Şekil 2-4) (4). Gelişimin geç haftalarına kadar süren bu durum 34. GH'da sekonder oksipital ve insular sulkusun oluşumu ile devam eder. Kortikal sulkusları değerlendirirken, özellikle preterm yenidoğanlarda, gebelik haftasının doğru bilinmesi ileri gebelik haftasına kadar devam eden sulkusların gelişimleri nedeniyle çok önemlidir, aksi halde yanlışlıkla pretermelerde lizensefali tanısı konabilir (4). Antenatal ultrasonografide 22-23.GH'da parietookspital ve kalkarin fissürün, 26-27.GH'da santral sulkusun ve 28-29.GH'da singulat sulkusun kesinlikle görülmesi gerekir. Bu kıvrımların belirtilen zamanlarda oluşmaması lizensefali için uyarıcı olabilmektedir. Riskli gebelik izleminde 28.GH'dan sonra fetal MR ile radyolojik tanı konmaya çalışılmalıdır.

Aile L03'de etkilenmiş erkek olgu ağır psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, mikrosefali, nöbet öyküsü, kortikal anomali, bilateral yarık el anomalisi, KKH, renal anomali ve dismorfik yüz görünümü nedeniyle tarafımıza gönderildi. Kraniyal MR değerlendirmesinde frontal agiri/pakigiri saptandı. MKA/MR grubunda değerlendirilen olgunun Affymetrix 6.0 Chip kullanılarak yapılan SNP-array çalışmasında 1.kromozomunun p subtelomer bölgesi için 3 Mb büyüklüğünde delesyon, 17.kromozomun p subtelomer bölgesi için ise 3 Mb büyüklüğünde bir duplikasyon saptandı. Konfirmasyon için 1.ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün problr ile yapılan FISH çalışmasında, 1.kromozomun subtelomer bölgesi için parsiyel monozomi ve 17.kromozomun p subtelomer bölgesi için parsiyel trizomi saptandı.

SNP-array'de ve subtelomer FISH çalışmaları ile olgumuzda 1 p36 delesyon sendromu ve *LIS1* genini içeren 17p13.3 bölgesinin duplikasyonu kesinlik kazandı. Ebeveynlerde 1.ve 17. kromozomların p subtelomer bölgelerine özgün FISH ile yapılan çalışmada herhangi bir anomali saptanmamış, olgumuzun *de novo* kromozom anomalisinin olduğu belirlenmiştir. Olgumuzdaki yüz dismorfizmi (bitemporal darlık, düz kaş yapısı, küçük burun yapısı, basık burun ucu, kısa kolumella, düz filtrum, küçük bir ağız yapısı, yüksek ve dar damak, dolgun yanaklar, sivri çene), KKH (sol ventrikülde *non-compaction*) ve renal anomali (rotasyon anomalisi) 1 p36 delesyon sendromu ile uyumlu bulundu.

Lizensefalide *LIS1* genini içeren 17p13.3 bölgesinin duplikasyonu literatürde şimdiye kadar çok az sayıda olguda gösterilmiştir. Haverfield ve arkadaşları P061 *lissencephaly* kiti ile yaptıkları MLPA analizinde ILS'li 52 olgunun 12'sinde *LIS1* genini etkileyen delesyon ve 6'sında duplikasyon saptamışlardır. 6 duplikasyonun 5'i *LIS1* geninin kodlayan ekzonlarının (ekzon 2-11) duplikasyonlarını içerirken, biri *LIS1* geninin 3'ucuna komşu *KIAA0664* geninin duplikasyonunu içermektedir. *LIS1* genini içermeyen bu duplikasyonun saptanması *LIS1* genine komşu genlerin *LIS1* geninin ekspresyonu için önemli regülatör bölgeler içerdiğini düşündürmüştür (67,68). Bu çalışmada saptanan *LIS1* genini içeren tüm duplikasyonların Grade 3 lizensefaliye neden olduğu belirtilmiştir. Mei ve arkadaşlarının P061 *lissencephaly* kiti ile yaptıkları diğer bir MLPA çalışmasında ise, ILS'li 25 olgunun 18'inde *LIS1* genini etkileyen delesyon ve 1'inde duplikasyon saptamışlardır. Duplikasyonu olan olgunun Grade 2 lizensefalisi olduğu ve *LIS1* geninin kodlayan ekzonlarının (ekzon 3-5) duplikasyonlarını içerdiği bildirilmiştir.

Comparative Genomic Hybridisation (CGH) teknolojisinin gelişmesinden sonra, 17p13 duplikasyonu olan daha fazla sayıda olgu bildirilmeye başlanmıştır. Roos ve arkadaşları, 2009 yılında 17p13’de mikroduplikasyonu olan 3 olgunun klinik bulgularını özetlemişlerdir. Bunlar hipotonik ve geniş yüz görünümü, hipertelorizm, aşağı çekik palpebral fissürler, geniş burun kökü, yüksek damak ve üçgen çenedir. Bu olguların hiçbirinde kortikal anomali gözlenmemiştir. Olgumuzda gözlenen hipertelorizm, üçgen çene ve düşük kulak yapısı bu sendrom ile uyumlu olmasına rağmen, diğer dismorfik bulgular bu sendrom ile ilişkilendirilememiştir.

Olgumuzdaki yüz dismorfizmi (bitemporal darlık, düz kaş yapısı, küçük burun yapısı, basık burun ucu, kısa kolumella, düz filtrum, küçük bir ağız yapısı, yüksek ve dar damak, dolgun yanaklar, sivri çene), sol ventrikülde *non-compaction* ve renal anomaliler 1p36 delesyon sendromu ile lizensefalisi 17p13 duplikasyonu ile ilişkilendirildi.

Olgumuzdaki yarık el anomali, literatürde 1p36 delesyon veya 17p duplikasyon olgularında bildirilmemiştir. 17p13 bölgesi otozomal dominant kalıtılan Yarık El/Ayak sendromu ile ilişkilendirilmiş olmasına rağmen etiyopatogeneze sorumlu gen henüz tanımlanmamıştır. Olgumuzda saptanan *de novo* kromozom anomalisinin Yarık El/Ayak ile ilişkili aday gen çalışmaları için önemli rol oynayacağı öngörülebilir.

Olgumuzda *LIS1* genini içeren duplikasyon SNP-array ve telomerik FISH teknikleri ile gösterilmiştir. *Lissencephaly* kiti ile MLPA analizi planlanmıştır.

Olgumuzun hem Yarık El/Ayak sendromu ile ilişkili aday gen çalışmaları hem de lizensefali ile ilişkili *LIS1* geninin duplike olan bölgelerinin fenotipe etkisinin değerlendirilmesi için bilimsel literatüre katkı sağlaması amacıyla yayınlanması planlanmıştır.

İzole lizensefali sekansı (ILS); klasik lizensefalinin izole olarak görüldüğü belirgin bir dismorfizmin eşlik etmediği durumdur. ILS'ye neden olduğu belirlenen genler; *LIS1*, *DCX* ve *TUBA1A*'dır. ILS'si olan olguların %75'inden *LIS1* ve *DCX* genleri sorumludur (62, 65, 66). *LIS1* geninde mutasyon saptama oranı, *DCX* ve *TUBA1A* genlerine oranla daha yüksektir. *LIS1* ve *DCX* ile ilişkili ILS'li olgulardaki giral patern farklılık gösterir (62, 64). *LIS1* ile ilişkili lizensefali olgularında beynin posteriyorunun (parietookspital bölge) anteriora (frontotemporal bölge) göre daha çok etkilendiği belirlenmiştir. *DCX* ile ilişkili lizensefalide ise beynin anterior korteksinin posteriyora göre daha çok etkilendiği saptanmıştır (64). Haverfield ve arkadaşları, 2009 yılında *LIS1* ve *DCX* genlerinin dizi ve MLPA yöntemi ile birlikte incelendiğinde ILS'lilerin %85'ne tanı konabileceğini göstermişlerdir (67,68).

Beynin posteriyoru daha belirgin etkilenirse, *LIS1* geni incelenmesi öncelikle yapılmalıdır. Bu olguların %54'ünde 17p13.3'e özgü FISH analizi ile tanı konabilmektedir. Test akış şeması 17p13.3'e özgün FISH analizi ve/veya MLPA yöntemi ile delesyonların saptanması ve *LIS1* geninin dizilenmesi ile mutasyonların belirlenmesidir. *LIS1* mutasyonuna sahip ILS'li olgularda mutasyon tipi ve yer aldığı domain göz önüne alınarak genotip-fenotip korelasyon kurulmaya çalışılmaktadır. *Grade 1-2* lizensefalili 17p13.3'de büyük delesyonu olan Miller-Dieker Sendromu'ndan etkilenen olgular, *Grade 2-4* lizensefalili *LIS1* geninde küçük gen içi delesyon ve duplikasyonu olan ILS'li olgulara göre daha ağırdır. Yanlış anlamlı mutasyonların daha ağır lizensefali derecelerine neden olduğu öne sürülmesine rağmen (63), güncel çalışmalarda bununla uyumlu olmayan da olgular bildirilmiştir (69)

Beynin anterioru daha belirgin etkilenirse, *DCX* geni incelenmesi öncelikle başlatılmalıdır. ILS'li erkek olguların yaklaşık %38'inde *DCX* geninde mutasyonlar saptanırken, ILS'li dişilerin çok azında *DCX* mutasyonu gösterilmiştir (52,59,62,65,68,70,71). *LIS1* veya *DCX* geninde mutasyon bulunması halinde, her iki ebeveynde mutasyonun varlığının araştırılması önerilmektedir. *De novo* mutasyon varlığında, gonadal mozaizm riski nedeniyle prenatal tanı amaçlı sitogenetik, moleküler sitogenetik ve/veya moleküler testler önerilebilir.

Aile L04'de etkilenmiş erkek olgu psiko-sosyal-motor gerilik ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR'ında korpus kallozum hipoplazisi ve posteriyor pakigiri (ILS) saptandı. MDS'i dışlamak amacıyla HRBT ile yapılan kromozom analizi ve MDS'ye özgün FISH analizi normal sonuçlandı. Kraniyal MR bulgularında posteriyor pakigiriye eşlik eden korpus kallozum agenezisi (CCA) olması nedeniyle öncelikle *TUBA1A* geninin kodlayan bölgeleri dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik

saptanmadı. CCA olması nedeniyle ileri aşamalarda *ARX* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.

ILS tanılı olgunun anterior etkilenmesi ön planda olmamasına rağmen, olgunun erkek olması nedeniyle *DCX* geni de dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı. MDS'de *LIS1* geni ile birlikte delesyona uğrayan fenotip üzerinde modifiye edici etkisi olduğu bilinen *YWHAE* geni aday gen yaklaşımı ile dizilendi, Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı.

MLPA yöntemi ile *DCX* geni, *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genleri, gen içi delesyon ve duplikasyonları saptamak amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon ve duplikasyon saptanmadı.

Aile L05'de etkilenmiş erkek olgu psiko-sosyal-motor gerilik, mikrosefali, EEG anomalisi ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Hipoplastik skrotum dışında sistem muayenelerinde özellik yoktu. Kraniyal MR bulgularında anterior pakigiriye eşlik eden korpus kallozum agenezisi (CCA) ve genital bulguları (kriptorşidizm) olması nedeniyle öncelikle *ARX* geninin kodlayan bölgeleri dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı. Daha sonra anterior bölgenin daha belirgin etkilenmiş olması ve olgunun erkek olması nedeniyle *DCX* geni dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı. Lizenfali ile ilişkilendirilen *LIS1* ve *TUBA1A* genleri ile *LIS1* geni ile birlikte delesyona uğrayan fenotip üzerinde modifiye edici etkisi olan *YWHAE* geni aday gen yaklaşımı ile dizilendi. Mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı. MLPA P061-*lissencephaly* kiti kullanılarak yöntemi ile *DCX* geni, *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genleri, gen içi delesyon ve duplikasyonları saptamak amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı.

LIS1 ve *DCX* genlerinin dizi ve MLPA yöntemi ile birlikte incelendiğinde ILS'lilerin %85'ne tanı konabileceği bildirilmesine rağmen, Aile L04 ve Aile L05'de etkilenmiş olgularda lizenfaliye neden olan etiyopatogenez aydınlatılamamıştır. Lizenfali ile ilişkili genlerin somatik mozaizmi ve dizi analizi yöntemiyle incelenmeyen diğer bölgelerdeki (regülatör, promotor, derin intronik) patolojik dizi değişimleri dışlanamamıştır. Bu olgular aday gen çalışmaları için ideal bir grup oluşturmaktadır.

Aile L06'da etkilenmiş kız olgu psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, mikrosefali, nöbet öyküsü ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR görüntüleri beyin posteriyor bölgesinin daha çok etkilendiği “Klasik Lizenfali” (pakigiri) ile uyumlu bulundu. Posterior bölgenin ön planda etkilenmesi nedeniyle *LIS1 ile ilişkili lizenfali* ön planda düşünüldü. MDS’i dışlamak amacıyla yapılan HRBT ile kromozom analizi ve MDS’ye özgün FISH analizi normal sonuçlandı. *LIS1* geninin 5.ekzonunda heterozigot p.R113X mutasyonu saptandı. Literatürde L06'da etkilenmiş olgumuzla aynı mutasyonu taşıyan olgunun mikrosefalisi olduğu, yardımla yürüyebildiği, ancak dil gelişiminin çok geri olduğu belirtilmiştir (129). Bu mutasyon LIS1 proteininin 1.WD-40 tekrarında yer almaktadır.

Aile L07'de etkilenmiş erkek olgu nöbet öyküsü ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR görüntüleri beyin posteriyor daha çok etkilendiği “Klasik Lizenfali” (pakigiri) ile uyumlu bulundu. Posterior bölgenin ön planda etkilenmesi nedeniyle *LIS1 ile ilişkili ILS* ön planda düşünüldü. EKO incelemesinde VSD, VSA ve PFO'su vardı. Mikrosefalinin eşlik etmediği ve orta derecede psiko-sosyal gelişme geriliği olduğu gözlemlendi. Olgunun lizenfalik beyin görüntülemesi olmasına rağmen nöbet öyküsünün olamaması nedeniyle antiepileptik tedavi ihtiyacı olmadığı ve EEG incelemesinin normal olduğu belirlendi. Aile L07'de etkilenmiş olgu ILS'li olgular arasında (L04,L05, L06, L07) en hafif klinik bulguları olan olgu olduğu anlaşılmıştır.

LIS1 geninin 6.intronunda homozigot polimorfizm (rs3213696) ve 3' UTR bölgesinde heterozigot polimorfizm (rs6628), ayrıca 9.ekzonda heterozigot yanlış anlamli tipine neden olan bir nokta mutasyonu, c.G1517C (p.asp317his) saptandı. Olgunun belirgin psiko-sosyal-motor gelişme geriliği yoktu.

LIS1 geni ile ilgili genotip-fenotip ilişkisi halen kesin olarak kurulamamıştır. *LIS1* genini de içeren 17p13 delesyonuna sahip olgularda Grade 1 ve Grade 2 lizenfali bildirilmiştir. Yanlış anlamli olmayan *LIS1* mutasyonları da ise Grade 2-4 lizenfali ile birlikte yayınlanmıştır. Yanlış anlamli mutasyonlar protein yapısında tek aminoasit değişikliğine neden olurken, yanlış anlamli olmayan mutasyonlar erken sonlanım veya delesyona uğramış protienlere neden olurlar. *LIS1* genindeki mutasyonlar gibi haployetersizlik nedeniyle bozukluğa yol açan hastalıklarda yanlış anlamli mutasyonların kritik bir pozisyonda aminoasit değişikliğine yol açmadıkları taktirde diğer mutasyonlara göre daha hafif fenotiplere neden oldukları düşünülmüştür. Ayrıca *LIS1* geninde hem şimdiye

kadar saptanan polimorfizmlerinin az olması hem de türler arasında bir hayli korunmuş olması nedeniyle optimal fonksiyonu için varolan yapısının önemli olduğu düşünülmüştür.

2007 yılında Leventer ve arkadaşları normal IQ'ya sahip bir olgunun da aralarında bulunduğu *LIS1* geninde yanlış anlamlı mutasyonu olan hafif lizensefali fenotipine sahip 5 olgunun klinik bulgularını yayınlamışlardır (63). Bu olgulardan Grade 4 lizensefalisi olan orta/ağır mental retardasyona sahip olgu çalışmamızdaki Aile L07'de etkilenmiş birey ile aynı mutasyona sahiptir. Bu mutasyon *LIS1* proteininin doğru katlanmasını sağlayan 7 WD-40 tekrarının 5. tekrarında yer almaktadır. Bu nedenle proteinin yanlış katlanmasına ve β -selektin ile ilişkisinin bozulmasına yol açtığı düşünülmektedir.

Olgumuzun lizensefali ile ilişkili hafif fenotiplerin etiopatogenezinin aydınlatılması için bilimsel literatürde yayınlanması planlanmıştır.

Subkortikal band heterotopisi (SBH); korteks ile lateral ventrikül arasındaki ak maddenin içinde gri maddenin bilateral ve simetrik bir band oluşturmasıdır. Kortikal nöronların migrasyonundaki bir bozukluktan kaynaklanan “Agiri-Pakigiri-SBH Spektrumu'nun” en hafif şeklidir (51,72,73). Ak madde içinde görülen band şeklinde gri madde, tamamen gerçek bir kortekse benzememesine rağmen SBH'si *double cortex sendromu* olarak da adlandırılır (74).

Etkilenen dişi olguların yaklaşık %50'sinde fokal nöbetler, geri kalan %50'sinde ise generalize nöbetler vardır. %65 olguda dirençli epilepsi gözlenir. Bilişsel performans normalden hafif öğrenme güçlüğüne ve ağır mental retardasyona kadar değişir. SBH'de epilepsi ve mental retardasyonun ağırlığı subkortikal bantların kalınlığı ve uzanımına göre değişir. Fokal SBH'li olgularda mental retardasyon veya epilepsinin olmadığı normale yakın fenotip görülebilir (79).

DCX ile ilişkili SBH daha çok frontopariyetal korteksi tutar. Günümüzde bu paternde tutuluma neden olduğu bildirilen tek gen *DCX*'tir. *DCX* ile ilişkili SBH'de Kraniyal MR'da frontopariyetal bölgenin daha çok etkilendiği *Grade 6* (SBH) ve *Grade 5* (Pakigiri ve SBH) lizensefali gözlenir. *DCX* ile ilişkili mutasyonlar erkeklerde klasik lizensefali (Lizensefali tip 1), dişilerde SBH/*double korteks* sendromu fenotipine neden olur.

SBH'li dişilerin %85'inde, erkeklerin ise %29'unda *DCX* geninde nokta mutasyonları gösterilmiştir (59,62,68,71,79). Haverfield ve arkadaşları, 2009 yılında SBH'si olan dişilerde *DCX* geninin dizilenmesi ve MLPA yöntemi ile araştırılması ile olguların %90'ına tanı

konulacağını bildirmişlerdir (68). *LIS1* ile ilişkili SBH nadiren bildirilmiştir. Beynin oksipitotemporalinde SBH'si belirgin olan olgularda *LIS1* geni mutasyonları tanımlanmıştır.

Aile L08'de etkilenmiş kız olgu nistagmus, psiko-sosyal-motor gelişme geriliği ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR görüntüleri kalın subkortikal band heterotopisi (SBH) ile uyumlu bulundu. SBH tanısıyla yapılan kromozom analizi ve MDS'ye özgün FISH analizi normal sonuçlandı. *DCX*, *LIS1*, *TUBA1A* ve *YWHAE* genlerinde mutasyona neden olan patolojik bir değişiklik saptanmadı MLPA yöntemi ile *DCX* geni, *LIS1* geni, *LIS1* genine komşu *YWHAE*, *MGC3329*, *HIC1*, *KIAA0664* ve *GARNL4* genlerinin gen içi delesyon ve duplikasyonları saptamak amacıyla incelendi. İlgili genlerde delesyon veya duplikasyon saptanmadı. SBH'si olan olguların %90'ına *DCX* geninin dizilenmesi ve MLPA yöntemi ile tanı konulabileceği bildirilmesine rağmen, olgumuzda SBH'ye neden olan etiopatogenez aydınlatılamamış ve SBH'ye neden olan *DCX* mutasyonlarının somatik mozaizmi, gende dizi analizi yöntemiyle incelenmeyen diğer bölgelerde (regülatör, promotor, derin intronik) patolojik dizi değişimleri dışlanamamıştır. İleri aşamalarda farklı dokularda *DCX* mutasyonları açısından somatik mozaizim ve/veya olası diğer aday genlerin araştırılması planlanabilir.

Aile L09'de etkilenmiş kız olgu psiko-sosyal-motor gelişme geriliği, nöbet öyküsü ve kortikal anomali nedeniyle tarafımıza gönderilmişti. Kraniyal MR görüntüleri kalın subkortikal band heterotopisi (SBH) ile uyumlu bulundu. SBH tanısıyla yapılan karyotip analizi ve MDS'e özgün FISH analizi normal sonuçlandı. Kız olan olgumuzda SBH'si olduğu için ilk aşamada *DCX* geni dizilendi. *DCX* geninin 3.ekzonunda heterozigot c.605_607 delAGA mutasyonu saptandı. Anne ve babanın aynı mutasyonu taşımadığı gösterilerek, olgumuzun *de novo DCX* gen mutasyonunu heterozigot taşıdığı kesinleşti.

Olgumuzda saptanan bu değişiklik protein yapısını bozduğu için mutasyon olarak kabul edildi. Olgumuzdaki mutasyon *Human Mutation Database* veritabanında yer almamaktadır.. *De novo* olan olgumuzun yanlış anlamlı mutasyonu olduğu belirlenmiştir. Aigner ve arkadaşlarının *de novo* olgularda yanlış anlamlı mutasyonların sık görüldüğünün bildirilmesine karşın, birbirinden bağımsız çalışmalarda yanlış anlamlı mutasyonların *de novo* olgularda da gözlemlendiğini bildirilmiştir.

Serebellar Hipoplazi ile birlikte lizensefali (LCH); belirgin serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefalidir. LCH, klinik ve radyolojik değerlendirme ile 6 grupta (LCHa/LCH b/LCHc/LCHd/LCHe/LCHf/LCHg) incelenmiştir (30). **LCH (a);** 10-20 mm kalınlığında korteksi olan, belli bir lizensefali derecesi öngörülemeyen (agiri veya pakigiri) gruptur.

Beynin frontotemporalı etkilendiği ise *DCX*, parietookspital etkilendiyse *LIS1* geni mutasyonları ile ilişkilendirilmiştir. **LCH (b)**; orta derecede (4-10 mm) kortikal kalınlığın görüldüğü, pakigiri ile birlikte tüm serebellumun ağır etkilendiği ve serebellar folyaların seçilemediği *RELN* geni ile ilişkilendirilen gruptur. **LCH (c), LCH (d), LCH (e) ve LCH (f)**'nin moleküler etiopatogenezi belirlenememiştir.

Aile L10'da etkilenmiş 2 erkek olgu psiko-sosyal-motor gerilik, nöbet öyküsü, kortikal ve serebellar anomali nedeniyle gönderildi. Kraniyal MR'da orta derecede kalınlaşmış kortikal tabakanın olduğu frontal pakigiri, hafif posteriyor pakigiri, incelmış korpus kallozum, hafif derecede beyin sapı hipoplazisi ve ağır derecede panserebellar hipoplazi saptandı.

Olgu V-1'in (16 yaşında) mikrosefali, psiko-sosyal-motor retardasyon, nöbet öyküsü, periorbital dolgunluk; olgu V-II'nin (10 yaşında) konjenital glokom, psiko-sosyal-motor retardasyon ve nöbet öyküsü mevcuttu.

Olguların kromozom analizi ve MDS'ye özgün FISH çalışması normal sonuçlandı. *RELN* geni ile ilişkilendirilen LCH hastalığının otozomal resesif kalıtılması nedeniyle Aile L10'da etkilenmiş olgular (V-1 ve V-2I) ve olguların ebeveynlerinde (IV-7, IV-8, IV-17 ve IV-18) *RELN* geni için bağlantı analizi ile homozigotluk araştırması yapıldı ve *RELN* lokusuna bağlantı gösterildi. *RELN* proteinin ve *RELN* geninin incelenmesi planlandı.

RELN, 64 ekzonlu bir gen olduğu için öncelikle cDNA düzeyinde inceleme planlandı. Fibroblastlarda yüksek düzeyde eksprese olması nedeniyle fibroblast kültürü planlandı. Olgulardan deri biyopsisi alınamadığı için V-2 no'lu olgunun annesinden (IV-18) fibroblast kültürü yapılarak *RELN* geni cDNA düzeyinde dizilendi. cDNA düzeyinde dizilenemeyen 1.ekzonun genomik boyutta dizilenmesi planlandı.

IV-18 no'lu bireyde ekzon 1'de heterozigot c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG) mutasyonu saptandı. Etkilenmiş olgularda da (V-1 ve V-2) homozigot ve ebeveynlerde (IV-7, IV-8, IV-17) heterozigot c.C204G (p.tyr68X; TAC>TAG) mutasyonunun belirlenmesi ile hastalığın moleküler etiopatogenezi aydınlatılmış oldu. Olgumuzda saptanan bu değişiklik dur kodona neden olduğu için mutasyon olarak kabul edildi. *Human Mutation Database* veritabanında yer almadığı için anlamsız mutasyon bilimsel literatürde yayınlanmasının ardından veritabanına eklenmesi planlandı.

İlk kez Hourihane tarafından 1993 yılında, İngiliz kökenli 1,5.° kuzen evliliği yapmış bir ailenin 3 erkek çocuğunda lizensefaliye belirgin serebellar hipoplazinin eşlik ettiği

bildirilmiştir (85). Sonraki yıllarda serebellar hipoplazinin eşlik ettiği lizensefalili olguların sayısı artmıştır (86,87,88). Hong 2001 yılında Hourihane'nin yayınındaki etkilenmiş İngiliz kökenli bireyleri ile Arap kökenli 1.° kuzen evliliği yapmış bir ailenin etkilenmiş (1 kız, 2 erkek) ve etkilenmemiş bireylerini dahil ettiği bağlantı çalışması sonucunda bu fenotipin 7. kromozomun q22 bölgesine lokalize *RELN* geni ile ilişkili olduğunu göstermiştir (29).

Arap kökenli ailede *RELN* geninin *splice* akseptör bölgesinde homozigot IVS37AS, G-A, -1 mutasyonu saptanmıştır. Olguların psiko-sosyal-motor retardasyonu, epilepsileri ve hipotonileri olduğu bildirilmiştir.

Hong'un bildirdiği 1,5.derece kuzen evliliği yapmış İngiliz ailedeki etkilenmiş olguların klinik bulguları ise; normal baş çevresi, konjenital lenf ödem ve hipotoni mevcuttu. Kraniyal MR'da orta derecede lizensefali, belirgin serebellar hipoplazi bildirilmiştir. Ağır nöromotor retardasyonu olan olguların miyopi ve nistagmus gibi göz problemleri, generalize nöbet öyküleri vardı. Bu olgularda 43.ekzonda delesyon tipi mutasyon bildirilmiştir.

RELN geninde mutasyonu gösterdiğimiz Aile L10'da etkilenmiş olguların fenotipleri birbirinden farklıdır. Olgu I'in mikrosefalisi mevcutken, olgu II'nin baş çevresi 97.persantile yakındır. İngiliz ailedeki olgularda bildirilen konjenital lenfödem her iki olguda da bulunmamaktadır. Sadece Olgu I'in periorbital dolgunluğu dikkat çekmiştir. Olgu II'de gözlenen konjenital glokom ilk kez *RELN* geni ile ilişkili lizensefalide saptanmıştır.

Bu çalışma Türk toplumunda ilk kez yapılan Lizensefali Spektrumu ile ilişkili klinik/radyolojik/moleküler verilerin irdelendiği bir çalışmadır. Az sayıda olgu yer almasına rağmen farklı klinik/radyolojik alt gruplarda ileri moleküler incelemeler için akış şeması önerilmiştir (Şekil 3-1).

İTF Tıbbi Genetik AD'da Moleküler Laboratuvarı'nda yapılan ön çalışmalarla Lizensefali Spektrumu'na yönelik "moleküler inceleme paneli" oluşturulduğu için ileride rutin tanı hizmetinde kullanılması planlanmıştır.

Çalışmamıza dahil edilen 10 olgunun 7'sinde sitogenetik ve moleküler veriler ile etiyopatogenezi aydınlatılmıştır. 7 olgunun 3'ünün (Aile L03, Aile L07 ve Aile L10) bilimsel literatüre katkısı olacağı düşünülerek ilgili çalışmaların tamamlanıp fenotip/genotip ilişkisi açısından yayınlanması planlanmıştır.

Moleküler tanının kesinleşmesi bu ailelere özgün genetik danışma verilmesini sağlamıştır. Aile L10'da otozomal resesif kalıtılan ***Reelin* ile ilişkili serebellar hipoplazi ile birlikte lizensefali** için tekrarlama riski %25 olması nedeniyle aileye taşıyıcılık ve prenatal tanı seçenekleri sunulmuştur.

Aile L01 ve Aile L07'de etkilenen olguların *de novo* olduğunun anlaşılmasından sonra bu ailelere gonadal mozaisizm riski nedeniyle için prenatal tanı yapılmıştır.

Şimdiye kadar Lizensefali ile ilişkilendirilmiş tüm genler (*LISI*, *DCX*, *TUBA1A*, *ARX*) ve *LISI* genine komşu olması nedeniyle fenotipi modifiye edici etkisi olduğu düşünülerek aday gen olarak seçilen *YWHAE* çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu nedenle tanısı moleküler olarak konulamayan 3 olgu (L04, L05, L08) lizensefali ile ilişkili aday gen çalışmaları için ideal bir gruptur.

6. KAYNAKLAR

1. Sadler TW. Ovulation to Implantation and Central Nervous System In: Sadler T.W. (ed): Langman's Medical Embryology, 7th ed., Williams&Wilkins, Maryland, pp. 23-41 and 374-412.1995.
2. Moore KL, Persaud TVN. The Nervous System. In: Moore K.L., Persaud T.V.N. (eds): Before We Are Born- Essentials of Embryology and Birth defects, 6th ed. Saunders, pennsylvania,pp. 343-70.2003.
3. Larsen WJ. Development of the Brain and Cranial Nerves.In: Larsen W.J. (ed) Human Embryology, Churchill Livingstone, Newyork.pp350-375.1993.
4. Barkovich AJ. Congenital Malformations of the Brain and Skull. In:Barkovich A.J (ed) : Pediatric Neuroimaging, 4th ed. Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, pp. 320-323. 2005.
5. Cerebrum (internette) erişim: 06.06.2009, Wikipedia, The Free Encyclopedia World Wide Web URL: <http://www.en.wikipedia.org/w/index>
6. Zigot (internette) erişim:06.06.2009, University of Toronto Mississauga World Web URL: <http://www.utm.utoronto.ca/~w3bio380/lecture10.htm>
7. Embriyogenez (internette) erişim:06.06.2009 Wikipedia, The Free Encyclopedia World Wide Web URL: <http://www.en.wikipedia.org/w/index>
8. Development of the Cerebellum - Granule Cell Specification and Proliferation Pathways (internette) erişim:06.06.2009 Laboratory of Developmental Neurobiology The Hatten Lab web site <http://www.rockefeller.edu/labheads/hatten/cerebellumdevelopment.html>
9. Nadarajah B, Brunstrom JE, Grutzendler J, Wong RO, Pearlman AL. Two modes of radial migration in early development of the cerebral cortex. *Nat. Neurosci* 2001; 4: 143–50.
10. Nadarajah B, Parnavelas JG. Modes of neuronal migration in the developing cerebral cortex. *Nat. Rev. Neurosci* 2002; 3: 423–32.
11. Marin O, Rubenstein JL. A long, remarkable journey: tangential migration in the telencephalon. *Nat. Rev. Neurosci* 2001; 2: 780–90.

12. Nadarajah B, Alifragis P, Wong RO ve Parnavelas JG. Ventricle-directed migration in the developing cerebral cortex. *Nat. Neurosci* 2002 ; 5: 218–24.
13. Kerjan G, Gleeson JG. Genetic mechanisms underlying abnormal neuronal migration in classical lissencephaly *Trends Genet* 2007; 23(12):623-30.
14. Ghashghaei HT, Lai C, Anton ES. Neuronal migration in the adult brain: are we there yet?, *Nat.Rev.Neurosci* 2007; 8: 141-151.
15. D’Arcangelo G, Miano GG, Chen SC, Soares HD, Morgan JI, Curran T. A protein related to extracellular matrix proteins deleted in the mouse mutant reeler *Nature* 1995; 374: 719-23.
16. Guerrini E, Parrini E. Neuronal migration disorders *Neurobiol Dis* 2010;38(2):154-66.
17. Toyo-oka K, Hirotsume S, Gambello MJ, Zhou ZQ, Olson L, Rosenfeld MG. ve ark. Loss of the Max-interacting protein Mnt in mice results in decreased viability, defective embryonic growth and craniofacial defects: relevance to Miller-Dieker syndrome. *Hum Mol Genet* 2004;13(10):1057-67.
18. Cardoso C, Leventer RJ, Ward HL, Toyo-Oka K, Chung J, Gross A. ve ark. Refinement of a 400-kb critical region allows genotypic differentiation between isolated lissencephaly, Miller-Dieker syndrome, and other phenotypes secondary to deletions of 17p13.3. *Am J Hum Genet* 2003;72(4):918-30.
19. Rehberg M, Kleylein-Sohn J, Faix J, Ho TH, Schulz I, Gräf R. Dictyostelium LIS1 is a centrosomal protein required for microtubule/cell cortex interactions, nucleus/centrosome linkage, and actin dynamics. *Mol. Biol. Cell* 2005;16:2759–2771.
20. Smith DS, Niethammer M, Ayala R, Zhou Y, Gambello MJ, Wynshaw-Boris A. ve ark. Regulation of cytoplasmic dynein behaviour and microtubule organization by mammalian Lis1. *Nat. Cell Biol* 2000; 2: 767–775.
21. Xiang X, Osmani AH, Osmani SA, Xin M, Morris NR. NudF, a nuclear migration gene in *Aspergillus nidulans*, is similar to the human LIS-1 gene required for neuronal migration. *Mol. Biol. Cell* 1995;6:297–310.
22. Miura K, Watanabe K, Maeda N, Matsumoto A, Kumagai T, Ito K. ve ark. Magnetic resonance imaging and positron emission tomography of band heterotopia. *Brain Dev* 1993; 15: 288–290.

23. Jirsch JD, Bernasconi N, Villani F, Vitali P, Avanzini G, Bernasconi A. Sensorimotor organization in double cortex syndrome. *Hum. Brain Mapp* 2006;27:535–543.
24. Taylor KR, Holzer AK, Bazan JF, Walsh CA, Gleeson JG. Patient mutations in doublecortin define a repeated tubulin-binding domain. *J. Biol. Chem* 2000;275: 34442–34450.
25. Sapir T, Horesh D, Caspi M, Atlas R, Burgess HA, Wolf SG. Doublecortin mutations cluster in evolutionarily conserved functional domains. *Hum. Mol. Genet* 2000; 9: 703–712.
26. Edelman AM, Kim WY, Higgins D, Goldstein EG, Oberdoerster M, Sigurdson W. Doublecortin kinase-2, a novel doublecortin-related protein kinase associated with terminal segments of axons and dendrites. *J. Biol. Chem* 2005;280: 8531–8543.
27. Poirier, K. Keays DA, Francis F, Saillour Y, Bahi N, Manouvrier S, Fallet-Bianco C. ve ark. Large spectrum of lissencephaly and pachygyria phenotypes resulting from de novo missense mutations in tubulin alpha 1A (TUBA1A). *Hum.Mutat* 2007;28: 1055–1064.
28. Keays DA, Tian G, Poirier K, Huang GJ, Siebold C, Cleak. ve ark. Mutations in alpha-tubulin cause abnormal neuronal migration in mice and lissencephaly in humans. *Cell* 2007;128:45–57.
29. Hong SE, Shugart YY, Huang DT, Shahwan SA, Grant PE, Hourihane JO. ve ark. Autosomal recessive lissencephaly with cerebellar hypoplasia is associated with human RELN mutations. *Nat. Genet* 2000; 26: 93–96.
30. Ross ME, Swanson K, Dobyns WB. Lissencephaly with cerebellar hypoplasia (LCH):a heterogeneous group of cortical malformations. *Neuropediatrics* 2001; 32: 256–263.
31. Hiesberger T, Trommsdorff M, Howell BW, Goffinet A, Mumby MC, Cooper JA. ve ark. Direct binding of Reelin to VLDL receptor and ApoE receptor 2 induces tyrosine phosphorylation of disabled-1 and modulates tau phosphorylation. *Neuron* 1999;24: 481–489.
32. D'Arcangelo G. Reelin mouse mutants as models of cortical development disorders. *Epilepsy. Behav* 2006; 8: 81–90.
33. Assadi AH, Zhang G, Beffert U, McNeil RS, Renfro AL, Niu S. ve ark. Interaction of reelin signaling and Lis1 in brain development. *Nat. Genet* 2003; 35: 270–276.

34. Dobyns WB, Berry-Kravis E, Havernick NJ, Holden KR, Viskochil D. Xlinked lissencephaly with absent corpus callosum and ambiguous genitalia. *Am. J. Med. Genet* 1999b; 86: 331–337.
35. Bonneau D, Toutain A, Laquerrière A, Marret S, Saugier-veber P, Barthez A. ve ark. X-linked lissencephaly with absent corpus callosum and ambiguous genitalia (XLAG): clinical, magnetic resonance imaging, and neuropathological findings. *Ann. Neurol* 2002; 51: 340–349.
36. Kato M, Das S, Petras K, Kitamura K, Morohashi K, Abuelo DN ve ark. Mutations of ARX are associated with striking pleiotropy and consistent genotype–phenotype correlation. *Hum. Mutat* 2004; 23: 147–159.
37. Friocourt G, Kanatani S, Tabata H, Yozu M, Takahashi T, Antypa M. ve ark. Cell-autonomous roles of ARX in cell proliferation and neuronal migration during corticogenesis. *J. Neurosci* 2008; 28: 5794–5805.
38. Okazaki S, Ohsawa M, Kuki I, Kawawaki H, Koriyama T, Ri S. ve ark. Aristaless-related homeobox gene disruption leads to abnormal distribution of GABAergic interneurons in human neocortex: evidence based on a case of Xlinked lissencephaly with abnormal genitalia (XLAG). *Acta Neuropathol* 2008; 116: 453–462.
39. Strømme P, Mangelsdorf ME, Shaw MA, Lower KM, Lewis SME, Bruyere H. ve ark. Mutations in the human ortholog of Aristaless cause X-linked mental retardation and epilepsy. *Nat. Genet* 2002; 30: 441–445.
40. Guerrini R, Moro F, Kato M, Barkovich AJ, Shiihara T, McShane MA. ve ark. Expansion of the first PolyA tract of ARX causes infantile spasms and status dystonicus. *Neurol* 2007; 69: 427–433.
41. Verloes A. Microcephalia vera and microcephaly with simplified gyral pattern. Orphanet Encyclopeida, February 2004.
42. Barkovich AJ, Kuzniecky RI, Jackson GD. A developmental and genetic classification for malformations of cortical development. *Neurol* 2005; 65: 1873–1887.
43. Pang T, Atefy R, Sheen V. Malformations of Cortical Development, *Neurologist* 2008; 14(3):181-91.

44. Jackson AP, Eastwood H, Bell SM, Adu J, Toomes C, Carr IM ve ark. Identification of microcephalin, a protein implicated in determining the size of the human brain. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 136–42.
45. Bond J, Roberts E, Springell K, Lizarraga SB, Scott S, Higgins J. ve ark., A centrosomal mechanism involving CDK5RAP2 and CENPJ controls brain size. *Nat Genet* 2005; 37: 353–5.
46. Bond J, Roberts E, Mochida GH, Hampshire DJ, Scott S, Askham J. ve ark. ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat Genet* 2002; 32: 316–20.
47. Kumar A, Girimaji SC, Duvvari MR, Blanton SH. Mutations in STIL, encoding a pericentriolar and centrosomal protein, cause primary microcephaly. *Am J Hum Genet* 2009; 84: 286–90.
48. Roberts E, Jackson A P, Carradice AC, Deeble VJ, Mannan J, Rashid Y. ve ark. The second locus for autosomal recessive primary microcephaly (MCPH2) maps to chromosome 19q13.1-13.2. *Europ. J. Hum. Genet* 1999; 7: 815-820.
49. Jamieson CR, Govaerts C, Abramowicz MJ. Primary autosomal recessive microcephaly: homozygosity mapping of MCPH4 to chromosome 15. (Letter) *Am. J. Hum. Genet* 1999; 65: 1465-1469.
50. De Rijk-Van Andel JF, Arts WF, Hofman A, Staal A, Niermeijer MF. Epidemiology of lissencephaly type I. *Neuroepidemiology* 1991;10: 200-204.
51. Barkovich AJ, Koch TK, Carrol CL. The spectrum of lissencephaly: report of ten patients analyzed by magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 1991;30:139–146.
52. LIS1-Associated Lissencephaly/Subcortical Band Heterotopia (internette) Erişim: 06.06.2009) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/GeneTests/?db=GeneTests>
53. Miller JQ. Lissencephaly in 2 siblings. *Neurol* 1963;13: 841-850.
54. Dieker H, Edwards RH, ZuRhein G, Chou SM, Hartman HA, Opitz JM. The lissencephaly syndrome. In: Bergsma, D. : The Clinical Delineation of Birth Defects: Malformation Syndromes. New York: National Foundation-March of Dimes II 1969. Pp. 53-64

55. Dobyns WB, Stratton RF, Parke JT, Greenberg F, Nussbaum R, Ledbetter DH. The Miller-Dieker syndrome: lissencephaly and monosomy 17p. *J. Pediatr.* 1983;102: 552-558.
56. Dobyns WB, Stratton RF, Greenberg F. Syndromes with lissencephaly. I: Miller-Dieker and Norman-Roberts syndromes and isolated lissencephaly. *Am. J. Med. Genet* 1984;18;509-526.
57. Reiner O, Carrozzo R, Shen Y, Wehnert M, Faustinella F, Dobyns WB. et al. Isolation of a Miller-Dieker lissencephaly gene containing G protein beta-subunit-like repeats. *Nature* 1993 364: 717-721.
58. Dobyns WB, Curry CJR, Hoyme HE, Turlington L, Ledbetter DH. Clinical and molecular diagnosis of Miller-Dieker syndrome. *Am. J. Hum. Genet* 1991;48: 584-594.
59. Dobyns WB, Elias ER, Newlin AC, Pagon RA, Ledbetter DH. Causal heterogeneity in isolated lissencephaly. *Neurol* 1992; 42: 1375–88.
60. Kuzniecky, R.I. Malformations of cortical development and epilepsy, part 1: diagnosis and classification scheme. *Rev. Neurol. Dis* 2006; 3: 151–162.
61. Guerrini R. Genetic malformations of the cerebral cortex and epilepsy. *Epilepsia* 2005; 46 Suppl 1: 32–7.
62. Pilz DT, Macha ME, Precht KS, Smith AC, Dobyns WB, Ledbetter DH. Fluorescence in situ hybridization analysis with LIS1 specific probes reveals a high deletion mutation rate in isolated lissencephaly sequence. *Genet Med* 1998a; 1: 29–33.
63. Leventer RJ, Cardoso C, Ledbetter DH, Dobyns WB. LIS1 missense mutations cause milder lissencephaly phenotypes including a child with normal IQ. *Neurol* 2001; 57: 416–22.
64. Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, Matsumoto N, Pilz DT, Ledbetter DH, et al., Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly. *Neurol* 1999; 53: 270–7.
65. Pilz DT, Matsumoto N, Minnerath S, et al. LIS1 and XLIS (DCX) mutations cause most classical lissencephaly, but different patterns of malformation. *Hum Mol Genet* 1998;7(13):2029-2037.
66. Cardoso C, Leventer RJ, Matsumoto N et al: The location and type of mutation predict malformation severity in isolated lissencephaly caused by abnormalities within the LIS1 gene. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 3019– 3028.

67. Mei D, Lewis R, Parrini E, Lazarou LP, Marini C, Pilz DT ve ark., High frequency of genomic deletions—and a duplication—in the LIS1 gene in lissencephaly: implications for molecular diagnosis. *J Med Genet* 2008; 45: 355–61.
68. Haverfield EV, Whited AJ, Petras KS, Dobyns WB, Das S Intragenic deletions and duplications of the LIS1 and DCX genes – a major disease-causing mechanism in lissencephaly and subcortical band heterotopia. *Eur J Hum Genet* 2009 Jul;17(7):911-8.
69. Uyanik G, Morris-Rosendahl DJ, Stiegler J, Klapceki J, Gross C, Berman Y, ve ark. Location and type of mutation in the LIS1 gene do not predict phenotypic severity. *Neurol* 2007; 69: 442–445.
70. Gleeson JG, Minnerath SR, Fox JW Characterization of mutations in the gene doublecortin in patients with double cortex syndrome. *Ann Neurol* 1999; 45:146–153.
71. D’Agostino MD, Bernasconi A, Das S, Bastos A, Valerio RM, Palmini A. ve ark. Subcortical band heterotopia (SBH) in males: clinical, imaging and genetic findings in comparison with females. *Brain* 2002; 125: 2507–22.
72. Dobyns WB, Andermann E, Andermann F, Czapansky-Beilman D, Dubeau F, Dulac O. ve ark. X-linked malformations of neuronal migration. *Neurol* 1996; 47: 331-339.
73. Harding B. Gray matter heterotopia. In Guerrini R, Canapicchi R, Zifkin BG, Andermann F, Roger J - Pfanner P. (eds), *Dysplasias of Cerebral Cortex and Epilepsy* Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996, PA, pp. 81-89.
74. Des Portes V, Pinard JM, Smadja D, Motte J, Boespflug-Tanguy O, Moutard ML. ve ark. Dominant X linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome (XSCLH/LIS): evidence for the occurrence of mutation in males and mapping of a potential locus in Xq22. *J. Med. Genet* 1997;34: 177-183.
75. Srivastava A K, Ross RE, Allen KM, Featherstone T, Christopher J, Gleeson GJ. ve ark. X-linked lissencephaly and SBH (XLIS): mapping of a novel neuronal migration gene. (Abstract) *Am. J. Hum. Genet* 59 1996 (suppl.): A55.
76. Guerrini R, Carrozzo R. Epilepsy and genetic malformations of the cerebral cortex. *Am J Med Genet* 2001; 106: 160–73.
77. Aigner L, Uyanik G, Couillard-Despres S, Ploetz S, Wolff G, Morris-Rosendahl D. ve ark. Somatic mosaicism and variable penetrance in doublecortin-associated migration disorders. *Neurol* 2003; 60: 329–32.

78. Martin P, Uyanik G, Wiemer-Kruel A, Schneider S, Gross C, Hehr U. ve ark. Different clinical and morphological phenotypes in monozygotic twins with identical DCX mutation. *J Neurol* 2004; 251: 108–10.
79. Pilz DT, Kuc J, Matsumoto N, Bodurtha J, Bernadi B, Tassinari CA. ve ark. Subcortical band heterotopia in rare affected males can be caused by missense mutations in DCX (XLIS) or LIS1. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 1757–60.
80. Matsumoto N, Leventer RJ, Kuc JA, Mewborn SK, Dudleycek LL, Ramocki MB. ve ark. Mutation analysis of the DCX gene and genotype/phenotype correlation in subcortical band heterotopia. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 5–12.
81. Gleeson JG, Minnerath S, Kuzniecky RI. Somatic and germline mosaic mutations in the doublecortin gene are associated with variable phenotypes. *Am J Hum Genet* 2000; 67: 574–581.
82. Sicca F, Kelemen A, Genton P, Das S, Mei D, Moro F. ve ark. Mosaic mutations of the LIS1 gene cause subcortical band heterotopia. *Neurol* 2003; 61: 1042–6.
83. Ghai S, Fong KW, Toi A, Chitayat D, Pantazi S, Blaser S. Prenatal US and MR imaging findings of lissencephaly: Review of fetal cerebral sulcal development. *Radiographics* 2006; 26: 389–405.
84. Norman MG, Roberts M, Sirois J, Tremblay LJM. Lissencephaly. *Canad. J. Neurol. Sci* 3 1976; 39: 40-46.
85. Hourihane J O, Bennett CP, Chaudhuri R, Robb SA, Martin NDT. A sibship with a neuronal migration defect, cerebellar hypoplasia and congenital lymphedema. *Neuropediatrics* 1993; 24: 43-46.
86. Al Shahwan SA, Bruyn GW, al Deeb SM. Non-progressive familial congenital cerebellar hypoplasia. *J Neurol Sci* 1995; 128: 71-77.
87. Kerner B, Graham JM Jr, Golden JA, Pepkowitz SH, Dobyns WB. Familial lissencephaly with cleft palate and severe cerebellar hypoplasia. *Am J Med Genet* 1999; 87: 40-44.
88. Kroon AA, Smit BJ, Barth PG, Hennekam RC. Lissencephaly with extreme cerebral and cerebellar hypoplasia. A magnetic resonance imaging study. *Neuropediatrics* 1996; 27: 54-57.
89. Chang BS, Duzcan F, Kim S, Cinbis M, Aggarwal A, Apse KA. ve ark. The role of RELN in lissencephaly and neuropsychiatric disease *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B(1):58-63.

90. Zaki M, Shehab M, El-Aleem AA, Abdel-Salam G, Koeller HB, Ilkin Y. ve ark. Identification of a novel recessive RELN mutation using a homozygous balanced reciprocal translocation. *Am. J. Med. Genet* 2007; 143A: 939-944.
91. Boycott KM, Flavelle S, Bureau A, Glass HC, Fujiwara TM, Wirrell E. ve ark. Homozygous deletion of the very low density lipoprotein receptor gene causes autosomal recessive cerebellar hypoplasia with cerebral gyral simplification. *Am. J. Hum. Genet* 2005; 77: 477-483.
92. Hagberg B, Sanner G, Steen M. The dysequilibrium syndrome in cerebral palsy. Clinical aspects and treatment. *Acta Paediat. Scand.* 611972 (suppl. 226): 1-63.
93. Tan U. Unertan syndrome: review and report of four new cases. *Int. J. Neurosci* 2008; 118: 211-225.
94. Tan U, Karaca S, Tan M, Yilmaz B, Bagci N, Ozkur A. ve ark. Unertan syndrome: a case series demonstrating human devolution. *Int. J. Neurosci* 2008; 118: 1-25.
95. Turkmen S, Hoffmann K, Demirhan O, Aruoba D, Humphrey N, Mundlos S. Cerebellar hypoplasia, with quadrupedal locomotion, caused by mutations in the very low-density lipoprotein receptor gene. *Europ. J. Hum. Genet* 2008; 16: 1070-1074.
96. Ozcelik T, Akarsu N, Uz E, Caglayan S, Gulsuner S, Onat OE. ve ark. Mutations in the very low-density lipoprotein receptor VLDLR cause cerebellar hypoplasia and quadrupedal locomotion in humans. *Proc. Nat. Acad. Sci T* 2008;105: 4232-4236.
97. Ross ME, Walsh CA. Human brain malformations and their lessons for neuronal migration. *Ann Rev Neurosci* 2001; 24; 47-49.
98. Ogata T, Matsuo N, Hiraoka N, Hata J. X-linked lissencephaly with ambiguous genitalia: delineation of further case. (Letter) *Am. J. Med. Genet* 2000; 94: 174-176.
99. Kitamura K, Yanazawa M, Sugiyama N, Miura H, Iizuka-Kogo A, Kusaka M. ve ark. Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans. *Nature Genet* 2002; 32: 359-369.
100. Kato M, Dobyns WB. Lissencephaly and the molecular basis of neuronal migration. *Human Molecular Genetics* 2003; 12: 886-896.

- 101.Human Genome Mutation Database (internette) erişim:26.08.2009 World Wide Web URL:
<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=PAFAH1B1>
- 102.Uniprot Database (internette) erişim: 28.08.2009 World Wide Web URL
<http://www.uniprot.org/uniprot/P43034>
- 103.Ensembl Database (internette) erişim: 28.08.2009 World Wide Web URL
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG000000007168
- 104.Des Portes V, Pinard JM, Billuart P. A novel CNS gene required for neuronal migration and involved in X-linked subcortical laminar heterotopia and lissencephaly syndrome. *Cell* 2008;92:51–61.
- 105.Des Portes V, Francis F, Pinard JM, Desguerre I, Moutard ML, Snoeck I. ve ark. Doublecortin is the major gene causing X-linked subcortical laminar heterotopia (SCLH). *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1063–70.
- 106.Dobyns WB, Truwit CL, Ross ME, Matsumoto N, Pilz DT, Ledbetter DH. ve ark. Differences in the gyral pattern distinguish chromosome 17-linked and X-linked lissencephaly. *Neurol* 1999; 53:270–277.
- 107.Guerrini R, Dobyns WB, Barkovich AJ. Abnormal development of the human cerebral cortex: genetics, functional consequences and treatment options. *Trends Neurosci* 2008; 31:154–162.
- 108.Ghanbari Marand A. De novo yapısal kromozom anomalilerinde mikrosatellit analizleri ile parenteral kökenin belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.Doktora tezi. İstanbul. 2000.
- 109.Erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL
<http://www.caringbridge.org/visit/gianaboydberardi/photos>
- 110.Erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL <http://www.pediatricneuro.com/alfonso/pg47.htm>
- 111.Molecular Cloning Sambrook Volume I-II-II

- 112.Burpo FJ. A critical review of PCR primer design algorithms and crosshybridization case study. 2001.
- 113.Chong SS, Pack SD, Roschke AV, Tanigami A, Carrozzo R, Smith AC. ve ark. A revision of the lissencephaly and Miller-Dieker syndrome critical regions in chromosome 17p13.3. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 147–55.
- 114.Cardoso C, Leventer RJ, Dowling JJ, Ward HL, Chung J, Petras KS. ve ark. Clinical and molecular basis of classical lissencephaly: mutations in the LIS1 gene. *Hum Mutat* 2002; 19: 4–15.
- 115.Pierre-Louis L, Souville I, Boddaert N, Elie C, Pinard JM, Plouin P. ve ark The location of DCX mutations predicts malformation severity in X-linked lissencephaly. *Neurogen* 2008; 9:277-285.
- 116.Uniprot Database erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL
<http://www.uniprot.org/uniprot/O43602>
- 117.Human Genome Mutation Database (internette) erişim:26.08.2009 World Wide Web URL:
<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=DCX>
- 118.Ensembl Database erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000167552
- 119.Bahi-Buisson N, Poirier K, Boddaert N, Saillour Y, Castelnau L, Philip N. ve ark. Refinement of cortical dysgeneses spectrum associated with TUBA1A mutations. *J Med Genet* 2008 Oct;45(10):647-53.
- 120.Morris-Rosendahl DJ, Najm J, Lachmeijer AM, Sztriha L, Martins M, Kuechler A. ve ark. Refining the phenotype of alpha-1a Tubulin (TUBA1A) mutation in patients with classical lissencephaly. *Clin Genet* 2008 Nov;74(5):425-33.
- 121.Ensembl Database erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000189056

122. Fatemi SH. Reelin mutations in mouse and man: From reeler mouse to schizophrenia, mood disorders, autism and lissencephaly. *Mol Psychiatry* 2001; 6:129–133.
123. Guidotti A, Auta J, Davis JM, DiGiorgi-Gerevini V, Dwivedi Y, Grayson DR. ve ark. Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase 67 (GAD 67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: A postmortem Brain study. *Arch Gen Psychiatry* 2000; 57:1061–1069.
124. Ensembl database 27.06.2009 World Wide Web URL
http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Gene/Summary?g=ENSG00000004848
125. Uniprot Database erişim: 27.06.2009 World Wide Web URL
<http://www.uniprot.org/uniprot/Q96QS3>
126. UCSC Genome Browser erişim: 22.06.2009 World Wide Web URL
<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?position=chr17:2443673-2535659&hgid=164122904&knownGene=pack&hgFind.matches=uc002fuw.2>
127. Chih-Ping C, Yu-Peng L, Shaun-Pei L, Ming C, Fuu-Jen T, Yu-Ting C. ve ark. Ventriculomegaly, Intrauterine Growth Restriction, and Congenital Heart Defects as Salient Prenatal Sonographic Findings of Miller-Dieker Lissencephaly Syndrome Associated With Monosomy 17p(17p13.2→pter) in a Fetus. *Taiw Journ of Obs and Gynec* 2004; 49:81-86.
128. Greco P, Resta M, Vimercati A, Dicuonzo F, Loverro G, Vicino M, Selvaggi L. Antenatal diagnosis of isolated lissencephaly by ultrasound and magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998 ;12(4):276-9.
129. Saillour Y, Carion N, Chloé Quelin MS, Leger PL, Boddaert N. *LIS1*-Related Isolated Lissencephaly Spectrum of Mutations and Relationships With Malformation Severity. *Arch Neurol* 2009;66(8):1007-1015.

7. MOLEKÜLER İNCELEMELER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI

MOLEKÜLER İNCELEMELER İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Proje Adı: “Nöronal migrasyon anomalilerinde genotip-fenotip ilişkisi”

Tarih:

Bu inceleme, nöronal migrasyon anomalisi klinik ve radyolojik tanısı alan seçilmiş olgularda literatürde şimdiye kadar tanımlanmış genlerin (*DCX, ARX, LIS 1, YWHAE, RELN, TUBA1A*) ve 17p13 mikrodelsiyonunun moleküler sitogenetik ve moleküler yöntemler ile incelenmesini amaçlamaktadır. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı polikliniğe gönderilen olgularda tanı amaçlı yukarıda sayılan genlerin incelemelerinin yapılmasına izin vermeden önce sizleri çalışmanın amacı, riskleri ve yararları konusunda bilgilendirmek istiyoruz.

Aşağıdaki **Moleküler İncelemeler için Bilgilendirilmiş Onay Formunu** okuduktan sonra çalışmaya katılma kararı vererseniz formu lütfen imzalayınız.

1.Yapılacak işlemin tanımı: İnceleme, nöronal migrasyon anomalilerinin nedeninin ileri düzeyde aydınlatılmasını amaçlamaktadır. Bu çalışmalar İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tarafından yürütülecektir.

İleri moleküler analizlerin yapılması için hastaların tanı amacı ile önceden alınmış olan mevcut doku örnekleri kullanılacaktır. Seçilecek uygun olgularda sitogenetik (karyotip ve FISH analizi) ve moleküler yöntemler (dizi analizi) kullanılarak detaylı tanıya gidilmeye çalışılacaktır. Eldeki örneklerin yetersiz olması ya da kullanılamaması durumunda hastadan yeniden doku (kan, vb) örnekleri almamız gerekebilir. Bu durumda hasta ve aile bilgilendirilecek ve izni alınacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Bu incelemeler için sizden alınan kanlardan ve/veya deri biyopsisinden elde edilecek örneklerinizin saklanması konusunda lütfen aşağıdaki seçeneklerden birini seçiniz:

a.Elde edilen doku örneğimin çalışma bittikten sonra bölümünüz örnek bankasında saklanmasına izin veriyorum

b.Elde edilen doku örneğimin çalışma bittikten sonra imha edilmesini istiyorum

Doku örneğiniz saklandığı takdirde size sorulmadan, izniniz alınmadan hiçbir şekilde başka bir çalışma için kullanılmayacaktır

2. Olası riskler ve faydalar :

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) İğne-batmasına bağlı olarak az bir acı duyulması. (2) İğne batması sonrasında çok nadiren enfeksiyon gelişebilir.

Deri Biyopsisi alınması sırasında oluşabilecek riskler: (1) Biyopsi alınan bölgede çok hafif bir acı hissi duyulabilir (2) biyopsi bölgesinde çok nadiren enfeksiyon gelişebilir

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Size ait genetik bilgi kesinlikle gizli kalacaktır. Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir.

İnceleme sonunda elde edilecek sonuçlar istediğiniz takdirde size bildirilecektir. Ancak bu bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninize bağlı olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne yada babanın biyolojik kimliğinin saptanmasıdır. Bu durumlarda da gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Olası yararlar: Bu incelemelerin esas amacı sizde/aile bireyinizde saptanan kromozom anomalisini daha detaylı araştırmak ve genotip-fenotip ilişkisinin anlaşılmasına yardımcı olacak bilgilere ulaşmaktır.

Diğer seçenekler: Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

Uygulanacak işlemin yapısı ve amacı hakkında, olası riskleri ve yararları tarafımdan,

(Doktor Adı)

hastaya,

(Aile Adı)

(Tanık Kişi)

anlatılmıştır. Sorulan sorular tarafımdan cevaplandırılmış ve cevaplandırılmaya devam edilecektir. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek yeni riskler ve/veya yararlar tarafımdan katılımcıya iletilecektir.

Tarih :

Doktorun imzası:

Kontak kurulabilecek kişiler: Prof. Dr. Hülya KAYSERİLİ
Dr. Ayça Dilruba Aslanger

Ulaşılabilecek Tel. No.'ları: Direkt hat: (0 212) 631 13 63 (0 212) 534 84 40
Dahili hat: (0 212) 414 20 00 – 32564/32327

Ulaşım Adresi: İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı
Millet Cad. 34390 Çapa – İSTANBUL

İzin: Yukarıda tanımlanan ileri düzey incelemenin uygulanması, riskleri ve yararları ile ilgili yeterince bilgi aldım. Bu çalışmaya kendimin (çocuğumun) katılmasına izin veriyorum. Çalışmanın herhangi bir aşamasında şayet vazgeçersem onayımı çekmek hakkında özgür olduğumu biliyorum. Bu nedenle kendimin/çocuğumun bir zarar görmeyeceğini anladım. Araştırma bulguları, ailemdeki genetik hastalığın klinik ve moleküler tanısına ve tedavisine faydalı sonuçlar vermesi durumunda bana rapor edileceğini kabul ettiğimi bildirmek istiyorum.

Adı Soyadı

Doğum tarih

İmza

(Ebeveyn)

Aile üyesi -----

Aile üyesi -----

8. EKLER

8.1. *LIS1* geninin genomik DNA primerleri

Primer adı	Ekzon	Primer Dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (bp)
LIS1 FA	1.ekzon	5'-GCG TGA GAA GCA GCA CCT -3'	58	680
LIS1 RA		5'-CGC AGC CAC ATC GTC A-3'	52	
LIS1 FB	1. ekzon	5'-GCC AGG AAC TCA TCA CAT CT-3	60	1005
LIS1 RB		5'-GCT GCA GCC ACA GGA TAT-3'	58	
LIS1 FC	1.ekzon	5'-CAG TTC ATC AGC CTT TGA CTT -3'	60	593
LIS1 RC		5'-GCT AGA CAC AGC CTA GGC TTA -3'	64	
LIS1 F2	2.ekzon	5'-GCT GTT TTG GCT CAT TGA AT -3'	56	487
LIS1 R2		5'-CTA CTT TCT CTC TCA TGA GGG A-3'	64	
LIS1 F3	3-4.ekzon	5'- GGA TGT AGT ATG ACA GGG GCT-3'	64	1116
LIS1 R3		5'- CCA GTC AGC AAC TCC AGA T-3'	58	
LIS1 F5	5.ekzon	5'-CAG CCT TAG AGG GAC CAA GA -3'	62	758
LIS1 R5		5'- CAG AGT ACC TCC TGT CCC TCT -3'	66	
LIS1 F6	6.ekzon	5'-GAC TGG CCT GCT GAG TGC -3'	56	406
LIS1 R6		5'-CTG TGG CTT ATC CCT GGA CTA-3'	64	
LIS1 F7	7.ekzon	5'-GTC AAT TGA TGT TTC ATT GCT -3'	56	550
LIS1 R7		5'- CTG CAA CAC CAG AAC ACA AT-3'	58	
LIS1 F8	8.ekzon	5'- CAC TTC TGG GAA GTG TCC TGA T-3'	66	416
LIS1 R8		5'-GAT TCA GAA TTG CTG GAT GCA -3'	60	
LIS1 F9	9.ekzon	5'-CAT ACC TAA CTT CTT GTG TGG GA -3'	66	373
LIS1 R9		5'- ACA CCG ACT GGC TCT ACA GAT-3'	64	
LIS1 F10	10.ekzon	5'- GCC TTT TAC TGA GTC AAA TAA CT-3'	62	277
LIS1 R10		5'- GCA AAG TCC ACA CGA TTA T-3'	54	
LIS1 F11	11.ekzon	5'- CCA GGC TTA CGT GTG AGT TTT A-3'	64	292
LIS1 R11		5'- GAT TCA CCA TGC ATG AAT ACT TT-3'	62	

Tablo 8-1: *LIS1* geninin genomik DNA primerleri

8.2. DCX geninin genomik DNA primerleri

Primer adı	Ekzon	Primer Dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (bp)
DCX 1.1F	1.ekzon	5'-GCA CAT TGC TCA TTA GAG CAT- 3'	60	603
DCX 1.1R		5'-CAA GGC AAG CAG CAA ACA T-3'	56	
DCX 1.2F	1.ekzon	5'-GAG GTG TTG CTG CAT CAG T-3'	58	697
DCX 1.2R		5'-GAC CTG CAG GAA TAT TGA TCT-3'	60	
DCX 2F	2. ekzon	5'-GCA GAT CTG GAT CTG GCT AAT-3'	62	677
DCX 2R		5'-CAG CAG AGA CTG AAG GGT GAT-3'	64	
DCX 3F	3.ekzon	5'-GGA ATT GCA CCT AAG GTT GGT-3'	62	576
DCX 3R		5'-GGA GGA AGA GTC CGT CAA CA-3'	62	
DCX 4F	4.ekzon	5'-GGA GCT GAA GAT GAT GGC CTA-3'	64	325
DCX 4R		5'-GCC-CTT-GAA-GGA-TCA-TGC-AT-3'	6	
DCX 5F	5.ekzon	5'- CCA-GAA-CCA-TGG-CTC-CTA-CTA -3'	64	466
DCX 5R		5'-GTA GCT GTG CCT CCA TGA CT-3'	62	
DCX 6F	6. ekzon	5'-GAG GAT TGC AGT TCT TGC CCT- 3	64	434
DCX 6R		5'-CTG CTT GGA TTC GCA GAA CT-3'	60	
DCX 7F	7. ekzon	5'-GAATGAAGGGTACATTGGTACA-3'	62	319
DCX 7R		5'-AGC CCT GTT GGA CAC TTG A-3'	58	

Tablo 8-2 DCX geninin genomik DNA primerleri

8.3. *TUBA1A* geninin genomik DNA primerleri

Primer adı	Ekzon	Primer Dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (bp)
TUBA1A 1F	1.ekzon	5'-CTC ATC CCA CGT CGC TT -3'	54	433
TUBA1A 1R		5'-GTT CCT GCA CCC GCA CT -3'	56	
TUBA1A 2F	2.ekzon	5'-GCT GGG GAT ATG ACC TCA-3'	56	707
TUBA1A 2R		5'-CAA ATG TGT TCT TTA GGC TCA-3'	58	
TUBA1A 3F	3.ekzon	5'-GAT CTA AGT CCT GGA AGA TGT- 3'	60	1414
TUBA1A 3R		5'-CAA ACG TCA CTT CCT AGG AT-3'	58	

Tablo 8-3 *TUBA1A* geninin genomik DNA primerleri

8.4. *ARX* geninin genomik DNA primerleri

Primer adı	Ekzon	Primer Dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (bp)
ARX F1	1.ekzon	5'-CTG GCG AGA GCC AAT CA-3'	54	608
ARX R1		5'-CTC CTT CCT TCC TCT CCA -3'	56	
ARX F2A	2. ekzon	5'-CAA GGC GTC GAA GTC TGG T-3'	60	555
ARX R2A		5'- TCC TCC GGG TGC GTG AC-3'	58	
ARX F2B	2. ekzon	5'-CAG GTG AGC ATC AGC CGC A-3'	62	693
ARX R2B		5'-GAG TCC AGG AGC CAA GCG T-3'	62	
ARX F3A	3. ekzon	5'-GTC AAA TAG TTG GCA CTC CA-3'	58	469
ARX R3A		5'-GTT CTG ATC CTG GAC TCC T-3	58	
ARX F3B	3. ekzon	5'-GTG GAG TAG GCC TGC CA-3'	56	344
ARX R3B		5'-GAA ACC TCC CGC TTC CA-3'	54	
ARX F4	4. ekzon	5'-GCT CCT ATT CAC TGC TCA TTT-3'	60	613
ARX R4		5'-GTG TAA CCC TGT TTG ACT CCT-3'	62	
ARX F5A	5. ekzon	5'- CGA CAA GCG GCG GGA GA -3'	58	676
ARX R5A		5'- GGA GGA AGA GGT TGG GCT -3'	58	
ARX F5B	5.ekzon	5'-GCT ACT GCC AAC CTC GCT-3'	58	837
ARX R5B		5'-GGA GCC CAC CCT TGA CT-3'	56	

Tablo 8-4 *ARX* geninin genomik DNA primerleri

8.5. *RELN* geninin genomik ve komplementer DNA primerleri

8.5.1. *RELN* geninin komplementer DNA primerleri

Tablo 8-5 *RELN* geninin komplementer DNA primerleri

Primer adı	Primer Dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (ekzon no)
cRELN 1F	5'-GCA GGG CGA GGT GCT CAT-3'	60	Ekzon 2-3-4-5-6-7- 8-9-10-11
cRELN 1R	5'-GTC CAT GGA TGG AGT GCA TA-3'	60	
cRELN 2 F	5'-GGC AGC GAG TTC AAT TTT G-3'	56	Ekzon 12-13-14- 15-16-17-18
cRELN 2 R	5'-CTC CTT CAC CAG GCT GAT-3'	56	
cRELN 3F	5'-GCC AGT GGT AAG GCC CT-3'	56	Ekzon 19-20-21- 22-23-24-25
cRELN 3 R	5'- CGA CTG CCC ACT GGT CAT-3'	58	
cRELN 4F	5'-GCG TCC TCC TTC AGT ACA-3'	56	Ekzon 26-27-28- 29-30-31-32
cRELN 4R	5'-TGG ATT CGA TAC CAG TTG G-3'	56	
cRELN 5F	5'-GTC CTT CCT GGA ACC ACA-3'	56	Ekzon 33-34-35- 36-37-38-39
cRELN 5R	5'- GTC ACG GGT GGT AAT GGA-3'	56	
cRELN 6F	5'-CTA TCC TGG TGG TAA CAT CG-3'	60	Ekzon 40-41-42- 43-44-45-46
cRELN 6R	5'-CCA TGT CTG CTG CTT GTC A-3'	58	
cRELN 7F	5'-GTG GAC TAG AAT CAC TCT GCC-3'	64	Ekzon 47-48-49- 50-51-52
cRELN 7R	5'-TTA AGC AAT CTC CAT GGC CC-3'	60	
cRELN 8F	5'-GGA TCA CCT ACC CAC TTC CT-3'	62	Ekzon 53-54-55-56
cRELN 8R	5'-CCT GCT GTC CTT ACA GCA TTA-3'	62	
cRELN 9F	5'-CAG TGG GCA CTG GAC AAC-3'	58	Ekzon 57-58-59- 60-61-62-63-64-65
cRELN 9R	5'-CAC CAA GTC CTT CAC AGA TA- 3'	58	

8.5.2. *RELN* geninin genomik DNA primerleri

Tablo 8-6 *RELN* geninin genomik DNA primerleri

Primer adı	Ekzon	Primer dizisi	T _m (°C)	PCR ürünü (bp)
gRELN E1.1F	1.ekzon	5'-GGG CTT TAA GAA GGT GTG GA-3'	60	757
gRELN E1.1R		5'-GGA GAA TGA ATC CCA ACT TGT -3'	58	

9. ÖZGEÇMİŞ

İş Adresi	İstanbul Üni., İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik ABD, 34390, Çapa, İstanbul Tel/Fax:0212.534 84 40
Ev Adresi	Kemeraltı mahallesi 76.sokak Sayar Apartmanı Marmaris-Muğla Tel:0252 413 34 00 Cep:0530 526 38 06
Doğum Tarihi	26.06.1980
Doğum Yeri:	İstanbul
İlk Öğrenim	1986 - 1991 Çapa İlkokulu, İstanbul
Orta Öğrenim	1991 - 1998 Cağaloğlu Anadolu Lisesi, İstanbul
Üniversite-Lisans	1998 - 2004 İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Tıpta Uzmanlık	2005 - 2010 İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD

Yurtdışı Görevlendirme: Kanada /British Columbia “Fare serebellum granüler hücrelerinin radial migrasyonunda görevli genlerin belirlenmesi” konulu projede (01.12.2008-20.02.2009) Goldowitz Laboratuvarı / British Columbia Üniversitesi’nde araştırmacı olarak çalışmıştır.

Uluslararası katıldığı akademik faaliyetler:

1. European Human Genetics Conference 06-09 Mayıs 2006/ Amsterdam/Poster sunumu
“New MCA/MR yndrome; distinct facial features with cerebellar and genital hypoplasia”
2. VI. European Cytogenetics Conference /7-10 Temmuz 2007/ İstanbul/ Poster sunumu
“Pallister-Killian phenotype and follow-up data of 13 cases with 12p tetrasomy and trisomy”
3. Spinocerebellar Ataksi Çalıştayı /27. Mayıs 2006/ İstanbul/ dinleyici

Ulusal katıldığı akademik faaliyetler:

1. VII. Ulusal Prenatal Tanı ve Tıbbi Genetik Kongresi 17-20 Mayıs 2006/ Kayseri
Sözlü bildiri “Fragil X Sendromu; klinik ve moleküler yaklaşımın genetik danışmaya etkisi”
2. V.Ulusal Maternal Fetal Tıp ve Perinatoloji Kongresi/11-14 Kasım 2006/ dinleyici

3. VI. Çocuk Nörolojisi Günleri 24-26 Mayıs 2007/İstanbul/ dinleyici
4. I.NörogenetikSempozyumu/ 4-6 Kasım 2007/ İzmir/Sözlü bildiri
“Kortikal gelişimsel malformasyonlarda genotip-fenotip ilişkisi
5. VII. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi/Çanakkale /6-9 Mayıs 2008/Sözlü bildiri
“Güneşe duyarlı olmayan Trikotiyodistrofi; TTDN1 geninde yeni bir dur kodonu mutasyonu”
6. IV. Dismorfoloji günleri 24-25 Nisan 2009/İstanbul/Sözlü bildiri
A very rare autosomal recessive MCA/MR syndrome; Acro-cardio-facial syndrome (ACFS)
7. Tıbbi Genetik Sempozyumu Endokrin Hastalıklar ve Genetik Sempozyumu 8-10 Ekim 2009/sözlü bildiri Piknodizostoz sendromu tanışlı iki erkek kardeş

Uluslararası yayınlar

1. B.Kara, A Üzümcü, O. Uyguner, RÖ Rosti, AD. Kocbas, M. Özmen, H.Kayserili. Ataxia with vitamin E deficiency associated with deafness The Turkish Journal of Pediatrics 2008; 50: 471-475
2. T Furuichi, H Kayserili, S Hiraoka, G Nishimura, H Ohashi, Y Alanay, J C Lerena, AD Aslanger, H Koseki, D H Cohn, A Superti-Furga, S Unger, S Ikegawa. Identification of loss-of-function mutations of SLC35D1 in patients with Schneckenbecken dysplasia, but not with other severe spondylodysplastic dysplasias group diseases J Med Genet 2009;46: 562–568.
3. LRP4 mutations alter Wnt/beta-catenin signaling and cause limb and kidney malformations in Cenani-Lenz syndrome. Li Y, Pawlik B, Elcioglu N, Aglan M, Kayserili H, Yigit G, Percin F, Goodman F, Nürnberg G, Cenani A, Urquhart J, Chung BD, Ismail S, Amr K, Aslanger AD, Becker C, Netzer C, Scambler P, Eyaid W, Hamamy H, Clayton-Smith J, Hennekam R, Nürnberg P, Herz J, Temtamy SA, Wollnik B.Am J Hum Genet. 2010 May 14;86(5):696-706. Epub 2010 Apr 8

Ulusal yayınlar

1. AD. Kocbas, D. Acarsoz, H. Kayserili. Smith-Lemli-Opitz Sendromlu Olguda uE3 Düşüklüğünün Tanıdaki Yeri. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst 2008;18(6):395-399
2. AD. Kocbas, ÖR. Rosti, H. Kayserili. Smith-Lemli-Opitz Sendrom: prentala ve postnatal dönemde tanısı Çocuk Dergisi 2009 9(3):147-152